

Biochemische Zeitschrift.

Beiträge
zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Würzburg, F. Hofmeister-Straßburg i. Els., C. v. Noorden-Frankfurt a. M., E. Salkowski-Berlin, F. Tangl-Budapest,
A. von Wassermann-Berlin, N. Zuntz-Berlin

unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, L. Asher-Bern, J. Bang-Lund, G. Bertrand-Paris, A. Bichel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., A. Durrig-Wien, F. Ehrlich-Breslau, H. v. Euler-Stockholm, S. Flexner-New York, J. Forssman-Lund, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, E. Friedberger-Greifswald, E. Friedmann-Berlin, O. v. Fürth-Wien, G. Galeotti-Neapel, F. Haber-Berlin-Dahlem, H. J. Hamburger-Groningen, A. Heffler-Berlin, V. Henri-Paris, V. Henriques-Kopenhagen, W. Heubner-Göttingen, E. Höber-Kiel, M. Jacoby-Berlin, R. Kobert-Kostock, M. Kumagawa-Tokio, F. Landolf-Buenos Aires, L. Langstein-Berlin, P. A. Levene-New York, L. v. Liebermann-Budapest, J. Loeb-New York, A. Loewy-Berlin, A. Magnus-Levy-Berlin, J. A. Mandel-New York, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, J. Melsenheimer-Berlin, L. Michaelis-Berlin, H. Molesch-Wien, J. Morgenroth-Berlin, E. Münzer-Prag, W. Nerst-Berlin, W. Ostwald-Leipzig, W. Palladin-St. Petersburg, W. Panli-Wien, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, J. Pohl-Breslau, Ch. Porcher-Lyon, F. Roehmann-Breslau, F. Rona-Berlin, S. Salaskin-St. Petersburg, N. Sieber-St. Petersburg, M. Siegfried-Leipzig, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, K. Spiro-Straßburg, E. H. Starling-London, J. Stoklasa-Prag, W. Straub-Treiburg i. B., A. Stutzer-Königsberg i. Pr., H. v. Tappeiner-München, H. Thomas-Berlin, A. J. J. Van der Veide-Gent, O. Warburg-Berlin, W. Wiechowki-Prag, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Achtundsiebzigster Band.

1916.



Berlin.

Verlag von Julius Springer.

1916.



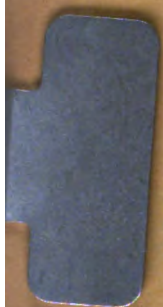
QP501

.B58

v. 78

CHEMISTRY LIBRARY

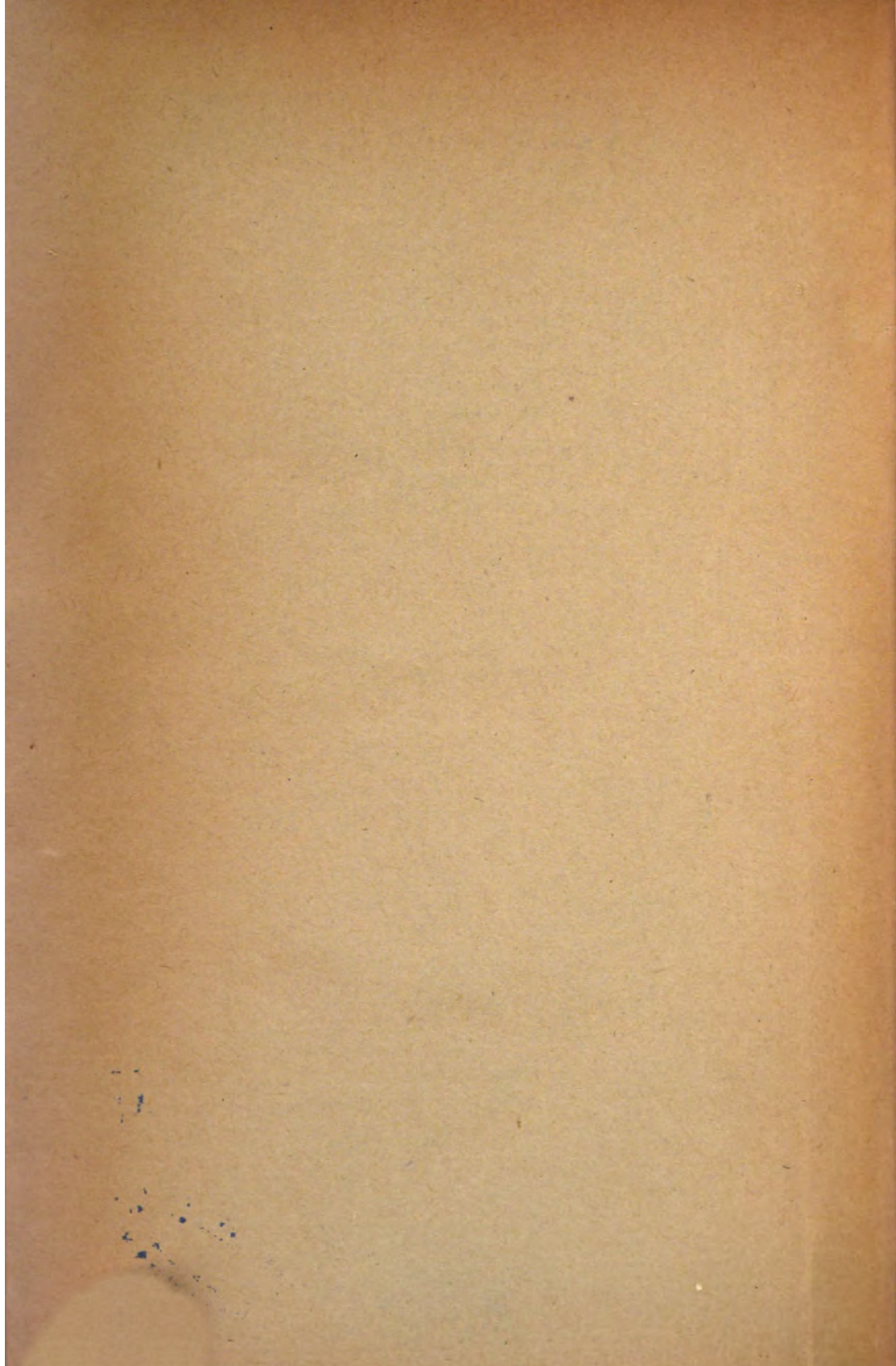
9



CHEMISTRY LIBRARY

JOURNAL

Does Not Circulate



Biochemische Zeitschrift.

Beiträge
zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Würzburg, F. Hofmeister-Straßburg i. Els., C. v. Noorden-Frankfurt a. M., E. Salkowski-Berlin, F. Tangl-Budapest,
A. von Wassermann-Berlin, N. Zuntz-Berlin

unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, L. Asher-Bern, J. Bang-Lund, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., A. Durrig-Wien, F. Ehrlich-Breslau, H. v. Euler-Stockholm, S. Flexner-New York, J. Fersman-Lund, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, E. Friedberger-Greifswald, E. Friedmann-Berlin, O. v. Fürth-Wien, G. Galeotti-Neapel, F. Haber-Berlin-Dahlem, H. J. Hamburger-Groningen, A. Heffer-Berlin, V. Henri-Paris, V. Henriques-Kopenhagen, W. Heubner-Göttingen, E. Höber-Kiel, M. Jacoby-Berlin, E. Kober-Rostock, M. Kumagawa-Tokio, F. Landolf-Buenos Aires, L. Langstein-Berlin, P. A. Levene-New York, L. v. Liebermann-Budapest, J. Loeb-New York, A. Loewy-Berlin, A. Magnus-Levy-Berlin, J. A. Mandel-New York, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, J. Meisenheimer-Berlin, L. Michaelis-Berlin, H. Mollsch-Wien, J. Morgenroth-Berlin, E. Münzer-Prag, W. Nernst-Berlin, W. Ostwald-Leipzig, W. Palladin-St. Petersburg, W. Pauli-Wien, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, J. Pohl-Breslau, Ch. Porcher-Lyon, F. Roehmann-Breslau, P. Rosa-Berlin, S. Salaskin-St. Petersburg, N. Sieber-St. Petersburg, M. Slegfried-Leipzig, S. P. L. Sørensen-Kopenhagen, E. Spiro-Straßburg, E. H. Starling-London, J. Stoklassa-Prag, W. Straub-Freiburg i. B., A. Stützer-Königsberg i. Pr., H. v. Tappeler-München, H. Thoms-Berlin, A. J. J. Vandevelde-Gent, O. Warburg-Berlin, W. Wiechowksi-Prag, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Achtundsiebzigster Band.



Berlin.

Verlag von Julius Springer.

1917.



351255

QP501

.B58

v. 76

YTRGVMMU AVARDM
YRABLL

Druck von Oscar Brandstetter in Leipzig.

SPECIAL LIBRARY FUND

Chem

OCT 31 1940

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
Lochmann, Georg. Vergleichende Untersuchungen über die Arsenausscheidung durch den menschlichen Harn nach Injektion verschiedener Arsenikalien. (Atoxyl, Arsacetin, Arsenophenylglycin, Salvarsan, Neosalvarsan)	1
Schweizer, Karl. Zur Kenntnis der Desaminierung	37
Sachs, H. und K. Altmann. Die „Hydrolyabilität“ des Komplements und ihre Ursachen	46
Müller, Johannes und Hans Murschhauser. Die Verwertung der Fettsäureäthylester	63
Loewy, A. und E. Wolfenstein. Über die adstringierende Wirkung von Aluminiumsalzen, insbesondere der Ameisensäuren Tonerde .	97
Hasselbalch, K. A. Die Berechnung der Wasserstoffzahl des Blutes aus der freien und gebundenen Kohlensäure desselben, und die Sauerstoffbindung des Blutes als Funktion der Wasserstoffzahl .	112
Eberfeld, Johannes. Nachtrag	144
Lakon, Georg. Der Eiweißgehalt panachierter Blätter geprüft mittels des makroskopischen Verfahrens von Molisch	145
Bürger, Max. Ein Beitrag zur Chemie der Tuberkelbacillenfette . .	155
Henriques, V. und E. Christiansen. Untersuchungen über die Ammoniakmenge im Blute	165
Felpmers, T. Tyrosinase, ein Gemenge von zwei Enzymen	180
Abelin, J. Über die w-Methylsulfonsäure der p-Aminophenylarsinsäure	191
Dornby, K. G. Notiz betreffend die proteolytischen Enzyme der <i>Drosera rotundifolia</i>	197
Pohl, Julius. Über den Purinstoffwechsel nach Giften	200
Lenk, Emil. Quantitative Bestimmung der Acetonkörper im Harn .	224
Zuntz, N. Bemerkungen zu der von Gad-Andresen beschriebenen „neuen“ Methode zur Bestimmung von Kohlenoxyd im Blute .	231

	Seite
Neuberg, Carl. Hornalbumose als teilweiser Ersatz von Fleischeiweiß beim Hunde	233
Neuberg, Carl und Eduard Färber. Über den Verlauf der alkoholischen Gärung bei alkalischer Reaktion. I. Zellfreie Gärung in alkali- schen Lösungen	238
Neuberg, Carl und Eduard Färber. Über das Vorkommen emulsin- artiger von den Hefezellen abtrennbarer Fermente in den unter- gärigen Hefen sowie das Fehlen von Myrosin in Berliner Ober- und Unterhefen	264
Yippé, Arve. Über Magenatmung beim Menschen	273
Färber, E. Zur Frage der Oxydationswirkungen von Hefen	294
Besch, Alfred. Kataphoretische Versuche mit Thrombin und Fi- brinogen	297
Boss, Friedrich. Stärkebildung bei Schimmelpilzen	308
Hári, Paul. Beiträge zum Stoff- und Energieumsatz der Vögel	313
Herzfeld, E. und E. Klinger. Weitere Untersuchungen zur Chemie der Eiweißkörper	349
Weevers, Th. Die physiologische Bedeutung des Kaliums in der Pflanze	354
Deutschland, A. Untersuchungen über die Verdaulichkeit der Nähr- hefe	358
v. Kaufmann, Wilhelm. Notiz über die reduzierenden Eigenschaften der Stärke	371
Autorenverzeichnis	375



Vergleichende Untersuchungen über die Arsenausscheidung durch den menschlichen Harn nach Injektion verschiedener Arsenikalien.

(Atoxyl, Arsacetin, Arsenophenylglycin, Salvarsan, Neosalvarsan).

Von

Georg Lockemann (z. Z. im Felde).

(Aus der chemischen Abteilung des Königl. Instituts für Infektionskrankheiten „Robert Koch“ in Berlin.)

(Eingegangen am 9. September 1916.)

Mit 1 Figur im Text.

Vor mehreren Jahren habe ich über Versuche berichtet¹⁾, die ich gemeinsam mit M. Paucke über den Nachweis und den Gang der Ausscheidung des Atoxyls im Harn ausführte. Die damals begonnenen Untersuchungen habe ich dann weiter fortgesetzt, als von P. Ehrlich die übrigen von ihm und seinen Mitarbeitern im Anschluß an die Konstitutionsaufklärung des Atoxyls²⁾ neu gewonnenen organischen Arsenverbindungen in die medizinische Praxis eingeführt wurden und sich mir Gelegenheit bot, Untersuchungsmaterial zu erhalten. Herr Prof. Dr. Wechselmann, leitender Arzt der dermatologischen Abteilung des Rudolf-Virchow-Krankenhauses, war so freundlich, mir eine größere Anzahl Harnproben von Patienten zur Verfügung zu stellen, die mit Arsacetin, Salvarsan und Neosalvarsan behandelt waren. Durch Herrn Prof. Dr. Schilling, Leiter der Tropenabteilung im Institut „Robert Koch“, erhielt ich außerdem die Harnproben einiger mit Arsenophenylglycin behandelten Patienten. Beiden Herren spreche ich für die freundliche Überlassung des Materials meinen verbindlichsten Dank aus.

Die zum Teil recht langwierigen Untersuchungen wurden

¹⁾ Deutsche med. Wochenschr. **34**, 1460, 1908.

²⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **40**, 3292, 1907.

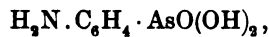
in den Jahren 1908 bis 1912 von mir in Gemeinschaft mit meinen Assistenten durchgeführt, den Herren Dr. Herold, Dr. Naumann, Dr. Winkler¹⁾ und Dr. Lucius, denen ich auch an dieser Stelle für ihre eifrige Mitarbeit bestens danken möchte. Über einen Teil der Ergebnisse habe ich bereits auf der fünften Tagung der freien Vereinigung für Mikrobiologie in Dresden am 9. Juni 1911 kurz berichtet²⁾. Die ausführliche Veröffentlichung hat sich leider durch Verkettung verschiedener hindernder Umstände bis jetzt hinausgeschoben.

Der besseren Übersicht halber werde ich die früheren Versuchsergebnisse über die Atoxylausscheidung in Kürze wieder anführen und dann über die Arsenausscheidung nach Injektion von Arsacetin, Arsenophenylglycin, Salvarsan und Neosalvarsan ausführlicher berichten.

I. Atoxyl.

Der in der früheren Arbeit³⁾ behandelte Fall betraf einen durch Laboratoriumsinfektion von Schlafkrankheit befallenen Mann, dem 9 mal in bestimmten Pausen je 0,5 g Atoxyl in 20⁰/₀iger Lösung subcutan injiziert wurden. Die Arsenausscheidung nach einer einmaligen Injektion konnte nur 24 Std. lang beobachtet werden, da dann die zweite Injektion erfolgte.

Das Atoxyl ließ sich im Harn als Arsanilsäure



deren Mononatriumsalz es ist, nachweisen, indem diese durch Diazotieren und Kuppeln an β -Naphthylamin in eine charakteristische, schwer lösliche, rote Azoverbindung übergeführt wurde. Nach den Ergebnissen von Vorversuchen wurden dann aus den Gewichten der getrockneten Azoniederschläge die Atoxylmengen annähernd berechnet. In der Tabelle I sind die in den ersten 12 Stunden nach der Injektion gefundenen Werte zusammengestellt.

¹⁾ Herr Dr. Hans Winkler aus Dresden hatte sich bei Ausbruch des Krieges als Freiwilliger gestellt; er hat erst im Westen, dann im Osten begeistert mitgekämpft, ist zum Leutnant befördert und hat nach der Einnahme von Kowno in den Kämpfen vor Wilna am 25. August 1915 sein junges Leben lassen müssen. Ich bewahre dem begabten, sehr arbeitsfreudigen Jüngling in kameradschaftlicher Gesinnung ein dankbar ehrendes Andenken.

²⁾ Centralbl. f. Bakt. 1. Abtlg. 50, 1911. Referate S. 114.

³⁾ Deutsche med. Wochenschr. 34, 1460, 1908.

Tabelle I.
Atoxylausscheidung nach subcutaner Injektion
von 0,5 g Atoxyl (23,3% As).
Mann S—t.
Injektion (9. XI. 1907, 10^a vorm.) 0,5 g Atoxyl.

Nr.	Zeit nach der Injektion	Harnmenge ccm	Atoxylgehalt	
			g	% der injizierten Menge
1	3 Stunden	346	ca. 0,28	ca. 56
2	7 "	246	" 0,07	" 14
3	12 "	296	" 0,09	" 18
1 bis 3	Die ersten 12 Std.	888	ca. 0,44	ca. 88

Von dem eingespritzten Atoxyl wurde also schon in den ersten 3 Stunden über die Hälfte ausgeschieden; innerhalb der ersten 12 Stunden hatten bereits 88% Atoxyl den Körper durch den Harn unverändert wieder verlassen.

Bei wiederholter Injektion zeigte sich dann, daß ein gewisser Teil des Atoxyls im Körper zersetzt wurde, indem wahrscheinlich die Arsanilsäure durch hydrolytische Spaltung in Anilin und freie Arsensäure zerlegt:

$$\text{H}_2\text{N} \cdot \text{C}_6\text{H}_4 \cdot \text{AsO}(\text{OH})_2 + \text{H}_2\text{O} = \text{H}_2\text{N} \cdot \text{C}_6\text{H}_5 + \text{AsO}(\text{OH})_3,$$

bzw. das Anilin durch Oxydation in Amidophenol:



verwandelt wurde.

Mit zunehmender Zahl der Injektionen verzögerte sich die Ausscheidung zeitweilig ganz erheblich. Nach der letzten (9.) Injektion wurden 25 Tage später noch Spuren von Arsen im Harn gefunden; am 49. Tage erwies sich eine Harnprobe arsenfrei.

Später (2 und 4 Monate nach der letzten Injektion) war dann Arsen im Kopfhair nachweisbar.

In der sonst außerordentlich umfangreichen Atoxyl-Literatur findet man nur wenig Angaben über den quantitativen Verlauf der Ausscheidung beim Menschen. E. Welander¹⁾ gibt an, daß im Urin der ersten 24 Stunden 55 bis 63% des injizierten Arsens ausgeschieden wurden; bei richtiger Berechnung (unter Berücksichtigung des wirklichen Arsengehalts des Atoxyls = 23%) ergibt sich aber der höhere Betrag von 69,3

¹⁾ Arch. f. Dermatol. u. Syphilis 84, 1, 1908.

bis 79,6⁰/₀. J. Igersheimer und A. Rothmann¹⁾ fanden, daß von dem eingespritzten Atoxyl 50 bis 90⁰/₀ unverändert durch den Harn ausgeschieden wurden. Ph. Fischer und J. Hoppe²⁾ konnten innerhalb der ersten beiden Tage nach Injektion von 0,3 bzw. 0,5 g Atoxyl 56,2 bzw. 97,3 mg As im Harn nachweisen; das sind 80 bzw. 81⁰/₀. Am dritten Tage fanden sich nur noch Spuren, am vierten war der Harn arsenfrei. Im Kot war im ersten Falle überhaupt kein Arsen, im zweiten innerhalb der ersten 4 Tage im ganzen 5⁰/₀ Arsen nachzuweisen.

II. Arsacetin.

A. Analyse des Präparates.

Arsacetin ist nach P. Ehrlich und A. Berthelm³⁾ acetyliertes Atoxyl, d. h. p-acetyl-amido-phenyl-arsinsaures Natrium oder acetylarsanilsaures Natrium:



Aus Wasser krystallisiert das Salz mit 5 Mol H₂O, beim Ausfällen mit Alkohol dagegen mit 4 H₂O.

Bei der Analyse ergab sich folgendes:

1. Wasserbestimmung (durch Trocknen bei 110⁰):

- a) 1,9850 g gaben einen Verlust von 0,4140 g = 20,86⁰/₀ H₂O,
 b) 3,7220 g " " " " 0,7860 g = 21,12⁰/₀ "

Mittelwert: = 20,99⁰/₀ H₂O.

Berechnet für Arsacetin mit 4 Mol H₂O = 20,40⁰/₀ H₂O.

2. Arsenbestimmung der wasserfreien Präparate:

- a) 0,4638 g gaben 0,2582 g MgAs₂O₇ = 0,1247 g As = 26,88⁰/₀ As,
 b) 0,5200 g " 0,2925 g " = 0,1412 g " = 27,16⁰/₀ "

Mittelwert = 27,02⁰/₀ As.

Berechnet für wasserfreies Arsacetin = 26,68⁰/₀ As.

Durch Berechnung auf die ursprünglichen wasserhaltigen Präparate ergibt sich folgendes:

- a) wasserfrei 26,88⁰/₀ As entspricht
 wasserhaltig (20,86⁰/₀ H₂O) = 21,27⁰/₀ As,
 b) wasserfrei 27,16⁰/₀ As entspricht
 wasserhaltig (21,12⁰/₀ H₂O) = 21,42⁰/₀ As,

Mittelwerte: 20,99⁰/₀ H₂O u. 21,35⁰/₀ As.

Berechnet für Arsacetin

mit 4 Mol H₂O: 20,40⁰/₀ H₂O u. 21,24⁰/₀ As.

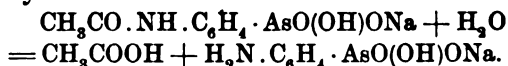
¹⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 59, 256, 1909.

²⁾ Münch. med. Wochenschr. 56, 1459, 1909.

³⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 40, 3297, 1907.

Als Durchschnittswert für den Arsengehalt der verwendeten Präparate soll 21,3% As angenommen werden.

Wenn das Arsacetin-Molekül beim Durchgange durch den Organismus zerlegt wird, so könnte das einerseits in der Weise geschehen, daß der Acetylrest aus der Amidogruppe hydrolytisch abgespalten würde (wie das für Acetanilid beim Tierversuche nachgewiesen ist); dann würde sich neben Essigsäure freies Atoxyl bilden:



Andererseits könnte die Arsengruppe aus dem Benzolkern austreten, so daß Acetanilid entstünde, oder auch durch weitere Spaltung Essigsäure und Anilin, bzw. durch Oxydation p-Amidophenol. Derartige Spaltungs- und Oxydationsvorgänge im einzelnen zu verfolgen würde natürlich zu weit geführt haben. Aber einen gewissen Einblick in die beim Durchgang durch den Organismus sich abspielenden Umsetzungen ließ sich verhältnismäßig leicht gewinnen, wenn man auf freie Amidogruppen prüfte. Das geschah am einfachsten wie beim Atoxyl durch Diazotierung und Kupplung an β -Naphthylamin. Wäre zum Teil auch die Arsengruppe abgespalten, so würde sich der aromatische Rest mit dem Atoxyl zusammen als Azoverbindung ausscheiden, und lediglich der Arsengehalt des Azoniederschlags könnte darüber Auskunft geben, wieviel Atoxyl darin enthalten wäre. Etwaiges unverändertes Arsacetin sowie das aus der Molekülgruppe abgespaltene Arsen müßte dann in der vom Azoniederschlage getrennten Flüssigkeit enthalten und durch Arsenbestimmung darin zu ermitteln sein. Somit ergab sich folgendes.

B. Untersuchungsverfahren für Arsacetin-Harn.

Die einzelnen Harnproben mit Salzsäure (auf 100 ccm Harn 1 ccm konz. Salzsäure) angesäuert und bei Eiskühlung allmählich unter Umrühren mit einer $\frac{1}{10}$ -Natriumnitrit-Lösung (6,9 g NaNO_2 in 1 l, frisch gelöst) versetzt, bis ein Tropfen der Mischung auch nach etwa 10 Minuten Jodkalium-Stärkepapier noch bläut (Diazotierung beendet). Alsdann von einer $\frac{1}{10}$ - β -Naphthylamin-Lösung (14,3 g β -Naphthylamin unter Zusatz von 110 ccm 1 n-Salzsäure auf 1 l gelöst) dieselbe

Anzahl Kubikzentimeter hinzugefügt, wie von der Natriumnitrit-Lösung verbraucht war, und außerdem von einer 2 n-Natriumacetat-Lösung (272 g krystallisiertes Na-Acetat i. Liter) eine die verwendete Menge konz. Salzsäure um das 5- bis 6 fache über-treffende Menge. Nach gehörigem Umrühren mehrere Stunden stehen lassen; den abgeschiedenen Azoniederschlag auf einem gewogenen Filter sammeln, auswaschen, trocknen und wägen.

Zur Ermittlung des (im allgemeinen geringen) Arsen-gehalts wird der Azoniederschlag mit verdünnter reiner Salz-säure, Wasser und Sodalösung ausgelaugt. Die saure Lösung wird geradewegs im Marshschen Apparat geprüft, die Sodalösung nach dem weiter unten angegebenen Salpeterschmelzverfahren behandelt; das Arsen durch Eisenhydroxyd gefällt, ebenfalls im Marshschen Apparat abgeschieden und durch Vergleich mit Normalpiegeln bestimmt.

Die Filtrate von den Azoniederschlägen wurden verschieden behandelt:

a) Diejenigen Proben, bei denen ein größerer Arsen-gehalt zu vermuten war (die ersten nach der Injektion) wurden von neuem mit Salzsäure (auf 100 ccm 1 bis 1,5 ccm konz. HCl) versetzt und zum Zerstören der organischen Substanz in einem Kolben mit Steigrohr auf dem Wasserbade mit Kalium-chlorat in der üblichen Weise behandelt. Nach Zusatz von etwas schwefliger Säure in der Wärme Schwefelwasserstoff ein-geleitet, bis nach Abfiltrieren auf erneutes Einleiten nichts mehr ausfiel. Dieser Sulfidniederschlag enthielt außer Arsen auch etwas organische Substanz und Phosphor; deshalb mit Ammoniak vom Filter gelöst, eingedampft, der Rückstand mit Salpeter-Schwefel-säure-Gemisch wiederholt behandelt, bis die anfangs dunkle Masse sich aufhellte. Aus dem mit Wasser aufgenommenen Rückstande nach Zusatz von etwas schwefliger Säure und Salzsäure das Arsen als gelbes Sulfür gefällt, in der üblichen Weise zu Magnesium-salz verarbeitet und zur Wägung gebracht.

b) Die Filtrate, in denen wenig Arsen zu erwarten war, wurden nach dem von mir früher angegebenen Salpeterver-fahren verarbeitet, um die mit Schwefelwasserstoff nicht mehr oder kaum noch ausfällbaren Arsenmengen durch Adsorption mit Eisenhydroxyd abzuschneiden.

Die Lösungen nach Zusatz von etwa 3% festem, gereinig-

tem Natriumkaliumnitrat eingedampft, mit Salpeter-Schwefelsäure(9:1)-Gemisch auf dem Wasserbade behandelt und schließlich mit etwas Salpeter im Platin- oder Porzellantiegel geschmolzen. Aus der in der Hitze (zur Vertreibung der Kohlensäure und Stickoxyde) mit verdünnter Schwefelsäure schwach angesäuerten und mit Ammoniak neutralisierten Schmelzlösung das Arsen unter Eiskühlung durch wiederholten Zusatz von äquivalenten Mengen Eisenaunlösung und Ammoniak mit dem Eisenhydroxyd abgeschieden, wie ich das früher¹⁾ näher beschrieben habe.

Die ausgewaschenen Eisenniederschläge, in verdünnter Schwefelsäure gelöst, wurden im Marshschen Apparat auf ihren Arsengehalt geprüft und dieser durch Vergleich mit Normalspiegeln oder bei größeren Mengen (mehrere Zehntel Milligramm) durch Wägung des herausgeschnittenen Röhrchenstückes, gelindes Glühen und Wiederwägen quantitativ bestimmt. Die Empfindlichkeit des Arsennachweises mit dem von mir angegebenen Apparat beträgt 0,0001 mg oder 0,1 mmg (Milliogramm). Es ist ratsam, zunächst mit kleinen Mengen der Eisenlösung Vorproben zu machen. Selbstverständlich darf nur mit sorgfältig von Arsen befreiten Chemikalien gearbeitet werden. Zur Kontrolle wurden außerdem noch blinde Versuche mit gleichen Chemikalienmengen ausgeführt.

C. Untersuchte Arsacetin-Fälle.

In der beschriebenen Weise wurden die einzelnen Harnproben mehrerer mit Arsacetin durch subcutane Injektion behandelter Patienten untersucht. Die Ergebnisse sind, nach Männern und Frauen geordnet, in den Tabellen II bis IX zusammengestellt.

a) Männer (Tabelle II bis IV).

In Tabelle II und III ist die Arsenausscheidung bei zwei Männern mit je einer subcutanen Injektion von 0,4 g Arsacetin, in Tabelle IV die bei einem Mann mit zwei subcutanen Injektionen von 0,4 und 0,5 g Arsacetin aufgeführt. Bei Fall II und IV sind leider einige Proben verloren gegangen, bei Fall III aber sämtliche Proben der ersten 4 Tage durchuntersucht.

¹⁾ Diese Zeitschr. **35**, 478, 1911.

Tabelle II und III.
Arsenausscheidung nach einmaliger subcutaner Injektion
von Arsacetin bei Männern.

Nr.	Zeit der Ausscheidung	II. Mann W—f.					III. Mann S—r.				
		Harnmenge ccm	Arsenausscheidung im Azonieder- schlag mg	im Filtrat mg	Gesamt- Arsen mg	der injiz. Menge %	Harnmenge ccm	Arsenausscheidung im Azonieder- schlag mg	im Filtrat mg	Gesamt- Arsen mg	der injiz. Menge %
Injektion subcutan (17. III. 1909, 11 $\frac{1}{2}$ ^h vorm.) 0,4 g Arsacetin (= 85 mg As).						Injektion subcutan (17. III. 1909, 11 $\frac{1}{2}$ ^h vorm.) 0,4 g Arsacetin (= 85 mg As).					
1	Erste 8 Std. (Tag)	925	0,030	?	?	?	1110	0,100	19,30	19,40	22,8
2	Zweite 12 " (Nacht)	1200	0,003	?	?	?	1650	0,060	7,24	7,30	8,6
1 u. 2	Erste 20 Std.	2125	0,033	?	?	?	2760	0,160	26,54	26,70	31,4
3	Dritte 12 Std. (Tag)	900	0,005	?	?	?	750	0,020	31,40	31,42	37,0
4	Vierte 12 " (Nacht)	1000	0,002	0,500	0,502	0,6	680	0,015	2,13	2,145	2,5
3 u. 4	Zweite 24 Std.	1900	0,007	?	?	?	1430	0,035	33,53	33,565	39,5
5	Fünfte 12 Std. (Tag)	1700	0,001	0,030	0,031	0,04	900	0,010	0,39	0,40	0,47
6	Sechste 12 " (Nacht)	920	0,000	0,130	0,130	0,15	800	0,005	0,15	0,155	0,18
5 u. 6	Dritte 24 Std.	2620	0,001	0,160	0,161	0,19	1750	0,015	0,54	0,555	0,65
7	Siebente 12 Std. (Tag)	1020	0,000	0,002	0,002	0,002	910	0,000	0,12	0,120	0,14
8	Achte 12 " (Nacht)	860	0,000	0,000	0,000	0,000	950	0,003	0,002	0,005	0,006
7 u. 8	Vierte 24 Std.	1880	0,000	0,002	0,002	0,002	1860	0,003	0,122	0,125	0,15
1 bis 8	Die ersten 4 \times 24 Std.	8525	0,041	?	?	?	7800	0,213	60,732	60,945	71,70

Tabelle IV.
Arsenausscheidung nach zweimaliger subcutaner Injektion
von Arsacetin bei Mann A—n.

Nr.	Zeit der Ausscheidung	Harn- menge ccm	Arsenausscheidung				
			Azonieder- schlag Gewicht g	darin As mg	im Filtrat As mg	Gesamt- Arsen mg	% d. injiz. As- Menge
1. Injektion (26. X. 1908, 10 ^h vorm.) 0,4 g Arsacetin subcutan (= 85 mg As).							
1	Erste 12 Std. (Tag)	675	0,162	0,02	34,90	34,92	41,1
2	Zweite 12 " (Nacht)	990	0,248	0,06	10,61	10,67	12,6
1 u. 2	Erste 24 Std.	1665	0,410	0,08	45,51	45,59	53,7
2. Injektion (27. X. 1908, 10 $\frac{1}{2}$ ^h vorm.) 0,5 g Arsacetin subcutan (= 106,5 mg As).							
3	Erste 12 Std. (Tag)	540	0,320	0,25	30,72	30,97	29,1
4	Zweite 12 " (Nacht)	830	0,315	0,03	?	?	?
3 u. 4	Erste 24 Std.	1370	0,635	0,28	> 30,72	> 30,97	> 29,1
5	Dritte 12 Std. (Tag)	1120	0,402	0,02	3,51	3,53	3,3
6	Vierte 12 " (Nacht)	530	0,382	0,005	1,40	1,405	1,3
5 u. 6	Zweite 24 Std.	1650	0,784	0,025	4,91	4,935	4,6
7	Fünfte 12 Std. (Tag)	?	?	?	?	?	?
8	Sechste 12 " (Nacht)	850	0,182	0,006	0,40	0,406	0,4
7 u. 8	Dritte 24 Std.	> 850	> 0,182	> 0,006	> 0,40	> 0,406	> 0,4

Aus den Tabellen geht ganz allgemein hervor, daß der Arsengehalt der Azoniederschläge sehr gering (meist nur einige Hundertstel oder Tausendstel Milligramm) und die Hauptmenge Arsen im Filtrat enthalten ist. Aus dem Arsacetin ist also beim Durchgange durch den Organismus (durch hydrolytische Abspaltung der Acetylgruppe) nur ein sehr geringer Bruchteil freies Atoxyl entstanden. Da aber, wie Tabelle IV zeigt, die Gewichte der Azoniederschläge ziemlich erheblich sind, so läßt sich daraus schließen, daß nicht nur die Acetylgruppe, sondern auch die Arsengruppe aus der aromatischen Verbindung abgespalten ist. Jedoch lassen sich über die Mengenverhältnisse dieser hydrolytischen Spaltungen keine Angaben machen, da auch andere Bestandteile des Harns mit in den Azoniederschlag übergegangen sein können oder vielmehr wahrscheinlich übergegangen sind. Mit anderen Worten, es läßt sich nicht sagen, wieviel von dem Arsen in den Filtraten der Azoniederschläge als unverändertes Arsacetin und wieviel als abgespaltenes freies Arsen (Arsensäure) anzusehen ist.

Die Arsenausscheidungen sind während der Tageszeit ganz allgemein bedeutend größer als während der Nachtzeit. Im Fall III war in den ersten 20 Stunden 31,4⁰/₀, in den zweiten 24 Stunden 39,5⁰/₀, in den ersten 2 > 24 Stunden zusammen also 70,9⁰/₀ Arsacetin wieder ausgeschieden. Vom 3. Tage an wird die Ausscheidung bedeutend geringer, so daß sie nach den ersten 4 Tagen in ihrer Gesamtmenge nur bis auf 71,7⁰/₀ gestiegen ist.

Beim Fall IV sind in den ersten 24 Stunden bereits 53,7⁰/₀ Arsacetin ausgeschieden; nach der dann folgenden zweiten Injektion sind die Ausscheidungen geringer (ähnlich wie beim Atoxyl) und werden am 3. Tage auch bereits sehr klein.

b) Frauen (Tabellen V bis IX).

Bei den Frauen zeigt sich ein ganz ähnliches Bild: Nach einmaliger Injektion (Fall V bis VII) sind die Ausscheidungen in den ersten beiden Tagen ziemlich erheblich (Fall VI: 33,3⁰/₀, Fall VII: 51,0⁰/₀) und werden vom 3. Tage an sehr gering. Bei wiederholten Injektionen (Fall VIII und IX) ist die Ausscheidung am Tage nach der zweiten Injektion erheblich geringer, nur etwa $\frac{1}{3}$ bis $\frac{1}{8}$ von der am Tage nach der ersten Injektion.

Tabellen V und VI.
Arsenausscheidung nach einmaliger subcutaner Injektion
von Arsacetin bei Frauen.

Nr.	Zeit der Ausscheidung	V. Frau G—s.					VI. Frau E—t.				
		Harnmenge ccm	Arsenausscheidung				Harnmenge ccm	Arsenausscheidung			
			im Azo- nieder- schlag mg	im Filtrat mg	Gesamt- Arsen mg	d. injiz. Menge %		im Azo- nieder- schlag mg	im Filtrat mg	Gesamt- Arsen mg	d. injiz. Menge %
Injektion subcutan (26. III. 1909, 7 ^h abends) 0,4 g Arsacetin (= 85 mg As).						Injektion subcutan (26. III. 1909, 7 ^h abends) 0,4 g Arsacetin (= 85 mg As).					
1	Erste 12 Std. (1. Nacht)	580	?	?	?	?	520	1,500	22,61	24,110	28,4
2	Zweite 12 Std. (1. Tag)	510	0,030	?	?	?	1050	0,075	1,06	1,135	1,3
1 u. 2	Erste 24 Stunden . . .	1090	> 0,030	?	?	?	1570	1,575	23,67	25,245	29,7
3	Dritte 12 Std. (2. Nacht)	550	0,002	?	?	?	620	0,075	2,90	2,975	3,5
4	Vierte 12 Std. (2. Tag)	1200	0,001	?	?	?	1200	0,030	0,085	0,115	0,14
3 u. 4	Zweite 24 Stunden . . .	1750	0,003	?	?	?	1820	0,105	2,985	3,090	3,64
1 bis 4	Die ersten 2 × 24 Std.	2840	> 0,033	?	?	?	3390	1,680	26,655	28,335	33,34
5	Fünfte 12 Std. (3. Nacht)	410	0,000	0,060	0,060	0,07	1120	0,015	0,230	0,245	0,29
6	Sechste 12 Std. (3. Tag)	1200	0,000	0,320	0,320	0,38	1320	0,012	0,002	0,014	0,02
5 u. 6	Dritte 24 Stunden . . .	1610	0,000	0,380	0,380	0,45	2440	0,027	0,232	0,259	0,31
7	Siebente 12 Std. (4. Nacht)	560	0,000	0,000	0,000	0,00	1250	0,001	0,001	0,002	0,002
1 bis 7	3 1/2 volle Tage . . .	5010	0,033	?	?	?	7080	1,708	26,888	28,596	33,65

Tabelle VII.

Arsenausscheidung nach einmaliger subcutaner Injektion
von Arsacetin bei Frau R.

Nr.	Zeit der Ausscheidung	Harnmenge ccm	Arsenausscheidung				
			Ge- wicht g	darin As mg	Arsen im Filtrat mg	Gesamt- Arsen mg	d. injiz. Menge %
Injektion (27. X. 1908 10 ^h vorm.) 0,4 g Arsacetin subcutan (= 85 mg As).							
1	Erste 12 Std. (1. Tag) . . .	660	1,473	0,20	29,50	29,70	34,9
2	Zweite 12 Std. (2. Nacht) . . .	390	0,677	0,35	11,10	11,45	13,5
1 u. 2	Erste 24 Stunden	1050	—	0,5	40,60	41,15	48,4
3	Dritte 12 Std. (2. Tag)	400	1,037	0,60	0,60	1,20	1,41
4	Vierte 12 Std. (2. Nacht)	280	0,462	0,05	0,95	1,00	1,17
3 u. 4	Zweite 24 Stunden	680	—	0,65	1,55	2,20	2,58
1 bis 4	Die ersten 2 × 24 Stunden	1730	—	1,20	42,15	43,35	50,98
5	Fünfte 12 Std. (3. Tag)	620	0,216	0,30	0,03	0,33	0,39
6	Sechste 12 Std. (3. Nacht)	440	0,106	0,02	0,01	0,03	0,04
5 u. 6	Dritte 24 Stunden	1060	0,322	0,32	0,04	0,36	0,43
1 bis 6	Die ersten 3 Tage und Nächte	2790	—	1,52	42,19	43,91	51,41

Tabellen VIII und IX.

Arsenausscheidung nach zweimaliger subcutaner Injektion von Arsacetin bei Frauen.

Nr.	Zeit der Ausscheidung	VIII. Frau G—s.						IX. Frau K—n.					
		Harnmenge ccm	Arsenausscheidung					Harnmenge ccm	Arsenausscheidung				
		im Azonieder- schlag mg	im Filtrat mg	Gesamt- Arsen mg	d. injiz. Menge %		im Azonieder- schlag mg	im Filtrat mg	Gesamt- Arsen mg	d. injiz. Menge %			
	1. Injektion							1. Injektion					
	(20. III. 1909 12 ^h mittags) 0,3 g Arsacetin (= 64 mg As).							(20. III. 1909 12 ^h mittags) 0,3 g Arsacetin (= 64 mg As).					
1	Erste 24 Stunden . .	1800	0,035	24,33	24,365	38,1	920	1,500	28,00	29,500	46,1		
	2. Injektion							2. Injektion					
	(21. III. 1909 12 ^h mittags) 0,3 g Arsacetin (= 64 mg As).							(21. III. 1909 12 ^h mittags) 0,3 g Arsacetin (= 64 mg As).					
2	Erste 24 Stunden . .	1610	0,015	10,33	10,345	16,2	1980	0,000	9,85	9,850	15,4		

Auch hier zeigt sich eine gewisse Periodizität in der Ausscheidung, indem allemal die ungeraden Halbtage (12 Stunden), also die ersten, dritten, fünften bedeutend größere Arsenausscheidung aufweisen als die geraden (zweiten, vierten, sechsten). Erfolgt die Injektion am Abend (Fall V und VI), so fallen die ungeraden ausscheidungsreichen Abschnitte in die Nachtzeit, erfolgt sie am Morgen (Fall VII), so fallen sie in die Tageszeit, wie sich letzteres ja auch bei den Männern (Fall II bis IV) zeigte.

Ein Unterschied in den Ausscheidungsverhältnissen der Frauen gegenüber denen der Männer zeigt sich jedoch in den Mengen der einzelnen Azoniederschläge und des darin enthaltenen Arsens. Diese sind bei den Frauen durchweg größer, besonders in den ersten Proben nach der Injektion (für die Gewichte der Azoniederschläge vergl. Tabellen IV und VII). Das bedeutet, daß bei den Frauen ein größerer Bruchteil des injizierten Arsacetins abgebaut wird als bei den Männern; teils zu freiem Atoxyl durch Acetylspaltung, teils noch weiter durch Arsenabspaltung.

In der Zusammenstellung Z 1 sind die besprochenen wichtigsten Ergebnisse für Arsacetin aufgeführt.

Z 1.

Zusammenstellung für die Arsenausscheidung beim Arsacetin.

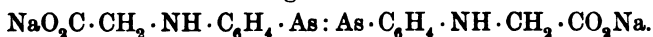
Nach einmaliger subcutaner Injektion						
	Mann		Frauen			
	III. S—r.		VI. E—t.		VII. R.	
Injektion:	0,4 g (85 mg As) %		0,4 g (85 mg As) %		0,4 g (85 mg As) %	
12 Std. . . } 12 Std. . . }	T. 22,8 } N. 8,6 } 31,4		N. 28,4 } T. 1,3 } 29,7		T. 34,9 } N. 13,5 } 48,4	
12 Std. . . } 12 Std. . . }	T. 37,0 } N. 2,5 } 39,5		N. 3,5 } T. 0,14 } 3,64		T. 1,41 } N. 1,17 } 2,58	
Erste 2 × 24 Std. .	70,9		33,34		50,98	
12 Std. . . } 12 Std. . . }	T. 0,47 } N. 0,18 } 0,65		N. 0,29 } T. 0,02 } 0,31		T. 0,39 } N. 0,04 } 0,43	
Erste 3 × 24 Std. .	71,55		33,65		51,41	
12 Std. . . } 12 Std. . . }	T. 0,14 } N. 0,006 } 0,15		N. 0,002 } T. ? } > 0,002		—	
Erste 4 × 24 Std. .	71,7		> 33,65		—	
Nach zweimaliger subcutaner Injektion						
	Mann		Frauen			
	III. A—n.		VIII. G—s.		IX. K—n.	
1. Injektion	0,4 g (85 mg As) %	—	0,3 g (64 mg As) %	—	0,3 g (64 mg As) %	—
Erste 24 Std. . . .	53,7	—	38,1	—	46,1	—
2. Injektion	0,5 g (107 mg As) %	1. und 2. (192 mg As) %	0,3 g (64 mg As) %	1. und 2. (128 mg As) %	0,3 g (64 mg As) %	1. und 2. (128 mg As) %
Zweite 24 Std. . .	> 29,1	> 16,2	16,2	8,1	15,4	7,7
Dritte 24 Std. . .	4,6	2,57	—	—	—	—
Erste 2 × 24 Std. } nach 2. Injektion }	> 33,7	> 18,77	—	—	—	—
Vierte 24 Std. . .	> 0,4	> 0,26	—	—	—	—
Erste 3 × 24 Std. } nach 2. Injektion }	> 34,1	> 19,03	—	—	—	—

D. Untersuchungen anderer über Arsacetinausscheidung.

Als ich diese Untersuchungen ausführte, lagen in der Literatur noch keine Angaben über den quantitativen Verlauf der Arsenausscheidung nach Injektion von Arsacetin vor. Inzwischen sind solche von Ph. Fischer und J. Hoppe¹⁾ (Uchtsprünge) veröffentlicht. Sie fanden in 2 Fällen nach einmaliger Injektion von 0,5 g Arsacetin am 1. Tage 68 mg As = 62% und 59 mg As = 54%, am 2. Tage 10 mg As = 9% und 16 mg As = 14%, d. h. Gesamtausscheidung in den ersten beiden Tagen 71 und 68%. Diese Zahlen sind den von mir bei Männern (Tabellen II bis IV) gefundenen sehr ähnlich. Die Verfasser untersuchten auch Kotproben und fanden, daß (wie auch beim Atoxyl) nur ganz geringe Mengen des Arsacetins durch den Kot ausgeschieden wurden; nach Injektion von 0,5 g im ganzen 11 mg As = 7,9%.

III. Arsenophenylglycin.**A. Analyse des Präparates.**

Das Arsenophenylglycin ist das Di-Natriumsalz der p-p'-Diamino-arsenobenzol-di-essigsäure:



Von dem für die Injektionen benutzten Präparate wurden folgende Arsenbestimmungen gemacht:

- a) 0,1069 g gaben 0,0562 g $\text{Mg}_2\text{As}_2\text{O}_7$ = 0,0271 g As = 25,38% As
 b) 0,1930 g gaben 0,1036 g $\text{Mg}_2\text{As}_2\text{O}_7$ = 0,0500 g As = 25,91% As

Mittelwert: 25,65% As.

Für das wasserfreie Arsenophenylglycin obiger Formel berechnet sich ein Gehalt von 30,35% As. Bei Annahme mehrerer Mole Krystallwasser ergäbe sich:

für 4 H_2O : 26,49% As, für 5 H_2O : 25,67% As,

für 6 H_2O : 24,90% As.

Der gefundene Arsengehalt (25,65%) entspricht also einem Arsenophenylglycin, das mit 5 Mol H_2O krystallisiert ist.

B. Untersuchungsverfahren.

Bei den zur Untersuchung kommenden Harnproben wurde auf die Prüfung etwaiger Spaltungsprodukte des Arsenophenylglycins verzichtet und nur der Gesamt-Arsengehalt bestimmt.

¹⁾ Münch. med. Wochenschr. 1909, 1459.

Zu diesem Zwecke wurden die aus den ersten Tagen nach der Injektion stammenden Harnmengen mit Salzsäure und Kaliumchlorat auf dem Wasserbade behandelt, das Arsen mit Schwefelwasserstoff gefällt und schließlich als Magnesiumpyroarseniat zur Wägung gebracht. Die späteren Proben, in denen nur noch geringe Arsenmengen zu vermuten waren, wurden nach dem oben erwähnten Salpeterschmelzverfahren behandelt, das Arsen durch Adsorption mit Eisenhydroxyd abgeschieden und im Marshschen Apparate bestimmt.

C. Untersuchte Arsenophenylglycin-Fälle.

Die Harnproben stammen von einer Missionarsfamilie S—r (Mann, Frau und Kind), die sich in Deutsch-Ostafrika mit Schlafkrankheit infiziert hatte. Der Mann wurde an zwei aufeinanderfolgenden Tagen mit je 1,0 g Arsenophenylglycin behandelt, die Frau einmal mit 1,0 g und das Kind einmal mit 0,5 g. Die Injektionen wurden intramuskulär in die Glutäen gemacht. Die Ergebnisse sind in den Tabellen X bis XII aufgeführt.

Tabelle X.

Arsenausscheidung nach zweimaliger intramuskulärer Injektion von Arsenophenylglycin (25,7% As) bei Mann S—r.

Nr.	Zeit der Ausscheidung	Harnmenge ccm	Arsengehalt	
			mg	% der injiz. Menge
1. Injektion (30. IX. 1909 2 ^h nachm.) 1,0 g (= 257 mg As).				
1	Erste 20 Std. (30. IX.—1. X.) . . .	605	0,18	0,07
2. Injektion (1. X. 1909 11 ^h vorm.) 1,0 g (= 257 mg As).				
(Sa. der injiz. As-Menge 1. und 2. = 514 mg As) % von 514 mg				
2	Zweite 24 Std. (1.—2. X.)	1060	11,65	2,27
3	Dritte 24 " (2.—3. X.)	905	5,04	0,98
1 bis 3	Die ersten 3 Tage und Nächte . .	2570	16,87	3,28
4	Vierte 24 Std. (3.—4. X.)	1060	12,04	2,34
5	Fünfte 24 " (4.—5. X.)	815	5,10	0,99
1 bis 5	Die ersten 5 Tage und Nächte . .	4445	34,01	6,61
6	16. Nacht (15.—16. X.)	740	0,60	0,12
7	17. Tag (16. X.)	760	0,46	0,09
8	24. Tag (23. X.)	630	0,18	0,04

Tabelle XI.

Arsenausscheidung nach einmaliger intramuskulärer
Injektion von Arsenophenylglycin (25,7% As) bei Frau S—r.

Nr.	Zeit der Ausscheidung	Harn- menge ccm	Arsengehalt	
			mg	% der injiz. Menge
Injektion (1. X. 1909 11 ^h vorm.) 1,0 g (= 257 mg As).				
1	Erste 10 Std. (1. X.)	675	4,35	1,69
2	24 Std. (14 " (1.—2. X.)	1030	14,84	5,77
3	Zweite 24 Std. (2.—3. X.)	1050	10,33	4,02
4	Dritte 24 " (3.—4. X.)	1020	5,62	2,19
1 bis 4	Die ersten 3 Tage und Nächte . .	3775	35,14	13,67
5	Vierte 24 Std. (4.—5. X.)	650	5,50	2,14
6	Fünfte 24 " (5.—6. X.)	520	7,40	2,88
1 bis 6	Die ersten 5 Tage und Nächte . .	4945	48,04	18,69
7	Sechste 24 Std. (6.—7. X.)	765	8,02	3,12
8	Siebente 24 " (7.—8. X.)	530	2,05	0,80
1 bis 8	Die ersten 7 Tage und Nächte . .	6240	58,11	22,61
9	15. Nacht (15.—16. X.)	565	0,75	0,29
10	16. Tag (16. X.)	560	0,33	0,13
11	22. Nacht (22.—23. X.)	380	0,10	0,04
12	61. Tag (30. XI.)	95	0,03	0,01

Tabelle XII.

Arsenausscheidung nach einmaliger intramuskulärer
Injektion von Arsenophenylglycin (25,7% As) bei Kind S—r.

Nr.	Zeit der Ausscheidung	Harn- menge ccm	Arsengehalt	
			mg	% der injiz. Menge
Injektion (1. X. 1909 11 ^{1/4} vorm.) 0,5 g (= 128,5 mg As).				
1	Erste 24 Std. (1.—2. X.)	930	0,70	0,54
2	Zweite 24 " (2.—3. X.)	1760	0,59	0,46
3	Dritte 24 " (3.—4. X.)	1400	5,20	4,05
1 bis 3	Die ersten 3 Tage und Nächte . .	4090	6,49	5,05
4	Vierte 24 Std. (4.—5. X.)	395	2,72	2,12
5	Fünfte 24 " (5.—6. X.)	880	0,95	0,74
1 bis 5	Die ersten 5 Tage und Nächte . .	5365	10,16	7,91
6	Sechste 24 Std. (6.—7. X.)	540	1,67	1,30
7	Siebente 24 " (7.—8. X.)	1305	2,35	1,83
1 bis 7	Die ersten 7 Tage und Nächte . .	7210	14,18	11,04

Im allgemeinen zeigt sich, daß die Arsenausscheidung beim Arsenophenylglycin viel geringer ist als beim Atoxyl und Arsacetin, aber sie verläuft auch bei den 3 untersuchten Fällen

recht verschieden: Der Mann scheidet am wenigsten, die Frau am meisten aus; beim Kinde stehen die Werte in der Mitte, wenn man nicht die absoluten Arsenmengen berücksichtigt, sondern die im Verhältnis zu den injizierten Mengen berechneten Prozente. Das wird noch deutlicher durch die Zusammenstellung Z 2, in der nur die Prozentzahlen angegeben sind.

Z 2.

**Zusammenstellung für die Arsenausscheidung beim
Arsenophenylglycin.**

	X. Mann	XII. Kind	XI. Frau
1. Injektion	1,0 g (257 mg As) %	0,5 g (129 mg As) %	1,0 g (257 mg As) %
Erste 24 Std. . .	0,07	0,54	7,46
2. Injektion	1,0 g (257 mg As) 1. u. 2. = 514 mg As %	—	—
Zweite 24 Std. .	2,27	0,46	4,02
Dritte 24 " .	0,98	4,05	2,19
Erste 3 × 24 Std.	3,28	5,05	13,67
Vierte 24 Std. .	2,34	2,12	2,14
Fünfte 24 " .	0,99	0,74	2,88
Erste 5 × 24 Std.	6,61	7,91	18,69
Sechste 24 Std. .	—	1,30	3,12
Siebente 24 " .	—	1,83	0,80
Erste 7 × 24 Std.	—	11,04	22,61

Vermutlich steht die besonders geringe Arsenausscheidung beim Manne damit in Zusammenhang (entsprechend den früher beim Atoxyl gemachten Erfahrungen), daß ihm zwei Injektionen gemacht wurden, während Frau und Kind nur je eine erhielten.

**D. Untersuchungen anderer über Arsenophenylglycin-
ausscheidung.**

Von Ph. Fischer und J. Hoppe¹⁾ sind auch quantitative Untersuchungen über die Arsenausscheidung nach Arsenophenylglycin-Injektionen gemacht. Berechnet man die von ihnen angegebenen Zahlen des ausgeschiedenen Arsens auf Prozente der eingespritzten Mengen, so ergibt sich, daß bei Fall 1 bis 3

¹⁾ Münch. med. Wochenschr. 56, 1459, 1909.

durchschnittlich in den 3 ersten Tagen 41,4%, in den 5 ersten Tagen 56,5% Arsen ausgeschieden wurde; bei Fall 4 und 5 sind die Beträge sogar 47,7 und 68,3%. Diese Zahlen übertreffen die von mir gefundenen um das Vielfache (siehe Z 2). Worauf diese außerordentliche Verschiedenheit der Versuchsergebnisse zurückzuführen ist, vermag ich nicht anzugeben.

Bei Wiederholung der Injektionen zeigt sich jedoch auch in den Fällen von Fischer und Hoppe eine gewisse Verzögerung der Arsenausscheidung, und zwar um so stärker, je schneller die Injektionen aufeinanderfolgen.

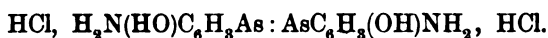
Im Kot fanden die genannten Forscher vom 2. Tage an regelmäßig Arsen; die letzten Spuren am 10., 12., 15. Tage. In dem an den ersten 4 Tagen gesammelten Kot wurden von ihnen nach Injektion von 0,3 g Arsenophenylglycin einmal 12 mg (= 14,3%) As und einmal 44 mg (= 52,4%) As gefunden, nach Injektionen von 1,0 g einmal 110 mg (= 39,3%) As.

Auch diese Zahlen erscheinen ungewöhnlich hoch.

IVa. Salvarsan.

A. Analyse des Präparates.

Seiner chemischen Zusammensetzung nach ist das Salvarsan¹⁾ zu bezeichnen als Di-p-oxy-di-m-amino-arsenobenzoldichlorhydrat von der Formel:



Von mehreren Präparaten wurden Chlor- und Arsenbestimmungen gemacht mit folgenden Ergebnissen (mit rauchdr. HNO_3 und AgNO_3 im Bombenrohr 3 Std. auf 250 bis 270° erhitzt):

a) 0,1704 g gaben	0,1109 g AgCl = 16,10% Cl;	0,1048 g $\text{Mg}_2\text{As}_2\text{O}_7$ = 29,69% As
b) 0,1232 g "	0,0727 g " = 14,60% "	; 0,0754 g " = 29,55% "
c) 0,1641 g "	0,0940 g " = 14,17% "	; 0,1023 g " = 30,10% "
d) 0,1906 g "	0,1084 g " = 14,06% "	; 0,1202 g " = 30,45% "
e) 0,1986 g "	0,1076 g " = 13,38% "	; 0,1306 g " = 31,70% "
	Mittel: 14,46% Cl	30,30% As

Berechnet für Salvarsan

mit 2 Mol H_2O . . . 14,93% Cl 31,56% As

Die Zusammensetzung der einzelnen, teils aus der ersten Zeit der Salvarsandarstellung stammenden Präparate (a bis c Juni 1910, d und e November 1910) schwankt ziemlich. Als abgerundeten Durchschnittswert habe ich 30% As angenommen.

¹⁾ P. Ehrlich und A. Bertheim, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 45 756, 1912.

Später sind von anderer Seite noch einige Analysenzahlen veröffentlicht. G. O. Gaebel¹⁾ fand beim Zerstörungsverfahren nach Kjeldahl 31,6⁰/₀ As, beim Zerstören mit KClO₃ und HCl und Abdestillieren des As im HCl-Strom bei Gegenwart von FeCl₂ nur 29⁰/₀ As.

F. Lehmann²⁾ zerstörte die organische Substanz mit KMnO₄ und H₂SO₄ und titrierte das As nach Reduktion zu arseniger Säure mit Jod und Thiosulfat; dabei fand er 31,3 bis 31,59⁰/₀ As.

B. Untersuchungsverfahren.

Da sich gleich bei den ersten Harnproben herausstellte, daß nur sehr wenig Arsen darin enthalten war, so wurde auf eine Untersuchung etwaiger Spaltungsprodukte des Salvarsans verzichtet und lediglich die Bestimmung des Gesamtarsengehalts durchgeführt. Dieses geschah nach dem mehrfach erwähnten Salpeterschmelzverfahren mit darauffolgender Adsorption des Arsens durch Eisenhydroxyd und Bestimmung im Marshschen Apparat.

C. Untersuchte Salvarsan-Fälle.

Die Injektionen wurden durchweg an syphilitischen Patienten gemacht und zwar in drei verschiedenen Weisen:

1. mit der durch einfaches Auflösen des Salvarsans in Wasser hergestellten sauer reagierenden Lösung intramuskulär;
2. mit der durch Zusatz der äquivalenten Menge Alkali zu der wäßrigen Lösung erhaltenen neutralen Suspension subcutan;
3. mit der durch weiteren Alkalizusatz erhaltenen schwach alkalischen Salvarsanlösung intravenös.

Die Untersuchungsergebnisse sind unter diesen Gesichtspunkten nach Männern und Frauen geordnet in folgenden Tabellen XIII bis XXXIV zusammengestellt.

a) Männer (Tabellen XIII bis XXV).

Die intramuskulären Injektionen mit saurer Salvarsanlösung sind in Tabellen XIII bis XVIII, die subcutanen mit neutraler Suspension in Tabellen XIX u. XX, die einmaligen intravenösen Injektionen mit schwach alkalischer Salvarsan-

¹⁾ Arch. d. Pharmazie 249, 49, 1911; Apotheker-Ztg. 26, 215, 1911.

²⁾ Apotheker-Ztg. 27, 545, 1912.

Tabellen XIII bis XVIII.

Arsenausscheidung nach einmaliger intramuskulärer Injektion von saurer Salvarsanlösung bei Männern. (Salvarsan = 30% As.)

Nr.	Zeit der Ausscheidung	Harnmenge ccm	Arsengehalt	
			mg	% der injizierten Menge

XIII. Mann D—g.

Injektion (13. IV. 10, 11^h vm.) 0,25 g Salvarsan (= 75 mg As).

—	1. Tag u. 1. Nacht (13.—14. IV.) . . .	verloren	?	?
1	2. Tag u. 2. Nacht (14.—15. IV.) . . .	920	0,450	0,60
2	3. Tag (15. IV.)	730	0,100	0,13
3	3. Nacht (15.—16. IV.)	440	0,100	0,13
1 bis 3	Zweite und dritte 24 Stunden	2090	0,650	0,86
4	4. Tag (16. IV.)	480	0,130	0,17
5	4. Nacht (16.—17. IV.)	500	0,350	0,47
6	5. Tag (17. IV.)	910	0,250	0,33
7	5. Nacht (17.—18. IV.)	490	0,200	0,27
8	6. Tag (18. IV.)	815	0,520	0,70
9	6. Nacht (18.—19. IV.)	510	0,250	0,33
10	7. Tag (19. IV.)	960	0,110	0,15
11	7. Nacht (19.—20. IV.)	400	0,085	0,11
1 bis 11	Die ersten 7 Tage u. Nächte (außer den 1.)	7155	2,545	3,39
12	8. Tag (20. IV.)	930	0,040	0,05
13	8. Nacht (20.—21. IV.)	770	0,110	0,15
14	9. Tag (21. IV.)	1020	0,070	0,09
15	9. Nacht (21.—22. IV.)	360	0,090	0,12
16	12. Tag (24. IV.)	410	0,030	0,04
17	12. Nacht (24.—25. IV.)	750	0,060	0,08
18	15. Tag u. 15. Nacht (27.—28. IV.) . . .	1050	0,060	0,08
19	20. Tag u. 20. Nacht (2.—3. V.)	1310	0,012	0,02

XIV. Mann N—k.

Injektion (30. IV. 10, 11^h vm.) 0,3 g Salvarsan (= 90 mg As).

1	1. Tag (30. IV.)	530	0,21	0,23
2	1. Nacht (30. IV.—1. V.)	440	0,42	0,47
3	2. Tag (1. V.)	680	0,25	0,28
4	2. Nacht (1.—2. V.)	500	0,10	0,11
5	3. Tag (2. V.)	600	0,40	0,45
6	3. Nacht (2.—3. V.)	640	0,15	0,17
1 bis 6	Die ersten 3 Tage u. Nächte	3390	1,53	1,70
7	4. Tag (3. V.)	740	0,10	0,11
8	4. Nacht (3.—4. V.)	800	0,08	0,09
9	10. Nacht (9.—10. V.)	200	0,05	0,06

XV. Mann E—b.

Injektion (3. V. 10, 10^h vm.) 0,4 g Salvarsan (= 120 mg As).

1	1. Tag (3. V.)	260	4,15	3,46
2	1. Nacht (3.—4. V.)	470	1,83	1,53
3	5. Tag (7. V.)	400	1,59	1,33
4	5. Nacht (7.—8. V.)	430	1,88	1,57

Tabellen XIII bis XVIII (Fortsetzung).

Nr.	Zeit der Ausscheidung	Harn- menge ccm	Arsengehalt	
			mg	% der injizierten Menge

XVI. Mann G—l.

Injektion (3. V. 10, 10^{1/4} vm.) 0,3 g Salvarsan (= 90 mg As).

1	1. Tag (3. V.)	750	0,63	0,70
2	1. Nacht (3.—4. V.)	980	1,50	1,67
3	5. Tag (7. V.)	600	1,16	1,29
4	7. Nacht (7.—8. V.)	670	1,55	1,72

XVII. Mann P—l.

Injektion (1. VI. 10, 11^{1/2} vm.) 0,5 g Salvarsan (= 150 mg As).

1	1. Tag (1. VI.)	1000	0,28	0,19
2	1. Nacht u. 2. Tag (1.—2. VI.)	420	0,32	0,21
3	2. Nacht (2.—3. VI.)	910	0,54	0,36
4	3. Tag (3. VI.)	800	0,60	0,40
5	3. Nacht (3.—4. VI.)	600	0,21	0,14
1 bis 5	Die ersten 3 Tage u. Nächte	3730	1,95	1,30
6	5. Tag (5. VI.)	770	0,26	0,17
7	5. Nacht (5.—6. VI.)	880	0,24	0,16
8	7. Tag (7. VI.)	800	0,03	0,02
9	7. Nacht (7.—8. VI.)	770	0,06	0,04
10	8. Tag (8. VI.)	760	0,04	0,03
11	14. Nacht u. Nacht u. 15. Tag (14.—15. VI.)	2100	0,03	0,02

XVIII. Mann G—m.

Injektion (5. VII. 10) 0,5 g Salvarsan (= 150 mg As).

11	11. Tag (15. VII.)	125	0,07	> 0,05
----	------------------------------	-----	------	--------

Tabellen XIX und XX.

Arsenausscheidung nach einmaliger subcutaner Injektion von
neutraler Salvarsansuspension bei Männern.

Nr.	Zeit der Ausscheidung	Harn- menge ccm	Arsengehalt	
			mg	% der injizierten Menge

XIX. Mann W—r.

Injektion (20. VIII. 10) 0,5 g Salvarsan (= 150 mg As).

1	74. Tag u. Nacht (2.—3. XI.)	1885	0,010	0,007
---	--	------	-------	-------

XX. Mann W—d—r.

Injektion (30. VIII. 10) 0,5 g Salvarsan (= 150 mg As).

1	64. Tag u. Nacht (2.—3. XI.)	1365	0,040	0,027
---	--	------	-------	-------

Tabellen XXI bis XXIII.

Arsenausscheidung nach einmaliger intravenöser Injektion von schwach alkalischer Salvarsanlösung bei Männern.

Nr.	Zeit der Ausscheidung	Harnmenge com	Arsengehalt	
			mg	% der injizierten Menge
XXI. Mann N—l.				
Injektion (1. XI. 10, 11 ^h vm.) 0,38 g Salvarsan (= 114 mg As).				
1	1. Tag (1. XI.)	710	1,30	1,14
2	1. Nacht (1.—2. XI.)	910	0,56	0,49
3	2. Tag (2. XI.)	650	0,11	0,10
4	2. Nacht (2.—3. XI.)	450	0,25	0,22
5	3. Tag u. Nacht (3.—4. XI.)	950	0,27	0,23
1 bis 5	Die ersten 3 Tage u. Nächte	3670	2,49	2,18
6	4. Tag (4. XI.)	440	0,09	0,08
7	4. Nacht (4.—5. XI.)	995	0,20	0,18
8	5. Tag u. Nacht (5.—6. XI.)	1280	0,18	0,16
9	6. Tag u. Nacht (6.—7. XI.)	1140	0,03	0,03
10	7. Tag u. Nacht (7.—8. XI.)	740	0,11	0,10
1 bis 10	Die ersten 7 Tage u. Nächte	8265	3,10	2,73
11	8. Tag u. Nacht (8.—9. XI.)	1050	0,07	0,06
12	9. Tag u. Nacht (9.—10. XI.)	1370	0,03	0,03
13	10. Tag u. Nacht (10.—11. XI.)	870	0,05	0,04
14	11. Tag u. Nacht (11.—12. XI.)	1510	0,09	0,08
15	12. Tag u. Nacht (12.—13. XI.)	1260	0,02	0,02
16	13. Tag u. Nacht (13.—14. XI.)	975	0,04	0,04
1 bis 16	Die ersten 13 Tage u. Nächte	15300	3,40	2,98
XXII. Mann F—ch.				
Injektion (3. XI. 10, 10 ^h / ₄ ^h vm.) 0,4 g Salvarsan (= 120 mg As).				
1	1. Tag (3. XI.)	225	0,19	0,16
2	1. Nacht (3.—4. XI.)	210	0,50	0,42
3	2. Tag (4. XI.)	840	0,07	0,06
4	2. Nacht (4.—5. XI.)	590	0,10	0,09
5	3. Tag u. Nacht (5.—6. XI.)	845	0,17	0,14
1 bis 5	Die ersten 3 Tage u. Nächte	2710	1,03	0,86
6	4. Tag u. Nacht (6.—7. XI.)	820	0,12	0,10
7	5. Tag u. Nacht (7.—8. XI.)	390	0,13	0,11
8	6. Tag u. Nacht (8.—9. XI.)	560	0,06	0,05
1 bis 8	Die ersten 6 Tage u. Nächte	4480	1,34	1,12
XXIII. Mann Z—n.				
Injektion (3. XI. 10, 10 ^h / ₄ ^h vm.) 0,25 g Salvarsan (= 75 mg As).				
1	1. Tag (3. XI.)	325	0,35	0,47
2	1. Nacht (3.—4. XI.)	440	0,12	0,16
3	2. Tag (4. XI.)	150	0,10	0,13
4	2. Nacht (4.—5. XI.)	620	0,12	0,16
5	3. Tag u. Nacht (5.—6. XI.)	475	0,20	0,27
1 bis 5	Die ersten 3 Tage u. Nächte	2010	0,89	1,19

Tabellen XXI bis XXIII (Fortsetzung).

Nr.	Zeit der Ausscheidung	Harn- menge ccm	Arsengehalt	
			mg	% der injizierten Menge
XXIII. Mann Z-n. (Fortsetzung).				
6	4. Tag u. Nacht (6.-7. XI.)	745	0,16	0,21
7	5. Tag u. Nacht (7.-8. XI.)	820	0,03	0,04
8	6. Tag u. Nacht (8.-9. XI.)	1050	0,02	0,03
1 bis 8	Die ersten 6 Tage u. Nächte	4625	1,10	1,47

Tabellen XXIV und XXV.

Arsenausscheidung nach zweimaliger intravenöser Injektion von schwach alkalischer Salvarsanlösung bei Männern.

Nr.	Zeit der Ausscheidung	Harn- menge ccm	Arsengehalt	
			mg	% der injizierten Menge

XXIV. Mann H-e.

1. Injektion (17. X. 10) 0,4 g Salvarsan (= 120 mg As).

2. Injektion (24. II. 11) 0,3 g Salvarsan (= 90 mg As).

1	90. Nacht (25.-26. V. 11.) nach der 2. Injektion	580	0,0005	0,0005
---	---	-----	--------	--------

XXV. Mann X.

1. Injektion (28. I. 11) 0,3 g Salvarsan (= 90 mg As).

2. Injektion (11. IV. 11) 0,3 g Salvarsan (= 90 mg As).

1	38. Tag (19. V. 11.) nach der 2. Injektion	675	0,001	0,001
---	--	-----	-------	-------

lösung in Tabellen XXI bis XXIII aufgeführt; außerdem sind noch zwei einzelne Proben nach zweimaliger intravenöser Injektion untersucht (Tabellen XXIV und XXV).

Aus sämtlichen Versuchsergebnissen geht hervor, daß die Arsenausscheidung ganz allgemein, unabhängig von der Art der Salvarsanlösung und der Injektion, außerordentlich langsam erfolgt. Nur in den Fällen XV, XVI und XXI (1. Tag) übersteigen die binnen 12 Stunden ausgeschiedenen Arsenmengen den Wert von 1%; in allen anderen Fällen bewegen sich die Zahlen in den Größen von einigen Zehntel-Prozent. Die Abweichungen im einzelnen lassen keinerlei Gesetzmäßigkeiten erkennen, auch nicht etwa, daß bei intravenöser Injektion (XXI bis XXIII) die Ausscheidung schneller verlief als bei intramuskulärer (XIII bis XVIII). In den ersten 3 Tagen wurden ausgeschieden

bei intramuskulärer Injektion: $> 0,86\%$ (XIII), $1,70\%$ (XIV), $1,30\%$ (XVII); bei intravenöser: $2,18\%$ (XXI), $0,86\%$ (XXII), $1,19\%$ (XXIII).

Die Dauer der Arsenausscheidung ist, den geringen Tageswerten von Anfang an entsprechend, sehr groß. Bei intramuskulärer Injektion waren am 7. Tage noch nachzuweisen: $0,26\%$ (XIII), $> 1,72\%$ (XVI), $0,06\%$ (XVII), am 14. Tage $0,02\%$ (XVII), am 20. Tage noch $0,02\%$ (XIII). Bei subcutaner Injektion war einmal am 64. Tage noch $0,027\%$ (XX), ein andermal am 74. Tage noch $0,007\%$ (XIX) Arsen nachweisbar. Bei intravenöser Injektion fanden sich am 6. Tage $0,03\%$ (XXI), $0,05\%$ (XXII), $0,03\%$ (XXVIII), am 13. Tage noch $0,04\%$ (XXI) Arsen im Harn. Nach zweimaliger intravenöser Injektion war einmal (XXV) 38 Tage nach der 2. Injektion im Tagesharn $0,001\%$ Arsen, ein andermal (XXIV) 90 Tage nach der 2. Injektion im Nachtharn $0,0005\%$ Arsen nachweisbar.

b) Frauen (Tab. XXVI bis XXXIV).

Bei den Frauen verläuft die Arsenausscheidung ganz ähnlich wie bei den Männern, nur im ganzen etwas schneller, wie die folgenden Tabellen XXVI bis XXXIV zeigen. In den ersten 3 Tagen wurden ausgeschieden bei intramuskulärer Injektion: $> 4,59\%$ (XXVI), $> 1,26\%$ (XXVIII), bei sub-

Tabellen XXVI bis XXVIII.

Arsenausscheidung nach einmaliger intramuskulärer Injektion von saurer Salvarsanlösung bei Frauen.

Nr.	Zeit der Ausscheidung	Harnmenge ccm	Arsengehalt	
			mg	% der injizierten Menge

XXVI. Frau H—g.

Injektion (19. IV. 10, 11^a vm.) 0,3 g Salvarsan (= 90 mg As).

1	1. Tag (19. IV.)	360	?	?
2	1. Nacht u. 2. Tag (19.—20. IV.) . .	850	2,50	2,78
3	2. Nacht (20.—21. IV.)	720	0,59	0,66
4	3. Tag (21. IV.)	490	0,44	0,49
5	3. Nacht (21.—22. IV.)	275	0,60	0,67
1 bis 5	Die ersten 3 Tage u. Nächte . . .	2695	$> 4,13$	$> 4,59$

Tabellen XXVI bis XXVIII (Fortsetzung).

Nr.	Zeit der Ausscheidung	Harn- menge ccm	Arsengehalt	
			mg	‰ der injizierten Menge
6	4. Tag (22. IV.)	560	0,50	0,56
7	4. Nacht u. 5. Tag (22.—23. IV.) . .	980	0,75	0,83
8	6. Tag (24. IV.)	700	0,48	0,53
9	7. Tag (25. IV.)	410	0,09	0,10
10	8. Tag (26. IV.)	460	0,26	0,29
11	8. Nacht (26.—27. IV.)	660	0,09	0,10
12	9. Tag (27. IV.)	830	0,02	0,02
13	9. Nacht (27.—28. IV.)	320	0,07	0,08
14	10. Tag (28. IV.)	680	0,03	0,03
15	10. Nacht (28.—29. IV.)	470	0,01	0,01
16	11. Tag (29. IV.)	550	0,02	0,02
17	11. Nacht (29.—30. IV.)	440	0,02	0,02
18	12. Tag (30. IV.)	640	0,05	0,06
19	12. Nacht (30. IV.—1. V.)	600	0,002	0,002
20	14. Tag u. Nacht (2.—3. V.)	900	0,010	0,011
21	36. Tag u. Nacht (24.—25. V.)	1100	0,0	0,0

XXVII. Frau H—k.

Injektion (19. IV. 10, 11^{1/4} h vm.) 0,3 g Salvarsan (= 90 mg As).

1	1. Tag (19. IV.)	280	0,20	0,22
2	1. Nacht u. 2. Tag (19.—20. IV.) . .	590	0,20	0,22
3	11. Tag (29. IV.)	540	0,02	0,02
4	11. Nacht (29.—30. IV.)	550	0,03	0,03
5	21. Tag (9. V.)	640	0,02	0,02
6	24. Tag u. Nacht (12.—13. V.)	510	0,01	0,01
7	36. Tag u. Nacht (24.—25. V.)	960	0,03	0,03

XXVIII. Frau G—n.

Injektion (28. IV. 10, 10^{1/2} h vm.) 0,3 g Salvarsan (= 90 mg As).

1	1. Tag (28. IV.)	215	0,10	0,11
2	1. Nacht (28.—29. IV.)	360	0,35	0,39
3	2. Nacht (29.—30. IV.)	200	0,17	0,19
4	3. Tag (30. IV.)	250	0,25	0,28
5	3. Nacht (30. IV.—1. V.)	200	0,26	0,29
1 bis 5	Die ersten 3 Tage u. Nächte . . .	1225	> 1,13	> 1,26
6	5. Tag (2. V.)	380	0,16	0,18
7	5. Nacht (2.—3. V.)	300	0,23	0,26
8	11. Tag u. Nacht (8.—9. V.)	1090	0,05	0,06
9	15. Nacht (12.—13. V.)	500	0,06	0,07
10	27. Tag u. Nacht (24.—25. V.)	610	0,03	0,03

Tabellen XXIX bis XXXI.

Arsenausscheidung nach einmaliger subcutaner Injektion von
neutraler Salvarsansuspension bei Frauen.

XXIX. Frau O—t.

Injektion (24. X. 10, 7^h ab.) 0,45 g Salvarsan (= 135 mg As).

1	1. Nacht u. Tag (24.—25. X.)	965	0,30	0,22
2	2. Nacht (25.—26. X.)	900	0,20	0,15
3	2. Tag (26. X.)	755	0,10	0,07
4	3. Nacht (26.—27. X.)	335	0,40	0,30
1 bis 4	Die ersten 2 Tage u. 3 Nächte . .	2955	1,00	0,74

Tabellen XXIX bis XXXI (Fortsetzung).

Nr.	Zeit der Ausscheidung	Harn- menge ccm	Arsengehalt	
			mg	% der injizierten Menge
5	4. Tag u. 5. Nacht (28.—29. X.) . . .	590	0,25	0,18
6	6. Tag u. 7. Nacht (30.—31. X.) . . .	865	0,26	0,20
7	7. Tag u. 8. Nacht (31. X.—1. XI.) . . .	515	0,15	0,11
8	8. Tag u. 9. Nacht (1.—2. XI.)	1075	0,17	0,13

XXX. Frau B—h.

Injektion (19. X. 10) 0,5 g Salvarsan (= 150 mg As).

1	94. Tag (22. I. 11)	920	0,010	0,007
---	-------------------------------	-----	-------	-------

XXXI. Frau P—l.

Injektion (25. X. 10, 11^b vm.) 0,45 g Salvarsan (= 135 mg As).

in Paraffin.

1	1. Tag u. Nacht (25.—26. X.)	550	0,80	0,60
2	2. Tag (26. X.)	230	0,50	0,37
3	2. Nacht (26.—27. X.)	175	0,40	0,30
4	3. Tag u. Nacht (27.—28. X.)	615	0,24	0,18
1 bis 4	Die ersten 3 Tage u. Nächte	1570	1,94	1,45
5	4. Nacht (28—29. X.)	370	0,35	0,26

Tabellen XXXII und XXXIII.

Arsenausscheidung nach einmaliger intravenöser Injektion von schwachalkalischer Salvarsanlösung bei Frauen.

Nr.	Zeit der Ausscheidung	Harn- menge ccm	Arsengehalt	
			mg	% der injizierten Menge

XXXII. Frau S—i.

Injektion (2. XI. 10, 11^{3/4} vm.) Salvarsan (= 90 mg As).

1	1. Tag u. Nacht (2.—3. XI.)	1000	2,23	2,48
2	2. Tag u. Nacht (3.—4. XI.)	1135	0,56	0,62
3	3. Tag (4. XI.)	785	0,36	0,40
1 bis 3	Die ersten 3 Tage u. 2 Nächte	2920	3,15	3,50
4	5. Tag u. Nacht (6.—7. XI.)	1600	0,30	0,33
5	7. Tag u. Nacht (8.—9. XI.)	1270	0,23	0,26
6	8. Tag u. Nacht (9.—10. IX.)	1275	0,32	0,36
7	9. Tag u. Nacht (10.—11. XI.)	1180	0,22	0,25
8	10. Tag u. Nacht (11.—12. XI.)	1850	0,12	0,13

XXXIII. Frau N—e.

Injektion (1. XII. 10) 0,3 g Salvarsan (= 90 mg As).

1	52. Tag (22. I. 11)	690	0,0015	0,0017
---	-------------------------------	-----	--------	--------

Tabelle XXXIV.

Arsenausscheidung nach zweimaliger intravenöser Injektion von schwachalkalischer Salvarsanlösung bei Frau K.—r.

Nr.	Zeit der Ausscheidung	Harn- menge ccm	Arsengehalt	
			mg	% der injizierten Menge
	1. Injektion (14. I. 11) 0,3 g Salvarsan (= 90 mg As).			
	2. Injektion (17. II. 11) 0,3 g Salvarsan (= 90 mg As).			
1	90. Tag (17. V. 11.)	520	0,001	0,001
2	90. Nacht (17.—18. V. 11.) nach der 2. In- jektion	560	0,002	0,002
		1080	0,003	0,003

cutaner: $> 0,74\%$ (XXIX), $1,45\%$ (XXXI), bei intravenöser: $> 3,50\%$ (XXXII).

Auch bezüglich der Dauer der Ausscheidung ist es bei den Frauen ganz ähnlich: Am 7. Tage waren noch nachzuweisen: $> 0,10\%$ (XXVI, intramuskulär), $0,11\%$ (XXIX, subcutan), $0,26\%$ (XXXII, intravenös); am 14. Tage: $0,01\%$ (XXVI); am 36. Tage: $0,03\%$ (XXVII), $0,0\%$ (XXVI, intramuskulär); am 52. Tage: $0,0017\%$ (XXXIII, intravenös); am 90. Tage nach der 2. intravenösen Injektion: $0,003\%$ (XXXIV); am 94. Tage (nach einer subcutanen Injektion): $0,007\%$ (XXX).

In der Tabelle Z 3 sind die wichtigsten Ergebnisse der Salvarsan-Untersuchungen zur besseren Übersicht zusammengestellt.

IVb. Neosalvarsan.

A. Analyse des Präparates.

Nach Angabe des Prospektes der Höchster Farbwerke enthält das Neosalvarsan „neben indifferenten anorganischen Salzen“ als wirksamen Bestandteil: dioxy-diamido-arsenobenzol-monomethan-sulfinsaures Natrium von der Formel



Es wird durch Anlagerung von formaldehydsulfoxylsaurem Natrium $\text{CH}_2(\text{OH})\text{OSONa}$ an Salvarsan und Ausfällen der wäßrigen Lösung mit Alkohol dargestellt.

Von einigen Proben des für die Injektionen verwendeten Präparates wurde der Wasser- und Arsengehalt in der üblichen Weise bestimmt.

Z. 3.
Zusammenstellung für die Arsenausscheidung beim Salvarsan.

	Saure Lösung intramuskulär						Neutrale Suspension subcutan				Schwach alkalische Lösung intravenös			
	Männer			Frauen			Frauen		Männer		Männer		Frau	
	XIII. D-g.	XIV. N-k.	XVII. P-l.	XXVI. H-g.	XXVIII. G-n.	XXIX. O-t.	XXIX. P-l.	XXI. N-l.	XXII. F-ch.	XXIII. Z-n.	XXXII. S-i.			
Injektion	0,25 g (75 mg As) o/o	0,5 g (90 mg As) o/o	0,5 g (150 mg As) o/o	0,3 g (90 mg As) o/o	0,3 g (90 mg As) o/o	0,45 g (135 mg As) o/o	0,45 g (135 mg As) o/o	0,38 g (114 mg As) o/o	0,4 g (120 mg As) o/o	0,25 g (75 mg As) o/o	0,5 g (90 mg As) o/o			
Erste 24 Std.	?	0,70	0,40	> 3,43	0,50	0,22	0,60	1,63	0,57	0,63	2,48			
Zweite 24 Std.	0,60	0,39	0,36	> 1,16	> 0,19	0,22	0,67	0,32	0,15	0,29	0,62			
Dritte 24 Std.	0,26	0,61	0,54	1,16	0,57	> 0,30	0,18	0,23	0,14	0,27	> 0,40			
Erste 3 × 24 Std. . . .	> 0,86	1,70	1,30	> 4,59	> 1,26	> 0,74	1,45	2,18	0,86	1,19	> 3,50			
Vierte 24 Std.	0,64	0,20	?	> 1,39	?	0,18	> 0,26	0,26	0,10	0,21	?			
Fünfte 24 Std.	0,60	?	0,33	0,44	0,44	?	—	0,16	0,11	0,04	0,33			
Erste 5 × 24 Std. . . .	> 2,10	> 1,90	> 1,63	> 5,98	> 1,70	> 0,92	—	2,60	1,07	1,44	> 3,88			
Sechste 24 Std.	1,03	—	?	> 0,53	—	0,20	—	0,03	0,05	0,03	?			
Siebente 24 Std. . . .	0,26	—	0,06	> 0,10	—	0,11	—	0,10	?	?	0,26			
Erste 7 × 24 Std. . . .	> 3,39	—	> 1,69	> 6,61	—	> 1,23	—	2,73	> 1,12	> 1,47	> 4,09			
Achte 24 Std.	0,20	—	—	0,39	—	0,13	—	0,06	—	—	0,36			
Neunte 24 Std.	0,21	—	—	0,10	—	—	—	0,03	—	—	0,25			
Zehnte 24 Std.	?	—	—	0,04	—	—	—	0,04	—	—	0,13			

1. Wasserbestimmung durch Trocknen bei 110°:

a) 0,2947 g verloren 0,0263 g = 8,93% H₂O

b) 0,6184 g " 0,0552 g = 8,93% "

Mittel: = 8,93% H₂O

2. Arsenbestimmung:

a) 0,4460 g gaben 0,1733 g Mg₂A₂O₇ = 18,76% As

b) 0,4342 g " 0,1665 g " = 18,52% As

Mittel: 18,63% As.

Aus der oben angegebenen Formel berechnet sich für das reine Neosalvarsan ein Gehalt von 32,18% As. Legt man diesen Wert für die Berechnung zugrunde, so ergibt sich ein Gehalt des Präparates an wirklichem Neosalvarsan von 57,90%, oder mit dem gefundenen 8,93% Krystallwasser zusammen: 66,83% krystallwasserhaltiges Neosalvarsan. In dem Präparate sind also rund 2 Gewichtsteile Neosalvarsan mit 1 Gewichtsteile „indifferenter Salze“, deren Natur ich nicht näher untersucht habe, gemischt.

Für das krystallwasserhaltige Neosalvarsan selber würden sich aus obigen Analysen ergeben: 27,88% As und 13,36% H₂O.

Diese Werte stimmen sehr gut auf ein mit 4 Mol H₂O krystallisierendes Neosalvarsan:

C₁₈H₁₃O₄N₂As₂SNa, 4 H₂O, für das sich berechnen: 27,87% As und 13,39% H₂O.

F. Lehmann¹⁾ fand beim Titrieren des Arsens mit Jod und Thiosulfat im Neosalvarsan 22,02% As.

B. Untersuchungsverfahren.

Hier wurde ebenso wie bei den Salvarsan-Harnproben das Salpeterschmelzverfahren angewendet und das Arsen schließlich im Marshschen Apparate bestimmt.

C. Untersucher Neosalvarsan-Fall.

Für die Untersuchung wurden die Harnproben einer Frau A—t (Tabelle XXXV) benutzt, der mit mehrtägigen Zwischenpausen 3 intravenöse Injektionen, 1. 0,1, 2. 0,3, 3. 0,5 g Neosalvarsan und dann noch 2 intravenöse Injektionen von je

¹⁾ Apoth.-Ztg. 27, 545, 1912.

0,5 g Salvarsan verabreicht wurden. Die Untersuchungen sind lückenlos vom 1. bis 13. und 17. bis 23. Tage nach der 1. Injektion (bis zum 2. Tage nach der letzten [5.] Injektion) durchgeführt.

Tabelle XXXV.

Arsenausscheidung nach mehrmaliger intravenöser Injektion von Neosalvarsan und Salvarsan bei Frau A.—t.

Nr.	Zeit der Ausscheidung	Harnmenge ccm	Arsengehalt		
			mg	% der einzelnen In- jektionen	
1. Injektion (25. VI. 12, 12 ^h m.) 0,1 g Neosalvarsan			19 mg		
1	1. Tag u. Nacht (25.—26. VI.) . .	585	0,40	2,15	—
2	2. Tag u. Nacht (26.—27. VI.) . .	685	0,48	2,58	—
3	3. Tag u. Nacht (27.—28. VI.) . .	530	0,45	2,42	—
1 bis 3	Die ersten 3 Tage u. Nächte . . .	1800	1,33	7,15	—
2. Injektion (28. VI., 12 ^h m.) 0,3 g Neosalvarsan,			56 mg	74 mg	
4	4. Tag u. Nacht (28.—29. VI.) . .	940	2,30	4,11	3,11
5	5. Tag u. Nacht (29.—30. VI.) . .	780	1,00	1,79	1,34
6	6. Tag u. Nacht (30. VI.—1. VII.) .	865	0,15	0,26	0,21
4 bis 6	Die ersten 3 T. u. N. nach d. 2. Injekt.	2585	3,45	6,16	4,66
7	7. Tag u. Nacht (1.—2. VII.) . . .	800	0,45	0,80	0,61
4 bis 7	Die ersten 4 T. u. N. nach d. 2. Injekt.	3385	3,90	6,96	5,27
3. Injektion (2. VII., 12 ^h m.) 0,5 g Neosalvarsan,			93 mg	167 mg	
8	8. Tag u. Nacht (2.—3. VII.) . . .	850	1,70	1,83	1,02
9	9. Tag u. Nacht (3.—4. VII.) . . .	1390	1,00	1,08	0,60
10	10. Tag u. Nacht (4.—5. VII.) . . .	920	1,40	1,51	0,84
8 bis 10	Die ersten 3 T. u. N. nach d. 2. Injekt.	3160	4,10	4,42	2,46
11	11. Tag u. Nacht (5.—6. VII.) . . .	950	1,30	1,40	0,78
12	12. Tag u. Nacht (6.—7. VII.) . . .	1060	0,30	0,32	0,18
13	13. Tag u. Nacht (7.—8. VII.) . . .	1000	0,22	0,23	0,13
8 bis 13	Die ersten 6. T. u. N. nach d. 3. Injekt.	6170	5,92	6,37	3,55
4. Injektion (9. VII., 12 ^h m.) 0,5 g Salvarsan			150 mg	317 mg	
14	17. Tag u. Nacht (11.—12. VII.) . .	820	0,95	0,63	0,30
15	18. Tag u. Nacht (12.—13. VII.) . .	980	0,60	0,40	0,19
16	19. Tag u. Nacht (13.—14. VII.) . .	780	1,50	1,00	0,47
17	20. Tag u. Nacht (14.—15. VII.) . .	790	0,65	0,43	0,21
18	21. Tag u. Nacht (15.—16. VII.) . .	835	0,50	0,33	0,16
14—18	Die 3. bis 7. T. u. N. nach d. 4. Injekt.	4205	4,20	2,79	1,33

Tabelle XXXV (Fortsetzung).

Nr.	Zeit der Ausscheidung	Harn- menge ccm	Arsengehalt		
			mg	% der einzelnen In- jektionen	
	5. Injektion (16. VII., 12 ^h m.) 0,5 g Salvarsan		150 mg	467 mg	
			As	As	
19	22. Tag u. Nacht (16.—17. VII.) . .	745	0,90	0,60	0,19
20	23. Tag u. Nacht (17.—18. VII.) . .	860	0,90	0,60	0,19
19—20	Die ersten 2 T. u. N. nach d. 5. Injekt.	1605	1,80	1,20	0,38

Die ausgeschiedenen Arsenmengen sind in Tabelle XXXV als Prozente sowohl auf die einzelnen Injektionsmengen als auf die Gesamtmenge der bereits ausgeführten Injektionen berechnet. Es zeigt sich, daß zunächst nach der 1. Injektion die Arsenausscheidung, verglichen mit der bei Salvarsan, ziemlich erheblich ist, 2 bis $2\frac{1}{2}\%$ täglich, so daß in den ersten 3 Tagen schon $7,15\%$ As ausgeschieden ist. Bei Wiederholung der Injektionen macht sich dann alsbald der ja auch in anderen Fällen beobachtete verzögernde Einfluß bemerkbar, so daß in den ersten 3 Tagen nach der 2. Injektion nur $6,16\%$ der 2. Injektion oder $4,66\%$ von der 1. und 2., in den ersten 3 Tagen nach der 3. Injektion nur noch $4,42\%$ der 3. Injektion oder $2,46\%$ von der 1., 2. und 3. Injektion ausgeschieden werden usw. Es zeigt sich also eine ganz regelmäßige Abnahme. Nach der 5. Injektion (Salvarsan) kamen an den ersten beiden Tagen nur noch je $0,60\%$ der 5. Injektion oder $0,19\%$ der Gesamtmenge Arsen zur Ausscheidung.

D. Untersuchungen anderer über Salvarsanausscheidung.

Dem lebhaften Interesse entsprechend, das dem Salvarsan gleich nach seiner ersten Anwendung als Specificum gegen Syphilis entgegengebracht wurde, ist auch eine größere Anzahl Untersuchungen über die Arsenausscheidung bei Anwendung dieses Heilmittels ausgeführt, jedoch meist nur qualitativer Art. Folgende Angaben habe ich in der einschlägigen Literatur gefunden:

Karl Greven¹⁾ wies mit dem von Gosio angegebenen

¹⁾ Münch. med. Wochenschr. 57, 2079, 1910.

biologischen Verfahren (Kultur von *penicillium brevicaulis*) 14 bis 18 Tage lang nach der Salvarsaninjektion Arsen im Harn nach; bei gleichzeitiger Behandlung der Patienten mit Quecksilber verzögerte sich die Arsenausscheidung auf 20 bis 25 Tage. A. Bornstein¹⁾ fand 3 Wochen nach intramuskulärer Injektion von 0,5 g Salvarsan noch Arsen im Harn, nach 5 bis 7 Wochen nicht mehr. E. Finger²⁾ gibt an, sogar 9 Monate nach einmaliger Injektion von 0,4 g Salvarsan noch deutlich Arsen im Harn nachgewiesen zu haben. W. A. Merkuriew³⁾ konnte mit einem recht komplizierten Verfahren nach intravenöser Salvarsaninjektion noch 9 bis 16 Tage, nach intramuskulärer noch 25 Tage bis 6 Monate Arsen im Harn nachweisen. Nach Adriano Valenti⁴⁾ beträgt die Dauer der Ausscheidung beim Menschen mindestens 11 Tage, beim Hund jedoch 23 bis 25 Tage.

J. Abelin⁵⁾ benutzt eine Farbenreaktion (Diazotieren in dem angesäuerten Harn mit Nitritlösung, Kupplung mit Resorcin in Sodalösung zu löslichem rotem Azofarbstoff) zum Nachweis, daß das Salvarsan zum Teil wenigstens als solches unverändert durch den Harn ausgeschieden wird. Mit dieser Azoreaktion, deren Empfindlichkeit 1:100 000 beträgt, ließ sich bereits 5 bis 10 Minuten nach intravenöser Injektion Salvarsan im Harn nachweisen und blieb als solches noch 5 bis 6 Stunden, in einzelnen Fällen auch 8 bis 11 Stunden nachweisbar. Bei neueren Versuchen⁶⁾ erhielt Abelin nach intravenöser Injektion nur während der ersten 5 Stunden deutlich positive Reaktion, nach intramuskulärer Injektion war sie jedoch in den ersten 24 Stunden ganz negativ. J. Escalon⁷⁾ fand unter Benutzung der Abelin'schen Farbenreaktion zwei Maxima in dem Verlauf der Salvarsanausscheidung: das erste 4 bis 5 Stunden, das zweite 20 bis 28 Stunden nach der Injektion. Die letzten nachweisbaren

¹⁾ Deutsche med. Wochenschr. 37, 112, 1911.

²⁾ Berl. klin. Wochenschr. 48, 785, 1911.

³⁾ Wiener klin. Wochenschr. 25, 588, 1912.

⁴⁾ Arch. d. Farmacol. sperim. 13, 165, 1912.

⁵⁾ Münch. med. Wochenschr. 58, 1002 u. 1771, 1911.

⁶⁾ Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 75, 317, 1914.

⁷⁾ Lyon médical 1912, Nr. 36 (Referat: Berl. klin. Wochenschr. 49, 2046, 1912).

Spuren verschwanden nach 40 bis 59 Stunden. Auf weiteren Arsengehalt hat er nicht geprüft.

Quantitative Bestimmungen der Salvarsanausscheidung liegen, soviel ich sehe, nur von zwei Seiten vor: Ph. Fischer und J. Hoppe¹⁾ fanden auch beim Salvarsan auffallend hohe Werte: z. B. nach subcutaner Injektion im Harn der ersten 3 Tage bei zwei Paralytikern 18,3⁰/₀ und 15,3⁰/₀ der injizierten Arsenmenge, bei einem Epileptiker 28,5⁰/₀; nach intravenöser Injektion bei einem Paralytiker sogar 74,0⁰/₀ und am folgenden Tage den Harn bereits arsenfrei. Von den erstgenannten beiden Paralytikern sollen binnen 7 Tagen 43,0⁰/₀, bzw. binnen 10 Tagen 42,2⁰/₀ As im ganzen ausgeschieden sein. Auch in einigen anderen Fällen zeigte sich die Arsenausscheidung nach subcutaner Injektion bei Paralytikern spätestens binnen 12 bis 14 Tagen beendet. Bei Epileptikern mit guten Nierenfunktionen war der Harn schon am 5. Tage arsenfrei. Nach intravenöser Injektion war die Ausscheidung im allgemeinen bereits binnen 3 Tagen beendet. Im Kot konnten Fischer und Hoppe auch mehrere Tage lang Arsen nachweisen.

Die andere quantitative Untersuchungsreihe stammt von Frenkel-Heiden und E. Navassart²⁾ (Charité), die in über 200 Einzelanalysen ebenfalls nachwiesen, daß die Arsenausscheidung individuellen Schwankungen unterworfen, wahrscheinlich vom Allgemeinbefinden und besonders vom Nierenzustande abhängig ist. In keinem Falle konnten sie aber solch große Tagesmengen und eine derartige schnelle Beendigung der Arsenausscheidung beobachten wie Fischer und Hoppe. Der große Unterschied in den beiderseitigen Befunden beruht wahrscheinlich auf den verschiedenen Arbeitsverfahren. In einer späteren Veröffentlichung³⁾ geben Frenkel-Heiden und Navassart an, daß nach subcutaner und intramuskulärer Injektion von 0,3 bis 0,5 g Salvarsan durchschnittlich 0,4 bis 0,5 mg Arsen binnen 24 Stunden im Harn erscheint, höchstens aber 1,5 mg. Diese Werte stimmen mit den von mir gefundenen ziemlich überein. Nach intravenöser Injektion fand sich als Höchstbetrag in den ersten beiden Tagen 5,6 mg As, im übrigen durchschnittlich

¹⁾ Münch. med. Wochenschr. 57, 1531, 1910.

²⁾ Berl. klin. Wochenschr. 48, 1367, 1911.

³⁾ Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Therap. 13, 531, 1913.

auch 0,4 mg in den ersten 10 bis 14 Tagen. Durch den Kot wurde die 2- bis 10fache Menge Arsen ausgeschieden.

Schluß.

Um die Hauptergebnisse der durchgeführten Untersuchungen besser überblicken und gegenseitig vergleichen zu können, habe ich die Durchschnittswerte der verschiedenen Parallelfälle nach Mann und Frau geordnet in der Gesamt-Zusammenstellung Z 4 aufgeführt und in dem Kurvenbild außerdem die für die Männer sich ergebenden Durchschnittswerte wiedergegeben.

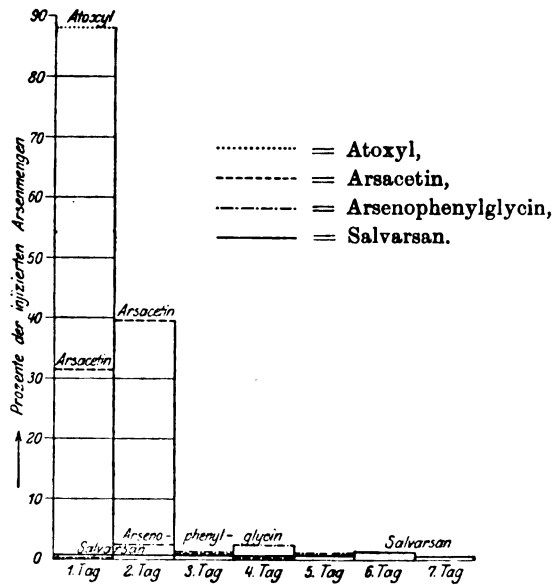


Fig. 1. Kurvenbild für die Durchschnittswerte der Arsenausscheidung bei Männern.

Der Stärke und Schnelligkeit der Arsenausscheidung nach ordnen sich die Arsenikalien in abnehmendem Maße in der Reihenfolge: Atoxyl, Arsacetin, Arsenophenylglycin, Neosalvarsan, Salvarsan. Die Unterschiede in dem Verlauf der Ausscheidung sind jedoch so groß, daß man von zwei Gruppen sprechen kann: der Atoxyl-Gruppe, zu der noch Arsacetin gehört, und der Salvarsan-Gruppe, der noch Neosalvarsan

Z. 4.

**Gesamtzusammenstellung der Durchschnittswerte für die Arsenauscheidung nach einmaliger Injektion
der Arsenikalien.**

	Atoxyl		Arsacetin		Arseno-phenylglycin		Salvarsan				Neosalvarsan				
	subcutan		subcutan		intramuskulär		sauer intramuskulär		neutral subcutan		alkalisch intravenös		intravenös		
	Mann	Frau	Mann	Frau	Mann	Frau	Mann	Frau	Mann	Frau	Mann	Frau	Mann	Frau	
	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(2)	(2)	(2)	(2)	(3)	(1)	(1)	(1)	
%		%		%		%		%		%		%		%	
(Durchschnitt aus Fällen)															
Erste 24 Std.	88	—	31,4	39,0	0,1	7,5	0,6	> 2,1	—	0,4	0,9	2,5	—	—	2,2
Zweite 24 Std.	—	—	39,5	3,1	2,3	4,0	0,5	0,9	—	0,4	0,3	0,6	—	—	2,6
Dritte 24 Std.	—	—	0,7	0,4	1,0	2,2	0,4	—	—	0,3	0,2	> 0,4	—	—	2,4
Erste 3 > 24 Std.	—	—	71,6	42,5	3,4	13,7	1,5	> 3,0	—	1,1	1,4	> 3,5	—	—	7,2
Vierte 24 Std.	—	—	0,15	—	2,3	2,1	0,4	> 1,4	—	0,2	0,2	?	—	—	—
Fünfte 24 Std.	—	—	—	—	1,0	2,9	0,5	—	—	?	0,1	0,3	—	—	—
Erste 5 > 24 Std.	—	—	—	—	6,7	18,7	2,4	4,4	—	> 1,3	1,7	> 3,8	—	—	—
Sechste 24 Std.	—	—	—	—	—	3,1	1,0	> 0,5	—	0,2	0,04	?	—	—	—
Siebente 24 Std.	—	—	—	—	—	0,8	0,2	> 0,1	—	0,1	0,1	0,3	—	—	—
Erste 7 > 24 Std.	—	—	—	—	—	22,6	3,6	> 5,0	—	> 1,6	1,8	> 4,1	—	—	—

und Arsenophenyglycin zuzuzählen sind. Bei der Atoxyl-Gruppe wird schon am ersten oder an den ersten beiden Tagen der größte Teil des Arsens durch den Harn wieder ausgeschieden, bei der Salvarsan-Gruppe dagegen nur wenige Procente oder Bruchteile davon, so daß sich die Ausscheidung sehr in die Länge zieht.

Die von Fischer und Hoppe für Arsenophenyglycin und Salvarsan mitgeteilten Zahlen weichen sowohl von den Befunden von Frenkel-Heiden und Navassart als von den meinigen so stark ab, daß man versucht wird, nicht die tatsächlichen Verhältnisse, sondern gewisse Fehlerquellen des Untersuchungsverfahrens dafür verantwortlich zu machen.

Bei näherer Betrachtung unserer Fälle ergibt sich noch folgendes: Bei Mann und Frau ist die Ausscheidung im allgemeinen verschieden: Arsacetin wird vom Manne schneller ausgeschieden, Arsenophenyglycin und Salvarsan dagegen schneller von der Frau. Bei Atoxyl liegt nur ein Beispiel am Mann, beim Neosalvarsan nur eins an der Frau vor.

Das Arsacetin wird beim Durchgang durch den Organismus in geringem Maße abgebaut: teils (durch hydrolytische Abspaltung lediglich des Acetylrestes) zu freiem Atoxyl, teils noch weiter durch Abspaltung des Arsenrestes. Bei der Frau war dieser Molekularabbau stärker als beim Manne.

Gleichmäßig bei Mann und Frau zeigte sich ein wellenförmiger Verlauf in der täglichen Arsenausscheidung, indem in den ungeraden Halbtagen (erste, dritte, fünfte 12 Stunden usw.) regelmäßig mehr ausgeschieden wurde als in den geraden Halbtagen (zweite, vierte, sechste 12 Stunden usw.) nach der Injektion. Diese Periodizität war unabhängig davon, ob die Halbtage in die Tages- oder Nachtzeit fielen.

Übereinstimmend zeigte sich, wie schon früher bei dem Atoxyl-Fall, daß durch Wiederholung der Injektion die Ausscheidung verringert und verlangsamt wird. Das war sowohl beim Arsacetin wie beim Arsenophenyglycin und in besonders anschaulicher Weise beim Neosalvarsan zu beobachten.

Über die Dauer der Ausscheidung können endgültige Angaben nicht gemacht werden, da sich keine Gelegenheit bot, von allen untersuchten Fällen auch noch nach längerer

Zeit Harnproben zu erhalten, um festzustellen, wann die Arsenausscheidung tatsächlich beendet wäre.

Beim Arsacetin gehen die Beobachtungen nicht über die ersten 4 oder 5 Tage hinaus. Beim Arsenophenylglycin war 3 Wochen (23 Tage) nach der Injektion noch 0,04% Arsen im Harn nachzuweisen; auch nach Verlauf von annähernd 9 Wochen (61 Tagen) war der Harn der Frau noch nicht arsenfrei (0,01%).

Beim Salvarsan wurde nach intramuskulärer Injektion im Harn des Mannes noch nach 3 Wochen (20 Tagen) 0,02%, im Harn der Frau nach 4 Wochen (27 Tagen) und nach 5 Wochen (36 Tagen) 0,03% Arsen gefunden; in einem Falle war nach 5 Wochen der Harn arsenfrei. Nach subcutaner Injektion des Salvarsans war beim Manne nach 9 Wochen (64 Tagen) noch 0,03%, nach 10 $\frac{1}{2}$ Wochen (74 Tagen) noch 0,007% Arsen, bei der Frau nach 13 $\frac{1}{2}$ Wochen (94 Tagen) ebenfalls 0,007% Arsen nachzuweisen. Nach einmaliger intravenöser Injektion liegt vom Manne nur eine Untersuchung vom 13. Tage vor (0,04% As), bei der Frau fand sich noch nach 7 $\frac{1}{2}$ Wochen (52 Tagen) 0,002% Arsen im Halbtagesharn; nach zweimaliger intravenöser Injektion war im Halbtagesharn beim Manne nach 5 $\frac{1}{2}$ Wochen (38 Tagen) 0,001%, nach 13 Wochen (90 Tagen) beim Manne 0,0005%, bei der Frau im Ganztagesharn 0,003% Arsen enthalten. Somit scheint die Arsenausscheidung bei der Frau im allgemeinen länger zu dauern. Die von anderer Seite angegebene schnellere Ausscheidung nach intravenöser Injektion konnte hier nicht beobachtet werden.

Zur Kenntnis der Desaminierung.

Von

Karl Schweizer.

(Aus dem chemischen Laboratorium des botanischen Instituts der
Universität Genf.)

(Eingegangen am 3. September 1916.)

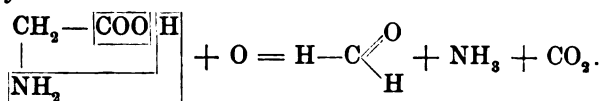
Bekanntlich glaubte man bis jetzt, daß die Desaminierung, d. h. das Freiwerden von Ammoniak als Schlußakt des Eiweißabbaues, durch gewisse Fermente, Desaminasen genannt, bewirkt werde. Diesen Desaminasen wurde eine hydrolytische Wirkung zugeschrieben. Meines Wissens konnte man sie aber bis jetzt nicht isolieren, und die bisherigen Versuche wurden entweder am lebenden Körper oder wenigstens an überlebenden Organen gemacht (Lang, Savaré, Bostock, Efront, Abderhalden und Schittenhelm, v. Fürth und Friedmann, Butkewitsch, Pringsheim, Ehrlich usw.). Nun beobachteten aber Chodat und Schweizer¹⁾ im Jahre 1913, daß auch ein oxydierendes Ferment die Desaminierung hervorruft. Es ist dies die Tyrosinase, die sich im Gegensatz zu den vermuteten Desaminasen mit Leichtigkeit aus den Organismen ausziehen läßt. Wir glaubten natürlich zuerst an eine neue Eigenschaft der Tyrosinase, doch werden wir weiter unten sehen, daß auch die Desaminierung aller Wahrscheinlichkeit nach durch die oxydierende Funktion dieses Fermentes bewirkt wird.

Dieser Gesichtspunkt wird noch dadurch gestützt, daß auch andere Oxydationsvorgänge diese Desamination bewirken können. So hat Butkewitsch²⁾ schon im Jahre 1902 beobachtet, daß die Abspaltung von Ammoniak durch *Aspergillus niger* nur bei Anwesenheit von Sauerstoff bewirkt werden kann; dasselbe fand er späterhin auch für die Keimlinge höherer

¹⁾ R. Chodat und K. Schweizer, La tyrosinase est aussi une désaminase. Arch. d. Sc. phys. et nat. 1913, IV^e période (35), p. 140.

²⁾ W. Butkewitsch, Umwandlung der Eiweißstoffe durch die niederen Pilze. Jahrb. f. wissenschaftl. Bot. 28, 147, 1902.

Pflanzen. Neuberg und Blumenthal¹⁾ haben als erste gezeigt, daß die Eiweißbaustoffe und die Aminosäuren durch Einwirkung von Wasserstoffsperoxyd und Eisensalzen ebenfalls Ammoniak abgeben. Eine Desamination wurde endlich auch von Neuberg durch die Einwirkung des Sonnenlichtes²⁾ in Gegenwart von Eisen- oder Uranylsalzen sowie durch den elektrischen Strom³⁾ erzielt. Als Produkte erhielt man in diesen Versuchen sowohl als auch in den unserigen neben Ammoniak noch Kohlensäure und einen um 1 Atom C ärmeren Aldehyd als die Aminosäure, von der man ausging. Als Beispiel erwähne ich hier den später noch zu besprechenden Fall des Glykokolls:



Meine Arbeiten, die ich unter Leitung von Herrn Prof. Dr. R. Chodat im Pflanzenchemischen Laboratorium der Universität Genf ausführte, scheinen also ein neues Licht auf die fermentative Desaminierung zu werfen. Es dürfte daher von einigem Interesse sein, hier die springenden Punkte zusammenzustellen.

Einleitend sei erwähnt, daß die Tyrosinase noch nicht lange bekannt ist. Die erste Beobachtung der oxydierenden Fermente ist wohl dem Basler Schönbein⁴⁾ zuzuschreiben. Er beobachtete schon im Jahre 1845 eine Bläuung der Guajakharztinktur durch Pflanzenteile. Er sprach von „fermentartigen Substanzen“. Ein Ferment, das Polyphenole, Jodwasserstoff und Ameisensäure oxydiert, erhielt zuerst die Bezeichnung „direktes Ferment“ zum Unterschied von einem anderen, das die nämlichen Oxydationen nur in Gegenwart von Wasserstoffsperoxyd hervorruft und „indirektes Ferment“ genannt wurde.

¹⁾ C. Neuberg und F. Blumenthal, Deutsche med. Wochenschr. 1901, Nr. 1; Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 1902, 2, 238.

²⁾ C. Neuberg, Chemische Umwandlungen durch Strahlenarten. I. u. IV. Mitteilung: Katalytische Reaktionen des Sonnenlichtes. Diese Zeitschr. 13, 305, 1908; 29, 279, 1910.

³⁾ C. Neuberg, Chemische Umwandlungen durch Strahlenarten. II. Mitteilung: Wirkungen des elektrischen Stromes. Diese Zeitschr. 17, 270, 1909.

⁴⁾ Schönbein, Poggendorfs Annal. 45, 67, 97 u. f.

Das erstere erhielt später von Bertrand¹⁾ den Namen „Lakkase“, da es nach Yoshida²⁾ im Milchsaft des Lackbaumes vorkommt. Später wollte man diese Bezeichnung durch „Phenolase“ ersetzen, was wohl keinen Vorteil bietet, denn gewöhnliche Sterbliche rechnen z. B. den Jodwasserstoff nicht zu den Phenolen; dieser Körper wird aber, wie bereits gesagt, von der Lakkase auch angegriffen. Das „indirekte Ferment“ wurde später von Linossier als Peroxydase bezeichnet. Im Jahre 1896 entdeckte dann Bertrand³⁾ noch ein drittes Oxydationsferment, das zwar viele Eigenschaften mit der Lakkase gemeinsam hat, dagegen auf Tyrosin spezifisch wirkt. Er gab ihm daher den Namen Tyrosinase.

Dieses Ferment diente mir nun für meine Versuche. Ich isolierte es aus Kartoffeln nach dem von R. Chodat in Abderhaldens Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden angegebenen Verfahren. Die so erhaltene Tyrosinase hat gegenüber anderen Vorkommnissen den Vorteil, frei von Aminosäuren zu sein, die in meinen Versuchen, wo ich ja gerade dieselben studieren wollte, gestört hätten.

Ich habe nun zuerst die Einwirkung von Tyrosinase allein auf die Aminosäuren studiert. Es ließ sich zum voraus erwarten, daß man weder das eine noch das andere der oben genannten drei Produkte in größerer Menge erhalten werde, denn Aldehyde, Ammoniak und Kohlensäure sind ja Verbindungen, die untereinander mit großer Leichtigkeit reagieren. Bekanntlich gehen Aldehyde mit Ammoniak, sowie Aldehyde unter sich eine Reaktion ein. Aldehyde wirken auch auf die NH_2 -Gruppe der Aminosäuren ein, und Ammoniak wird durch Kohlensäure neutralisiert. Endlich können die Aldehyde durch ihr Reduktionsvermögen die Reaktion im entgegengesetzten Sinne beeinflussen oder aus dem Reaktionsgemisch verschwinden durch Weiteroxydation zu der entsprechenden Säure. Wir werden später sehen, daß die Reaktion deutlicher wird, wenn wir

¹⁾ G. Bertrand, Sur le latex de l'arbre à laque. Compt. rend. 118, 1215, 1894.

²⁾ Kikowkuro Yoshida, Chemistry of laques (urushi). I. part. Journ. of the pharm. Soc. 43, 472, 1883.

³⁾ G. Bertrand, Sur une nouvelle oxydase, ou ferment soluble oxydant d'origine végétale. Compt. rend. 122, 1215, 1896; Bull. de la Soc. chim., 3^{me} série 1896, 15, 793.

eines der entstehenden Produkte eliminieren können (durch Phenole).

Die oben entwickelte Gleichung hat uns gezeigt, daß wir mit Glykokoll die Bildung von Formaldehyd erwarten. Um denselben zu erkennen, bediente ich mich der außerordentlich empfindlichen, von Schryver¹⁾ etwas abgeänderten Rimini-Reaktion. Den Ammoniak suchte ich in der üblichen Weise nach Neßler oder Trilliat²⁾.

Da bekanntlich die Tyrosinase in schwach alkalischem Milieu am besten reagiert, so führte ich die Versuche wie folgt aus:

	1.	2.	3.
Glykokoll	0,2 g	0,2 g	—
Kalkwasser	20 ccm	20 ccm	20 ccm
Dest. Wasser	20 ccm	20 ccm	20 ccm
Tyrosinase	—	0,05 g	0,05 g

Nach 24stündigem Einwirkenlassen destillierte ich ab, fing das Destillat in kaltem Wasser auf und versetzte mit Natronlauge. Die Wirkung von Tyrosinase auf Glykokoll (Nr. 2) zeigte eine starke Ammoniakbildung, während die beiden anderen Versuche nur Spuren von Ammoniak anzeigten. Ammoniakalische Silbernitratlösung wurde nur von Versuch 2 reduziert (Aldehyd).

Als alkalisches Milieu für die Tyrosinasewirkung eignet sich das Kalkwasser nicht nur, weil es ein nicht zu starkes Alkali ist, sondern auch weil es zugleich die entstehende Kohlensäure eliminiert, sei es entweder als Carbonat oder als Abkömmling der Carbaminsäure, die sich nach Siegfried³⁾ in Gegenwart einer Aminosäure bildet. Das Optimum der Konzentration dieses Alkalis gab mir folgender Versuch:

	Wasser	Kalkwasser
1.	40 ccm	—
2.	30 "	10 ccm
3.	20 "	20 "
4.	10 "	30 "
5.	—	40 "

¹⁾ S. B. Schryver, Photochemical formation of formaldehyd in green plants. Proc. Roy. Soc. London Ser. B 82, 227, 1910.

²⁾ Trilliat et Turchet, in Bertrand et Thomas, Guide pour les manipulations de chimie biologique, Paris 1910, p. 326.

³⁾ M. Siegfried, Über die Bindung von Kohlensäure durch amphotere Amidkörper. Zeitschr. f. physiol. Chem. 44, 85, 1905; 46, 410, 1905.

Die Fermentwirkung war am stärksten bei gleichen Quantitäten von Wasser und gesättigtem Kalkwasser (Nr. 3). Beim Vergleich mit anderen Alkalien (auf 40 ccm gelöst) ergab mir das Schryversche Reagens folgende Resultate:

	Kalkwasser (20 ccm)	Natrium- bicarbonate (0,2 g)	Calcium- carbonat (0,2 g)	Wasser
Aktive Tyrosinase . .	rot	rosa	rosa	schwach rosa
Inaktivierte „ . .	kaum gef.	kaum gef.	kaum gef.	kaum gef.

Antiseptische Versuche mit Toluol bestätigten die vorliegenden Versuche.

Ein Vergleichsversuch mit anderen Aminosäuren ergab beim Aufsuchen des Ammoniaks folgende Resultate:

1. Glykokoll: starke Reaktion.
2. Phenylglykokoll: sehr schwache Reaktion.
3. Asparagin: starke Reaktion.
4. Leucin: nichts.

Beim Phenylglykokoll ließ sich der entsprechende Benzaldehyd erwarten, der sich tatsächlich durch seinen Geruch nach bitteren Mandeln erkennen ließ. Aber auch hier kam die Reaktion bald zum Stillstand.

Dies ändert sich aber, wenn man noch ein Phenol zuzügt, wie z. B. das p-Kresol. Es findet dann sehr wahrscheinlich eine Elimination des einen oder anderen Reaktionsproduktes unter Bildung des von Chodat und Staub¹⁾ entdeckten Kresolazurs statt. Phenole bilden sich bekanntlich auch beim Eiweißabbau in der Natur, so daß wir uns also bei diesen Versuchen nicht zu sehr von den natürlichen Bedingungen entfernten.

Auch in diesem Falle bediente ich mich zuerst wieder der Kartoffeltyrosinase. Ihre Wirkung auf Aminosäuren sollte nach erwähnter Hypothese Kohlensäure in Freiheit setzen, was ich nun nachweisen wollte. Die entstehende Menge ist aber so gering, daß mit Bariumhydrat ein qualitativer Versuch sehr unsichere Resultate gab. Wenn man sich dagegen des Liebigschen Absorptionsapparates bedient, so wird die Kohlensäurebildung bestätigt.

Man führt zu diesem Zweck die Reaktion mit 15 ccm

¹⁾ R. Chodat et W. Staub, Nouvelles recherches sur les ferments oxydants. Arch. des Sc. physiques et naturelles 28, 172, 1907.

p-Kresollösung ($\frac{1}{250}$) und 10 ccm TyrosinaseLösung ($\frac{0,08}{20}$) in einer verschlossenen Waschflasche aus und saugt nach 24 Stunden die entstandene Kohlensäure mit in Kalilauge gewaschener Luft durch die Absorptionskugeln nach Liebig. Man beobachtet:

	Erhalten	Berechnet
1. mit 45 ccm Glykokoll ($\frac{0,75}{250}$) + 0 ccm Wasser:	0,0082 g	0,0879 g
2. " 30 " " + 15 " " :	0,0182 g	0,0586 g
3. " 15 " " + 30 " " :	0,0190 g	0,0293 g
4. " 10 " " + 35 " " :	kein Kresolazur mehr	

Die Zahlen nähern sich in Versuch 3 am meisten, es scheint aber, daß nicht alle Aminosäure umgesetzt werden kann.

Zum Nachweis von Aldehyd und Ammoniak destilliert man vorerst, da das Reaktionsgemisch gefärbt ist. Glykokoll und Phenylglykokoll geben eine starke Neßler-Reaktion, während sie mit Alanin und Tyrosin schwächer ausfällt. Glykokoll gibt auch hier wieder Formaldehyd, Phenylglykokoll den entsprechenden Benzaldehyd. Bei den beiden anderen Aminosäuren konnte die Aldehydbildung nicht demonstriert werden, denn schon p-Kresol allein, das in Spuren auch mitdestillierte, reduzierte die ammoniakalische Silbernitratlösung. Es ist selbstverständlich, daß ich vorstehende Versuche durch Leerversuche in allen denkbaren Kombinationen verifizierte¹⁾.

In diesem Falle war die Verwendung eines alkalischen Milieus nicht zulässig. Mit Glykokoll bildete sich weder Ammoniak, noch Formaldehyd, noch Kresolazur. Die Lösung blieb farblos. Dies läßt sich wahrscheinlich dadurch erklären, daß die OH-Gruppe (in p-) des Kresols durch das Alkali gesättigt wird.

Wenn man an Stelle der Aminosäuren das Pepton nimmt, so läßt sich eine starke Ammoniakbildung und gleichzeitig eine Spur von Formaldehyd erkennen. Beim Hinzufügen von Pepton zu den vorhin erwähnten Versuchen, d. h. neben Aminosäuren, konnte man sowohl mit Glykokoll als auch mit Phenylglykokoll keine Kresolazurfärbung mehr erhalten. Die Färbung war rötlich mit grüner Fluoreszenz, die Ammoniakreaktion stärker, während die Aldehydbildung abgeschwächt zu sein schien. Ein

¹⁾ Karl Schweizer, Tyrosinase et Désamination. Dissertation, Genf 1916.

Leerversuch ohne Tyrosinase gab keinen Ammoniak. Ein Versuch, das p-Kresol in vorigen Experimenten durch Pepton zu ersetzen, verlief negativ. Auch Glucose verzögert wie Pepton.

Wir prüften nun die erhaltenen Resultate auch noch mit physiologisch reiner Tyrosinase. Nach unserer im Jahre 1913 gemachten vorläufigen Mitteilung über die desaminierende Wirkung der Tyrosinase¹⁾ nahm Bach²⁾ im folgenden Jahre an, daß die Tyrosinase kein einheitliches Ferment sei. Nach ihm bestünde sie aus Aminoacidase (= Desaminase) und einer „gewöhnlichen Phenolase“ (= Lakkase). Hierauf konnten aber Chodat und Schweizer zeigen, daß dies nicht der Fall ist. Die Desamination findet nämlich auch statt, wenn man sich der Pilztyrosinase bedient, die weder Lakkase noch Peroxydase enthält. Im übrigen können die Wirkungen von Tyrosinase und Lakkase ja auch durch verschiedene Reaktion des Milieus getrennt werden. Auch die Peroxydase begünstigt die Kresolazurbildung nicht.

Nun hat uns auch noch die Frage beschäftigt, ob diese Desamination bei Gegenwart von Chlorophyll im gleichen Sinne verlaufe. Bekanntlich findet man in grünen Blättern Formaldehyd (Pollaci, Harvey, Gibson, Tothesley, Schryver). Da dies von einigen Seiten angezweifelt wird, wollte ich mich selbst davon überzeugen. Ich umwickelte einige Blätter eines kultivierten Papavers mit schwarzem Papier, während die anderen der Sonne ausgesetzt blieben. Je 5 g der Blätter wurden mit Wasser zerrieben und destilliert. Das Destillat, in 10 ccm Wasser aufgefangen, wurde mittels des Schryverschen Reagens auf Formaldehyd geprüft. Im Falle der besonnten Blätter erhielt man eine schwache Rötung, während die im Dunkeln gehaltenen Blätter gar keinen Formaldehyd zu enthalten scheinen. Obschon die Bildung von Formaldehyd aus Kohlensäure und Wasser nach der v. Bayer'schen Hypothese immer noch die größte Wahrscheinlichkeit besitzt, so kann daneben doch auch die Vermutung aufkommen, daß er sich auch in den Blättern, wenigstens zum Teil, durch

¹⁾ R. Chodat und K. Schweizer, diese Zeitschr. 57, 430, 1913.

²⁾ A. Bach, diese Zeitschr. 60, 221, 1914.

Einwirkung der Tyrosinase auf Eiweißabbauprodukte bildet. In der Tat konnte ich in vielen grünen Blättern und Knospen Tyrosinase konstatieren. Hierzu verrieb ich 2 g Blätter und neutralisierte den sauren Saft mit Kalkwasser. Beim Zusammenbringen mit 2 ccm p-Kresollösung ($\frac{1}{250}$) und 6 ccm Glykollösung ($\frac{0,75}{250}$) konnte dann die durch Tyrosinase hervorgerufene charakteristische Färbung erhalten werden. Ein Leer-versuch mit 8 ccm Wasser und 1 ccm Kalkwasser gab keine Rötung.

Ich extrahierte nun das Chlorophyll mittels Benzol und ließ dann in Gegenwart von Kreidepulver verdunsten. Dieses „Chlorophyllpulver“ beschleunigt sowohl im Licht als auch im Dunkeln die Desamination durch Tyrosinase. Das Schryversche Reagens zeigte folgende Resultate:

	Licht:	Dunkel:
Glykokoll	rosa	0
„ + Kreide allein	rosa	0
„ + „ mit Chloroph.	rosa	rosa
„ + „ „ „ + Tyrosinase	rot	rot
„ + „ „ „	rosa	rosa

Wahrscheinlich wirkt hier das Chlorophyll nur durch sein Reduktionsvermögen, ähnlich wie das p-Kresol in den vorangehenden Versuchen.

Mit Alanin waren keine unzweideutigen Resultate zu bekommen, dagegen war beim Phenylglykokoll der Benzaldehydgeruch stärker bei Anwesenheit von Chlorophyll. Dies könnte eventuell auf die Art und Weise der Benzaldehydbildung in gewissen Blättern schließen lassen.

Wie wir bereits bemerkt haben, spricht alles dafür, daß wir es bei vorstehenden Versuchen mit einer oxydativen Desaminierung zu tun haben. Wie ich einleitend erwähnt habe, beobachtete Butkewitsch dies auch in vivo. Es war deshalb wünschenswert zu wissen, ob die Wirkung der Tyrosinase auch nur bei Gegenwart von Sauerstoff stattfindet, wie dies der Fall bei *Aspergillus niger* ist. (Bekanntlich enthalten namentlich einige Pilze größere Quantitäten von Tyrosinase.)

Ich ersetzte den Sauerstoff also zuerst durch Kohlensäure. Obige Versuche gaben in dieser Atmosphäre nun tatsächlich keine Färbung, d. h. also auch keine Desamination.

Auffallenderweise trat aber auch beim nachherigen Aussetzen an der Luft der erwartete Reaktion nicht ein. Dies ließ sich aber dadurch erklären, daß die Tyrosinase in Gegenwart von Säuren nicht wirksam ist. Durch Hinzufügen von Alkali kann das Ferment wieder aktiviert werden. Dies könnte nun auf eine Verbindung zwischen Tyrosinase und Kohlensäure schließen lassen. Aber schon kräftiges Schütteln konnte das Wiederauftreten der Fermentwirkung hervorrufen (Adsorption).

Wasserstoff dagegen zeigte sich als indifferentes Gas. Beim nachherigen Aussetzen an der Luft ging die Kresolazurbildung sogar schneller vor sich. Es hatte also eine vorbereitende Reaktion stattgefunden. Man konnte eine Verbindung mit dem Ferment vermuten. Um zu sehen, ob diese hypothetische Verbindung imstande sei, der Wirkung der Kohlensäure zu trotzen, ließ ich das Reaktionsgemisch zuerst 1 Stunde im Wasserstoff und brachte es dann während einer gleichen Zeitdauer in den Kohlensäurestrom. Zum Schluß wurde die Luft zutreten gelassen. Man konnte sodann eine Rötung beobachten, wie dies auch der Fall beim direkten Aussetzen an der Luft nach 1 Stunde ist. Die Rötung ging aber selbst nach 24 Stunden nicht weiter. Es hatte sich also wahrscheinlich während des einstündigen Verweilens in der Wasserstoffatmosphäre ein Leukokörper gebildet. Die darauffolgende Kohlensäurebehandlung tötet dann das Ferment ab, und beim schließlichen Aussetzen im Freien färbt sich dann nur der vorgebildete Leukokörper unter Einwirkung der Luft. Wie dieser Leukokörper sich bildet, ob er z. B. nach Bach durch Hydrolyse entstehe, dafür liegen bis jetzt noch keine Beweise vor.

Diese Versuche haben die problematische Existenz von Desaminasen also noch zweifelhafter gemacht. Es wäre wohl von Interesse, zu zeigen, ob die sogenannten Desaminasen nicht identisch sind mit oxydierenden Fermenten. Auf jeden Fall haben wir nun gesehen, daß ein oxydierendes Ferment, die Tyrosinase, die bis jetzt den Desaminasen zugeschriebenen Eigenschaften auch besitzt.

Die „Hydrolabilität“ des Komplements und ihre Ursachen.

Von

H. Sachs und K. Altmann.

(Aus dem Kgl. Institut für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M.
[Direktor: Weiland Wirkl. Geh. Rat Prof. Dr. P. Ehrlich, Stellvertretender Direktor: Prof. Dr. H. Sachs.]

(Eingegangen am 11. September 1916.)

Im Jahre 1907 haben Sachs und Teruuchi¹⁾ festgestellt, daß die hämolytischen Komplemente des Meerschweinenserums durch Verdünnen mit salzfreiem Wasser inaktiviert werden. Dabei ergab sich für die Inaktivierung ein Optimum der Verdünnung (10 fach); bei stärkeren Verdünnungsgraden blieb die Inaktivierung aus. Ebenso konnte die Inaktivierung durch Temperaturerniedrigung verhindert werden. Sie war endlich bei Verwendung älteren, bereits gelagerten Serums, sowie bei Verwendung frischen und kurz erhitzten Serums nicht mehr nachweisbar. Da mithin für diese als „Hydrolabilität“ bezeichnete Zerstörbarkeit des Komplements sich außer der Salzarmut des Mediums auch die Beschaffenheit des Serums von maßgebender Bedeutung erwies, imponierte der Vorgang zunächst als der Ausdruck der fermentativen Wirkung eines labilen Serumbestandteiles, der das Komplement nur in salzreicher Lösung, bzw. nur dann, wenn es durch das salzarme Medium in eine angreifbare Form verwandelt worden ist, zerstört.

An der Richtigkeit dieser theoretischen Deutung entstanden für uns sehr bald Zweifel. Als wir nämlich daran gingen, zur Trennung der beiden Komplementkomponenten, die nach dem

¹⁾ H. Sachs und Y. Teruuchi, Berl. klin. Wochenschr., Nr. 16, 17, 19, 1907.

Vorgang von Morgenroth und Ferrata mittels Dialyse vorgenommen wurde, ein weiteres Verfahren zu gewinnen, ergab sich uns als gut brauchbare und seither vielfach benutzte Methode die Ausfällung des Meerschweinchenserums mit schwacher Salzsäure ($\frac{1}{300}$ bis $\frac{1}{350}$ normal in dest. Wasser).

Daß hiermit die Gewinnung wirksamer Komplementkomponenten trotz 1 stündiger Einwirkung des schwach angesäuerten Wassers gelang, mußte in Anbetracht der von Sachs und Teruuchi festgestellten Tatsache, daß bei entsprechendem Verdünnen mit neutralem Wasser Komplementzerstörung eintritt, überraschen. Ließen uns schon derartige Erfahrungen die Mitwirkung von Fermenten zweifelhaft erscheinen, so kam als weiteres Moment die inzwischen erschienene Arbeit von Tsuda¹⁾ hinzu, der zwar prinzipiell unsere Erfahrungen über die Komplementinaktivierung im salzfreien Medium bestätigte, aber bei dem von ihm benutzten Rinderserum (an Stelle von Meerschweinchenserum) in einigen wesentlichen Punkten andersartige Verhältnisse beobachtete, als sie nach den Erfahrungen von Sachs und Teruuchi für das Meerschweinchenserum gelten. Von besonderem Interesse ist die von Tsuda beschriebene Tatsache, daß mit ganz frischem Rinderserum, im Gegensatz zu dem Verhalten des gelagerten Rinderserums, die Inaktivierung durch Wasser oft nicht vollkommen gelingt. Es handelt sich also hierbei um das Gegenteil der für Meerschweinchenserum geltenden Gesetzmäßigkeiten. Tsuda bemerkt mit Recht, daß man zum Verständnis der Unmöglichkeit, ein frisches Serum zu inaktivieren, nach der Fermenthypothese von Sachs und Teruuchi einen weiteren Faktor annehmen müßte, nämlich die Widerstandsfähigkeit des Komplements gegenüber dem Ferment. Tsuda hält daher in andersartiger Deutung es für möglich, daß sich im Serum beim Lagern erst ein Stoff bildet, der im salzarmen Medium schädigende Wirkung ausübt.

Wir waren nun bestrebt, die mannigfaltigen Erscheinungsformen, die bei verschiedenen Serumarten oder bei verschiedenen alten Serumproben auftreten, unter einen einheitlichen Gesichtspunkt zusammenzufassen, und die maßgebenden Richtlinien für die in dieser Hinsicht unternommene experimentelle Analyse,

¹⁾ K. Tsuda, Berl. klin. Wochenschr., Nr. 8, 1908.

über deren wesentliche Ergebnisse bereits kurz im Jahre 1908 berichtet worden ist¹⁾, bot der von uns festgestellte, von Sachs und Teruuchi noch nicht untersuchte Einfluß der Reaktion des Mediums auf die Komplementinaktivierung.

Es ist nämlich nicht nur die saure, sondern auch die alkalische Reaktion von wesentlichem Einfluß auf die Inaktivierung des Komplements beim Verdünnen mit Wasser. Bevor wir auf eine Besprechung dieser Tatsachen eingehen, möchten wir zuvor ein Beispiel unserer Versuche, die sich hauptsächlich auf Meerschweinchenserum beziehen, wiedergeben.

Je 0,5 ccm frisch gewonnenen Meerschweinchenserums werden verdünnt mit:

- a) 4,5 ccm 0,85% NaCl-Lösung,
b) 4,1 " " Aqu. dest.

c) 4,1 ccm $\frac{n}{1000}$ -NaOH (in Aqu. dest.)	h) 4,1 ccm $\frac{n}{1000}$ -HCl (in Aqu. dest.)
d) 4,1 " $\frac{n}{750}$ -NaOH (" " ")	i) 4,1 " $\frac{n}{750}$ -HCl (" " ")
e) 4,1 " $\frac{n}{500}$ -NaOH (" " ")	k) 4,1 " $\frac{n}{500}$ -HCl (" " ")
f) 4,1 " $\frac{n}{250}$ -NaOH (" " ")	l) 4,1 " $\frac{n}{250}$ -HCl (" " ")
g) 4,1 " $\frac{n}{200}$ -NaOH (" " ")	m) 4,1 " $\frac{n}{200}$ -HCl (" " ")

Nach $1\frac{1}{4}$ stündigem Aufenthalt im Brutschrank wurde durch Zusatz von je 0,4 ccm 10% NaCl-Lösung zu den Verdünnungen b bis m Isotonie hergestellt. Außerdem erhielt die 10% NaCl-Lösung für die Proben c bis m die zur Neutralisation erforderliche HCl-, resp. NaOH-Konzentration.

Die derart isotonisch und neutralisiert erhaltenen 10%igen Meerschweinchenserumverdünnungen werden nunmehr in üblicher Weise auf ihren Komplementgehalt geprüft durch Digerieren absteigender Mengen mit je 1 ccm Hammelblutaufschwemmung unter Zusatz von ca. 10 Amboceptoreinheiten spezifischen hämolytischen Immunerums (Volumen: 2,15 ccm).

Das Ergebnis zeigt Tabelle I.

Wie die Tabelle zeigt, ist die Inaktivierung des Komplementes beim Verdünnen mit destilliertem Wasser (b) nach dem Vorgang von Sachs und Teruuchi prompt eingetreten. Dagegen genügt schon ein Gehalt des Wassers an $\frac{n}{1000}$ -NaOH, resp. HCl (c und h), um die Inaktivierung deutlich zu hemmen. Mit steigender Konzentration an NaOH und HCl nimmt auch die Hemmung der Komplementinakti-

¹⁾ Tagung der freien Vereinigung für Mikrobiologie, Berlin 1908.

Tabelle I.

Vorbehandlung des Meer-schweinchens-serums mit	Hämolyse von Hammelblut durch Amboceptor und 10 fach verdünntes Meerschweinchenserum in den Mengen (ccm)				
	1,0	0,5	0,25	0,15	0,1
a) NaCl . .	komplett	komplett	komplett	komplett	stark
b) H ₂ O . .	0	0	0	0	0
n.-NaOH					
c) 1/1000 . .	komplett	Spur	0	0	0
d) 1/750 . .	"	mäßig	0	0	0
e) 1/500 . .	"	komplett	wenig	0	0
f) 1/250 . .	"	"	komplett	fast kompl.	wenig
g) 1/200 . .	"	"	stark	Spur	Spürchen
n.-HCl					
h) 1/1000 . .	komplett	wenig	Spürchen	0	0
i) 1/750 . .	"	komplett	mäßig	Spürchen	Spürchen
k) 1/500 . .	"	"	fast kompl.	Spur	"
l) 1/250 . .	"	"	komplett	fast kompl.	Spur
m) 1/200 . .	"	"	"	fast kompl.	wenig

vierung zu, und bei 1/250-NaOH (f), resp. 1/200-HCl (m) er-scheint die Inaktivierung im salzarmen Medium fast vollständig verhindert.

Der beliebigen Steigerung eines HCl- oder NaOH-Gehaltes steht natürlich der Umstand im Wege, daß Salzsäure und Natronlauge an und für sich das Komplement seiner Funktion berauben. Es erklärt sich daher ohne weiteres, daß eine voll-ständige Aufhebung der „Hydrolytät“ des Komplementes praktisch nicht oder nur selten absolut gelingt, sie vielmehr in der Regel auch bei optimaler HCl-, resp. NaOH-Konzentration mehr oder weniger unvollständig bleibt. Das beein-trächtigt aber nicht die prinzipielle Schlußfolgerung, daß die Hydrolytät sowohl durch Alkali, als auch durch Säure aufgehoben wird.

Man könnte nun zunächst daran denken, daß es sich gleichwohl um ein fermentartiges, die Komplementinaktivierung bedingendes Prinzip handelt, dessen Funktion sowohl durch Säure, als auch durch Alkali gehemmt wird. Die weitere Analyse hat aber eine andere Erklärung ergeben. Schon wenn man die äußere Beschaffenheit der mit salzfreiem Wasser hergestellten Meerschweinchenserumverdünnungen mit

und ohne Salzsäure-, bzw. Natronlaugezusatz betrachtet, ergeben sich deutliche Unterschiede. Die mit neutralem Wasser hergestellte Verdünnung weist eine leichte gleichmäßige Trübung auf. Alkalizusatz bewirkt eine Klärung, Säurezusatz eine Verstärkung bis zur Ausflockung. Die Deutung dieser Unterschiede macht keine Schwierigkeiten. Es handelt sich offenbar um typische Veränderungen der Globuline. Die Salzarmut bildet ja ein zur Globulinfällung führendes Moment. Beim Meerschweinchenserum genügt aber das einfache Verdünnen mit Wasser nicht, um eine Fällung der Globuline zu bewirken; die Veränderung äußert sich vielmehr nur in einer mehr oder weniger starken Trübung. Alkalizusatz beseitigt diese Trübung, und Ansäuern der salzarmen Verdünnung führt die Trübung in eine Niederschlagsbildung über. Nimmt man dementsprechend an, daß die maximale Hydrolabilität des Komplementes abhängig ist von einem bestimmten Grade der Globulinveränderung, der sich aber noch nicht als Ausflockung dokumentieren darf, so erscheint die Bedeutung der Reaktion des Mediums ohne weiteres verständlich. Denn Alkali verhindert die Globulinveränderung, während Säure dieselbe so verstärkt, daß ein sichtbarer und zentrifugabler Niederschlag entsteht. Erst durch den Umstand, daß die durch Kombination von Säure und salzfreiem Medium bedingte Ausflockung gleichzeitig die Komplementinaktivierung verhindert, war es uns möglich, in der Salzsäurefällung eine Methode zur Trennung von „Mittel- und Endstück“ aufzufinden.

Wenn man nun für die Komplementinaktivierung im salzarmen Medium die Globulinveränderung verantwortlich machen und ein fermentatives Agens ausschließen will, so mußte natürlich auch die schon von Sachs und Teruuchi aufgefundene Abhängigkeit der Hydrolabilität von der Temperatur in gleichsinniger Weise eine Erklärung finden können. Eine solche ergibt sich nun ohne weiteres, wenn man berücksichtigt, daß Temperaturerniedrigung für die Globulinfällung gleichzeitig ein Begünstigungsmittel darstellen kann. Offenbar bewirkt eine solche Wasserverdünnung, die bei 37° optimale Bedingungen für die Komplementinaktivierung schafft, bei 0° bereits eine zu hochgradige Globulinveränderung, und man kann sich leicht davon überzeugen, daß mit Wasser bereitete Meerschweinchen-

serumverdünnungen, die bei 37° nur getrübt erscheinen, bei 0° bereits eine Ausflockung erkennen lassen. Wenn dementsprechend bei Verdünnung frischen Meerschweinchenserums mit Wasser nur die zu starke Globulinalteration die Ursache für das Ausbleiben der Komplementinaktivierung in der Kälte darstellt, so mußte es durch Alkalizusatz, also durch das gleiche Mittel, das bei 37° die Inaktivierung verhindert, gelingen, bei 0° eine Inaktivierung herbeizuführen. Die Bedingungen mit und ohne Alkalizusatz bei 0° mußten sich also zu denjenigen bei 37° gewissermaßen wie das Negativ zum Positiv verhalten. Dagegen darf man von der Säure bei 0° keine prinzipielle Veränderung des Verhaltens erwarten; man könnte höchstens vermuten, daß eine bei 0° partiell erfolgende Inaktivierung durch Säure gehemmt bzw. aufgehoben wird. Die experimentelle Analyse hat eine vollkommene Bestätigung der hier entwickelten Schlußfolgerungen ergeben, und es sei gestattet, hierfür im folgenden ein Versuchsbeispiel anzuführen.

Je 0,5 ccm frisch gewonnenen Meerschweinchenserums werden im Eistopf (0°) digeriert mit:

- a) 4,5 ccm 0,85% NaCl-Lösung
- b) 4,1 ccm Aqu. dest.

c) 4,1 ccm $\frac{1}{2000}$ -NaOH	i) 4,1 ccm $\frac{1}{2000}$ -HCl
d) 4,1 " $\frac{1}{1000}$ -NaOH	k) 4,1 " $\frac{1}{1500}$ -HCl
e) 4,1 " $\frac{1}{1000}$ -NaOH	l) 4,1 " $\frac{1}{1000}$ -HCl
f) 4,1 " $\frac{1}{750}$ -NaOH	m) 4,1 " $\frac{1}{750}$ -HCl
g) 4,1 " $\frac{1}{500}$ -NaOH	n) 4,1 " $\frac{1}{500}$ -HCl
h) 4,1 " $\frac{1}{250}$ -NaOH	o) 4,1 " $\frac{1}{250}$ -HCl

Alle Normallösung-Verdünnungen in Aqua dest.

Nach 1¼ stündigem Aufenthalt der Gemische bei 0° wurde durch Zusatz von je 0,4 ccm 10% NaCl-Lösung zu den Verdünnungen b bis o Isotonie hergestellt. Die 10% NaCl-Lösung enthielt außerdem für die Proben c bis o die zur Neutralisation erforderliche HCl-, resp. NaOH-Konzentration.

Die derart isotonisch und neutralisiert erhaltenen 10%igen Meerschweinchenserumverdünnungen wurden auf Komplementgehalt durch Digerieren absteigender Mengen mit je 1 ccm Hammelblut-Aufschwemmung unter Zusatz von hämolytischem Immunsrum (ca. 6 Amboceptor-einheiten) geprüft (Volumen: 2,15 ccm).

Das Ergebnis zeigt Tabelle II.

Tabelle II

Vorbehand- lungd.Meer- schwein- ohenserums bei 0° mit	Hämolyse von Hammelblut durch Amboceptor und 10fach verdünntes Meerschweinchenserum in den Mengen (ccm)				
	1,0	0,5	0,25	0,15	0,1
a) NaCl .	komplett	komplett	fast kompl.	mäßig	wenig
b) H ₂ O .	"	"	stark	"	"
n.-NaOH					
c) ¹ / ₂₀₀₀ .	komplett	fast kompl.	mäßig	wenig	Spur
d) ¹ / ₁₅₀₀ .	"	mäßig	wenig	Spur	Spürchen
e) ¹ / ₁₀₀₀ .	fast kompl.	wenig	Spur	Spürchen	"
f) ¹ / ₇₅₀ .	wenig	Spürchen	0	0	0
g) ¹ / ₅₀₀ .	Spürchen	0	0	0	0
h) ¹ / ₂₅₀ .	komplett	fast kompl.	mäßig	wenig	Spur
n.-HCl					
i) ¹ / ₂₀₀₀ .	komplett	komplett	fast kompl.	mäßig	wenig
k) ¹ / ₁₅₀₀ .	"	"	" "	"	"
l) ¹ / ₁₀₀₀ .	"	"	" "	"	"
m) ¹ / ₇₅₀ .	"	"	" "	"	"
n) ¹ / ₅₀₀ .	"	"	" "	"	"
o) ¹ / ₂₅₀ .	"	"	" "	"	"

Das in der Tabelle notierte Versuchsergebnis entspricht unseren Erwartungen. Die Inaktivierung im salzfreien Medium ist bei bei 0° (b) fast vollständig unterblieben, wie das bereits durch die Untersuchungen von Sachs und Teruuchi bekannt ist. Dagegen bewirkt bereits ein NaOH-Gehalt von ⁿ/₂₀₀₀ (c) eine Abschwächung beim Verdünnen mit Wasser, und mit Steigen der NaOH-Konzentration (d bis g) zeigt sich in immer höherem Grade auch bei 0° die Hydrolabilität des Komplementes, dessen Inaktivierung schließlich bei ⁿ/₅₀₀ NaOH (g) im salzarmen Medium bei 0° fast vollständig gelingt. Eine Komplementzerstörung durch Alkaliwirkung kommt nicht etwa in Frage. Denn einmal hebt ja Natronlauge in entsprechenden Konzentrationen bei 37° die Hydrolabilität des Komplementes auf. Dann aber bewirken auch in der Kälte größere Alkalimengen (¹/₂₅₀ normal), wie Spalte h der Tabelle zeigt, eine Hemmung der durch geringere Alkalikonzentrationen grade zum Nachweis gelangenden Hydrolabilität.

Unter diesen Umständen kann ein Zweifel an der Beweiskraft des Versuches nicht bestehen. Er lehrt uns, daß eine

durchgreifende Abhängigkeit der Hydrolabilität von der Temperatur, wie sie Sachs und Teruuchi annahmen, nicht besteht, daß vielmehr im salzarmen Medium auch bei 0° die Inaktivierung erfolgt, wenn nur durch Alkalizusatz die durch Temperaturerniedrigung veränderten Bedingungen den bei höherer Temperatur und neutraler Reaktion bestehenden adäquat werden. Daß Säurezusatz in der Kälte (i bis o der Tabelle II) ohne Einfluß ist oder die Komplementwirkung sogar besser erhält als neutrales Medium, entspricht nur den Folgerungen, die wir gezogen haben¹⁾.

Mit dem Nachweis, daß für die Hydrolabilität des Komplementes ein prinzipieller Unterschied zwischen 0° und 37° nicht besteht, verliert die Fermenthypothese ihre wichtigste Stütze. Wir erblicken seither die Ursache der Hydrolabilität in einem optimalen Einfluß auf die Serumglobuline. Sein Zustandekommen wird offenbar bestimmt einerseits durch äußere Faktoren, andererseits durch die Beschaffenheit des Serums (Labilität bzw. Stabilität der Globuline, Alkaleszenz). Ein zu hoher Grad der Globulinalteration, der sich schließlich in sichtbarer Flockung zeigt, ist ebenso hinderlich, wie das Fehlen der erforderlichen Bedingungen.

Dieser Auffassung entspricht durchaus die Aufhebung der Hydrolabilität frischen Meerschweinchenserums bei Temperaturerniedrigung. Wir glauben aber nicht fehlzugehen, wenn wir auch die Aufhebung der Inaktivierung bei zu großer Verdünnung mit salzfreiem Wasser (vgl. Sachs und Teruuchi) auf das gleiche Prinzip zurückführen. Denn mit der Stärke der Verdünnung wächst unter sonst gleichen Bedingungen der Einfluß auf die Globuline. Wenn dem aber so ist, so müssen für das Ausbleiben der Inaktivierung bei 37° durch zu starkes Verdünnen dieselben Gesetzmäßigkeiten gelten, wie wir sie für einen optimalen Verdünnungsgrad bei 0° kennen gelernt haben. Daß tatsächlich dementsprechend auch bei zu starker Ver-

¹⁾ Da Salzsäure an und für sich bei höherer Temperatur stärker schädigend auf die Komplemente zu wirken scheint, als bei niedriger, dürfte es sich vielleicht in Zukunft empfehlen, die Spaltung des Komplementes nach unserer Methode bei 0° anstatt bei Zimmertemperatur vorzunehmen.

dünnung die Hydrolabilität durch einfachen Alkalizusatz nachgewiesen werden kann, zeigt folgendes Versuchsbeispiel.

Je 0,25 ccm frischgewonnenen Meerschweinchenserums wurden digeriert mit:

a) 9 ccm 0,85 %iger NaCl-Lösung

b) 8,2 ccm Aqu. dest.

c) 8,2 ccm $\frac{1}{1500}$ -NaOH (in Aqu. dest.)	g) 8,2 ccm $\frac{1}{1500}$ -HCl (in Aqu. dest.)
d) 8,2 " $\frac{1}{1000}$ -NaOH (" " ")	h) 8,2 " $\frac{1}{1000}$ -HCl (" " ")
e) 8,2 " $\frac{1}{750}$ -NaOH (" " ")	i) 8,2 " $\frac{1}{750}$ -HCl (" " ")
f) 8,2 " $\frac{1}{500}$ -NaOH (" " ")	k) 8,2 " $\frac{1}{500}$ -HCl (" " ")

Nach einstündigem Aufenthalt der Gemische bei 37° wurde durch Zusatz von je 0,8 ccm 10%iger NaCl-Lösung zu den Proben b bis k Isotonie hergestellt. Die 10%ige Kochsalzlösung enthielt außerdem für c bis k die zur Neutralisation erforderlichen HCl-, resp. NaOH-Mengen. Es resultierten mithin 37fache Meerschweinchenserumverdünnungen. Um den Komplementnachweis bei der geringen Konzentration noch hinreichend zu ermöglichen, wurde die Titration mit den Mengen von 2,0 ccm begonnen und absteigende Mengen, um das Volum nicht wesentlich zu steigern, mit je 0,25 ccm 4fach konzentrierten (ca. 20%igen) Hammelblutes unter reichlichem Amboceptorüberschuß digeriert (Volumen: 2,4 ccm).

Das Ergebnis zeigt Tabelle III.

Tabelle III

Vorbehandlung des Meerschweinchenserums mit	Hämolyse von Hammelblut durch Amboceptor und absteigende Mengen 37fach verdünnten Meerschweinchenserums in den Mengen			
	2,0 ccm	1,0 ccm	0,5 ccm	0,25 ccm
a) NaCl	komplett	komplett	komplett	mäßig
b) H ₂ O	"	fast kompl.	Spürchen	0
n-NaOH				
c) $\frac{1}{1500}$	0	0	0	0
e) $\frac{1}{1000}$	0	0	0	0
d) $\frac{1}{750}$	komplett	fast kompl.	Spur	0
f) $\frac{1}{500}$	"	komplett	fast kompl.	Spürchen
n-HCl				
g) $\frac{1}{1500}$	komplett	komplett	komplett	Spürchen
h) $\frac{1}{1000}$	"	"	"	Spur
i) $\frac{1}{750}$	"	"	"	Spürchen
k) $\frac{1}{500}$	"	"	stark	"

Die Tabelle zeigt ein ganz ähnliches Bild wie Tabelle II, in der die Ergebnisse bei ca. 10fachem Verdünnen im salzarmen Medium bei 0° notiert sind. Die Bedingungen entsprechen also bei starker Verdünnung (37fach) und

Brutschranktemperatur denjenigen bei geringerer Verdünnung (ca. 10fach) in der Kälte. Auch im ersteren Falle ist die Inaktivierung bei neutraler Reaktion nur relativ geringgradig (b), wird aber durch NaOH-Zusatz vollständig, während stärkere NaOH-Mengen, ebenso wie HCl die Hydrolabilität des Komplementes aufheben. Wir werden danach die Abnahme der Hydrolabilität des Komplementes bei zu großer Wasserverdünnung auf eine zu starke Globulinalteration zurückzuführen und in dem Einfluß geringer NaOH-Konzentrationen (c und d) eine Herabminderung der Globulinveränderung auf den für die Komplementinaktivierung optimalen Grad zu erblicken haben.

Wenn man nun berücksichtigt, daß für das Verhalten der Globuline außer äußeren Einflüssen, wie sie durch den Grad der Wasserverdünnung, durch Temperatur und Reaktion des Mediums bestimmt werden, auch die Beschaffenheit des Serums als solche eine maßgebende Bedeutung besitzt, so kann es nicht wundernehmen, daß in dem Verhalten der Serumkomplemente beim Verdünnen mit Wasser sowohl in bezug auf die Qualität des Serums, insbesondere dessen Alter, als auch in bezug auf die Tierart, von der das Serum stammt, wesentliche Unterschiede bestehen.

So erklären sich zunächst die Angaben von Sachs und Teruuchi, nach denen die Hydrolabilität des Komplements einerseits durch Lagern des Serums, andererseits durch kurzes Erhitzen frischen Serums vermindert oder aufgehoben werden kann. Offenbar spielen hierbei Alkalescenzerhöhung, sowie erhöhte Stabilität der Globuline eine Rolle. Dem entspricht es, daß, wie wir¹⁾ im Anschluß an die von Klausner angegebene Fällungsreaktion, ebenso wie Citron²⁾, feststellen konnten, die Sera ihre Fällbarkeit durch Wasserverdünnung beim Inaktivieren oder beim Lagern einbüßen.

Beim Verdünnen bereits gelagerter Proben von Meer-schweinchenserum mit Wasser ist es uns allerdings, auch unter Veränderungen der Reaktion durch Salzsäure- bzw. Natron-

¹⁾ Diskussionsbemerkungen Berl. klin. Wochenschr. 522, 1908. (Vgl. auch H. Sachs: *La semaine médicale*, 24. Juni 1908.)

²⁾ J. Citron: Berl. klin. Wochenschr. Nr. 9, 1908.

laugezusatz, bisher nicht gelungen, einwandfreie Ergebnisse zu erhalten.

Zwar wurden in einer Reihe von Versuchen ältere Sera, die beim einfachen Verdünnen mit Wasser nicht oder nur in geringem Grade inaktiviert wurden, bei HCl-Zusatz ihrer Komplementfunktion beraubt. Jedoch waren hierzu erhebliche HCl-Konzentrationen erforderlich, die bereits in derjenigen Zone lagen, in der eine Ausflockung durch Säureüberschuß nicht mehr erfolgt. Immerhin handelte es sich um solche Säuregrade, die bei Benutzung von physiologischer Kochsalzlösung als Verdünnungsmedium auf den Komplementgehalt nicht wesentlich von Einfluß waren. Wir möchten diese Befunde erwähnen, ohne sie zu bestimmten Schlußfolgerungen zu verwerten. Auch bei Verwendung frischen Meerschweinchenserums mit ausgesprochener Hydrolabilität der Komplemente trat bei einem HCl-Überschuß Inaktivierung ein, obwohl gleiche HCl-Konzentrationen in 0,85% iger NaCl-Lösung nicht oder nur geringgradig wirkten und geringere HCl-Konzentrationen in Wasser gerade die Hydrolabilität aufhoben. Es sei jedoch dahingestellt, ob die Inaktivierung bei Säureüberschuß in Wasser eine Folge des Ausbleibens der Ausflockung ist oder ihre Ursache in einer reinen zerstörenden Säurewirkung hat, die dann bei Salzgegenwart gehemmt erscheinen würde.

Erlauben so die Versuche mit verschiedenen alten Proben des Meerschweinchenserums keine bestimmten Schlußfolgerungen, so entsprechen vergleichende Untersuchungen mit Meerschweinchenserum und Rinderserum um so mehr unserer Vorstellung, nach der die Ursache der Hydrolabilität des Komplementes in einer optimalen Globulinalteration gelegen ist.

Das Rinderserum unterscheidet sich nach den schon erwähnten Versuchen von Tsuda dadurch vom Meerschweinchenserum, daß es in der Regel gerade im frischen Zustande nicht, — dagegen nach dem Lagern beim Verdünnen im salzfreien Medium inaktiviert wird. Wenn man nun berücksichtigt, daß das Rinderserum bei zahlreichen Flockungsreaktionen, vor allem schon beim Verdünnen mit Wasser viel leichter ausgeflockt wird, also eine erheblich größere Labilität der Globuline besitzt als das Meerschweinchenserum, so wird die von Tsuda aufgedeckte Differenz unter Berücksichtigung unserer mitgeteilten Erfahrungen kaum mehr überraschen können. Man wird dann erwarten dürfen, daß es durch eine Herabsetzung der Ausflockbarkeit mittels NaOH-Zusatz beim Verdünnen des Rinderserums mit Wasser ebenso gelingt, eine Inaktivierung zu erreichen, wie beim Meerschweinchenserum in der Kälte. Daß dem tatsächlich so ist, zeigt folgendes Versuchsbeispiel.

Je 1,5 ccm frischen Rinderserums wurden mit

- a) 6 ccm 0,85%iger NaCl-Lösung
- b) 5,4 ccm Aqu. dest.

c) 5,4 ccm $\frac{1}{2000}$ -NaOH (in Aqu. dest.)	h) 5,4 ccm $\frac{1}{2000}$ -HCl (in Aqu. dest.)
d) 5,4 " $\frac{1}{1000}$ -NaOH (" " ")	i) 5,4 " $\frac{1}{1000}$ -HCl (" " ")
e) 5,4 " $\frac{1}{500}$ -NaOH (" " ")	k) 5,4 " $\frac{1}{500}$ -HCl (" " ")
f) 5,4 " $\frac{1}{250}$ -NaOH (" " ")	l) 5,4 " $\frac{1}{250}$ -HCl (" " ")
g) 5,4 " $\frac{1}{125}$ -NaOH (" " ")	m) 5,4 " $\frac{1}{125}$ -HCl (" " ")

$\frac{3}{4}$ Stunden im Brutschrank digeriert. Sodann wurde neutralisiert und besalzen. Es resultierten also 5-fache Rinderserumverdünnungen, die in absteigenden Mengen unter Zusatz von je 0,25 ccm 20%iger Kaninchenblutaufschwemmung auf ihren Gehalt an normalem Kaninchenblut-hämölysin geprüft wurden (Volumen: 2,25 ccm).

Das Ergebnis zeigt Tabelle IV.

Tabelle IV.

Vorbehandlung des Rinderserums mit	Hämolyse von Kaninchenblut durch 5fach verdünntes Rinderserum in den Mengen			
	2,0 ccm	1,5 ccm	1,0 ccm	0,5 ccm
a) NaCl	komplett	komplett	komplett	stark
b) H ₂ O	"	"	"	Spürchen
n-NaOH				
c) $\frac{1}{2000}$	komplett	komplett	Spur	0
d) $\frac{1}{1000}$	fast komplett	stark	"	0
e) $\frac{1}{500}$	0	0	0	0
f) $\frac{1}{250}$	wenig	Spürchen	0	0
g) $\frac{1}{125}$	komplett	komplett	komplett	Spürchen
n-HCl				
h) $\frac{1}{2000}$	komplett	komplett	komplett	Spürchen
i) $\frac{1}{1000}$	"	"	"	wenig
k) $\frac{1}{500}$	"	"	"	"
l) $\frac{1}{250}$	"	"	"	mäßig
m) $\frac{1}{125}$	"	"	"	wenig

Die Tabelle bestätigt zunächst (in den Spalten a und b) die Feststellung Tsudas, daß die Inaktivierung frisch gewonnenen Rinderserums im salzarmen Medium nicht gelingt. Aus den folgenden Teilen der Tabelle erhellt aber, daß unsere Vermutung zutrifft, und daß es durch Alkali-zusatz gelingt, die Hydrolytbarkeit des Komplementes auch im frisch gewonnenen Rinderserum zu demonstrieren. Das Optimum liegt bei einer NaOH-Konzentration von $\frac{1}{500}$ normal, die eine vollständige Inaktivierung erlaubt (Spalte e). Stärkere NaOH-Konzentrationen (f und g) heben die Inaktivierbarkeit wieder auf, weil sie der Globulinalteration in zu hohem Maße entgegenwirken, während Säurezusatz aus

dem umgekehrten Grunde eher einen entgegengesetzten Einfluß ausübt.

Die Richtigkeit unserer Folgerungen ergibt sich weiterhin aus der Analyse solcher Rinderserumproben, die bei gleichartigem Verdünnen mit neutralem Wasser inaktiviert werden. Wir selbst haben auch gelegentlich ganz frische Rindersera untersucht, deren Komplemente, wie es bei frischem Meerschweinchenserum die Regel ist, hydrolabil waren. Im anderen Falle, wofür Tabelle V ein Versuchsbeispiel darstellt, haben wir in Übereinstimmung mit den Angaben Tsudas die Hydrolabilität der Komplemente beim Lagern eintreten sehen. Gleichgültig aber, ob die Hydrolabilität des Rinderkomplementes von Anfang an bestand oder erst nach dem Lagern nachweisbar wurde, war es in allen Fällen, in denen die Inaktivierung bei neutraler Reaktion erfolgte, möglich, dieselbe sowohl durch NaOH- als auch durch HCl-Zusatz zu hemmen.

So zeigt der folgende Versuch mit einem 2 Tage alten Rinderserum die gleichen Verhältnisse, wie sie für frisches Meerschweinchenserum typisch sind.

Je 1,5 ccm 2 Tage alten Rinderserums wurden $\frac{1}{4}$ Stunden im Brutschrank digeriert mit:

- a) 6,0 ccm 0,85%ige NaCl-Lösung.
b) 5,4 " Aq. dest.

c) 5,4 ccm $\frac{n}{500}$ -NaOH (in Aq. dest.).	f) 5,4 ccm $\frac{n}{750}$ -HCl (in Aq. dest.).
d) 5,4 " $\frac{n}{250}$ -NaOH (" " ").	g) 5,4 " $\frac{n}{500}$ -HCl (" " ").
e) 5,4 " $\frac{n}{125}$ -NaOH (" " ").	h) 5,4 " $\frac{n}{250}$ -HCl (" " ").

Sodann wurde besalzen und neutralisiert, daß 5fache Verdünnungen von Rinderserum resultierten. Dieselben wurden auf ihren Hämolyseinhalt durch Zusatz von je 0,25 ccm 20%iger Kaninchenblutaufschwemmung zu absteigenden Mengen der Serumverdünnungen geprüft.

Das Ergebnis zeigt Tabelle V.

Die Tabelle V zeigt hier für das Rinderserum dieselben Gesetzmäßigkeiten, wie sie für frisches Meerschweinchenserum gelten. Während die Komplemente des Rinderserums beim Verdünnen mit neutralem Wasser inaktiviert werden, bewirkt der Zusatz von Natronlauge oder Salzsäure eine Hemmung bzw. eine Aufhebung der Hydrolabilität. Der von Tsuda beschriebene Unterschied zwischen Meerschweinchenserum und Rinderserum erscheint daher keineswegs von prin-

Tabelle V.

Vorbehandlung des Rinderserums mit	Hämolyse von Kaninchenblut durch 5 fach verdünntes Rinderserum in den Mengen			
	2,0 ccm	1,5 ccm	1,0 ccm	0,5 ccm
a) NaCl . . .	komplett	komplett	komplett	Spürchen
b) Aq. dest. . .	0	0	0	0
n-NaOH				
c) $\frac{1}{500}$	komplett	Spürchen	0	0
d) $\frac{1}{250}$	"	komplett	Spur	0
e) $\frac{1}{125}$	"	"	komplett	0
n-HCl				
f) $\frac{1}{750}$	komplett	komplett	mäßig	0
g) $\frac{1}{500}$	"	"	komplett	0
h) $\frac{1}{250}$	"	"	"	0

zipieller Natur, hat vielmehr gewissermaßen nur quantitativen Charakter. Die Ursache glauben wir, wie wir das erörtert haben, in dem verschiedenen Grade der Globulinstabilität erblicken zu sollen, die eben in der Regel beim Meerschweinchen-serum weit größer ist als beim Rinderserum. Die Inaktivierung der Komplemente ist in diesem Sinne abhängig von dem Eintritt einer bestimmten Form der Globulinveränderung, die aber im allgemeinen nicht so hochgradig sein darf, daß bereits eine Ausflockung eintritt. In vielen Fällen gehen daher Komplementinaktivierung und die äußerlich sichtbare Trübung des Serums (ohne Niederschlagsbildung) einander parallel.

Die Hydrolabilität des Komplements wird nach alledem bestimmt:

1. durch die Beschaffenheit des Serums (Labilität bzw. Stabilität der Globuline, Alkaleszenz),
2. durch die Temperatur,
3. durch die Reaktion des Mediums.

Über die hier mitgeteilten Untersuchungen¹⁾ ist zum ersten Male im Jahre 1908 auf der Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie berichtet worden²⁾. Wir haben sodann die

¹⁾ Das Manuskript der bisherigen Ausführungen war bereits Anfang 1914 fertiggestellt; die Veröffentlichung ist durch äußere Ursachen verzögert worden.

²⁾ H. Sachs, Centralbl. f. Bakt., I. Abtlg., Referate, Bd. 42, Beiheft, 1908.

Bedeutung der Ergebnisse in ihrem Zusammenhange mit anderen Formen der antikomplementären Wirkung, zumal mit der Wassermannschen Reaktion, mehrfach, zunächst in unserem Aufsatz „Komplementbindung“ erörtert¹⁾ und werden hierauf in einer späteren Arbeit auf Grund neu gewonnener experimenteller Ergebnisse zurückkommen. Inzwischen ist insbesondere durch die interessanten Untersuchungen U. Friedemanns²⁾ die Aufmerksamkeit auf die allgemeine Eigenschaft der Globuline, antikomplementär zu wirken, gelenkt worden. Friedemann erblickt in der antikomplementären Globulinwirkung die Ursache einer Reihe von Erscheinungen (spontaner Komplementschwund, Komplementbindung, auch bei der Wassermannschen Reaktion) und verweist u. a. auf die Tatsache, daß die in Betracht kommenden Vorgänge durch Erhöhung der Salzkonzentration aufgehoben werden³⁾.

Schon Friedberger⁴⁾ hat gezeigt, daß das spontane Schwinden des Komplements beim einfachen Lagern durch einen starken Kochsalzgehalt verhindert oder erheblich hinausgeschoben werden kann, und dabei, der Auffassung von Sachs und Teruuchi über die Hydrolabilität folgend, an die Möglichkeit gedacht, daß komplementvernichtende Vorgänge im Normalserum in ihrer Wirkung gehindert werden. Tatsächlich hat der eine von uns⁵⁾ zeigen können, daß man, ebenso wie durch erhöhten Salzgehalt, auch durch kurzdauerndes Erhitzen (etwa 10 Minuten auf 50 bis 52°) die Komplemente im Meerschweinchenserum bis zu einem gewissen Grade konservieren kann. Es handelt sich also hier um denselben Eingriff, der nach Sachs und Teruuchi die Hydrolabilität verhindert, und es ist auch hiernach kaum zu zweifeln, daß beiden Vorgängen entsprechende Globulinwirkungen zugrunde liegen. Es ist daher in den zahlreichen, aus dem hiesigen

¹⁾ H. Sachs und K. Altmann, *Handb. d. pathogenen Mikroorganismen*, 1. Aufl., 2. Ergänzungsbd., 1909.

²⁾ U. Friedemann, *Zeitschr. f. Hygiene* **67**, 279, 1910.

³⁾ Vgl. hierzu auch L. Hirschfeld und R. Klinger, *Zeitschr. f. Immunitätsforsch.* **21**, 40, 1914; *Berl. klin. Wochenschr.* **1914**, Nr. 25.

⁴⁾ E. Friedberger, *Berl. klin. Wochenschr.* **1907**, Nr. 41; *Centralbl. f. Bakt.*, 1. Abtlg., (Orig.)-Bd. **46**, S. 441, 1908.

⁵⁾ H. Sachs, *Handb. d. pathogenen Mikroorganismen* **2**, 873, 1913, 2. Aufl.

Laboratorium hervorgegangenen Arbeiten über verschiedene Formen der Komplementinaktivierung, bei denen insbesondere die Abhängigkeit von der Serumkonzentration und die Restituierbarkeit der erloschenen Komplementfunktion auffällig war, versucht worden, die Erscheinungen dem allgemeineren Prinzip der antikomplementären Globulinwirkung im Sinne Friedemanns unterzuordnen.

Folgt man aber dieser Betrachtung, so kann man in der antikomplementären Globulinwirkung immer nur das letzte Glied des Vorgangs erblicken. Das ursächliche Moment der Hydro-labilität und entsprechender Inaktivierungsvorgänge ist jedoch, wie sich aus unseren Versuchen ergibt, die geeignete physikalische Veränderung des Serums bzw. seiner Globuline. Das Wesentliche ist dabei der geringe Fällungsgrad, der sich meist in einer eben wahrnehmbaren Trübung dokumentiert. Für die Hydro-labilität ist also ein Optimum der Globulinalteration maßgebend, dessen Überschreitung den Inaktivierungsprozeß verhindert. Es dürfte von grundlegender Bedeutung sein, daß für diese Zustandsänderung, die man, ganz abgesehen von weiteren Vorstellungen, jedenfalls als primär auslösende Phase auffassen muß, eine scharfe Abhängigkeit von der Beschaffenheit der Globuline (Labilität) und des Mediums (Reaktion, Temperatur) besteht. Wie sich schon aus den Versuchen von Sachs und Teruuchi ergibt, ist diese wesentliche Serumbeschaffenheit labiler als die Komplementwirkung und kann demnach durch künstliche Eingriffe beseitigt werden, ohne daß die Komplementfunktion erlischt.

Die sich aus der Analyse der Hydro-labilität ergebende Betrachtungsweise scheint uns für das Verständnis der Komplementfunktion und der antikomplementären Wirkungen von zunehmender Bedeutung zu werden. So bestehen zwischen den Auffassungen, zu denen P. Schmidt¹⁾ in seinen interessanten Arbeiten in Gemeinschaft mit Liebers gelangt ist, und unseren Vorstellungen in vieler Hinsicht Beziehungen, und die schönen Untersuchungen von Hirschfeld und Klinger²⁾ bewegen sich in ähnlicher Richtung. Auch die genannten Autoren haben bei

¹⁾ P. Schmidt und M. Liebers, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 19, 373, 1913; 22, 220, 1914.

²⁾ l. c., vgl. auch diese Zeitschr. 70, 398, 1915.

gewissen Formen der Komplementinaktivierung das Maßgebende in Globulinveränderungen erblickt, und insbesondere schließen sich Hirschfeld und Klinger unserer Deutung des Zustandekommens der Hydrolabilität an, indem sie als Folge des Salz mangels die Veränderung des physikalischen Zustandes der Serumkolloide betrachten.

Wir möchten auf Grund unserer Versuche noch einmal als wesentlich hervorheben, daß die Veränderung der Globuline einen gewissen Grad nicht überschreiten darf — die Veränderung erscheint als eine Vorstufe der sichtbaren Fällung —, und erblicken in den seither gewonnenen experimentellen Ergebnissen eine Bestätigung für die Richtigkeit unserer, schon vor vielen Jahren geäußerten Vermutung¹⁾, „daß die gleiche Zerstörung des Komplements, welche beim Verdünnen mit Wasser eintritt, auch im salzhaltigen Milieu erzielt werden kann, wenn durch andersartige Faktoren die für die Zerstörung wesentliche Alteration des Serums bedingt wird.“

Zusammenfassung.

1. Die Hydrolabilität der Komplemente des Meer-schweinchenserums (Inaktivierung im salzarmen Medium) wird sowohl bei geeigneter saurer als auch bei alkalischer Reaktion aufgehoben.

2. Die Hydrolabilität tritt in der Kälte nur bei alkalischer Reaktion ein.

3. Bei starker Serumverdünnung bewirkt erst Alkalizusatz die Hydrolabilität des Komplements.

4. Für Rinderserum gelten im wesentlichen die gleichen Gesetzmäßigkeiten. Fehlt bei frischen Serumproben die Hydrolabilität, so kann sie durch geeignete alkalische Reaktion erzielt werden.

5. Die Hydrolabilität ist bedingt durch einen bestimmten Grad der Globulinveränderung, für den einerseits die Beschaffenheit des Serums (Labilität bzw. Stabilität der Globuline, Alkaliescenz), andererseits Temperatur und Reaktion des Mediums maßgebend sind.

¹⁾ H. Sachs und K. Altmann, Handb. d. pathogenen Mikroorganismen, 1. Aufl., 2. Ergänzungsbd., S. 543 (vgl. auch S. 459), 1909.

Über die physiologische Verwertung synthetischer Fettsäureester.

Von
Johannes Müller.

I. Mitteilung.

Die Verwertung der Fettsäureäthylester.

Von
Johannes Müller und Hans Murschhauser.

(Aus dem biochemischen Institut der Düsseldorfer Akademie für praktische Medizin.)

(Eingegangen am 12. September 1916.)

Mit 11 Figuren im Text.

Seit mehreren Jahren vertritt der eine von uns (Johannes Müller) die Anschauung, daß die akute Alkoholvergiftung in ihrem Wesen eine typische Verdrängungsreaktion darstelle. Der Begriff der Verdrängungsreaktion ist selbst in der reinen organischen Chemie verhältnismäßig spät scharf formuliert worden, obwohl eine Reihe von tatsächlichem Material bereits vorlag. Ist doch z. B. noch zu der Zeit, als die bekannte Verseifungsmethode von Kossel und Obermüller in Aufnahme kam, über den Verlauf dieser Reaktion diskutiert worden, ohne daß der Begriff „Verdrängung“ herangezogen wurde. In der Physiologie scheint der Begriff der Verdrängungsreaktion überhaupt noch nicht gebraucht worden zu sein, obwohl, wie uns scheint, diese Erklärungsmöglichkeit für die Wirkung einer Reihe körperfremder Substanzen mindestens diskutabel ist. Kommt z. B. eine gewisse Menge Äthylalkohol in die Ganglienzellen, so muß sich eigentlich dort eine Verdrängungsreaktion abspielen, indem der Äthylalkohol mit dem Glycerin um den Besitz der Fettsäuren, der Fette und der Lipide konkurriert. Die dadurch bedingte Destruktion von Lipoidmolekülen müßte dann selbstverständlich weitgehende physiologische Folgen haben.

Über die seit langem im Gange befindlichen Untersuchungen, welche die eben geschilderte Anschauung durch exakte Analysen vergifteter Organe stützen sollen, wird demnächst berichtet werden. Schließlich aber ist es eine uralte Erfahrung, daß Fett in gewissem Sinne die giftige Wirkung des Äthylalkohols herabsetzt; vielleicht kann auch die von Salzmänn im Tübinger pharmakologischen Institut beobachtete Tatsache, daß die narkotische Wirkung des Äthylalkohols durch gleichzeitig gereichte starke Fettdosen stark abgeschwächt, gegebenenfalls sogar gänzlich aufgehoben werden kann, mit der hier entwickelten Theorie der Verdrängungsreaktion in Beziehung gebracht werden.

Aus der geschilderten Anschauung erwuchs von selbst der Wunsch, näheres über das Verhalten von per os verabreichten Fettsäureestern im intermediären und allgemeinen Stoffwechsel festzustellen. In den Kreis der Untersuchungen sind eine Reihe von Estern der natürlichen Fettsäuren mit zahlreichen ein- und mehrwertigen Alkoholen gezogen worden; es ist weiter beabsichtigt, Glycerinester künstlicher Fettsäuren zu studieren, die aus Material wie Kohle, Petroleum usw. gewonnen werden. Wenn zunächst über das Verhalten der Fettsäureäthylester berichtet wird, so hat das natürlich seinen Grund in den augenblicklichen Verhältnissen. Wir benötigen im Frieden wie im Krieg eine große Menge von Glycerin, und solange nicht durch synthetische oder biologische Prozesse der Gesamtbedarf an Glycerin aus Kohlenhydraten oder dergl. gedeckt werden kann, sind wir auf die Spaltung von natürlichen Fetten angewiesen, und da die bei der Darstellung des Glycerins restierenden Fettsäuren für Ernährungszwecke nicht direkt brauchbar sind, so bedingt der Verbrauch an Glycerin gleichzeitig eine empfindliche Verminderung unseres Nahrungsfettes. Damit ergab sich von selbst der Gedanke, falls Fettsäureäthylester ohne Schaden im Organismus zur Verwertung kommen, diese aus den Fettsäuren darzustellen und in einem passenden Prozentsatz den Nahrungsfetten zuzumischen.

Irgendeine Vorarbeit über das Verhalten der Fettsäureäthylester im allgemeinen Stoffwechsel existiert u. W. nicht.

Nur Otto Frank hat sich in seinen bekannten Untersuchungen „Zur Lehre von der Fettresorption“ auch mit der Resorption der Äthylester beschäftigt¹⁾ und bei dieser Gelegenheit auch einige Ausnutzungsversuche gemacht. Wir werden auf diese Versuche weiter unten zurückkommen.

Methodisches.

Der Versuch wurde am Hund angestellt.

Um einen guten Vergleich zu gewinnen, wurden zur Verfütterung Äthylester benutzt, die aus dem in Vor- und Nachperiode verfütterten natürlichen Fett gewonnen waren, die also dieselben Fettsäuren mit denselben relativen Mengen wie das natürliche Fett enthielten. Als natürliches Nahrungsfett wurde der Rindertalg gewählt, der durch Ausschmelzen des aus dem Schlachthof gelieferten Materials gewonnen wurde. Er enthielt 0,29% Wasser und 0,81% freie Fettsäure. Zur Darstellung der Fettsäuren wurde der Talg in schwach alkoholischer Lösung mit NaOH vollkommen verseift, die Fettsäuren durch verdünnte Schwefelsäure ausgefällt, mit Wasser gründlich gewaschen, das Wasser auf der Nutsche abgepreßt und abgesaugt, die Fettsäuren mit Äther aufgenommen und die ätherische Lösung mit Chlorcalcium getrocknet. Nach Abdestillieren des Äthers wurden die vollkommen trockenen Fettsäuren in absolutem Alkohol, der über Natrium getrocknet und destilliert war, gelöst; der Alkohol enthielt 3% trockene Salzsäure. Die Lösung wurde 24 Stunden am Rückflußkühler unter Vorschaltung von Chlorcalcium erhitzt. Nunmehr wurden ca. $\frac{2}{3}$ des Alkohols im Vakuum abdestilliert, der Rückstand mit Äther aufgenommen, die wäßrig-alkoholische Schicht aus dem Scheidetrichter abgelassen, die ätherische Lösung der Ester erst mit verdünnter NaHCO₃-Lösung, dann mehrmals mit Waschwasser in der Kälte ausgeschüttelt, der Äther mit Chlorcalcium getrocknet und schließlich abdestilliert. Die resultierenden Äthylester enthielten noch 1,35% freie Fettsäure, auf deren völlige Entfernung verzichtet wurde.

Der Sauerstoffverbrauch und die Kohlensäureproduktion wurden in dem nach dem Prinzip von Regnault und Reiset konstruierten Zuntz-Oppenheimerschen Respirationsapparat

¹⁾ Zeitschr. f. Biol. Neue Folge 18.

in 6 stündigen Perioden bestimmt¹⁾. Es wäre natürlich erwünscht gewesen, den Gaswechsel in 24 stündigen Perioden untersuchen zu können; leider war dies aus äußeren Gründen undurchführbar. Der Respirationsversuch begann jeweils etwa 2 Stunden nach der einmal am Tage (7^h 30' morgens) erfolgten Fütterung. Ein Teil der 6 stündigen Periode fiel also wohl sicher in die Zeit nach Ablauf der Verdauung. Wie die unten mitgeteilten Versuchsergebnisse zeigen, stimmen die durch Multiplikation mit 4 auf 24 Stunden berechneten Ergebnisse des 6-Stundenversuchs so gut mit den aus anderen experimentellen Daten (N-Ausscheidung usw.) berechneten überein, daß keine Bedenken dagegen bestehen, das Ergebnis der 6 stündigen Respirationsperiode der Berechnung für 24 Stunden zugrunde zu legen. Offenbar hat die mustergültige Ruhe, in der der Hund unter Wasser sich verhielt, bewirkt, daß die Verdauungsarbeit sehr annähernd durch den Wegfall von Körperbewegungen kompensiert wurde. Der Hund wog zu Beginn des Versuches 11,72 kg. Indem für die Berechnung des Erhaltungsumsatzes die Formel $120 p \frac{2}{3}$ zugrunde gelegt und die entsprechende Zulage bewilligt wurde, bemaß sich der Caloriengehalt des täglichen Futters auf rund 880 Calorien.

Als Hauptfutter wurden täglich 300 g mageres Pferdefleisch gereicht. Es war die gesamte für den ganzen Versuch nötige Menge auf einmal beschafft, in der Fleischhackmaschine zerkleinert und sofort in Tagesportionen von 300 g abgeteilt worden. Der Vorrat wurde in einem Eisschrank aufbewahrt, der seinerseits in einem auf einer konstanten Temperatur von $+2^{\circ}$ gehaltenen Kühlraum stand. Die einzelnen Portionen blieben bis zum Schluß des Versuches in gefrorenem Zustande und erwiesen sich stets als von tadelloser Beschaffenheit. Die Stichproben für die Analyse waren am Tage der Verarbeitung aus der Gesamtmenge entnommen worden.

Für jede Mahlzeit wurden 50 g Talg- bzw. Estergemisch nebst etwas Kochsalz kurz vor der Fütterung dem Fleisch gut beigemischt; der Hund nahm die Nahrung so gierig, daß nie-

¹⁾ Für Überlassung des Apparates haben wir dem Direktor der Kinderklinik der hiesigen Akademie, Herrn Prof. Dr. Schloßmann, auch an dieser Stelle herzlichst zu danken.

mals sichtbare Reste in der Schale zurückblieben. Zur quantitativen Sammlung von Harn und Kot wurde der Hund außerhalb des Respirationsversuches in einem Stoffwechselkäfig in einem Raum gehalten, dessen Temperatur (20 bis 21°) konstant dieselbe war, wie die des Respirationsapparates. Wasser wurde mehrmals am Tage zur beliebigen Aufnahme gereicht, sie war im allgemeinen gering.

Zur Abgrenzung des Kotes wurden am Vorabend der Vorperiode 25 g Talkum mit 50 g Fleisch gereicht und ebenso am Vorabend der Hauptperiode. Am 2. Tage der Hauptperiode ergab sich aus der Dünnfüssigkeit des Kotes der Zusatz von täglich 50 bzw. 60 bzw. 80 g Talkum zum Futter, um dem Darminhalt mehr Konsistenz zu geben. Dadurch entstand eine Abgrenzung zur Nachperiode von selbst. Es mag bemerkt sein, daß die Trennung in jedem Falle eine sehr scharfe war. Das Ende der Nachperiode wurde ebenfalls durch 60 g Talkum markiert. Während der Respirationsversuche hielt sich das Tier, wie aus den am Schlusse mitgeteilten Protokollen hervorgeht, verhältnismäßig ruhig, nur am 1. Tage war der Hund infolge der ungewohnten Verhältnisse etwas unruhiger, was sich auch in der Größe des Gaswechsels sofort ausdrückte. Von den übrigen 18 Tagesstunden verschief der Hund mindestens 10. Besondere Unruhe zeigte er nur für ganz kurze Zeit.

Analytische Methoden.

In den Durchschnittsproben des Fleisches wurde das Wasser direkt bestimmt durch Vortrocknung bei 50 bis 60° im Trockenschrank und definitive Trocknung im Vakuum von weniger als 1 mm Hg bei 40°. Für die übrige Fleischanalyse wurde luftgetrockenes Fleisch verwendet. Das Eiweiß wurde aus dem nach Kjeldahl bestimmten N-Gehalt durch Multiplikation mit dem Faktor 6,25 ermittelt. Zur Bestimmung des Fettes bzw. der Fettsäuren und des Unverseifbaren im Petrolätherextrakt benutzte man die Methode von Kumagawa-Suto.

Der Brennwert des Fleisches wurde in der Berthelotschen Bombe bestimmt. Zur Feststellung des Wasserwertes der Bombe wurde Naphthalin, Benzoesäure und Campher benutzt. Als Beispiel sei das Protokoll einer Wasserwertbestimmung mit Benzoesäure angeführt.

Wasserwertbestimmung des Calorimeters durch Verbrennen von Benzoesäure:

$$\begin{aligned} \text{Gewicht des Eisendrahtes} &= 0,0146 \text{ g} \\ + \text{Benzoesäure} &= 0,7409 \text{ g} \\ \hline \text{Benzoesäure} &= 0,7263 \text{ g} \end{aligned}$$

Wassermenge im Calorimeter = 2330 g bei 20,0°; in der Bombe 2 ccm Wasser.

Temperatur des äußeren Wassermantels = 21,0°; in der Bombe 25 Atmosphären Sauerstoffdruck.

Vorperiode			Hauptperiode			Nachperiode		
Minute	Bezeichnung	Grad	Minute	Bezeichnung	Grad	Minute	Bezeichnung	Grad
1	τ_1	2,059	5	ϑ_1	2,067	15	τ'_1	3,780
2	τ_2	2,061	6	ϑ_2	3,270	16	τ'_2	3,779
3	τ_3	2,063	7	ϑ_3	3,678	17	τ'_3	3,778
4	τ_4	2,065	8	ϑ_4	3,753	18	τ'_4	3,777
5	τ_{n_1}	2,067	9	ϑ_5	3,769	19	τ'_5	3,776
			10	ϑ_6	3,777	20	τ'_6	3,775
			11	ϑ_7	3,780	21	τ'_{n_2}	3,774
			12	ϑ_8	3,781			
			13	ϑ_9	3,781			
			14	ϑ_{10}	3,781			
			15	ϑ_n	3,780			

Zur Neutralisation der gebildeten Salpetersäure waren erforderlich 4,30 ccm $n/10$ -Natronlauge. Aus diesen Zahlen berechnen wir nach Regnault-Pfaundler die durch die Verbrennung entstehende Temperaturerhöhung und die dieser Differenz von $\vartheta_n - \vartheta_1$ hinzuzufügende Korrektur für den Einfluß der Außentemperatur nach der Formel:

$$\Sigma \Delta t = \frac{v - v'}{\tau' - \tau} \left(\Sigma \vartheta v + \frac{\vartheta_n + \vartheta_1}{2} - n\tau \right) - (n - 1)v.$$

Diese Korrektur beträgt + 0,006°; die korrigierte Temperaturerhöhung somit 1,7190°.

Durch Verbrennung von 0,7263 g Benzoesäure wurden entwickelt 4600,8 Cal.

Die Zündungswärme von 0,0146 g Eisendraht beträgt 23,4 "

Die Bildungswärme für Salpetersäure 6,0 "

Die gesamte Wärmeentwicklung entspricht 4630,2 Cal.

Der Wasserwert des gefüllten Apparates ist folglich

$$K = \frac{4630,2}{1,719} = 2694,0 \text{ Cal.}$$

Da 2332 g Wasser in das Calorimeter gefüllt waren, so ist der Wasserwert der Metallteile

$$K = 2694,0 - 2332,0 = 362,0 \text{ Cal.}$$

Im Mittel aus 19 derartigen Bestimmungen ergab sich ein Wasserwert des Calorimeters von 360 Calorien, wobei in den einzelnen Versuchen nur geringe Abweichungen nach oben und unten festzustellen waren. Das Fleisch wurde für die Verbrennung in der Bombe zunächst vorgetrocknet, dann zu feinem Pulver verrieben und schließlich abermals getrocknet. Sodann ließ man das Pulver 12 Stunden an der Luft stehen und formte daraus die Pastille, indem der Eisendraht in die Pastille mit eingepreßt wurde.

Der Kohlenstoffgehalt des Fleisches wurde durch Elementaranalyse ermittelt.

Im verfütterten Fett bzw. Gemisch der Fettsäureäthylester wurde der Kohlenstoff ebenfalls durch Elementaranalyse bestimmt. Die Menge des täglich anfallenden Harns wechselte leider sehr stark, teils wegen der Unregelmäßigkeit der Harnentleerung, teils wegen der Unregelmäßigkeit der Wasseraufnahme. Da aber das Tier sich vor Beginn der Respirationsversuche bereits 7 Tage unter dem gleichen Ernährungsregime im Stoffwechselversuch befand, wobei Stickstoffgleichgewicht bestand, und da das Mittel der Stickstoffausscheidung aus den gesamten 11 Tagen mit dem Mittel aus den 4 Respirations-tagen absolut übereinstimmt, so besteht natürlich keinerlei Bedenken wegen der Unregelmäßigkeit der Harnausscheidung.

Harn und Waschwasser aus dem Käfig wurden täglich auf ein rundes Volumen aufgefüllt und in aliquoten Teilen der N nach Kjeldahl, der Kohlenstoff durch Elementaranalyse und der Brennwert in der Berthelotschen Bombe bestimmt.

Für die Kohlenstoffbestimmung im Harn wurde in den ersten Tagen des Versuchs der Harn im Schiffchen auf ausgeglühte Bimsteinstückchen aufgetropft und im Vakuum von 1 mm Hg getrocknet. In diesem Falle geschah dann die Verbrennung im Dennstedtschen Ofen im Sauerstoffstrom. Aus Gründen, die bei einer anderen Gelegenheit geschildert werden sollen, gingen wir später zu einem Verfahren über, das im wesentlichen dem von Spiro angegebenen entspricht: In einem sehr weiten Verbrennungsrohr wurde der in einem sehr großen

Schiffchen mit Bleichromat gemischte Harn im Sauerstoffstrom direkt verbrannt. Vor dem Schiffchen war zur Erhöhung der Geschwindigkeit des Gasstromes ein Glasstopfen eingelegt. Im Vorderteil passierten die Verbrennungsgase glühendes Kupferoxyd und 2 Schiffchen mit Bleisuperoxyd. Das verdampfte Wasser wurde in einem entenförmigen Glasgefäßchen kondensiert, das in Eiswasser stand.

Zur Bestimmung des Verbrennungswertes wurde der Harn auf Schleicher und Schüllsche Celluloseblöckchen getropft und im hohen Vakuum über Schwefelsäure bei 40° zur Trockne gebracht. Der beim Trocknungsprozeß unvermeidbare geringe Ammoniakverlust wurde dadurch in Rechnung gestellt, daß in einem genau ebenso behandelten Kontrollblöckchen gleichzeitig der Stickstoff nach der Trocknung bestimmt wurde.

Der Kot wurde bei schwach saurer Reaktion vorsichtig getrocknet, gepulvert und nach den mehrfach erwähnten Methoden quantitativ auf Stickstoff, Kohlenstoff, Fettsäuren und Unverseifbares im Petrolätherextrakt, Wasser und Brennwert analysiert. Für die Herstellung der Pastillen für die Calorimetrie des Kotes wurde ein kleiner Kunstgriff angewandt, der wohl auch anderen Forschern nützlich sein mag. War der Preßdruck nämlich von üblicher Stärke, so war ein Auspressen von etwas Fett aus dem Kot unvermeidbar. Wurde der Preßdruck aber nur ebenso weit getrieben, als zur Formung einer guten Pastille notwendig war, so gingen auch nicht Spuren von Fett verloren.

Der Versuch.

Der Versuch begann, wie schon oben erwähnt, mit der Verfütterung von Rindertalg und Pferdefleisch. Zur Kotabgrenzung wurden dem Hund am Vorabend des Beginnes der ersten Periode, also am 17. II. 1916, 50 g Fleisch und 25 g Talkum gereicht. In den darauf folgenden Tagen erhielt das Tier täglich morgens gegen 7¹/₂ Uhr in einer Portion 300 g Fleisch mit 50 g Rinderfett unter Zusatz von etwas Salz. Die Fütterung dieses Gemisches wurde bis zum 28. II. fortgesetzt. Die erste Periode dauerte somit 11 Tage. In einer Restportion von 50 g Fleisch wurden am Abend des letzten Tages der Vorperiode zur Kotabgrenzung 40 g Talkum beigefüttert. In der Hauptperiode, die am 29. II. einsetzte, trat in der Zusammen-

setzung der Nahrung nur insofern eine Änderung ein, als an Stelle von Talg die gleiche Gewichtsmenge des Fettsäureäthylestergemisches verfüttert wurde. Es mag hier wiederholt werden, daß die Beschaffenheit der ersten Faeces dieser Periode eine Verbesserung der Konsistenz durch entsprechenden Zusatz von Talkum zweckmäßig erscheinen ließ. An die 5 tägige Hauptperiode schließt sich eine 3 tägige Nachperiode an; das Futter dieser Periode entspricht dem der Vorperiode in Menge und Zusammensetzung. Der Beginn der Nachperiode war in den Faeces durch das Ausbleiben, das Ende der Nachperiode durch das Auftreten von Talkum gekennzeichnet.

Über den Prozentualgehalt der einzelnen Nahrungsbestandteile an Wasser, Stickstoff, Kohlenstoff, Fett und Fettsäure, sowie über deren Caloriengehalt pro Gramm gibt Tabelle I Aufschluß. Die täglich verabreichten Mengen an Fleisch und Fett bzw. Estern, ferner die jenen entsprechenden absoluten Mengen an Kohlenstoff, Stickstoff und Fett und deren calorischer Wert sind in Tabelle II wiedergegeben. Außerdem zeigt uns diese Tabelle die täglichen Körpergewichte des Tieres und die von ihm aufgenommenen Tagesmengen an Wasser und Talkum.

Während des ganzen Versuchs wurde der Harn in 24 stündigen Perioden gesammelt und analysiert. In den ersten 7 Tagen der Vorperiode wurde nur der Stickstoffgehalt des Harns quantitativ ermittelt, an den übrigen Tagen aller 3 Perioden wurde dagegen die Analyse des Harns auf die Bestimmung von Stickstoff, Kohlenstoff und Brennwert ausgedehnt. Die Faeces wurden für jede einzelne Periode gesammelt, feucht zur Wägung gebracht und unter Einhaltung schwach salzsaurer Reaktion zur Trockne eingedampft. Die in der Tabelle III angegebenen Daten für die Menge und Zusammensetzung der Faeces in der ersten Periode beziehen sich auf die ganze Dauer der Vorperiode von 11 Tagen; die daraus berechneten Zahlen für 24 Stunden repräsentieren somit sehr zuverlässige Mittelwerte. Dasselbe gilt für die 5 tägige Hauptperiode, während die 3 tägige Nachperiode vielleicht etwas zu kurz gewählt war. In den lufttrocken gemachten Faeces der einzelnen Perioden wurden Wasser, Stickstoff, Kohlenstoff, Brennwert, Gesamtfettsäuren und die unverseifbaren Bestandteile des Petrolätherextrakts quantitativ festgestellt.

Die erste 11 tägige Periode umfaßt 3 aufeinander folgende Tage (25., 26., 27. II.), an denen der respiratorische Stoffwechsel des Tieres in 6 stündigen Versuchen ermittelt wurde. In der Haupt- und Nachperiode fanden täglich annähernd 6 stündige Untersuchungen des Gasstoffwechsels des Tieres statt. Sämtliche experimentell gefundenen Daten über den Gasstoffwechsel und die Ausscheidungen in Harn und Faeces sind in Tabelle III reproduziert. Die in der letzten Horizontalreihe jeder Versuchsperiode untergebrachten Zahlen stellen für 24 Stunden berechnete Mittelwerte dar, die den direkten Vergleich zwischen den 3 Perioden ermöglichen.

An der Hand der Tabellen I, II und III, die uns ein umfassendes Bild über die gesamten Einnahmen und Ausgaben liefern, können wir den Stoff- und Kraftwechsel des Tieres pro 24 Stunden für die einzelnen Perioden berechnen. Die Resultate sind in den Tabellen IV und V so vollständig und übersichtlich zusammengestellt, daß wir glauben, uns damit begnügen zu können, die Durchführung der Berechnung an einem Beispiel, und zwar der ersten Periode, in extenso zu demonstrieren. Wir berechnen den Stoffumsatz, indem wir uns der von Rubner inaugurierten Berechnungsart bedienen¹⁾. Unser Versuchstier schied in der ersten Periode 8,735 g N pro 24 Stunden im Harn aus. Diese N-Ausscheidung entspricht einer Eiweißzersetzung von 54,59 g. Nach den Untersuchungen von Rubner gehören zu jedem Gramm N im Harn 5,923 l Sauerstoff und

Tabelle I.

Zusammensetzung und Brennwert des gereichten Futters.

	Wasser	N	C	Fett	Freie Fettsäure	Calorien
	%	%	%	%	%	pro g
Pferdefleisch . . .	75,82	3,301	11,91	1,3	—	1,3424
Rindertalg	0,29	—	75,61	—	0,81	9,563
Fettsäureäthylester aus Rindertalg . .	—	—	76,38	—	1,35	9,726

¹⁾ Durch die Verbrennung von Alkohol der Äthylester mußte in der Hauptperiode eine Erhöhung des Sauerstoffkonsums gegenüber der Verbrennung von Glycerin entstehen. Für die praktische Ernährungsfrage ist sie belanglos und wurde deshalb zunächst in der Rechnung nur berücksichtigt bei der Berechnung der absoluten Menge verbrannter Ester.

Tabelle II.

Tag	Gewicht des Hundes kg	Fleisch					Rinderfett bzw. Ester			Wasser ccm	Talkum g
		Menge g	N g	C g	Fett g	Calorien	Menge g	C g	Calorien		
Vorperiode:											
17. II.	11,72	50,0	—	—	—	—	—	—	—	25,0	
18.	11,72	300,0	9,90	35,73	3,90	402,74	50,0	37,80	478,15	100,0	
19.	—	300,0	9,90	35,73	3,90	402,74	50,0	37,80	478,15	—	
20.	11,80	300,0	9,90	35,73	3,90	402,74	50,0	37,80	478,15	140,0	
21.	11,70	300,0	9,90	35,73	3,90	402,74	50,0	37,80	478,15	180,0	
22.	11,85	300,0	9,90	35,73	3,90	402,74	50,0	37,80	478,15	140,0	
23.	11,85	300,0	9,90	35,73	3,90	402,74	50,0	37,80	478,15	130,0	
24.	11,85	300,0	9,90	35,73	3,90	402,74	50,0	37,80	478,15	145,0	
25.	11,88	300,0	9,90	35,73	3,90	402,74	50,0	37,80	478,15	30,0	
26.	11,88	300,0	9,90	35,73	3,90	402,74	50,0	37,80	478,15	130,0	
27.	11,90	300,0	9,90	35,73	3,90	402,74	50,0	37,80	478,15	70,0	
28.	—	300,0	9,90	35,73	3,90	402,74	50,0	37,80	478,15	130,0	
Hauptperiode:											
29. II.	11,95	300,0	9,90	35,73	3,90	402,74	50,0	38,19	486,30	120,0	
1. III.	11,85	300,0	9,90	35,73	3,90	402,74	50,0	38,19	486,30	110,0	
2.	11,94	300,0	9,90	35,73	3,90	402,74	50,0	38,19	486,30	60,0	
3.	—	300,0	9,90	35,73	3,90	402,74	50,0	38,19	486,30	35,0	
4.	11,79	300,0	9,90	35,73	3,90	402,74	50,0	38,19	486,30	25,0	
Nachperiode:											
5. III.	11,77	300,0	9,90	35,73	3,90	402,74	50,0	37,80	478,15	220,0	
6.	11,60	300,0	9,90	35,73	3,90	402,74	50,0	37,80	478,15	200,0	
7.	11,72	300,0	9,90	35,73	3,90	402,74	50,0	37,80	478,15	110,0	
8.	—	100,0	—	—	—	—	—	—	—	60,0	

4,754 l CO₂. Der im vorliegenden Falle erfolgten Ausscheidung von 8,735 g N entspricht demnach ein Sauerstoffkonsum von 51,737 l und eine Kohlensäureproduktion von 41,526 l. Im Mittel der 3 Respirationsversuche betrug der Sauerstoffverbrauch 143,66 l, die Kohlensäureproduktion 111,48 l. Subtrahieren wir die eben angegebenen auf Eiweißverbrennung entfallenden Werte von den Gesamtwerten für 24 Stunden, so bleibt ein Kohlensäurerest von 69,95 l und ein Sauerstoffrest von 91,92 l, die sich der Hauptsache nach auf Fett- und Glykogenverbrennung beziehen. Der Sauerstoffrest in Litern minus dem Kohlensäurerest in Litern, dividiert durch 0,57 ergibt die Menge des verbrannten Fettes in Grammen:

$$\frac{91,92 - 69,95}{0,57} = 38,54 \text{ g Fett.}$$

Tabelle III.

Datum	Harn				Faeces							Atmung									
	Menge		N	C	kg/Cal		Menge	Trocken- substanz	Wasser	N	C	kg/Cal	Petroläther- extrakt	freie Fettsäuren	Unverseifbarer Anteil d. Petrol- ätherextrakte	Sauerstoff- verbrauch	Kohlensäure- produktion	C	Respirator- Quotient		
	com	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	
I. Periode.																					
18. II. bis	952,0	60,740	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
24. II. inkl.	114,0	8,548	6,45	63,86	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	151,46	117,29	62,878	0,774	—	
25. II.	75,0	8,307	5,48	62,17	30,50	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	142,32	111,67	59,670	0,784	—	
26.	150,0	11,256	9,98	85,75	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	137,21	105,48	56,370	0,769	—	
27.	122,0	6,831	3,80	50,06	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	59,570	—	
28.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
In 11 Tagen ..	1413,0	95,682	—	—	201,10	121,37	79,73	2,916	54,47	658,66	52,14	50,01	2,13	—	—	—	—	—	—	—	
In 24 Stunden	128,5	8,735	6,427	65,46	18,30	11,03	7,25	0,265	4,952	59,878	4,74	4,55	0,19	—	—	143,66	111,48	59,570	0,776	—	
II. Periode.																					
29. II.	127,0	9,601	6,42	68,71	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
1. III.	90,0	9,737	5,71	69,88	47,98	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
2.	150,0	10,161	6,27	73,76	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
3.	100,0	8,273	5,65	60,69	163,50	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
4.	113,0	11,577	6,51	84,42	200,00(5.III.)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
					21,00(7.III.)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
In 5 Tagen ..	530,0	49,349	30,56	357,46	432,48	282,38	150,10	2,717	61,40	768,48	62,97	60,16	2,80	—	—	690,23	539,16	288,39	0,782	—	
In 24 Stunden	116,0	9,870	6,11	71,49	86,50	56,48	30,02	0,543	12,28	153,69	12,59	12,03	0,56	—	—	138,04	107,83	57,68	0,782	—	
III. Periode.																					
5. III.	150,0	9,968	6,30	73,78	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
6.	81,0	9,210	5,30	67,04	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
7.	100,0	12,427	6,30	88,61	24,10(7.III.)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
					21,70(9.III.)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
In 3 Tagen ..	331,0	31,605	18,10	229,43	45,80	24,06	21,74	0,871	11,60	140,60	9,415	8,729	0,686	—	—	396,16	305,76	163,39	—	—	
In 24 Stunden	110,3	10,535	6,01	76,48	15,27	8,02	7,25	0,290	3,87	46,866	3,14	2,909	0,229	—	—	132,05	101,92	54,46	0,772	—	

Tabelle IV.

	Stoffumsatz			Calorien aus				Im ganzen umgesetzt	Aus d. Nahrung angesetzt			Aus Körpermaterial abgebaut			In Harn und Faeces	In der Nahrung gereicht	Aus Nahrung und Körpermaterial		Aus Umsetzungsprodukten ermittelt		Differenz	
	Eiweiß	Fett, Ester	Kohlenhydrat	Eiweiß	Fett, Ester	Kohlenhydrat	Harn		N	C	Cal	N	C	Cal			N	C	Cal	Cal	Cal	Cal
I. Periode	54,59	38,94	18,43	322,58	368,44	77,22	65,46	702,78	0,90	2,92	33,24	—	—	125,34	880,89	880,89	880,89	880,89	880,89	861,36	19,53	
			= 10,88			= 103,58		729,09							880,89	880,89	880,89	880,89	887,67	6,80		
II. "	61,68	29,82	22,46	363,90	289,85	94,33	71,49	676,58	—	—	—	—	—	225,19	889,04	902,48	902,48	901,77	901,77	0,71		
III. "	65,81	31,26	9,05	389,06	298,84	38,01	76,48	649,43	—	—	—	—	—	123,84	880,89	914,89	914,89	922,92	922,92	8,03		

Die Menge der verbrannten Kohlenhydrate berechnet sich nach der Formel:

$$\frac{b - 1,419 x}{0,828}$$

wobei *b* der eben angegebene Kohlensäurerest und *x* die verbrannte Fettmenge darstellt. Es sind demnach verbrannt 18,43 g Glykogen. Bei der Umrechnung der so ermittelten Zahlen für den Stoffumsatz in Energiewerte stützen wir uns auf die von uns durch calorimetrische Messungen direkt gefundenen Brennwerte für die Nahrungsstoffe und Ausscheidungen. Wir fanden im Verbrennungscalorimeter einen Brennwert für 100 g Fleisch von 134,24 Cal.; da das von uns verwendete Fleisch aber 1,3% Fett enthält, so haben wir den auf Fett entfallenden Anteil von 12,35 Cal. dann zu subtrahieren, und erhalten so für 100 g fettfreies Fleisch einen Brennwert von 121,89 Cal., oder bei einem N-Gehalt des Fleisches von 3,3% einen Brennwert pro Gramm N von 36,93 Cal.

Den 8,735 g N im Harn entspricht somit	
ein Brennwert von	322,58 Cal.;
davon gehen ab die noch im Harn enthaltenen	65,46 "
durch Verbrennen von „Eiweiß“ (Fleisch)	<u> </u>
wurden also geliefert	257,12 Cal.,
38,54 g Fett lieferten	368,44 "
18,43 g Kohlenhydrate	<u>77,22 "</u>
im ganzen also	702,78 Cal.

Aus Tabelle V geht nun hervor, daß von den 9,9 g N, die in der Nahrung als Fleisch gereicht wurden, nur 9,0 g im Harn wieder auftraten, daß also 0,9 g N angesetzt wurden. Diese 0,9 g N, als Eiweiß gerechnet, entsprechen 33,24 Cal. Des weiteren geht sowohl aus Tabelle IV wie aus Tabelle III hervor, daß von den in der Nahrung enthaltenen 880,89 Cal. 125,34 Cal. wieder in Harn und Faeces erschienen. Addieren wir zur Vervollständigung der Energiebilanz die zum Ansatz gelangten 33,24 und die unausgenutzt ausgeschiedenen 125,34 Cal. in Harn und Faeces zu den durch Verbrennung im Organismus freigewordenen, so nähern wir uns mit 861,36 Cal. bis auf 19,5 Cal. oder 2,2% den eingeführten 880,89 Cal. Rein analytisch noch weit günstiger fiel die Bilanz in Periode II und III aus. Nach den Angaben der Tabelle IV kamen in der I. Periode 33,24 Cal. aus Eiweiß der Nahrung stammend zum Ansatz, in der II. Periode wurden 13,44 Cal. aus Körpereweiß zugesetzt, während in der III. Periode 116,15 Cal. als Fett angesetzt wurden und 34,0 Cal. aus Körpereweiß frei wurden. In der Ausnutzung der durch die Nahrung zugeführten Calorien macht sich in der I. und III. Periode ein Unterschied geltend derart, daß in der III. Periode der Brennwert der Faeces um annähernd denselben Betrag fällt, als der des Harnes ansteigt; dabei ist die Summe der in dem Harn und Faeces ausgeschiedenen Wärmemengen in beiden Perioden nahezu dieselbe, nämlich 123 bzw. 125 Cal. In der Hauptperiode ist gegenüber der Vor- und Nachperiode der unausgenutzte Anteil an Calorien ziemlich beträchtlich erhöht.

In Tabelle V ist schließlich die Stickstoff- und Kohlenstoffbilanz für 24 Stunden wiedergegeben. Wir erläutern rechnerisch

Tabelle V.
Stickstoff- und Kohlenstoffbilanz pro 24 Stunden.

I. Periode		N	C	II. Periode		N	C	III. Periode		N	C
		g	g			g	g			g	g
Ein- nahmen	Rindertalg	—	37,80	Fettsäureäthylester	—	—	38,19	Rindertalg	—	—	37,80
	Fett in Fleisch	—	2,99	Fett in Fleisch	—	—	2,99	Fett in Fleisch	—	—	2,99
	Fleisch	9,900	32,74	Fleisch	9,900	9,900	32,74	Fleisch	9,900	9,900	32,74
	Gesamteinnahme	9,900	73,53	Gesamteinnahme	9,900	9,900	73,92	Gesamteinnahme	9,900	9,900	73,53
Aus- gaben	Harn	8,785	6,43	Harn	9,870	9,870	6,11	Harn	10,535	10,535	6,01
	Respiration	—	59,57	Respiration	—	—	57,68	Respiration	—	—	54,46
	durch Eiweißverbren- nung 54,59 g (52% C)	—	28,38	durch Eiweißverbren- nung 61,69 g (52% C)	—	—	38,08	durch Eiweißverbren- nung 65,81 g (52% C)	—	—	34,22
	aus Fett 38,54 g	—	29,14	aus Ester 29,62 g	—	—	22,78	aus Fett 31,26 g	—	—	28,63
	(75,61% C)	—	8,19	(76,38% C)	—	—	9,98	(75,61% C)	—	—	4,02
	aus Glykogen 18,43 g	—	—	aus Glykogen 22,46 g	—	—	—	aus Glykogen 9,05 g	—	—	—
	(44,44% C)	—	—	(44,44% C)	—	—	—	(44,44% C)	—	—	—
	Faeces	—	4,95	Faeces	—	—	12,28	Faeces	—	—	9,87
	aus Eiweiß	0,265	0,88	aus Eiweiß	0,543	0,543	1,76	aus Eiweiß	0,290	0,290	0,94
	aus Fett	—	3,88	aus Ester	—	—	10,10	aus Fett	—	—	2,42
aus Cholesterin	—	0,17	aus Cholesterin	—	—	0,47	aus Cholesterin	—	—	0,19	
	Gesamtausgabe	9,000	70,93	Gesamtausgabe	10,413	10,413	76,07	Gesamtausgabe	10,825	10,825	64,34
	In der Nahrung gereicht	9,900	73,53	In der Nahrung gereicht	9,900	9,900	73,92	In der Nahrung gereicht	9,900	9,900	73,53
	Angesetzt	0,900	2,60	Aus Körpermaterial	0,513	0,513	2,15	Aus Körpermaterial	0,925	0,925	—
	5,625 g Eiweiß mit	0,900	2,92	entsprechend 3,21 g Ei- weiß mit	0,513	0,513	1,66	entsprechend 5,78 g Ei- weiß	—	—	—
	Differenz	0,000	0,32	Differenz	0,000	0,49	0,49	Angesetzt	—	—	9,19
								entsprechend 12,15 g Fett			

risch wiederum nur die erste Periode. Da der Stickstoff der Nahrung nur im Harn und in den Faeces wiedererscheint, so gestaltet sich die Aufstellung der N-Bilanz sehr einfach. Bei dem N-Gehalt des Fleisches von 3,3% erhält der Hund täglich 9,9 g N als Eiweiß; von diesen 9,9 g schied er im Mittel pro 24 Stunden 8,735 g im Harn und 0,265 g in den Faeces aus, im ganzen also 9,0 g. Es sind somit 0,9 g N angesetzt worden.

Ungleich komplizierter ist die Berechnung der Kohlenstoffbilanz. Nach der Elementaranalyse enthalten 300 g unseres Fleisches 35,73 g C; davon entfallen auf das im Fleisch enthaltene Fett 2,99 g C. Nehmen wir nun das Verhältnis von N zu C im Eiweiß 16:52,5 an, so kommen auf die 9,9 g N im Fleisch 32,48 g C. In den 50 g Talg der I. Periode erhielt der Hund außerdem 37,80 g C. Unter Einsetzung des Wertes 32,48 als Eiweiß-C gelangen wir zu einer Tagesdosis an C von 73,27 g, während die durch die Elementaranalyse direkt ermittelte Menge 73,53 g beträgt. Von diesen 73,53 g C erscheinen in Harn und Atmungsluft (6,43 + 59,57) = 66,00 g C wieder. Die 59,57 g C sind, wie Tabelle III zeigt, aus der produzierten Kohlensäure durch Umrechnung auf C erhalten worden. Wir haben zur Kontrolle die Berechnung noch in einer anderen Weise vorgenommen, indem wir von den den umgesetzten Nährstoffmengen entsprechenden Kohlenstoffmengen ausgingen; bei dieser Berechnungsart kommen wir auf eine Ausscheidung von C im Harn und durch Respiration von 65,71 g, eine Zahl, die von der obigen um 0,29 g differiert. Von diesen 65,71 g C entfallen 28,38 g auf Eiweiß, 29,14 g auf Fett und 8,19 g auf Glykogenzersetzung. Nach der Kohlenstoffbestimmung wurden 4,95 g C in den Faeces ausgeschieden. An dieser Menge ist das Eiweiß mit 0,88 g C (entsprechend 0,265 g ausgeschiedenem N), das Fett mit 3,88 g (entsprechend 4,55 g nicht resorbierten Fettsäuren), das Cholesterin mit 0,17 g (entsprechend 0,19 g Cholesterin) beteiligt. Wir haben oben bereits erwähnt, daß 0,9 g N im Körper retiniert wurden. Bei dem Verhältnis N:C wie 16:52,5 im Eiweißmolekül entsprechen diese 0,9 g N 2,92 g C. Die Kohlenstoffbilanz schließt somit analytisch mit einer minimalen Differenz ab.

In der	65,71 g C	verbrannt
Nahrung auf-	2,92 g C	angesetzt
genommen	<u>4,95 g C</u>	unzersetzt ausgeschieden
73,53 g C	73,58 g C	

Ergebnis.

Aus den gewonnenen Tafeln der Stickstoff- und Kohlenstoffbilanz wie aus der Wärmebilanz ergibt sich zweifellos, daß die Fettsäureäthylester die natürlichen Fette im Stoffwechsel vollkommen zu vertreten vermögen, daß sie also nach Maßgabe ihres Brennwertes von 9,726 Calorien pro Gramm den natürlichen Fetten isodynam sind. Ob für die Erhöhung des Eiweißumsatzes während der Fütterung der Äthylester der in ihnen enthaltene Alkohol mitverantwortlich gemacht werden muß, steht dahin. Die Hauptursache der erhöhten Eiweißverbrennung ist jedenfalls durch die mangelhafte Ausnutzung der Äthylester gegeben. Denn während der Petrolätherextrakt der Faeces in der Vorperiode 4,74 g pro 24 Stunden, in der Nachperiode 3,14 g betrug, entsprechend einer Ausnutzung von rund 91 bis 94 % des Fettes, wog der Petrolätherextrakt der Faeces pro 24 Stunden der Hauptperiode 12,59 g, was einer Ausnutzung der Fettsäureäthylester von rund 75 % entsprechen würde. Selbstverständlich vermindert sich dadurch die Zahl der dem Tiere zur Verfügung stehenden Calorien, und es mußte das Defizit aus seiner Körpersubstanz decken. Wir finden dementsprechend in der Vorperiode einen täglichen Eiweißansatz von 5,625 g, während in der Hauptperiode 3,21 g pro Tag Körpereiß in Verlust gingen.

Eine eingehende Diskussion der Versuchsergebnisse, soweit sie für rein wissenschaftliche Probleme des allgemeinen Stoffwechsels von Wichtigkeit sein können, soll einer späteren Gelegenheit vorbehalten bleiben. In praktischer Beziehung — und unter den Umständen des Krieges steht die praktische Ernährungsfrage in erster Linie — ergibt sich jedenfalls mit Sicherheit, daß man ohne Bedenken für die Ernährung von Mensch und Tier einen gewissen Prozentsatz der natürlichen Fette durch Fettsäureäthylester ersetzen

kann. Wie weit man dabei gehen soll, das scheint in erster Linie von der Empfindlichkeit des Geschmackes abzuhängen. Mischt man guter Molkereibutter 20% Fettsäureäthylester bei, so ist das Gemisch für nicht allzu verwöhnte Menschen durchaus gut genießbar. Bei der Tierfütterung kann man wohl auch auf $\frac{1}{3}$ des Gewichtes unbedenklich heraufgehen. Die dabei verabreichte Alkoholmenge ist so gering, daß selbst vom extremsten Standpunkte aus Bedenken wohl nicht erhoben werden können.

Die am Schluß abgedruckten Protokolle orientieren über den Verlauf der Respirationsversuche; einer besonderen Erläuterung bedürfen sie wohl nicht. Besonders aufmerksam gemacht sei auf die Protokolle, die über den Umfang der körperlichen Bewegung des Hundes während des Aufenthaltes im Respirationsapparat orientieren.

Nachtrag: Wir haben schon oben die wichtigen Versuche von Otto Frank über die Resorption der Fettsäureäthylester erwähnt. Frank hat im Verlaufe seiner Versuche auch einige Ausnutzungsversuche mit Fettsäureäthylestern gemacht und dabei im allgemeinen Zahlen erhalten, die mit den von uns gefundenen sich in derselben Größenordnung bewegen. In einigen Versuchen hat er sogar eine bessere Ausnutzung gefunden als wir (im Mittel 87%). Ganz aus der Reihe ist in der Frankschen Untersuchung die Zahl für die Ausnutzung des Stearinsäureäthylesters gefallen, für den er nur eine Ausnutzung von 12,7% gefunden hat. Das Faktum hat natürlich die Aufmerksamkeit Franks erregt, doch hat er davon absehen zu sollen geglaubt, sich für irgendeine der möglichen Erklärungen zu entscheiden. Wir haben uns jedenfalls unsererseits für verpflichtet gehalten, die Ausnutzung des Stearinsäureäthylesters und Palmitinsäureäthylesters noch in besonderen Ausnutzungsversuchen vergleichend zu prüfen, da wir geneigt waren, das Resultat von Frank auf eine Verunreinigung des verfütterten Stearinsäureäthylesters zurückzuführen. Leider war aus naheliegenden Gründen keine Möglichkeit, Stearinsäure von möglichst vollkommener Reinheit selbst darzustellen, so daß vorhandene, als käuflich bezeichnete Präparate von Stearinsäure bzw. von Palmitinsäure (Kahlbaum) benutzt werden mußten. Die Darstellung der Ester geschah nach unserer oben mitgeteilten Methode, während Frank seine Ester durch andauerndes Ein-

leiten von trockenem Chlorwasserstoff in die alkoholische Lösung dargestellt hat. Sowohl der Stearinsäure- wie der Palmitinsäureester enthielten noch kleine Mengen freie Säure. Da, wie oben bemerkt, das Ausgangsmaterial nicht chemisch rein war, insbesondere geringe Mengen Ölsäure enthielt, so lag der Schmelzpunkt der Ester tiefer, als die Literatur angibt.

Die Ausnutzungsversuche wurden an dem gleichen Hund (Fox) angestellt, der zu dem großen Stoffwechselversuch benutzt worden war. Der Hund erhielt am Abend vor dem ersten Versuchstag etwas Fleisch mit Talkum zur Abgrenzung des Kotes, dann am Morgen des ersten Versuchstages 100 g Fleisch mit 25 g Stearinsäureäthylester und ebenso mittags 100 Fleisch und 25 g Stearinsäureester. Da sich am nächsten Morgen eine Darmstörung zeigte (dem sehr weichen Kot war etwas Blut beigemischt), so wurde zur Abgrenzung Kohl mit etwas Fleisch gegeben und der Versuch einstweilen abgebrochen. Nach 8 Tagen, als alle Störungen geschwunden waren, wurde der Versuch wieder aufgenommen, und der Hund erhielt 2 Tage wieder je 200 g Fleisch und 50 g Stearinsäureester in zwei Portionen, sodann 2 Tage an Stelle des Stearinsäureesters 50 g Palmitinsäureester. Die Abgrenzung des Kotes der einzelnen Versuche gelang ausgezeichnet. Der schonend getrocknete und gepulverte Kot wurde wieder nach Kumagawa-Suto analysiert. Das Ergebnis des Ausnutzungsversuches stellt folgende Tabelle dar:

Datum	Nahrung		Faeces		
	Fleisch	Äthylester der Stearinsäure g	Palmitinsäure g	Ges. Trockensubstanz g	Petrolätherextrakt g
23. VII.	100 g Fleisch + 50 g Talk. .	—	—	—	—
24. VII.	200 g Fleisch	50	—	82,35	18,53
25. VII.	100 g Fleisch + 0,5 g Carmin	—	—	—	—
30.	100 g " + 5,0 g Kohle	—	—	—	—
31. VII.	200 g Fleisch + 50 g Talk.	50	—	69,77	17,86
1. VIII.	200 g Fleisch + 50 g Talk. + 0,5 g Carmin	—	50	147,83	26,30
2.	200 g " + 50 g Talk. .	—	50		
3. VIII.	200 g Fleisch + 5 g Kohle .	—	—	—	—

Hieraus berechnet sich eine Ausnutzung des Palmitinsäureesters von rund 74%, des Stearinsäureesters von rund 64%. Das befremdende Ergebnis des einen Frankschen Versuches hat also sicher auf Zufälligkeiten beruht. Immerhin geht auch aus unseren eben mitgeteilten beiden Ausnutzungsversuchen eine erheblich schlechtere Verwertung des Stearinsäureesters gegenüber dem Palmitinsäureester hervor. Ob das auch für die absolut reinen Körper gilt, müssen weitere Untersuchungen entscheiden.

Protokolle.

Versuch vom 25. II. 1916.

Versuchsobjekt: Hund Fox.

Gewicht des Hundes	Gewicht der Unterlage	Dauer des Versuches	Ernährung	
11,88 kg	820 g	5 ^h 52'	300 g Fleisch	50 g Rindertalg
Temperatur	Bar. korr.	Manometer	Thermobar.	Hygr.
Anfangswerte 20,7°	750,43	— 0,02	+ 0,06	40
Endwerte . . 19,7°	746,45	+ 2,85	+ 5,26	93
Anfangsvolum	194,500 l bei 20,7° u. 743,08 mm Hg. = 176,746 l			
Endvolum . .	194,400 l bei 20,7° u. 731,75 mm Hg. = 173,960 l			

Analysen

der Anfangsluft	der Endluft	des Sauerstoffes
CO ₂ = 0,05 %	0,49 %	CO ₂ = 0,05 %
O ₂ = 20,89 %	18,77 %	O ₂ = 98,40 %
N ₂ = 79,06 %	80,74 %	N ₂ = 1,55 %
<u>100,00 %</u>	<u>100,00 %</u>	<u>100,00 %</u>

Sauerstoffbilanz:

Vorher vorhanden	36,922 l
nachher "	32,652 l
	<u>4,270 l</u>
Anfangsgew. d. Gasometers = 54,415 kg bei 18,2° u. 750,93 mm Hg	
Endgewicht " " = 91,050 " " 18,2° " 750,93 " "	
zugeführt = 33,288 l bei 0° und 760 mm Hg	
davon ab N ₂ in O ₂ = 0,516 l	
" " CO ₂ in O ₂ = 0,017 l	
dazu	<u>4,270 l</u>
Nettosauerstoffverbrauch	37,025 l
Sauerstoffverbrauch pro Stunde =	6,311 l.

Kohlensäurebilanz:

Vorher vorhanden 0,088 l; aus Lauge = 27,9041 CO₂
 nachher " 0,8521 Gesamtkohlensäureprod. = 28,668 l;
 0,764 l

Kohlensäure pro Stde. = 4,887 l; Respirator. Quotient = 0,774;

Stickstoffbilanz:

Vorher vorhanden . . 139,734 l; N₂ aus O₂ (1,55%) = 0,516 l
 nachher " . . 140,455 l
 0,721 l

Differenz = + 0,205 l.

Versuch vom 26. II. 1916.**Versuchsobjekt: Hund Fox.**

Gewicht des Hundes	Gewicht der Unterlage	Dauer des Versuches	Ernährung		
11,88 kg	820 g	5 ^h 53'	300 g Fleisch	50 g Rindertalg	
			Temperatur	Bar. korr.	
			Manometer	Thermobar.	
			Hygr.		
Anfangswerte	19,8	749,68	+ 0,03	+ 0,08	45
Endwerte . .	19,8	748,70	+ 4,80	+ 4,25	90
Anfangsvolum	194,500 l bei 19,8° und 741,89 mm Hg. = 177,005 l				
Endvolum . .	194,475 l " 19,8° " 735,02 " " = 175,340 l				

Analysen

der Anfangsluft	der Endluft	des Sauerstoffes
CO ₂ = 0,05 %	0,50 %	CO ₂ = 0,05 %
O ₂ = 20,89 %	19,18 %	O ₂ = 98,40 %
N ₂ = 79,06 %	80,32 %	N ₂ = 1,55 %
<u>100,00 %</u>	<u>100,00 %</u>	<u>100,00 %</u>

Sauerstoffbilanz:

Vorher vorhanden 36,976 l
 nachher " 33,630 l
 3,346 l

Anfangsgew. d. Gasometers = 36,230 kg bei 18,3° u. 749,7 mm Hg
 Endgewicht " " = 71,555 " " 17,9° " 748,7 " "
 zugeführt = 32,058 l bei 0° und 760 mm Hg

davon ab N_2 in $O_2 = 0,497$ l
 " " CO_2 " $O_2 = 0,016$ l
 dazu 3,346 l
 Nettosauerstoffverbrauch 34,891 l
 Sauerstoffverbrauch pro Stunde = 5,930 l.

Kohlensäurebilanz:

Vorher vorhanden 0,88 l; aus Lauge = 26,585 l CO_2
 nachher " 0,877 l Gesamtkohlensäureprod. = 27,374 l
 0,789 l

Kohlensäure pro Stde. = 4,653 l; Respirator. Quotient = 0,784.

Stickstoffbilanz:

Vorher vorhanden . . 139,939 l; N_2 aus O_2 (1,55 %) = 0,497 l;
 nachher " . . 140,832 l
 0,893 l

Differenz = + 0,396 l.

Versuch vom 27. II. 1916.

Versuchsobjekt: Hund Fox.

Gewicht des Hundes	Gewicht der Unterlage	Dauer des Versuches	Ernährung	
11,90 kg	820 g	5 ^h 58'	300 g Fleisch 50 g Rindertalg	
	Temperatur	Bar. korr.	Manometer	Thermobar. Hygr.
Anfangswerte	20,1	747,96	+ 0,07	+ 0,07 43
Endwerte . .	19,4	747,10	+ 1,60	+ 2,80 83
Anfangsvolum	194,480 l bei 20,1° u. 740,61 mm Hg. = 176,500 l			
Endvolum . .	194,455 l " 20,1° " 732,48 " " = 174,538 l			

Analysen.

der Anfangsluft	der Endluft	des Sauerstoffes
$CO_2 = 0,05$ %	0,55 %	$CO_2 = 0,05$ %
$O_2 = 20,89$ %	19,01 %	$O_2 = 98,40$ %
$N_2 = 79,06$ %	80,44 %	$N_2 = 1,55$ %
<u>100,00</u> %	<u>100,00</u> %	<u>100,00</u> %

Sauerstoffbillanz:

Vorher vorhanden 36,871 l
 nachher " 33,179 l
 3,692 l

Anfangsgew. d. Gasometers	= 33,575 kg bei 18,08° u. 748,1 mm Hg
Endgewicht " " "	= 67,745 " " 18,3° " 747,1 " " "
	<u>zugeführt = 30,913 l bei 0° und 760 mm Hg</u>
davon ab N ₂ in O ₂	= 0,479 l
" " CO ₂ " O ₂	= 0,015 l
dazu	<u>3,692 l</u>
Nettosauerstoffverbrauch	34,111 l
Sauerstoffverbrauch pro kg und Stunde	= 5,717 l.

Kohlensäurebilanz:

Vorher vorhanden	0,088 l; aus Lauge = 25,353 l CO ₂
nachher " "	<u>0,960 l Gesamtkohlensäureprod. = 26,225 l</u>
	0,872 l

Kohlensäure pro Stde. = 4,395 l; Respirator. Quotient = 0,769.

Stickstoffbilanz:

Vorher vorhanden . .	139,541 l; N ₂ aus O ₂ (1,55 %) = 0,479 l;
nachher " . .	<u>140,397 l</u>
	0,856 l

Differenz = + 0,377 l.

Versuch vom 29. II. 1916.

Versuchsobjekt: Hund Fox.

Gewicht des Hundes	Gewicht der Unterlage	Dauer des Versuches	Ernährung		
11,95 kg	820 g	5 ^h 53'	300 g Fleisch 50 g Ester		
	Temperatur	Bar. korr.	Manometer	Thermobar.	Hygr.
Anfangswerte	20,2°	747,46	+ 0,09	+ 0,06	47
Endwerte . .	19,7°	744,90	- 0,38	+ 4,95	82
Anfangsvolum	194,430 l bei 20,2° u. 739,57 mm Hg. = 176,148 l				
Endvolum . .	194,400 l " 20,2° " 727,70 " " = 173,292 l				

Analysen

der Anfangsluft	der Endluft	des Sauerstoffes
CO ₂ = 0,05 %	0,65 %	CO ₂ = 0,05 %
O ₂ = 20,89 %	18,54 %	O ₂ = 98,40 %
N ₂ = 79,06 %	<u>80,81 %</u>	<u>N₂ = 1,55 %</u>
100,00 %	100,00 %	100,00 %

Sauerstoffbilanz:

Vorher vorhanden	36,797 l
nachher "	<u>32,128 l</u>
	4,669 l
Anfangsgew. d. Gasometers =	35,220 kg bei 18,0° u. 747,6 mm Hg
Endgewicht " " =	<u>67,475 " " 18,2° " 744,9 " "</u>
zugeführt =	29,157 l bei 0° und 760 mm Hg
davon ab N ₂ in O ₂ =	0,452 l
" " CO ₂ " O ₂ =	0,014 l
dazu	<u>4,669 l</u>
Nettosauerstoffverbrauch	33,360 l
Sauerstoffverbrauch pro Stunde =	5,670 l.

Kohlensäurebilanz:

Vorher vorhanden 0,088 l; aus Lauge	= 25,382 l CO ₂
nachher " <u>1,126 l Gesamtkohlensäureprod.</u>	= 26,420 l;
	1,038 l
Kohlensäure pro Stde. =	4,491 l; Respirator. Quotient = 0,792.

Stickstoffbilanz:

Vorher vorhanden	139,265 l; N ₂ aus O ₂ (1,55%) = 0,452 l
nachher "	<u>140,039 l</u>
	0,774 l
Differenz = +	0,322 l.

Versuch vom 1. III. 1916.

Versuchsobjekt: Hund Fox.

Gewicht des Hundes	Gewicht der Unterlage	Dauer des Versuches	Ernährung	
11,85 kg	820 g	5 ^h 56'	300 g Fleisch 50 g Aethylester	
Temperatur	Bar. korr.	Manometer	Thermobar.	Hygr
Anfangswerte 20,7°	742,2	+ 0,09	+ 0,06	51
Endwerte . . . 19,8°	742,2	+ 0,45	+ 1,93	87
Anfangsvolum	194,530 l bei 20,7° u. 732,95 mm Hg. = 174,360 l			
Endvolum . . .	194,480 l " 20,7° " 724,89 " " = 172,396 l			

	Analysen	
der Anfangsluft	der Endluft	des Sauerstoffes
CO ₂ = 0,05 %	0,52 %	CO ₂ = 0,05 %
O ₂ = 20,89 %	19,33 %	O ₂ = 98,40 %
N ₂ = 79,06 %	80,15 %	N ₂ = 1,55 %
<u>100,00 %</u>	<u>100,00 %</u>	<u>100,00 %</u>

Sauerstoffbilanz:

Vorher vorhanden	36,424 l
nachher "	<u>33,324 l</u>
	3,100 l
Anfangsgew. d. Gasometers = 43,115 kg bei 18,4° u. 742,0 mm Hg	
Endgewicht " " = 77,540 " " 18,28° " 742,2 " "	
zugeführt = 30,896 l bei 0° und 760 mm Hg	
davon ab N ₂ in O ₂ = 0,479 l	
" " CO ₂ " O ₂ = 0,015 l	
dazu	<u>3,100 l</u>
Nettosauerstoffverbrauch	33,502 l
Sauerstoffverbrauch pro Stunde =	5,646 l.

Kohlensäurebilanz:

Vorher vorhanden 0,087 l; aus Lauge	= 25,172 l CO ₂
nachher " <u>0,896 l</u> Gesamtkohlensäureprod. =	25,981 l
	0,809 l
Kohlensäure pro Stde. =	4,379 l; Respirator. Quotient = 0,776.

Stickstoffbilanz:

Vorher vorhanden . . . 137,852 l; N ₂ aus O ₂ (1,55 %) = 0,479 l	
nachher " . . . <u>138,175 l</u>	
	0,323 l
Differenz =	- 0,156 l.

Versuch vom 2. III. 1916.

Versuchsobjekt: Hund Fox.

Gewicht des Hundes	Gewicht der Unterlage	Dauer des Versuchs	Ernährung
11,94 kg	820 g	5 ^h 50'	300 g Fleisch 50 g Aethylester

Temperatur	Bar. korr.	Manometer	Thermobar.	Hygr.
Anfangswerte 21,0°	741,13	+ 0,08	+ 0,05	48
Endwerte . . 20,1°	738,33	+ 0,70	+ 3,50	87
Anfangsvolum 194,440 l	bei 21,0° u. 732,28 mm Hg. = 173,944 l			
Endvolum . . 194,400 l	" 21,0° " 722,50 " " = 171,584 l			

Analysen

der Anfangsluft	der Endluft	des Sauerstoffes
CO ₂ = 0,05 ⁰ / ₀	0,54 ⁰ / ₀	CO ₂ = 0,05 ⁰ / ₀
O ₂ = 20,89 ⁰ / ₀	18,97 ⁰ / ₀	O ₂ = 98,40 ⁰ / ₀
N ₂ = 79,06 ⁰ / ₀	80,49 ⁰ / ₀	N ₂ = 1,55 ⁰ / ₀
<u>100,00⁰/₀</u>	<u>100,00⁰/₀</u>	<u>100,00⁰/₀</u>

Sauerstoffbilanz:

Vorher vorhanden	36,337 l
nachher "	<u>32,550 l</u>
	3,787 l
Anfangsgew. d. Gasometers = 34,765 kg	bei 18,45° u. 741,13 mm Hg
Endgewicht " " = 67,650	" " 18,52° " 738,38 " "
	<u>zugeführt = 29,403 l</u>
	bei 0° und 760 mm Hg
davon ab N ₂ in O ₂ = 0,456 l	
" " CO ₂ " O ₂ = 0,015 l	
dazu	<u>3,787 l</u>
Nettosauerstoffverbrauch	32,719 l
Sauerstoffverbrauch pro Stunde	= 5,609 l.

Kohlensäurebilanz:

Vorher vorhanden 0,087 l; aus Lauge	= 24,897 l CO ₂
nachher " <u>0,926 l</u>	Gesamtkohlensäureprod. = 25,736 l
	0,839 l
Kohlensäure pro Stde. = 4,412 l; Respirator. Quotient = 0,786.	

Stickstoffbilanz:

Vorher vorhanden . . 137,522 l; N ₂ aus O ₂ (1,55 ⁰ / ₀) = 0,456 l	
nachher " . . <u>138,109 l</u>	
	0,587 l
Differenz = + 0,131 l.	

Versuch vom 3. III. 1916.

Versuchsobjekt: Hund Fox.

Gewicht des Hundes	Gewicht der Unterlage	Dauer des Versuches	Ernährung	
—	820 g	5 ^h 42'	300 g Fleisch 50 g Äthylester	
Temperatur	Bar. corr.	Manometer	Thermobar.	Hygr.
Anfangswerte 20,9 ^o	737,24	+ 0,10	+ 0,05	48
Endwerte . . 20,3 ^o	737,84	+ 3,20	— 0,23	87
Anfangsvolum 194,530 l	bei 20,9 ^o u. 728,46 mm Hg = 173,172 l			
Endvolum . . 194,480 l	" 20,9 ^o " 724,92 " " = 172,284 l			

Analysen

der Anfangsluft	der Endluft	des Sauerstoffes
CO ₂ = 0,05 ^o / _o	0,47 ^o / _o	CO ₂ = 0,05 ^o / _o
O ₂ = 20,89 ^o / _o	19,52 ^o / _o	O ₂ = 98,40 ^o / _o
N ₂ = 79,06 ^o / _o	80,01 ^o / _o	N ₂ = 1,55 ^o / _o
<u>100,00^o/_o</u>	<u>100,00^o/_o</u>	<u>100,00^o/_o</u>

Sauerstoffbilanz:

Vorher vorhanden	36,176 l
Nachher "	<u>33,630 l</u>
	2,546 l
Anfangsgew. d. Gasometers = 44,355 kg bei 18,6 ^o u. 737,1 mm Hg	
Endgewicht " " = 79,660 " " 18,22 ^o " 737,8 " "	
zugeführt	<u>31,469 l bei 0^o und 760 mm Hg</u>
davon ab N ₂ in O ₂ = 0,488 l	
" " CO ₂ " O ₂ = 0,016 l	
dazu	<u>2,546 l</u>
Nettosauerstoffverbrauch	33,511 l
Sauerstoffverbrauch pro Stunde	= 5,879 l.

Kohlensäurebilanz:

Vorher vorhanden 0,086 l; aus Lauge	= 25,152 l CO ₂
Nachher " 0,810 l Gesamtkohlensäureprod. = 25,876 l	
	<u>0,724 l</u>
Kohlensäure pro Std. = 4,540 l; Respirator. Quotient = 0,772.	

Stickstoffbilanz:

Vorher vorhanden . . 136,913 l; N ₂ aus O ₂ (1,55 ^o / _o) = 0,488 l	
Nachher " . . 137,845 l	
	<u>0,932 l</u>
Differenz = + 0,444 l.	

Versuch vom 4. III. 1916.

Versuchsobjekt: Hund Fox.

Gewicht des Hundes	Gewicht der Unterlage	Dauer des Versuches	Ernährung	
11,79 kg	820 g	5 ^h 48'	300 g Fleisch 50 g Äthylester	
	Temperatur	Bar. korr.	Manometer	Thermobar. Hygr.
Anfangswerte	20,25°	744,62	+ 0,10	+ 0,05 57
Endwerte . .	19,6 °	747,0	+ 3,78	+ 0,04 93
Anfangsvolum	194,590 l bei 20,2° u. 734,64 mm Hg = 175,112 l			
Endvolum . .	194,540 l " 20,2° " 732,27 " " = 174,504 l			

Analysen

der Anfangsluft	der Endluft	des Sauerstoffes
CO ₂ = 0,05 ^o / _o	0,58 ^o / _o	CO ₂ = 0,05 ^o / _o
O ₂ = 20,89 ^o / _o	19,75 ^o / _o	O ₂ = 98,40 ^o / _o
N ₂ = <u>79,06^o/_o</u>	<u>79,67^o/_o</u>	N ₂ = <u>1,55^o/_o</u>
100,00 ^o / _o	100,00 ^o / _o	100,00 ^o / _o

Sauerstoffbilanz:

Vorher vorhanden	36,582 l
Nachher "	<u>34,465 l</u>
	2,117 l
Anfangsgew. d. Gasometers = 41,405 kg bei 18,45° u. 744,3 mm Hg	
Endgewicht " " = 77,950 " " 18,3 ° " 746,9 " "	
zugeführt	<u>32,953 l bei 0° und 760 mm Hg</u>
davon ab N ₂ in O ₂ = 0,510 l	
" " CO ₂ " O ₂ = 0,016 l	
dazu	<u>2,117 l</u>
Nettosauerstoffverbrauch	34,544 l
Sauerstoffverbrauch pro Stunde	= 5,956 l.

Kohlensäurebilanz:

Vorher vorhanden	0,087 l; aus Lauge = 26,135 l CO ₂
Nachher "	<u>1,012 l</u> Gesamtkohlensäureprod. = 27,060 l
	0,925 l
Kohlensäure pro Std.	= 4,665 l; Respirator. Quotient = 0,783.

Stickstoffbilanz:

Vorher vorhanden	138,445 l; N ₂ aus O ₂ (1,55 ^o / _o) = 0,510 l
Nachher "	<u>139,028 l</u>
	0,583 l
Differenz = +	0,073 l.

Versuch vom 5. III. 1916.

Versuchsobjekt: Hund Fox.

Gewicht des Hundes	Gewicht der Unterlage	Dauer des Versuches	Ernährung	
11,77 kg	820 g	5 ^h 53'	300 g Fleisch	50 g Rinderfett
Temperatur	Bar. korr.	Manometer	Thermobar.	Hygr.
Anfangswerte 20,7°	752,33	+ 0,10	+ 0,05	44
Endwerte . . 19,9°	752,18	+ 3,23	+ 2,32	86
Anfangsvolum 194,610 l	bei 20,7° u. 744,38 mm Hg = 177,150 l			
Endvolum . . 194,540 l	" 20,7° " 737,85 " " = 175,533 l			

Analysen

der Anfangsluft	der Endluft	des Sauerstoffes
CO ₂ = 0,05 %	0,50 %	CO ₂ = 0,05 %
O ₂ = 20,89 %	19,50 %	O ₂ = 98,40 %
N ₂ = 79,06 %	80,00 %	N ₂ = 1,55 %
<u>100,00 %</u>	<u>100,00 %</u>	<u>100,00 %</u>

Sauerstoffbilanz:

Vorher vorhanden	37,007 l
Nachher "	34,229 l
	<u>2,778 l</u>
Anfangsgew. d. Gasometers = 38,585 kg bei 18,45° u. 752,38 mm Hg	
Endgewicht " " = 72,290 " " 18,45° " 752,18 " "	
zugeführt	<u>30,661 l bei 0° und 760 mm Hg</u>
davon ab N ₂ in O ₂ = 0,475 l	
" " CO ₂ " O ₂ = 0,015 l	
dazu	<u>2,778 l</u>
Nettosauerstoffverbrauch	32,949 l
Sauerstoffverbrauch pro Stunde	= 5,601 l.

Kohlensäurebilanz:

Vorher vorhanden 0,088 l; aus Lauge	= 24,484 l CO ₂
Nachher " <u>0,877 l</u> Gesamtkohlensäureprod. = 25,273 l	
	<u>0,789 l</u>
Kohlensäure pro Std. = 4,296 l; Respirator. Quotient = 0,767.	

Stickstoffbilanz:

Vorher vorhanden . . 140,055 l; N ₂ aus O ₂ (1,55 %)	= 0,475 l
Nachher " . . <u>140,426 l</u>	
	<u>0,371 l</u>
Differenz = — 0,104 l.	

Versuch vom 6. III. 1916.

Versuchsobjekt: Hund Fox.

Gewicht des Hundes	Gewicht der Unterlage	Dauer des Versuches	Ernährung	
11,60 kg	820 g	6 ^h 00'	300 g Fleisch 50 g Rindertalg	
	Temperatur	Bar. korr.	Manometer	Thermobar. Hygr.
Anfangswerte	20,2°	750,98	+ 0,09	+ 0,06 46
Endwerte . .	19,8°	750,68	+ 3,30	+ 3,35 85
Anfangsvolum	194,780 l bei 20,2° u. 742,91 mm Hg = 177,260 l			
Endvolum . .	194,750 l " 20,2° " 736,14 " " = 175,616 l			

Analysen

der Anfangsluft	der Endluft	des Sauerstoffes
CO ₂ = 0,05 ^o / _o	0,50 ^o / _o	CO ₂ = 0,05 ^o / _o
O ₂ = 20,89 ^o / _o	19,55 ^o / _o	O ₂ = 98,40 ^o / _o
N ₂ = 79,06 ^o / _o	79,95 ^o / _o	N ₂ = 1,55 ^o / _o
<u>100,00^o/_o</u>	<u>100,00^o/_o</u>	<u>100,00^o/_o</u>

Sauerstoffbilanz:

Vorher vorhanden	37,030 l
Nachher "	<u>34,333 l</u>
	2,697 l
Anfangsgew. d. Gasometers = 41,825 kg bei 18,57° u. 751,03 mm Hg	
Endgewicht " " = 75,190 " " 18,5° " 750,73 " "	
zugeführt	<u>30,276 l bei 0° und 760 mm Hg</u>
davon ab N ₂ in O ₂ = 0,469 l	
" " CO ₂ " O ₂ = 0,015 l	
dazu	<u>2,697 l</u>
Nettosauerstoffverbrauch	32,489 l
Sauerstoffverbrauch pro Stunde	= 5,415 l.

Kohlensäurebilanz:

Vorher vorhanden 0,089 l; aus Lauge	= 24,103 l CO ₂
Nachher " <u>0,878 l</u> Gesamtkohlensäureprod. = 24,892 l	
	0,789 l
Kohlensäure pro Std. = 4,149 l; Respirator. Quotient = 0,766.	

Stickstoffbilanz:

Vorher vorhanden . .	140,142 l; N ₂ aus O ₂ (1,55 ^o / _o) = 0,469 l
Nachher " . .	<u>140,403 l</u>
	0,261 l
Differenz = -	0,208 l.

Versuch vom 7. III. 1916.

Versuchsobjekt: Hund Fox.

Gewicht des Hundes	Gewicht der Unterlage	Dauer des Versuches	Ernährung	
11,72 kg	820 g	5 ^h 52'	300 g Fleisch 50 g Rinderfett	
Temperatur	Bar. korr.	Manometer	Thermobar.	Hygr.
Anfangswerte 20,2°	749,73	+ 0,09	+ 0,06	49
Endwerte . . 19,7°	747,7	+ 0,13	+ 2,60	87
Anfangsvolum 194,660 l	bei 20,2° u. 741,14 mm Hg = 176,725 l			
Endvolum . . 194,610 l	" 20,2° " 732,12 " " = 174,529 l			

Analysen

der Anfangsluft	der Endluft	des Sauerstoffes
CO ₂ = 0,05 %	0,53 %	CO ₂ = 0,05 %
O ₂ = 20,89 %	19,08 %	O ₂ = 98,40 %
N ₂ = <u>79,06 %</u>	<u>80,39 %</u>	N ₂ = <u>1,55 %</u>
100,00 %	100,00 %	100,00 %

Sauerstoffbilanz:

Vorher vorhanden	36,918 l
Nachher "	<u>33,301 l</u>
	3,617 l
Anfangsgew. d. Gasometers = 38,979 kg	bei 18,53° u. 749,8 mm Hg
Endgewicht " " = 71,035 " "	18,30° " 747,8 " "
zugeführt	<u>29,063 l</u> bei 0° und 760 mm Hg
davon ab N ₂ in O ₂ = 0,450 l	
" " CO ₂ " O ₂ = 0,014 l	
dazu	<u>3,617 l</u>
Nettosauerstoffverbrauch	32,216 l
Sauerstoffverbrauch pro Stunde	= 5,491 l

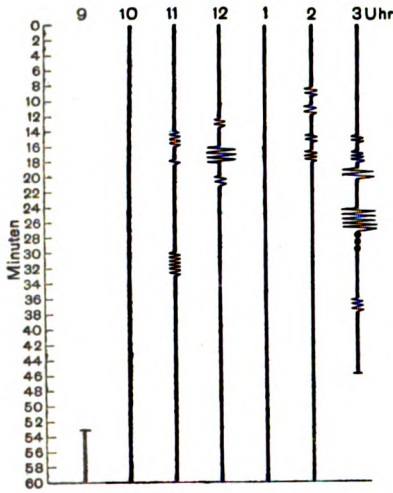
Kohlensäurebilanz:

Vorher vorhanden 0,089 l; aus Lauge	= 24,361 l CO ₂
Nachher " <u>0,925 l</u> Gesamtkohlensäureprod. = 25,197 l	
	0,836 l
Kohlensäure pro Std. = 4,295 l; Respirator. Quotient = 0,782.	

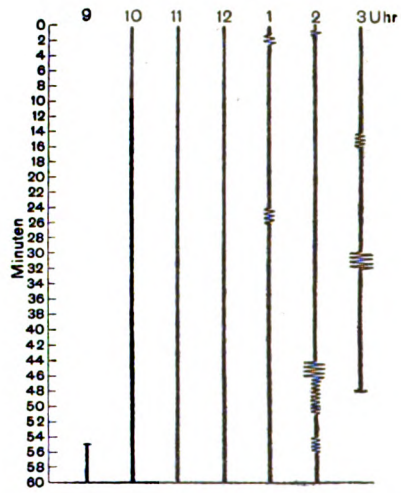
Stickstoffbilanz:

Vorher vorhanden . . 139,719 l; N₂ aus O² (1,55⁰/₀) = 0,450 l
 Nachher " . . 140,303 l
 0,584 l
 Differenz = + 0,134 l.

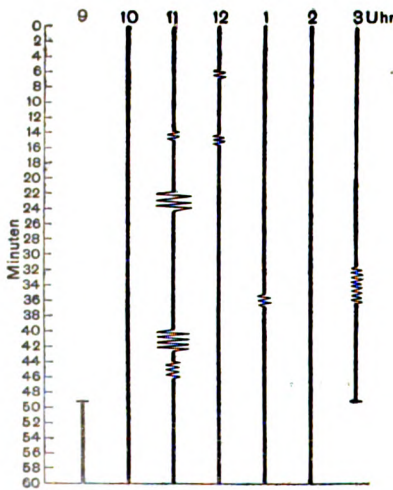
Versuch vom 25. II. 16.



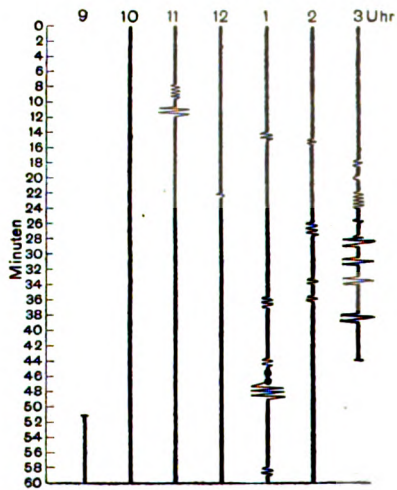
Versuch vom 26. II. 16.



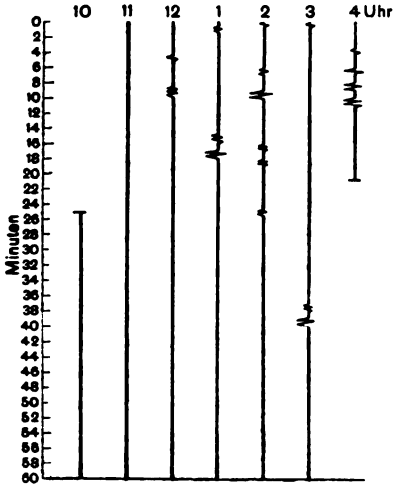
Versuch vom 27. II. 16.



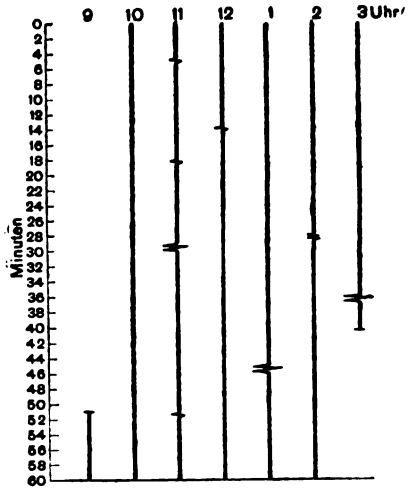
Versuch vom 29. II. 16.



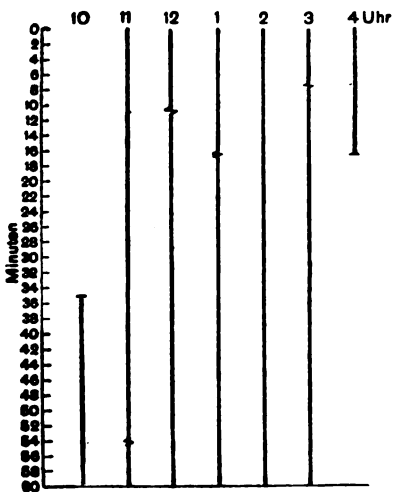
Versuch vom 1. III. 16.



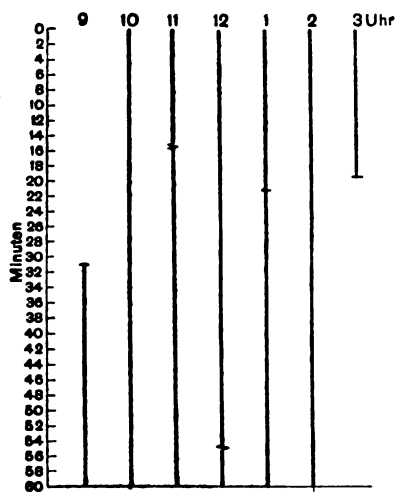
Versuch vom 2. III. 16.



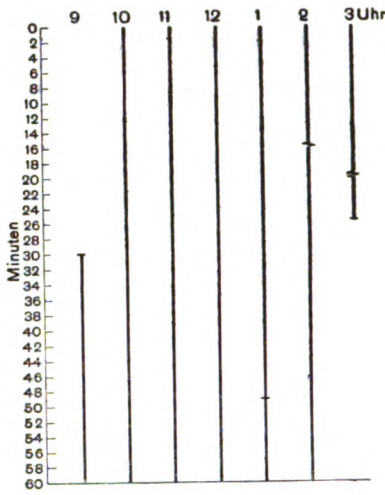
Versuch vom 3. III. 16.



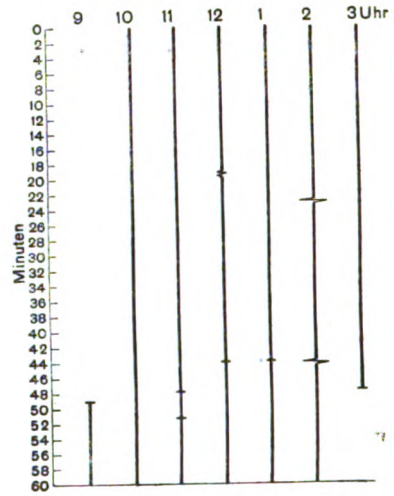
Versuch vom 4. III. 16.



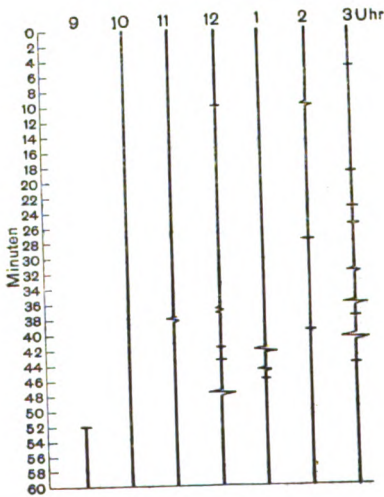
Versuch vom 5. III. 16.









Versuch vom 6. III. 16.



Versuch vom 7. III. 16.



Zeichenerklärung.

-  liegt ruhig oder schläft;
-  ganz kurz dauernde Bewegung;
-  schwache Bewegung;
-  starke Bewegung;
-  sitzt aufrecht;
-  bellt.

Über die adstringierende Wirkung von Aluminiumsalzen, insbesondere der ameisensauren Tonerde.

Von

A. Loewy und R. Wolffenstein.

(Aus dem tierphysiologischen Institut der landwirtschaftlichen Hochschule und dem organisch-chemischen Laboratorium der kgl. technischen Hochschule in Berlin.)

(Eingegangen am 27. September 1916.)

Tonerdesalze haben sich in den letzten Jahrzehnten wegen ihrer entzündungswidrigen und antiseptischen Wirkung und wegen ihrer Billigkeit und Ungefährlichkeit mehr und mehr im klinischen Gebrauch eingebürgert, und vorzugsweise ist die essigsäure Tonerde für diese Zwecke in Aufnahme gekommen.

Bei allen Vorzügen, welche das officinelle Präparat der letzteren, die 8⁰/₁₀ige Tonerdelösung, der Liquor alum. acet. besitzt, haben sich doch Mängel hierbei insofern herausgestellt, als dieses Präparat sich vielfach bei längerem Stehen trübt und allmählich einen Niederschlag absetzt. Diese äußerliche Veränderung der Lösung beruht auf einer chemischen Zersetzung, indem sich hierbei feste, basisch-essigsäure Tonerde abscheidet. Dadurch wird die Lösung in ihrem Tonerdegehalt ärmer, verliert also an ihrem Wirkungswert und erhält gleichzeitig durch Abspaltung freier Essigsäure eine unerwünschte saure Reaktion. — An verschiedenen Proben des liquor Aluminii acetici haben wir die allmählich zunehmende Säuerung titrimetrisch verfolgen können.

Da nur frische Präparate die vorgeschriebene Zusammensetzung haben, sollen aus den Apotheken nur klare Lösungen abgegeben werden, offenbar in der Erkenntnis der oben geschilderten Verhältnisse. Trüb gewordene Lösungen sollen nicht

verkauft werden und werden somit für die Apotheker unbrauchbar und wertlos.

Aber selbst noch klar erscheinende Lösungen verändern mit der Zeit ihren Zustand, wohl im Zusammenhang mit der zunehmenden Säuerung, in eigentümlicher Weise. Während nämlich frische Lösungen auch beim Kochen klar bleiben, trüben sich hierbei ältere, die in der Kälte noch klar erscheinen, und geben Ausscheidungen. Das zeigt, daß durch die Umsetzungen, die in den Lösungen der essigsäuren Tonerde eintreten, das gelöste Material verändert wird, bevor dies unmittelbar für den Augenschein bemerklich wird.

Es ist nicht ganz ausgeschlossen, daß die Kritiken, die in letzter Zeit gegen Verwendung der essigsäuren Tonerde laut wurden, in der Verschiedenheit der Präparate ihren Grund haben können. —

Wir dachten daher bei der im allgemeinen größeren Aktivität der Ameisensäure gegenüber der Essigsäure im ameisen-säuren Aluminium eine therapeutisch viel wirksamere und chemisch beständigere Substanz zu haben, die in derselben Richtung, aber in vollkommenerer Weise, wie die essigsäure Tonerde verwendbar sei.

Ameisensäure Tonerdelösungen sind bereits dargestellt, sind aber für medizinische Zwecke nicht in Benutzung genommen worden und unseres Wissens auch noch nie pharmakologisch untersucht. Vielleicht hat diese Zurückhaltung gegenüber der ameisen-säuren Tonerde darin ihren Grund, daß auch hier verschiedenartige Präparate mit verschiedenem Verhalten existieren. Es wurden von uns Lösungen beobachtet, die sich in konzentriertem Zustande klar hielten, aber in verdünntem, gebrauchsfähigem sich nach einigen Tagen trübten. Dieses Verhalten der ameisen-säuren Tonerdelösungen je nach ihrer Konzentration dürfte auf einen Ionisierungsprozeß zurückzuführen sein. Diese Ionisierung sollte nun durch Zusatz von Salzen zurückgedrängt werden können. — Angesichts des Verwendungszweckes der ameisen-säuren Tonerdelösungen war es erwünscht, hierbei Salze zu wählen, welche diesen Zweck ihrerseits unterstützten, d. h. also die adstringierende Wirkung des Präparates erhöhten.

Hierzu erwiesen sich Natriumsulfat bzw. Kaliumsulfat als günstig. Es ergab sich, daß der Zusatz dieser Salze zu Lösungen

von ameisensaurer Tonerde die nach Verdünnung allmählich vor sich gehende Trübung der Tonerdelösung verhinderte und ihre adstringierende Wirksamkeit steigerte. —

Was wir als „adstringierende Wirkung“ bezeichnen, ist das Schlußergebnis einer Reihe von Einzelwirkungen, die teils physikalisch-chemischer, teils physiologischer Art sind. — Dabei steht die chemische Wirkung im Vordergrunde. Sie besteht in einer Fällung der Eiweißbestandteile der Zellen, in die die Adstringentien eindringen können, oder der Zellenabsonderungen bzw. der Gewebssäfte, mit denen sie in Berührung kommen. Der Erfolg dieser Eiweißfällung ist die Bildung eines Überzuges koagulierten Materiales auf Schleimhäuten oder Wundflächen; beide werden dadurch weniger durchlässig gemacht, gewissermaßen „gedichtet“. Verstärkt wird dieser Effekt dadurch, daß auch die oberflächlichen Zellen der Drüsen, die in Schleimhäuten liegen, gleichfalls durch die Adstringentien in dem Sinne beeinflußt werden, daß ihr Inhalt koaguliert wird. Dadurch wird die Sekretbildung der Drüsen beschränkt [Schütz¹⁾]. —

Weiterhin erstreckt sich die koagulierende Wirkung der Adstringentien auf die oberflächlich gelegenen Eiweißschichten, auch auf das Eiweißmaterial der Gefäßwandungen. Infolgedessen werden auch die Gefäßwandungen weniger durchlässig, die Transsudation durch sie vermindert sich, und die Auswanderung zelligen Materiales (farbloser Blutzellen) aus den Gefäßen wird eingeschränkt. Endlich gehört zur Wirkung der Adstringentien eine Gefäßverengerung, wie Heinz²⁾ nachwies. Aber diese bildet nicht das Hauptmoment für die Wirkung. Denn auch da, wo sie nicht eintritt, und zwar dadurch nicht eintritt, daß adstringierende Lösungen in einer Konzentration verwendet werden, die zu Gefäßerweiterung führt, zeigt sich eine verminderte Durchgängigkeit der Gefäßwandungen. Auch in diesem Falle nämlich hört die Auswanderung von Zellen durch die Gefäßwandungen auf. Immerhin beschränkt die Gefäßcontraction das eine Symptom der Entzündung, die

¹⁾ Schütz, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 27, 1890.

²⁾ R. Heinz, Die Wirkung der Adstringentien. Virchows Archiv, 116, 220, 1889.

Rötung, während die chemische Wirkung den wichtigeren Entzündungserscheinungen: der Schwellung durch seröse Durchtränkung und der gesteigerten Sekretion entgegenwirkt. —

Entsprechend den genannten Einzelwirkungen haben wir nun den Effekt unserer ameisensauren Tonerde auf drei verschiedenen Wegen untersucht, wobei wir besonders den koagulierenden Einfluß festzustellen suchten. Die erste Reihe der Versuche wurde in vitro an Eiweißlösungen angestellt. Dazu kam eine zweite Reihe, die ein Analogon zu derjenigen Erscheinung darstellen sollte, die im lebenden Organismus als Gewebsdichtung erscheint. An dritter Stelle endlich wurden Versuche über die contrahierende Gefäßwirkung ausgeführt. Wir beobachteten letztere an der Bindehaut des Kaninchenauges, die nach dem Vorgange von Heinz zuvor in Entzündung versetzt war¹⁾.

Die koagulierende Wirkung unserer ameisensauren Tonerdelösungen prüften wir durch ihre Fähigkeit der Fällung von Eiweißlösungen, wobei wir zum Vergleich gewöhnliche wäßrige Lösungen der ameisensauren Tonerde heranzogen.

Dabei ergab sich, daß unsere mit schwefelsauren Alkalien versetzte ameisensaure Tonerdelösung eiweißkoagulierend wirkte, wo es die reine Tonerdelösung nicht tat, oder eine massigere

¹⁾ Anm. Vorkurzem hat Kobert ²⁾ eine biologische Methode zur Prüfung der adstringierenden Wirksamkeit angegeben. Er läßt die zu prüfenden Lösungen auf in physiologische Kochsalzlösung aufgeschwemmte rote Blutzellen einwirken und sieht zu, welche Konzentration eine Agglutination und Ausfällung der Erythrocyten herbeiführt. Dieses Verfahren kommt den Verhältnissen am lebenden Körper näher als die hier angegebenen, soweit sie sich auf die koagulierenden Effekte beziehen. Aber bei der Verwendung in praxi kommen die Adstringentien nicht in unmittelbare Berührung mit Blutzellen, und die Verhältnisse ändern sich schon, wenn die Blutzellen nicht vom Serum befreit sind in Kochsalzlösung befinden, sondern im eigenen Serum suspendiert sind, wie Kobert selbst fand. Denn kleine Mengen des Adstringens vermögen sich im Serum zu lösen und verlieren ihre adstringierende Wirkung auf die Blutzellen.

Die quantitativen Verhältnisse, die Kobert an gewaschenen Blutzellen fand, verschieben sich danach, und es ist von vornherein nicht zu sagen, wie sie sich unter den Bedingungen, unter denen die Adstringentien in praxi benutzt werden, gestalten.

²⁾ R. Kobert und L. Triller, Über die therapeutisch wertvollen Inhaltsbestandteile der Moore. Zeitschr. f. Balneol. 9, Nr. 3/4, S. 15.

Koagulation herbeiführte als diese, eine Erscheinung, an deren Zustandekommen wohl die aussalzende Wirkung der Neutralverbindungen mit beteiligt ist. Die Koagulation, also die Umwandlung und Ausflockung der Eiweißkörper, geschah dabei in ganz allmählicher Weise, so daß sie erst nach vielen Stunden für das Auge deutlich sich auszubilden begann. Die langsame und, wir möchten sagen, milde Wirkung scheint uns für die ärztliche Verwendung von Bedeutung zu sein, insofern dadurch ein bei intensiverer Wirkung möglicher Ätzeffekt vermieden wird und leichter eine gewisse Tiefenwirkung erfolgen kann.

Als Beispiele dienen folgende Beobachtungen:

1. Steriles Rinderserum wird versetzt mit gleichen Teilen von einerseits a) reiner ameisensaurer Tonerdelösung mit 7 $\frac{0}{0}$ Gehalt, andererseits b) sulfathaltiger ameisensaurer Tonerdelösung von gleichem Tonerdegehalt. Beim Zusatz tritt in beiden Proben eine kaum merkbare Trübung ein, die nach einigen Stunden noch in gleicher Weise besteht. Nach 48 Stunden ist die Mischung a) schwach trübe, in b) hat sich ein dickes Eiweißkoagulum abgesetzt. Das Filtrat dieser Probe gibt mit oder ohne Salpetersäure beim Kochen einen dicken Niederschlag; es war also nur ein Teil der Serumeiweiße ausgefallen gewesen.

2. Dieselbe Anordnung. Derselbe Erfolg, der nach 24 Stunden beobachtet wird.

3. 1 $\frac{0}{0}$ ige, etwas trübe Eiereiweißlösung wird wiederum a) mit reiner, b) mit sulfathaltiger Tonerdelösung in gleicher Menge und Konzentration versetzt. Zunächst keinerlei Veränderung. Nach 24 Stunden verhält sich a) wie im Beginn, b) zeigt ein dickes Koagulum. Das Filtrat gibt hier bei Salpetersäurezusatz in der Kälte oder beim Kochen mit Salpetersäure nur eine schwache Trübung, so daß mit den Globulinen auch Eiweißalbumin durch die Tonerdelösung ausgefällt worden zu sein scheint.

4. 5 ccm steriles Serum versetzt mit 5 ccm 7 $\frac{0}{0}$ iger wäßriger ameisensaurer Tonerdelösung. Keine Veränderung. Nach 24 Stunden eben merkbare Trübung. Die Probe wird in drei Teile geteilt; zu dem ersten werden einige Tropfen 7 $\frac{0}{0}$ iger sulfathaltiger Tonerdelösung gefügt; zum zweiten einige Tropfen reiner 7 $\frac{0}{0}$ iger Tonerdelösung; zum dritten einige Tropfen destillierten Wassers. Dabei tritt in allen etwas stärkere

Trübung ein. Nach 48 Stunden besteht diese in den letzten beiden Proben in gleicher Weise fort, in der ersten jedoch hat sich ein dickes festes Gerinnsel gebildet.

5. 5 ccm steriles Serum + 5 ccm Aqua dest. + 5 ccm 7⁰/₀iger ameisensaurer Tonerde werden vermischt. Dabei keine Veränderung. Nach 24 Stunden geringe Trübung. Auf Zusatz einiger Tropfen sulfathaltiger Tonerdelösung zu einem Teil der Mischung tritt Zunahme der Trübung auf. Nach 48 Stunden hat sich ein festes, aber weiches Gerinnsel als im Versuch 4 gebildet. Zusatz von reiner ameisensaurer Tonerdelösung zu der 24 Stunden alten Mischung bringt keine Veränderung, Wasserzusatz schwache Trübung hervor. Nach 48 Stunden keine weitere Veränderung in diesen beiden Proben.

6. 5 ccm steriles Serum werden mit 5 ccm Aqua dest. verdünnt; keine Veränderung; auch keine nach 24 Stunden. Zusatz weniger Tropfen sulfathaltiger Tonerdelösung (7⁰/₀) macht dicke Trübung, reine 7¹/₂⁰/₀ige ameisensaure Tonerdelösung führt zu mäßiger, Wasserzusatz zu minimaler Trübung. Nach 48 Stunden ist die mit Sulfattonerdelösung versetzte Probe fest geronnen, die mit reiner ameisensaurer Tonerde ist wenig trübe, die mit Wasser verdünnte klar mit einem ganz geringen Gerinnsel am Boden.

Die vorstehenden Versuche zeigen, daß der Sulfatzusatz zur ameisensauren Tonerde deren Wirkung auf Eiweißkörper verstärkte oder überhaupt erst deutlich in Erscheinung treten ließ.

Bringt man Eiweißlösungen mit Sulfattonerdelösung in anderen Mischungsverhältnissen zusammen, so braucht keine Koagulation einzutreten, aber auch hier erfolgt eine Denaturierung der Eiweißkörper. Denn fügt man nach 24 Stunden etwas gewöhnliche ameisensaure Tonerdelösung hinzu, so tritt nun eine Ausfällung der Eiweiße auf.

So wie beschrieben, verlaufen die Versuche mit frischen sterilen Lösungen von Eiweißkörpern. Benutzt man ältere Lösungen, in denen schon Zersetzungen sich eingeleitet haben, so werden die Ergebnisse undurchsichtiger. Aber für die Verhältnisse am lebenden Körper spielen diese Vorgänge keine Rolle.

Die Übertragung dieser Ergebnisse — durch die unseres Wissens zum erstenmal der direkte chemische Nachweis dafür erbracht ist, daß ameisensaure Tonerde, mehr aber noch die

alkali-sulfathaltige Ameisensäure Tonerde, Eiweißkörper derart allmählich zu verändern vermögen, daß sie langsam zur Koagulation kommen — auf die Verhältnisse, unter denen diese Substanzen am lebenden Organismus zur Verwendung kommen, insbesondere bei ihrer Benutzung als Wundheilmittel, dürfte ohne weiteres gestattet sein. Damit erscheint das eine Erfordernis, das an die Wirkung von Adstringentien in der Praxis gestellt wird, verwirklicht.

Auf anderem Wege versuchten wir in der zweiten Versuchsreihe — wiederum durch Beobachtungen *in vitro* — die Wirkung der verschiedenen Tonerdelösungen auf die Durchlässigkeit des Gewebes nachzuahmen. Hierzu bedienten wir uns der Capillaranalyse nach Goppelsröder. Wir wollten sehen, wie die verschiedenen Tonerdelösungen in Capillarspalten aufsteigen und wie sie den Aufstieg von Wasser und gelösten Bestandteilen in den Capillarspalten beeinflussen.

Das Verfahren entsprach dem von Goppelsröder¹⁾ angegebenen. Benutzt wurden Streifen schwedischen Filtrierpapieres von 24 cm Länge und 4 cm Breite. Drei von diesen wurden nebeneinander an einem horizontal angebrachten Glasstab befestigt, so daß sie gleichtief in untergestellte gleichgroße Bechergläser hineinragten. Die Gläser wurden mit gleichen Mengen, d. h. also gleichhoch, entweder mit destilliertem Wasser (a) oder mit reiner Ameisensäurer Tonerdelösung (b) oder mit Alkalisulfathaltiger Lösung von Ameisensäurer Tonerde (c) gefüllt, so daß also die drei Streifen gleichtief hineintauchten. Das Eintauchen geschah durch Senken des Glasstabes gleichzeitig. Dann wurden die Aufstieghöhen zu verschiedenen Zeiten beobachtet und notiert. Nach Schluß der bis zu einer Stunde dauernden Versuche wurden die Streifen herausgenommen und die Höhe, bis zu der das Wasser bzw. die in ihm gelösten Substanzen emporgestiegen waren, gemessen.

Wir fanden folgendes:

¹⁾ F. Goppelsröder, Capillaranalyse usw. Verhdl. d. naturforsch. Ges. zu Basel. XIV. Basel 1901. Auch: Über die Anwendung der Capillaranalyse usw. in: Der Harn (herausgegeben von Neuberg). S. 1361. Berlin 1911.

Versuch 1.

Eintauchung um 12^h 24': Benutzung von destilliertem Wasser (a), ameisensaurer Tonerde (7⁰/₀ig) (b) und alkalisulfathaltiger Tonerde (7⁰/₀ig); ohne weiteren Zusatz. Am schnellsten steigt die Flüssigkeit in a, weniger in c, noch weniger in b; jedoch erreicht allmählich die Aufstiegshöhe in b die von c, um dann höher als in c sich zu erheben.

	Steighöhe: in a	in b	in c
12 ^h 29' . . .	5 ¹ / ₂ cm	4 ¹ / ₂ cm	4 ³ / ₄ cm
12 ^h 48' . . .	8 ¹ / ₄ "	6 ³ / ₄ "	7 "
12 ^h 55' . . .	11 "	7 ³ / ₄ "	7 "
1 ^h 12' . . .	11 "	7 ³ / ₄ "	7 "

Versuch 2.

Anordnung wie in Versuch 1, jedoch wird zu jeder der drei Proben gleichviel einer Fuchsinlösung gefügt. Fuchsin tritt mit der ameisensauren Tonerde in Wechselwirkung, wobei es zu teilweiser Ausfällung kommen kann. Die Bedingungen, die hierbei in Betracht kommen, sind denen vergleichbar, die bei der Einwirkung der ameisensauren Tonerde auf Gewebs-säfte sich geltend machen. — Beim Zusatz des Fuchsin färbt sich die Wasserprobe sofort tiefrot, die ameisensaure Tonerdelösung langsamer, um aber bald ebenso intensiv wie die Wasserprobe gefärbt zu sein. Die Alkalisulfat enthaltende Tonerdelösung ist zunächst hellrosa, färbt sich dann sehr langsam tiefer. Nach 24 Stunden sind alle Proben gleich intensiv rot.

Beim Eintauchen steigt die Flüssigkeit aus der mit destilliertem Wasser bereiteten Fuchsinlösung am schnellsten, aus den Tonerdelösungen weit langsamer, und zwar die aus der sulfathaltigen weniger als aus der reinen Tonerdelösung. Der Farbstoff steigt am wenigsten aus der Sulfatlösung, und die Steigzone ist hellrosa. Aus der reinen Tonerdelösung und aus dem destillierten Wasser ist das Fuchsin höher gestiegen, und die Färbung der Steigzone ist bei ersterer dunkelrosa, bei letzterer dunkelrot.

Nach 40 Minuten werden die Streifen herausgenommen. Nun ist das Verhalten folgendes:

Tauchflüssigkeit	Steighöhe	Steighöhe	Farbe des Papiers
	der Flüssigkeit	des Fuchsins	
a: Fuchsin + Aq. dest. . . .	8,0 cm	1,8 cm	rot
b: " + ameisens. Tonerde	6,6 "	2,0 "	dunkelrosa
c: " + sulfathalt. Tonerde	4,8 "	1,5 "	hellrosa.

Nach 24 Stunden wird an den getrockneten Streifen eine neue Messung vorgenommen; sie ergibt die gleichen Werte.

In gleicher Weise wurden noch zwei weitere Versuche mit gleichem Resultate angestellt.

Versuch 5.

Frisches Kaninchenblut wird mit dem Neunfachen destillierten Wassers verdünnt. Die gleiche Menge der Blutlösung wird in einer Probe mit destilliertem Wasser, in einer zweiten mit reiner ameisensaurer Tonerde, in einer dritten mit alkalisulfathaltiger ameisensaurer Tonerde versetzt. Der Zusatz erfolgt mit gleichen Mengen der drei Flüssigkeiten. Der Tonerdezusatz führt zu einer Umwandlung des Hämoglobins, das sich braun färbt. Dabei ist bemerkenswert, daß die Bräunung in der reinen ameisensauren Tonerde schnell eintritt und vorschreitet, in der sulfathaltigen dagegen viel später einsetzt und langsamer zunimmt. In ersterer beginnt sie schon nach 2 Minuten und ist nach 10 Minuten beendet, in letzterer ist sie nach 15 Minuten noch unvollkommen und nach 22 Minuten scheinbar beendet.

Nachdem die Papiere 4 Minuten eingetaucht waren, war der Aufstieg der Flüssigkeit aus dem destillierten Wasser 50 mm Höhe, der des Hämoglobins 40 mm. Das Papier zeigte braune Färbung. Aus der Tonerde war die Flüssigkeit 41 mm hoch gestiegen; Färbung war nicht deutlich erkennbar. Ebenso verhielt sich das in Sulfattonerde tauchende Papier, in dem die Flüssigkeit 43 mm hoch gestiegen war. 18 Minuten nach Eintauchen und folgender Trocknung der Papiere betrug der Flüssigkeitsaufstieg aus dem destillierten Wasser: 68 mm, aus der ameisensauren Tonerde: 50 mm, aus der Alkalisulfat enthalten-

den ameisensauren Tonerde: 46 mm. Das Papier, das in Wasser tauchte, war 58 mm hoch braun gefärbt, die beiden anderen waren gelblich, und dabei das in die Sulfatlösung eintauchende heller als das in reine Tonerde eintauchende.

Danach ist auch der Aufstieg des Hämoglobins durch den Tonerdezusatz und mehr noch durch Sulfatzugabe beeinträchtigt worden. —

Die vorstehenden Versuche ergeben übereinstimmend, daß schon die ameisensaure Tonerde an sich, weit mehr aber noch Sulfatzusatz zu dieser das capillare Aufsteigen von Flüssigkeit hemmt. Auch der Aufstieg von in dieser gelösten Bestandteilen wurde mehr von der sulfathaltigen Tonerde als von der reinen zurückgehalten.

Man darf vielleicht die vorstehenden Capillarattraktionsversuche mit den Vorgängen im Tierkörper in Vergleich setzen. Nehmen wir an, daß eine Wunde mit Umschlägen behandelt wird, die ameisensaure oder zweckmäßiger noch alkalisulfatameisensaure Tonerde enthalten, so wird die Wundfläche sich mit der Lösung bedecken und auch bis in mehr oder weniger große Tiefe sich mit ihr imbibieren können und die Gewebslücken sich mit ihr füllen. Die Schicht der Lösung, die so die Oberfläche überzieht und die angrenzenden Gewebslagen durchdringt, wird nach Analogie der von uns gefundenen Tatsachen in der Richtung wirken, daß die Menge der Flüssigkeit, die aus den Gewebslücken hervorquillt, oder die transsudiert, und ebenso oder vielleicht mehr noch die der gelösten krystalloiden und kolloiden Bestandteile, die sie enthält, vermindert wird. Es wird so unabhängig von der zuerst beschriebenen koagulierenden Wirkung und vielleicht noch vor deren Zustandekommen ein Effekt eintreten, auf den auch die Eiweißfällung hinwirkt, nämlich der, den man in der Pathologie als Sekretbeschränkung bezeichnet, wenn es sich auch nicht um Sekrete im physiologischen Sinne handelt, vielmehr um Transsudate oder um das Hervorquellen von Gewebsflüssigkeit.

Ob eine länger dauernde Behandlung katarrhalisch veränderter Schleimhautflächen mit der Sulfatlösung zu einer wirklichen Verminderung der Sekretion der Schleimhautdrüsen führt, ist bei der Annahme des Eindringens der Lösung in die Drüsenausführungsgänge möglich, aber experimentell nicht erwiesen.

Die klinischen Erfahrungen, die bisher mit dem Mittel gewonnen worden sind, sprechen jedenfalls auch für diese Wirkung. Nur ist fraglich, inwieweit daran die koagulierende Wirkung beteiligt ist, wahrscheinlich hat sie den Hauptanteil daran.

Die dritte Gruppe unserer Versuche endlich betrifft das Verhalten der Blutgefäße unter dem Einfluß der ameisen-sauren Tonerde. Sie sind, wie schon erwähnt, an der entzündeten Kaninchenconjunctiva ausgeführt. Um die geeignete Entzündung hervorzurufen, träufelten wir in den Bindehautsack beider Augen dünne Tanninlösung oder ganz verdünnte Essigsäure. Die Schleimhaut wurde bald gerötet, geschwollen und mehr oder weniger gewulstet. Dazu kam bisweilen eine Chemosis. Nun wurden von einer 0,7^o/_oigen alkalisulfathaltigen Lösung der ameisen-sauren Tonerde einige Tropfen in den einen Bindehautsack geträufelt. Der Erfolg war, daß die Schleimhaut alsbald — schon nach einer bis zu wenigen Minuten — blasser und trockener wurde und die Wulstung zurückging. Die Wirkung war bei Vergleichung mit dem zweiten nicht mit der Tonerde behandelten Auge besonders gut zu erkennen. Später wurde dann auch in dieses zweite Auge die Tonerde-lösung eingeträufelt. Die verengernde Wirkung auf die Gefäße war auch hier deutlich und kennzeichnete sich durch die eintretende Ablassung. Die Schwellung der Schleimhaut wurde jedoch bei der nun längeren Einwirkung der Entzündung erregenden Mittel und den stärkeren Veränderungen, die sie zustandegebracht hatten, weniger beeinflußt. —

Wir finden sonach, wenn wir das Ergebnis aller Versuche zusammenfassen, bei der alkali-sulfathaltigen ameisen-sauren Tonerde alle pharmakologischen Eigenschaften, die von einem adstringierenden Mittel verlangt werden, und die dieses als entzündungswidriges Heilmittel auf Wunden oder katarrhalisch veränderten Schleimhäuten angezeigt erscheinen lassen: Langsam verlaufende Eiweißkoagulation, Gefäßverengung mit Abschwellung und — zum Teil als weitere Folge dieser beiden Wirkungen, teilweise wohl auch als besonderen Effekt — Beschränkung der Sekretabgabe. —

In einer Reihe weiterer Versuche behandelten wir die normale Bindehaut des Kaninchenauges mit unserer ameisen-

sauren Tonerdelösung, dabei in einigen Fällen gleichzeitig die des zweiten Auges mit offizineller essigsaurer Tonerdelösung. Diese Versuche scheinen uns zum mindesten ebensogut wie die am entzündeten Auge geeignet, den adstringierenden Effekt und das Wesen desselben sichtbar zu machen und zugleich die Überlegenheit zu zeigen, die ameisensaure Tonerde enthaltende Lösung gegenüber der essigsaurer Tonerde im adstringierenden Effekt besitzt.

Wir verwendeten unsere Tonerdelösung in dreierlei Konzentration; nämlich eine solche mit 7⁰/₀ ameisensaurer Tonerde mit 3⁰/₀ und eine mit 0,7⁰/₀. Die beiden ersten wirken reizend auf die Bindehaut des Auges; die erste ziemlich energisch und eine Reihe von Tagen nachwirkend; die zweite in geringem Maße, so daß nach 24 bis höchstens 48 Stunden die Bindehaut wieder normal ist. Reizend wirkt auch die offizinelle 8⁰/₀ige Lösung der essigsaurer Tonerdelösung.

Dabei ergibt sich nun, daß die adstringierende Wirkung bei beiden Lösungen unseres ameisensauren Tonerdepräparates weit deutlicher ist als bei der offizinellen essigsaurer Tonerdelösung.

Die Reizwirkung sowohl der essigsaurer wie unserer 7⁰/₀igen und 3⁰/₀igen Tonerdelösungen gibt sich kund durch Rötung der Bindehaut, durch Schwellung und, bei höheren Graden, durch Ödembildung (Chemosis).

Dazu kommt bei Benutzung der 7⁰/₀igen Lösung unseres Präparates und der offizinellen essigsaurer Tonerdelösung ein sich allmählich — im Laufe von Stunden — ausbildender und nach 24 Stunden deutlicher fibrinöser Belag in den Übergangsfalten, der bei Benutzung der essigsaurer Tonerde stärker erschien, als bei der unserer 7⁰/₀igen ameisensauren Tonerdelösung.

Dabei stellt sich nun das Bild, das die mit der essigsaurer Tonerde einerseits, mit dem ameisensauren Tonerdepräparat andererseits behandelten Augen bieten, doch verschieden par. Denn neben der Reizwirkung macht sich bei unserem Präparat sehr deutlich ein adstringierender Effekt bemerkbar, der bei der essigsaurer Lösung nur wenig in Erscheinung tritt.

Die mit der sulfathaltigen ameisensauren Tonerdelösung

behandelten Augen zeigen stets eine geringere Rötung als diejenigen, bei denen essigsäure Tonerde verwandt wurde. Außerdem weist die Bindehautoberfläche ein mattes Aussehen auf und ist schon bei Verwendung auch nur der 3⁰/₀igen Lösung auffallend trocken. Demgegenüber ist die Bindehaut der mit essigsaurer Tonerdelösung behandelten Augen nicht nur mehr gerötet, sondern ist immer noch feucht und etwas spiegelnd, wenn auch diese beiden letzteren Phänomene nicht so deutlich wie in der Norm ausgebildet sind.

Als Belege mögen die folgenden drei Versuche dienen.

Versuch 2: 10⁰/₀ige alkalisulfathaltige ameisensaure Tonerdelösung.

Einem großen Kaninchen werden instilliert ins rechte Auge 5 gtt. der Lösung um 10 Uhr 45 Minuten und eine Minute darin gelassen. — 10 Uhr 49 Minuten Bindehaut des rechten Auges deutlich, doch wenig, geschwollen und gerötet. — 11 Uhr 15 Minuten: Obere Bindehaut wie vorher, besonders an der Übergangsfalte; untere Bindehaut kaum gegen links verändert. — 12 Uhr: Ganz mäßiges Odem der Conjunctiva rechts oben und unten; Bindehaut oben gerötet, unten blaß. — Nach 48 Stunden Auge normal.

Versuch 3: Wiederum 10⁰/₀ige Lösung der alkalisulfathaltigen ameisensauren Tonerde.

In das rechte Auge eines Kaninchens werden 3 Tropfen instilliert und 1 Minute darin gelassen, um 12 Uhr 32 Minuten. In das linke Auge kommen 3 Tropfen officineller Lösung von essigsaurer Tonerde. — Um 12 Uhr 35 Minuten werden die Einträufelungen wiederholt. — 12 Uhr 40 Minuten: Rechte Bindehaut unten fast normal, oben mäßig geschwollen, wenig gerötet. Oberfläche matt; links mehr geschwollen als rechts, Rötung stärker, Oberfläche von weniger mattem Aussehen, wenn auch nicht normal spiegelnd. — 12 Uhr 48 Minuten: Schwellung der Bindehäute beider Augen etwas stärker. Rechts nur wenig gerötet, Schleimhautoberfläche matt und ganz trocken. Links: stärkere Rötung, Oberfläche feucht, wenn auch weniger als normal, noch ein wenig spiegelnd.

Versuch 1: 25⁰/₀ige Lösung der alkalisulfathaltigen ameisensauren Tonerde.

In den Bindehautsack des rechten Auges werden 3 Tropfen geträufelt, die eine Minute darin bleiben, um 10 Uhr 43 Minuten. In das linke kommen 3 Tropfen des officinellen liqu. alumin. acetic, um 10 Uhr 44 Minuten. — 10 Uhr 46 Minuten: Gefäße des rechten Augapfels etwas

injiziert, Conjunctiva blaß. Links: Conjunctiva mäßig gerötet. — 10 Uhr 48 Minuten: Geringe Chemosis an den unteren Übergangsfalten; 10 Uhr 57 Minuten: Einträufelungen wiederholt. — 11 Uhr 6 Minuten: Rechts: Obere Bindehaut etwas geschwollen, doch blaß und von matter Oberfläche (adstringierende Wirkung!), untere Bindehaut ebenso, doch weniger geschwollen. Links: Bindehaut oben und unten etwas geschwollen, deutlich gerötet, Oberfläche nicht matt, vielmehr glänzend. — 11 Uhr 16 Minuten. Rechts: Untere Bindehaut fast normal: obere etwas geschwollen, jedoch blaß und matt. Links: Unten fast normal, oben weniger geschwollen als rechts, jetzt blaß, fast normal glänzend. — 1 Uhr 4 Minuten: Rechts: Chemosis oben und unten, oben stärker als unten, jedoch an beiden Stellen mäßig ausgebildet. Links: Chemosis ebenso wie rechts, doch Schleimhaut stärker gerötet als rechts und glänzend.

Nach 24 Stunden: Schwellung der oberen Schleimhaut; rechts geringer als am Tage zuvor, dabei blaß, matt, mit mäßigem fibrinösem Belag in der Übergangsfalte bedeckt. Rechts: Untere Schleimhaut in der Übergangsfalte etwas geschwollen mit Belag. — Links: Oben Schwellung geringer als rechts, doch gerötet, sehr feucht, mit stärkerem Belag als rechts. — Links unten wie oben; auch hier stärkerer Belag als rechts. —

Am folgenden Tage: Rechts unten fast normal, nur an der Übergangsfalte noch etwas geschwollen und mit geringem Belag bedeckt. Rechts oben noch stärker geschwollen und an der Falte reichlich Fibrinbelag. — Links: Unten fast normal, oben etwas gerötet, wenig geschwollen.

Am nächsten Tage: Rechts unten normal, rechts oben etwas geschwollen und gerötet, Spur-Belag am vorderen Lidwinkel. Links: oben und unten normal. —

Die 0,7%ige ameisensaure Tonerde enthaltende Lösung unseres Präparates wirkt nicht mehr reizend, aber noch deutlich adstringierend auf die Augenbindehaut. Diese sieht trockner, matter, blasser aus als die normale des zweiten Auges. —

Im Anschluß an die vorstehenden Protokolle dürfte der Hinweis darauf gestattet sein, daß durch sie die Stellungnahme gestützt wird, der wir in der Einleitung Ausdruck gegeben haben, daß nämlich die adstringierende Wirkung im wesentlichen auf dem chemischen Effekt der Eiweißkoagulation in den oberflächlichen Zellschichten beruht, während die Gefäßcontraction keine erhebliche Rolle spielt, in Übereinstimmung mit dem, was, wie erwähnt, aus den mikroskopischen Beobachtungen von Heinz zu folgern war. Denn die Adstriktion, die in unserem Falle sich in der Veränderung der Oberfläche (Mattheit statt spiegelnden Glanzes; Trockenheit statt Feuchtigkeit) kundgab,

kam ja zustande, trotzdem die Gefäße über die Norm hinaus erweitert waren.

Diese letzten Versuche an der Conjunctiva geben zugleich eine biologische Grundlage für die Verwendung unseres Präparates zur Behandlung von katarrhalischen Affektionen der Schleimhäute und Wundflächen. —

In einer Anzahl von Fällen wurde dementsprechend unser Präparat in praxi versucht.

Zunächst wurden alte, mindestens handgroße, zum Teil jauchende Unterschenkelgeschwüre, die zuvor erfolglos mit allerlei Mitteln, auch mit essigsaurer Tonerde, behandelt waren, ausgewählt. Es handelte sich um Kranke der niedrigsten Stände, die sich keinerlei Schonung angedeihen lassen konnten.

Unter den beobachteten (12) Fällen hatte unsere Tonerdelösung in der überwiegenden Zahl (9) Erfolg, insofern eine Reinigung, Ablassung und Verkleinerung der Geschwüre eintrat. Damit einher ging Verminderung der Absonderung und der Schmerzen. In 3 Fällen war der Erfolg nicht bedeutend. — Auch bei alten, stark absondernden Scheidenkatarrhen trat eine Beschränkung des Ausflusses ein. — Die Konzentration der benutzten Lösung war stets sehr niedrig; sie betrug nur 0,1 bis 0,2‰.

Die Berechnung der Wasserstoffzahl des Blutes aus der freien und gebundenen Kohlensäure desselben, und die Sauerstoffbindung des Blutes als Funktion der Wasserstoffzahl.

Von

K. A. Hasselbalch.

(Aus dem Laboratorium des Finsen-Instituts, Kopenhagen.)

(Eingegangen am 7. Oktober 1916.)

Mit 12 Figuren im Text.

I.

Die während des letzten Jahrzehntes stattgefundene Ausbildung der elektrometrischen Reaktionsbestimmung CO_2 -haltiger Flüssigkeiten hat auch für die Physiologie des Blutes eine Reihe wertvoller Aufschlüsse gezeitigt. Wir kennen jetzt die Größe der „Wasserstoffzahl“ (= Wasserstoffionenkonzentration) im Blute der Säugetiere, wir wissen, daß der gesunde, sowie auch der kranke Organismus mit zäher Energie diese gegebene Reaktion aufrecht erhält, und wir sind von mehreren der Wege und Mittel, wodurch diese Konstanz gewährleistet wird, recht wohl unterrichtet.

Es haften indessen der elektrometrischen Reaktionsbestimmung, am Blute angewendet, gewisse Mängel an. Erstens muß die Technik, selbst für den besonders Geübten, als eine recht schwierige bezeichnet werden. Zweitens ist die erreichbare Genauigkeit, eben in Betracht der so feinen Regulation seitens des Organismus, für mehrere Untersuchungszwecke nicht ganz befriedigend. Eine Verschiebung des „reduzierten“ p_{H}^{-1}) des

¹⁾ p_{H} bei 40 mm CO_2 -Spannung, siehe Hasselbalch: Diese Zeitschr. 74, 56, 1916.

Blutes um 0,03 liegt an der Grenze der Fehlerbreite, womit man bei der Elektrometrie des Blutes zu rechnen hat, und doch entspricht eine derartige Verschiebung der reduzierten Wasserstoffzahl einer Änderung der CO_2 -Spannung des Blutes um etwa 4 mm, d. h. einer Zunahme (bzw. Abnahme) der Atmungsgröße um etwa 10⁰/₀, wenn unter diesen Umständen die „regulierte“ Wasserstoffzahl¹⁾ des Blutes unverändert bleiben soll.

Das Streben, irgendeine verfeinerte und gleichzeitig leichter zu handhabende Methode zur Bestimmung der Wasserstoffzahl des Blutes aufzufinden, ist somit wohlbegründet. Eine solche Verfeinerung und Erleichterung habe ich durch die gleichzeitige Bestimmung der freien und gebundenen Kohlensäure des Blutes erzielt.

Der Gedanke, der dieser Methode zugrunde liegt, ist nichts weniger als neu. Bei den bekannten Untersuchungen Walters²⁾ von 1877 über Säurevergiftung wurde zum ersten Male der CO_2 -Gehalt des venösen Blutes der Versuchstiere als Maß der Säuerung des Organismus benutzt. Richtiger wäre es gewesen, stets bei derselben, bekannten CO_2 -Spannung den CO_2 -Gehalt des Blutes zu bestimmen, wie es neuerdings Morawitz und Walker³⁾, sowie auch Christiansen, Douglas und Haldane⁴⁾ getan haben. Dabei bleibt ja nämlich die Konzentration der freien CO_2 in allen Fällen konstant, während die Menge der gebundenen CO_2 von dem Gehalt des Blutes an disponiblen alkalischen Valenzen abhängen muß.

Wie L. J. Henderson⁵⁾ hervorhebt, „besitzt die Bestimmung der Kohlensäure den großen Vorteil, daß die gemessene Quantität großen Variationen unterworfen ist“.

Zwei Blutsorten, die bei 38° und 40 mm CO_2 einen pH von 7,30 bzw. 7,28 aufweisen, d. h. einen Unterschied, der durch die elektrometrische Bestimmung nur eben nachweisbar ist, enthalten (s. u.) bzw. 45 und 43 cem CO_2 pro 100 cem Blut. Wie jedermann weiß, der je mit den Gasen des Blutes praktisch beschäftigt war, liegt bei passender Wahl der Methode ein solcher Unterschied weit außerhalb des Fehlerbereiches.

Nun erhebt sich die Frage, ob die beiden Größen, die freie

¹⁾ Die Wasserstoffzahl des Blutes bei alveolarer CO_2 -Spannung Hasselbalch, a. a. O.

²⁾ Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 7, 148, 1877.

³⁾ Diese Zeitschr. 60, 395, 1914.

⁴⁾ Journ. of Physiol. 48, 244, 1914.

⁵⁾ Ergebn. der Physiol. 8, 313, 1909.

und die gebundene Kohlensäuremenge des Blutes, für mehr als eine qualitative Schätzung der aktuellen Blutreaktion, speziell ob sie für eine genaue Berechnung derselben verwertbar sind.

Durch die in dieser Hinsicht grundlegende Arbeit von L. J. Henderson wurde der Wahrscheinlichkeitsbeweis erbracht, daß „Kohlensäure im Blutplasma sehr reichlich, wenn nicht fast ausschließlich als Kohlensäure, Natriumbikarbonat und besonders als Ion HCO_3 vorhanden ist“¹⁾. Der Beweis gründet sich auf den Umstand, daß die C_{H} des Blutes, mit den damals verfügbaren, etwas mangelhaften Methoden gemessen, von ungefähr derselben Größe ist, wie eine Lösung von $\text{CO}_2 + \text{NaHCO}_3$, wo die freie CO_2 die Spannung des Blutes hat, und die Konzentration des Bikarbonats der gebundenen CO_2 -Menge des Blutes entspricht.

Später (1914) stellt sich auch Michaelis²⁾ das Blut als eine (in elektrolytischer Hinsicht) einfache wäßrige Lösung von $\text{CO}_2 + \text{NaHCO}_3$ vor. Die Wasserstoffzahl einer solchen Lösung wird bei einer Verdoppelung der H_2CO_3 -Konzentration verdoppelt, was auch Michaelis bei seinen folgenden, „halbquantitativen“ Betrachtungen über die Säureempfindlichkeit des Blutes voraussetzt.

In diesem Punkt besteht aber zwischen der Theorie, jedenfalls in der Michaelisschen Fassung, und den vorliegenden, unangreifbaren Beobachtungen ein eklatanter Widerspruch. Bei einer Verdoppelung der H_2CO_3 -Konzentration wird die C_{H} im Blute nicht verdoppelt, der p_{H} wird nicht um $\log 2 = 0,30$ vermindert, sondern wie die untenstehende Zusammenstellung zeigt, z. B. bei einer Steigerung der CO_2 -Spannung von 25 mm bis auf 50 mm, um nur 0,20 kleiner.

	pH		Diff.	Beobachter
	bei 25 mm	bei 50 mm		
Rinderblut, 38° .	CO_2	CO_2		
	7,57	7,41	0,16	} Hasselbalch u. Lundsgaard ³⁾
	7,50	7,32	0,18	
	7,48	7,27	0,21	
7,47	7,25	0,22		

¹⁾ a. a. O. S. 274.

²⁾ Die Wasserstoffionenkonzentration. 1914, S. 90.

³⁾ Diese Zeitschr. 38, 83, 1912.

	p _H		Diff.	Beobachter
	bei 25 mm CO ₂	bei 50 mm CO ₂		
Menschenblut, 38°	7,46	7,24	0,22	Peters ¹⁾
NaHCO ₃ jeglicher Konzentration u. Temperatur . .	—	—	0,30	

Bei Verdoppelung der H₂CO₃-Konzentration wird die Wasserstoffzahl nicht um 100⁰/₀, sondern nur um 60⁰/₀ größer. Die „halbquantitative“ Betrachtung von Michaelis ist auch nur halb richtig. Das Blut ist eine Pufferlösung von weit größerer Effektivität als die reine Bikarbonatlösung. Nur die Möglichkeit, daß das Blut keine konstante, sondern eine mit steigender CO₂-Spannung zunehmende Konzentration des Bikarbonats besitzt, kann die halbquantitative Betrachtung in eine quantitative verwandeln.

II.

In einer Natriumbikarbonatlösung mit Kohlensäure geht die Wasserstoffzahl bekanntlich aus der folgenden Gleichung hervor

$$K = [H'] \times \delta \times \frac{[\text{Bikarb.}]}{[\text{CO}_2]} \dots \dots \dots (1)$$

wo K die erste Dissoziationskonstante der Kohlensäure, δ den Dissoziationsgrad des Bikarbonats darstellt. Wir führen statt K den Ausdruck 10^{-p_K} ein und nehmen den Logarithmus

$$-p_K = -p_H + \log \delta + \log \frac{[\text{Bik.}]}{[\text{CO}_2]}$$

$$p_H = p_K + \log \delta + \log \frac{[\text{Bik.}]}{[\text{CO}_2]} \dots \dots \dots (2)$$

Die Größe p_K ist dann — nach einem nicht publizierten Vorschlag von N. Bjerrum — ganz analog zu p_H als der negative Logarithmus der Dissoziationskonstante zu definieren.

Der Dissoziationsgrad δ liegt für Bikarbonatkonzentrationen bis 0,05 n. zwischen 1 und 0,8, das Glied log δ der Gleichung (2) demnach zwischen 0 und — 0,1. Es ist aber bei dieser Gelegenheit ganz unnütz, die Größe dieses Gliedes zu kennen. Statt p_K + log δ schreiben wir p_{K1}, also ist

¹⁾ Barcroft, The respiratory function of the blood 1914, 316.

$$p_H = p_K + \log \frac{[\text{Bik.}]}{[\text{CO}_2]} \dots \dots \dots (3)$$

Wir verfügen jetzt über eine sehr einfache Gleichung zur Berechnung von p_H in reinen Bikarbonatlösungen mit Kohlensäure, nur muß für eine gegebene Bikarbonatkonzentration der entsprechende Wert von p_K bekannt sein.

Bei äquivalenter Konzentration von Bikarbonat mit Kohlensäure wird das Glied $\log \frac{[\text{Bik.}]}{[\text{CO}_2]}$ (Gleichung 3) = 0, folglich kann

die Größe p_K in folgender Weise definiert werden:

p_K ist p_H bei äquivalenter Konzentration von Salz und Säure.

Es galt nun, die Werte von p_K bei Bluttemperatur festzustellen.

Die erste Dissoziationskonstante der Kohlensäure wurde bei 18° von Walker und Cormack¹⁾ aus Leitfähigkeitsbestimmungen reiner Kohlensäurelösungen zu $10^{-6.52}$ berechnet, oder, mit der hier gewählten Ausdrucksweise, p_K wurde gleich 6,52 gefunden.

Bei einer Temperaturerhöhung von 18° bis auf 38° wächst bekanntlich der Logarithmus der Gleichgewichtskonstante eines Prozesses um den Betrag

$$-\frac{Q \times (38 - 18)}{4,57 \times (273 + 38) \times (273 + 18)},$$

wo Q die Wärmetönung pro Grammäquivalent des reagierenden Stoffes bezeichnet.

Aus Julius Thomsens thermochemischen Untersuchungen ließ sich [L. J. Henderson²⁾] Q , die Ionisationswärme der Kohlensäure, zu -2750 Cal. berechnen. Bei 38° sollte demgemäß p_K für Kohlensäure um 0,13 kleiner sein als bei 18°, die Kohlensäure also bei 38° eine stärkere Säure sein als bei 18°.

Demgegenüber behaupten Michaelis und Rona³⁾, experimentell erwiesen zu haben, die Kohlensäure sei bei 38° nicht stärker dissoziiert als bei 18°. Es ist mir nicht möglich, die

¹⁾ Journ. of Chem. Soc. 77, 5, 1900.

²⁾ l. c. S. 296 Fußnote.

³⁾ Diese Zeitschr. 67, 188, 1914.

Beweiskraft dieser Versuche anzuerkennen, und zwar aus dem folgenden Grunde.

Michaelis und Rona bereiten ihre Lösung aus Na_2CO_3 und HCl bekannter Konzentration bei Zimmertemperatur und bestimmen p_{H} elektrometrisch bei 38° , indem sie einfach die Lösung im Elektrodengefäß auf 38° erwärmen. Die Verfasser meinen nun, die Konzentrationen von NaHCO_3 und H_2CO_3 , wovon ja der Betrag des Gliedes $\log \frac{[\text{Bik.}]}{[\text{CO}_2]}$ der Gleichung (3) (s. o.) abhängt, seien unverändert geblieben. Die Bikarbonatkonzentration ist natürlich von der Erwärmung (praktisch) unberührt geblieben, die Kohlensäurekonzentration aber muß infolge der bei 38° geringeren Löslichkeit unbedingt kleiner sein als bei 18° ¹⁾. Wird bei dem benutzten Verfahren p_{H} bei 38° gleich p_{H} bei 18° gefunden, so muß bei 38° die Kohlensäure, weil hier ihre Konzentration eine geringere war als bei 18° , stärker dissoziiert sein. Um wie viel, ist auf Grund solcher Bestimmungen nicht leicht zu sagen, weil die wirklich vorhandene H_2CO_3 -Konzentration sich einer genaueren Berechnung entzieht. Nur durch eine Analyse der Wasserstoffblase des Elektrodengefäßes auf deren CO_2 -Gehalt könnte die H_2CO_3 -Konzentration der Versuchsflüssigkeit ermittelt werden.

Bei meinen Bestimmungen der Werte von p_{K} bei 18° und bei 38° bin ich in der folgenden Weise vorgegangen.

Wäßrige Lösungen von NaHCO_3 bekannter Konzentrationen zwischen 0,005 n. und 0,05 n. wurden in einem einfachen „Saturator“ im Raume des Luftthermostaten mit einer CO_2 -Luftmischung analysierten CO_2 -Gehaltes gesättigt und dann in das gleichzeitig mit Wasserstoff beladene Elektrodengefäß²⁾ hinübergepreßt, das in demselben Thermostaten, direkt unter dem Saturator angebracht ist. Bei passender Füllung des Elektrodengefäßes mit der Versuchsflüssigkeit — Totalvolumen 5 ccm, davon Wasserstoff 1,5 ccm — genügten zwei Erneuerungen der Lösung, um vollkommen konstante Werte des Potentials zu

¹⁾ Der Absorptionskoeffizient α von CO_2 in reinem Wasser ist bei 18° 0,928 und bei 38° 0,560.

²⁾ Bezüglich der Konstruktion siehe Hasselbalch und Gammeltoft, diese Zeitschr. 68, 235, 1915.

sichern, Werte, die gelegentlich auch colorimetrisch — bei Zimmertemperatur mit Methylrot als Indicator — verifiziert wurden.

Der Saturator (Fig. 1) ist eine 200 ccm fassende, mittels eines Motors um ihre Achse rotierende Glasflasche mit doppelt durchbohrtem Kautschukstöpsel. In der weiteren, zentral gelegenen Bohrung steckt ein kurzes, bei *a* geschliffenes Glasrohr,

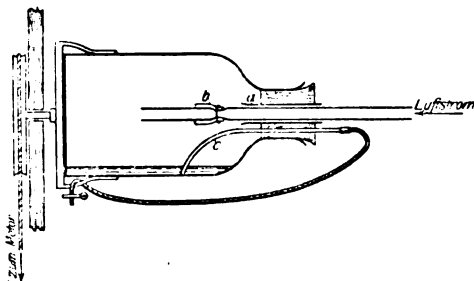


Fig. 1.

wohindurch ein zweites, bei *b* leicht ausgezogenes Glasrohr lose passiert; durch dieses Rohr geht aus einem Gasometer ein permanenter Strom der CO_2 -haltigen Luft, die im Thermostatenraum zuerst eine Bleispirale, dann eine Waschflasche mit destilliertem Wasser passiert und bei *a* den Saturator verläßt. Um den Luftstrom anzuhalten, braucht man nur dieses Rohr ein bißchen zurückzuziehen, so daß die Öffnung bei *a* durch den kleinen aufgebundenen Kautschukschlauch bei *b* geschlossen wird, und die Versuchsflüssigkeit kann, nach Herstellung der Verbindungen, zuerst zur Spülung der Verbindungsschläuche, dann zur Füllung des Elektrodengefäßes verwandt werden. Die Flüssigkeit verläßt den Saturator durch das kleine, gebogene Glasrohr *c*, das durch die zweite, engere Bohrung des Kautschukstöpsels passiert.

Die von mir bei variierter Konzentration der Kohlensäure und des Natriumbikarbonats bei 18° und bei 38° ausgeführten Messungen von p_{H} sind in der untenstehenden Tabelle I aufgeführt. Bei der Berechnung von p_{K} , (p_{H} bei äquivalenter Konzentration von Salz und Säure) habe ich in allen Fällen bei 18° den Absorptionskoeffizienten 0,928, und bei 38° 0,560 benutzt, indem die Salzkonzentration überall so gering ist, daß

die vom Salze bewirkte Depression des Absorptionskoeffizienten in Betracht der unvermeidlichen Fehler bei der elektrometrischen Bestimmung unberücksichtigt bleiben kann.

Tabelle I.

NaHCO ₃ -Konz.	18°			38°		
	mm·CO ₂	p _H	p _K	mm·CO ₂	p _H	p _K
0,05 n.	47,2	7,42	6,43	168,9	6,97	6,32
	403,8	6,48	6,43	247,8	6,82	6,33
	74,0	7,23	6,44	52,6	7,50	6,34
	147,7	6,92	6,43	717,0	6,35	6,33
						6,33
0,03 n.				40,6	7,43	6,38
				80,7	7,10	6,35
				135,0	6,87	6,34
				96,9	7,03	6,36
						6,36
0,02 n.				123,3	6,78	6,39
				36,7	7,28	6,36
				62,8	7,08	6,39
						6,38
0,01 n.	54,3	6,77	6,54	85,0	6,65	6,40
	134,3	6,37	6,53	218,6	6,28	6,44
	101,8	6,46	6,505	137,4	6,46	6,42
	84,5	6,54	6,50	189,2	6,35	6,44
	68,8	6,68	6,545	119,8	6,52	6,42
	92,4	6,54	6,54	149,0	6,395	6,40
						6,42
0,005 n.				23,5	6,97	6,46
				41,35	6,70	6,44
				71,8	6,48	6,46
						6,45

Bei dieser Voraussetzung ergibt die Berechnung, daß eine 0,01 n-Kohlensäurelösung bei 18° einer CO₂-Spannung von 91,7 mm Hg., bei 38° einer CO₂-Spannung von 152 mm Hg entspricht. Umgekehrt läßt sich die Normalität der Kohlensäurelösung einfach aus der CO₂-Spannung des Luftstromes nach dem folgenden Schema berechnen:

$$\text{Bei } 18^\circ \frac{\text{Spannung}}{91,7} \times 0,01 \text{ n.}, \text{ bei } 38^\circ \frac{\text{Spannung}}{152} \times 0,01 \text{ n.}$$

Tabelle I enthält folgende Ergebnisse:

1. Die Kohlensäure ist bei 38° eine stärkere Säure als bei 18°. Während die Berechnung auf Grund der Jul. Thom-senschen Daten eine Differenz $p_{K^{18^\circ}} - p_{K^{38^\circ}} = 0,13$ erwarten

ließ, finde ich eine entsprechende Differenz von 0,10 bis 0,11¹⁾, demnach eine, praktisch betrachtet, vollkommene Übereinstimmung.

2. Der Wert p_{K_1} steigert sich mit abnehmender Salzkonzentration. Das rührt nun teilweise von dem Umstand her, daß gleichzeitig der Dissoziationsgrad δ des Bikarbonats ansteigt.

Die untenstehende Zusammenstellung zeigt die hier gefundenen Werte von p_{K_1} bei 38° und abnehmender Salzkonzentration. Die entsprechenden Werte von δ sind durch Interpolation aus den Leitfähigkeitsbestimmungen von Walker und Cormack²⁾ berechnet worden. Die unterste Zahlenreihe gibt die Werte von p_K der Kohlensäure bei 38°, indem $p_K = p_{K_1} - \log \delta$; diese Werte sind mit abnehmender Salzkonzentration zwar etwas ansteigend, doch viel weniger als die Werte von p_{K_1} .

Konz. des Bikarbonats	0,05 n	0,03 n	0,02 n	0,01 n	0,005 n
p_{K_1}	6,33	6,36	6,38	6,42	6,45
δ	0,800	0,827	0,851	0,885	0,917
$\log \delta$	-0,10	-0,08	-0,07	-0,05	-0,04
$p_{K_1} - \log \delta = p_K$. .	6,43	6,44	6,45	6,47	6,49

Fig. 2 gibt eine graphische Darstellung der Versuchsergebnisse bei 38°, die bei der späteren Anwendung der Befunde an Blut von Nutzen sein wird. Als Abszisse dient die Normalität des Bikarbonats, teils direkt, teils durch den Gehalt an gebundener CO_2 in Volumprozenten (Kubikzentimeter CO_2 bei 0°, 760 mm, pro 100 ccm Flüssigkeit) ausgedrückt.

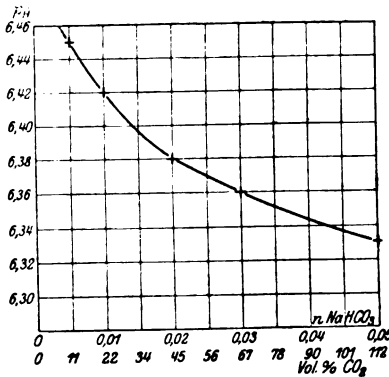


Fig. 2. p_{K_1} der Kohlensäure bei 38° bei zunehmender $NaHCO_3$ -Normalität.

3. Bei gegebener CO_2 -Spannung ist der p_H einer reinen $NaHCO_3$ -Lösung bei 38° etwa 0,12 größer als bei 18°.

Eine graphische Darstel-

¹⁾ Vorausgesetzt, daß der Dissoziationsgrad δ von der Temperaturerhöhung unbeeinflusst bleibt.

²⁾ l. c. S. 10.

lung der Versuchsergebnisse bei 0,05 n. und 0,01 n-NaHCO₃ könnte die Richtigkeit dieses Satzes beweisen. Einfacher ist der prinzipielle Nachweis. Wir erinnern uns, daß eine 0,01 n-Kohlensäurelösung einer CO₂-Spannung von 91,7 mm bei 18°, 152 mm bei 38° entspricht. Wir nehmen die Salzkonzentration 0,01 n. und die CO₂-Spannung p an. Die Formel (3) läßt sich nun schreiben:

$$p_{\text{H}}^{18^\circ} = 6,43 + \log \frac{0,01 \times 91,7}{p}$$

$$p_{\text{H}}^{38^\circ} = 6,33 + \log \frac{0,01 \times 152}{p}$$

$$\frac{p_{\text{H}}^{38^\circ} - p_{\text{H}}^{18^\circ} = -0,10 + \log 152 - \log 91,7 = 0,12.}{}$$

H₂CO₃ bei 38° ist zwar eine stärkere Säure als H₂CO₃ bei 18°, die Wasserlöslichkeit der CO₂ ist aber bei der höheren Temperatur um so viel geringer, daß die Erwärmung einer Bikarbonatlösung mit Erhaltung des CO₂-Druckes eine Erniedrigung der Wasserstoffionisation bewirkt.

III.

Nachdem auf diese Weise die Berechnung des p_H einer Natriumbikarbonatlösung bei 38° aus der freien und der gebundenen Kohlensäuremenge ermöglicht war, erhob sich die Frage, ob eine ähnliche Berechnung bei Blut anwendbar ist.

Schon in der Einleitung zeigte ich, daß die Annahme einer konstanten, von dem CO₂-Drucke unabhängigen Bikarbonatkonzentration im Blute mit dem vorliegenden Beobachtungsmaterial unvereinbar ist.

Die Vermutung war nun naheliegend, daß die bekannte CO₂-Bindungskurve des Blutes, die mit zunehmendem CO₂-Drucke zuerst rapide, dann langsamer ansteigt, den graphischen Ausdruck für die Bikarbonatkonzentration des Blutes abgibt, daß, mit Hendersons Worten, die gesamte gebundene Kohlensäure im Blute als Natriumbikarbonat, d. h. ganz hauptsächlich als Ion HCO₃ vorhanden sei.

Die Prüfung dieser Hypothese machte es notwendig, den p_H des Blutes sowohl elektrometrisch als auch rechnerisch aus den Mengen der freien und gebundenen CO₂ zu bestimmen.

Bei diesen Untersuchungen benutzte ich für die Sättigung des (defibrinierten) Blutes mit CO₂ einer beliebigen Spannung den oben be-

schriebenen Saturator (Fig. 1), worin etwa 15 ccm Blut erst im Wasserbad bei 38° etwa 5 Minuten lang vorgewärmt wurden, dann im Luftthermostaten bei derselben Temperatur eine halbe Stunde lang im Luftstrom rotierten. Etwa 3 ccm Blut wurden nun für die Elektrometrie verwandt, etwa 10 ccm mittels Quecksilberpumpe evakuiert und die Gase analysiert.

Das benutzte Elektrodengefäß ist etwas verschieden von dem bisher von mir verwandten Modell¹⁾. Die Elektrode ist ein kurzer, hakenförmig gekrümmter Platindraht, dessen Spitze die Wand des Elektrodengefäßes leicht berührt. Die Wasserstoffatmosphäre ist auf eine kleine Blase, die während des maschinellen Schaukelns des Elektrodengefäßes durch das Blut auf- und abwärts wandelt, beschränkt. Während der Messung ist die Elektrode nur durch die an dem Glase haftende Serumschicht mit dem Blut in Berührung; die vollständige Reduktion des Blutes braucht nicht abgewartet zu werden; nach 50 Wendungen des Gefäßes stellt sich das bleibende Potential fast augenblicklich ein, und eine Erneuerung des Blutes, die übrigens sehr leicht zu bewerkstelligen ist, ist wegen der kleinen H₂-Atmosphäre bei CO₂-Spannungen von 0 bis auf etwa 60 mm nicht nötig. Bei höheren CO₂-Spannungen muß die gemessene Blutportion aus dem Saturator einmal erneuert werden; das Seitenrohr, wodurch die Erneuerung des Blutes ermöglicht wird, zweigt sich direkt unter der H₂-Blase ab. Diese Modifikation meines Elektrodengefäßes hat sich bei meinen Messungen an Blut und anderen Gewebsflüssigkeiten vorzüglich bewährt. Die Elektrode funktioniert ohne Neuplatinierung tadellos Wochen hindurch.

Unmittelbar nach der Blutprobeentnahme für die Elektrometrie werden in einem graduierten Quecksilberrezipienten ca. 10 ccm Blut luftfrei aufgefangen und später in den evakuierten Rezipienten der Quecksilberluftpumpe hinübergebracht. Das genaue Volumen dieser Blutprobe wird durch Wägung des ausgelaufenen Quecksilbers ermittelt.

Die Spannung der Kohlensäure im Blute geht aus der Analyse einer Probe des Luftstromes, aus dem Luftdruck und dem Dampfdruck des Wassers bei der Versuchstemperatur hervor. Für die Berechnung der freien Kohlensäure im Blut ist außerdem die Kenntnis des Absorptionskoeffizienten erforderlich. Diese Größe ist von Bohr²⁾ auf indirektem Wege bestimmt worden und beträgt für Blut und Serum bei 18° und 38°

α	α
Blut 18° 0,854	Serum 18° 0,905
38° 0,511	38° 0,541

Die freie Kohlensäure im Blute beträgt bei der CO₂-Span-

¹⁾ Diese Zeitschr. 49, 455, 1913.

²⁾ Nagels Handbuch der Physiologie des Menschen, 1, 63.

Tabelle II.

pH bei 18° und 38° in Blut, Serum und Hämoglobinlösungen,
elektrometrisch und rechnerisch ermittelt.

	Temp. °	mm CO ₂	Vol.- ^o / _o CO ₂	pH		Ab- weichung
				be- obachtet	be- rechnet	
Rinderblut I . .	38	39,3	42,6	7,26	7,29	+ 0,03
	38	28,1	37,2	7,36	7,38	+ 0,02
	18	44,8	54,3	7,18	7,20	+ 0,02
	18	22,3	44,3	7,42	7,43	+ 0,01
	38	63,1	47,9	7,14	7,12	- 0,02
	38	95,6	62,7	7,04	7,05	+ 0,01
Rinderblut II . .	38	10,7	31,6	7,72	7,74	+ 0,02
	38	33,6	47,8	7,42	7,40	- 0,02
	38	96,7	65,0	7,06	7,06	0
	38	61,2	58,7	7,22	7,22	0
	38	20,1	39,8	7,57	7,56	- 0,01
	38	43,7	51,8	7,31	7,32	+ 0,01
	38	74,0	64,7	7,17	7,18	+ 0,01
Rinderblut III .	38	41,1	48,8	7,32	7,32	0
	38	41,0	48,5	7,32	7,32	0
Serum aus III .	38	41,8	62,0	7,39	7,38	- 0,01
	38	14,5	54,3	7,78	7,79	+ 0,01
Rinderblut III, 25 ccm + 0,85 ^o / _o NaCl, 5 ccm	38	39,9	43,5	7,29	7,29	0
Rinderserum IV .	38	40,6	60,6	7,40	7,39	- 0,01
	38	38,9	59,8	7,40	7,40	0
	18	41,0	64,6	7,31	7,29	- 0,02
Rinderblut V . .	38	42,7	44,3	7,26	7,27	+ 0,01
	38	39,3	44,5	7,28	7,30	+ 0,02
	38	40,9	42,2	7,24	7,27	+ 0,03
Rinderblut VI .	38	36,3	45,2	7,34	7,35	+ 0,01
	38	54,4	52,0	7,27	7,23	- 0,04
Dialysierte Hämoglobinlösung mit NaHCO ₃ 0,025 n.)	38	20,2	42,2	7,58	7,58	0
	38	94,2	55,4	7,03	7,01	- 0,02
	38	7,0	32,9	7,95	7,94	- 0,01
Menschenblut						
K. A. H. am 14. IV.	38	50,8	57,1	7,26	7,29	+ 0,03
	38	45,7	52,9	7,32	7,31	- 0,01
	38	32,7	45,1	7,38	7,39	+ 0,01
K. A. H. am 15. IV.	38	18,5	35,1	7,55	7,55	0
	38	22,4	36,7	7,49	7,48	- 0,01
	38	80,7	61,3	7,12	7,12	0

nung $p \frac{100 p \alpha}{760}$ Vol.-^o/_o. Diese Größe ergibt, von der Gesamt-

kohlensäure (immer in Volumenprozenten ausgedrückt) subtrahiert, die gebundene CO₂, die wir s nennen.

Die Gleichung (3) kann nun, indem H₂CO₃ eine zweibasische Säure ist, in folgender Weise geschrieben werden:

$$p_H = p_{K_1} + \log \frac{s}{\frac{2 \times 100 p\alpha}{760}} = p_{K_1} + \log \frac{3,8s}{p\alpha} \dots (4)$$

Der zu benutzende Wert von p_{K_1} hängt von der Größe von s ab und ist auf der Kurventafel (Fig. 2) abzulesen¹⁾. Bei 18° kann p_{K_1} um 0,10 größer veranschlagt werden (s. o.).

Beispiel: Bei 38° und 40 mm CO₂-Spannung enthält eine Blutprobe 51,0 Vol.-% CO₂ in gebundener Form.

p_{K_1} ist bei 51 % CO₂ (siehe Fig. 2) 6,375

$$p_H = 6,375 + \log \frac{3,8 \times 51}{40 \times 0,511} = 7,35.$$

Die meisten der in der Tabelle II gesammelten Versuche wurden nur in der Absicht angestellt, die Geltung der durch Gleichung (4) ausgedrückten Gesetzmäßigkeit zu prüfen, und beanspruchen nicht, über physiologische Verhältnisse etwas Entscheidendes auszusagen. Zum Beispiel handelt es sich recht oft um altes Blut von etwas fauligem Geruche. Auf die mit „Rinderblut II“ und mit Menschenblut angestellten Versuche, die physiologisch verwertbar sind, komme ich später zurück.

Vorläufig bemerken wir, daß sowohl bei 18° als bei 38°, sowohl bei Serum als bei Blut und Hämoglobinlösungen, die elektrometrisch beobachteten und die aus dem CO₂-Gehalt nach der Gleichung (4) berechneten Werte in allen Fällen so vollkommen übereinstimmen, wie die Genauigkeit der Methoden (besonders die der elektrometrischen Methode) zuläßt.

In 31 von im ganzen 35 Fällen ist die Abweichung zwischen dem „beobachteten“ (d. h. dem elektrometrisch ermittelten) und dem (aus der Gasanalyse) „berechneten“ Werte $\pm 0,02$ und kleiner, nur in einem Fall beträgt die Abweichung 0,04.

Diese Übereinstimmung umfaßt ein Reaktionsgebiet von $p_H = 7$ bis $p_H = 8$. Bei anderen, hier nicht angeführten Versuchen habe ich bei $p_H = 6$ und bei $p_H = 9$ eine fast ebenso gute Übereinstimmung beobachtet; die im letzteren Falle auftretenden CO₃-Ionen sind noch nicht in genügender Konzentration vorhanden, um die Gültigkeit der Gleichung (4) in meßbarem Grade zu beschränken.

Hiermit darf ich den ersten Teil der gestellten Aufgabe als gelöst betrachten. Die aktuelle Reaktion des Blutes

¹⁾ Es wird hier hypothetisch und wie der Erfolg zeigt, mit Recht, vorausgesetzt, daß der NaCl-Gehalt des Blutes den Dissoziationsgrad des Bikarbonats nicht meßbar beeinflusst.

kann aus den Mengen der freien und der gebundenen CO_2 leicht und mit großer Genauigkeit berechnet werden.

Die beigefügte Kurve (Fig. 3) gibt eine graphische Darstellung der mit „Rinderblut II“ im Laufe eines Tages durchgeführten Bestimmungen.

Es handelte sich um frisches, auf Eis aufbewahrtes Blut, so dass die Ergebnisse des Versuchs mehr als methodisches Interesse beanspruchen dürfen. Auf Grund der 7 Bestimmungen des CO_2 -Bindungsvermögens bei 38° wurde erst die (ausgezogene) CO_2 -Bindungskurve aus freier Hand gezeichnet. Diese Kurve wurde zur Konstruktion der (gestrichelten) p_{H} -Kurve dieses Blutes verwendet. Wie ersichtlich, fallen die elektrometrisch bestimmten p_{H} -Werte mit dieser letzteren Kurve vollständig zusammen.

Von großem Interesse ist der Umstand, daß auch die bei 18° elektrometrisch ermittelten p_{H} -Werte in die Kurve fallen.

Dieser Nachweis, daß bei konstanter CO_2 -Spannung die Wasserstoffzahl des Blutes bei 18° und bei 38° praktisch betrachtet gleich groß ist, geht übrigens auch aus der Tab. II (Rinderblut I) hervor und ist meines Wissens hier zum ersten Male erbracht worden¹⁾.

¹⁾ Daß diese Tatsache, trotz darauf abzielender Versuche, sowohl Michaelis und Davidoff (Diese Zeitschr. 12, 1912) als auch mir (ebenda 49, 1913) entgangen ist, muß technischen Unvollkommenheiten der Methoden zugeschrieben werden. Die Unzulänglichkeit des Michaelischen Vorgehens habe ich oben (S. 117) erwähnt. Bei meinen früheren Versuchen war der H_2 -Raum unzweifelhaft zu groß, und die Erneuerung des Blutes deshalb mangelhaft.

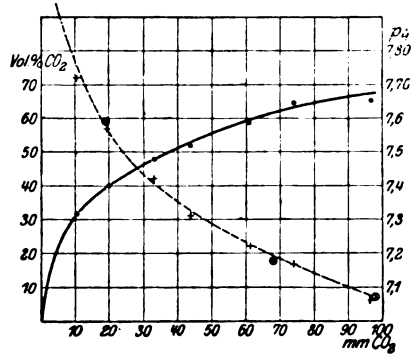


Fig. 3.

● Observierte Punkte der CO_2 -Bindungskurve von Ochsenblut bei 38° , ausgezogene Kurve.

— p_{H} -Kurve, berechnet.

+ Observierte Werte von p_{H} bei 38° .

⊕ " " " " " 18° .

Wie man sich erinnert, ist in einer reinen NaHCO_3 -Lösung (bei konstanter CO_2 -Spannung) p_{H} bei 38° um 0,12 größer als bei 18° . Wenn beim Blut dieser Unterschied weggefallen ist, so kann das nur bedeuten, daß mit der Erwärmung des Blutes, dessen NaHCO_3 -Konzentration abnimmt, und zwar in dem Maße, daß die geringere Konzentration der — allerdings etwas stärker dissoziierten — Kohlensäure fast genau abkompensiert wird. Welcher Mechanismus hier im Spiele ist, werden wir später untersuchen.

Die Möglichkeit, daß es sich hier um eine bisher nicht erkannte „Regulationsvorrichtung“ zur Erhaltung der physiologischen Wasserstoffzahl des Blutes trotz eintretender Temperaturverschiebungen handelt, ist naheliegend.

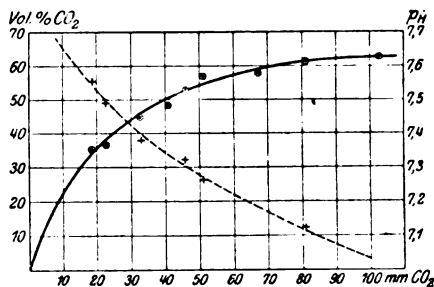


Fig. 4 Menschenblut, 38° . CO_2 -Bindungskurve (ausgezogen) und daraus berechnete p_{H} -Kurve. + Elektrometrisch gemessene Werte.

Fig. 4 gibt in gleicher Weise wie Fig. 3 die CO_2 -Bindungskurve meines eigenen, an drei verschiedenen Tagen durch Venenpunktur gewonnenen Blutes an. Nur die 6 Bestimmungen, wo der p_{H} des Blutes elektrometrisch bestimmt wurde, sind in der Tab. II aufgenommen worden. Ob-

schon das Blut, wie gesagt, drei verschiedenen Probeentnahmen entstammt, ist die Angehörigkeit an derselben Kurve unverkennbar. Auf Grund der CO_2 -Kurve wurde demnächst, wie beim Rinderblut, eine p_{H} -Kurve für variierte CO_2 -Spannungen konstruiert, und die damit vorzüglich übereinstimmenden elektrometrischen p_{H} -Bestimmungen (durch Kreuze) angegeben.

Bei 40 mm CO_2 ist p_{H} in meinem Blute (siehe Fig. 4) 7,34. Aus den in der Literatur vorliegenden CO_2 -Bindungskurven des Blutes lassen sich übereinstimmende Werte berechnen. Aus der Arbeit von Christiansen, Douglas und Haldane¹⁾ berechne ich z. B. bei 40 mm CO_2 im Blute von J.S.H.: $p_{\text{H}} = 7,33$,

¹⁾ Journ. of Phys. 48, 1914.

in dem von C.G.D.: $p_{\text{H}} = 7,32$. Dieselben Verfasser zeigen, wie früher Morawitz und Walker¹⁾, daß eine forcierte Muskelarbeit die CO_2 -Bindungskurve des Blutes stark herabdrückt. Die Zahlenangaben²⁾ sind für die Berechnung des p_{H} im arteriellen Blute leicht verwertbar.

Versuch 1.

	bei alv. CO_2 -sp. mm	p_{H} des Blutes
Vor der Arbeit	38,2	7,33
Nach " "	29,4	7,21

Versuch 2.

Vor der Arbeit	39,3	7,32
Nach " "	31,8	7,22

Versuch 3.

Vor der Arbeit	38,1	7,33
Nach " "	31,3	7,21
1 Stunde nach der Arbeit	35,5	7,35

Die Berechnung zeigt, daß unmittelbar nach dem Aufhören der Arbeit eine bedeutende, durch die gewaltig erhöhte Atemtätigkeit bei weitem nicht kompensierte Säuerung des Blutes besteht. Eine Stunde nach der Arbeit ist das Gleichgewicht wiederhergestellt oder vielleicht sogar etwas überschritten (erhöhte Reizbarkeit des Atemzentrums?).

IV.

Was den Mechanismus betrifft, mittels dessen die Bikarbonatkonzentration im Blute keine konstante Größe beträgt, sondern mit der CO_2 -Spannung steigt und fällt, so richtet sich die Aufmerksamkeit naturgemäß auf die Eiweißstoffe des Blutes. Eine im Blute vorhandene Säure, die bei steigender Alkalinität immer stärker dissoziiert, würde die Sachlage klären.

Daß die Eiweißstoffe des Serums bei der Wasserstoffzahl des Blutes als schwache Säuren aufzufassen sind, ist ja längst bekannt. Auch ich habe feststellen können, daß eine NaHCO_3 -Lösung durch Zusatz von dialysiertem Rinderserum eine sehr deutliche Erniedrigung des p_{H} (von 7,32 bis auf 6,96) erlitt. Die isoelektrische Reaktion liegt aber für die Serumeiweiß-

¹⁾ l. c.

²⁾ Christiansen, Douglas und Haldane, l. c. S. 251.

stoffe bei etwa $p_{\text{H}} = 5^1$), d. h. so weit von der Wasserstoffzahl des Blutes entfernt, daß eine im Gebiete $p_{\text{H}} = 7$ bis $p_{\text{H}} = 8$ stark ansteigende Säurenwirkung teils unwahrscheinlich, teils mit der Beobachtung (s. u.) nicht vereinbar ist. Die Hauptrolle ist unzweifelhaft einem anderen Blutampholyten, nämlich dem Oxyhämoglobin zuzuschreiben. Die isoelektrische Reaktion des Oxyhämoglobins entspricht (nach Überführungsversuchen von Michaelis und Takahashi²) dem p_{H} etwa 6,8, bei 38° fast genau dem Neutralpunkt. Je mehr man, von dem p_{H} 6,8 ausgehend, sich dem p_{H} 8 nähert, eine um so größere Reaktionsverschiebung nach der sauren Seite hin soll — der Theorie nach — die Anwesenheit des Ampholyten bewirken. Oder, um das hier gebrauchte Maß zu benutzen, je niedriger die CO_2 -Spannung, um so geringer das CO_2 -Bindungsvermögen. Eben diese Bedingung trifft ja für das Blut zu.

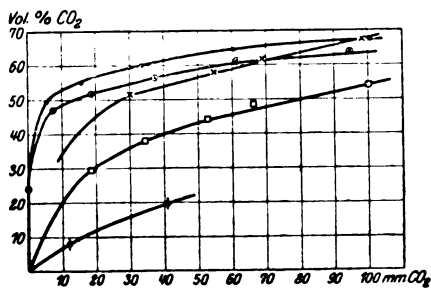


Fig. 5. — Serum 18°.
 —•— Serum 38°.
 — Blut 18°.
 —○— Blut 38°.
 —◄— Blutkörperchen, 38°.

Daß diese Betrachtung mehr als qualitativer Art ist, wird durch den Fig. 5 in Kurvenform dargestellten Versuch gezeigt. Defibriniertes Rinderblut und Serum aus derselben Blutportion wurden bei variierten CO_2 -Spannungen auf den Gehalt an gebundener CO_2 analysiert, sowohl bei 18° als bei 38°. (In der Figur sind noch zwei Bestimmungen an einem mit

physiologischer Kochsalzlösung zweimal zentrifugierten Blutkörperchenbrei aufgenommen; Temp. 38°.)

Aus den CO_2 -Bindungskurven berechnete ich, wie gewöhnlich, die p_{H} -Werte bei ansteigender CO_2 -Spannung. Bei 38° ergaben sich folgende Zahlen:

	CO_2 , mm	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
p_{H}	Serum	7,91	7,64	7,49	7,37	7,29	7,21	7,15	7,10	7,05	7,01
	Blut	7,58	7,46	7,35	7,27	7,20	7,14	7,09	7,05	7,01	6,97
	Blutkörperchen	—	7,15	—	7,04	—	—	—	—	—	—

¹) Michaelis und Davidsohn, diese Zeitschr. **33**, 1911.

²) Diese Zeitschr. **29**, 1910.

Aus dieser Zusammenstellung geht erstens die Bestätigung einer längst bekannten Tatsache hervor: bei physiologischer CO_2 -Spannung reagiert (wegen Beimengung der Blutkörperchen) das Blut saurer als das zugehörige Serum. Bei sehr hohen CO_2 -Spannungen verschwindet aber allmählich dieser Unterschied; bei 18° ist dazu eine CO_2 -Spannung von etwa 90 mm, bei 38° eine von etwa 150 mm^1) erforderlich. Augenscheinlich wäre hiermit eine Methode zur Bestimmung des isoelektrischen Punktes des Oxyhämoglobins (und anderer Ampholyten) gegeben.

Die obige Zusammenstellung von p_{H} -Werten liefert uns demnach ein wertvolles Mittel zur Entscheidung der Frage, welcher Blutbestandteil es ist, der den in der Einleitung erwähnten flachen Verlauf der p_{H} -Kurve bei ansteigender CO_2 -Spannung bewirkt. Wir erinnern uns, daß bei Verdoppelung der CO_2 -Spannung der p_{H} einer reinen NaHCO_3 -Lösung um 0,30 vermindert wird.

Bei Erhöhung der CO_2 -Spannung		Erniedrigung des p_{H}			
von	auf	NaHCO_3	Serum	Blut	Blutkörperchen
10 mm	20 mm	0,30	0,27	0,12	—
20 "	40 "	0,30	0,27	0,19	0,11
30 "	60 "	0,30	0,28	0,21	—
40 "	80 "	0,30	0,27	0,22	—
50 "	100 "	0,30	0,28	0,23	—

Die p_{H} -Kurve des Serums verläuft nur eine Kleinigkeit flacher (0,27 gegen 0,30) als die der NaHCO_3 -Lösung, und zwar bei alkalischer Reaktion (niedriger CO_2 -Spannung) nicht meßbar flacher als bei saurer Reaktion. Die Serumeiweißstoffe spielen also als Puffer eine zwar nachweisbare, doch recht untergeordnete Rolle im Blute. Erst wenn dem Serum Blutkörperchen zugesetzt werden, bekommen wir die flache und gegen die alkalische Seite hin immer flacher verlaufende p_{H} -Kurve des Blutes. Eine hochkonzentrierte Hämoglobinlösung, wie sie der Blutkörperchenbrei darstellt, ist als Puffermischung noch wirksamer: bei Erhöhung der CO_2 -Spannung von 20 bis auf 40 mm fällt der p_{H} um nur 0,11.

¹⁾ Extrapolierter Wert.

Daß nun wirklich Hämoglobin bei dem p_H des Blutes CO_2 -austreibend wirkt, und zwar um so stärker, je alkalischer die Reaktion, wird durch den mit dialysierter Hämoglobinlösung (Tab. II) angestellten Versuch bewiesen.

Die etwa 3 Stunden lang, d. h. recht mangelhaft, dialysierte Oxyhämoglobinlösung aus gereinigten Rinderblutkörperchen wurde mit so viel einer $NaHCO_3$ -Lösung versetzt, daß die ungefähr 5prozentige Hämoglobinlösung mit Bezug auf $NaHCO_3$ 0,025 normal war. Während nun eine reine 0,025 n- $NaHCO_3$ -Lösung bei jeder CO_2 -Spannung 56,0 Vol.-% CO_2 in gebundener Form enthält, ergab die Untersuchung, daß bei einer CO_2 -Spannung von 94,2 mm die Versuchsflüssigkeit einen CO_2 -Gehalt von etwa demselben Betrag, 55,4 Vol.-%, enthielt, während bei niedrigerer CO_2 -Spannung das CO_2 -Bindungsvermögen der Lösung immer geringer wurde.

CO ₂ -Spannung,		
mm	p _H	Vol.-% CO ₂
94,2	7,01	55,4
20,2	7,58	42,2
7,0	7,94	32,9

Es kann demnach wohl kein Zweifel darüber bestehen, daß bei der Wasserstoffzahl des Blutes das Oxyhämoglobin kein Kohlensäurebinder ist, sondern im Gegenteil infolge seiner Säurenatur aus den Bikarbonaten des Blutes CO_2 vertreibt, und zwar um so stärker, je alkalischer die Reaktion. Erst bei so saurer Reaktion, wie sie physiologisch im Blute nicht vorkommt, verbindet sich das Oxyhämoglobin mit Kohlensäure.

Wie wir gesehen haben, ist das Blut, hauptsächlich dank seines Oxyhämoglobingehaltes, gegen die von CO_2 bewirkten gar zu schroffen Änderungen der Wasserstoffzahl vorzüglich geschützt. Auch die Stabilität des Blutes gegen Temperaturänderungen, auf die ich oben die Aufmerksamkeit hingleitete, hängt von dem Hämoglobingehalt, und nur in sehr bescheidenem Umfang von dem Vorhandensein der Serumeiweißstoffe ab. Aus den Kurven (Fig. 5) berechne ich die folgenden Werte von p_H im Serum und im Blute bei 18° und bei 38° (CO_2 -Spannung 30 mm)

	p_H		Diff.
	18°	38°	
Serum	7,39	7,49	+ 0,10
Blut	7,35	7,35	0

Das Serum benimmt sich fast genau wie eine reine NaHCO_3 -Lösung, die bei einer Temperaturerhöhung von 18° bis auf 38° ihren p_H um 0,12 vergrößert. Das Blut ist unverändert. Die Säuredissoziationskonstante des Oxyhämoglobins muß demnach bei 38° recht bedeutend größer sein als bei 10°.

Schließlich habe ich die Gelegenheit benutzt, die Richtigkeit der zuerst von Lundsgaard und mir¹⁾, z. T. gestützt auf ältere Untersuchungen von Bohr, Krogh und mir²⁾, später von Christiansen, Douglas und Haldane³⁾ ausgesprochenen Annahme, das reduzierte Hämoglobin sei als Säure schwächer als das Oxyhämoglobin, zu prüfen. Speziell wollte ich die Größe der Reaktionsverschiebung feststellen, die eine unvollständige Reduktion, etwa auf die O_2 -Spannung des Capillarblutes, bewirkt. Von zwei übereinstimmenden Versuchen führe ich den am besten gelungenen an:

Ochsenblut 38°.					
	CO_2 -Spann.	O_2 -Spann.	Vol.-% CO_2	p_H im Versuche	p_H bei 40 mm CO_2
I	40,9	139,0	42,2	7,26	7,27
II	39,3	38,0	44,5	7,30	7,29

Eine partielle Reduktion des Oxyhämoglobins, wie sie im Kreislaufe vorkommt, hat also auf die Wasserstoffzahl des Blutes einen meßbaren Einfluß ausgeübt, und zwar einen solchen, der dem gleichzeitigen Einfluß der erhöhten CO_2 -Spannung entgegenwirkt. Nehmen wir mit Christiansen, Douglas und Haldane⁴⁾ an, daß die CO_2 -Spannung des Blutes während einer Zirkulation um 5 bis 6 mm ansteigt, so würde dadurch allein der p_H des Blutes um etwa 0,04 verkleinert werden (siehe Fig. 3); die gleichzeitige Reduktion des Blutes läßt aber den p_H um 0,02 größer werden (s. o.), so daß als Endresultat der p_H im venösen Blute um nur 0,02 kleiner ist als im arteriellen Blute. Dieses Ergebnis

¹⁾ Diese Zeitschr. 88, 88, 1912.

²⁾ Centralbl. f. Physiol. 1904, Nr. 22.

³⁾ l. c. S. 260.

⁴⁾ l. c. S. 268.

stimmt mit den Anschauungen der eben genannten Verfasser überein¹⁾. Auch der Umstand, daß mit steigender CO_2 -Spannung das zirkulierende Blut sauerstoffärmer wird, trägt dazu bei, die Wasserstoffzahl des Blutes fast konstant zu erhalten.

V.

Das Studium der Sauerstoffbindung des Blutes ist durch die energische Arbeit Barcrofts und seiner Mitarbeiter²⁾ in sehr bedeutsamer Weise befördert worden. Durch die Aufstellung der Hillschen Formel:

$$\frac{y}{100} = \frac{K x^{2,5}}{1 + K x^{2,5}}$$

(y = prozentische Sauerstoffsättigung, x = Sauerstoffdruck, K eine „Konstante“, die mit dem CO_2 -Drucke und überhaupt mit der Wasserstoffzahl des Blutes variiert)

hat die Sauerstoffbindung des Blutes einen, obschon theoretisch nur mangelhaft begründeten, so doch innerhalb weiter Grenzen tatsächlich zutreffenden mathematischen Ausdruck gefunden. Sobald in einem Falle die zusammengehörenden Werte von x und y bestimmt worden sind, ist damit, wohlge-merkt bei der gegebenen CO_2 -Spannung, der ganze Verlauf der Sauerstoffbindungskurve dieses Blutes genau bekannt.

Peters und Barcroft³⁾ ist der Nachweis gelungen, daß — in Barcrofts Blut — der Logarithmus von K eine einfache, nämlich eine geradlinige, Funktion von p_{H^+} des Blutes ist (siehe Fig. 6). Bei dieser Feststellung wurde p_{H^+} ausschließlich mittels verschiedener CO_2 -Spannung variiert.

Dieser Nachweis, der vorläufig vereinzelt dasteht, ist von Barcroft dazu benutzt worden, aus den — durch Arbeit oder durch Sauerstoffmangel — experimentell variierten Werten von K die aktuelle Reaktion des eigenen Blutes zu bestimmen. Ob dieses Vorgehen in allen Fällen berechtigt ist, scheint mir zweifelhaft; es wäre ja denkbar, daß die Abhängigkeit zwischen p_{H^+} und $\log K$ unter den vorliegenden Versuchsbedingungen sich abweichend gestaltete. Auch die Benutzung der indivi-

¹⁾ l. c. S. 270.

²⁾ Barcroft: The respiratory function of the blood. Cambridge 1914.

³⁾ Barcroft l. c. S. 316.

duellen Sauerstoffbindungskurve — präziser ausgedrückt der Größe von K bei alveolarer CO_2 -Spannung — als Indicator für die Blutreaktion, wie sie von Barcroft und Mitarbeitern geübt wird, scheint mir — ohne eine genauere Feststellung der Abhängigkeit — etwas bedenklich. Um so mehr kommt mir die direkte Verwertung der Peters-Barcroftschen Zahlen (siehe Fig. 6) für die Berechnung der Blutreaktion anderer, normalen und sogar pathologischen Individuen¹⁾ unberechtigt vor. Ich berechnete oben den p_{H} in Haldanes arteriellem Blute zu 7,33. Die Konstante K beträgt für Haldanes Blut bei alveolarer CO_2 -Spannung 0,000212²⁾, $\log K$ somit — 3,67. Nach der Kurve (Fig. 6) bestimmt, sollte der p_{H} in Haldanes Blut 7,19 betragen, ein entschieden pathologischer und deshalb unwahrscheinlicher Wert. Schon dieser Mangel an Übereinstimmung könnte den Verdacht erregen, daß die Peters-Barcroftsche Kurve keine allgemeine Geltung hat. Für Haldanes Blut (übrigens auch für Douglas' Blut³⁾) liegt die Kurve offenbar recht bedeutend höher als für Barcrofts Blut (Fig. 6), die Richtigkeit der K -Bestimmungen vorausgesetzt.

Des weiteren: Bei Higgins⁴⁾ wurde am dritten Tage einer kohlenhydratfreien Diät der Wert — $\log K = 3,33$ beobachtet, bei gewöhnlicher Kost war die entsprechende Zahl 3,58. Würde man hieraus unter Benutzung der Peters-Barcroftschen Kurve den p_{H} berechnen, so wäre p_{H} vor dem Versuch 7,27, während der Diät 7,48. Die kohlenhydratfreie Diät sollte die Blutreaktion nach der alkalischen Seite hin verschoben haben — schon dieses wirkt befremdend — und zwar um einen so ansehnlichen Betrag, daß keine bisherige direkte Messung der Blutreaktion ähnliches gezeigt hat. In diesem Falle wäre eine Verschiebung der Peters-Barcroftschen Kurve nach unten mit der Bewahrung einer physiologischen Wasserstoffzahl des Blutes vereinbar.

Ich habe es aus solchen Gründen als lohnend erachtet,

¹⁾ Z. B. berechnet Poulton (Journ. of Physiol., L. 1915, Physiol. Proc., Oct. 16, 1915) den p_{H} im Blute komatischer Diabetiker nach der Peters-Barcroftschen Kurve.

²⁾ Barcroft, l. c. S. 224.

³⁾ S. o. und Barcroft, l. c. S. 224.

⁴⁾ Barcroft, l. c. S. 235.

mit Hilfe der oben beschriebenen, relativ einfachen und sicheren Methode zur p_{H} -Bestimmung im Blute die Geltung der Peters-Barcroft'schen Kurve an verschiedenen Blutsorten etwas näher zu untersuchen.

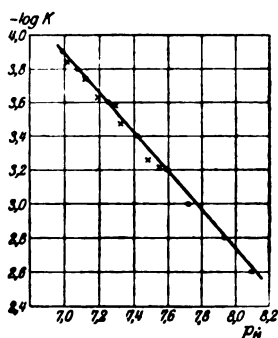


Fig. 6.

p_{H} und O_2 -Bindung.

● Blut von Barcroft.

× " " Hasselbalch.

Wie leicht ersichtlich, galt es nur, das Blut im Saturator mit einem Luftstrom von passender Spannung von Sauerstoff und Kohlensäure zu behandeln, und nach dem Auspumpen sowohl den CO_2 -Gehalt als auch den O_2 -Gehalt zu bestimmen. Es wurden gewöhnlich für jede solche Bestimmung 5 ccm Blut verwendet, gelegentlich nur 3, und ich bezweifle nicht, daß bei passender Wahl der Dimensionen der Pumpe und des Luftanalysenapparats sogar kleinere Mengen ausreichen würden. Bei Serienversuchen mit demselben Blut dauert ein Einzelversuch — in der Bestimmung des p_{H} und der procentischen O_2 -Sättigung des Blutes bestehend — ungefähr 45 Minuten.

Die Sauerstoffkapazität des Blutes, d. h. die bei voller Sättigung an das Hämoglobin gebundene O_2 -Menge, in Volumprozenten ausgedrückt, wurde mittels eines mehrmals mit übereinstimmendem Resultat gasanalytisch justierten Autenrieth-Königsberger-Apparats colorimetrisch bestimmt.

Die untenstehende Tabelle III umfaßt 7 Bestimmungen der Wasserstoffzahl und der Sauerstoffbindungskonstante K meines eigenen Blutes, das an drei verschiedenen Tagen unter-

Tabelle III.

Blut von K.A.H., 33°.

	O_2 -Kapazität	mm CO_2	mm O_2	Vol.-%		p_{H}	O_2 -Sättigung, %	— log K
				CO_2	O_2			
I.	19,8	50,8	20,5	57,1	6,7	7,29	33,8	3,58
II.	20,7	18,5	25,8	35,1	14,0	7,55	67,4	3,21
		22,4	25,6	36,7	13,4	7,48	64,8	3,25
		80,7	30,7	61,3	10,1	7,12	48,9	3,74
III.	20,5	40,85	36,9	48,2	15,1	7,32	73,8	3,47
		67,0	35,5	57,9	13,1	7,19	63,7	3,63
		102,2	35,8	62,5	10,8	7,02	52,8	3,84

sucht wurde. Die Werte sind in die Fig. 6 eingetragen und stimmen, wie ersichtlich, in fast erstaunlicher Weise mit der Peters-Barcroft'schen Kurve überein.

Bei der weiteren Prüfung der Peters-Barcroft'schen Kurve („P-B-Kurve“) verfuhr ich folgendermaßen.

In Analogie mit dem oben erwähnten Fall von Acidosis durch Kohlenhydratentziehung, wo das Blut der Versuchsperson (Higgins) eine unzweifelhafte Verschiebung der P-B-Kurve erlitt, stellte ich es mir als eine Möglichkeit vor, daß das Blut von Schwangeren eine entsprechende Veränderung darbiete.

In der Schwangerschaft besteht ja, nach den elektrometrischen Bestimmungen von Gammeltoft und mir¹⁾ zu urteilen, eine deutliche Erniedrigung des reduzierten p_{H} im Blute. Dieser Befund, der mit den Untersuchungen von Michaelis²⁾ nicht übereinstimmt, konnte nun gleichzeitig, mittels der hier geübten Methodik, nachgeprüft werden.

Also wurde bei 5 Schwangeren³⁾ wenige Tage vor der Entbindung das frisch defibrinierte und zwischen den Einzelbestimmungen kühl aufbewahrte Blut in der oben beschriebenen Weise untersucht, und bei denselben Frauen 8 Tage nach der Entbindung die Untersuchung wiederholt.

Das Ergebnis dieser Untersuchungen findet sich in der Tabelle IV und in der Kurventafel (Fig. 7), doch mit der Ausnahme einiger wenigen Bestimmungen, die erst am Tage nach der Blutentnahme vorgenommen wurden.

Diese Bestimmungen an nicht mehr ganz frischem Blut zeigen in bezug auf das CO_2 -Bindungsvermögen entschieden abnorme, speziell zu niedrige Werte, während das Verhältnis zwischen p_{H} und $\log K$ keine Abweichung darbietet. In solchen Fällen hat demnach infolge des Alterwerdens des Blutes eine Säurebildung stattgefunden, ohne Schädigung des Hämoglobins. Bei noch älterem, schon faulig gewordenem Rinderblute habe ich mehrmals eine Verschlechterung des O_2 -Bindungsvermögens feststellen können, d. h. bei gegebenem p_{H} eine Erniedrigung der Kon-

¹⁾ Diese Zeitschr. 68, 206, 1915.

²⁾ Die Wasserstoffionenkonzentration, S. 103.

³⁾ Für gefällige Gestattung der Blutentnahme sage ich den Herren Professoren L. Meyer und E. Hauch meinen besten Dank.

Tabelle IV.

CO₂- und O₂-Bindung in Frauenblut vor und nach der Entbindung.

Nummer der Pat.	O ₂ -Kapa- zität	Spannung mm		Vol.-%		p _H be- rechnet	O ₂ -Sätti- gung %	log K —	Bemerkungen	
		CO ₂	O ₂	CO ₂	O ₂					
75	16,8	52,8	36,3	48,3	10,5	7,21	62,3	3,68	} 13 Tage vor der Geburt	
		75,5	33,0	56,4	8,5	7,11	50,5	3,79		
		35,7	34,7	42,3	11,6	7,32	69,1	3,50		
		26,7	19,9	34,9	5,7	7,38	33,8	3,54		
	16,4	96,5	36,5	64,2	9,15	7,05	55,8	3,80	} 8 Tage nach der Geburt, stillt	
		91,8	35,1	63,1	8,15	7,07	49,7	3,87		
		56,8	35,2	53,9	10,1	7,22	61,4	3,66		
		39,3	33,9	47,25	10,6	7,33	64,8	3,56		
		10,4	14,2	25,4	6,0	7,67	36,6	3,12		
		25,6	26,1	36,9	9,3	7,42	56,6	3,43		
	100	20,0	14,8	17,7	29,8	9,5	7,58	47,55	3,16	} 3 Tage vor der Geburt
			17,1	24,25	30,4	12,8	7,53	64,05	3,21	
			27,5	—	39,9	—	7,42	—	—	
			49,75	29,5	47,8	11,1	7,23	55,4	3,58	
75,7			33,4	50,2	9,8	7,07	49,1	3,82		
81,0			32,0	52,2	9,45	7,05	47,25	3,81		
17,95		22,7	38,5	37,9	15,0	7,48	83,7	3,25	} 8 Tage nach der Geburt, stillt	
		37,4	36,9	46,0	13,5	7,34	75,3	3,43		
		44,7	33,9	49,8	11,9	7,29	66,1	3,53		
		56,5	33,8	51,95	11,3	7,21	62,8	3,59		
115		17,2	10,05	26,85	26,9	12,9	7,71	75,2	3,09	} 8 Tage vor der Geburt
			21,7	30,3	36,0	12,2	7,48	71,1	3,31	
			46,8	33,1	48,5	10,4	7,26	60,3	3,62	
			75,0	34,2	51,9	8,5	7,08	49,5	3,84	
	104,2		31,2	59,5	6,9	6,99	40,3	3,91		
	16,0	10,6	19,5	31,2	9,5	7,74	59,3	3,06	} 10 Tage nach der Geburt, stillt nicht	
		24,0	25,75	40,8	9,15	7,49	57,2	3,40		
		46,5	29,8	49,9	8,5	7,28	53,4	3,62		
		64,8	38,4	55,3	9,6	7,17	60,25	3,78		
	128	15,8	15,7	23,2	31,8	10,25	7,58	64,85	3,15	} 9 Tage vor der Geburt
			37,9	25,9	44,75	8,9	7,32	56,3	3,42	
			89,6	30,5	59,7	7,4	7,06	46,8	3,77	
			35,4	33,0	16,3	7,0	6,97	43,6	3,91	
		17,95	7,1	19,2	24,6	12,5	7,825	69,8	2,84	} 9 Tage nach der Geburt, stillt
22,2			25,1	39,2	11,8	7,51	65,6	3,22		
38,0			26,8	47,5	10,5	7,35	58,65	3,42		
64,4			28,1	57,8	8,5	7,19	47,5	3,66		
85,85			35,4	86,0	11,55	7,22	64,35	3,62		
									Mit 2% n-Na ₂ - CO ₃ versetzt	

Tabelle IV (Fortsetzung)

CO₂- und O₂-Bindung in Frauenblut vor und nach der Entbindung.

Nummer der Pat.	O ₂ -Kapazität	Spannung mm		Vol.-%		P _H berechnet	O ₂ -Sättigung %	log K	Bemerkungen	
		CO ₂	O ₂	CO ₂	O ₂					
116	17,0	85,7	42,6	56,5	11,2	7,06	65,8	3,79	} 4 Tage vor der Geburt	
		73,7	41,4	54,4	11,7	7,11	68,7	3,70		
		46,8	33,1	47,05	10,4	7,25	61,05	3,60		
		14,2	19,5	25,3	7,5	7,53	44,25	3,32		
		23,7	27,3	31,5	9,6	7,40	56,3	3,48		
	14,25	14,25	12,7	17,1	34,65	7,2	7,70	50,8	3,07	} 8 Tage nach der Geburt, stillt
			23,15	23,9	41,8	8,1	7,52	57,05	3,32	
			47,2	26,1	52,0	6,6	7,28	46,5	3,60	
			76,6	27,0	59,8	5,6	7,13	39,15	3,77	
			78,5	31,6	59,9	6,8	7,12	47,65	3,79	

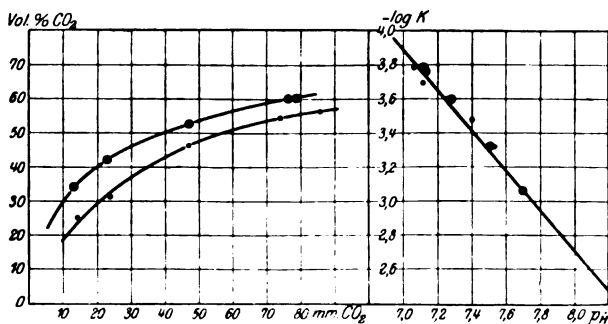


Fig. 7 a. Pt. Nr. 116.

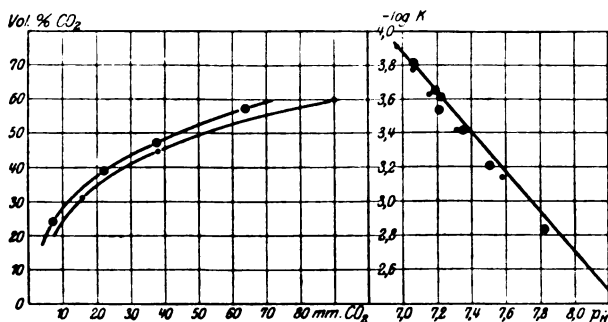


Fig. 7 b. Pt. Nr. 128.

Frauenblut vor ● und nach ⊙ der Geburt.

Links: CO₂-Bindung.

Rechts: O₂-Bindung.

(Gerade Linie: P-B-Kurve.)

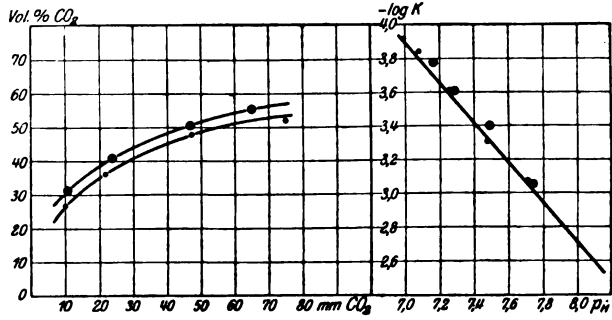


Fig. 7c. Pt. Nr. 115.

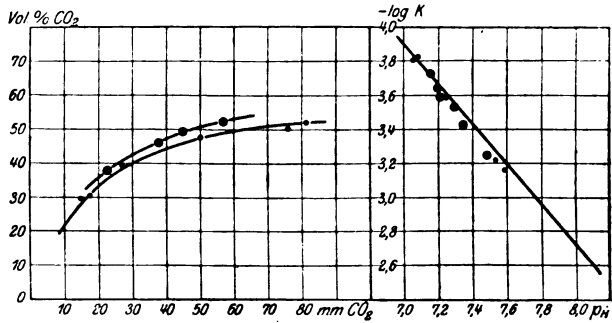


Fig. 7d. Pt. Nr. 100.

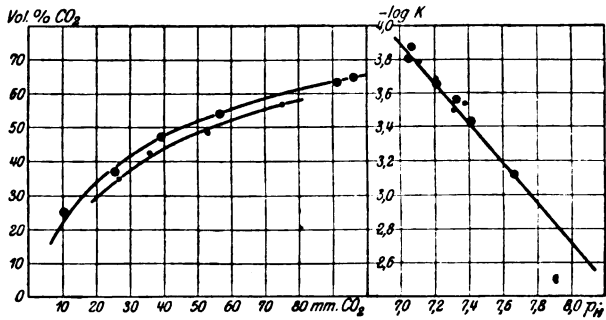


Fig. 7e. Pt. Nr. 75.

Frauenblut vor ● und nach ○ der Geburt.
 Links: CO₂-Bindung. Rechts: O₂-Bindung.
 (Gerade Linie: P-B-Kurve.)

stante K — wobei die Größe $\frac{1}{K}$ ansteigt oder die P-B-Kurve nach oben verschoben wird.

Das Ergebnis der Untersuchungen läßt sich am leichtesten an den Kurvenzeichnungen ablesen:

1. In allen Fällen war während der Schwangerschaft das CO_2 -Bindungsvermögen des Blutes deutlich erniedrigt.

Berechnet man aus dem CO_2 -Gehalt bei 40 mm CO_2 -Spannung den p_{H} des Blutes, p_{H} red., vor und nach der Entbindung, so ergibt sich:

	p _H red.	
	vor	nach
Nr. 75	7,30	7,33
„ 100	7,30	7,33
„ 115	7,30	7,34
„ 128	7,31	7,33
„ 116	7,29	7,34
Im Durchschnitt:	7,30	7,33

Bei den 9 von Gammeltoft und mir elektrometrisch untersuchten Fällen war der reduzierte p_{H} des Blutes vor der Geburt im Durchschnitt 0,05 kleiner als nach derselben. Hier ist der entsprechende Unterschied 0,03. Obschon die damaligen Bestimmungen mit einem systematischen Fehler behaftet waren, haben sie doch die Richtung und die ungefähre Größe des Unterschieds richtig angezeigt.

Es findet sich während der Schwangerschaft eine Erniedrigung des reduzierten p_{H} des Blutes um etwa 0,03.

2. Sowohl vor als nach der Entbindung besteht zwischen der Sauerstoffbindungskonstante K und der Wasserstoffzahl des Blutes, oder zwischen den Logarithmen dieser beiden Größen, die von Peters und Barcroft nachgewiesene einfache Abhängigkeit.

In der Figur ist in allen 5 Fällen die P-B-Kurve eingetragen worden, und ich wage nicht zu behaupten, daß in jedem Fall eine sichere Abweichung von dieser Kurve vorgefunden wird. Die Übereinstimmung betrifft auch die beiden

Fälle (Pat. Nr. 128), wo das Blut mit Essigsäure und mit Natriumkarbonat versetzt war. Das Vorhandensein von Acetationen oder eine übermäßige Konzentration von Karbonationen ist demnach an und für sich bedeutungslos, nur die resultierende H-Ionenkonzentration ist für die O_2 -Bindungskurve des Blutes maßgebend.

Die P-B-Kurve scheint demnach eine allgemeinere Geltung zu haben, als ursprünglich von mir vermutet, indem sie bei 7 verschiedenen Personen (Barcroft, mir, und 5 Frauen vor und nach der Entbindung) von den vorliegenden Beobachtungen fast genau gedeckt wird.

Eine entsprechende Untersuchung des Blutes von Haldane, Douglas und Higgins (bei kohlenhydratfreier Diät) wäre von dem größten Interesse. Über Erfahrungen aus der Pathologie ver füge ich vorläufig nicht.

Selbst in dem — nach meiner Ansicht unwahrscheinlichen — Falle, daß die P-B-Kurve bei Menschenblut eine allgemeine Geltung hat, ist natürlich die CO_2 -Bestimmung im Blute ein direkterer und deshalb vorzuziehender Weg zur Feststellung der Blutreaktion als die O_2 -Bestimmung. Und daß die von Haldane und Barcroft ausgebildete Methodik ebenso zuverlässige CO_2 -Bindungskurven als die hier benutzte liefern kann, das geht aus der ofterwähnten Arbeit von Christiansen, Douglas und Haldane sehr deutlich hervor.

Schließlich habe ich (Tab. V und Fig. 8) für Rinderblut, Schweineblut und Taubenblut die P-B-Kurven bestimmt. Dabei diene als Voraussetzung — ob mit Recht, muß dahingestellt bleiben — daß in der Hillschen Formel für die O_2 -Bindung des Blutes

$$\frac{y}{100} = \frac{K x^n}{1 + K x^n}.$$

der Exponent n (dessen wirkliche Bedeutung fraglich ist) dieselbe Größe hat, wie im Menschenblut, nämlich 2,5.

Wie aus der Figur (Fig. 8) ersichtlich, geht unter dieser Voraussetzung aus den Bestimmungen eine geradlinige P-B-Kurve hervor, deren Lage im Koordinatensystem

Tabelle V.

CO₂- und O₂-Bindung in Rinderblut, Schweineblut und Taubenblut.

	O ₂ -Kapazität	Spannung mm		Vol.-%		pH berechnet	O ₂ -Sättigung %	-log K	Bemerkungen
		CO ₂	O ₂	CO ₂	O ₂				
Rinderblut	21,1 (20,0)	9,8	26,0	31,1	17,8	7,78	84,5	2,80	Mit 5% n-Essigsäure versetzt.
		22,0	30,6	40,4	16,3	7,52	77,2	3,18	
		41,9	31,25	52,0	13,6	7,84	64,3	3,48	
		69,8	30,9	62,15	11,1	7,18	52,1	3,69	
		104,3	36,6	69,5	10,9	7,05	51,65	3,88	
		63,4	54,3	23,1	12,2	6,85	61,0	4,14	
Schweineblut	17,4	8,4	14,3	21,85	4,3	7,705	24,7	3,37	} Am folgenden Tage untersucht.
		15,7	21,1	28,6	6,8	7,54	39,05	3,51	
		30,4	27,8	36,8	8,5	7,34	48,9	3,63	
		53,1	28,1	46,3	6,1	7,19	35,2	3,88	
		76,1	38,9	51,8	8,75	7,08	50,3	3,97	
		11,4	20,2	22,7	7,4	7,59	42,3	3,40	
		30,8	27,2	36,4	7,6	7,33	43,5	3,70	
Taubenblut	23,7	5,8	27,4	21,0	15,8	7,85	66,5	3,30	O ₂ -Bestimmung verunglückt.
		18,3	29,7	35,0	12,6	7,54	53,2	3,63	
		38,5	30,5	45,3	8,8	7,32	37,3	3,94	
		75,0	37,2	56,2	?	7,12	?	?	

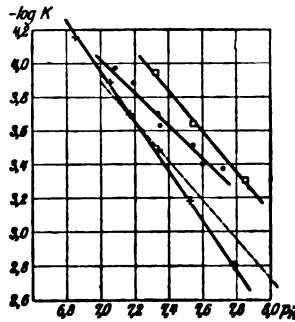


Fig. 8.

- p_H und O₂-Bindung.
- Schweineblut.
 - Ochsenblut.
 - Taubenblut.
 - P-B-Kurve für Menschenblut.

aber in allen Fällen von der der menschlichen Kurve merkbar differiert. Das Schweineblut und besonders das Taubenblut unterscheidet sich von dem Menschenblut durch eine bei physiologischer Blutreaktion bedeutend schlechtere O_2 -Bindung, bzw. leichtere O_2 -Abgabe¹⁾. Anders ausgedrückt: bei gegebener Blutreaktion liegt die O_2 -Bindungskurve beim Schwein und bei der Taube niedriger als beim Menschen. Umstehend habe ich bei $p_H = 7,30$ und 30 mm O_2 -Spannung die prozentische O_2 -Sättigung berechnet:

	— log K	% O_2 -Sättigung
Rind . . .	3,50	60,2
Mensch . .	3,53	58,9
Schwein . .	3,73	47,9
Taube . .	3,95	35,5

Direkt der Tab. V entnommen sind die folgenden drei Bestimmungen, wo die aktuelle Reaktion fast gleich ist und auch die O_2 -Spannungen nur wenig differieren:

	Spannung mm		p_H	% O_2 -Sättigung
	CO_2	O_2		
Rind	41,9	31,25	7,34	64,3
Schwein	30,4	27,8	7,34	48,9
Taube	38,5	30,5	7,32	37,3

Ein so durchgreifender Unterschied der Fähigkeit des Blutes, den Sauerstoff aufzunehmen und an die Gewebe abzugeben, ist natürlich von der allergrößten physiologischen Bedeutung. Doch bin ich mir bewußt, daß die wenigen hier vorliegenden Bestimmungen für diese Frage nicht entscheidend sind.

Bezüglich des Rinderblutes (Fig. 8) ist der im Vergleich mit Menschenblut etwas steilere Verlauf der P-B-Kurve auffallend. Wörtlich ausgedrückt bedeutet dieser Umstand, daß eine gegebene Verschiebung der Reaktion eine um so größere Änderung der prozentischen O_2 -Sättigung bewirkt, je steiler die

¹⁾ Die Versuchstemperatur war wie gewöhnlich 38° . Bei der höheren Bluttemperatur der Vögel wird der Unterschied noch schärfer hervortreten.

Kurve verläuft. Daß auch ein derartiger Unterschied — falls er reell ist — von physiologischer Bedeutung sein kann, ist augenfällig. Doch werden auch hier nur fortgesetzte Untersuchungen die Sachlage klären können.

Nur anhangsweise füge ich noch die Beobachtung hinzu, daß bei sehr saurer und bei sehr alkalischer Reaktion die P-B-Kurve nicht mehr geradlinig fortgesetzt wird, sondern λ -förmig umbiegt (8 Beobachtungen am Ochsenblut der Tabelle V), und zwar in der Weise, daß die Kurve an eine Dissoziationskurve einer schwachen Säure auffallend erinnert. Ob aber die Voraussetzung berechtigt ist, daß bei so extremen Reaktionen der Exponent n der Hillschen Formel unverändert bleibt, ist wohl fraglich. Ich unterlasse es deshalb, das betreffende Zahlenmaterial hier anzuführen.

Auch einige theoretische Erwägungen über die doppelte Rolle des Sauerstoffs, indem er teils mit dem Hämoglobin in Verbindung tritt, teils dadurch die Wasserstoffzahl des Blutes erhöht und somit gewissermaßen die Oxyhämoglobinbildung hintanhält, muß ich aus ähnlichen Gründen bis auf weiteres aufschieben.

Zusammenfassung.

I. Die Wasserstoffzahl des Blutes läßt sich noch genauer als auf elektrometrischem Wege gasanalytisch, aus den Mengen der freien und der gebundenen Kohlensäure berechnen. Sie beträgt normalerweise bei 40 mm CO_2 etwa $10^{-7.33}$.

II. Bei dieser Gelegenheit war die Kenntnis der Dissoziationskonstante der Kohlensäure bei 38° notwendig. In guter Übereinstimmung mit Jul. Thomsens thermochemischen Messungen wurde die Kohlensäure bei 38° bedeutend stärker dissoziiert als bei 18° befunden.

III. Die gebundene CO_2 -Menge des Blutes ist ausschließlich als Bikarbonat vorhanden. Bei fallender CO_2 -Spannung nimmt die gebundene CO_2 -Menge hauptsächlich deshalb ab, weil Oxyhämoglobin als eine bei alkalischer Reaktion immer stärker werdende Säure aufzufassen ist.

IV. Besonders das Oxyhämoglobin, in geringem Grade die übrigen Eiweißstoffe des Blutes, bedingen durch ihren Ampho-

lyten-Charakter die ungewöhnlich große Stabilität des Blutes gegen Verschiebungen der Wasserstoffzahl. Diese Stabilität betrifft sowohl Säurezusatz als Temperatureinflüsse und fällt physiologisch noch mehr ins Gewicht, weil während des Kreislaufs bei ansteigender CO_2 -Spannung die Säurewirkung des Oxyhämoglobins durch die teilweise Umbildung in reduziertes Hämoglobin zurücktritt.

V. Die von Peters und Barcroft in einem Falle nachgewiesene Abhängigkeit zwischen p_{H} und der Konstante K der Hillschen Formel für die Sauerstoffbindung des Blutes wurde an einem größeren menschlichen Material bestätigt. Im Blute von Rind, Schwein und Taube gestaltet sich diese Gesetzmäßigkeit anscheinend etwas abweichend.

Der reduzierte p_{H} — (p_{H} bei 40 mm CO_2 -Spannung) — im Blute Schwangerer ist um etwa 0,03 herabgesetzt.

Nachtrag zu der Abhandlung: „Über die Spezifität der Morphingewöhnung“, von Johannes Biberfeld, Band 77, Seite 283 bis 297.

Bedauerlicherweise ist der Hinweis unterblieben, daß Cloëtta (l. c. S. 473) bereits eine ähnliche Anschauung diskutiert hat, wie die, die mir als Arbeitshypothese diente.

Der Eiweißgehalt panachierter Blätter geprüft mittels des makroskopischen Verfahrens von Molisch.

Von
Georg Lakon.

(Aus dem Botanischen Institut der Kgl. Landwirtsch. Hochschule
in Höhenheim.)

(Eingegangen am 7. September 1916.)

Bei Studien, die ich in letzter Zeit an panachierten Pflanzen machte, erschien es mir erwünscht, den Eiweißgehalt der albikaten Teile zu prüfen. Die Natur meiner Beobachtungen machte es notwendig, daß diese Prüfung möglichst rasch und einfach auf makroskopischem Wege geschähe. Ich brachte daher das kürzlich von Molisch¹⁾ ausgearbeitete Verfahren zur Anwendung. Dieses Verfahren besteht im wesentlichen darin, daß die Objekte — ähnlich wie bei der Sachsschen Jodprobe — zunächst in siedendem Wasser abgebrüht und dann so lange mit warmem Alkohol behandelt werden, bis sie ganz weiß erscheinen. Nach solcher Vorbehandlung können die Objekte — in den meisten Fällen mit sehr gutem Erfolg — den besten Eiweißreaktionen (wie Xanthoproteinsäurereaktion, Biuretprobe, Millons Reagens) unterworfen werden. Das Molischsche Verfahren leistete mir bei der Untersuchung panachierter Blätter vorzügliche Dienste. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen dürften allgemeineres Interesse beanspruchen, weil sie erstens die Brauchbarkeit des Verfahrens an einem besonders günstigen, selbst zu Demonstrationszwecken in hohem Maße geeigneten Objekte beweisen und ferner eine Bestätigung der von Mo-

¹⁾ Die Eiweißproben, makroskopisch angewendet auf Pflanzen. (Zeitschr. f. Botan. 8, 124 bis 131, 1916.)

lisch¹⁾ auf Grund eines anderen Objektes gewonnenen Ansicht, daß „die Hauptmasse des Eiweißes der Blätter in den Chromatophoren steckt“, liefern.

Wird das rein weiß gerandete Blatt der panachierten Spielart von *Acer Negundo* L. der Molischschen Vorbehandlung unterworfen, so verliert es die Streifung, und die ganze Blattfläche erscheint gleichmäßig weiß. Die panachierten Flächen unterscheiden sich indessen jetzt von den grün gewordenen dadurch, daß sie — ähnlich wie die vergilbten Blätter von Molisch — glasig und durchscheinend sind, während die grünen Stellen milchig trüb, undurchsichtig erscheinen. Die in dieser Weise präparierten Blätter können nunmehr den Eiweißreaktionen unterworfen werden. Ich brachte genau nach den Angaben von Molisch die Xanthoproteinsäurereaktion, die Biuretprobe und das Millonsche Reagens zur Anwendung und konnte die Zweckmäßigkeit der angegebenen Einzeldaten in der Ausführung jener Reaktionen bestätigt finden. Alle drei Reaktionen ergaben bei den panachierten Blättern des eschenblättrigen Ahorns ausgezeichnete Resultate: die albikaten Teile zeigten eine äußerst schwache, die grün gewordenen Teile eine sehr intensive Eiweißreaktion. Der Kontrast ist hier so groß, daß man das Objekt zu Demonstrationszwecken auch aus größeren Entfernungen verwenden kann²⁾. Die Xanthoproteinsäurereaktion tritt am schnellsten ein mit intensiv kanariengelber Färbung. Die ganze Behandlung bis zur Erreichung der höchsten Intensität beansprucht hier nicht mehr als eine Stunde. Die Biuretreaktion nimmt dagegen mehrere Stunden in Anspruch, steht aber — was Intensität und Reinheit der Färbung anbelangt — der Xanthoproteinsäurereaktion keinesfalls nach. Die grünen Teile nehmen

¹⁾ A. a. O. S. 131.

²⁾ Noch größer als zwischen den grünen und den albikaten Stellen der panachierten Blätter ist die Differenz in der Intensität der Eiweißreaktionen zwischen rein grünen Blättern und albikaten Blatteilen; dies beruht auf dem Umstand, daß die grünen Teile der panachierten Blätter von *Acer Negundo* im Gegensatz zu den rein grünen Blättern eine chlorophyllfreie subepidermale Zellschicht besitzen und dementsprechend auch im ganzen ärmer an Chlorophyllkörnern sind als die letzteren. Näheres über die Verhältnisse der Panachierung bei *Acer Negundo* werde ich demnächst an anderer Stelle mitteilen.

hier eine intensive, schöne violette Färbung an. Fast ebenso schnell wie die Xanthoproteinsäurereaktion tritt die intensive ziegelrote Färbung bei Anwendung von Millons Reagens ein. Der positive Ausfall der Reaktionen mit scharfen Kontrasten zwischen grünen und albikaten Blatteilen zeigt, daß die ersteren sehr reich, die albikaten Teile aber sehr arm an Eiweiß sind.

Die mit den Blättern von *Acer Negundo* erhaltenen Resultate konnten auch bei der Untersuchung anderer panachierter Pflanzenarten bestätigt werden, doch war der Ausfall der Reaktionen nicht bei allen Arten von derselben Deutlichkeit, einige wenige Arten versagten sogar ganz. Bei den Arten mit gelblicher Panachierung waren im allgemeinen die Kontraste zwischen grünen und albikaten Teilen nicht so groß wie bei der rein weißen Panachierung, da hier auch die albikaten Regionen ziemlich intensive Eiweißreaktionen lieferten. Im folgenden sind die Resultate der Untersuchung einiger Arten näher angegeben.

Acer pseudoplatanus L. mit panachierten Blättern. Hier sind intensiv grüne, hellgrüne und ganz reinweiße Stellen zu unterscheiden. Da die hellgrünen Stellen vielfach den Übergang von den dunkelgrünen zu den reinweißen Stellen vermitteln, so kommen hier die Kontraste nicht immer zur vollen Geltung. Dies trifft insbesondere für die Biuret- und die Millonsche Probe zu, die an sich auch hier gute Reaktionen liefern. Durch die Xanthoproteinsäurereaktion werden dagegen alle drei Abstufungen vorzüglich wiedergegeben: die reinweißen Stellen bleiben fast vollkommen ungefärbt, die hellgrünen werden intensiv reingelb, die dunkelgrünen intensiv dunkelgelb von unreiner Farbe mit einem Stich ins Braune. Diese unreine Färbung der tiefgrünen Regionen beruht wohl darauf, daß diese Stellen auch nach der Entfärbung mit Alkohol unrein weiß bis grau bleiben, und zwar aus Gründen, die nicht näher untersucht wurden.

Abutilon vexillarium var. *marmoratum*. Die panachierten Stellen sind hier nicht ganz rein weiß, sondern mehr gelblich. Die Xanthoproteinsäurereaktion fällt hier weniger befriedigend aus, da hier auch die panachierten Stellen deutlich gelb, wenn auch weniger intensiv gefärbt werden. Die

Biurettreaktion gibt dagegen auch hier vorzügliche Resultate: die grünen Stellen nehmen eine intensive rein violette Färbung an, während die albikaten Regionen hell grünlich gelb gefärbt werden. Die ziegelrote Färbung durch das Millonsche Reagens fällt hier nur stellenweise sehr schön aus; im ganzen ist die Reaktion ungleichmäßig.

Aegopodium podagraria L. Das panachierte *Aegopodium* gibt ausgezeichnete Eiweißreaktionen, wenngleich die Blätter auch nach der Entfärbung durch Alkohol stellenweise dunkle Flecke aufweisen. Obwohl hier die albikaten Stellen nicht ganz weiß, sondern mehr gelblich sind, fallen die Kontraste bei allen drei Reaktionen vorzüglich aus. Zu Demonstrationszwecken eignen sich die unansehnlichen, etwas krausen und mit den erwähnten Flecken versehenen Blätter dieser Pflanze nicht so gut wie die des eschenblättrigen Ahorns.

Phalaris arundinacea L. Die albikaten Stellen sind hier infolge des Vorhandenseins violetten Farbstoffes meist nicht ganz rein weiß. Nach der Vorbehandlung mit kochendem Wasser und heißem Alkohol werden die Blätter nichtsdestoweniger schön rein weiß und liefern vorzügliche Eiweißreaktionen. Bei der Xanthoproteinsäure- und der Biurettreaktion sind die Färbungen zwar sehr rein und deutlich, aber ihre Intensität ist nur gering, so daß auch die Kontraste wenig scharf ausfallen. Bei der Millonschen Reaktion ist die ziegelrote Färbung sehr intensiv, und dementsprechend sind auch die Kontraste hier sehr scharf.

Sambucus nigra L. mit rein weißem Albinismus. Diese Pflanze gibt, anscheinend infolge des Vorhandenseins von Stoffen, die die Eiweißreaktion stören, unbefriedigende Resultate. Bei Anwendung der Xanthoproteinsäurereaktion werden zwar nur die grünen Teile gefärbt, doch ist die gelbe Farbe unrein. Bemerkenswert ist der Umstand, daß hier die Blätter bei der Übertragung in die Salpetersäurelösung zuerst eine zart rosa Färbung annehmen. Auf diese Erscheinung werden wir später zurückkommen. Die Biurettprobe fällt undeutlich aus und liefert unreine Färbungen. Einigermaßen gute Ergebnisse werden mit dem Millonschen Reagens erzielt, doch sind auch hier die Kontraste wenig scharf.

Vinca major L. Die albikaten Stellen der panachierten

Vinca sind von gelber Farbe. Alle drei Reaktionen gelingen gut, doch sind die Kontraste gering, da hier nicht nur die grünen, sondern auch die albikaten Regionen ziemlich intensiv gefärbt werden.

Tradescantia zebrina. Die Blätter sind glatt und weisen albikate Streifen auf von weißer Farbe, untermischt mit violett. Die grünen Stellen haben hellgrüne Farbe und sind ungefähr ebenso durchscheinend wie die albikaten. Die Xanthoproteinsäurereaktion und die Biuretprobe treten zwar deutlich ein, erreichen aber eine nur geringe Intensität. Das Millonsche Reagens liefert dagegen schärfere Kontraste.

Tradescantia cumanaensis Knuth. Die rauhaarigen Blätter zeigen albikate Streifen von ziemlich rein weißer Farbe; die grünen Stellen sind hellgrün und durchscheinend. Hier gelingt nur die Xanthoproteinsäurereaktion einigermaßen gut, während die anderen beiden Reaktionen äußerst schwach und undeutlich eintreten.

Evonymus radicans. Die albikaten Stellen haben hier eine unreine weiße Farbe. Keine einzige von den drei Eiweißreaktionen liefert an diesem Objekte positive Resultate. Bei Anwendung der verschiedenen Reagenzien treten Färbungen ein, die mit den Eiweißreaktionen nichts zu tun haben und auf das Vorhandensein störender Fremdstoffe hinweisen. So wurden z. B. die Blätter in Salpetersäure zunächst gleichmäßig lachsrot. Mit Millons Reagens treten Schwärzungen auf.

Überblicken wir die oben geschilderten, bei Anwendung des Molischschen Verfahrens gewonnenen Resultate, so sehen wir, daß die panachierten Blätter einiger Pflanzen, vor allem die von *Acer Negundo*, ein außerordentlich günstiges Objekt zur makroskopischen Demonstration der Eiweißreaktionen abgeben, da hier eiweißarme mit eiweißreichen Stellen an ein und demselben Blatte vereinigt sind. Von den Arten, die — infolge des Fehlens fremder, die Reaktion störender Stoffe — reine Eiweißreaktionen abgeben, liefern im allgemeinen nur diejenigen scharfe Kontraste zwischen den eiweißreicheren grünen und den eiweißärmeren albikaten Stellen, die folgende Bedingungen erfüllen:

1. Rein weiße, zum mindesten nicht mit Gelb untermischte Farbe der albikaten Teile;

2. Intensiv grüne Farbe der grünen Teile;
3. Plötzlicher Übergang von den grünen in die albikaten Teile ohne vermittelnde Abstufungen.

Um die Bedeutung dieser Regeln richtig würdigen zu können, müssen wir die Gehaltsverhältnisse panachierter Blätter an Chromatophoren berücksichtigen. Der Gehalt der albikaten Teile an Chromatophoren ist bekanntlich bei den verschiedenen Pflanzenarten verschieden. Nach Pantanelli¹⁾ kann man hierüber im allgemeinen folgende Regeln aufstellen;

1. In makroskopisch rein weißen Teilen fehlen überhaupt Chromatophoren;
2. In gelben Teilen gibt es Chromatophoren in sämtlichen Zellen oder wenigstens im Schwammparenchym.

Im zweiten Falle sind also chlorophyllfreie Chloroplasten vorhanden. Die verschiedenen Übergänge vom hellsten bis zum intensivsten Gelb entsprechen der geringeren oder vermehrten Anzahl der chlorophyllfreien Chloroplasten im Mesophyll. In den Zellen der rein weißen Blatteile, die überhaupt keinen Chlorophyllapparat enthalten, kommen die Chloroplasten entweder von vornherein gar nicht zur Ausbildung, oder sie werden im Laufe der Blattentwicklung aufgelöst²⁾. Vergleichen wir dieses Verhältnis zwischen Farbe und Anzahl der vorhandenen nicht grünen Chromatophoren (bzw. der völligen Abwesenheit von solchen) mit dem Verhältnis zwischen der Farbe der albikaten Teile und dem Gelingen der Eiweißreaktionen, so gelangen wir zu dem Resultat, daß der positive Ausfall der Reaktionen an dem Vorhandensein von Chromatophoren gebunden ist. Die Intensität der durch die Eiweißreaktionen erzielten Färbungen hängt von der Dichtigkeit der Chromatophoren ab; beim vollständigen Fehlen von Chromatophoren nehmen die albikaten Teile nur äußerst schwache Färbungen an. Wir gelangen somit zu demselben Schluß, zu dem Molisch auf Grund seiner Untersuchungen mit vergilbten Blättern gekommen ist, daß nämlich

¹⁾ Über Albinismus im Pflanzenreich. Zeitschr. f. Pflanzenkr. 15, 1 bis 21, 1905). S. 5.

²⁾ Vgl. Sorauer, Handbuch der Pflanzenkrankheiten. 3. Aufl. 1, 671 ff.

die Hauptmasse des Eiweißes der Blätter in den Chromatophoren steckt.

Die mikroskopische Nachprüfung konnte in allen Fällen den Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein von Chromatophoren und der Intensität der Eiweißreaktionen bestätigen. Auch der scheinbare Widerspruch bei *Aegopodium podagraria*, dessen Blätter trotz der gelblichen Färbung ihrer albikaten Teile bei den Eiweißreaktionen die schärfsten Kontraste liefern (s. o.), tut diesem Zusammenhang keinen Abbruch, da diese Pflanze eine Ausnahme von der Regel, daß beim gelben Albinismus Chromatophoren vorhanden sind, bildet. Die Ausnahmestellung dieser Pflanze, die in ihren gelblichen albikaten Teilen keine Chromatophoren enthält, wird von Pantanelli¹⁾ ausdrücklich hervorgehoben und konnte auch von mir bestätigt werden. Das abweichende Verhalten dieses Objektes liefert somit geradezu eine Bestätigung, daß das Gelingen der Eiweißreaktionen an dem Vorhandensein von Chromatophoren gebunden ist.

Die chromatophorenenfreien, ganz weißen albikaten Teile geben, wie schon erwähnt, nur äußerst schwache, vielfach kaum wahrnehmbare Eiweißreaktionen. Diese schwachen Färbungen sind auf den plasmatischen Inhalt der lebenden Zellen zurückzuführen. Meist besitzen aber die albikaten Blatteile im Vergleich zu den grünen eine nur geringe Dicke infolge Reduktion der Größe der chlorophyllfreien Mesophyllzellen. Die Intensität der Färbungen bei den Eiweißreaktionen würde daher bei den grünen Teilen auch ohne die Chromatophoren intensiver ausfallen als bei den albikaten Regionen. Daß aber diese Differenz in der Intensität der Reaktionen zwischen grünen und albikaten Teilen ganz gering ist und gegenüber der großen Intensität der Färbung infolge des Vorhandenseins von Chromatophoren ganz in den Hintergrund tritt, kann in mannigfacher Weise gezeigt werden. So können wir, selbst wenn wir den Unterschied in der Blattdicke durch Aufeinanderlegen von albikaten Blatteilen reichlich auszugleichen versuchen, nicht entfernt die Intensität der Färbung der grünen Teile erreichen. Andererseits kann der Kontrast in der Färbung

¹⁾ A. a. O. S. 5.

zwischen albikaten und grünen Teilen auch bei solchen Pflanzen hohe Werte erreichen, bei denen — wie z. B. bei *Phalaris arundinacea* — kein Unterschied in der Blattdicke sich bemerkbar macht. Wir sehen also, daß für die Intensität der Reaktion in erster Linie das Vorhandensein von Chloroplasten maßgebend ist. Wie schon Molisch¹⁾ hervorgehoben hat, ist die Intensität der Färbungen in chromatophorenreichen Pflanzenteilen so groß, daß hierbei der Grad des Reichtums der Zellen an sonstigem Eiweiß gar nicht angezeigt werden kann. Daß dickere Blätter mit mehreren Reihen chromatophorenreicher Zellen intensivere Färbungen liefern als dünnere, ist selbstverständlich.

Zum Schluß sei noch eine Erscheinung kurz berührt, die nicht selten bei der Ausführung der Xanthoproteinsäurereaktion und zwar bei der Übertragung der Blätter in die Salpetersäure auftritt. Manche Blätter werden nämlich hierbei zunächst mehr oder weniger deutlich rot (bzw. rosa) gefärbt. Dies ist z. B. von den oben angeführten Arten bei *Sambucus nigra* der Fall. Diese Rotfärbung beruht in vielen Fällen, so bei *Sambucus*, auf dem Vorhandensein von Anthocyanfarbstoffen. Werden anthocyanhaltige Blumenblätter mit kochendem Wasser und heißem Alkohol behandelt, so werden sie entfärbt. Der Auszug, in dem das Anthocyan enthalten ist, ist farblos, weil bekanntlich²⁾ das Anthocyan in verdünnten Lösungen in eine farblose isomere Verbindung übergeht. Diese farblosen anthocyanhaltigen Lösungen werden durch Säurezusatz intensiv rot gefärbt und geben dann die bekannten Reaktionen. Die erwähnte Isomerisation des Anthocyans in Lösungen tritt nun offenbar auch im Zellsaft, innerhalb der Zellen der mit siedendem Wasser und heißem Alkohol ausgezogenen Blumenblätter ein. Die Zellen enthalten nunmehr eine verdünnte Anthocyanlösung und erscheinen daher farblos. Dies ist aus dem Umstand zu schließen, daß die nach der Behandlung farblosen oder nur ganz zart rosa erscheinenden Petalen durch Eintauchen in Säuren intensiv rot werden. Ich habe den Versuch mit den Petalen von zahlreichen Pflanzenarten gemacht, wie Rosen,

¹⁾ A. a. O. S. 131.

²⁾ Vgl. Willstätter, Über Pflanzenfarbstoffe. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Nr. 15, 1914, 2867.

Geranien usw., stets mit dem gleichen Erfolg. Sehr instruktiv ist der Versuch, wenn man weiße und rote Blüten derselben Pflanzenart der Behandlung unterwirft. Sehr schöne Resultate erhielt ich z. B. mit den Blüten der wohlriechenden Wicke (*Lathyrus odoratus*). Weiße und rote Blüten werden so lange mit kochendem Wasser und heißem Alkohol behandelt, bis die roten Blüten vollkommen weiß werden und von den weißen nicht zu unterscheiden sind; nach dem Eintauchen in die Säurelösung werden die ursprünglich rot gewesenen Blüten wieder intensiv rot, im Gegensatz zu den weißen, die auch jetzt weiß bleiben. Ähnliche Resultate erhielt ich auch mit anthocyanhaltigen Blättern, und zwar:

1. Mit den roten Blättern der Blutbuche, des Bluthorns und der Bluthasel;

2. Mit den jugendlichen, noch roten Blättern verschiedener Bäume und Sträucher, insbesondere mit solchen von den Johannistrieben der Eiche, des Ahorns usw.

3. Mit den rot verfärbten, absterbenden Blättern zahlreicher Gewächse.

Alle diese Blätter wurden nach der Entfärbung mittels kochenden Wassers und heißen Alkohols bei der Übertragung in Säurelösungen intensiv rot gefärbt.

Bei dem oben erwähnten Falle der panachierten Blätter, die bei der Übertragung in die Säure rot werden, handelt es sich offenbar ebenfalls um anthocyanhaltige Objekte, die aber wegen des geringen Inhalts an Anthocyanin äußerlich als solche nicht kenntlich sind. Aus den Blättern der panachierten *Sambucus nigra* konnte ich nun tatsächlich einen grünlichen wäßrigen Auszug gewinnen, der bei Säurezusatz rötlich, bei nachträglichem Alkalizusatz grünlich bis gelblich wurde. Ein Auszug aus den Blättern von *Evonymus radicans* — die, wie schon oben erwähnt, bei der Übertragung in die Salpetersäure eine lachsrote Färbung annehmen — lieferte dagegen keine befriedigenden Resultate, wiewohl auch hier schwache Farbumschläge bei Säure- oder Alkalizusatz unverkennbar waren. Ich vermute, daß auch die lachsrote Färbung, die nach Molisch¹⁾ vergilbte Blätter bei der Übertragung in die

¹⁾ A. a. O. S. 125 Anm. 1.

Salpetersäure vielfach annehmen, ebenfalls auf dem Vorhandensein gewisser Mengen von Anthocyaninfarbstoffen beruht. Da in den Blättern bei der herbstlichen Verfärbung vielfach Anthocyan auftritt, so ist die Annahme nicht unwahrscheinlich, daß auch bei herbstlich vergilbten Blättern, bei denen keine rote Färbung sichtbar ist, Anthocyaninfarbstoffe in geringen Mengen vorhanden sind, die erst durch den Säurezusatz zum Vorschein kommen. In einigen Fällen gelang es mir tatsächlich, aus absterbenden, vergilbten Blättern einen Auszug zu gewinnen, der bei Säure- und Alkalizusatz schwache Farbumschläge ergab.

Die Ergebnisse der obigen Untersuchungen lassen sich in folgenden Sätzen kurz zusammenfassen:

1. Die panachierten Blätter vieler Pflanzenarten, insbesondere die von *Acer Negundo*, stellen ein vorzügliches Material zur makroskopischen Demonstration der Eiweißreaktionen nach dem Molischschen Verfahren dar.

2. Die gewonnenen Bilder sind hierbei sehr kontrastreich, da die eiweißreichen grünen Stellen sehr intensiv, die eiweißarmen albikaten Stellen dagegen nur äußerst schwach gefärbt werden.

3. Der Eiweißreichtum der grünen (bzw. die Eiweißarmut der albikaten) Stellen steht mit dem Vorhandensein (bzw. Fehlen) von Chromatophoren in Zusammenhang.

4. Eine Ausnahme von der unter 2 aufgestellten Regel bilden im allgemeinen die gelben Panachierungen, da hier — im Gegensatz zu den rein weißen Panachierungen — auch die albikaten Stellen Chromatophoren enthalten und demnach eiweißreich sind.

5. Die Untersuchungen bestätigen die Ansicht Molischs, daß die Hauptmasse des Eiweißes der Blätter in den Chromatophoren steckt.

5. Blätter, die Anthocyan enthalten, nehmen bei der Xanthoproteinsäurereaktion, bei der Übertragung in die Salpetersäurelösung zunächst eine rötliche Färbung an, weil sie — trotz der Entfärbung — noch Anthocyanin enthalten und zwar in der farblosen isomeren Form, wie sie für Lösungen bekannt ist.

Ein Beitrag zur Chemie der Tuberkelbacillenfette.

Von
Max Bürger.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut der Universität Straßburg.)

(Eingegangen am 19. September 1916.)

Die Fette und Lipide der Tuberkelbacillen waren schon verschiedene Male Gegenstand der chemischen Untersuchung. Ihre genaue Kenntnis hat in mehrfacher Hinsicht Interesse; werden doch die eigenartige Reaktion der Gewebe auf Tuberkelbacilleninfektion, die Säurefestigkeit der Kochschen Bacillen, ihre geringe antigene Wirksamkeit, ihre große Resistenz gegen Desinfektionsmittel in Beziehung gebracht zu dem bemerkenswert hohen Gehalt dieser Bacillen an Fetten und fettähnlichen Substanzen. Neuerdings lieferten die Tuberkelbacillenfette auch Material für Untersuchungen von allgemeinbiologischem Interesse. Much¹⁾ und seine Mitarbeiter versuchten die antigenen Eigenschaften der Tuberkelbacillenfette darzutun (Partialantigene) und weiterhin an ihnen überhaupt etwas über den Fettstoffwechsel der Zelle²⁾ zu erfahren.

Soweit die vorliegenden Untersuchungen ein Urteil gestatten, setzt sich das Fett der Tuberkelbacillen aus nachstehenden Stoffen zusammen:

1. Aus größeren Mengen höherer Fettsäuren, meist nur durch ihren Schmelzpunkt charakterisiert, und zwar:

Laurinsäure, $C_{12}H_{24}O_2$ [de Schweinitz und Dorset³⁾, Bulloch und Macleod⁴⁾],

¹⁾ Much und Leschke, Beiträge z. Klin. der Tub. 20, Heft 3, 1911.

²⁾ Much und W. Müller, Deutsche med. Wochenschr. 1915, 970.

³⁾ de Schweinitz und Dorset, Centralbl. f. Bakt. 19, 704, 1896.

⁴⁾ Bulloch und Macleod, Journ. of Hyg. 4, 1, 1904.

Myristinsäure, $C_{14}H_{28}O_2$ [Bulloch und Macleod¹⁾],
 Isocetinsäure, $C_{15}H_{30}O_2$ [Bulloch und Macleod¹⁾],
 Palmitinsäure, $C_{16}H_{32}O_2$ [Hammerschlag und Nencki²⁾,
 de Schweinitz und Dorset³⁾],
 Ölsäure, $C_{18}H_{34}O_2$ [Bulloch und Macleod¹⁾].

Ein großer Teil wurde stets in freiem Zustande gefunden. Ob sie auch als echte Fette, an Glycerin gebunden, vorliegen, ist nicht sicher. Zwar haben Bulloch und Macleod¹⁾ sowie Ruppel⁴⁾ durch die Acroleinreaktion Glycerin nachgewiesen, wie jedoch Arthur Meyer⁵⁾ mit Recht hervorhebt, ist der Nachweis bei dem Umstand, daß die Bacillen auf glycerinhaltigen Nährböden gezüchtet wurden, nicht schlagend. Meyer⁶⁾ weist darauf hin, daß das Glycerin überhaupt bei dem Aufbau der Bakterienfette nicht oder nur in ganz verschwindendem Maße beteiligt ist. Auch der hohe Gehalt an freien Fettsäuren scheint ihm ein spezifisches Charakteristikum der Bakterienfette zu sein.

2. Eine sehr geringe Menge eines von Hammerschlag⁶⁾ und anderen als „Lecithin“ bezeichneten phosphorhaltigen Körpers, den S. Tamura⁷⁾ nach seinem Phosphor- und Stickstoffgehalt als ein Diaminomonophosphatid bestimmte.

3. Reichliche Mengen von hochmolekularen Alkoholen und deren schwer verseifbaren Estern. Ihnen verdankt das Fettgemenge seine wachsartige Beschaffenheit [Aronson⁸⁾], seine Säurefestigkeit und spezifische Färbbarkeit [Klebs⁹⁾].

Kozniewski¹⁰⁾ erhielt durch Extraktion mit heißem Aceton eine in der Kälte ausfallende wachsartige Substanz von der Zusammensetzung $C_{24}H_{48}O_2$, die der Laurinsäureester eines Dodecylalkohols sein könnte. Tamura⁷⁾ konnte aus Tuberkel-

¹⁾ Bulloch und Macleod, Journ. of Hyg. 4, 1, 1904.

²⁾ Hammerschlag, Centralbl. f. inn. Med. 12, 9, 1891.

³⁾ de Schweinitz und Dorset, Centralbl. f. Bakt. 19, 707, 1896.

⁴⁾ Ruppel, Zeitschr. f. physiol. Chem. 26, 218, 1898.

⁵⁾ A. Meyer, Die Zelle der Bakterien. 1912.

⁶⁾ Hammerschlag, l. c.

⁷⁾ S. Tamura, Zeitschr. f. phys. Chem. 87, 84, 1913.

⁸⁾ Aronson, Berl. klin. Wochenschr. 1898, 484.

⁹⁾ Klebs, Centralbl. f. Bakt. 20, 484, 1896.

¹⁰⁾ Kozniewski, Anzeiger d. Akad. d. Wiss. in Krakau, Math.-naturwiss. Kl., 1912, 942.

bacillen nach eingreifender Hydrolyse — Verreiben mit einer Mischung von 2 Teilen konzentrierter Schwefelsäure mit 1 Teil Wasser, Verdünnen mit Wasser und 14stündigem Erhitzen des ausfallenden Niederschlags mit 25%iger Schwefelsäure — nach Extraktion mit Äther einen gut charakterisierten ungesättigten, bei 66° schmelzenden Alkohol, das „Mykol“ $C_{34}H_{56}O$, darstellen, das noch die Säurefestigkeit und spezifische Färbbarkeit aufwies. Dieser Alkohol war in der nicht hydrolysierten Substanz wenigstens zum Teil in Esterform vorhanden, da er auch aus dem Ätherextrakt durch Verseifung mit alkoholischer Kalilauge dargestellt werden konnte. Tamura¹⁾ bemerkt, daß noch andere ähnliche Ester vorhanden sein dürften.

4. Auch auf Kohlenwasserstoffe gibt Tamura¹⁾ an, gestoßen zu sein.

5. Die Anwesenheit einer die Salkowskische Cholesterinreaktion darbietenden Substanz wird mehrfach angegeben [Kreshing²⁾, Baudran³⁾]. Andrerorts ist die Liebermannsche Reaktion vermißt worden [Aronson⁴⁾]. In Krystallen isoliert wurde Cholesterin nicht erhalten. Panzer⁵⁾ fand mit Hilfe der Digitoninmethode kein Cholesterin, wohl aber sehr geringe Mengen eines anderen Körpers, der sich mit Digitonin verbindet. Jedenfalls ist nach seiner Angabe der Gehalt an Cholesterin bzw. an den Sterinen angehörigen Stoffen minimal. Den Ätherfraktionen haften meist Riech- und Farbstoffe in geringer Mege an. Regelmäßig wird ein angenehmer aromatischer, bienenwachs-, nach anderen hyazinthenähnlicher Duft beobachtet. Der riechende Körper ist noch nicht ermittelt, seiner Flüchtigkeit nach kann er nicht als Fett oder Wachs aufgefaßt werden.

Eigene Untersuchung.

Mein Ausgangsmaterial⁶⁾ bestand in 240 g wasserfreier Tuberkelbacillen vom Typus humanus. Die Bacillen waren

¹⁾ S. Tamura, Zeitschr. f. phys. Chem. 87, 84, 1913.

²⁾ Kreshing, Centralbl. f. Bakt. 30, 897, 1901.

³⁾ Baudran, Compt. rend. de l'Acad. des sciences 142, 657, 1906.

⁴⁾ Aronson, Berl. klin. Wochenschr. 1898, 484.

⁵⁾ Panzer, Zeitschr. f. phys. Chem. 78, 414, 1912.

⁶⁾ Das Material wurde mir durch Vermittelung von Herrn Prof. Möllers vom Institut Robert Koch geliefert. Die Untersuchung wurde mit den Mitteln der Robert-Koch-Stiftung durchgeführt.

sämtlich auf eiweißfreien Nährböden (Proskauer-Nährböden) gezüchtet und durch Trocknen im Exsiccator über Schwefelsäure abgetötet. Zur Orientierung wurden zunächst gleiche Mengen (0,25 g) dieses Materials mit je 50 ccm verschiedener Extraktionsmittel 48 Stunden lang geschüttelt. Nach Filtration durch Berkefeldkerzen, Verdampfen des Extraktionsmittels, Trocknung des Rückstandes bis zur Gewichtskonstanz wurden folgende Mengen gewogen:

Rückstand aus Aceton	0,0090 g = 3,60 ⁰ / ₁₀
" " Alkohol abs.	0,0125 g = 5,00 ⁰ / ₁₀
" " Äther	0,0151 g = 6,04 ⁰ / ₁₀
" " Methylalkohol	0,0220 g = 8,80 ⁰ / ₁₀
" " Chloroform	0,0230 g = 9,80 ⁰ / ₁₀

Die Bakterien werden sodann in Einliterflaschen (je 50 g auf 1000 ccm Extraktionsmittel) extrahiert, die Extraktion 8 Tage lang unter mehrfachem Wechsel jedes Extraktionsmittels fortgesetzt. Täglich wurde mehrere Stunden auf der Maschine geschüttelt. Die Extrakte wurden durch Berkefeldfilter abfiltriert und im Vakuum bei niedrigerer Temperatur eingengt.

Das Acetonextrakt.

Die zuerst vorgenommene Acetonextraktion liefert ein Extrakt von 5,50 g aus 238 g getrockneten Bacillen. Dieses Extrakt ist schwarzbraun gefärbt, hat einen angenehmen aromatischen Geruch (Bienenwachsgeruch der Autoren) und schmierige Konsistenz. Es enthält Stickstoff und Phosphor, gibt die Fichtenspanreaktion und reagiert gegen Lackmus deutlich sauer. Das Acetonextrakt läßt sich in eine ätherunlösliche und eine ätherlösliche Fraktion trennen. Das Ätherunlösliche ist auch in kaltem Alkohol, Benzol und Aceton unlöslich, löslich dagegen in heißem Alkohol und heißem Aceton, aus dem es beim Erkalten nur schwer ausfällt. Die Substanz enthält viel Sauerstoff, keinen Phosphor. Ihre warme alkoholische Lösung gibt mit Chlorcadmium keine Fällung. Die Substanz ist mit alkoholischer Kalilauge leicht verseifbar, die wäßrige Seifenlösung ist klar, trübt sich beim Ansäuern mit Salzsäure. Die Trübung verschwindet nach Ausschütteln mit Äther.

Die zweite Fraktion des Acetonextraktes wird in Äther gelöst, der Äther mit Wasser gewaschen. Das Waschwasser enthält neben anorganischen Salzen (Sulfaten) eine stark aromatisch riechende Substanz. Nach Entfernung dieser Substanz wird der Äther von neuem mit schwach alkalischem Wasser (Na_2CO_3) ausgeschüttelt und dies so lange fortgesetzt, bis das Wasser nach Ansäuern mit Salzsäure sich nicht mehr trübt. Aus der gesammelten wäßrigen Seifenlösung werden nach Ansäuern durch Ausäthern im ganzen 0,9 g Fettsäuren gewonnen. Diese krystallisieren in feinen geschwungenen Nadeln und zeigen nach mehrfachem Umkrystallisieren einen Schmelzpunkt von 40° . Nach dem Verseifen des Ätherlöslichen bleibt im Äther ein Rückstand, der noch stark verunreinigt ist durch aromatisch riechende Stoffe und stickstoffhaltige Produkte. Diese lassen sich zum großen Teil in niedrig siedendem Petroläther lösen. Es bleibt ein in Petroläther unlöslicher, glasharter brauner Rückstand, der nicht weiter untersucht wird. Mit ihm identisch ist vielleicht ein phosphorhaltiger Körper, der sich aus der ätherlöslichen Fraktion des Acetonextrakts nach Entfernung der Seifen und Fettsäuren durch Alkohol ausfällen läßt.

Der Riechstoff der Tuberkelbacillen.

Der aromatisch riechende Körper, der fast alle Fraktionen des Acetonextrakts begleitet, zeigt folgende Eigenschaften: Er läßt sich aus einer ätherischen Lösung mit Wasser ausschütteln; wird das Wasser bei niederer Temperatur vorsichtig entfernt, so bleibt eine ölige Emulsion zurück. Unterschichtet man eine Ätherlösung dieser Substanz mit einer stark verdünnten wäßrigen Eisenchloridlösung, so tritt eine schöne Weinrotfärbung ein, und man sieht, wie der Körper in das Wasser übergeht. Bei Gegenwart von Alkali und Sauerstoff, namentlich beim Schütteln, färbt sich die Substanz tintenschwarz; sie läßt sich durch die Eisenchloridprobe und den charakteristischen Honiggeruch leicht und sicher in verschiedenen Fraktionen nachweisen. Der Körper zeigt außer der weinroten Färbung mit verdünntem Eisenchlorid, die beim Ansäuern und beim Alkalisieren der Probe verschwindet, folgende Reaktionen: Ammoniakalische Silbernitratlösung wird reduziert; eine mit schwefeliger Säure entfärbte Fuchsinlösung wird nach Zusatz des

Körpers blaßrosa. Phenylhydrazin in Eisessig wird ölig getrübt und deutlich gelb gefärbt. Nach dem reaktionellen Verhalten handelt es sich um einen Aldehyd. Der aromatische Geruch und der Ausfall der Eisenchloridprobe (die Farbennuance derselben) gleichen am meisten dem des Salicylaldehyds. Der den Tuberkelbacillen eigentümliche, bienenwachsartige Geruch ist wahrscheinlich auf die Anwesenheit dieses Körpers zurückzuführen. Vielleicht ist in ihm auch die Ursache des Braunwerdens alter Tuberkelbacillenkulturen zu suchen.

Das Petrolätherextrakt.

Das auf gleiche Weise wie das Acetonextrakt hergestellte Petrolätherextrakt (8tägige Extraktion bei täglich 4stündigem Schütteln mit im ganzen 4 Litern bei 47° siedenden Petroläthers) hat nach Filtration durch eine Berkefeldkerze eine leicht gelbe, ins Grüne spielende Farbe. Die Ausbeute beträgt 3,20 g Substanz, die nach dem Einengen des Petrolätherextrakts im Vakuum krystallinisch ausfällt. Es lassen sich mit heißem Alkohol zwei Fraktionen gewinnen: Eine im heißen Alkohol unlösliche, die etwa $\frac{3}{4}$ der ganzen Petrolätherausbeute ausmacht. Sie sondert sich in klaren öligen Tropfen vom siedenden Alkohol und wird von diesem durch Decantieren getrennt. Das Öl erstarrt beim Erkalten zu einer festen paraffinähnlichen, leicht gelb gefärbten Masse, die durch gründliches Waschen mit siedendem Alkohol schließlich rein weiß gewonnen wird. Der Körper krystallisiert aus Äther-Alkohol in unregelmäßig zackig begrenzten doppelbrechenden Blättchen. Er ist nicht verseifbar. Nach mehrfachem Umkrystallisieren aus Äther-Alkohol bleibt der Schmelzpunkt konstant bei 37°.

Der Körper enthält keinen Stickstoff und keinen Phosphor. Die ätherische Lösung entfärbt langsam zugesetzte Lösung von Brom in Eisessig.

Die Verbrennung ergibt:

4,165 mg : 12,365 mg CO₂; 4,96 mg H₂O — 80,97% C, 13,33% H,
 4,099 " : 12,210 " CO₂; 4,895 " H₂O — 81,24% C, 13,36% H,
 berechnet für C₁₉H₂₆O : 81,35% C, 12,94% H.

Der in heißem Alkohol lösliche Anteil des Petrolätherextrakts fällt beim Erkalten in weißen Flocken wieder aus.

Diese Substanz ist in Chloroform leicht löslich und kann aus Chloroform durch Alkohol gefällt und so gereinigt werden. Sie krystallisiert aus Äther-Alkohol in kurzen doppelbrechenden Nadeln, ist nicht verseifbar. Sie wird bei 50° glasig und schmilzt bei 51°. Auch diese Substanz ist stickstoff- und phosphorfrei und nimmt Brom auf. Sie löst sich nicht in kaltem, wohl aber leicht in kochendem Essigsäureanhydrid. Beim Erkalten scheidet sich ein gelatinöser flockiger Niederschlag aus.

Die Verbrennung ergibt:

4,247 mg : 12,475 mg CO₂; 4,95 mg H₂O — 80,09% C, 13,04% H,
 4,981 " : 14,634 " CO₂; 5,59 " H₂O — 80,13% C, 12,55% H,
 berechnet für C₁₅H₂₈O: 80,27% C, 12,59% H.

Das Material wird nach Erschöpfung durch Petroläther in gleicher Weise unter täglich mehrstündigem Schütteln mit Äther behandelt. Auf diese Weise werden noch 0,6 g einer braun-gefärbten aromatisch riechenden Masse gewonnen, die bei 37° schmilzt. Sie enthält Phosphor und entwickelt beim Verbrennen einen stechenden Geruch. Versuche, durch Fraktionieren zu reinen Substanzen zu kommen, schlugen fehl.

Das Alkoholextrakt.

Nachdem sich gezeigt hatte, daß kalter Alkohol aus dem mit Aceton und Äther erschöpften Material nur noch Spuren fettartiger Körper extrahiert, werden die Bacillen 8 Tage lang unter täglichem Wechsel 6 Stunden lang mit siedendem Alkohol behandelt. Auch dann noch fallen beim Erkalten des stets erneuten Alkohols weiße flockige Massen aus. Durch eine weitere Extraktion mit einem Gemisch von 750 ccm Alkohol mit 250 ccm Chloroform wird keine wesentlich bessere Extraktion erreicht. Es wird daher der Versuch gemacht, das Material durch Behandeln mit Kalilauge aufzuschließen. Zu diesem Zwecke wird die Bacillenmasse nach Extraktion mit Wasser bei 100° 72 Stunden mit 4%iger alkoholischer Kalilauge digeriert; die Lauge wird abgenutscht und der Rückstand mit Alkohol und Alkohol-Chloroform bei täglich mehrstündigem Sieden der Extraktionsmittel 3 Tage lang ausgezogen. Eine Erschöpfung des Bacillennaterials ist auch jetzt noch nicht erreicht. Die Extraktion wird jedoch abgebrochen. Wegen des sehr verlustreichen Arbeitens beim Aufschließen der Bacillenmasse können zuverlässige quanti-

tative Angaben über die Ergiebigkeit des Extraktionsverfahrens nicht gemacht werden. Die weiteren Bemühungen richteten sich vor allem darauf, die zuletzt mit dem Alkohol-Chloroformgemisch extrahierte Substanz zu reinigen, was sehr schwer hält. Die Substanz ist nur löslich in Benzol und Chloroform und scheidet sich aus siedendem Alkohol in klaren öligen Tropfen ab, die sich am Boden des Gefäßes sammeln, also spezifisch schwerer sind als absoluter Alkohol. Die Reinigung wird im wesentlichen durch Umfällen der Substanz aus Chloroform durch Alkohol erreicht. Sie enthält neben Asche noch Spuren anderer fettartiger, offenbar in ihr gelöster Substanzen. Folgende Analysen zeigen die allmähliche Befreiung des Körpers von Verunreinigungen.

Schmelzpunkt °	Asche %	Ausgangsmenge ohne Asche mg	H ₂ O mg	CO ₂ mg	H %	C %
191	5,94	3,785	3,64	9,425	10,77	67,91
bei 230	9,45	4,082	3,93	9,575	10,78	63,98
230	3,74	4,143	5,18	12,64	14,0	83,21
230	3,92	4,218	5,14	12,83	13,63	82,96

Die Reinigungsversuche wurden fortgesetzt unter ständiger Kontrolle des Schmelzpunkts des erhaltenen Produkts. Es gelang jedoch nicht, den Schmelzpunkt über 230° hinaufzutreiben und die Substanz von den letzten Spuren Asche zu befreien. Die Substanz stellte nach dem Erstarren aus siedendem Alkohol eine feste paraffinähnliche Masse dar, es gelang nicht, sie in größeren Mengen krystallinisch zu erhalten. Nur einmal konnten bei einer kleinen Probe bei + 2° aus Benzol Krystalle erhalten werden, die denen des Cholesterins nicht unähnlich waren und im Polarisationsmikroskop schöne Doppelbrechung zeigten. Die Probe mit Essigsäureanhydrid und Schwefelsäure zeigte jedoch nicht die Spur einer Grünfärbung¹⁾. Die Substanz war stickstoff- und phosphorfrei und nicht verseifbar.

¹⁾ Bemerkenswerterweise fiel die gleiche Reaktion auf Cholesterin auch mit allen anderen Fraktionen und Teilfraktionen negativ aus. Im alkohollöslichen Anteil des primären Acetonextrakts gelang es, mit alkoholischer Digitoninlösung eine spärliche weiße Fällung zu erzielen. Die Menge reichte jedoch zur Durchführung einer Analyse nicht aus. Meine Erfahrungen bestätigen somit Panzers Beobachtung.

Das Ergebnis der letzten Analyse kommt den Zahlen sehr nahe, die Tamura für das Mykol aus Tuberkelbacillen angibt (82,46 % C und 13,58 % H). Die Schmelzpunkte dagegen (Mykol 66° gegen 230° unserer Substanz) zeigen, daß es sich nicht um den gleichen Körper handelt. Für das Mykol aus *Mykobakterium lacticola* wird angegeben, daß es sich in Petroläther und Äther und etwas schwerer in heißem Alkohol löse; auch das trifft für den zuletzt besprochenen Körper nicht zu. Es ist sehr wahrscheinlich, daß in meiner letzten Chloroform-Alkoholfraktion noch ein oder mehrere Körper mit niedrigerem Schmelzpunkt vorhanden waren; unter ihnen ist möglicherweise das Mykol Tamuras' zu finden. Es wurde versucht, diese Substanzen durch ihre differenten Löslichkeitsverhältnisse in verschieden temperiertem Alkohol zu trennen. Aus Alkohol von — 4° fiel ein Gemisch von weißen flockigen Körpern aus, dessen Schmelzpunkt von 60° bis 140° schwankte. Aus Alkohol von 16° fielen Gemische aus, deren Schmelzpunkte bei 168°, 175°, 198° lagen.

Es ist daher wahrscheinlich, daß sich bei genügend großem Ausgangsmaterial neben den von Kozniewski, Tamura und mir beschriebenen kohlenstoffreichen Substanzen noch eine ganze Reihe weiterer ähnlicher Körper werden finden lassen, wobei die Art der Nährböden, das Alter der Kulturen oder die Rasse der Bacillenstämme vielleicht entscheidend sind für das quantitative Überwiegen dieses oder jenes Körpers.

Nach den sämtlichen vorliegenden Untersuchungen des „Fettes“ der Tuberkelbacillen entspricht seine Zusammensetzung jener anderer meist als „Pflanzenwachs“ bezeichneten Pflanzenfette. Diese enthalten¹⁾ regelmäßig neben geringen Mengen echter Fette, verschiedene hochmolekulare Fettsäuren und Alkohole sowie Ester derselben und auch Kohlenwasserstoffe. Als chemisch schwer angreifbare Verbindungen haben sie im Gegensatz zu den echten Glyceriden, den „Nahrungslipoiden“, keinen merklichen Anteil an dem Stoffwechsel, sondern scheinen nur dem Schutze der Gewebe zu dienen, indem sie deren chemische und mechanische Widerstandsfähigkeit erhöhen und die Verdunstung herabsetzen. Sie finden sich besonders reichlich bei

¹⁾ Vgl. Czapek, *Biochemie der Pflanzen*. 2. Aufl. 1, 814, 1913.

xerophytischen Gewächsen und fehlen bemerkenswerterweise submersen Pflanzenteilen. Czapek hat diese Gruppe fettartiger Stoffe unter dem Namen Cerolipide zusammengefaßt. Ihrer chemischen Natur nach sind sie verschieden zusammengesetzt. In der Regel sind sie aber Gemenge homologer Verbindungen.

Auch für das Gemenge der Cerolipide aus den Tuberkelbacillen scheint sich das gleiche zu ergeben. Denn einerseits enthält es homologe Fettsäuren von der Formel $C_nH_{2n}O_2$ von der Laurinsäure aufwärts bis zur Palmitinsäure, andererseits hochmolekulare Alkohole von der Formel $C_nH_{2n-2}O$: $C_{15}H_{30}O$, $C_{19}H_{36}O$, $C_{29}H_{56}O$. Wenn ferner allgemein die große chemische und sonstige Widerstandsfähigkeit der Tuberkelbacillen mit deren auffallend hohem „Fett“gehalt in Beziehung gebracht wird, so entspricht das nur der auch sonst für die Cerolipide der Pflanzen nachweisbaren biologischen Funktion.

Untersuchungen über die Ammoniakmenge im Blute.

Von

V. Henriques und E. Christiansen.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Kopenhagen.)

(Eingegangen am 19. September 1916.)

Das Vorhandensein des Ammoniaks im Blute, teils unter normalen und teils unter pathologischen Verhältnissen, ist eine Frage, welche die Physiologen seit einer Reihe von Jahren beschäftigt.

Das Ammoniak wird bekanntlich als intermediäres Stoffwechselprodukt beim Stickstoffumsatz betrachtet und ist ein Vorstadium des Harnstoffs. Nach v. Schröders¹⁾ Untersuchungen, die später von Lenzner²⁾ bestätigt wurden, soll die Leber der Ort sein, wo die Harnstoffsynthese stattfindet, und auch von russischen Forschern sind umfassende Untersuchungen angestellt worden, die dartun sollen, daß ein Überschuß von Ammoniak in der Leber verschwindet. Daß das Ammoniak im Organismus auch bei der Neutralisation von Säuren, die sich beim Stoffwechsel im Organismus bilden, eine Rolle spielt, kann als festgestellt betrachtet werden.

Eine der ersten Methoden zur Bestimmung der Ammoniakmenge in Blut und Geweben wurde von Nencki und Zaleski³⁾ ausgearbeitet. Die Methode besteht darin, daß das Ammoniak unter Vakuumdestillation und Anwendung von Kalkmilch in $\frac{2}{10}$ -Säure hinüberdestilliert wird, worauf mit $\frac{2}{40}$ -NaOH zurücktitriert wird. 1 ccm $\frac{2}{40}$ -NaOH = 0,425 mg NH₃. 1 ccm Säure = 2,1 mg NH₃. Hierbei ist gleich einzuwenden, daß die

¹⁾ Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 15 u. 19, 1882 bis 1885.

²⁾ Kasan (russisch). 1899.

³⁾ Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 36, 385, 1896.

angewandten Titrierflüssigkeiten nicht hinlänglich verdünnt sind; wenn beim Abmessen der Säure nur ein Tropfen zu wenig oder zu viel genommen, mit einem oder zwei Tropfen $\frac{n}{40}$ -NaOH zu wenig oder zu viel titriert wird, kann sehr leicht ein Fehler von ca. 0,20 mg NH_3 pro 100 ccm Blut eintreten, welche Menge sich nach unseren unten mitgeteilten Untersuchungen oft im Blute finden kann. Es haften der Methode auch andere und größere Fehler an. So geben Nencki und Zaleski selbst an, daß sie, wenn sie 49 ccm Blut in Arbeit nehmen, 1,0 mg NH_3 pro 100 ccm Blut finden, während sie bei Anwendung von 17 ccm Blut 2,2 mg NH_3 pro 100 ccm Blut finden. In arteriellem Hundeblut fanden Nencki und Zaleski von 1,4 bis 2,7 mg NH_3 pro 100 ccm Blut, welche Werte sicherlich viel zu hoch sind. Biedl und Wintherberg¹⁾ fanden durch Kontrollversuche, daß man bei Anwendung verschiedener Mengen von Blut zur Analyse Resultate bekommt, von denen das eine bis 5 mal so hoch sein kann wie das andere. Nach dieser Methode haben Nencki, Pawlow und Zaleski²⁾ — Nencki und Pawlow³⁾ — Salaskin⁴⁾ — Salaskin und Zaleski⁵⁾ Untersuchungen angestellt, und zwar mit folgenden Resultaten:

1. Das Blut des Pfortadersystems enthält 3- bis 4 mal so viel Ammoniak als das Arterienblut.

2. Der Ammoniakgehalt von Arterienblut von Hunden mit Eckscher Fistel nähert sich in der akuten Vergiftungsperiode dem des Pfortaderblutes.

3. Die Magen- und Darmschleimhaut, sowie die Bauchspeicheldrüse enthält, wenn der Verdauungsprozeß seinen Gipfel erreicht hat, bedeutend mehr Ammoniak als im Ruhezustand.

4. Der Ammoniakgehalt im Gehirn von Hunden mit Eckscher Fistel nimmt während der Vergiftungsperiode bedeutend zu.

¹⁾ Arch. f. d. ges. Physiol. **38**, 1902.

²⁾ Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **37**, 1897.

³⁾ Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **38**.

⁴⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. **25**.

⁵⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. **29**.

5. Alle untersuchten Flüssigkeiten, Gewebe und Organe des tierischen Organismus enthalten Ammoniak.

Da diese Resultate auf einer Methode mit großen Fehlern beruhen, können sie höchstens eine gewisse Relativität besitzen. Von Biedl und Wintherberg dazu angeregt, die durch vorläufige Untersuchungen zu anderen Resultaten gekommen waren als die russischen Forscher, verbesserten Nencki und Zaleski¹⁾ ihre Methode, indem sie statt Kalkwasser Magnesia benutzten. Nach dieser Methode stellten Horodynski, Salaskin und Zaleski²⁾ neue Untersuchungen an und erhielten folgende Hauptresultate:

1. Der Ammoniakgehalt von arteriellem Blut ist sehr konstant. Bei Hunden findet man nach Fütterung einen mittleren Wert von 0,41, nach Hunger 0,42, und nach Eingabe von Ammoniaksalz 0,42 mg NH_3 pro 100 ccm Blut. Im Pfortaderblut findet sich 3- bis 5mal so viel Ammoniak als im arteriellen Blut. Somit bestätigen sich die Resultate von Nencki, Pawlow und Zaleski.

2. Der Umstand, daß man bei Anwendung von Kalkwasser statt Magnesia höhere Werte vorfand, spricht für das Vorhandensein von leicht Ammoniak abgebenden Verbindungen. Von solchen Stoffen enthält, nach den Analysen zu urteilen, das Pfortaderblut unter normalen Umständen mehr als das Arterienblut.

3. Der Ammoniakgehalt der Organe, namentlich der des Gehirns, ist ziemlich konstant; eine Ausnahme bilden die Drüsen, deren Tätigkeit vom Verdauungszustand abhängt, und deren Ammoniakgehalt infolgedessen schwankt.

Fast zu gleicher Zeit wie die Arbeit von Horodynski, Salaskin und Zaleski erschien ein Aufsatz über dasselbe Thema von Biedl und Wintherberg³⁾. Ihre Analysen sind mit Kalkwasser nach Nencki und Zaleski ausgeführt, und ihre Zahlenwerte können somit nur relative Bedeutung haben. Die von ihnen in Hundeblood gefundene Ammoniakmenge schwankt zwischen 0,3 und 1,0 mg pro 100 ccm Blut. Ihre

¹⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. **33**, 1901.

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

³⁾ a. a. O.

Resultate widersprechen in vielen Beziehungen denen der Petersburger Schule. Biedl und Wintherberg behaupten u. a.:

1. daß die Leber nicht das einzige Organ sei, das das Blut von einem Ammoniaküberschuß zu befreien vermag;
2. daß man bei vergleichenden Untersuchungen über den Ammoniakgehalt des Pfortaderblutes und des arteriellen Blutes an beiden Orten dieselbe Menge, mitunter gar mehr Ammoniak im arteriellen Blute als im Pfortaderblut findet.

Spätere Untersuchungen von Folin und Denis¹⁾ über den Ursprung und die Bedeutung des Ammoniaks im Blute, speziell im Pfortaderblut, bestätigen Biedls und Wintherbergs Untersuchungen in der Beziehung, daß das Pfortaderblut nicht immer mehr Ammoniak enthält als das arterielle Blut. Folin und Denis' Zahlenwerte sind kleiner als sowohl die der Petersburger Schule wie die von Biedl und Wintherberg, was Folin und Denis, und zwar sicherlich mit Recht, der Verbesserung der Untersuchungsmethoden zuschreiben. Die Methodik der Untersuchungen von Folin und Denis²⁾ ist: 10 ccm Blut werden in ein großes Jena-Reagensglas getan, und es werden 2 bis 3 ccm 15% Kaliumoxalat und 10% Na_2CO_3 und 5 ccm Toluol hinzugesetzt. Das Ammoniak wird mittels Durchsaugen von ammoniakfreier Luft aus der Flüssigkeit entfernt und in einem anderen großen Jena-Reagensglas mit 5 bis 6 Tropfen $\frac{n}{10}$ -Säure und 1 ccm Wasser gesammelt. Nach Aufhören des Saugens wird das Ammoniak colorimetrisch durch Neßlerisation bestimmt. Folin und Denis stellten ihre Versuche an Katzen an und fanden durch vergleichende Untersuchungen über die Ammoniakmenge im Blute aus verschiedenen Gefäßgebieten, daß das Pfortaderblut in der Regel etwas mehr Ammoniak enthielt als das arterielle Blut. Ferner fanden sie durch Untersuchung der Ammoniakmenge in den verschiedenen Ästen der Pfortader, daß das Blut aus dem Dickdarm besonders ammoniakhaltig war, während das Blut aus dem Dünndarm und der Milz verhältnismäßig wenig Ammoniak enthielt. Dies rührt, nach der Ansicht der beiden Verfasser, von der Wirksamkeit der Bakterien im Dickdarm her.

¹⁾ Journ. of Biolog. Chem. 11, 161.

²⁾ Journ. of Biolog. Chem. 11, 533.

Die folgende Tabelle gewährt einen Überblick über die von Folin und Denis gefundenen Zahlenwerte:

Cal	Milligramm $\text{NH}_3\text{-N}$ pro 100 ccm Blut in						Bemerkungen
	Ven. mesenter. Dickdarm	Ven. mesenter. Dünndarm	Pfortader	Milzvene	Ven. pancreat.	Carotis	
33	0,44	0,05	Spuren	—	—	—	2 Tage Fleischnahrung. 17 Std. Hunger.
34	0,24	0,18	0,13	—	—	—	12 Tage Diät von Dextrose und Rahm.
35	1,60	0,77	0,10	—	—	—	In betäubtem Zustande; hatte im voraus Fleischnahrung bekommen.
36	0,44	0,41	0,22	0,05	0,26	0,03	Ventrikel leer.
37	0,58	0,31	—	Spuren	—	0,07	4 Tage Fleischnahrung. 24 Std. vor dem Versuch Inanition.
14	—	—	4,00	—	—	0,40	Erhielt ein pankreasverdautes Gemisch in den unterbundenen Dünndarm.
38	0,53	0,28	0,32	—	—	0,03	4 g Glykokoll in 50 ccm H_2O in den unterbundenen Dünndarm injiziert.
39	—	0,38	0,35	—	—	0,08	5 g Asparagin in 50 ccm H_2O injiziert.

Nach Bangs¹⁾ Ansicht sind Folin's Zahlen gar zu niedrig. Bang hat in einigen wenigen Versuchen die Ammoniakmenge im Blute von Kaninchen bestimmt. Er verfuhr dabei in folgender Weise: Das Blut wird in gesättigtem KCl angesammelt. Es wird ein Überschuß von Methylalkohol zugesetzt, und zu einem Teil des Filtrates wird Natriumcarbonat gesetzt, wonach das Ammoniak bei ca. 45° ausgetrieben wird. Im Blute zweier Kaninchen fand Bang 0,81 und 1,27 mg $\text{NH}_3\text{-N}$ pro 100 ccm Blut, welche Zahlen ja weit über den von Folin gefundenen liegen.

Um festzustellen, ob der Thyreoidakomplex auf das Vorhandensein des Ammoniaks im Blute einen Einfluß hat, stellte A. Medwedew²⁾ eine Reihe von Untersuchungen an über die Ammoniakmenge im Blute thyreidektomierter Hunde. Er findet in normalem Hundeblood von 0,47 bis 0,64 mg (im Mittel 0,56 mg) Ammoniak pro 100 ccm Blut. Der Ammoniakgehalt im Blute von Hunden nach totaler Thyreo-Parathyreidektomie schwankte zwischen 0,69 und 2,04 mg pro 100 ccm Blut. Der Ammoniakgehalt im Blute auf der Höhe des Tetanieanfalls hat einen mittleren Wert von 0,79. Kurz vor dem Tode des

¹⁾ Diese Zeitschr. 72, 144.

²⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 72, 410.

Tieres ist die Ammoniakmenge 2 bis 3 mal so groß wie zu Anfang der Tetanie und $2\frac{1}{2}$ bis $3\frac{1}{2}$ mal so groß wie bei normalen Tieren. Vergleichshalber kann angeführt werden, daß Mac Callum und Voegtlin¹⁾ während des Tetanieanfalls ganze 10 mg pro 100 ccm Blut, im normalen Hundeblood, aber 4 mg pro 100 ccm Blut fanden.

Gleichzeitig mit den Untersuchungen an thyreo-parathyreoid-ektomierten Hunden stellte Medwedew Untersuchungen an über den Ammoniakgehalt im Blute von Hunden, die lange Zeit hindurch nicht gefressen hatten, und bestimmte den Ammoniakgehalt des Blutes vor und nach längerem Stehenlassen bei ca. 37°. Das Blut wurde bei aseptischen Kautelen aufgesammelt. Medwedew fand in arteriellem Blut von normalen Hunden 1. eine von 0,64 bis 1,95 mg und 2. eine von 0,47 bis 1,90 mg pro 100 ccm Blut zunehmende Ammoniakmenge bei ca. 30stündigem Stehenlassen des Blutes. Bei Hunden mit totaler Thyreo-Parathyreidektomie betrug die Zunahme der Ammoniakmenge im Laufe von 24 Stunden: 1. 0,69 bis 2,93, 2. 0,81 bis 2,76, 3. 0,87 bis 2,69 mg. Ein sehr eigentümliches Verhältnis fand Medwedew im Blute von Hunden, die lange Zeit keine Nahrung erhalten hatten; hier nimmt die Ammoniakmenge im Blute beim Stehenlassen nämlich erst ab, um später wieder zuzunehmen. Zum Beispiel:

- | | | | | | | | | |
|----|---------------------------|------|---|------|---|------|----|-----------------|
| 1. | Bei 49 tägiger Inanition: | 1,63 | → | 0,98 | → | 1,58 | mg | NH ₃ |
| 2. | " 28 " | " | " | 1,97 | → | 1,36 | → | 1,94 " |
| 3. | " 45 " | " | " | 1,82 | → | 1,02 | → | 1,76 " |
- pro 100 ccm Blut.

Medwedew folgert aus seinen Versuchen, daß im Blute normaler Tiere nebeneinander zwei Prozesse verlaufen, teils eine Abspaltung von Ammoniak infolge eines Desamidierungsprozesses, teils eine Bindung von Ammoniak infolge eines synthetischen Prozesses. Diese Theorie beruht jedoch auf einer Methode, deren Brauchbarkeit nichts weniger als sicher ist. Medwedew benutzt die Vakuumdestillation. Das Ammoniak wird in $\frac{2}{5}$ -Säure gesammelt, und es wird mit $\frac{2}{10}$ -NaOH mit Lackmoid-Malachitgrün als Indicator zurücktitriert. In Betracht der kleinen Mengen, um die es sich handelt, bedeutet

¹⁾ Journ. of experim. Med. 11, 143, 1909.

1 Tropfen NaOH + 1 Tropfen Säure zusammen einen Fehler von ca. 0,25 mg $\text{NH}_3\text{-N}$; bei Anwendung von 50 ccm Blut bedeutet das also einen Fehler von ca. 0,50 mg $\text{NH}_3\text{-N}$ pro 100 ccm Blut. Da sich normaliter nur ca. 0,3 mg $\text{NH}_3\text{-N}$ pro 100 ccm Blut finden, kann man Medwedews Untersuchungen keine besondere Bedeutung beimessen. Seine Beobachtung, daß der Ammoniakgehalt im Blute bei Stehenlassen zunimmt, wird jedoch durch die Untersuchungen von Alice Rohde¹⁾ bestätigt. Die Ursache zur langsamen Befreiung des Ammoniaks findet Alice Rohde in den nicht dialysierbaren Bestandteilen des Blutes. Alice Rohdes Zahlenwerte der Ammoniakmenge pro 100 ccm Blut sind jedoch in der Regel niedrig; sie schwanken durchgehends zwischen ca. 0,18 und ca. 0,45 mg pro 100 ccm Blut; in einem vereinzelt Fall fanden sich doch von 0,72 bis 1,78 mg $\text{NH}_3\text{-N}$ pro 100 ccm Blut. Vor ganz kurzem erschien eine Reihe sehr vollständiger Analysen von Gettler und Baker²⁾ über die Zusammensetzung des Blutes bei normalen Menschen. Die Bestimmung der Ammoniakmenge im Blute fand dabei nach Folin und Denis' Methode statt. Die Werte schwanken zwischen 0,4 und 1,1 mg $\text{NH}_3\text{-N}$ pro 100 ccm Blut. — Schließlich kann angeführt werden, daß nach Wintherbergs Untersuchungen die Ammoniakmenge im Blute des Menschen 0,6 bis 1,3 mg pro 100 ccm Blut beträgt.

Wie aus den oben besprochenen Ammoniakmengen im Blute zu ersehen sein wird, unterliegen die in der Literatur angegebenen Zahlen oft großen Schwankungen; als extreme Werte können Folin's 0,03 mg pro 100 ccm Blut und Mac Callum und Voegtlin's 4,0 mg pro 100 ccm Blut angeführt werden. Es schien uns daher von Interesse zu sein, die Frage von der Ammoniakmenge im Blute näher aufzuklären.

Bei unseren Untersuchungen benutzten wir eine Methode, deren Prinzip dasselbe ist wie das des Folin-Denisschen Verfahrens. Das Blut wurde in der Regel durch Einführung einer Stichkanüle in die Vena jugularis entnommen; in einigen

¹⁾ Journ. of Biolog. Chem. 1915.

²⁾ Journ. of Biolog. Chem. 25.

Fällen stammte es aus einer Arterie. Es wurde in einem Kolben aufgesammelt, worin sich eine angemessene Menge von fein pulverisiertem Kaliumoxalat befand. Um ein Schäumen zu verhindern und um jede Fermentwirksamkeit möglichst schnell unterbrechen zu können, wird das Blut in eine größere Menge Äthylalkohol getan.

Es wird in folgender Weise verfahren: 20 ccm Blut werden abpipettiert und in einen 1-l-Jenakolben mit langem Hals hinübergebracht; es werden sofort 80 ccm Äthylalkohol hinzugesetzt, worauf umgeschüttelt wird und noch 5 ccm 10⁰/₀ige ausgekochte Natriumcarbonatlösung hinzugesetzt werden. Der Kolben wird mit einem Kautschukstöpsel mit zwei Glasröhren, einer fast bis auf den Boden des Kolbens reichenden Zuleitungsröhre und einer ca. 15 cm hohen Ableitungsröhre versehen, welche letztere direkt unter dem Kautschukstöpsel mündet. Die Ableitungsröhre wird mit einer Zuleitungsröhre verbunden, die durch einen Kautschukstöpsel fast bis auf den Boden eines 100-ccm-Kjeldahlkolbens reicht, worin sich 30 ccm ca. $\frac{n}{5}$ -H₂SO₄ finden. Der Kjeldahlkolben ist auch mit einer Ableitungsröhre versehen, die mit einem anderen ähnlichen Kolbenkomplex in Verbindung steht. Es wurden so große Kolben angewandt, um ein Hinüberspritzen in die Säure zu verhüten. Das Durchsaugen durch die Kolben dauerte 3 Stunden. Mit dem Ammoniak zusammen wird ein Teil vom Äthylalkohol in die Säure hinübergesaugt. Nach beendigtem Durchsaugen werden die zu den Kjeldahlkolben gehörenden Glasröhren mit destilliertem Wasser ausgespült, und es wird mit destilliertem Wasser bis zu ca. 80 ccm aufgefüllt, worauf der Kjeldahlkolben mit einem kleinen Kjeldahldestillationsapparat in Verbindung gesetzt wird, dessen Kühlröhre in eine ca. 10 cm lange silberne Röhre endigt. Es werden ca. 60 ccm abdestilliert, worin sich aller Äthylalkohol befinden wird; dies Destillat wird in der Regel der gebildeten Äthylschwefelsäure wegen mehr oder minder opaleszierend. Nachdem auf diese Weise aller Äthylalkohol entfernt worden ist, werden aus einem Scheidetrichter ca. 10 ccm ausgekochte Natronlauge hinzugesetzt und das Ammoniak in einen 100-ccm-Jenakolben hinabdestilliert, worin sich 5 ccm stark verdünnte Schwefelsäure (ca. $\frac{n}{200}$) finden, deren Titer gegenüber $\frac{n}{280}$ -Na₂S₂O₈ bekannt ist. Während

der Destillation mündet die silberne Röhre direkt unter der Oberfläche der Flüssigkeit. Es wird abdestilliert, bis in der Vorlage im ganzen 20 ccm sind, worauf die silberne Röhre mit 2 bis 3 ccm redestilliertem Wasser nachgespült wird. Zum Destillate werden 2 Tropfen 5⁰/₀ KJO₃, 2 ccm 5⁰/₀ KJ gesetzt, worauf es 5 Minuten stehen gelassen wird¹⁾; nach dieser Zeit werden 5 Tropfen 2⁰/₀ige Stärkelösung, mit NaCl gesättigt, zugesetzt, und es wird mit ⁿ/₂₈₀-Na₂S₂O₃ (1 ccm = 0,05 mg N) zurücktitriert.

Zur Kontrolle der Normalflüssigkeiten wurden 5 Analysen nach der oben besprochenen Methode angestellt. Es wurden 0,103 mg N [als (NH₄)₂SO₄] in Arbeit genommen; als höchster Wert stellte sich 0,107 heraus, als niedrigster 0,102 mg N. Um die Methode zu kontrollieren, wurden 4 einander gleiche Blutproben genommen, und zu der einen davon wurden 0,103 mg N [als (NH₄)₂SO₄] gesetzt. Die gefundenen Werte waren bei den drei Analysen: 0,040, 0,044 und 0,036, bei der vierten, wo 0,103 mg N zugesetzt worden waren, 0,145 (= 0,103 + 0,042). Ab und zu stellten wir Kontrollanalysen an, indem wir 0,103 mg N zu der einen der Doppelanalysen hinzufügten; die Resultate entsprachen dann dem oben angeführten.

Nach der hier geschilderten Methode haben wir eine größere Reihe Bestimmungen des Ammoniakgehaltes im Blute angestellt, teils unter normalen Verhältnissen, teils nach verschiedenen Eingriffen. Wir führen zuerst unsere Resultate in betreff des Ammoniakgehaltes normaler Tiere an.

Aus den in Tabelle I angeführten Zahlen erhellt, daß die Ammoniakmenge des Blutes (teils des Arterien-, teils des Venenblutes) etwas niedriger ist, als bisher angenommen wurde, Nur die von Folin gefundenen Werte sind von derselben Größenanordnung wie die unsrigen. Man kann sagen, daß der Ammoniakgehalt des Blutes der oben angeführten Tierformen pro 100 ccm Blut zwischen 0,15 und 0,30 oder 0,40 mg liegt. Da die verschiedenen Versuche so gut übereinstimmen, unterliegt

¹⁾ Bang, Methoden zur Mikrobestimmung einiger Blutbestandteile, S. 21.

Tabelle I.

	Anzahl der Versuche	Höchster und niedrigster Wert pro 100 ccm Blut mg	Durchschnittszahl	Bemerkungen
Ziegenbock I . . .	8	0,16—0,29	} 0,22	Venenblut.
" II . . .	1	0,18		"
" III . . .	1	0,21		"
" IV . . .	1	0,27		"
Hund I	1	0,44	} 0,32	Venenblut. Das Blut wurde 5 Std. nach Fütterung mit 1 kg Fleisch entnommen.
" II	2	0,28—0,37		Venenblut.
" III	2	0,21—0,26		"
" IV	1	0,29		"
Kaninchen I . . .	1	0,26	} 0,30	Arterienblut.
" II	1	0,20		"
" III	1	0,42		"
" IV	1	0,33		"
Huhn I	1	0,31	0,31	
Katze I	1	0,16	0,16	Arterienblut.
Menschen	3	0,10-0,35-0,48	0,31	Venenblut.

Durchschnittszahl aller Bestimmungen = 0,27 mg $\text{NH}_3\text{-N}$ pro 100 ccm Blut.

es kaum einem Zweifel, daß die von anderen Autoren angeführten Werte der Ammoniakmenge des Blutes, die bedeutend über 0,50 mg pro 100 ccm Blut liegen, auf Irrtümern beruhen. Wenn z. B. Bang im Blute eines normalen Kaninchens 1,27 mg $\text{NH}_3\text{-N}$ in 100 g Blut findet, so ist dies Resultat ohne Zweifel zu hoch, und Bang hat nicht recht, wenn er von Folins Normalwerten schreibt, daß sie „unmöglich richtig sein können“. Die von uns gefundenen Zahlen stimmen mit den Folinschen recht gut überein, doch sind Folins Werte von $\text{NH}_3\text{-N}$ im Arterienblut in den meisten Fällen ein Teil niedriger als die unsrigen.

Unsere Bestimmungen der $\text{NH}_3\text{-N}$ -Menge im Venenblut von Hunden zeigen, daß die Menge bei Brot + Fettnahrung um 0,25 mg pro 100 ccm Blut liegt. Bei sehr starker Fleischnahrung scheint die Ammoniakmenge etwas zuzunehmen, doch nicht bedeutend; in einem Versuch fanden wir 0,44 mg, in zwei anderen bzw. 0,28 und 0,37 mg.

Die drei Bestimmungen in Menschenblut hätten eigentlich in dieser Tabelle nicht angeführt werden sollen, da sie nicht von „normalen“ Menschen herrühren, sondern von Patienten mit recht schweren Herzleiden und Kreislaufstörungen. Daß

sie dennoch mit herangezogen worden sind, beruht darauf, daß die Werte mit den bei normalen Tieren gefundenen recht gut übereinstimmen.

Wir sahen also, daß die Ammoniakmenge im Blute verschiedener Tiere nur wenig schwankt. Wir haben darauf untersucht, ob es möglich ist, die Ammoniakmenge durch verschiedenartige Eingriffe in nennenswertem Grade zu steigern. Die einfachste Weise, in der man die Ammoniakmenge des Blutes steigern kann, ist natürlich die intravenöse Injektion von Ammoniumsalzen. Wir stellten zwei derartige Versuche an einem Ziegenbock (Gewicht 36,7 kg) an. Zur Injektion benutzten wir eine Lösung von Ammoniumacetat, die 0,202% N enthielt. Der Gefrierpunkt der Lösung war $-0,55^{\circ}$. Das Resultat war:

	mg NH ₃ -N in 100 ccm Blut
Vor der Injektion	0,27
Nach $\frac{1}{8}$ stündiger Injektion von im ganzen 360 ccm Ammoniumacetatlösung	0,97
10 Minuten nach Aufhören der Injektion	0,55

Am folgenden Tage wurde der Versuch an demselben Versuchstier wiederholt, und zwar mit folgendem Resultat:

	mg NH ₃ -N in 100 ccm Blut
Vor der Injektion	0,29
Nach $\frac{1}{8}$ stündiger Injektion von im ganzen 360 ccm Ammoniumacetatlösung	0,71
1 Stunde nach Aufhören der Injektion	0,20

Wie aus diesen Versuchen hervorgehen wird, vermochte die Injektion einer sehr bedeutenden Menge Ammoniumacetat ins Blut nicht, den Ammoniakgehalt über 0,97 und 0,71 mg Ammoniak-N zu steigern. Das ins Blut eingeführte Ammoniak wird also schnell entfernt, entweder durch Ausscheidung durch die Nieren oder durch Ablagerung in den Geweben, oder aber durch Umwandlung in Harnstoff. Natürlicherweise wird es möglich sein, den Ammoniakgehalt des Blutes durch plötzliche Einführung großer Mengen Ammoniak ins Blut höher hinaufzutreiben als in den beiden oben angeführten Versuchen. In dem Falle tritt Ammoniakvergiftung und darauf folgender Tod ein. Derartige Versuche sind angestellt worden von Bang¹⁾,

¹⁾ Diese Zeitschr. 72.

der Kaninchen große Mengen Ammoniumacetat oder Ammoniumcarbonat per os eingab. Auch durch Injektion von ca. 10 g Harnstoff in den Ventrikel erzielte Bang Vergiftung und Tod, was zweifellos auf der Umwandlung des Harnstoffs im Darm in Ammoniak und der darauf folgenden Resorption desselben beruhte. Bang fand, daß die Vergiftung am zuverlässigsten bei Kaninchen eintrat, die einer Inanition ausgesetzt waren, während die Vergiftung bei wohlgenährten Tieren ausbleiben konnte. Wir wiederholten Bangs Versuche und fanden:

1. Wohlgenährtes Kaninchen, Gewicht 2,8 kg; erhielt per os 10 g Harnstoff in 20 ccm Wasser; nach ca. 4 Stunden befand das Tier sich noch immer wohl. Das der Carotis entnommene Blut ergab $= 0,46 \text{ mg NH}_3\text{-N}$ in 100 ccm Blut.

2. Wohlgenährtes Kaninchen, Gewicht 2,5 kg; erhielt 2,5 g Ammoniumacetat in 20 ccm Wasser; nach 4 Stunden noch immer normal. Das der Carotis entnommene Blut ergab $0,33 \text{ mg NH}_3\text{-N}$ in 100 ccm Blut.

3. Wohlgenährtes Kaninchen, Gewicht 2,3 kg; erhielt 5,5 g Ammoniumacetat in 20 ccm Wasser; nach 4 Stunden noch immer normal. Das der Carotis entnommene Blut ergab $0,55 \text{ mg NH}_3\text{-N}$ in 100 ccm Blut.

. Aus den 3 angeführten Versuchen geht hervor, daß die Einführung großer Mengen Ammoniumsalze oder Harnstoff in den Verdauungskanal wohlgenährter Kaninchen nur eine geringe Steigerung des Ammoniakgehaltes des Blutes bewirkt, wenn sich keine Vergiftungssymptome einstellen. Falls solche eintreten, nimmt aber, wie Bang dargetan hat, der Ammoniakgehalt sehr bedeutend zu. Die beiden folgenden von uns angestellten Versuche veranschaulichen dies:

4. Kaninchen, Gewicht 2,4 kg. 2 tägige Inanition. Erhielt 8,25 g Ammoniumacetat in 20 ccm Wasser. Nach 17 Minuten starke Krämpfe. Das der Carotis entnommene Blut ergab $7,38 \text{ mg NH}_3\text{-N}$ pro 100 ccm Blut.

5. Kaninchen, Gewicht 2,2 kg. 4 tägige Inanition. Erhielt per os 12 g Harnstoff in 20 ccm Wasser. Nach $2\frac{3}{4}$ Stunden noch keine Vergiftungssymptome. Erhielt daher wieder 12 g Harnstoff per os; ca. $\frac{3}{4}$ Stunden danach traten Krämpfe ein, und eine der Carotis entnommene Blutprobe ergab $4,52 \text{ mg NH}_3\text{-N}$ pro 100 ccm Blut.

Schließlich führen wir zwei Versuche an, die wir anstellten, um zu untersuchen, ob die Ammoniakmenge im Blute sich durch eine Entfernung der Nieren (oder Unterbindung der Ureter) steigern läßt. Außer der Ammoniakmenge des Blutes bestimmten wir gleichzeitig den Reststickstoff und Harnstoffstickstoff (nach Bang¹⁾), sowie den Trockensubstanzgehalt im Serum. Als Versuchstiere dienten Ziegenböcke.

Ziegenbock Nr. 2; Gewicht 22,5 kg; am 9. V. 1916 wurden bei Äthernarkose beide Nieren entfernt. Das Tier lebte 5 Tage und erhielt während des Versuchs keine Nahrung. Der Tod trat ohne Krämpfe ein. Die letzten 24 Stunden lag das Tier in komatösem Zustande danieder.

Tabelle II.

	NH ₃ N pro 100 ccm Blut mg	Rest-N pro 100 ccm Blut mg	Harnstoff-N pro 100 ccm Blut mg	„Amino- säure-N“ pro 100 ccm Blut mg
Vor der Operation	0,18	—	—	—
Nach „ „	0,39	—	—	—
„ „ „	0,32	139	125	14
„ „ „	0,14	193	173	20
„ „ „	0,26	273	238	35
„ „ „	0,81	331	281	50

Aus den angeführten Zahlen ergibt sich, daß die Ammoniakmenge im Blute durch die Entfernung der Nieren sozusagen nicht abgeändert wird. Erst während der letzten 24 Stunden findet eine Zunahme statt, was auf einer herabgesetzten Leberwirksamkeit in der Agonie beruhen kann.

Dagegen nimmt, wie zu erwarten war, sowohl die Menge von Reststickstoff wie die von Harnstoffstickstoff zu; außerdem nimmt auch die Menge von „Aminostickstoff“ (= Differenz zwischen den Werten des Rest-N und des Harnstoff-N) während des Versuchs gleichmäßig zu.

Ziegenbock Nr. 3; Gewicht 28,3 kg; am 16. V. 1916 wurden bei Äthernarkose beide Ureter unterbunden. Das Tier lebte 7 Tage. Der Tod trat ohne Krämpfe ein.

¹⁾ Bang a. a. O.

Tabelle III.

	NH ₃ -N pro 100 ccm Blut mg	Rest-N pro 100 ccm Blut mg	Harnstoff-N pro 100 ccm Blut mg	Amino- säure-N ⁴ pro 100 ccm Blut mg	Temperatur des Tieres ° C	Serum, % ₁₀ -Trockenstoff	Anmerkungen
Vor der Operation	0,21	36	26	10	—	—	
" " "	0,29	33	21	12	—	6,3	
Nach " "	0,24	99	78	21	—	6,5	
" " "	0,31	187	162	25	—	7,0	200 ccm Wasser.
" " "	0,25	204	164	40	36,7—36,5	7,2	370 " " + 100 g Heu.
" " "	0,26	249	191	58	36,4—37,4	7,2	200 " " + ein bißchen Heu.
" " "	—	—	—	—	36,4—36,8	—	200 " "
" " "	0,35	307	266	41	36,6—36,1	7,5	200 " "
" " "	0,36	339	279	60	35,4—34,0	7,2	
" " "	—	—	—	—	—	—	

Aus den Zahlen ergibt sich, daß die Ammoniakmenge des Blutes nach der Unterbindung der Ureter in keinem nennenswerten Grade zunimmt. Den höchsten Wert finden wir am letzten Tage vor dem Tode; er ist nur ein wenig höher als die bei Ziegenböcken unter normalen Verhältnissen vorkommenden Werte. Dagegen nehmen, wie zu erwarten ist, die Mengen von Rest-N und Harnstoff-N sehr bedeutend zu: der Reststickstoff von 36 bis zu 339 mg, der Harnstoffstickstoff von 26 bis zu 279 mg pro 100 ccm Blut. Auch die Menge von Amino-stickstoff nimmt anfänglich zu, scheint aber nach 5 Tagen das Maximum erreicht zu haben und hält sich die drei letzten Tage hindurch um ca. 60 mg pro 100 ccm Blut.

Zusammenfassung.

1. Es wird eine Methode zur Bestimmung der Ammoniakmenge des Blutes angegeben. Deren Anwendung hat gezeigt, daß die Ammoniakmenge des Blutes bedeutend geringer ist als die von den meisten Forschern gefundene. Als durchschnittliche Zahl einer großen Menge Bestimmungen der Ammoniakmenge des Blutes verschiedener Tiere fanden wir 0,27 mg pro 100 ccm Blut.

2. Bei starker Fleischnahrung (Hunde) nimmt der Ammoniakgehalt des Blutes (aus der Vena jugularis) in keinem nennenswerten Grade zu.

3. Nach Injektion bedeutender Mengen von Ammoniaksalzen ins Blut findet sich unmittelbar nach Aufhören der Injektion nur ca. 0,9 mg N pro 100 ccm Blut, und nach kurzer Zeit ist die Ammoniakmenge wieder normal.

4. Weder eine Exstirpation der Nieren noch eine Unterbindung der beiden Ureter bewirkt eine Zunahme der Ammoniakmenge des Blutes. Dagegen wächst selbstverständlich die Menge von Reststickstoff und Harnstickstoff von Tag zu Tag sehr stark zu. Der Aminostickstoff wächst die ersten Tage an, scheint jedoch nicht über ca. 60 mg N pro 100 ccm Blut anzusteigen.

Tyrosinase, ein Gemenge von zwei Enzymen.

Von

T. Folpmers.

(Aus dem mikrobiologischen Laboratorium der technischen Hochschule zu Delft.)

(Eingegangen am 20. September 1916.)

Obwohl es schon lange bekannt war, daß einige Pflanzensäfte, u. a. feinzerriebener Kartoffeln, Dahlienknollen usw. an der Luft nacheinander rot und langsam schwarz werden, ist es doch erst dem französischen Gelehrten Bertrand¹⁾ im Jahre 1896 gelungen, dafür eine plausible Erklärung zu geben und einige wichtige Eigenschaften des betreffenden Fermentes festzustellen.

So bemerkte er sofort, daß für die Wirkung des Fermentes der Sauerstoff der Luft entschieden notwendig war, und er teilte es daher unter die Oxydasen ein, unter denen er einen wichtigen Repräsentanten, die Laccase, einige Jahre vorher im Milchsafte des Lackbaumes (*Rhus vernicifera*) gefunden hatte.

Auch entdeckte er eine Eigenschaft, wodurch sich die Tyrosinase von allen anderen Oxydasen unterscheidet und woher sie ihren Namen hat, nämlich die Eigenschaft, Tyrosin anzugreifen und zu oxydieren.

Die Fermentnatur folgte aus dem Versuche, daß gekochte Kartoffeln sich ganz und gar nicht verfärbten. Er machte die Beweisführung treffend dadurch, daß er auch noch im Kartoffelsafte Tyrosin fand, eine Verbindung, die im Jahre 1846 von Liebig beim Schmelzen von Käse mit Kali entdeckt wurde.

Das gewöhnliche Tyrosin aus Eiweiß ist immer linksdrehend. Nach Bertrand²⁾ wirkt die Tyrosinase genau so schnell auf

¹⁾ Compt. rend. 122, 1215.

²⁾ Bull. Soc. Chim. de France (4) 1, 395.

d- als auf l-Tyrosin. Aus einer Mischung von überschüssigem l-Tyrosin und d-Tyrosin bekam er nach Hinzufügung von gleichviel Tyrosinase gleichviel Melanin; nach Abderhalden¹⁾ soll jedoch eine stärkere Wirkung auf l-Tyrosin bestehen.

Sofort macht Bertrand Versuche, um das neue Ferment seinen Reaktionen gemäß scharf von der Laccase oder Phenolase, wie Bach sie nennt, zu unterscheiden. Die Laccase wirkt gar nicht auf Tyrosin ein, jedoch auf diejenigen aromatischen Körper, die zwei Hydroxyl- oder Aminogruppen im Kerne besitzen, welche am besten in para- oder ortho-Stellung zueinander sitzen. Auch von den höher hydroxylierten Phenolen wird Pyrogallol (1, 2, 3) gut, Phloroglucin (1, 3, 5) nicht, das Hexaoxybenzol vorzüglich oxydiert.

In betreff der Einwirkung der Tyrosinase auf diese Körper sind die Forscher im Widerspruch. Bertrand²⁾ behauptet, daß es ihm gelungen sei, eine Tyrosinase zu gewinnen, die gar nicht einwirkt auf Hydrochinon, Pyrogallol und derartige Körper; er erhielt sie, indem er Chloroformwasserextrakt von *Russula delica* mit Alkohol präcipitierte.

Im Filtrat sollte sich allein die Laccase vorfinden. Sechs Jahre später widerspricht Bach³⁾ dieser Vorstellung mit der Behauptung, daß, obgleich er der Arbeitsweise genau folgte, es ihm nie gelungen sei, die Tyrosinase von der Laccase oder Phenolase zu scheiden, so daß er eine Theorie aufstellt, daß die Tyrosinase eine Mischung von zwei Enzymen sein sollte.

Chodat⁴⁾ dagegen hält an der Ein-Enzymtheorie der Tyrosinase fest.

Wie wirkt denn die Tyrosinase auf das Tyrosin?

Eine hydrolytische Spaltung, wie Gonnermann⁵⁾ sich vorstellt, wurde schon durch einen Versuch von Bertrand widerlegt. Läßt man nämlich eine Tyrosinaselösung bei Luftabschluß auf eine Tyrosinlösung einwirken, z. B. während 24 Stunden, und tötet dann das Ferment durch Aufkochen, so tritt später an der Luft gar keine Reaktion mehr ein, auch nicht wenn

¹⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 54, 337.

²⁾ Compt. rend. 123, 463.

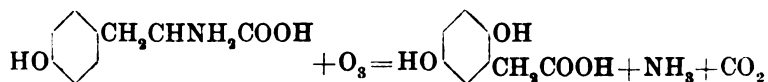
³⁾ Diese Zeitschr. 60, 220.

⁴⁾ Arch. sc. phys. et nat. (IV.) 39, 327.

⁵⁾ Arch. f. d. ges. Physiol. 82, 289. — Centralbl. 2, 984, 1900.

Bertrand darauf Laccase hinzufügt. Zum Anfang der Reaktion ist also der Sauerstoff der Luft notwendig.

Die älteste Theorie, welche man noch bei Czapek¹⁾ finden kann, ist die Bildung der Homogentisinsäure als erstes Oxydationsprodukt des Tyrosins.



Die Homogentisinsäure wird darauf weiter oxydiert. Diese Theorie wurde noch von Gonnermann²⁾ und Bertel³⁾ verteidigt.

Die physiologische Chemie kann auch hierfür Beweise beibringen. Es ist nämlich bekannt, daß der Harn bei manchen normalen Personen beim Stehen an der Luft allmählich eine dunkle Farbe annimmt, besonders wenn der Harn schon von Anfang an schwach alkalisch war.

Schon bald merkte man, daß der Sauerstoff der Luft für die Reaktion nötig war. Man hat dieser Erscheinung auch einen Namen gegeben und spricht dann von Alkaptonurie, wobei also der Urin in Gegenwart von etwas Alkali begierig den Sauerstoff absorbiert.

Die Ersten, die hierauf aufmerksam machten, waren Baumann und Wolkow⁴⁾. Sie untersuchten den Harn eines solchen Patienten planmäßig, schüttelten in saurer Lösung mit Äther aus, verdampften den Äther und mischten der wäßrigen Lösung warme neutrale Bleiacetatlösung zu und bekamen ein Bleisalz, aus dem sie die Säure mit Schwefelwasserstoff in Freiheit setzten.

Von dieser Säure nun bewiesen sie, daß sie die Struktur eines Homologen der Gentisinsäure oder Hydrochinoncarbon-säure hat. Später wurde sie auch synthetisch aus Hydrochinon bereitet. Überdies zeigte es sich, daß bei Verabreichung von Tyrosin an einen solchen Patienten die Menge der abgeschiedenen Homogentisinsäure zunimmt. Mit Fleischdiät konnte aus dem Urin 1,724 g Bleisalz abgeschieden werden. Verab-

¹⁾ Biochemie der Pflanzen 2, 462, 1905.

²⁾ l. c.

³⁾ Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 20, 454.

⁴⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 15, 228.

reichung von 12,5 g Tyrosin überdies ergab 13,086 g Bleisalz der Homogentisinsäure.

Abderhalden gab einem Patienten Monopalmityltyrosin, Distearyl-l-tyrosin und bekam gleichwohl vermehrte Abscheidung von Homogentisinsäure. Jedoch konnten Falta und Langstein¹⁾ mit l-Phenylalanin auch eine Vermehrung von Homogentisinsäure konstatieren. Der Körper scheint also imstande, Sauerstoff in den Benzolkern einzuführen.

Normaliter verschwindet das Tyrosin im Körper ganz und wird zu Kohlensäure, Wasser und Ammoniak oxydiert, soweit es nicht von Bakterien in Phenole und aromatische Oxysäuren gespalten wird. Die Phenole und aromatischen Oxysäuren werden vom Körper in Form von schwefelsauren Estern abgeschieden. Die schädliche Wirkung scheint dadurch aufgehoben.

Im Zusammenhang hiermit ist es wohl interessant, daß *Bact. coli* (Faeces) imstande ist, aus Tyrosin p-Oxyphenyläthylamin abzuspalten²⁾ und daß dies sogar eine gute Bereitungsweise dieses Körpers sein dürfte.

Die Theorie der Homogentisinsäurebildung als erstes Oxydationsprodukt des Tyrosins wurde von Beyerinck³⁾ übernommen, um das Verhalten von zwei Mikrobenarten zu erklären, welche allein in Symbiose imstande sind, das Tyrosin zu einem schwarzen Pigmente zu oxydieren. Es ist eine Actinomycesart (*Streptothrix*) und eine andere Art Bakterie, kurz symbiotische Bakterie genannt, ein ganz dünnes, polarcilates Stäbchen, das keine Sporen bildet und Kulturgelatine stark verflüssigt.

Keiner der beiden Organismen für sich ist imstande, schwarzes Pigment aus Tyrosin zu bilden. Zieht man jedoch auf einem geeigneten Nährboden Striche von beiden Organismen, so findet Melaninbildung nur da statt, wo die Striche sich einander nähern.

Der Actinomyces sollte nun das Tyrosin zur Homogentisinsäure oxydieren, während die symbiotische Bakterie diesen Prozeß weiter fortsetzt bis zur Bildung des schwarzen Pigmentes.

Der Actinomyces ist allein auf einem Homogentisinsäure-

¹⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 37, 513.

²⁾ Diese Zeitschr. 59, 429.

³⁾ Koninkl. Akad. v. Wetensch., Amsterdam, 19. Febr. 1913.

boden nicht imstande, diese zu einem schwarzen Pigmente zu oxydieren, die symbiotische Bakterie jedoch wohl. Macht man die Annahme, daß die Bakterien ihre Wirkung durch Enzyme ausüben, da zeigt es sich, daß zum Oxydieren von Tyrosin zu Melanin offenbar zwei Enzyme nötig sind.

Auch das Enzym der *Microspira tyrosinatica*, das allein das Tyrosin zu Melanin oxydieren kann, ist imstande, aus Homogentisinsäure ein schwarzes Pigment zu bilden¹⁾.

Ebenso konnte Beyerinck in der Tyrosinase aus dem Milchsafte der *Euphorbia lathyris* die Anwesenheit von zwei Enzymen plausibel machen.

Der Zweienzymtheorie der Tyrosinase schließt sich Bach an²⁾. Wie gesagt, konnte er keine völlig laccasefreie Tyrosinase bekommen.

Er stellt die Theorie auf, daß für die Tyrosinasewirkung zwei Fermente nötig seien, eine Desamidase oder Aminoacidase und eine Phenolase. Phenolase ist nie imstande, welche Katalysatoren auch hinzugefügt werden, das Tyrosin zu oxydieren.

Um seine Theorie zu bestätigen, macht er den folgenden Versuch. Mit einem Tyrosinasepräparat läßt er die Wirkung bis zu einer roten Verfärbung sich vollziehen, kocht dann auf, fügt Phenolase oder Peroxydase $+ H_2O_2$ zu und kann die Oxydation zur Melaninbildung fortführen. Jedoch ist immer eine Anfangswirkung der Aminoacidase notwendig, und Bach vergleicht diese Reaktion mit der Reaktion von Strecker.

Strecker³⁾ hat nämlich gefunden, daß, wenn man α -Aminosäuren mit Alloxan in wäßriger Lösung erhitzt, die Aminosäuren CO_2 und NH_3 abspalten und in das Aldehyd der nächstniederen Reihe übergehen.

Das Alloxan selbst wird dabei reduziert und später kondensiert zu Murexid. Für die Reaktion ist also Wasser notwendig und ein Wasserstoffakzeptor, wofür das Alloxan fungiert. Bei der Tyrosinasewirkung dient dazu das Ferment selbst, und die lose Bindung wird immer wieder vom Sauerstoff der Luft gelöst.

Chemisch gelang es mir gleichfalls, in einem Reagenzrohr

¹⁾ Koninkl. Akad. v. Wetensch., 25. Febr. 1911, 1092.

²⁾ Diese Zeitschr. 60, 220.

³⁾ Annal. d. Chem. 123, 363.

die Tyrosinasewirkung einigermaßen nachzuahmen. Ich erhitzte dazu Tyrosin mit Alloxan in wäßriger Lösung und versetzte abwechselnd mit NH_3 und H_2O_2 . Die rote Farbe verschwand und ging allmählich in eine dunkelbraune über.

Ebenso konnte Bach mit p-Oxybenzaldehyd, NH_3 und H_2O_2 + Peroxydase eine rote und schließlich braune Verfärbung erzielen.

Außer Alloxan können noch oxydierend wirken Isatin, Benzo- und Toluchinon, nicht jedoch Naphthochinon, Anthrachinon, Parabansäure und Chloranil.

Aus Alanin konnte Acetaldehyd, aus Phenylaminoessigsäure¹⁾ Benzaldehyd erhalten werden.

Im Jahre 1913 publizierte Chodat dann die Entdeckung, daß er mit Kartoffeltyrosinase aus Glykokoll NH_3 , CO_2 und Formaldehyd, aus Phenylaminoessigsäure den Geruch des Benzaldehyds erhalten habe.

Ich benutzte nun das starke von Beyerinck im Milchsaft der *Euphorbia lathyris* gefundene Tyrosinasepräparat, und machte Platten von der Zusammensetzung: destilliertes Wasser 100, Agar $1\frac{1}{3}$ ‰, Tyrosin 0,1 ‰, während das Tyrosin nacheinander ersetzt wurde durch 0,1 ‰ Phenylalanin, 0,1 ‰ Phenylaminoessigsäure, einen Tropfen Benzaldehyd und die berechnete Menge Na_2CO_3 , während auch die Benzaldehydplatte einige Milligramm Soda und etwas Ammoniak erhielt.

Nacheinander ließ ich den Milchsaft der *Euphorbia lathyris* auf die Platten tropfen. Schon in einer Viertelstunde zeigten sich schwarze Flecken. Als Kontrolle wurde eine Blankoplatte gemacht, da der Saft, wie Beyerinck schon bemerkte, gleichfalls eine geringe Reaktion zeigt, der gleichzeitigen Anwesenheit von Trypsin und Eiweiß zufolge. Die Phenylaminoessigsäureplatte hatte einen starken Benzaldehydduft. Zugleich änderte ich den Versuch etwas ab. In einem Destillierkölbchen löste ich 100 mg Phenylaminoessigsäure in der berechneten Menge Soda und 10 ccm Wasser und tropfte den Milchsaft dazu. Schon nach einer Viertelstunde machte sich ein starker Benzaldehydgeruch bemerkbar. Nachdem die Probe einen Tag bei 30° gestanden hatte, wurde nach Ansäuern mit Schwefelsäure im

¹⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 44, 3145.

CO₂-Strom destilliert, und ich kondensierte das Benzaldehyd mit p-Nitrophenylhydrazin. Es wurde 20 mg Hydrazon erhalten, welches nach Umkrystallisieren scharf bei 192 bis 193° schmolz. Zugleich zeigte es die Reaktionen dieses Hydrazons.

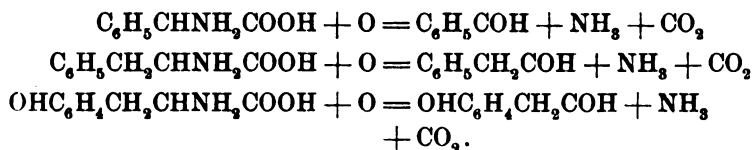
Diese Reaktion gelang mir nicht allein mit dem Milchsaft der Euphorbia lathyris, sondern ich konnte gleichfalls mit dem Saft der Morus nigra und des Ficus Necbudi die Phenylaminoessigsäure zum Benzaldehyd spalten und mit p-Nitrophenylhydrazin diesen wieder kondensieren.

Die beiden letzten Pflanzensäfte geben sowohl mit Tyrosin als Phenylalanin und Phenylaminoessigsäure eine grüne Verfärbung. Auch ließ ich den Milchsaft der Euphorbia einen Tag auf eine neutrale Tyrosinlösung einwirken. Nachdem schwach angesäuert worden war, schüttelte ich mit Äther aus, verdampfte den Äther und kondensierte wieder in alkoholischer Lösung mit p-Nitrophenylhydrazin. Es wurde ein krystallines Kondensationsprodukt erhalten, jedoch zu wenig, um weiter damit zu arbeiten.

Ganz überzeugend wird noch der Versuch mit dem Milchsaft in der folgenden Weise. In kleinen Bechergläsern löste ich 36,2 mg Tyrosin, 33 mg Phenylalanin, 30,2 mg Phenylaminoessigsäure in der Kochhitze in 10 ccm Wasser und der berechneten Menge, d. h. 2 ccm 0,1-KOH. Darauf fügte ich allen Proben noch 0,5 ccm 0,1-KOH zu und machte ebenso eine Blankoprobe mit 12 ccm Wasser und 0,5 ccm 0,1-KOH. In jedes der vier Bechergläser tropfte ich 10 Tropfen des Milchsaftes derselben Euphorbia, welche Pflanze diesen Saft im Hochsommer reichlich liefert. Die Blankoprobe wurde sofort braungelb, nach $\frac{1}{4}$ Stunde zeigte sich eine etwas dunklere Farbe. Die Tyrosin- und Phenylaminoessigsäurelösungen zeigten jedoch in derselben Zeit eine dunkle schwarzgraue Farbe, die erstere war etwas dunkler als die letztere. Das Phenylalanin wird etwas schwerer oxydiert. Nach $\frac{1}{2}$ Stunde jedoch trat auch hier eine Differenz mit dem Blankoversuch ganz deutlich hervor. Die Proben wurden darauf in einen Thermostaten von 30° gestellt. Nach 24 Stunden wurden sie kontrolliert. Die Blankoprobe war noch braungelb, während in den drei anderen schwarze Flocken herumtrieben. Diese zeigten Melanineigenschaften, d. h. sie waren unlöslich in verdünnten Säuren und Laugen. Vergleicht man die Strukturformeln der drei

Verbindungen miteinander, dann zeigt sich eine große Ähnlichkeit.

Die erste Phase der Einwirkung der Tyrosinase wird also, der Wirkung auf die Phenylaminoessigsäure gemäß, eine desaminierende sein.



Da nun die Phenylaminoessigsäure zu einem Melanin weiteroxydiert wird, so ist man gezwungen, anzunehmen, und dies folgt auch aus dem Versuch mit dem Benzaldehyd, daß die Phenolase (wenigstens die der Euphorbia), welche die Tyrosinasewirkung vervollständigt, imstande ist, Sauerstoff in den Kern einzuführen. Die Stellen, die dafür in Betracht kommen, sind para- und ortho.

In der folgenden Weise habe ich versucht nachzuweisen, daß dies an der p-Stelle geschieht. Ich goß dazu Platten von der Zusammensetzung: destilliertes Wasser 100, Agar $1\frac{1}{2}\%$, Helicin $0,5\%$ und mischte vor dem Erstarren eine Messerspitze Emulsin bei. Schon bald machte sich der Geruch des Salicylaldehyds bemerkbar. Auf die Platten tropfte ich wieder den Milchsaft der Euphorbia. Nach $\frac{1}{4}$ Stunde zeigte sich um den Tropfen herum eine rosa Farbe, die am nächsten Tage in eine braunschwarze sich verwandelt hatte.

Hätte also die Phenolase in den Benzaldehyd Sauerstoff an die Orthostelle eingeführt, dann wäre Salicylaldehyd und eine rosa Farbe entstanden.

Aus dem Tyrosin soll also p-Oxyphenylacetaldehyd entstehen. Vermutlich wird dies rasch weiteroxydiert und kondensiert, was sich an dem geringen Kondensationsprodukte zeigt, das ich mit p-Nitrophenylhydrazin erhalten konnte.

Das Ammoniak, das abgespalten wird, braucht nicht ganz frei zu werden, da es weiter in der Reaktion aufgenommen werden kann, nämlich auf den Aldehyd einwirken kann. Wahrscheinlich läßt sich der p-Oxyphenylacetaldehyd wohl mit Ammoniak und Wasserstoffperoxyd zu einem Melanin kondensieren. Diesen Aldehyd hatte ich jedoch nicht zu meiner Verfügung.

Wie gesagt, wird also die erste Phase der Melaninbildung von einer Desamidase oder Aminoacidase nach Bach bewirkt und ist also weniger die Bildung eines Aldehyds mit einem Kohlenstoffatom als die zugehörige α -Aminosäure.

Die zweite Phase geht mit der Einführung von Sauerstoff in den Kern und weiterer Kondensation einher, wobei das zuerst abgespaltene Ammoniak sich wieder an der Reaktion beteiligt.

In den Melaninen doch, künstlichen sowohl als natürlichen, befindet sich immer Stickstoff, und zwar ungefähr in der gleichen Menge wie im Tyrosin. Dies zeigt sich auch an den Spaltungsprodukten der Melanine, unter denen sich NH_3 , HCN, Pyrrol, Pyridin oder Pyridinbasen, bisweilen Indol und Skatol vorfinden. Hiermit soll nicht gesagt sein, daß man in den natürlichen Melaninen immer das Tyrosin als Chromogen anzunehmen hat. Für einige, wie z. B. das Hippomelanin, ist dies von v. Fürth und Jerusalem¹⁾ erwiesen. Zugleich zeigten sie, daß der Schwefel kein integrierender Bestandteil der Melanine ist. Von wieder anderen Melaninen konnte wohl die Tyrosinase als Urheber der Reaktion, aber kein Tyrosin, jedoch wohl Tyrosinkomplexe als Chromogene dargelegt werden. Auch das Tryptophan, p-Oxyphenyläthylamin und Adrenalin können dazu nach Neuberg²⁾ dienen. Andere Oxydasen als die Tyrosinase geben ebenso mit Adrenalin zur Bildung von Melaninen nach Neuberg³⁾ und Jäger⁴⁾ Veranlassung.

Der Körper scheint wohl befähigt, die Melanine wieder zu lösen, was sich z. B. in dem Weißwerden der Haare zeigt. Vielleicht liegt hier der Weg, um Zwischenprodukte in die Hand zu bekommen.

Um zu untersuchen, ob es auch Mikroben gäbe, welche die Phenylaminoessigsäure zu einem schwarzen Pigment oxydieren könnten, goß ich Platten von der folgenden Zusammen-

¹⁾ Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 10, 131.

²⁾ Diese Zeitschr. 8, 383.

³⁾ Virchows Archiv 192, 514.

⁴⁾ Ebenda 198, 62.

setzung: Leitungswasser 100, Agar $1\frac{1}{2}\%$, $0,1\%$ Phenylaminoessigsäure neutralisiert mit der berechneten Menge Soda, $0,05\%$ K_2HPO_4 . Auf den Platten streute ich $0,2$ g Gartenerde, Kloakenschlamm und Grubenwasser aus. Viele verschiedene Sorten, unter ihnen Fluorescenten, Sporenbildner, Actinomyceten und Schimmelpilze, wuchsen auf den Platten. Unter tausenden Kolonien war jedoch keine einzige, die ein schwarzes Pigment bildete. Auch die *Microspira tyrosinatica*, die auf einer Kontrollplatte mit Tyrosin ein schönes Pigment bildete, war ohne jede Wirkung.

Wurde $0,1\%$ Amygdalin in eine Fleischpepton-Agarplatte gebracht und vor dem Erstarren eine Spur Emulsin, dann war im allgemeinen das Wachstum von Fluorescenten und *Microspira tyrosinatica* im Anfang wohl wegen der gleichzeitigen Abspaltung von HCN schlecht, und auch von einer Oxydation des Benzaldehyds zu einem schwarzen Pigment wurde nichts bemerkt. Fluorescenten wurden gewählt, da diese auch auf einer Tyrosinplatte eine rote Farbe hervorbringen.

Im übrigen wurde Tyrosinfärbung durch Bakterien gefunden von Carbone¹⁾ in alten Cholerakulturen, von Lehmann²⁾ und Sano durch die Wirkung von *Bact. putidum*, *Bact. phosphorescens* und *Actinomyces chromogenes*, und von Abt³⁾, der ein sporenhaltiges verflüssigendes Stäbchen als die Ursache der Bildung von schwarzen Flecken auf Häuten erkannte.

Zum Schluß möchte ich Herrn Prof. Blankisma zu Leiden meinen verbindlichsten Dank für die freundliche Überlassung der Phenylaminoessigsäure aussprechen.

Literatur der Melanine.

Maurice Piettre, *Compt. rend.* **153**, 1037; **155**, 594.

Rona und Riesser, *Zeitschr. f. physiol. Chem.* **57**, 143; **61**, 12.

Adler und Herzmark, *diese Zeitschr.* **49**, 130.

Landolt, *Zeitschr. f. physiol. Chem.* **28**, 192.

¹⁾ Rendi conti d'Istituto Lombardo 1906. Ref. Centralbl. f. Bakt. Landwirtschaftl. Teil **29**. X. 07. **19**. Nr. 19/20.

²⁾ Arch. f. Hygiene **67**, 99.

³⁾ Collegium **1913**, 204.

- Fasal, diese Zeitschr. 55, 393.
Eppinger, ebenda 28, 181.
Helman, Arch. intern. de Pharm. 12, 271.
Nencki und Sieber, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 24, 17.
Jones, Amer. Journ. of Phys. 2, 380.
Jones and Auer, ebenda 5, 321.
Mörner, Zeitschr. f. physiol. Chem. 11, 66.
Miura, Virchows Archiv 107, 250.
Brandl und Pfeiffer, Zeitschr. f. Biol. 26, 348.
Pouchet, Compt. rend. 112, 884.
Schmiedeberg, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 39, 65.
v. Duneschi, Atti Real. Ac. Lincei 10, 180.
Franz Samuely, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 2, 355.
Marussia Bakunin und G. Dragotti, Rend. Accad. Sc. Fis.-Mat.
Napoli 10, 222.
Hirschfeld, Zeitschr. f. physiol. Chem. 13, 407.
Nencki, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 28, 567.
Berdez und Nencki, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol.
20, 348.
Abel and Davis, Journ. of experim. Med. 1, Nr. 3, 361.
Chittenden and Abro, Amer. Journ. of Physiol. 2, 291.
v. Fürth, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 1, 229; 10, 131.
Spiegler, ebenda 4, 40.
Wolff, ebenda 5, 476.
Neuberg, Virchows Archiv 192, 514; diese Zeitschr. 8, 383.
Jäger, ebenda 198, 62.
-

Über die w-Methylsulfonsäure der p-Aminophenylarsinsäure.

Von

J. Abelin.

(Aus dem medizinisch-chemischen und pharmakologischen Institut der Universität Bern.)

(Eingegangen am 24. September 1916.)

Die Derivate der formaldehydschwefligen und der formaldehydhydroschwefligen Säure, deren chemisches Verhalten dank den Untersuchungen von Hugo Schiff¹⁾, Miller und Plöchl²⁾, Knovenagel³⁾, Bucherer⁴⁾ und Reinking, Dehnel und Labhardt⁵⁾ genau bekannt ist, haben in der letzten Zeit auch ein therapeutisches Interesse gefunden. Nach Volkmar soll dem Natriumsalz der formaldehydschwefligen Säure (w-methylsulfonsaures Natrium) eine günstige Wirkung bei der Gicht, sowie bei Pneumonie zukommen — eine Angabe übrigens, die von anderen Autoren bestritten wird. Das Natriumsalz der w-Methylsulfonsäure des 1-phenyl-2-3-dimethyl-4-amido-5-Pyrazolons (Melubrin) wird neuerdings als Mittel gegen Gelenkrheumatismus empfohlen⁶⁾. Als bekanntester Vertreter dieser Körperklasse gilt aber das Neosalvarsan, das Natriumsalz der w-Methylsulfoxylsäure des Dioxydiamidoarsenobenzols.

¹⁾ Hugo Schiff, *Annal. d. Chem.* **140**, 125; **144**, 145; **210**, 123.

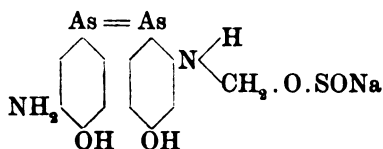
²⁾ Miller und Plöchl, *Ber. d. Deutsch. chem. Ges.* **24**, 1700, 1891.

³⁾ Knovenagel, *Ber. d. Deutsch. chem. Ges.* **37**, 4095, 1904.

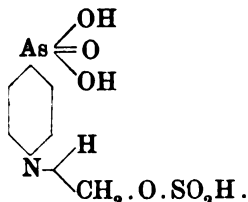
⁴⁾ Bucherer, *Ber. d. Deutsch. chem. Ges.* **39**, 986, 1906.

⁵⁾ Reinking, Dehnel und Labhardt, *Ber. d. Deutsch. chem. Ges.* **38**, 1069, 1905.

⁶⁾ Loehing, *Münch. med. Wochenschr.* **59**, 1912.



Im Anschluß an eine ganze Reihe *w*-Sulfonsäurederivate aromatischer Amine¹⁾, über deren pharmakologisches Verhalten nächstens berichtet werden soll, habe ich auch die *w*-Methylsulfonsäure der *p*-Amidophenylarsinsäure dargestellt.



Die neue Verbindung ist also ein Atoxylderivat, und zwar ein am N substituiertes Derivat. Sie steht ihrer chemischen Beschaffenheit nach dem Arsacetin (Acetyl-*p*-amidophenylarsinsäure) nahe. Trotz des ähnlichen chemischen Aufbaues unterscheidet sich aber das neue Atoxylderivat grundsätzlich von dem Arsacetin. Durch die Einführung des Essigsäurerestes wird das Atoxy (wie viele andere aromatische Amine) entgiftet, ohne daß seine Heilwirkung dadurch ungünstig beeinflußt wird. Nach den Angaben von Ehrlich²⁾ und Blumenthal und Jacoby³⁾ können vom Arsacetin 3- bis 10mal größere Dosen gegeben werden als vom Atoxy. Es gelingt sogar mit dem Arsacetin eine Heilung der mit Trypanosomen infizierten Mäuse auch in den Fällen durchzuführen, in denen das Atoxy versagt hat (Ehrlich). Anders verhält sich die *w*-Methylsulfonsäure der *p*-Amidophenylarsinsäure: hier bedingt die Einführung des formaldehydschwefligsauren Restes eine weitgehende Entgiftung. Die Herabsetzung der Giftwirkung ist aber von einer bedeutenden Schwächung der therapeutischen Wirksamkeit begleitet.

Man würde auf den ersten Blick geneigt sein, diese Tatsache durch die Anwesenheit einer Sulfogruppe (SO₃H) im

¹⁾ Annal. d. Chem. 411, 216, 229.

²⁾ Ehrlich, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 42, 25.

³⁾ F. Blumenthal und E. Jacoby, diese Zeitschr. 16.

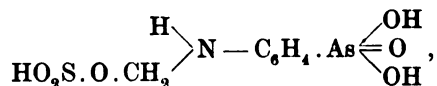
Molekül zu erklären. Denn gerade von der Sulfogruppe ist ja am sichersten bekannt, daß sie das Molekül entgiftet, zugleich aber therapeutisch unwirksam macht. Die nähere Betrachtung der chemischen Konstitution des neuen Atoxyderivates ergibt aber, daß die Verbindung keine Sulfogruppe enthält, da die w-Methylsulfonsäure und ihre Derivate nicht als Sulfonate, sondern als Ester der schwefligen Säure zu betrachten sind. Die Ester der schwefligen Säure enthalten aber keine direkte Kohlenstoff-Schwefelbindung, wie es die Sulfonatformel voraussetzt, sondern eine indirekte, vermittels des Sauerstoffatoms.

Für letztere Bindungsart spricht auch die leichte Abspaltbarkeit des Formaldehyds aus dem Molekül: wird eine kleine Menge der w-Methylsulfonsäure der p-Amidophenylarsinsäure mit 1 ccm einer 1⁰/₀igen frisch hergestellten salzsauren Phenylhydrazinlösung versetzt, aufgekocht und nach dem Erkalten mit 2 ccm einer frischen 5⁰/₀igen Ferricyankaliumlösung und mit 5 ccm konz. HCl zusammengebracht, so entsteht die für den Formaldehyd typische Rotfärbung (Reaktion von Schryver). Die leichte Formaldehydabspaltung widerspricht der Annahme einer Sulfogruppe (also einer direkten Kohlenstoff-Schwefelbindung).

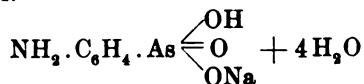
Die Entgiftung und die Herabsetzung der Wirksamkeit ist höchstwahrscheinlich auf die eigentümliche chemische Konstitution des formaldehydschwefligsauren Restes, sowie auch des Atoxyls zurückzuführen. Daß es dabei auch auf den speziellen chemischen Aufbau des Atoxyls ankommt, geht daraus hervor, daß in vielen anderen Fällen die Einführung der formaldehydschwefligen bzw. der formaldehydroschwefligen Säure eine Entgiftung ohne Veränderung der Wirksamkeit herbeiführt. Als Beispiel möge das w-methylsulfonsaure Natriumsalz des Salicylsäure-p-aminophenylesters dienen, das neben geringer Toxizität die volle Salicyl- und p-Amidophenolwirkung besitzt. Auch im Neosalvarsan ist die spirillocide Wirkung vollkommen erhalten.

Die w-Methylsulfonsäure der p-Amidophenylarsinsäure stellt also ein gutes Beispiel der eigentümlichen Beziehungen zwischen der chemischen Konstitution und der physiologischen Wirksamkeit dar. Der Einfluß des chemischen Aufbaues ist hier um so

mehr auffallend, als die w-Methylsulfonsäure der p-Amidophenylarsinsäure:



sowie das Atoxyl:



genau den gleichen Arsengehalt besitzen (As = 24,11% und 24,10%).

Darstellung.

Wegen der sehr leichten Wasserlöslichkeit des Dinatriumsalzes der w-Methylsulfonsäure der p-Amidophenylarsinsäure gelingt die Reindarstellung dieser Verbindung durch Umsetzen des Natriumsalzes der p-Amidophenylarsinsäure (Atoxyl) mit einer konz. wäßrigen Formaldehydnatriumbisulfitlösung nicht. Nach längerem Stehenlassen dieses Reaktionsgemisches erhält man gewöhnlich das Dinatriumsalz in Form einer farblosen Masse, die aber von anhaftendem Formaldehydnatriumbisulfit nicht befreit werden kann, da sie bei jeder Berührung mit Wasser sofort in Lösung geht. Man ist daher auf die Darstellung der freien w-Sulfonsäure angewiesen. Diese geschieht wie folgt:

6 g Formaldehydnatriumbisulfit werden in 10 ccm Wasser (eventuell unter schwachem Erwärmen) gelöst, die Lösung filtriert und mit 6,2 g des Mono-Natriumsalzes der p-Amidophenylarsinsäure versetzt. Die schwach gelb gefärbte, sirupdicke Flüssigkeit wird nach dem Abkühlen mit verdünnter Salzsäure versetzt, worauf die freie w-Sulfonsäure in Form von prächtigen, schneeweißen Nadeln ausfällt. Dieselben werden sofort abgesaugt, mit wenig salzsäurehaltigem Wasser und dann mit Alkohol gut gewaschen und getrocknet. Die so erhaltene Säure ist analysenrein und zersetzt sich unter Gasentwicklung und Gelbfärbung bei 148°. Die Haltbarkeit der Säure hängt sehr viel von der Arbeitsweise ab. Im allgemeinen erhält man Produkte, die längere Zeit haltbar sind. Es kommt aber auch vor, daß sich die Säure an der Luft gelblich färbt und dann einen niedrigeren Zersetzungspunkt (131 bis 134°) aufweist.

Methyl-Sulfonsäure der p-Aminophenylarsinsäure.

Nr.	Gewicht der Maus	Injizierte Menge in		Pro 20 g Maus injiziert in g	
		ccm	gr-Substanz		
1/8%ige Lösung.					
1	15	0,5	0,0025	0,0032	} Leben geblieben. Nach 3 Tagen tot. } Leben geblieben.
2	13	0,6	0,0030	0,0046	
3	13	0,6	0,0030	0,0046	
4	20	0,8	0,0040	0,0040	
5	10	0,5	0,0025	0,0050	
6	15	0,8	0,0040	0,0053	
7	15	1,0	0,0050	0,0066	
8	12	0,6	0,0030	0,0050	
1%ige Lösung.					
9	25	1,0	0,010	0,0080	} Leben geblieben.
10	25	0,8	0,008	0,0064	
11	25	0,6	0,006	0,0048	
12	20	0,7	0,007	0,0070	
13	24	0,5	0,005	0,0040	
14	25	0,6	0,006	0,0048	
15	25	1,0	0,010	0,0080	
16	27	1,2	0,012	0,0090	
17	25	0,9	0,009	0,0072	
18	20	0,7	0,007	0,0070	
19	15	1,0	0,010	0,0130	
20	17	0,8	0,008	0,0100	
2%ige Lösung.					
21	25	0,6	0,012	0,096	} Nach 2 Tagen tot. } Leben geblieben.
22	25	0,5	0,010	0,080	
23	15	0,6	0,010	0,013	
4%ige Lösung.					
24	20	0,6	0,024	0,024	} Leben geblieben.
25	20	0,3	0,012	0,012	
26	20	0,15	0,006	0,006	
5%ige Lösung.					
27	15	0,5	0,025	0,033	} Leben geblieben.
28	20	0,4	0,020	0,020	
10%ige Lösung.					
29	20	0,4	0,04	0,04	} Leben geblieben. Nach 3 Tagen tot. " 2 " "
30	21	0,5	0,05	0,05	
31	20	0,6	0,06	0,06	
32	19	0,7	0,07	0,07	
33	20	0,8	0,08	0,08	
34	22	0,8	0,08	0,08	
35	20	1,0	0,10	0,10	
Kontrollversuche mit Atoxyl (0,5%ige Lösung).					
1	15	0,8	0,004	0,00430	} Nach 4 Tagen tot. " 2 " " " 3 " "
2	15	1,0	0,005	0,00665	
3	15	0,8	0,004	0,00430	

Die Säure darf nicht im Schwefelsäureexsiccator getrocknet werden, da sie sich dabei unter Schwefeldioxydabgabe zersetzt.

N-Bestimmung:

0,2385 g Substanz gaben bei 18° und 719 mm Barometerdruck 9,6 ccm Stickstoff.

$C_7H_{10}O_6NAsS$. N ber. = 4,50%
 N gef. = 4,47%

Schwefelbestimmung:

0,244 g Substanz gaben 0,1815 g $BaSO_4$.

S ber. = 10,30%
S gef. = 10,20%

Arsenbestimmung:

0,2440 g Substanz gaben 0,1210 g $Mg_3As_2O_7$.

As ber. = 24,11%
As gef. = 23,93%

Die Toxizitätsversuche wurden an weißen Mäusen ausgeführt. Die w-Sulfonsäure wurde subcutan injiziert. Nach den Angaben von Ehrlich (l. c.) wirkt 1 ccm einer 0,5%igen Atoxylösung bei einer Maus von 20 g Körpergewicht tödlich. Dagegen werden von den Mäusen 0,5 ccm einer 5, sogar einer 10%igen Lösung der w-Methylsulfonsäure der p-Amidophenylarsinsäure ertragen. Die Entgiftung ist also eine sehr weitgehende. Näheres über die Versuche enthält vorstehende Tabelle auf S. 195.

Chemotherapeutische Untersuchungen an infizierten Mäusen mußten wegen des Krieges unterbrochen werden, so daß ein abschließendes Urteil über die therapeutische und prophylaktische Wirkung des Präparates nicht vorliegt. Die bereits ausgeführten Versuche lassen aber vermuten, daß die Heilwirkung der w-Methylsulfonsäure der p-Aminophenylarsinsäure gegen Trypanosomen im Vergleich mit dem Atoxyl bedeutend schwächer ist.

Notiz betreffend die proteolytischen Enzyme der *Drosera rotundifolia*.

Von
K. G. Dernby.

(Aus dem Nobelinstitut für physikalische Chemie zu Stockholm.)

(Eingegangen am 30. September 1916.)

Mehrere Forscher haben die proteolytischen Enzyme der *Drosera*-Arten untersucht, so z. B. Morren¹⁾, der zuerst zeigte, daß es sich um eine wirkliche Verdauung und um keine Bakterienwirkung handelte. Abderhalden²⁾ hat angegeben, daß die *Drosera*-Enzyme keine einfachen Peptide angreifen, und danach J. White³⁾, daß das *Drosera*-Extrakt genuine Eiweißstoffe in Peptone, die ihrerseits nicht angegriffen werden, umwandelt. Diese Reaktion geht nur in saurer Lösung vor sich. In den *Drosera*-Blättern gibt es also ein pepsinähnliches Enzym.

Ich habe diese Untersuchungen unter Anwendung von etwas anderen Versuchsmethoden wiederholt, und diese sind in einigen früheren Arbeiten ausführlich besprochen⁴⁾. Als Ausgangsmaterial dienten ca. 300 g frische Blätter von *Drosera rotundifolia*, die nach Zusatz von Glycerin und einigen Tropfen Chloroform für zwei Tage bei Zimmertemperatur sich selbst überlassen wurden. Dann wurden die Blätterreste abfiltriert, das tiefbraune Glycerinextrakt in einen Sörensen- schen Dialysator mit Kollodiummembran gebracht und in vier Tagen dialysiert, bis alles Glycerin herausgetreten war. Die hinterbliebene kolloidale Lösung, die ganz neutral reagierte

¹⁾ Morren, Bull. de l'Acad. de Sc. Belg. 1875/76, 39, 40, 42.

²⁾ Abderhalden und Teruuchi, Zeitschr. f. physiol. Chem. 1906, 49.

³⁾ J. White, Proc. Roy. Soc. 83, 1910.

⁴⁾ Dernby, Medd. fr. K. Vet. Ak. Nobelinst. 3. Nr. 14 u. 15, 1916.

(p_H^{-7})¹⁾, wurde im Eisschrank aufbewahrt. Diese Flüssigkeit diente dann als Enzympräparat.

In der einen der oben erwähnten Arbeiten habe ich die proteolytischen Enzyme einer anderen insektenfressenden Pflanze, der *Pinguicula vulgaris*, untersucht und dabei mit Sicherheit ein trypsinähnliches Enzym, aber keins vom Erepsincharakter gefunden. Wahrscheinlich gibt es auch Peptasen, die das Eiweiß zuerst angreifen.

Die Analysen sind meistens nach der Formoltitrationsmethode Sörensens²⁾, ausgeführt und die folgenden Resultate sind erhalten worden:

1. Peptasen.

Als Substrat wurde eine Acidalbuminlösung³⁾, die durch Zusatz von $\frac{1}{5}$ -Salzsäure bei verschiedenen Wasserstoffionenkonzentrationen ($p_H^{-4,5}$ u. ⁶⁾) in den verschiedenen Fällen gehalten war, angewendet. Die Kölbchen, die die Mischungen von Acidalbumin, Salzsäure, Drosera-Extrakt und Wasser enthielten, waren in einem Wasserthermostaten, worin die Temperatur auf konstant 38° gehalten war, eingesenkt. Die Formoltitration gab, wie auch zu erwarten war, keine deutlichen positiven Resultate.

Dagegen gab die Fällungsmethode mit Stannochlorid nach Schjerning⁴⁾ deutlich positive Resultate, so z. B. waren nach drei Tagen in einem Versuche, wo die Wasserstoffionenkonzentration p_H^{-5} entsprach, ca. 20% des ursprünglichen Eiweißes in Peptone umgewandelt.

2. Tryptasen.

Als Substrat dienten zentrifugierte und von Fett befreite Milchlösungen, die durch Zusatz passender Mengen $\frac{1}{5}$ -Natronlauge auf verschiedenen Wasserstoffionenkonzentrationen ($p_H^{-7,8}$ u. ⁹⁾) gehalten wurden. Die Versuchstemperatur

¹⁾ p_H bezeichnet nach Sörensen den Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentration, z. B. bedeutet $p_H = 7,8$, daß die Wasserstoffionenkonzentration $10^{-7,8}$ ist.

²⁾ Jessen-Hansen, Die Formoltitration, Handb. d. biochem. Arb.-Method. 6, 270.

³⁾ S. P. L. Sörensen, Enzymstudien II, diese Zeitschr. 1909, 21.

⁴⁾ Schjerning, Zeitschr. f. anal. Chem. 1898, 37.

war ebenso 38°, und als Antisepticum wurde Chloroform angewendet. In keinem Falle, auch nicht nach sechs Tagen, war irgendeine Spaltung eingetreten.

3. Ereptasen.

Diese Versuche wurden in derselben Weise wie die vorigen ausgeführt, nur wurden anstatt Casein Glycylglycinlösungen benutzt. Auch hier war das Resultat vollständig negativ.

Diese kleine Untersuchung scheint also die vorhergehenden zu bestätigen. Nur ein Enzym vom Pepsintypus, aber keine trypsin- oder erepsinähnlichen wurden im Extrakte der Blätter von *Drosera rotundifolia* gefunden.

Über den Purinstoffwechsel nach Giften.

Von

Julius Pohl.

(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität zu Breslau.)

(Eingegangen am 8. Oktober 1916.)

Systematische Untersuchungsreihen über Änderung des Purinstoffwechsels durch chemische Agentien liegen kaum vor. Meist sind es vereinzelte Stoffe, die in dieser Richtung untersucht werden. Ich verweise auf die Darstellung von Wierzchowski in der Analyse des Harns, von Neubauer-Huppert, 11. Aufl., S. 1067 resp. 914.

Durch die Untersuchungen von Minkowski¹⁾, der auf die Bedeutung des Allantoins im Purinstoffwechsel des Hundes als erster hingewiesen, Poduschkas, der die Unangreifbarkeit des Allantoins²⁾ festgestellt hat, und insbesondere durch die auf quantitativer Basis beruhenden Untersuchungsreihen von Wierzchowski ist das Allantoin als Endprodukt des tierischen Purinstoffwechsels erkannt worden. Alle älteren Literaturangaben, die sich mit der Änderung des Purinstoffwechsels beim Tiere beschäftigen, ohne auf das Allantoin Rücksicht zu nehmen, sind fast unbrauchbar und bedürfen der Ergänzung. Speziell bei Besprechung vieler als Stoffwechselgifte angesehenen Substanzen macht sich das Fehlen diesbezüglicher Angaben fühlbar, und eine ganze Reihe derselben müssen wenigstens einmal nach dieser Richtung hin untersucht werden: ich glaube daher, daß eine Kasuistik dieses Gebietes erhoben, und selbst wenn sie vielfach negativ verläuft, veröffentlicht werden mußte.

¹⁾ Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **41**, 375, 1898.

²⁾ Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **44**, 49, 1900.

Im allgemeinen werden Befunde, die am Tier durch die Allantoinbewegung gemessen werden, in dem Sinne auch für den Menschen Geltung haben, daß man bei ihm eine homologe Änderung der Harnsäure annimmt. Doch müssen die Erfahrungen mit Atophan, das quoad Harnsäure am Menschen so deutlich zur Wirkung kommt, nicht aber am Tier, in dieser Richtung zur Vorsicht mahnen.

Die folgenden Versuche sind im wesentlichen mit dem Quecksilberacetatverfahren von Wiechowski angestellt worden. Eine methodische Untersuchungsreihe ging zunächst dahin, durch Entfernung des die Allantoin-Quecksilberfällung störenden Harnstoffs das Verfahren zu verbessern. Durch Behandlung des Harns mit Formalin und Schwefelsäure fällt man eine Verbindung von Formaldehydharnstoff der Zusammensetzung nach $C_5H_{10}N_4$ nach C. Goldschmidt [siehe de Jager¹⁾]. Die Bemühungen, durch Entfernung des Harnstoffs in dieser Form (Filtration) vor weiterer Verarbeitung des Harns eine Verbesserung des Verfahrens der Allantoinbestimmung herbeizuführen, sind nicht gelungen; wenn auch einzelne zufriedenstellende Zahlen gefunden worden sind²⁾, so lehrt jedoch eine neuerliche Überprüfung des Verfahrens einen Mangel desselben: es zeigte sich, daß das Allantoin mit Formaldehyd in wechselnden Mengen, insbesondere in der Wärme, eine Verbindung eingehen kann, die sich der Quecksilberfällung entzieht.

Hingegen kann ich insofern eine Verbesserung der Methode mitteilen, als ich die Erfahrung gemacht habe, daß man den so lästigen Schwefelwasserstoff umgehen und das Verfahren wesentlich verkürzen kann, wenn man entweder mit Grünfütter genährte Kaninchen benutzt oder Hunden chlorarme Kost reicht. Die Allantoinbestimmung nimmt dann folgenden Verlauf:

A. 150 ccm des eventuell auf 300 ccm verdünnten Tagesharns werden mit 7 ccm verdünnter Schwefelsäure, 3 ccm verdünnter Essigsäure und 70 ccm einer 50%igen Phosphorwolframsäure versetzt und nach Absetzen des Niederschlags ($\frac{1}{4}$ Stunde) scharf abgesaugt.

¹⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 64, 112.

²⁾ Regehly, Dissertation Breslau 1914: „Versuche über die Beeinflussung der Allantoinausscheidung durch Benzol“.

B. Das Filtrat wird mit Bleioxyd in Substanz verrieben, bis die über dem Niederschlag stehende, nunmehr farblose Flüssigkeit alkalisch reagiert. Daraufhin wird abgesaugt und mit 1 ccm des Filtrates auf Cl geprüft. Ist viel Cl vorhanden, dann ist das Verfahren nach Wiechowski-Handowsky¹⁾ einzuschlagen. Bei geringem Chlorgehalt

C. Einleiten von CO₂ in das mit festem CaCO₃ versetzte Filtrat des Bleiniederschlages. Nach 10 Minuten kräftigen Kohlensäurestromes Prüfung in einem abfiltrierten Kubikzentimeter auf Pb mit Na₂S; bei Bleifreiheit (alkalische Reaktion) Absaugen und

D. Filtrat messen und mit der dreifachen Menge des $\frac{1}{3}$ %igen Quecksilberacetatreagenzes zu versetzen. Der Niederschlag, der nach häufigem Umrühren bald grobflockig wird, wird nach $\frac{1}{4}$ Stunde aufs Filter gebracht, bis zur Quecksilberfreiheit ausgewaschen und zwecks N-Bestimmung in einem Kjeldahlkolben gespült (Zusatz von 20 %igem Natriumthiosulfat zur NH₃-Destillation!!). Das Verfahren erfordert bis zur N-Bestimmung etwa $1\frac{1}{2}$ Stunden.

Beleganalysen.

a) Von 0,1530 g zu Kaninchenharn zugesetztem Allantoin werden durch Vergleich mit dem nativen Harn 0,1465, d. h. 96 % wiedergefunden.

b) Vergleich des Schwefelwasserstoffverfahrens mit der Kohlensäuremethode: in je 150 ccm desselben Hundeharns

mit Ag. acet. + H₂S: 0,265 g Allantoin,
ohne H₂S; mit CO₂: 0,283 g "

Da bei toxikologischen Versuchen der Hunger vielfach mitspielt, gewisse Versuchsreihen absichtlich im Hunger durchgeführt werden, so muß der Einfluß des Hungerns auf die Allantoinausscheidung sichergestellt sein. Wiechowski²⁾ findet, daß die Allantoinausscheidung von vorher mit Hafer gefütterten Kaninchen und fleischfrei ernährten Hunden im Hungern nicht abnimmt. Meine Erfahrungen am Hunde geben folgende Ver-

¹⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 90, 211, 1914.

²⁾ Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 112.

suche 1 und 2 wieder; hier wie in allen Protokollen sind im Stab ccm die Harnmengen angeführt.

Versuch 1.

Hund A. Letzte Nahrung am 19. II. Gewicht 6700 g.

1. Versuchstag 20. bis 21.

Datum	Gew. g	ccm	Gesamt-N	Allant.	\bar{U}	Bemerkung
1. Hungertag	6400	214	5,40	0,641	Spur	ohne Wasser
2. "	6300	174	3,92	0,304	"	mit "
3. "		211	5,48	0,459	"	mit "

Versuch 2.

Hund D. 4500 g. Letztes Futter am 1. IV. 1. Versuchstag 2. bis 3. IV.

Datum	Gew. g	ccm	Gesamt-N	Allant.	Bemerkung
1. Hungertag	3900	117	5,35	0,548	Wasser ad lib.
2. "	3900	0	2,82	{ 0,312	(0,156 p. die)
3. "	3900	62			
4. "	3800	113	5,24	{ 0,557	(0,278 p. die)
5. "	3700				
6. "	3600	102	4,47	0,422	

Der Hunger bedingt somit ein Absinken der Allantoinwerte. Die Tiere wurden in Glaskäfigen gehalten, die Harne in etwas vorgelegter verdünnter Schwefelsäure aufgefangen; das Futter wurde immer zugewogen.

II. Änderung der Allantoinausscheidung durch chemische Stoffe.

A. Halogensalze.

Die Beeinflussung des Stoffwechsels durch Halogensalze, gemessen durch Bestimmung des Gesamt-N, ist am Kaninchen von Sgalitzer¹⁾ untersucht worden. Seine Arbeit hat vor allem ergeben, daß gegenüber der Indifferenz von NaCl und NaBr das Jodalkali eine eingreifende Änderung des Stoffwechsels hervorruft. Es förderte oder hemmte in wechselnder Weise den Gesamtstoffwechsel. Außerdem rief es häufig anatomisch nachweisbare Schädigungen der Leber hervor. Bemerkenswert erscheint ein Versuch, wo an demselben Tier Kochsalz und hinterher Jodnatrium verabfolgt wurde: während auf Kochsalz eine Stickstoffverminderung um 3,1% eintrat, stieg nach einer

¹⁾ Kritische Versuche zur Beurteilung der Jodalkaliwirkung. Arch. internation. de Pharmacodynamie 18, 285, 1908.

äquimolekularen Menge Jodnatrium der Stickstoffwert um 20,8% über das Normale.

Über die Beeinflussung des Purinstoffwechsels mit Brom- und Jodnatrium liegen folgende Angaben aus Marforis Laboratorium (Neapel) vor: Chistoni¹⁾ findet bei Hunden nach großen und mittleren Dosen per os gereichten Jodkaliums eine Steigerung des Stoffwechsels gemessen am N, \bar{U} , \bar{U} und Purinbasen. Die konstante und fortschreitende Vermehrung der Purinbasenausscheidung erklärt er für eine bedeutsame Stoffwechselwirkung dieser Salze. 1912 findet Jappelli²⁾ in homologen Versuchen am Hunde nach Bromkali eine Verminderung der Harnsäure unter Ansteigen der Alloxurbasen, was auf eine Hemmungswirkung der Xanthinoxydase durch das Bromion zurückgeführt wird. Alle diese Versuche bedurften natürlich der Ergänzung durch Bestimmung der Allantoinausscheidung.

Versuch 3.

Hund mit trockenem Fleisch, 75 g Graupe und 100 g Kartoffeln ernährt.

Datum	Gew. g	ccm	N	Allant.	\bar{U}	Bemerkung
Normaltag	6100	310	2,38	0,416	0,015	
"	6100	267	2,30	0,413	0,012	2 g NaCl subcutan in 20 ccm Wasser
1. Versuchstag	6100	273	2,05	0,468	0,009	
2. "	6100	283	1,96	0,360	0,009	4,7 g NaBr subcutan in 50 ccm Wasser
Normaltag	6000	220	1,96	0,344	0,005	
1. Versuchstag	6000	339	2,16	0,389	0,017	
2. "	6000	297	1,90	0,390	0,005	

Versuch 4.

Hund mit 250 g frischem Pferdefleisch und 150 g Kartoffeln gefüttert.

Datum	Gew. g	ccm	N	Allant.	\bar{U}	Bemerkung
Normaltag	7800	307	5,92	0,44	0,03	3,24 g NaBr subcutan in 32 ccm Wasser
1. Versuchstag	7800	470	6,97	0,52	0,01	
2. "	7800	414	6,63	0,69	0,04	2 g NaJ subcutan
Normaltag	8200	347	7,43	0,688		
1. Versuchstag	8200	410	8,05	0,698		6 g NaJ subcutan in 40 ccm Wasser
2. "	8200	397	7,90	0,624		
Normaltag	7800	331	7,96	0,615		
1. Versuchstag	7800	299	7,12	0,539		
2. "	7900	315	6,83	0,594		

¹⁾ Arch. internation. de Pharmacodynamie 21, 339, 1911.

²⁾ Arch. internation. de Pharmacodynamie 22, 283, 1912.

Versuch 5.

Anderer Hund. Futter wie vorstehend.

Datum	Gew. g	oem	N	Allant.	\bar{U}	Bemerkung
Normaltag	9700	300	7,27	0,52	0,021	10 g NaJ subou- tanin 100 ccm Wasser
1. Versuchstag	9700	582	10,01	0,53	0,004	
2. "	9700	409	8,82	0,52	0,003	

Berücksichtigt man den Umstand, daß Schwankungen der Allantoinwerte bis 5 cg im Rahmen der Methodik und der Norm liegen, so muß den Halogensalzen eine Fähigkeit zur regelmäßigen Beeinflussung des Purinstoffwechsels am Tier abgesprochen werden. Insbesondere erscheint Versuch 5 beweisend, wo trotz der gewaltigen Dosis von 10 g Jodnatrium die Allantoinwerte konstant blieben.

B. Chlorcalcium.

Über den Einfluß der Calciumsalze liegt aus dem Jahre 1912 eine Untersuchung von H. Lubienicki¹⁾, die ein wechselndes Resultat ergab, vor. Lubienicki fand unter 16 Versuchen 9 mal, d. h. also in der Mehrzahl der Fälle eine Herabsetzung der Allantoinausscheidung, am Menschen (2 Versuche) Herabgehen der Harnsäurezahlen, von 0,54 auf 0,43, von 0,44 auf 0,33. Mein Versuch am Hunde stimmt mit der Mehrzahl der Lubienickischen Versuche am Kaninchen überein.

Versuch 6.

Hund mit trockenem Fleisch, etwa 75 g Graupe, 100 g Kartoffeln gefüttert.

Datum	Gew. g	oem	N	Allant.	\bar{U}	Bemerkung
Normaltag	6100	243	2,13	0,397	Spur	
1. Versuchstag	6100	110	1,08	0,104	"	2 g CaCl ₂ subou-
2. "	6300	535	4,90	0,325	0,067(?)	tan

Dabei bestand Abscedierung an der Injektionsstelle, was bei subcutaner Injektion von Calciumsalzen nicht zu vermeiden ist: ich verzichte deshalb auf weitgehende Verallgemeinerung.

¹⁾ Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 68, 394.

C. Arsenik.

Nächst dem Phosphor gilt Arsen in Form der arsenigen Säure für eines der heftigsten Stoffwechselgifte. Meine Versuche verliefen folgendermaßen:

Versuch 7a.

Kaninchen, 2200 g. Rübenfutter.

Datum	Gew. g	com	N	Allant.	Bemerkung
2 Normaltage	2150	302	1,455	0,1814	
1. u. 2. Versuchstag	2100	253	1,340	0,2772	2,5 mg arsenige Säure subcutan, Harn ei- weißfrei
3. u. 4. "	2100	460	1,211	0,3190	

Versuch 7b.

Hund mit gemischtem Trockenfutter (150 g) und 200 g Kartoffeln gefüttert.

Datum	Gew. g	com	N	Allant.	Ü	Bemerkung
Normaltag	7600	597	3,62	0,5644	0,014	
1. Versuchstag	7600	560	3,88	0,5961	0,021	10 mg arsenig- saurer Natron subcutan.
2. "	7600	730	3,84	0,5919	0,016	20 mg arsenig- saurer Natri- um subcutan.
3. "	7600	458	3,60	0,6326	0,021	

Beide Versuche verliefen in gleichem Sinne: es tritt Steigerung des Purinkörperumsatzes ein.

D. Blei.

Seit Garrods Zeiten wird dem Blei ätiologische Bedeutung für die Entstehung einer besonderen Gichtform zugesprochen. So fest die Klinik diesen Standpunkt behauptet, so schwankend sind die experimentellen Grundlagen für denselben. Eine der letzten Arbeiten aus diesem Gebiet stammt von Lüthje¹⁾ aus dem Jahre 1896. Lüthje fand beim Hunde nach Bleizufuhr keine Änderung der Harnsäureausscheidung, wohl aber hohe Alloxurbasenwerte. Rambousek²⁾ fand bei bleivergifteten Kaninchen ein Anwachsen der mit Phosphorwolframsäure fällbaren N-Fraktion des Harns. Allantoinzahlen fehlen bei beiden Autoren. Meine Erfahrungen bringen folgende Versuchsreihen, bei denen die Bleizufuhr einerseits vom Darne aus, andererseits durch Setzen eines subcutanen Bleidepots durchgeführt wurde.

¹⁾ Zeitschr. f. klin. Med. 29, 266.

²⁾ Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 7, 1910.

Versuch 8.

Kaninchen. Rübenfutter.

Datum	Gew.g	ccm	N	Allant.	Bemerkung
1. Normaltag	2600	140}	3,122	0,220	
2. "	2530	175}			
3. "	2300	135}	2,123		
4. "	2300	70}			
5. "	2460}	295	2,164	0,192	
6. "	2460}				
7. "	2240	240}	1,804	0,150	
8. "	2220	150}			
1. Versuchstag	2200	210}	1,464	0,093	0,25 g PbCO ₃ per os
2. "	2100	205}			
3. "	2000	110}	2,064	0,139	0,25 g " " " Eiweiß +
4. "	2000	190}			
5. "	2020	265}	1,930	0,122	" " " " +
6. "	2040	300}			
7. "	2000	320}	2,970	0,111	" " " " +
8. "	2000	360}			
9. "	2025	285			" 0
10. "	2020	175			" 0
11. "	2000	245			
12. "	1980	230			
13. "	1700	420}	2,837	0,069	
14. "	1500	130}			
15. "	1520	50			Tot. Kein Sektionsbefund. Lungen normal.

Versuch 9.

Kaninchen B. Rübenfutter.

Datum	Gew.g	ccm	N	Allant.	Bemerkung
1. Normaltag	2040	318}	1,985	0,2198	
2. "	2080	192}			
3. "	2040	198}	2,077	0,1668	
4. "	2080	215}			
1. Versuchstag	1960	203}	1,928	0,1557	0,25 g PbCO ₃ per os
2. "	1940	205}			
3. "	1940	175}	0,874	0,1536	0,25 g " " " ohne Eiweiß
4. "	1960	335}			
5. "	1980	270}	0,687	0,0822	" " " " "
6. "	1900	168}			
7. "	1740	200}	1,676	0,0578	" " " " "
8. "	1700	120}			
9. "	1680	167}	1,716	0,1242	" " " " "
10. "	1640	103}			

Datum	Gew. g	com	N	Allant.	Bemerkung
11. Versuchstag	1740	220	0,069	0,0514	
17. "	1880				
18. "	1920	350	2,182	0,2558	
19. "	1900	245			

Zusammenfassung der Versuche mit per os gereichtem Blei:
Abnahme des Allantoins, mit nachherigem Ansteigen zur Norm
im letzten Fall.

Versuch 10.

Kaninchen C. Rübenfutter.						
Datum	Gew. g	com	N	Allant.	Bemerkung	
1. Normaltag	2600	182	2,419	0,207		
2. "	2600	158				
3. "	2600	207	2,151	0,245		
4. "	2600	89				
1. Versuchstag	2640	195	4,45	0,299		
2. "	2540	297				
3. "	2500	245	4,22	0,423	etwas "	
4. "	2500	385				
5. "	2400	308				
6. "	2340	408				
7. "	2260	340	4,17	0,4255	wenig "	
8. "	2260	370				
9. "	2100	325				
10. "	2000	415	5,50	1,268		
11. "	1900	505				
16. "	1860	145	2,474	0,3382	1 g Pb carb. subc. kein "	
17. "	1900	290				
18. "	1860	400	1,846	0,2873	" "	
19. "	1800	210				

Somit hier andauernde Steigerung der Allantoinwerte.

Organische Stoffe.

Wiener¹⁾ hat, um eine etwaige Harnsäuresynthese beim Hunde zu prüfen, an solche malonsaures Natron plus Harnstoff verfüttert. Da seine Versuche nur auf Harnsäure, nicht auf Allantoin, Rücksicht nehmen, so bleibt die obige Frage noch offen, und ich nahm diesen Versuchstypus noch einmal auf.

E. Malonsaures Natron.

Es wurde einmal Natriummalonat und andererseits Natriummalonat + Harnstoff subcutan gereicht. Bei Eintritt einer

¹⁾ Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 2, 42 resp. 74.

synthetischen intermediären Harnsäurevermehrung auf diesen Körper hin müßte sich dieselbe in den Allantoinzahlen äußern.

Versuch 11.

Gelber Hund. 8100 g. Futter: 250 g frisches Pferdefleisch, 150 g Kartoffeln, Wasser ad libit.

Datum	ccm	N	Allant.	\bar{U}	Bemerkung
Normaltag	406	12,42	0,478	0,05	} 3,5 g Malonsäure (Schm. 132°) neutralis. subcutan
1. Versuchstag	350	11,82	0,444	—	
2. " "	378	10,93	0,456	0,04	

Versuch 12.

Dackel. 4900 g.

Datum	ccm	N	Allant.	\bar{U}	Bemerkung
Normaltag	288	8,71	0,662	0,03	} 2,5 g Malonsäure + 3 g Harnstoff subcutan
1. Versuchstag	262	7,96	0,646	0,02	
2. " "	315	5,60	0,412	0,01	

Auch diese Versuche sprechen somit nicht für eine Harnsäuresynthese beim Säugetier.

F. Cyannatrium.

Bei der maximalen Cyanvergiftung verquickt sich eine sekundäre Erstickungswirkung mit einem spezifischen Einfluß der Cyanwasserstoffsäure auf den Stoffwechsel. Die Möglichkeit einer fermentativen Störung des Abbaus der Stickstoffkörper sollten Versuche von A. Loewy¹⁾ und A. Loewy, Wolf und Osterberg²⁾ feststellen. Doch ergaben dieselben, daß die Harnstoffwerte sich im Verhältnis zum Gesamtstickstoff nach Cyanalkali gar nicht änderten, während die übrigen Befunde eine Schlußfolgerung in irgendeiner Richtung nicht gestatten. Bei meinem Versuche, der absichtlich so geleitet war, daß schwere Vergiftungserscheinungen vermieden wurden, die Dosis sich hart an die Grenze einer sinnfälligen, toxischen Vergiftung befand, wurden folgende Befunde erhoben:

Versuch 13.

Hund G. 65 g trockenes Pferdefleisch, 100 g Kartoffeln pro Tag.

Datum	Gew. g	ccm	N	Allant.	\bar{U}	Bemerkung
Normaltag	6420	179	6,824	0,438	0,01	} 3mal je 6,5 mg HCN als K-Salz subcutan.
1. Versuchstag	6400	155	5,733	0,454	Spur	
2. " "	6380	183	7,00	0,375	"	

¹⁾ Diese Zeitschr. 3, 439, 1907.

²⁾ Diese Zeitschr. 8, 132, 1908.

Somit hat eine derartige Intoxikation keinen auffälligen Einfluß auf die Allantoinausscheidung. Anders verlief ein Versuch an demselben Tier, das schon nach der zweiten Injektion, d. h. nach 15,2 mg Cyannatrium innerhalb 2 Stunden schwere Vergiftungserscheinungen, wie Zittern, starkes Erbrechen, usw. zeigte.

Versuch 14.

Datum	Gew. g	ccm	N	Allant.	\bar{U}	Bemerkung
Normaltag	6600	196	8,04	0,433	0,02	Um 11 ^h 6,5 mg HCN
1. Versuchstag	6300	133	3,82	0,428	0,006	" 1 ^h 8,7 " "
2. "	6360	139	6,12	0,374	0,02	" 3 ^h 9,7 " " Erbrechen um 1 ^{1/4} ^h

Unter diesen Bedingungen kam es demnach zu einer relativen Steigerung der Allantoinausscheidung, da man die verminderte Nahrungsaufnahme (vgl. Harnmenge und Stickstoffwert) in Betracht ziehen muß.

G. Benzol.

Die klinische Benützung des Benzols bei der Leukämie gründet sich auf die experimentellen Feststellungen seiner die Leukocytenzahl vermindernden Kraft¹⁾. Dieser Schädigung könnte eine vermehrte Purinausscheidung parallel gehen, was zu quantitativen Versuchen auffordert. Die Erfahrungen, die Regehy²⁾ gesammelt hat, brachten keine Entscheidung; denn er fand zwar eine Steigerung der Allantoinzahlen, doch gingen seine Werte nicht über die beim Normalen zu beobachtenden Zahlen hinaus. Auch ich möchte nach folgendem Versuch von keiner Vermehrung des Allantoins durch Benzol sprechen. Vielleicht daß erst wiederholte Benzoldarreichung die doch mögliche Allantoinvermehrung ergibt.

Versuch 15.

Hund 8500 g.					
Datum	ccm	N	Allant.	Bemerkung	
Normaltag	386	7,89	0,629	.	
1. Versuchstag	382	6,76	0,623	5 ccm Benzol per os	
2. "	428	7,21	0,536		
3. "	372	6,14	0,524		

¹⁾ L. Selling, Benzol als Leukotoxin. Zieglers Beiträge 51, 1911.

²⁾ l. c.

H. Brombenzol.

Hieran schließen sich noch Versuche mit Brombenzol, das ich mit Rücksicht auf seine schwere Giftigkeit und die eigenartigen synthetischen Stoffwechselprodukte (Baumann) herangezogen habe.

Versuch 16.

Hund 14100 g (250 g frisches Pferdefleisch und 150 g Kartoffeln).

Datum	ccm	N	Allant.	Bemerkung
Normaltag	343	8,54	0,791	4 ccm Brombenzol kein Eiweiß per os " "
1. Versuchstag	580	8,49	0,887	
2. "	252	7,42	0,758	
3. "	332	12,24	0,93	" "

Versuch 17.

Hund 8300 g.

Datum	ccm	N	Allant.	Bemerkung
Normaltag	311	7,45	0,449	3 ccm Brombenzol ohne Eiweiß per os " "
1. Versuchstag	343	7,75	0,548	
2. "	262	9,38	0,649	
3. "	525	7,57	0,589	Spur "

Beide Brombenzolversuche ergaben somit eine nennenswerte Allantoinsteigerung, die mit einer gleichen Bewegung des Gesamt-N parallel geht.

J. Salicylsäure.

Mit Rücksicht auf die Angaben, daß Salicylsäure beim Menschen Harnsäurevermehrung hervorrufe, wurde folgender Versuch am Hunde angestellt, der im wesentlichen eine Indifferenz der Substanz in der uns interessierenden Richtung ergab; auffällig allein ist die Harnsäureausscheidung: deutliche Zunahme der Harnsäurewerte ohne Steigerung der Allantoinzahlen.

Versuch 18.

Hund. Frisches Pferdefleisch.

Datum	Gew. g	ccm	N	Allant.	\bar{U}	Bemerkung
Normaltag	8120	392	9,59	0,445	Spur	
1. Versuchstag	8100	493	10,20	0,490	0,04	2 g salicylsaures Na
2. "	8120	377	10,07	0,343	—	per os
3. "	8000	345	10,44	0,402	0,03	

K. Phenylcinchoninsaures Natrium (Atophan).

Über die Einwirkung des Atophans auf die Purinausscheidung liegen entgegengesetzte Beobachtungen vor. Einerseits die Angabe von Starkenstein¹⁾, der eine Allantoinvermehrung fand und andererseits von Fromherz²⁾, der wechselndes Verhalten erhob.

Versuch 19.

Hündin.	Frisches Pferdefleisch.			
Datum	ccm	N	Allant.	Bemerkung.
Normaltag	340	6,62	0,56	
Versuchstag	275	7,72	0,46	1,5 g Atophan-Na per os

Der Vollständigkeit wegen sei erwähnt, daß F. Bönheim³⁾ nach einer Reihe von Oxychinolinderivaten starke Allantoinzunahmen nachwies.

L. Pilocarpin.

Über das Pilocarpin liegen literarische Angaben vor, nach denen dieses die Drüsensekretion und Darmbewegung erregende Mittel harnsäuresteigernd wirken soll. Nachdem sich herausgestellt hatte, daß 5 mg Pilocarpin subcutan bei einem 9240 g-Tier zu Erbrechen und dadurch zu Versuchsstörung führt, habe ich den folgenden Versuch (Versuch 20) mit geringerer Dosis und im Hunger ausgeführt. Bei Darreichung von 4 mg Pilocarpin innerhalb 2 Stunden betrug die Allantoinausscheidung 0,746 g in den nächsten 24 Stunden, während in einem homologen Hungerversuch an demselben Tiere in entsprechend gleicher Zeit 0,758 g Allantoin ausgeschieden wurde. Somit liegt auch hier ein negatives Resultat vor.

M. Morphin.

In der Arbeit von Luzzato⁴⁾ über Natur und Ursachen der Morphinglucosurie findet sich die Angabe starker Harnsäuresteigerung nach Morphinzufuhr. Luzzato fand in einer Vorperiode 0,1053 Harnsäure, in der Hauptperiode nach 1,25 g Morphin 0,38 und in einer Nachperiode 0,097 g \bar{U} .

Ich habe mit Rücksicht auf das regelmäßige Erbrechen

¹⁾ Arch. f. experim. Path. u. Pharm. 65, 1911.

²⁾ Diese Zeitschr. 35, 494, 1911.

³⁾ Zeitschr. f. experim. Path. u. Therap. 15, 379, 1914.

⁴⁾ Arch. f. experim. Path. u. Pharm. 52, 95, 1905.

gefütterter Tiere nach Morphindarreicherung den Versuch am hungernden Tier durchgeführt.

Versuch 21.

Hund.	7900 g.				
Datum	ccm	N	Allant.	\bar{U}	Bemerkung
Normaltag	110	2,526	0,0976	0,007	} 1 ccm 4 ⁰ / ₀ Morphin- lösung subcutan.
Versuchstag	163	2,501	0,1763	0,011	

Es ist demnach im Sinne Luzzatos eine deutliche Allantoinsteigerung zu verzeichnen.

N. Chinin.

Das Chinin gilt unbestrittenermaßen als ein Mittel, um den Eiweißumsatz zu hemmen [siehe in der älteren Literatur die Arbeit Prior¹⁾]. Es war nun interessant, gegenüber den bekannten Störungen des Gesamt-N resp. Harnstoffs der Allantoinausscheidung nachzugehen.

Versuch 22.

Hund.	6780 g, gefüttert mit getrocknetem Pferdefleisch.					
Datum	ccm	N	Allant.	\bar{U}	Bemerkung	
Vorperiode pro die	218	7,94	0,38	0	} 0,5 g Chinin. hydro- chloric. subcutan	
2 Vers.-Tage "	"	216	8,89	0,41		0,02
Nachperiode "	"	184	8,75	0,39		0,03

Demnach muß ich das Alkaloid als indifferent in dieser Richtung bezeichnen. Auch mit dem

O. Colchicin,

das in der Therapie der Gicht eine so große Rolle spielt und dessen Wirkung vielleicht mit dem Purinstoffwechsel direkt gar keinen Zusammenhang hat, machte ich die gleiche Erfahrung. In beiden Fällen ist aber die Harnsäuresteigerung beachtenswert.

Versuch 23.

Hund.	Frisches Pferdefleisch und Kartoffeln.					
Datum	Gewicht	ccm	N	Allant.	\bar{U}	Bemerkung
Normaltag	7300	376	11,81	0,595	0,014	} 1 mg Colchicin in H ₂ O subcu- tan. Keine be- sonderen Er- scheinungen
1. Versuchstag	7220	225	13,09	0,467	0,036	
2. "	6200	310	13,35	0,435	0,045	
3. "	7220	335	10,70	0,452	0,023	

¹⁾ Arch. f. d. ges. Physiol. **24**, 237, 1884.

III. Innersekretorisch gebildete Stoffe.

Adrenalin.

Daß den Drüsen mit innerer Sekretion eine bedeutsame Wirkung auf den Stoffwechsel zukommt, ist für die Schilddrüse vollkommen sichergestellt. Weniger eingehend untersucht ist die eigenartige Wirkung der Nebenniere resp. des Adrenalins. Es ist das Verdienst Faltas¹⁾, als erster auf die Veränderung des Purinstoffwechsels nach Adrenalin hingewiesen zu haben. Er fand beim Hunde eine gesteigerte Allantoinausfuhr, nicht aber am Menschen eine homologe Harnsäuresteigerung. Fleischmann und Salecker²⁾ haben die Beobachtungen Faltas bestätigt und in Einzelheiten erweitert. Wie meine folgenden Versuche zeigen, ist die Wirkung des Adrenalins keine ganz gleichmäßige: meist trat eine Harnsäuresteigerung, mitunter eine Allantoinsteigerung ein.

Versuch 24.

Schwarzer Hund. 250 g frisches Pferdefleisch, 150 g Kartoffeln.

Datum	Gewicht	com	N	Allant.	\bar{U}	Bemerkung
Normaltag	9500	510	8,72	0,426	0,006	3mg Suprarenin hydrochloric. synth. suboutan
1. Versuchstag	9500	440	10,05	0,912	0,1345	
2. "	9600	525	9,20	0,534	0,034	

Versuch-25.

Dasselbe Tier, nach 4 tägiger Pause.

Datum	Gewicht	com	N	Allant.	\bar{U}	Bemerkung
Normaltag	9400	418	8,638	0,590	0,027	3mg Suprarenin hydrochloric. suboutan. Spur Eiweiß. Kein Trommer.
1. Versuchstag	9600	270	8,324	0,675	0,105	
2. "	9400	556	9,785	0,553	0,037	
3. "	9400	432	8,250	0,402	0,016	

Versuch 26.

Gelber Hund. Futter wie beim vorhergehenden.

Datum	Gewicht	com	N	Allant.	\bar{U}	Bemerkung
Normaltag	8000	300	6,258	0,383	0,033	3 mg Suprarenin hydrochloric. suboutan.
1. Versuchstag	8000	389	6,188	0,548	0,055	
2. "	8000	335	5,919	0,588	0,025	

¹⁾ Zeitschr. f. experim. Path. u. Ther. 15, 356, 1914.

²⁾ Zeitschr. f. klin. Med. 80, 456, 1914.

Versuch 27.

Dasselbe Tier, nach 4 tägiger Pause.

Datum	Gewicht	ccm	N	Allant.	\bar{U}	Bemerkung
Normaltag	8000	331	8,035	0,639	0,033	3 mg Suprarenin wie oben. Starke Nachtrommer. Spur Eiweiß.
1. Versuchstag	8000	380	8,289	0,584	0,047	
2. "	8100	263	8,049	—	Spur	
3. "	8200	322	7,330	0,528	0,032	

Infolge des Resultates des letzten Versuches (keine Allantoinvermehrung) habe ich, eine Störung der Harnsäureoxydation durch das Adrenalin vermutend, folgenden Versuch mit Harnsäureinjektion nach Adrenalinreichung angestellt.

Versuch 28.

Gelber Hund (von den Versuchen 26 u. 27).

Datum	Gewicht	ccm	N	Allant.	\bar{U}	Bemerkung
Normaltag	8300	342	8,26	0,593	0,014	
1. Versuchstag	8300	345	7,58	0,682	0,064	0,16 g \bar{U} als Na-Salz subcutan
2. "	8400	322	7,34	0,559	0,012	
3. "	8300	335	7,45	0,506	0,022	0,16 g \bar{U} -Na + 3 mg Suprarenin subcutan. Spur Eiweiß.
4. "	8300	360	6,77	0,539	0,064	
5. "	8200	335	7,33	0,443	0,034	
6. "	8000	332	7,33	0,307	Spur	

Während im Normalversuch am 2. Versuchstage 68% der injizierten Harnsäure als Allantoin ausgeschieden wurden, fällt bei Kombination Adrenalin plus Harnsäure die erwartete Allantoinvermehrung aus, ja es besteht ein auffälliges Harnsäuredefizit in Allantoinform. Da in diesem Falle die Allantoinmengen nicht entsprechend der Harnsäurezufuhr gestiegen waren, so mußte noch der Versuch von gleichzeitiger Allantoin- und Adrenalinzufuhr durchgeführt werden.

Versuch 29.

Gelber Hund. Frisches Pferdefleisch, Kartoffeln.

Datum	Gewicht	ccm	N	Allant.	\bar{U}	Bemerkung
Normaltag	8800	395	7,90	0,548	0,041	0,5 g Allantoin + 3 mg Suprarenin subcutan. Kein Zucker.
1. Versuchstag	8600	405	11,02	0,934	0,062	
2. "	8600	380	9,55	0,486	0,029	

Versuch 30.

Schwarzer Hund. Frisches Pferdefleisch, Kartoffeln.

Datum	Gewicht	ccm	N	Allant.	\bar{U}	Bemerkung
Normaltag	7400	285	5,27	0,396	0	0,5 g Allantoin + 3 mg Adrenalin subcutan, kein Zuck. Starke Diarrhoen; Gewichtsverl. Absoeß.
1. Versuchstag	6600	400	8,31	0,753	0,016	
2. "	7000	365	8,77	0,412	0,023	

Da also zugeführtes Allantoin zu 77 resp. 71% ausgeschieden wurde, so kann der Kombinationsversuch (Harnsäure plus Adrenalin) wohl nur im Sinne einer Oxydationsstörung und \bar{U} -Retention gedeutet werden.

Sodann ging ich zur Frage der Nucleinsäureverarbeitung unter dem Einfluß des Adrenalins über. Ich vermutete, daß sich die auf Nucleinsäure an sich eintretende Allantoinvermehrung durch Adrenalin nur noch steigern würde.

Die Nucleinsäure (aus Hefe, Präparat von Merck) enthält laut meiner Analyse 14,71% N.

Versuch 31.

Gelber Hund.		Zugewogenes Futter.				Bemerkung
Datum	Gewicht	ccm	N	Allant.	\bar{U}	
Normaltag	8200	280	8,15	0,324	Spur	
1. Versuchstag	8200	304	10,05	0,555	0,024	2 g Hefe-Nucleinsäure (subc. Harn ohne Eiweiß)
2. "	8100	375	10,08	0,329	0,050	
4 Tage später						
Normaltag	8300	323	9,23	0,306	0,038	
1. Versuchstag	8400	305	9,53	0,201	0,057	2 g Hefenucleinsäure + 3 mg Adrenalin subcutan. Eiweiß- haltig.
2. "	8500	332	10,64	0,254	0,048	
3. "	8500	473	12,75	0,518	0,054	

Es zeigte sich also homolog mit dem \bar{U} -versuch auch hier keine Addition der Wirkungen, sondern im zweiten Falle höchstens eine Spätausscheidung vermehrten Allantoins.

Wie energisch die Adrenalinwirkung ist, geht auch aus nachstehendem Versuch im Hunger hervor.

Versuch 32.

Hund.	Dackel.	Letztes Futter		18. III.	III.	Gewicht am
Datum	Gewicht	ccm	N	Allant.	\bar{U}	Bemerkung
19. III.	4940					g.
20. III. 16.	4500	0	2,741	0,483	0	
21. III. 16.	4300	82				
22. III. 16.	4400	0	4,137	0,676	0,006	Am 22. III. früh 3 mg Adrenalin subcutan.
23. III. 16.	4160	170				
24. III. 16.	4060	145	5,535	0,699	0,044	
25. III. 16.	4000					

Während sonst im Hunger die Tendenz zum Absinken des Stickstoffs, Allantoins und der Harnsäure-Werte besteht, sehen wir hier unter dem Einfluß des Adrenalins das Gegenteil eintreten.

Um nun festzustellen, ob durch Vergrößerung der Adrenalindosis die Stoffwechselwirkung parallel zunimmt, stellte ich folgende Versuche an.

Versuch 33.

Hund. Trockenfutter, Wasser nach Belieben.

Datum	Gew. g	com	N	Allant.	P ₂ O ₅	Ü	Bemerkung
Vortag	7400	855	3,83	0,464	0,69	0,014	{ Erhält um 10 ^h , 1 ^h , 4 ^h je 2 mg Adrenalin, also 6 mg im ganzen.
1. Versuchstag	7500	1020	4,23	0,807	0,61	0,059	
2. "	7800	788	15,7?	1,173	1,41	0,170	
3. "	7700	755	6,1	0,525	0,83	0,005	

Der außerordentlich hohe Harnsäurewert am 2. Versuchstage veranlaßte mich zu einer zweiten Bestimmung mit einem Quantum desselben Harns: wir erhielten einen dem ersten ganz nahestehenden Wert. Die tadellos aussehenden Krystalle enthielten 33,0% N, ein Stäubchen derselben gab kräftigste Murexidreaktion.

Dasselbe Tier dient nach 4 Tagen zu folgendem Versuch mit 10 (!) mg Adrenalin.

Versuch 34.

Datum	Gew. g	com	N	Allant.	P ₂ O ₅	Ü	Bemerkung
Normaltag	7700	650	2,91	0,501	0,52	0,17	{ 9 ^h , 11 ^h , 1 ^h , 3 ^h , 5 ^h je 2 mg Adre- nalin subcut.
1. Versuchstag	7400	750	4,05	0,665	0,53	0,48	
2. "	7500	715	3,26	0,439	0,82	0,005	
3. "	7600	650	2,97	0,46	0,72	0,018	

Die gewaltige Dosis von 1 cg Adrenalin hat also nicht stärker gewirkt als sonst oft 3 mg.

Beachtenswert erscheint in beiden Versuchen die Phosphorsäureausscheidung: sie zeigt als Beweis, daß wirklich Nucleoproteide oder Nucleine vom Adrenalin angegriffen werden, Zunahmen. Gerade hierin ist ein prinzipieller Unterschied gegenüber der Atophanwirkung am Menschen gegeben, wo die Phosphatausscheidung konstant bleibt.

Läßt sich die Allantoinvermehrung nach Adrenalin allein nun mit der Einwirkung des letzteren auf den Zucker- resp. Glykogenbestand vergleichen? Dort wird durch die Erregung sympathischer Nervenendigungen das Glykogen mechanisch in die Anfänge der Lymphgefäße gedrängt (Hofmeisters¹⁾ Theorie der

¹⁾ Hofmeister, Der Kohlenhydratstoffwechsel der Leber. Wien 1918.

Piqué). Es wird der Diastase des Blutes überantwortet und als Zucker ausgeschieden. Hier könnte es sich jetzt um eine Harnsäureausschwemmung oder Purinabspaltung handeln. Da ich die Existenz von Harnsäuredepots im normalen Körper (physiologische Gicht!) für nicht bewiesen halte, so bleibt zur Deutung des Befundes nur die Vorstellung gesteigerter Spaltung oder Oxydation von Nucleoproteiden (Nucleosiden und Nucleotiden) übrig. Daß das zugeführte Adrenalin etwa die Rolle eines oxydativen Ferments spiele, steht im Gegensatz zu allem, was wir über die fermentative Leistung des Adrenalins wissen. Daß das Phänomen etwa indirekt durch eine vom Adrenalin hervorgerufene Leukocytose bedingt ist, möchte ich aus folgendem Grunde ablehnen: Am Menschen, für den die Adrenalinleukocytose nachgewiesen ist, wirkt, wie oben angeführt, das Adrenalin quoad Harnsäure nicht, und am Tier (Kaninchen) ist eine nennenswerte Leukocytose nach Imchanitzky¹⁾ nicht vorhanden.

Als weiteres Material für eine spätere endgültige Klarstellung dieses interessanten Phänomens sei auch nachfolgender Versuch angeführt. Man könnte sich vorstellen, daß das Adrenalin nicht direkt, sondern durch Vermittlung einer anderen, den Stoffwechsel alterierenden Drüse mit innerer Sekretion wirksam ist, z. B. der Schilddrüse²⁾. Diese letztere Auffassung widerlegt folgender Versuch an einem Hunde, dem 14 Tage zuvor beide Schilddrüsen total extirpiert worden waren. Das Tier bekommt die letzte Nahrung am 23. II. früh. Gewicht 7600.

Versuch 35.

	Gewicht	com	N	Allant.	\bar{U}	Bemerkung
Normaler Hungertag	7100	290	12,80	0,660	0,12	
1. Versuchstag	7100	620	11,42	0,847	0,16	3 mg Adrenalin subcutan

somit typische Adrenalinwirkung am schilddrüsenfreien Tiere.

Nachdem in der Literatur die Angabe sich findet, daß Chlorcalcium die Adrenalin- und Phloridzin-Glykosurie zu hemmen imstande ist³⁾, mußten auch entsprechende Versuche quoad

¹⁾ Berlin. Med. Diss. 1911.

²⁾ Ich erinnere an die Mitteilung von L. Asher (Deutsche med. Wochenschr. 1916, N. 34) mit Angaben über Förderung der Adrenalinwirkung durch Schilddrüsensekret.

³⁾ Schrank, Maly Jahresber. 1909, S. 1273; Brown, Chem. Centr. 1904, 2, 141.

Allantoin resp. Harnsäureausfuhr nach Adrenalin durchgeführt werden.

Versuch 36.

Hündin. Getrocknetes Pferdefleisch. Kartoffeln.

Datum	Gewicht	com	N	Allant.	\bar{U}	Bemerkung
Normaltag	6380	183	7,00	0,375	0,013	
1. Versuchstag	6360	287	6,16	0,463	0,044	3 mg Adrenalin subcutan.
2. "	6360	215	8,45	0,431	0,020	
Normaltag	6360	256	8,69	0,397	0,032	
1. Versuchstag	6380	245	8,69	0,489	0,045	3 mg Adrenalin + 1 g CaCl ₂ subcutan.
2. "	6380	298	10,33	0,384	0,050	

Während mein Versuch S. 205 und auch eine Anzahl in der Literatur mitgeteilter dem Chlorcalcium eine Hemmungswirkung quoad Allantoinausscheidung nachweisen, ergibt sich hier, daß das Adrenalin diese Störung zu überwinden imstande ist¹⁾.

r-Adrenalin.

Um die Differenz der Wirkung, die für l- und d-Adrenalin von Abderhalden und Müller²⁾ festgestellt worden ist, auch für Allantoin nachzuprüfen, wurde folgender Versuch ausgeführt.

Versuch 38.

Hund. Frisches Pferdefleisch und Kartoffeln.

Datum	Gewicht	com	N	Allant.	\bar{U}	Bemerkung
Normaltag	7200	315	12,52	0,471	0,03	
"	7200	363	11,50	0,497	0,01	
1. Versuchstag	7220	553	11,69	0,478	0,05	15 mg d-Suprarenin (Höchst)
2. "	7260	352	12,22	0,460	—	

¹⁾ Eine Bestätigung vorstehender Versuche am Hunde bringt auch der Kaninchenversuch 37, der mir nur wegen des am 3. Versuchstage eingetretenen Todes des Tieres (Bauchfelltuberkulose) nicht unbedingt zuverlässig zu sein scheint.

Versuch 37.

Kaninchen. Rübenfutter.

Datum	Gewicht	com	N	Allant.	\bar{U}	Bemerkung
1. Normaltag	2700	187	5,997	0,40	0,02	
2. "	2700	126				
3. "	2700	190				
4. "	2500	177				
1. Versuchstag	2400	250	3,318	0,34	0,04	2 mg Adrenalin subcutan.
2. "	2300	225	2,797	0,60		

²⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 58, 185.

Trotz Darreichung der dreifachen Menge von d-Adrenalin gegenüber dem sonst wirksamen l-Adrenalin ist in bezug auf Allantoin seine vollkommene Indifferenz hiermit sichergestellt.

Es wäre von Bedeutung, den Einfluß der Nebennierenrinde auf das beschriebene Adrenalinphänomen kennen zu lernen. Da es mir nicht gelang, präparativ Nebennierenrinde frei von Mark zu erhalten, die gewonnenen Extrakte deutlich blutdrucksteigernd wirkten, so habe ich jenen Bestandteil der Nebennierenrinde, der vielfach als Antagonist des Adrenalins besprochen wird, das Cholin gleichzeitig mit Adrenalin gereicht (Versuch 39).

Versuch 39.

Pudel. Trockenfutter, Wasser nach Belieben.						
Datum	Gew. g	ccm	N	Allant.	\bar{U}	Bemerkung
Normaltag	7600	564	4,16	0,7785	0,033	0,1 g Cholin (Höchst) sub- cutan.
1. Versuchstag	7500	580	4,27	0,8261	0,032	
2. "	7500	595	4,44	0,8275	0,035	
Normaltag	7600	603	3,93	0,5482	0,027	0,1 g Cholin und 3 mg Adrenalin (auf 3 Dosen verteilt).
1. Versuchstag	7600	725	3,83	0,6348	0,061	
2. "	7600	1020	3,97	0,2447	0,026	

Die gereichte Cholingabe ist ohne Einfluß auf den Adrenalineffekt.

In bezug auf ein weiteres innersekretorisches Produkt, das Pituglandol resp. Pituitrin sei auf die oben zitierten Versuche von Fleischmann und Salecker verwiesen. Diese Autoren fanden am purinfrei ernährten Tiere eine geringe Vermehrung des Allantoins, am Hungertier tritt nach einem von mir angestellten Versuch dieser Allantoinanstieg nicht mehr ein. Es besteht somit ein Gegensatz zu obigem Adrenalin-Hungerversuch.

Da in letzter Zeit dem Hypophysensekret hemmende Kräfte für andere innersekretorische Drüsen zugesprochen werden¹⁾, so wurde noch nachfolgender Versuch ausgeführt.

Versuch 39a.

Hund. Trockenfutter, Wasser nach Belieben.							
Datum	Gew. g	ccm	N	Allant.	P ₂ O ₅	\bar{U}	Bemerkung
Normaltag	7500	725	3,19	0,553	0,5	Spur	3 mg Adrenalin und 3 mg Pituglandol subcut.
1. Versuchstag	7500	643	3,78	0,524	0,36	0,032	
2. "	7500	761	3,37	0,419	0,80	0,019	

¹⁾ J. Pal, Chem. Centralbl. 2, 669, 1916.

Die harnsäuretreibende Wirkung des Adrenalins tritt hier unvermindert auf.

Als wirksamer Bestandteil der Hypophyse wird u. a. das β -Imidazolyläthylamin angenommen, und so führte ich auch mit diesem Körper zwei Versuche durch. Es ergab sich als in der uns hier interessierenden Stoffwechselrichtung indifferent resp. nicht sicher wirksam.

Versuch 40.

Gelber Hund. Frisches Pferdefleisch und Kartoffeln.

Datum	Gewicht	ccm	N	Allant.	\bar{U}	Bemerkung
Normaltag	8080	312	11,38	0,386	0,05	6 mg β -Imidazolyl- äthylaminchlorhy- drat subcutan.
1. Versuchstag	8100	505	8,92	0,295	0,03	
2. "	8060	317	6,38	0,372	0,025	
nach 6 Tagen						
Normaltag	8100	345	10,44	0,402	0,028	11 mg β -Imidazolyl- äthylaminchlorhy- drat subcutan.
1. Versuchstag	8120	250	10,86	0,345	0,037	
2. "	8140	434	11,28	0,491	0,017	

Schilddrüse.

Meine Erfahrungen mit diesem Organ seien nachstehend geschildert. Versuche über Jodothyrisin und Jodothyrisin + Natriumnucleinicum haben bereits Fleischmann und Salecker¹⁾ angestellt.

Versuch 41.

Hund. 150 g frisches Pferdefleisch, 100 g Kartoffeln.

Datum	Gewicht	ccm	N	Allant.	\bar{U}	Bemerkungen
Normaltag	7500	425	10,05	0,640	0,027	
"	7400	377	10,44	0,634	0,033	
1. Versuchstag	7100	360	13,54	0,583	0,005	14,5 g Schweinsschild- drüse per os
2. "	7200	285	10,41	0,450	0,015	14,5 g Schweinsschild- drüse per os
3. "	7600	300	12,12	0,440	0,040	
4. "	7580	375	13,63	0,575	0,036	

Versuch 42.

Dasselbe Tier wie in Versuch 38, nach 14 Tagen.

Datum	Gewicht	ccm	N	Allant.	\bar{U}	Bemerkung
Normaltag	7220	235	10,70	0,452	0,023	
"	7220	313	10,60	0,460	0,031	
1. Versuchstag	7240	250	10,73	0,356	0,006	14 g Schweinsschild- drüse per os
2. "	7000	515	11,32	0,526	0,011	14 g Schweinsschild- drüse per os

¹⁾ l. o. S. 470.

Schilddrüsensubstanz wirkt nach diesen Erfahrungen mindernd auf die Harnsäure- und Allantoinausscheidung; eine Störung der Harnsäureoxydation unter Schilddrüsensubstanz findet, wie folgende Versuche lehren, selbst dann statt, wenn die Harnsäure von außen zugeführt wird. Das Schicksal der injizierten Harnsäure bleibt ein Problem für sich.

Versuch 43.

Grauer Hund. 65 g getrocknetes Pferdefleisch, 100 g Kartoffeln.

Datum	Gewicht ocm	N	Allant.	\bar{U}	Bemerkung
Normaltag	8400 246	6,19	0,558	0	
"	8200 297	8,94	0,566	0	
1. Versuchstag	8100 332	8,55	0,685	0,022	0,3 g Na-Urat subcutan (65% als All. wiedergef.)
2. "	7900 341	8,56	0,517	0	0,3 g Na-Urat subcutan + 13 g Schweinschilddrüse per os
3. "	7900 387	8,61	0,506	—	
4. "	7900 256	5,33	0,319	0,003	
5. "	7900 445	9,66	0,671	0	
6. "	7900 513	9,78	0,603	0	13 g Schweinschilddrüse per os
7. "	7900 485	9,02	0,618	0	

Versuch 44.

Hund mit getrocknetem Pferdefleisch gefüttert.

Datum	Gewicht ocm	N	Allant.	\bar{U}	Bemerkung
Normaltag	6700 247	9,39	0,413	0,031	
1. Versuchstag	6640 226	8,70	0,531	0,014	13 g Schweinschilddrüse per os
2. "	6700 203	8,57	0,464	0,026	14 g Schilddrüse per os + 0,3 g Na-Urat subcutan
3. "	6700 215	8,52	0,299	0,043	
4. "	6700 175	8,10	0,455	0,028	
5. "	6720 189	8,78	0,460	0,030	
Normaltag	6700 240	7,94	0,465	0	
1. Versuchstag	6700 269	7,88	0,606	0,014	0,3 g Na-Urat subcutan (70% als All. ausgesch.)
2. "	6600 196	7,04	0,433	0,016	

Überblicken wir die Resultate vorstehender Versuche, so stützen sie die Erkenntnis, daß sich der Stickstoff-Stoffwechsel, der Eiweißkörperumsatz in zwei voneinander unabhängigen Formen bewegt. Änderung jener Umsetzungen, deren Endprodukt die Gesamtstickstoffsteigerung, die Harnstoffbildung ist, sind leicht hervorrufbar. Hingegen ist der Nucleoproteinstoff-

wechsel, wie er sich durch Harnsäure resp. Allantoinbestimmung messen läßt, äußerst schwer erregbar, fast stabil zu nennen. Gegenüber der großen Reihe negativ verlaufender Versuche seien zum Schluß die positiv ausgefallenen angeführt: Arsenik (Versuch 7), Blei (Versuch 10), Cyannatrium (Versuch 14), Brombenzol (Versuch 16, 17), Morphin (Versuch 21), Colchicin (Versuch 23), Adrenalin (Versuch 24, 25, 26, 32, 33, 34, 35, 36, 39).

Die harnsäuremindernde Kraft verfütterter Schilddrüsen bedarf noch weiterer Analyse.

Dabei sind die Resultate gewiß keine abschließenden; vielfach konnte ich nur einen Versuch durchführen: Wiederholung dieser, allerdings recht zeitraubenden Versuche wäre nur erwünscht.

Für die Mitwirkung an den Versuchen in analytischer Richtung bin ich Frl. Dr. M. Rawicz zu großem Danke verpflichtet.

Quantitative Bestimmung der Acetonkörper im Harn.

Von

Emil Lenk.

(Eingegangen am 11. Oktober 1916.)

I.

Aceton und Acetessigsäure.

Unter bestimmten Bedingungen treten Acetonkörper im Harn auf. Unter dieser Bezeichnung fassen wir 3 Substanzen zusammen:

Aceton $\text{CH}_3 \cdot \text{CO} \cdot \text{CH}_3$

Acetessigsäure $\text{CH}_3 \cdot \text{CO} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{COOH}$

und

β -Oxybuttersäure . . . $\text{CH}_3 \cdot \text{CH}(\text{OH}) \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{COOH}$

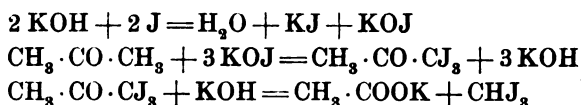
Als Muttersubstanzen sind nach neueren Anschauungen die Fettsäuren anzusehen, aus denen die Acetonkörper bei ungenügender Kohlenhydratverbrennung entstehen.

Aus dem Zuckermangel erklären sich alle Formen der Ketonurie: Beim Hunger, bei Verengerung der Speiseröhre, bei Krankheiten mit hohem Fieber usw.; vor allem aber bei der Zuckerharnruhr und hier besonders dann, wenn der Organismus sämtliche Kohlenhydrate der Nahrung ungenutzt ausscheidet und selbst der aus Eiweiß entstandene Zucker den Körper unverbraucht verläßt. Deshalb läßt sich die nicht-diabetische Ketonurie durch Kohlenhydratzufuhr steuern¹⁾; beim Diabetiker ist dies jedoch mit erheblichen Schwierigkeiten verbunden; jedenfalls ist die Ketonurie der Vorbote für das Coma diabeticum.

Es erscheint deshalb von großer Wichtigkeit, die täglich

¹⁾ von Noorden: Die Zuckerkrankheit. 5. Aufl. 1910. S. 133.

ausgeschiedene Menge der Acetonkörper kennen zu lernen. So hat Messinger¹⁾ die Liebensch Jodoformprobe²⁾ zu einer quantitativen Bestimmung des Acetons ausgearbeitet. Dieselbe beruht darauf, daß das Aceton des Harndestillates durch eine alkalisch gemachte Jodlösung in Jodoform verwandelt und das überschüssige Jod nach dem Ansäuern mit Thiosulfat zurücktitriert wird:



Bei dieser Methode wird auch das beim Destillieren des Harns aus der Acetessigsäure entstandene Aceton mitbestimmt (präformiertes + abgespaltenes Aceton). Die beste Beschreibung dieser Methode findet sich bei Neuberger³⁾.

Seit längerer Zeit sind bereits Methoden bekannt geworden, nach denen man Aceton und Acetessigsäure derart getrennt bestimmen kann, daß man zuerst das Gesamtaceton (präformiertes + abgespaltenes), dann das präformierte feststellt und aus der Differenz die Acetessigsäuremenge berechnet. So hat Folin⁴⁾ nach Versuchen von Schwarz⁵⁾ und Waldvogel⁶⁾ eine später von Stuart Hart⁷⁾ verbesserte Methode angegeben, die auf der leichteren Flüchtigkeit des Acetons bei niedriger Temperatur beruht, bei welcher die Acetessigsäure noch nicht in Aceton und Kohlensäure zerfällt. Auf derselben Grundlage basiert die Methode von Embden und Schliep⁸⁾.

Bei all diesen Bestimmungen ist aber eine Destillation des Harns unerlässlich, weil auch im normalen Harn jodbindende, aber nicht flüchtige Substanzen vorkommen. Es ist auch ausgeschlossen, eine quantitative Trennung des Acetons und der Acetessigsäure

¹⁾ J. Messinger: Ber. d. chem. Ges. 21, 3366, 1888.

²⁾ A. Lieben: Ann. d. Chem. u. Pharm. 7, Suppl. 236, 1870.

³⁾ C. Neuberger: Der Harn I, 302ff., 1911.

⁴⁾ O. Folin: Journ. of biol. Chem. 3, 177, 1907.

⁵⁾ L. Schwarz: Arch. f. experim. Path. u. Pharmakol. 40, 168, 1897.

⁶⁾ R. Waldvogel: Die Acetonkörper. Stuttgart 1903.

⁷⁾ P. Stuart Hart: Journ. of biol. Chem. 4, 473 u. 477, 1908.

⁸⁾ G. Embden u. L. Schliep: Centralbl. f. d. ges. Physiol. u. Path. des Stoffwechsels (N.F.) 2, 250 u. 289, 1907.

nach der oben erwähnten Weise zu erzielen. Ich habe es mir zur Aufgabe gemacht, zur Bestimmung des Acetons und der Acetessigsäure die Destillation des Harns dadurch zu umgehen, daß die jodbindenden, nicht Aceton liefernden Substanzen zerstört werden. Vor allem mußte besonders darauf Rücksicht genommen werden, daß auch der Traubenzucker, der ein fast steter Begleiter der Ketonkörper ist, leicht in Substanzen von Ketoncharakter zerfällt.

Die normal jodbindenden Harn-Substanzen plus dem Traubenzucker wurden auf die verschiedenste Weise zu zerstören versucht. Am besten hat sich das Kaliumpermanganat in saurer Lösung bewährt, welches die erwähnten Harnsubstanzen in nicht mehr jodbindende umwandelt. —

Als Säure wurde zuerst Schwefelsäure genommen. Die Methode war derart, daß Harn, der jeweils verschiedene Mengen Traubenzucker enthielt, mit Permanganat in schwefelsaurer Lösung unter Rückflußkühlung gekocht, dann Oxalsäure bis zur Entfärbung zugegeben wurde. Schließlich wurde die erkaltete Lösung alkalisch gemacht, die Mangansalze abfiltriert und das Filtrat mit $\frac{2}{10}$ -Jodlösung versetzt; nach einer Viertelstunde wurde nach dem Ansäuern das ausgeschiedene Jod mit Thiosulfat zurücktitriert. Niemals war bei entsprechender Menge von Permanganat Jod verbraucht worden.

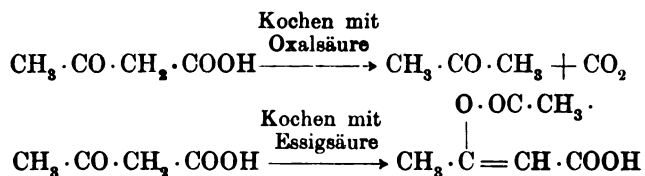
Mithin schien die Acetonbestimmung direkt im Harn ausführbar, weil Aceton von Permanganat nicht oder nur schwer angegriffen, ja oft mit Permanganat in einer Acetonlösung gearbeitet wird¹⁾. Es stellte sich jedoch heraus, daß die Acetessigsäure dabei zwar in Aceton glatt übergeht, daß aber das Aceton selbst, beim Erhitzen der schwefelsauren Lösung zerstört wird, mag man die Schwefelsäure auch noch so verdünnt nehmen. Das Aceton wird dabei zum Teil in Mesitylen umgewandelt. Deshalb wurden die verschiedensten Säuren auf ihre Eigenschaft untersucht mit Permanganat: 1. die jodbindenden im normalen Harn vorkommenden Substanzen + dem Traubenzucker zu zerstören, und 2. das Aceton intakt zu lassen. Am besten hat sich die Essigsäure bewährt.

¹⁾ Lassar-Cohn: Arbeitsmethoden für org.-chem. Laboratorien, Spez. Teil 1049, 1907.

Dabei konnte eine eigenartige Beobachtung gemacht werden, die für die Trennung der beiden beschriebenen Acetonkörper von großer Wichtigkeit ist. Während im allgemeinen Säuren und Laugen die Acetessigsäure in Aceton und Kohlensäure spalten (Ketonspaltung) und nur alkoholische Kalilauge einen Zerfall der Acetessigsäure in Essigsäure bewirkt (Säurespaltung), vermag das Permanganat in essigsaurer Lösung die Säurespaltung auszulösen. Diese Tatsache wird näher untersucht und in kurzer Zeit darüber berichtet werden.

Zur Darstellung der Acetessigsäure wurde der entsprechende Äthylester in der Kälte mit Natronlauge verseift, die Lösung mit Kohlensäure gesättigt, der Ester mit Äther entfernt und die Lösung des acetessigsäuren Natriums mit verdünnter Schwefelsäure neutralisiert. — Das Aceton wurde zur Reinigung über Permanganat destilliert.

Die Trennung der Acetessigsäure vom Aceton wird nun folgendermaßen ausgeführt: Beim Kochen der Lösung der beiden Acetonkörper mit Oxalsäure wird die Acetessigsäure in Aceton übergeführt (Gesamtaceton), beim Kochen mit Essigsäure bleibt das Aceton unberührt, während die Acetessigsäure in das Acetat der β -Oxycrotonsäure übergeht.



Das Acetat der β -Oxycrotonsäure gibt nicht mehr die gewöhnlichen Acetessigsäurereaktionen, spaltet sich aber bei Gegenwart von Permanganat höchstwahrscheinlich an der Stelle der Doppelbindung auf. — Wird die Untersuchung mit Harn ausgeführt, so werden die normal vorkommenden jodbindenden Substanzen, sowie der Traubenzucker durch das Permanganat zerstört, das Aceton jedoch intakt gelassen. Der gebildete Braunstein wird sodann mit Oxalsäure entfärbt, die Mangansalze werden mit Natronlauge gefällt und abfiltriert. Im Filtrat wird das Aceton nach der üblichen Methode als Jodoform bestimmt. Die Entfernung der Mangansalze hat sich als nötig erwiesen, weil sie ebenfalls Jod binden; die Natronlauge, die zur Fällung dient, darf nicht zu konzentriert sein.

Praktisch wird diese Methode folgendermaßen ausgeführt:

I. Bestimmung des präformierten Acetons.

10 ccm Harn werden in einem 250 ccm fassenden Erlenmeyerkolben mit 1 ccm konzentrierter Essigsäure, 50 ccm $\frac{n}{1}$ -Permanganatlösung und zur Verhütung des Stoßens mit etwas Bimsstein versetzt. Die Lösung wird bei Anwendung von guter Rückflußkühlung (Schlangenkühler) 20 Minuten im Sieden erhalten, sodann die Flamme entfernt, Oxalsäure bis zur Lösung des Braunsteins zugesetzt, indem man die Oxalsäure durch den Rückflußkühler eingießt. Unter Kohlensäureentwicklung löst sich der Braunstein rasch auf. Der Erlenmeyerkolben wird in einem Behälter mit kaltem Wasser abgekühlt, wobei man jedoch den Kolben an dem Rückflußkühler beläßt. Nach dem Erkalten der Lösung wird der Kolben vom Rückflußkühler entfernt, Stopfen (Gummi) und Kühler mit destilliertem Wasser gespült und die Lösung mit ca. 20 ccm einer 20%igen Natronlauge bis zur deutlichen alkalischen Reaktion versetzt. Nach dem raschen Absitzen wird das ausgefallene Manganhydroxyd mit Hilfe eines Faltenfilters abfiltriert, das Filtrat mit 20 ccm (bzw. mehr) einer $\frac{n}{10}$ -Jodlösung versetzt. Nach 10 Minuten wird mit Salzsäure vorsichtig angesäuert und das überschüssige Jod mit $\frac{n}{10}$ -Natriumthiosulfatlösung, zuletzt unter Zugabe von etwas Stärkelösung zurücktitriert.

II. Gesamtaceton.

10 ccm Harn werden mit 5 ccm $\frac{n}{10}$ -Oxalsäurelösung 10 Minuten unter guter Rückflußkühlung gekocht, sodann mit 1 ccm konzentrierter Essigsäure, 50 ccm $\frac{n}{1}$ -Permanganatlösung versetzt, indem man die Lösungen durch den Rückflußkühler eingießt. Weiter wird wie bei der Bestimmung des präformierten Acetons verfahren.

Die 50 ccm $\frac{n}{1}$ -Permanganatlösung, die zur Oxydation von 10 ccm Harn dienen, sind so berechnet, daß sie bis zu einer Anwesenheit von 2,5% Traubenzucker genügen. Bei Mehrgehalt des Harns an Zucker usw. muß die Permanganatmenge entsprechend erhöht werden. Jedenfalls darf die mit Permanganat gekochte Lösung nicht völlig entfärbt werden, d. h. die Lösung muß noch freies Permanganat enthalten. Ist

dies nicht der Fall, so muß Permanganat, bis zur in der Hitze deutlich bleibenden Violettfärbung, durch den Rückflußkühler zugesetzt werden. Es wurde angenommen, was auch Versuche wiederholt bestätigten, daß 1 Molekül Permanganat in essigsaurer Lösung 3 Atome Sauerstoff abgibt.

1 ccm verbrauchtes $\frac{n}{10}$ -Jod entspricht 0,000967 g Aceton.

Noch einfacher und ebenso genau gestaltet sich die Methode, wenn man statt 10 ccm 1 ccm Harn zur Analyse benutzt. Von den verwendeten Lösungen wird dabei natürlich nur der zehnte Teil genommen. Die Jodlösung und die Thiosulfatlösung sind $\frac{n}{100}$ oder besser $\frac{n}{200}$.

Zum Schlusse sei den Herren cand. chem. Fritz Roßteutscher und cand. chem. Walther Hahn für ihre Mithilfe bestens gedankt.

Beleganalysen.

Tabelle I.

Aceton.

Vorgelegt		Gefunden	
ccm	g	g	%
a) Verfahren wie bei der Bestimmung des präformierten Acetons.			
1	0,000078	0,000076	97,43
1	0,000078	0,000075	96,15
10	0,00078	0,00078	98,59
10	0,00078	0,00076	97,43
1	0,00078	0,00076	97,43
10	0,0078	0,0080	102,56
10	0,0078	0,0078	100,00
1	0,078	0,076	97,43
10	0,78	0,75	96,15
1	0,78	0,74	94,87
b) Verfahren wie bei der Gesamtacetonbestimmung.			
1	0,000078	0,000074	94,87
10	0,00078	0,00076	97,43
1	0,00078	0,00078	100,00
10	0,0078	0,0072	92,30
1	0,0078	0,0073	93,59
10	0,078	0,076	97,43
1	0,078	0,079	101,28
10	0,78	0,74	94,87
1	0,78	0,77	98,72

Tabelle II.
Acetessigsäure:

Vorgelegt		Gefunden	
ccm	g	g	%
a) Verfahren wie bei der Bestimmung des präformierten Acetons.			
1	0,0002	0	0
10	0,002	0	0
1	0,002	0	0
10	0,02	0	0
1	0,2	0	0
10	1	0	0
b) Verfahren wie bei der Bestimmung des Gesamtacetons, in Acetessigsäure umgerechnet.			
1	0,0002	0,00017	85
10	0,002	0,0019	95
1	0,0002	0,00021	100,5
10	0,004	0,0038	95
1	0,004	0,0038	95
1	0,006	0,0057	95
10	0,006	0,0058	96,7
1	0,00002	0,000019	95
10	0,008	0,0082	100,25
1	0,01	0,0096	96
10	0,01	0,0098	98
1	0,1	0,1004	100,4
10	0,1	0,1008	100,8
1	0,00001	0,00001	100

Tabelle III.

Aceton + Acetessigsäure im zuckerhaltigen Harn

Vorgelegt				Gefunden			
Harn ccm	Zucker g	Aceton g	Acetessigsäure g	Aceton g	Aceton %	Acetessigsäure g	Acetessigsäure %
1	0,02	0,000078	0,00001	0,000075	96,15	0,00001	100
10	0,2	0,00078	0,0001	0,00076	97,43	0,0001	100
1	0,02	0,00078	0,00002	0,00076	97,43	0,000019	95
10	0,2	0,0078	0,0002	0,0079	101,28	0,00021	100,5
1	0,05	0,00078	0,004	0,00077	98,72	0,0038	95
10	0,5	0,0078	0,04	0,00077	98,72	0,0039	97,5
1	0,05	0,00078	0,1	0,00074	94,87	0,098	98
10	0,5	0,0078	1,0	0,0076	97,43	0,998	99,8
1	0,04	0,078	0,008	0,079	101,28	0,0078	97,5
10	0,4	0,78	0,08	0,770	98,72	0,076	95

**Bemerkungen zu der von Gad-Andresen beschriebenen
„neuen“ Methode zur Bestimmung von Kohlenoxyd
im Blute¹⁾.**

Von
N. Zuntz.

(Eingegangen am 27. Oktober 1916.)

Die Methode ist in ihren Grundzügen nicht neu, vielmehr bereits in dieser Zeitschrift 11, 47 ff. von mir im Verein mit J. Plesch beschrieben worden. Wir gingen damals von den Erfahrungen aus, die auch Herr Gad-Andresen in bezug auf die Methode von Haldane gemacht hat. Es gelang auch uns nicht, nach der Haldaneschen Methode exakte Resultate zu bekommen. Offenbar hängt die Genauigkeit dieser Methode von Eigenschaften des Auges ab, die nicht allzu verbreitet sind. Ich habe mich selbst bei Gelegenheit eines Zusammenarbeitens mit Douglas (Teneriffa-Expedition) überzeugt, daß dieser im Gegensatz zu mir sehr gute Resultate erhielt.

Als Herr Plesch und ich unsere Methode ausarbeiteten, waren die Verfeinerungen, die Barcroft inzwischen an seiner Methode angebracht hat, speziell die Verwendung des sehr empfindlichen Nelkenöles als Manometerflüssigkeit noch nicht bekannt. Wir hielten uns außerdem an das Ammoniak zum Lackigmachen des Blutes gebunden, da wir den Eindruck hatten, daß Natronlauge unter Umständen tiefgreifendere Zersetzen bewirkt. Diese Gefahr vermeidet Gad-Andresen dadurch, daß er die Wirkung der Natronlauge mit Saponinlösung unterstützt. Bei unserem Verfahren, das an der angegebenen Stelle nachgelesen werden möge, ist ja das Ammoniak bei der Verbrennung vollkommen ausgeschlossen, weil wir die

¹⁾ Diese Zeitschr. 74, 357.

Zerstörung der Blutkörperchen in einem besonderen Behälter vornehmen, aus dem dann nur das entwickelte Gas unter Zwischenschaltung einer Schwefelsäurepipette zur Absorption des Ammoniaks in den Verbrennungsapparat eingeleitet wird. Die von Gad-Andresen befürchte Verbrennung von Ammoniakdampf wird durch diese Maßregel ausgeschlossen. Andererseits haben wir nachgewiesen, daß beim Glühen etwas Stickstoff der Luft verbrennt. Dieser Fehler wirkt bei unserer Anordnung nicht auf das Resultat, weil ja in beiden Birnen das Glühen gleich stark und gleich lang erfolgt. Wir haben uns durch besondere Versuche überzeugt, daß Glühen der Luft allein, ohne daß brennbares Kohlenoxyd darin vorhanden ist, den Stand der Manometer nicht verändert.

Insofern erscheint unsere Methode nicht ganz so vollkommen wie die von Gad-Andresen, als wir beim Versuch nicht zugleich die Absorptionsfähigkeit des Blutes für Sauerstoff bestimmen. Wir haben aber diese stets in einem besonderen Versuch ermittelt, indem wir eine Portion des Blutes vollständig mit Kohlenoxyd sättigten, dann dieses austrieben und zur Verbrennung brachten und so die gesamte Kohlenoxydkapazität des Blutes ermittelten.

Die Resultate, die mit unserer Methode beim Menschen gewonnen wurden, sind in der Abhandlung von Plesch: „Hämodynamische Studien“¹⁾ klinisch verwertet.

Nachschrift:

Durch die Freundlichkeit des Herrn Geheimrat Zuntz mit obenstehender Notiz bekannt gemacht, bedauere ich sehr, die betreffende Abhandlung von Zuntz und Plesch übersehen zu haben und gestehe bereitwilligst zu, daß die Priorität für die Kombination der Barcroft'schen Blutgasbestimmung mit Verbrennung des Kohlenoxyds den genannten Autoren unbedingt zukomme.

R. L. Gad-Andresen.

¹⁾ Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 6, 380.

Hornalbumose als teilweiser Ersatz von Fleischeiweiß beim Hunde.

Von
Carl Neuberg.

Die im folgenden mitgeteilten Versuche sind vor 10 Jahren ausgeführt; ihre Veröffentlichung ist damals unterblieben, da das angestrebte Ziel eines vollständigen Ersatzes von Nahrungseiweiß durch schwach hydrolysiertes Horn nicht erreicht werden konnte.

Durch den praktisch so bedeutsamen Vorschlag von N. Zuntz¹⁾, den Leim durch Zugabe der ihm fehlenden Eiweißbausteine in Form von Hornsubstanz zu ergänzen und so dieses unvollständige Protein zu einem in ernährungsphysiologischer Hinsicht vollwertigen Futtereiweiß zu machen, hat jeder Beitrag zur Frage nach der Ausnützbarkeit von Horn Interesse erlangt.

Die verwendete Hornalbumose war folgendermaßen, zum Teil fabrikmäßig, gewonnen. Äußerst fein zerkleinertes käufliches Hornmehl wurde unter mechanischer Rührung in die 10fache Menge 40° warmer 40%iger Schwefelsäure eingetragen. Der erhaltene gleichmäßige Brei wurde dann im Brutschrank aufbewahrt, bis fast vollständige Lösung erfolgt war. Dann wurde ohne Rücksicht auf noch vorhandene feste Partikel die Schwefelsäure unter Kühlung mit Barytwasser ausgefällt. Der entstandene Niederschlag von Bariumsulfat entfärbte zugleich die tiefbraune Flüssigkeit. Das neutralisierte Gemisch wurde dann aufgekocht, worauf das Bariumsulfat leicht filtrierbar wurde. Der zurückgebliebene Niederschlag wurde wieder in

¹⁾ N. Zuntz, Ersatzfuttermittel. Nachrichten aus dem Klub der Landwirte 1916, Nr. 597.

heißem Wasser suspendiert, abfiltriert und gründlich ausgewaschen. Die vereinigten klaren Filtrate, die von Spuren in Lösung befindlichen Bariums durch H_2SO_4 befreit werden müssen, wurden dann im Vakuum eingeengt und mit Alkohol gefällt. Der erhaltene Niederschlag wird abfiltriert, ausgewaschen und nach dem Trocknen abermals in Wasser gelöst und mit Alkohol wieder ausgefällt. Bei richtig gelungener Ausführung bildet die Hornalbumose ein gelbes, sandiges Pulver, das nicht hygroskopisch und völlig luftbeständig ist. Sie löst sich in Wasser mit schwach saurer Reaktion und zeigt alle Farbenreaktionen des ursprünglichen Keratins; der Stickstoffgehalt war = 15,33%.

Ogleich in der Hornsubstanz alle wichtigen Aminosäuren als Bausteine vertreten sind — vielleicht mit Ausnahme des Tryptophans, das nicht als Spaltprodukt isoliert, sondern nur mittels Farbenreaktionen nachgewiesen ist, und des Phenylalanins, das nicht aus sämtlichen Hornsorten abgeschieden werden konnte¹⁾ —, gelang es, wie erwähnt, selbst bei Zulage von Tryptophan und Phenylalanin nicht, mit reichlichen Mengen des Gemisches sowie mit Speck beim Hunde Stickstoffgleichgewicht zu erzielen. Nach den Versuchen²⁾ von O. Loewy, V. Henriques und C. Hansen sowie von E. Abderhalden und seinen Mitarbeitern ist es aber möglich, sogar mit vollständig abgebautem Eiweiß, sowohl mit enzymatisch verdaulichem als durch Säurehydrolyse zerlegtem, Tiere zu ernähren und im Stickstoffgleichgewicht zu erhalten. Der Mißerfolg mit den Keratinalbumosen kann auch nicht der chemischen Zusammensetzung des Gemisches, einem Mangel an bestimmten Bausteinen, zur Last gelegt werden, sondern er hat einen äußerlichen Grund: die Unverträglichkeit der Albumose infolge ihrer Durchfall erregenden Wirkung.

Der Stoffwechselversuch zeigt dementsprechend, daß bei

¹⁾ Nach E. Fischer und Th. Dörpinghaus (Zeitschr. f. physiol. Chem. 36, 462, 1902) findet sich Phenylalanin reichlich unter den hydrolytischen Spaltungsprodukten des Rinderhorns; nach E. Abderhalden und H. G. Wells (ebenda 46, 91, 1905) ist es nicht mit Sicherheit aus Pferdehaaren darstellbar.

²⁾ Literatur siehe bei O. v. Fürth, Probleme der physiol. u. pathol. Chem. 2, S. 63 u. ff.

teilweisem Ersatz von Nahrungseiweiß (Pferdefleisch) durch Hornalbumose nicht nur Stickstoffgleichgewicht, sondern auch eine allerdings mäßige Gewichtszunahme erreicht werden kann. Rund 30% des dargereichten Stickstoffs konnten als Hornalbumose verabfolgt werden. Dieser Wert stellt die Grenze dar, die durch die abführende, im allgemeinen Albumosencharakter gelegene Wirkung gezogen war.

Das Keratin, das durch den Verhornungsprozeß aus den Eiweißkörpern des Tierleibes hervorgeht und das gewissermaßen die Merkmale eines Exkrets besitzt, ist wegen seiner Unlöslichkeit in den Verdauungssäften für Ernährungszwecke ungeeignet. Nur die Motte und verwandte Tiere sind imstande, Hornsubstanz auszunutzen. Wenn aber durch eine Vorbehandlung die zufällige Unangreifbarkeit des Keratins beseitigt und dasselbe den Stoffwechselfermenten zugänglich gemacht ist, kann auch das Horn wieder in den Kreis der Nährstoffe zurückkehren.

Die

Versuche

ergaben, soweit sie mit Hornalbumose als alleiniger Stickstoffquelle angestellt worden waren, nur Mißerfolge. Ein Versuchstier verweigerte das Futter, ein aus angebratenem Speck, Stärke und Albumose bestehendes Gemisch, auch nach Würzung mit Salz und Fleischextrakt. Ein anderer Hund nahm dasselbe, bekam aber nach kurzer Zeit Durchfälle, die auch durch gleichzeitige Verabfolgung von Tannin nicht gestillt werden konnten.

Die Versuche gliederten sich, wie üblich, in eine Vorperiode, Hauptperiode und Nachperiode. Angeführt sei ein gut gelungener Versuch, bei dem rund $\frac{3}{10}$ des Nahrungstickstoffs durch Hornalbumose ersetzt werden konnten.

Zu den Versuchen diente eine Hündin, deren Anfangsgewicht 9,93 kg betrug. Die tägliche Nahrung des Tieres in der Vorperiode bestand aus:

50 g Speck	(N-Gehalt = 0,202%) = 0,101 g N,
280 g Pferdefleisch . (")	= 3,400% = 9,520 g N,
	insgesamt 9,621 g N.

Zur 24stündigen Nahrung wurden 2 g Kochsalz gefügt. Das Tier erhielt täglich nach Belieben frisches Wasser.

Wie aus der folgenden Tabelle ersichtlich ist, befand sich die Hündin bei dieser Nahrung angenähert im Stickstoffgleichgewicht. Das Tier war für derartige Versuche besonders deshalb geeignet, weil es in der erwähnten Weise ohne Darreichung von Kohlenhydraten ernährt werden konnte und gegen die abführende Wirkung der Albumose unempfindlich war.

In der Hauptperiode hatte die tägliche Nahrung folgende Zusammensetzung:

50 g Speck	(N-Gehalt = 0,202 ⁰ / ₁₀₀) = 0,101 g N,
190 g Pferdefleisch . ("	= 3,400 ⁰ / ₁₀₀) = 6,460 g N,
20 g Hornalbumose ("	= 15,330 ⁰ / ₁₀₀) = 3,066 g N,
	insgesamt 9,627 g N.

Die Darreichung dieser Nahrung gelang am besten, wenn die Hornalbumose mit dem gehackten Pferdefleisch innig gemischt und zu einem deutschen Beefsteak geformt war, das mit dem verabfolgten Speck leicht angebraten wurde.

In der Nachperiode hatte die tägliche Nahrung wieder dieselbe Zusammensetzung wie im Zeitraum des Vorversuchs.

Aus den tabellarischen Übersichten ergibt sich, daß die N-Bilanz, die in der Vorperiode ein ganz geringes Defizit aufwies, in der Hauptperiode positiv wurde, und diese positive Bilanz blieb auch in der Nachperiode bestehen. Den mitgeteilten Daten ist zugleich zu entnehmen, daß durch die Zugabe von Hornalbumose keine Verschlechterung in der Resorption des verabfolgten Gesamtnahrungstickstoffs eingetreten ist.

	Gewicht des Tieres kg	N-Gehalt der Nahrung g	Faeces		Urin	
			Menge g	N-Gehalt g	Menge cem	N-Gehalt g
Vorperiode:						
1. Tag	9,93	—	—	—	—	—
2. "	9,91	9,621	—	—	310	8,862
3. "	9,78	9,621	24,5	0,928	325	9,735
			(mit Knochenasche und Kieselgur)			
4. "	9,93	9,621	5,8	0,273	420	9,380
5. "	9,91	9,621	9,2	0,427	380	9,177
6. "	10,03	9,621	12,3	0,440	285	9,216
7. "	9,98	9,621	9,9	0,384	305	9,230
Insgesamt:		57,726		2,452		55,600

	Gewicht des Tieres kg	N-Gehalt der Nahrung g	Faeces		Urin	
			Menge g	N-Gehalt g	Menge ccm	N-Gehalt g
Hauptperiode:						
8. Tag	9,88	9,627	—	—	360	8,924
9. "	9,93	9,627	27,0 (mit Knochenasche und Kieselgur)	0,737	200	10,011
10. "	9,91	9,627	—	—	210	8,940
11. "	10,10	9,627	11,8	0,634	285	9,036
12. "	10,12	9,627	12,6	0,923	215	8,920
13. "	10,10	9,627	—	—	170	8,890
14. "	10,26	9,627	12,0	1,112	185	8,865
15. "	10,21	9,627	—	—	295	9,100
16. "	10,18	9,627	—	—	225	9,062
17. "	10,11	9,627	12,6	0,702	190	9,140
Insgesamt:		96,270		4,108		90,888
Nachperiode:						
18. Tag	10,15	9,621	20,6 (mit Knochenasche und Kieselgur)	0,582	225	9,170
19. "	10,18	9,621	—	—	270	9,282
20. "	10,10	9,621	—	—	205	8,902
21. "	9,97	9,621	11,5	0,902	185	8,983
22. "	9,98	9,621	5,9	0,310	235	9,299
23. "	10,12	9,621	—	—	210	9,169
24. "	10,05	9,621	6,3	0,318	—	—
Insgesamt:		57,726		2,112		54,805

**Über den Verlauf der alkoholischen Gärung
bei alkalischer Reaktion. I.
Zellfreie Gärung in alkalischen Lösungen.**

Von

Carl Neuberg und Eduard Färber.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie,
Chemische Abteilung, in Berlin-Dahlem.)

Die Vergärung der Brenztraubensäure durch das Enzym Carboxylase, die verschiedenartigen Beziehungen dieses Ferments zu dem Gesamtkomplex der Zymase und nicht am wenigsten die glatte Bildung von Kohlendioxyd und Äthylalkohol (über primär entstandenen Acetaldehyd) beim Zerfall der Brenztraubensäure weisen eindringlich darauf hin, daß unter den 3-Kohlenstoffverbindungen die Stoffe zu suchen sind, an denen sich der wirklich charakteristische Gärungsvorgang abspielt. Dieser besteht eben in letzter Linie in der Zerreißung der Kohlenstoffkette unter gleichzeitiger Bildung je eines Körpers der 1- und der 2-Kohlenstoffreihe. Diese späten Phasen des Gäraktes können als weitgehend geklärt gelten; der Feststellung harren noch die früheren Abbaustufen. Wie wiederholt auseinandergesetzt worden ist, bleibt es für das eigentliche Gärungsproblem gleichgültig, ob die Zucker der 3-Kohlenstoffreihe, der Glycerinaldehyd und das Dioxyaceton, an sich gären, oder ob sie zuvor erst in Hexosen zurückverwandelt werden müssen. Eine vorübergehende Entstehung der Hexosediphosphorsäure besagt ebenfalls für diesen Teil der Gärungsfrage nichts, sondern stellt noch eine neue Komplikation des Vorganges dar, solange die Vorfragen nicht geklärt sind, welche Verbindung nach Loslösung der beiden Phosphorsäuremoleküle eigentlich zerfällt, und ob denn überhaupt bei einer normalen Gärung — mit lebender Hefe — stets der Zuckerphosphorsäure-ester entsteht, dessen Bildung doch nur bei ungewöhnlich hohen Phosphatkonzentrationen und unter unnatürlichen Bedingungen

beobachtet werden konnte. Ganz hiermit in Übereinstimmung ließe sich weiter gegen die Bedeutung des Hexosephosphates als zwangsläufiger Zwischenphase anführen, daß es von lebender Hefe weder gespalten noch vergoren werden kann.

Wenn es auch nicht erforderlich erscheinen mag, jedes Zwischenprodukt der alkoholischen Gärung in Substanz zu fassen, so sind doch alle Versuche nach dieser Richtung hin wünschenswert, da jedes positive Ergebnis naturgemäß einen wesentlichen Fortschritt bedeutet. Zwei Wege erscheinen gangbar, um zu intermediären Gliedern des Zuckerabbaus zu gelangen. Erstens kann man versuchen, durch entsprechende Zusätze ein Zwischenprodukt zu binden und es so der normalen weiteren Umwandlung zu entziehen. Zweitens besteht die Möglichkeit, durch geeignete Veränderungen der Reaktion die Bildung neuer, ihrer Herkunft nach eindeutiger Umwandlungsprodukte zu erzwingen.

Da in der Stufenfolge der Zuckerabbauprodukte bis zur Brenztraubensäure herab alle Glieder wahrscheinlich Gebilde mit sehr reaktionsfähigen Carbonylgruppen darstellen dürften, so ist bei der ähnlichen Struktur des Ausgangsmaterials (Aldose oder Ketose) von vornherein die Aussicht gering, Reagenzien zu finden, die nur die Abbauerzeugnisse abfangen, ohne schon durch Bindung an das Ausgangsprodukt dessen Vergärung zu verhindern. Aus diesem Grunde kommen z. B. Substanzen wie Hydroxylamin oder Hydrazinbasen usw. nicht in Betracht¹⁾.

Auf dem zweiten genannten Wege eröffnen sich etwa die beiden Möglichkeiten, die Reaktion des Gärguts durch Säuren oder durch Alkalien zu verändern. Die erste von ihnen ist dadurch begrenzt, daß die Zymase nur bis zu einer gewissen, nicht sehr verschiebbaren Aciditätshöhe ihre Wirkung ausübt. Zwar tritt alkoholische Gärung noch bei Zusatz größerer Mengen bestimmter natürlicher Pflanzensäuren (wie Milchsäure, Äpfel-

¹⁾ A. Fernbach und M. Schoen (Compt. rend. de l'Acad. 157, 1478, 1913) haben angegeben, daß sich durch Zusatz von Calciumcarbonat die intermediär entstehende Brenztraubensäure bei der Vergärung von Zucker durch Champagnehefe in größeren Mengen abfangen ließe. Leider ist uns eine Verwirklichung dieses Versuches mit deutschen Hefen bisher nicht gelungen, und jene Behauptung muß zunächst auch befremdlich erscheinen, da Calciumpyruvinsäure erstens löslich und zweitens selbst weiter vergärbar ist.

säure, Brenztraubensäure u. dgl.) ein. Aber hierbei handelt es sich offenbar um eine Anpassung der Hefen, die somit den normalen Ablauf des Gäraktes gewährleisten wird.

Aussichtsreicher erschienen die Versuche, die Vergärung in alkalischer Lösung sich abspielen zu lassen, und zwar aus mehreren Gründen. Gerade unter dem Einflusse von Alkalien vollziehen sich jene eigentümlichen Übergänge von Zuckern der 6-Kohlenstoffreihe zu Substanzen mit drei Kohlenstoffatomen in Moleküle. Die Umwandlung der Hexosen in Milchsäure, Acetol und Methylglyoxal gehören hierher. Für den Vorgang der Methylglyoxalbildung aus den Zuckerarten haben C. Neuberg und W. Oertel¹⁾ sowie C. Neuberg und B. Rewald²⁾ in eingehenden Vorstudien zu der Frage des Zuckerumsatzes in alkalischen Lösungen zeigen können, daß hierzu keineswegs die Einwirkung starken Alkalis nötig ist, sondern daß schon schwächer alkalisch reagierende Substanzen, wie die Phosphate, Borate, Sulfite, Bicarbonate und Carbonate der Alkalien ausreichen. Ein Schritt weiter nach dieser Richtung geschah durch die Feststellung³⁾, daß die Zymase gegen alkalisch reagierende Substanzen ersichtlich beständiger ist, als man früher angenommen hatte. So zeigte der eine von uns³⁾, daß z. B. Hefemacerationssäfte eine viertelstündige Digestion mit der Hälfte ihres Volumens an $\frac{n}{2}$ -KOH bei 37° vertragen, ohne daß die darin enthaltene Zymase oder Carboxylase wesentlich beeinträchtigt werden; auch ein Zusatz von organischen Basen, wie z. B. von Pyridin, erwies sich in beträchtlicher Höhe als möglich³⁾.

Ganz gelegentlich und zu anderen Zwecken sind wohl auch sonst alkalische Zusätze bei Gärungen vorgenommen worden. So erwähnt Th. Bokorny⁴⁾, daß ein Zusatz von 0,1 bis 0,5% Natronlauge (das entspricht einer Konzentration der Mischung von 0,025 bis 0,125 molekular) die Gärung schädige; ähnliche Angaben machen Ch. Knoesel⁵⁾ und W. Henneberg⁶⁾. E. Buchner und H. Haehn⁷⁾ zeigten, daß eine hinreichende Alkalimenge

¹⁾ C. Neuberg und W. Oertel, diese Zeitschr. 55, 495, 1913.

²⁾ C. Neuberg und B. Rewald, diese Zeitschr. 71, 144, 1915.

³⁾ C. Neuberg, diese Zeitschr. 71, 51 u. 57, 1915.

⁴⁾ Th. Bokorny, angeführt nach Hägglund, zit. s. S. 241.

⁵⁾ Ch. Knoesel, Chem. Centr. 1902, I, 884 u. 1065.

⁶⁾ W. Henneberg, Chem. Centr. 1906, II, 1777.

⁷⁾ E. Buchner und H. Haehn, diese Zeitschr. 19, 203, 1909.

das Koferment der Zymase zerstört, und fanden dementsprechend für Hefepreßsaft bei einem Gehalte von 0,85% Kaliumcarbonat (= 0,06 m) noch unveränderte Gärkraft, die bei 1,7% (= 0,12 m) und 2,5% (= 0,18 m) Kaliumcarbonat dagegen nicht entfernt mehr die normale Höhe erreicht. Wie wir im folgenden zeigen werden, läßt sich auch mit so starken und noch größeren Konzentrationen an Kaliumcarbonat vollständige Vergärung erzielen. Das gelingt, wenn man das Alkali nicht von vornherein zugibt, sondern erst nach dem Beginne der Gärung. Die Beachtung dieses Umstandes, der der Aufmerksamkeit der früheren Beobachter entgangen ist, hat sich von ausschlaggebender Wichtigkeit erwiesen. E. Hägglund¹⁾, der die Zuckergärung durch lebende Hefe in Gegenwart von Natronlauge und Kaliumcarbonat untersuchte, hat nur ganz niedrige Konzentrationen der Basen angewendet, im Höchsthalle 0,048 n. Dabei fand er eine zunächst sehr erhebliche Verzögerung der Gärung, nach 120 Stunden aber, am Ende des Versuches, keinen wesentlichen Unterschied in der gespaltenen Gesamtzuckermenge, da die Alkoholausbeute praktisch die normale war.

Diese bisher vorliegenden Angaben sind, wie auch Hägglund (l. c.) betont, außerordentlich spärlich, und ihre Erweiterung erscheint wünschenswert nicht nur von den einleitend erwähnten Gesichtspunkten aus, sondern auch zur Klärung der Frage, in welchem Umfange überhaupt die Gärung in alkalischen Lösungen möglich ist. Denn bisher gilt es als ausgemacht und als eine Grundregel des praktischen Brennerei- und Brauereibetriebes, daß die Hefe nur bei saurer Reaktion richtig wirkt; das Optimum der Acidität liegt bei einer Wasserstoffionenkonzentration von $4 \cdot 10^{-8}$ bis $2 \cdot 10^{-4}$.

Das Streben der Hefe nach einem sauren Milieu geht sogar so weit, daß sie sich nach den Feststellungen von Lüers²⁾ eine natürliche Acidität schafft, die ungefähr einer Wasserstoffionennormalität von $1,86 \cdot 10^{-8}$ entspricht. Dabei kann die Acidität während einer 160stündigen Gärdauer auf das etwa 550fache des Anfangswertes steigen! Diese sich hiermit offenbarende, recht beträchtliche normale Säurebildung

¹⁾ E. Hägglund, Samml. chem. u. chem.-techn. Vortr. Bd. 21, Sonderabdruck, 1914; dort auch die Literatur.

²⁾ Lüers, Zeitschr. f. d. Ges. Brauw. 37, 79, 1914; Chem. Centr. 1914, I, 1101.

vollzieht die Hefe nach Lüers auf Kosten des vorhandenen gärfähigen Zuckers.

Falls nun diese Säureproduktion der Hefe mit der Tätigkeit der Zymase, d. h. mit dem Zuckerabbau, ursächlich verknüpft ist, so kann man von dem Zusatz alkalisch reagierender Stoffe eine Einwirkung auf den Gärakt erwarten, die etwa dem Einflusse vergleichbar wäre, den die Entfernung eines Reaktionsproduktes auf den Ablauf einer Umsetzung auszuüben vermag. In dem hier vorliegenden besonderen Falle eines biologischen Vorganges muß man natürlich damit rechnen, daß die anwendbare Hydroxylionenkonzentration eine gewisse Stärke nicht überschreiten darf.

Die Bestimmung dieser Grenzen der anwendbaren Alkalikonzentration war erforderlich, bevor wir an die eigentliche Aufgabe herantreten konnten, etwaige Änderungen im Verlaufe der Gärung unter dem Einflusse der Alkalien festzustellen. Zu diesem Zwecke prüften wir die Einwirkung verschiedenartiger alkalisch reagierender Stoffe und ihre Wirkung bei wechselnden Konzentrationen. Die Verwendung von stärkeren Ätzlauge war — abgesehen von ihrer Giftigkeit für die lebenden Hefezellen — deswegen überflüssig, weil ja im Verlaufe der Gärung durch die entwickelte Kohlensäure Carbonate entstehen müssen. Wir wählten diejenigen alkalisch reagierenden Stoffe, die auch die vorerwähnte chemische Umwandlung der Hexosen in Methylglyoxal zuwege bringen, nämlich Carbonat bzw. Bicarbonat, Borat, Sulfit und dreibasisches Phosphat¹⁾. Diese Substanzen sollen nachstehend als Alkalisatoren bezeichnet werden. Sie wurden in Form folgender Salze angewendet: Kalium- und Natriumcarbonat, Trikaliumphosphat, Kalium- und Natriumsulfit und Kaliummetaborat. Um zunächst die Beeinflussung der lebenden Substanz auszuschließen, haben wir die Alkalisatoren auf rein enzymatische Gäransätze einwirken lassen, auf Macerationssäfte von Trockenhefen verschiedenen Alters, die mit Rohrzucker, Traubenzucker und gelegentlich auch Fruchtzucker versetzt waren.

¹⁾ Wir benutzten letzteres und nicht das gleichfalls alkalisch reagierende Dialkaliphosphat, da dieses ja bekanntlich ganz andere Wirkungen entfaltet.

Unsere anfangs einander widersprechenden Ergebnisse fanden ihre Erklärung, als wir erkannten, daß der Zeitpunkt des Alkalisatorzusatzes von wesentlicher Bedeutung für den Vorgang ist. Es besteht ein erheblicher Unterschied im Verhalten der von vornherein gleichzeitig mit Zucker und Alkalisator versetzten Zymaselösungen und dem Verhalten solcher Proben, die erst nach Beginn der normalen Gärung mit den alkalischen Substanzen beschickt wurden. Durchgehends wird, wenn die Hefemacerationssäfte mit Zucker und sofort mit Alkalisator versetzt werden, weit weniger von letzteren vertragen, als wenn die Zugabe erst nach dem Einsetzen der deutlichen Kohlensäureentwicklung geschieht. Letztere tritt nun bekanntlich bei den Macerationssäften nicht unmittelbar, sondern nach einer Einwirkungsdauer ein, die mit der Natur der Hefe schwankt und wohl unter anderen von der vorhandenen Menge Enzyms und Koferments abhängt.

Die drei untersuchten Zucker verhalten sich nach dieser Richtung gleich. Dabei ist es bemerkenswert, daß der Rohrzucker überhaupt in den alkalischen Lösungen vergoren wird. Dieser Umstand besagt zugleich, daß — wohl auch entgegen theoretischen Voraussetzungen — die Invertase trotz der erheblichen Konzentration an Hydroxylionen in Wirksamkeit tritt.

Das durchaus verschiedene Verhalten der nicht angegorenen und der vorbehandelten Hefesäfte ist nicht durch das vorerwähnte Bestreben der Hefe bedingt, sich eine gewisse Eigenacidität zu schaffen; denn die verwendeten Mengen Alkali sind zu groß und die Inkubationszeiten zu kurz, als daß jener natürliche Ausgleich eintreten könnte.

Einen wichtigen Anhalt für einen Erklärungsversuch wird folgende Erscheinung gewähren können. Versetzt man den gezuckerten, noch nicht gärenden Macerationssaft mit der gärungshemmenden Alkalisatormenge — sie liegt (siehe die Tabellen S. 257, 258 u. 259) bei einem Gehalte der Gäransätze, der rund einer 0,1 molekularen Lösung entspricht —, so entsteht ein Niederschlag, der sich in Form eines weißen bis gelblichen schweren Pulvers ziemlich schnell zu Boden senkt. In den angegorenen Säften bleibt dieser Niederschlag selbst bei den hier vertragenen viel höheren Alkalisatorkonzentrationen (siehe

Tabellen S. 257 bis 259), z. B. 0,2 bis 0,3 m, aus oder tritt nur schwach auf, wenn man sich dem Hemmungswerte des Alkalisators nähert. Die Menge des Niederschlags hängt von der Höhe des Alkalisatorzusatzes ab. Ist er groß genug und demnach der Niederschlag reichlich, so unterbleibt jede Gärung; genügt er nicht zu einer Fällung von bestimmter Stärke, so tritt mehr oder minder kräftige Gärung ein. Das Gesagte trifft für die Alkalisatoren Natrium- und Kaliumcarbonat, Trikaliumphosphat sowie Kaliummetaborat zu. Bei den Sulfiten liegen die Verhältnisse bezüglich der Inkubationszeit, die den Saft auch hier gegen höhere Konzentrationen an schwefligsaurem Salz widerstandsfähig macht, ganz ebenso; die anwendbaren Mengen von Sulfit sind geringer und zur Bildung eines entsprechenden Niederschlages kommt es nicht, sondern erst bei hohem, den Hemmungswert weit übersteigendem Sulfitgehalte entsteht eine geringe krystallinische Ausscheidung. Der durch Pottasche oder Soda erzeugte Niederschlag besteht hauptsächlich aus Ammonium-Magnesiumphosphat und Calciumphosphat. Calcium- und Magnesiumsalze gehen als Bestandteile der Hefezellen natürlich in den Macerationssaft über; das Ammoniak entstammt Ammoniumsalzen, die wohl größtenteils erst bei der Bereitung des Saftes durch eine Autolyse entstehen.

Läßt man also vor Zusatz der genannten Alkalisatoren zum gezuckerten Saft eine gewisse Zeit verstreichen, so gehen offenbar die bei sofortiger Zugabe niedergeschlagenen Salze in einen nicht mehr fällbaren Zustand über. Nun kennt man wohl eine nicht direkt fällbare Form, in die Phosphate bei der Gärung verwandelt werden können und die nach Harden und Young für den Eintritt der Gärung von wesentlicher Bedeutung ist: die Hexosediphosphorsäure; ihr Calcium- und Magnesiumsalz ist in der Tat verhältnismäßig löslich. Dennoch ist es nicht wahrscheinlich, daß eine Bildung von Hexosediphosphorsäure und eine Behinderung ihrer Entstehung bei frühzeitigem Alkalisatorzusatz von erheblicher Bedeutung für die beschriebenen Erscheinungen sind. Zunächst einmal kann nämlich das auf Zusatz von Alkalisatoren ausfallende Phosphatgemisch nur einen kleinen Teil der vorhandenen Phosphationen aus der Lösung entfernen, da nach der Analyse (s. S. 250 u. 251)

die Menge des vorhandenen Calciums und Magnesiums viel zu gering im Vergleich mit der PO_4 -Quantität ist. Dann ist zu beachten, daß bei Sulfitzusätzen ja überhaupt keine Phosphatfällungen erzeugt werden. Fügt man schließlich den Gärungsansätzen neue Phosphationen hinzu — entweder durch die Zugabe von Trikaliumphosphat zum gezuckerten Saft oder in Form von Monokaliumphosphat in den Fällen, wo von vornherein Kaliumcarbonat in der gärungshemmenden Konzentration angewendet worden war —, so bleibt die Gärung trotzdem weiter aus. Ebenso wenig vermag der nachträgliche Zusatz von reinem hexosediphosphorsaurem Kalium oder Calcium zu erreichen, was die Angärung zuwege bringt. Dagegen kann durch Zugabe von freier Phosphorsäure oder Milchsäure zu dem vom Niederschlag der Phosphate getrüben oder auch davon abfiltrierten Gemische des gezuckerten Saftes mit Alkalisator die Gärung wieder entfacht werden, selbst dann, wenn rechnermäßig noch so viel Kaliumcarbonat unneutralisiert bleibt, als in den nicht angegorenen Säften die Gärung verhindert.

Daraus folgt, daß der Zusatz von alkalisch reagierenden Stoffen die Gärung in doppelter Weise beeinflußt. Einmal handelt es sich um eine allgemeine Gärungshemmung, die von der OH-Ionenkonzentration abhängt. Dieses Verhalten ist ohne weiteres verständlich. Daneben besteht aber eine Einwirkung des Alkalis auf die Vorgänge, die sich bei der Gärung vor dem Beginn des Freiwerdens von Kohlendioxyd abspielen. Diese vorbereitenden Stufen des Zuckerzerfalls unterliegen, wenn sie einmal eingeleitet sind, keiner Beeinträchtigung durch den nachträglichen Zusatz der gleichen, sonst hemmenden Alkalimenge. Diese Erscheinung, derzufolge angegorene Ansätze viel höhere OH-Ionenkonzentrationen ertragen, kann zunächst nur festgestellt, aber nicht erklärt werden.

Um den Einfluß der Alkalisatoren auf die Gärung zahlenmäßig zu belegen, haben wir die Menge des entwickelten Kohlendioxyds ermittelt, obwohl diesem Verfahren unzweifelhaft gerade wegen der Gegenwart alkalischer Stoffe Mängel anhaften. Aber für Vergleichszwecke schien die Methode doch die brauchbarste zu sein, und jede andere begegnet ebenfalls berechtigten Ein-

wänden: Gegen eine polarimetrische Verfolgung der Vorgänge z. B. spricht schon das Bedenken, daß sich die Drehung der Zucker in der alkalischen Lösung ändern kann. Einer Bestimmung aus dem gebildeten Alkohol steht die Tatsache entgegen, daß der quantitative Verlauf der alkoholischen Gärung in alkalischer Lösung eine Verschiebung erfährt, worüber in einer späteren Abhandlung berichtet werden soll. Eine rein chemische Zerstörung des Zuckers brauchten wir nicht zu berücksichtigen, da die Alkalimengen immerhin so niedrig sind, daß sie in dieser Richtung bei der eingehaltenen Temperatur (Zimmertemperatur) und innerhalb der Versuchsdauer kaum wirken dürften; vielmehr beruhen, wie später ausführlich gezeigt werden wird, die eintretenden Abänderungen der Gärungsprodukte auf einer spezifischen Wandlung in den Leistungen der Hefe bei alkalischem Medium. Sie bestehen in einer verminderten Produktion von Alkohol, einer vermehrten Erzeugung von Aldehyd, in einer sehr beträchtlichen Steigerung der Glycerinmenge und in der Bildung eines neuen alkoholischen Gärproduktes aus der 3-Kohlenstoffreihe, des Trimethylenglykols.

Die eingehaltene Anordnung der Versuche war im großen und ganzen die folgende: In einer gemessenen Menge von Hefesaft wurde der betreffende Zucker gelöst und der zu prüfende Alkalisator in Form einer Lösung bestimmten Gehaltes hinzugefügt. Zum Vergleich diente eine ebenso stark gezuckerte Saftprobe, die in dem der Alkalisatormenge entsprechenden Verhältnis mit Wasser verdünnt war. Dabei war immer durch besonders reichliche Zugaben von Toluol, nämlich von 10⁰/₀, dem Eintritt von Fäulnis wirksam vorgebeugt. Die Selbstgärung war bei den von uns verwendeten Macerations-säften in Übereinstimmung mit früheren Erfahrungen¹⁾ stets völlig oder praktisch gleich Null. Die Messungen des gebildeten Kohlendioxyds geschahen alle in Eudiometern über Quecksilber. Die Kohlensäureentwicklung war nach 3 Tagen beendet; die Versuche wurden dann abgebrochen. Die in Gegenwart der Alkalisatoren freigewordenen Kohlensäuremengen waren, wie zu erwarten stand, geringer als bei den reinen Zuckerlösungen.

¹⁾ C. Neuberg, diese Zeitschr. 51, 139, 1913 und 71, 96, 1915.

Wieviel Kohlendioxyd durch den vorhandenen Alkalisator gebunden wird, läßt sich schwer in genaue Rechnung stellen, und bei zellfreier Gärung bleibt auch trotz völligen Verschwindens des Zuckers in den (ohne alkalischen Zusatz) normal vergorenen Proben die entwickelte Kohlensäuremenge bekanntlich aus verschiedenen Gründen hinter der theoretischen zurück. Der vorher erwähnte Niederschlag, den man in den Röhren über dem Quecksilber schweben sieht, darf nicht verwechselt werden mit jener Ausscheidung, die auch bei gewöhnlichen Hefesaftgärungen nach längerer Zeit auftritt.

Bei den Ansätzen mit voraufgegangener Angärung ließen wir den frisch gezuckerten Saft bei Zimmertemperatur stehen, bis eine deutliche regelmäßige Kohlensäureentwicklung auftrat. Davon wurde dann eine bestimmte Menge schnell abpipettiert und mit der Alkalisatorlösung sowie mit Toluol versetzt. Diese vorbehandelten Säfte bleiben dann bis zu relativ hohen Konzentrationen der Alkalisatoren völlig klar.

Bei der Hauptgruppe der Alkalisatoren, der mit Ausnahme der Sulfit alle genannten angehören, liegen — mit gewissen physiologischen Schwankungen natürlich — die gärungshemmenden Konzentrationen ziemlich regelmäßig bei einem Gehalte des Gärgutes von 0,1 bis 0,2 m, wenn keine Vorgärung erfolgt war; die angegorenen Säfte vertrugen dagegen Alkalisatormengen bis zu einem Gehalte der Mischung von 0,25 bis 0,3 m, in einigen Fällen auch 0,35 m. Damit ist die Durchführung des Gäraktes bei Alkalinitäten erreicht, deren Stärke den höchsten früher versuchten, aber als völlig gärungshemmend befundenen Wert erheblich übersteigt.

Benutzt man dagegen die neutralen schwefligsauren Salze der Alkalien als Alkalisatoren, so liegt die vertragene Konzentrationsgrenze weit niedriger, nämlich für die nicht angegorenen Säfte zwischen 0,01 und 0,02 m, bei vorbehandelten zwischen 0,04 und 0,05 m-Sulfit. Ein spezifischer Einfluß der Alkalisulfit zeigt sich also hierin wie auch in dem schon oben erwähnten Ausbleiben einer Fällung in den Säften.

Zur Beurteilung dieser Verhältnisse, über die weiter zu berichten wir uns vorbehalten möchten, ist der Umstand wichtig, daß während und am Schlusse der Gärungen die Reaktion gegen Lackmus alkalisch ist und der Zucker vollständig umgesetzt werden kann.

Somit läßt sich zeigen, daß zellfreie alkoholische Gärung in recht stark alkalischen Lösungen möglich ist. Für die Vergärung alkalischer Zuckerlösungen durch lebende Hefen liegen, wie wir schon jetzt erwähnen wollen, die Verhältnisse prinzipiell ebenso.

Experimentelles.

Alle Versuche wurden bei einer um 20° herum liegenden Zimmertemperatur ausgeführt und erstreckten sich auf 72 Stunden.

Die Macerationssäfte wurden aus verschiedenen Proben von Trockenhefe hergestellt, die den Jahren 1914 bis 1916 entstammten. Die Säfte wurden stets frisch, am häufigsten aus 100 g Trockenhefe, durch 2 $\frac{1}{4}$ stündige Digestion mit dem dreifachen Volumen Wasser bei 37° und nachherige Filtration bereitet. Mit den so erhaltenen Säften wurden immer mehrere Versuche gleichzeitig angestellt.

Eine solche Versuchsreihe gestaltete sich z. B. folgendermaßen bei Anwendung von Kaliumcarbonat:

5,0 g reiner feingepulverter Traubenzucker wurden in Saft auf 90,0 ccm rasch gelöst; 5 mal je 9,0 ccm dieser Lösung wurden dann sofort abpipettiert und in Eudiometerröhren gegeben, die mit Quecksilber so weit gefüllt waren, daß noch etwa 12 ccm freiblieben. Nun wurde unter Schütteln je 1,0 ccm folgender Flüssigkeiten hinzugegeben: In Rohr 1: Wasser; in 2: 1 m-Kaliumcarbonat; in 3: 2 m-K₂CO₃; in 4: 3 m-K₂CO₃ und in 5: 4 m-K₂CO₃. Nach Zugabe von 1,0 ccm Toluol wurden darauf die Röhren mit Quecksilber vollständig aufgefüllt und mit der Mündung unter Quecksilber umgekehrt befestigt.

Die verbliebenen 45 ccm des gezuckerten Saftes wurden bei Zimmertemperatur belassen, bis eine regelmäßige Bläschenentwicklung begann. In vier wie oben mit Quecksilber beschickte Eudiometer wurden dann rasch je 9,0 ccm der gärenden Mischung gegeben und nunmehr entsprechend hinzugefügt je 1,0 ccm der Kaliumcarbonatlösungen von folgenden Konzentrationen: 6. 1 m-K₂CO₃; 7. 2 m-K₂CO₃; 8. 3 m-K₂CO₃ und 9. 4 m-K₂CO₃. Die weitere Behandlung geschah wie bei den ersten Röhren: Zugabe von Toluol, Auffüllen mit Quecksilber und Einbringen unter dieses.

Die Gärungen verliefen somit bei einem Unterdruck, der am Anfang natürlich am größten war; von $\frac{1}{3}$ bis $\frac{1}{2}$ Atmosphäre

stieg der Druck bei fortschreitender Gärung bis auf etwa 50 bis 100 mm unter Luftdruck. Am Schlusse der Gärung wurde das Bestehen einer alkalischen Reaktion gegen Lackmus festgestellt, in einigen Fällen auch während der Gärung an einem mit eingeführten Streifchen Reagenzpapier. Das Gärgut nahm meist eine dunkelgelbe Farbe an. Bei keinem der Ansätze beobachteten wir eine Graublaufärbung, wie sie von Buchner und Haehn bei Zusatz von Kaliumcarbonat zum Hefepreßsaft festgestellt ist¹⁾. Diese Verfärbung (Eisensulfid?) beruht wohl auf zufälligen Bestandteilen der Hefen; wir sahen sie gelegentlich bei ähnlichen Versuchen mit bestimmten lebenden Hefen auftreten.

Nach drei Tagen war die Kohlensäureentwicklung in den gärenden Proben beendet. Der Stand des Flüssigkeitsmeniskus wurde markiert, die Höhe der Quecksilbersäule gemessen, nach vorsichtiger Entleerung des Quecksilbers die Saftmischung aufbewahrt und das angezeichnete Volumen durch Eingießen von Wasser ausgewertet. Im folgenden werden nur die auf den Normalzustand bezogenen Volumina der Kohlensäure angegeben. Für die Umrechnung wurde der Wasserdampfdruck halb so groß wie der von reinem Wasser angesetzt. Die hieraus entspringenden Fehler sind unvermeidlich, da der Dampfdruck solcher toluolhaltigen Saftmischungen natürlich nicht bekannt ist; sie dürften aber für das Endresultat ganz belanglos sein.

Die aus den Eudiometern entleerten Mischungen wurden mit Essigsäure angesäuert, auf dem Wasserbade erhitzt und nach der Filtration von den koagulierten Eiweißstoffen mit Mercuriacetat versetzt, um noch gelöste stickstoffhaltige Substanzen zu entfernen, welche die Zuckerproben stören. Der Überschuß des Quecksilbersalzes wurde durch Schwefelwasserstoff und dieser durch Erwärmen auf dem Wasserbade entfernt. Nunmehr konnte mit Fehlingscher Lösung geprüft werden.

Mit diesem Verfahren gelingt es, den störenden Einfluß zu beseitigen, welchen die durch proteolytische Vorgänge aus dem Hefeeiweiß erzeugten stickstoffhaltigen Spaltungsprodukte auf die Ausscheidung des Kupferoxyduls sonst²⁾ ausüben. Daß essigsaures Quecksilberoxyd ein besonders gutes Fällungsmittel

¹⁾ Diese Zeitschr. 19, 191, 1909.

²⁾ Siehe Buchner, Zymasegärung, S. 211 und 212.

für Eiweißabbauprodukte darstellt, wurde früher gezeigt¹⁾, und dieser Umstand ist seither vielfach zur Reinigung von Zuckerslösungen benutzt worden. Im vorliegenden Fall erprobten wir die Brauchbarkeit durch folgende Kontrollversuche:

Proben verschiedener Macerationssäfte zu je 10,0 ccm wurden unter Zusatz von Toluol einer 3tägigen Selbstverdauung bei 37° überlassen. Die in der angegebenen Weise mit Essigsäure aufgekochten, filtrierten, dann mit Mercuriacetat gefällten und wieder entquecksilberten Flüssigkeiten zeigten nach Konzentration auf 10 ccm kein Reduktionsvermögen. Solches trat sofort äußerst stark ein, wenn 0,005 g Traubenzucker zugesetzt waren. Den auf Zugabe von Fehlingscher Mischung und etwas Lauge in der Kälte entstehenden flockigen Niederschlag (Hefengummi?) filtriert man zweckmäßig vorher ab. Jedenfalls gelingt es so sehr scharf, eine Zuckermenge nachzuweisen, die den $\frac{1}{100}$ Teil der bei den Gärungsansätzen ursprünglich vorhandenen beträgt.

I. Untersuchung der Macerationssäfte.

a) Analyse.

Der Macerationssaft aus Trockenhefe vom Juli 1916 vom spezifischen Gewichte 1,050 zeigte (nach der Kjeldahl-Methode ermittelt) einen Gehalt von 1,40 % N.

1,051 g Saft gaben ein Destillat, das 10,5 ccm $\frac{2}{10}$ -H₂SO₄ verbrauchte (= 0,0147 g N).

E. Buchner sowie A. Harden fanden für Hefepreßsaft recht ähnliche Werte²⁾.

Wegen der S. 244 erörterten Beziehungen zwischen den durch Alkalisatoren erzeugten Niederschlägen und den vorhandenen Mengen an Calcium-, Magnesium- und Phosphationen wurden diese Bestandteile des Saftes ebenfalls bestimmt:

Direkt fällbares Phosphat:

(Fällung mit Magnesiamischung in der Kälte und Reinigung des Niederschlags über die Molybdänverbindung.)

1. 10,471 g Saft geben 0,1733 g Mg₂P₂O₇.

2. 10,500 g Saft geben 0,1748 g Mg₂P₂O₇.

P₂O₅: 1. 1,06 %; 2. 1,06 %.

¹⁾ C. Neuberg, diese Zeitschr. **24**, 429, 1910; **37**, 142, 1911; ferner Neuberg „Der Harn“, Handb. S. 328, 331 u. 333.

²⁾ Zymasegärung, S. 75; Chem. Centralbl. **1908**. I. 257.

Gesamt-Phosphate:

Nach Zerstörung der organischen Substanz geben 10,600 g Saft 0,1855 g $Mg_2P_2O_7$.

P_2O_5 : 1,13 %.

E. Buchner und H. Haehn¹⁾ geben für den P_2O_5 -Gehalt der Hefesäfte um 1,0 % schwankende Zahlen an.

Calcium und Magnesium:

10,500 g Saft geben 0,0122 g CaO und 0,0275 g $Mg_2P_2O_7$.

Ca = 0,09 %, Mg = 0,06 %.

b) Untersuchungen auf Selbstgärung.

9,0 ccm der Säfte wurden mit 1,0 ccm Wasser und 1,0 ccm Toluol 72 Stunden in Eudiometern über Quecksilber aufbewahrt. Die entwickelte Kohlensäuremenge betrug nur Bruchteile von Kubikzentimetern oder war völlig Null.

c) Vergärung von Zuckern.

9,0 ccm der Macerationssäfte, die je 0,5 g des Zuckers enthielten, wurden nach Zusatz von 1,0 ccm Wasser und 1,0 ccm Toluol drei Tage lang in Eudiometern belassen.

Hefe vom	Zucker	ccm CO ₂	
		gef.	ber.
April 1914	Rohrzucker	102,4	131,2
Januar 1915	Traubenzucker	100,3	124,7
Januar 1915	Traubenzucker	101,6	124,7
Januar 1915	Fruchtzucker	109,2	124,7
Januar 1915	Rohrzucker	108,0	131,2
März 1916	Traubenzucker	108,5	124,7
Juli 1916	Traubenzucker	111,0	124,7

Am Ende der Gärungen war kein Zucker mehr vorhanden. Die Säfte aus Hefen jüngerer Datums entwickelten etwas mehr Kohlensäure als die aus älteren; doch blieb auch bei jenen der gemessene Wert hinter dem berechneten um mehr als 10 % zurück. In allen als Stichproben untersuchten Fällen war hier wie im folgenden das gebildete Gas durch Kalilauge restlos absorbierbar, also reines Kohlendioxyd.

Die Säfte dieser Hefen, die demnach eine gute Gärkraft aufwiesen, dienten zu den nachstehend beschriebenen Versuchen mit Alkalisatoren-Zusätzen.

¹⁾ Diese Zeitschrift 27, 421, 1910.

II. Vergärung von Zucker durch Macerationssäfte bei Gegenwart von Kaliumcarbonat.

A. Nichtangegorene gezuckerte Säfte.

1. Konzentration des K_2CO_3 in der Mischung: 0,08 m.

9,0 ccm eines Saftes aus Hefe vom Juli 1916, die 0,5 g reinen Traubenzucker enthielten, wurden mit 1,0 ccm 0,8 m- K_2CO_3 -Lösung und 1,0 ccm Toluol versetzt. Allmählich trat eine deutliche Trübung ein. Nach etwa $1\frac{1}{2}$ Stunden begann die Kohlendioxydentwicklung. Ein Streifen rotes Lackmuspapier, das mit der Mischung in das Rohr gegeben worden war, blieb schwach blau. Insgesamt wurden nach vollständiger Umsetzung des Zuckers in 3 Tagen 95,0 ccm Kohlendioxyd entwickelt. Auch die vergorene Mischung reagierte deutlich alkalisch.

2. Konzentration des K_2CO_3 in der Mischung: 0,10 m.

a) 9,0 ccm desselben Saftes mit dem gleichen Gehalte von 0,5 g Traubenzucker gaben bei Hinzufügung von 1,0 ccm 1 m-Kaliumcarbonatlösung und 1,0 ccm Toluol stärkere Trübung, dann einen allmählich sich absetzenden Niederschlag. Es trat keine Vergärung ein, und Zucker war beim Abbrechen des Versuches nach 72 Stunden reichlich vorhanden. Die Reaktion blieb ständig alkalisch.

b) und c) Aus Hefe vom März 1916 hergestellter Saft entwickelte ebenso wie ein solcher aus Hefe vom Januar 1915 unter im übrigen genau den gleichen Bedingungen wie eben übereinstimmend 88,0 ccm CO_2 .

d) Bei Anwendung von Hefe vom April 1914 und Verwendung von 0,5 g Rohrzucker in 9,0 ccm des Saftes wurden 98,3 ccm CO_2 erhalten. Zucker war am Schlusse in keinem dieser Fälle durch Fehlingsche Lösung nachweisbar, auch nicht im Rohrzuckerversuch, weder unmittelbar, noch nach vorangegangener Behandlung mit kochender Salzsäure.

3. Konzentration des K_2CO_3 in der Mischung: 0,15 m.

a) 9,0 ccm eines aus Hefe vom März 1916 hergestellten Saftes, die 0,5 g Traubenzucker enthielten, wurden mit

1,0 ccm 1,5 m- K_2CO_3 und 1,0 ccm Toluol versetzt: Geringer Niederschlag; 86,3 ccm CO_2 ; kein Zucker am Ende der Gärung.

b) Der Saft aus der Hefe vom Januar 1915 entwickelte bei ganz gleichen Bedingungen kein Kohlendioxyd und enthielt reichlich unveränderten Zucker.

4. Konzentration des K_2CO_3 in der Mischung: 0,2 m.

Wurden zu 9,0 ccm von Säften verschiedener Abstammung je 1,0 ccm 2 m- K_2CO_3 gesetzt und Toluol wie oben hinzugefügt, so lieferte nur der aus Hefe vom April 1914 erhaltene Saft mit Rohrzucker in 3 Tagen 79,0 ccm CO_2 unter vollständiger Umsetzung der Saccharose, während alle anderen erwähnten Hefensäfte weder mit Traubenzucker noch mit Fructose oder Rohrzucker Kohlendioxydentwicklung zeigten und dementsprechend unvergorenen Zucker enthielten.

5. Höhere K_2CO_3 -Konzentrationen.

Bei Zusatz von 1,0 ccm 2,5 m- bis 4 m- K_2CO_3 traten mit der Alkalikonzentration zunehmende Niederschlagsmengen auf, bei den höchsten Konzentrationen erfolgte Gelatinierung; niemals kam es zur Gärung.

B. Angegorene gezuckerte Säfte.

Voraus sei bemerkt, daß bei den Angärungen nicht genau bestimmte Mengen Kohlendioxyd verloren gingen.

1. Konzentration des K_2CO_3 in der Mischung: 0,1 m.

9,0 ccm Saft aus Hefe vom Januar 1915 mit 0,5 g Traubenzucker, 1,0 ccm 1 m- K_2CO_3 und 1,0 ccm Toluol entwickelten bei vollständiger Umsetzung des Zuckers innerhalb 3 Tagen 84,2 ccm CO_2 . Die Lösung war klar und trübte sich höchstens in demselben Maße beim Fortschreiten der Gärung, wie es ein nur mit Wasser in der angegebenen Menge verdünnter gezuckerter Saft bei Aufbewahrung tut.

2. Konzentration des K_2CO_3 in der Mischung: 0,15 m.

Bei Zugabe von 1,0 ccm 1,5 m- K_2CO_3 zu 9,0 ccm desselben, mit Traubenzucker und Toluol wie üblich versetzten Saftes wurden 81,8 ccm CO_2 frei unter ganz gleichen Begleiterscheinungen wie unter 1.

3. Konzentration des K_2CO_3 in der Mischung: 0,2 m.

Die Mischungen wiesen bei dieser Alkalimenge bald eine schwache Trübung auf, die sich allmählich verstärkte. Während bei dieser Alkalikonzentration nicht angegorene Macerations-säfte nur ganz ausnahmsweise gären, tritt in den vorbehandelten Säften regelmäßig die Gärung ein.

Je 9,0 ccm Saft aus Hefe vom Januar 1915, die 0,5 g Traubenzucker enthielten, entwickelten nach Zugabe von 1,0 ccm 2 m- K_2CO_3 66,3 bzw. 68,0 ccm CO_2 . Der Zucker war vollständig umgesetzt, so daß der große Unterschied zwischen der gemessenen und der berechneten Menge CO_2 auf der Bindung als Bicarbonat beruhen muß.

Derselbe Saft ergab bei gleicher Alkalismenge mit 0,5 g Fructose 59,7 ccm CO_2 ¹⁾. Bei Anwendung von 0,5 g Rohrzucker wurden 82,2 ccm CO_2 in Freiheit gesetzt. Ein Saft aus Hefe vom April 1914 lieferte mit 0,5 g Rohrzucker sogar 100,5 ccm CO_2 .

4. Konzentration des K_2CO_3 in der Mischung: 0,25 m.

9,0 ccm 0,5 g Traubenzucker enthaltender Saft aus Hefe vom Juli 1916 wurden mit 1,0 ccm 2,5 m- K_2CO_3 und 1,0 ccm Toluol versetzt: 58,8 ccm CO_2 entwickelt; kein Zucker am Ende nachweisbar.

5. Konzentration des K_2CO_3 in der Mischung: 0,3 m.

Die eben erwähnte Hefe vom Juli 1916 lieferte einen Saft, der bei dieser Konzentration an Kaliumcarbonat Traubenzucker nicht mehr vergor; die Mischung enthielt von Anfang an einen starken Niederschlag.

Der Saft aus Hefe vom März 1916 vergor dagegen den Traubenzucker vollständig unter Entwicklung von 65,4 ccm CO_2 .

Die Macerationssäfte aus Hefe vom Januar 1915 vergoren zwar Traubenzucker bei dieser Alkalismenge nicht, wohl aber Fruchtzucker, mit dem einmal 24,5, ein anderes Mal

¹⁾ Bemerkenswert ist, daß die Fructose im Vergleich zu Trauben- und Rohrzucker hier deutlich schwächer vergoren ist, während jene normalerweise sogar leichter, mindestens aber ebenso vollständig wie Glucose durch Zymase gespalten wird.

37,5 ccm CO_2 entwickelt wurden. Dabei fiel am Ende des Versuches die Zuckerreaktion noch schwach positiv aus. Aus Rohrzucker entstanden einmal 60,7 ccm, ein anderes Mal 42,3 ccm CO_2 bei vollständigem Verschwinden des Zuckers.

Auch die Hefe vom April 1914 lieferte einen Saft, der Rohrzucker vollständig vergor und dabei 71,1 ccm CO_2 aus 0,5 g Saccharose in Freiheit setzte.

Die Zugabe von 1,0 ccm 3 m- K_2CO_3 zu 9,0 ccm gezuckertem Saft vermochte also in manchen Fällen die Vergärung des Traubenzuckers zu verhindern, nicht aber die von Fructose und von Rohrzucker.

6. Konzentration des K_2CO_3 in der Mischung: 0,35 m und 0,4 m.

Allein die Hefe vom März 1916 gab einen Macerationsaft, der Traubenzucker bei einem Gehalt an Kaliumcarbonat von 0,35 m noch vollständig vergor unter Entbindung von 60,4 ccm CO_2 . Die anderen Hefensäfte büßten dagegen ihr Gärvermögen bei dieser hohen Alkalisatorkonzentration ein, und bei 0,4 m- K_2CO_3 war es auch bei dem ersterwähnten aktivsten Hefensaft erloschen.

C. Versuche zur Wiederherstellung des Gärvermögens von nicht vorbehandelten Hefensäften, die durch Zusatz von Kaliumcarbonat unwirksam gemacht sind.

Zu den folgenden Versuchen wurde Saft der Trockenhefe vom Januar 1915 verwendet, der bei dem Gehalte an 5,0 g Traubenzucker auf 90,0 ccm Macerationsaft und nach Zusatz von 10,0 ccm 3 m- K_2CO_3 -Lösung nicht mehr gor.

1. Zugabe von Monokaliumphosphat.

Zu 18,0 ccm des Gemisches, das klar von dem durch das Kaliumcarbonat erzeugten Niederschlage abfiltriert war, wurden 2,0 ccm 2 m- KH_2PO_4 -Lösung gegeben. Es trat keine Gärung ein.

2. Zugabe von Säuren.

Während bei den unter C1 angegebenen Verhältnissen weder die PO_4 -Ionen noch die Acidität des Monophosphats die Gärungsbehinderung von seiten des Kaliumcarbonats aufzuheben

vermögen, gelang dieses durch Säuren. Da die starken Mineralsäuren (Salz- und Schwefelsäure z. B.) in der verwendbaren Konzentration eine kräftige Ausflockung von Eiweißkörpern in den Saftgemischen hervorriefen, wurden die Phosphorsäure und die Milchsäure benutzt, die ein in dieser Beziehung viel günstigeres Ergebnis lieferten, indem sie keine Fällung, sondern nur eine Trübung verursachten. Für dieses Verhalten ist wohl auch maßgebend, daß eine aussalzende Wirkung durch das gebildete Phosphat und Lactat sich nicht so geltend macht wie diejenige, die das entstandene Kaliumsulfat bzw. Kaliumchlorid ausüben.

Je 9,0 ccm des mit 0,5 g Traubenzucker und 1,0 ccm 3 m-K₂CO₃ ohne Angärung versetzten Saftes wurden gemischt mit

- a) 12,0 ccm Wasser: es erfolgte keine Gärung,
- b) 6,0 " n-Milchsäure + 6,0 ccm Wasser: entw. 87,0 ccm CO₂,
- c) 6,0 " n-Phosphorsäure + 6,0 " " : " 64,2 " CO₂,
- d) 12,0 " n-Phosphorsäure: " 63,5 " CO₂.

Die gleichen Versuche wurden mit ebenso alkalisierten, aber von der entstandenen Fällung abfiltrierten Gemischen an gestellt. Zu 9,0 ccm klarem Filtrat wurden gefügt:

- e) 12,0 ccm Wasser: es erfolgte keine Gärung,
- f) 6,0 " n-Milchsäure + 6,0 ccm Wasser: entw. 67,6 ccm CO₂,
- g) 12,0 " n-Phosphorsäure: entw. 83,3 ccm CO₂.

Diese Versuche zeigen die Wiederherstellbarkeit des Gärungsvermögens durch hinzugefügte Milchsäure oder Phosphorsäure. Die mit Milchsäure versetzten Lösungen reagierten gegen Lackmuspapier schwach sauer, die mit nur 6,0 ccm n-Phosphorsäure schwach alkalisch, die mit 12,0 ccm n-Phosphorsäure sauer.

3. Zugabe von Lösungen hexosediphosphorsaurer Salze.

Zu 9,0 ccm eines in bezug auf Kaliumcarbonat 0,3fach molekularen Zucker-Saftgemisches wurde die Lösung von 0,2 g Calciumhexosediphosphat in 2,0 ccm $\frac{1}{2}$ -HCl gegeben. Die Gärung blieb aus.

Aus 0,3 g reinem Bariumhexosediphosphat wurde durch Verrühren mit der berechneten Menge Schwefelsäure und Neutralisation des Filtrates durch n-K₂CO₃ eine Lösung von Kaliumhexosediphosphat (4 ccm) hergestellt und zu 9,0 ccm gezuckerten Saftes gegeben, die mit 1,0 ccm 3 m-K₂CO₃ alkalisiert waren¹⁾. Auch hier trat keine Gärung ein.

Tabellarische Übersicht über die bei zellfreien Gärungen in Anwesenheit von Kaliumcarbonat entwickelten Mengen Kohlendioxyd.

α) Ohne Angärung:

Hefe vom	9,0 ccm Saft enthalten 0,5 g	Volumina CO ₂ bei Zusatz von 1,0 ccm K ₂ CO ₃ - Lösung von der Konzentration				
		0	0,8 m	1 m	1,5 m	2 m
April 1914	Rohrzucker	102,4	—	98,3	—	79,0
Jan. 1915	Traubenzucker	100,3	—	88,0	0	0
März 1916	"	108,5	—	88,0	86,3	0
Juli 1916	"	111,0	95,0	0	—	—

β) Nach Angärung:

Hefe vom	9,0 ccm Saft enthalten 0,5 g	Volumina CO ₂ bei Zusatz von 1,0 ccm K ₂ CO ₃ - Lösung von der Konzentration						
		0	1 m	1,5 m	2 m	2,5 m	3 m	3,5 m
April 1914	Rohrzucker	102,4	—	—	100,5	—	71,1	0
Jan. 1915	Traubenzucker	101,6	84,2	81,8	{ a) 66,3 ²⁾ b) 68,0	—	0	0
Jan. 1915	Fructose	109,2	—	—	59,9	—	{ a) 24,5 ²⁾ b) 37,5	—
Jan. 1915	Rohrzucker	108,0	—	—	82,2	—	{ a) 60,7 ²⁾ b) 42,3	—
März 1916	Traubenzucker	108,5	—	—	—	—	65,4	60,4
Juli 1916	"	111,0	—	—	—	58,8	0	—

III. Vergärung von Zucker durch Macerationssäfte bei Gegenwart von Natriumcarbonat.

Bei diesen Versuchen wurde ganz den vorstehend beschriebenen Pottascheansätzen entsprechend verfahren. Auf je 9,0 ccm

¹⁾ Der Gesamtgehalt an Alkali war also hier 0,22 m, d. h. eine Konzentration, bei der nur die angegorenen, nicht aber die unvorbehandelten Säfte gären.

²⁾ Die Doppelversuche zeigen, daß bei der Angärung, wie S. 253 bereits erwähnt, Verluste an CO₂ eintreten; sie schwanken je nach der Zeit, die vom Beginne der Gärung bis zur Einfüllung verstreicht.

des 0,5 g Traubenzucker enthaltenden Saftes kam je 1,0 ccm der betreffenden Sodalösung, und zwar entweder sofort oder nach dem Angären; dann wurde das Gemisch mit 1,0 ccm Toluol in Eudiometerröhren über Quecksilber 3 Tage lang belassen. Sämtliche mit Natriumcarbonatlösungen versetzten Mischungen reagierten von Anfang an alkalisch. Bei allen Gärungen wurde der Zucker vollständig umgesetzt; wo keine CO_2 -Entwicklung eingetreten war, ließ sich der Zucker am Schluß der Versuche nachweisen.

Tabellarische Übersicht über die bei zellfreien Gärungen in Anwesenheit von Natriumcarbonat entwickelten Mengen Kohlendioxyd.

Hefe vom	9,0 ccm Saft enthalten 0,5 g	Volumina CO_2 bei Zusatz von 1,0 ccm Na_2CO_3 -Lösung von der Konzentration							
		ohne Angärung				nach Angärung			
Jan. 1915	Traubenzucker	100,3	98,3	0	0	69	58,5	56,5	50,4

IV. Vergärung von Zucker durch Macerationssaft bei Gegenwart von Trikaliumphosphat.

Die Versuche wurden ganz entsprechend den bisher beschriebenen angestellt, d. h. zu 9,0 ccm des Macerationssaftes wurde 1,0 ccm Trikaliumphosphatlösung von den nachstehend verzeichneten Konzentrationen gegeben und dann 1,0 ccm Toluol hinzugefügt. Auch hier reagierten die phosphathaltigen Mischungen alkalisch; der Zuckerumsatz war, wenn Gärung eintrat, vollständig. Die gärungshemmenden molekularen Konzentrationen erwiesen sich denen von Soda und Pottasche ähnlich, sowohl wenn eine Angärung eingeleitet war, als auch ohne eine solche.

Tabellarische Übersicht über die bei zellfreien Gärungen in Anwesenheit von Trikaliumphosphat entwickelten Mengen Kohlendioxyd.

Hefe vom	9,0 ccm Saft enthalten 0,5 g	Volumina CO_2 bei Zusatz von 1,0 ccm K_3PO_4 -Lösung von der Konzentration							
		ohne Angärung				nach Angärung			
Jan. 1915	Traubenzucker	100,3	75,3	0	75,0	62,8	42,4	0	

V. Vergärung von Zucker durch Macerationssaft bei Gegenwart von Kaliummetaborat.

Die Versuchsanordnungen waren den bisherigen analog. Zu je 9,0 ccm des gezuckerten Saftes wurden je 1,0 ccm Kaliummetaboratlösung von der in der folgenden Tabelle verzeichneten Konzentration und dann 1,0 ccm Toluol gegeben. Diese Mischungen reagierten alkalisch; bezüglich des Vorhandenseins von Zucker am Ende der Versuche gilt das bei IV Gesagte.

Tabellarische Übersicht über die bei der zellfreien Gärung in Anwesenheit von Kaliummetaborat entwickelten Mengen Kohlendioxyd.

Hefe vom	9,0 ccm Saft enthalten 0,5 g	Volumina CO ₂ nach Zusatz von 1,0 ccm KBO ₂ -Lösung von der Konzentration						
		0 ohne Angärung	1 m	1,5 m	1 m	2 m	3 m	4 m nach Angärung
Jan. 1915	Traubenzucker	100,3	82,2	0	83,9	71,5	55,0	0

VI. Vergärung von Zucker durch Macerationssäfte bei Gegenwart von Dikalium- und Dinatriumsulfit.

Die Versuchsanordnungen waren auch hier den zuvor beschriebenen ganz gleichartig. Bei den gewählten Sulfitkonzentrationen blieben alle Mischungen vollständig klar und trübten sich erst nach längerer Zeit unspezifisch in der Art gewöhn-

Tabellarische Übersicht über die bei zellfreien Gärungen in Anwesenheit von Dikaliumsulfit entwickelten Mengen Kohlendioxyd.

α) Ohne Angärung.

Hefe vom	9,0 ccm Saft enthalten 0,5 g	Volumina CO ₂ bei Zusatz von 1,0 ccm K ₂ SO ₃ -Lösung von der Konzentration			
		0	0,1 m	0,2 m	0,3 m
Jan. 1915	Traubenzucker	101,6	104,4	0	0
Juli 1916	"	111,0	—	0	0

β) Nach Angärung.

Hefe vom	9,0 ccm Saft enthalten 0,5 g	Volumina CO ₂ bei Zusatz von 1,0 ccm K ₂ SO ₃ -Lösung von der Konzentration				
		0	0,1 m	0,3 m	0,4 m	0,5 m
Jan. 1915	Traubenzucker	101,6	87,6	82,5	21,5*	0
Juli 1916	"	111,0	—	—	—	0

licher Macerationsaftansätze. Sie reagierten mehr oder weniger stark alkalisch und enthielten am Schlusse der Gärungen noch Sulfit. Bei dem stärksten anwendbaren Gehalte an schweflige-sauren Salzen, bei 0,04 m bzw. 0,05 m, trat zwar noch eine Gärung ein, aber sie blieb unvollständig, und zum Schluß war noch eine Reduktionswirkung gegen Fehlingsche Lösung vorhanden ¹⁾, während bei allen übrigen Gärungen der Zucker vollständig verschwunden oder in den nichtgärenden Proben unverändert geblieben war.

**Tabellarische Übersicht über die bei zellfreien
(Gärungen in Anwesenheit von Dinatriumsulfit
entwickelten Mengen Kohlendioxyd.**

α) Ohne Angärung.

Hefe vom	9,0 ccm Saft enthalten 0,5 g	Volumina CO ₂ bei Zusatz von 1,0 ccm Na ₂ SO ₃ -Lösung von der Konzentration				
		0	0,1 m	0,2 m	0,3 m	0,4 m
Jan. 1915	Traubenzucker	101,6	92,4	104,0	0	0
Juli 1916	"	111,0	—	—	—	0

β) Nach Angärung.

Hefe vom	9,0 ccm Saft enthalten 0,5 g	Volumina CO ₂ bei Zusatz von 1,0 ccm Na ₂ SO ₃ -Lösung von der Konzentration					
		0	0,1 m	0,2 m	0,4 m	0,5 m	0,6 m
Jan. 1915	Traubenzucker	101,6	96,1	94,4	90,4	—	—
Juli 1916	"	111,0	—	—	88,2*	85,7*	0

Zusammenfassung.

Die letzten Stufen der alkoholischen Gärung, die Zerlegung der Brenztraubensäure in Kohlendioxyd und Acetaldehyd sowie weiterhin die Reduktion des letzteren zu Äthylalkohol, scheinen durch frühere Untersuchungen geklärt. Sie stellen die wesentliche Leistung des Gärungsvorganges dar, d. h. die Zerreiβung der Kohlenstoffkette unter Bildung eines Körpers mit einem

¹⁾ In den entsprechenden Tabellen sind diese Fälle durch einen * bezeichnet. In der alkalischen Lösung wirkt Sulfit bei diesen Konzentrationen nicht auf Fehlingsche Lösung ein; übrigens war durch Aufkochen in essigsaurer Lösung ein Teil der schwefligen Säure zuvor ausgetrieben.

und eines mit zwei Kohlenstoffatomen. Die Vorgänge der Depolymerisation und Umwandlung, welche vor der Brenztraubensäurestufe liegen, sind unbekannt.

Die normale Gärung vollzieht sich in saurer Lösung. Wenn es gelang, auch bei einer wesentlichen Störung dieser Reaktionsverhältnisse Gärung zu erzwingen, so durfte man hoffen, atypische Erzeugnisse oder die gewöhnlichen Gärungsprodukte in anomalen Mengen zu erhalten, welche einen Schluß auf die Zwischenstufen ermöglichen. Eine Steigerung der Acidität über ein bestimmtes Maß hinaus ist ohne völlige Unterdrückung der Gärung nur bei solchen Säuren möglich, an welche die Hefe durch natürliche Verhältnisse gewöhnt ist; sie aber bewirken keine Abänderung des Gärungsverlaufs. Andererseits schafft sich die Hefe selbständig in nicht genügend saurem Medium eine optimale Acidität.

Es ist daher recht überraschend, daß diese starke Säurebegierde der Hefe überwunden werden kann und daß man entgegen allen Erwartungen imstande ist, den Eintritt der alkoholischen Gärung in dauernd alkalisch gehaltenen Lösungen zu erreichen.

Um Einflüsse der lebenden Zellen zunächst auszuschließen, wurde die Einwirkung von Alkali auf die rein enzymatische, durch Hefensäfte bewirkte Vergärung verschiedener Zucker untersucht, nachdem frühere Versuche die relative Unempfindlichkeit der Zymase und neue auch die der Invertase gegen Alkalien gelehrt hatten. Als Alkalisatoren dienten Dikalium- und Dinatriumcarbonat, Trikaliumphosphat, Dikalium- und Dinatriumsulfit sowie Kaliummetaborat, d. h. dieselbe Gruppe von Substanzen, welche nach vorangegangenen Ermittlungen einen Übergang von Zucker in Verbindungen der 3-Kohlenstoffreihe bewirkt.

Die Gäransätze, die 5% Zucker enthielten, zeigten bei der Zugabe von $\frac{1}{10}$ des Volumens an wäßrigen Alkalisatorenlösungen und nach Zufügung von 10% Toluol zu der Mischung folgende Erscheinungen: Völlige Vergärung des Zuckers erfolgt bei einer Gesamtalkalinität der erwähnten Gemische von 0,1 bis 0,2 m an Carbonaten, an Borat und an Trialkaliphosphat. Bei den sekundären schwefligsauren Salzen liegt die Grenze der vollkommenen Vergärung bei Konzentrationen von 0,02 m.

Sehr viel höhere Alkalimengen werden nun vertragen, wenn man die Alkalisatoren erst hinzufügt, nachdem das Gemisch

gerade zu gären begonnen hat. Dann sind Zusätze möglich, die einem Gesamtgehalte von 0,25 bis 0,35 m - Carbonat, Borat oder Triphosphat entsprechen, während von Sulfiten auch hier wieder nur eine geringere Konzentration vertragen wird, nämlich 0,04 bis 0,05 m. Solche Ansätze enthalten dann rund 4,8 % Pottasche oder 0,79 % Kaliumsulfid.

Diese Verhältnisse finden eine äußere Kennzeichnung in der Erscheinung, daß in den angegorenen Gemischen die Alkalisatoren keine Niederschläge erzeugen, selbst wenn sie in Konzentrationen zugegen sind, die bei nicht angegorenen Säften eine starke Fällung von Ammonium-Magnesiumphosphat und phosphorsaurem Kalk hervorrufen. Die angegebenen Höchstgrenzen der Alkalisatorkonzentrationen entsprechen dem Punkte, wo noch keine starke Niederschlagsbildung erfolgt.

Die Verhinderung der Gärung durch größere Alkalisatormengen beruht nicht einfach auf der Entfernung der Phosphationen oder einer dadurch bedingten Verhinderung der Bildung von Hexosediphosphorsäure; denn weder die Zugabe löslicher Phosphate noch die Hinzufügung fertiger reiner hexosediphosphorsaurer Salze stellt das Gärvermögen wieder her. Wohl aber bewirkt dies ein Zusatz von freier Phosphorsäure oder Milchsäure. Daraus kann vorläufig nur geschlossen werden, daß es sich hier um eine innerhalb der untersuchten Konzentrationen reversible Aufhebung des Gärvermögens durch die Alkalisatoren handelt.

Während und am Schluß der Versuche bestand alkalische Reaktion gegen Lackmus, so daß sich der ganze Gärakt in alkalischer Lösung abspielt.

Demnach beeinflussen alkalisch reagierende Stoffe die Gärung in doppelter Weise: Einmal liegt eine allgemeine, von der OH-Ionenkonzentration abhängige Gärungshemmung vor. Sodann wirkt das Alkali auf die Teilvorgänge des Gärungsprozesses, die sich vor dem Eintritt der Kohlensäureentwicklung vollziehen. Diese vorbereitenden Stufen des Zuckerzerfalles sind nach einmal erfolgter Einleitung unempfindlich gegen erhöhte Alkalisatorkonzentrationen, die ohne vorherige Angärung die Zuckerspaltung verhindern.

Die Feststellung, daß angegorene Zuckerlösungen viel

widerstandsfähiger gegen Alkalisatoren sind, ermöglicht die Durchführung der Gärung in Lösungen von so hoher Alkalinität, wie sie früher aus theoretischen Gründen für ganz unmöglich gegolten hat. Unter diesen Bedingungen erfolgt auch eine Veränderung in den Produkten der alkoholischen Gärung, die teils in einer quantitativen Verschiebung der bisher bekannten, teils im Auftreten neuer besteht.

Bei lebenden Hefen liegen die Verhältnisse prinzipiell ebenso.

Über das Vorkommen emulsinartiger von den Hefezellen abtrennbarer Fermente in den untergärigen Hefen sowie das Fehlen von Myrosin in Berliner Ober- und Unterhefen.

Von

Carl Neuberg und Eduard Färber.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie.
Chemische Abteilung, Berlin-Dahlem.)

Die Spaltung des Amygdalins in Glucose, Benzaldehyd und Blausäure, die früher der Wirkung eines Fermentes, des „Emulsins“, zugeschrieben wurde, wird nach neueren Anschauungen durch drei Fermente besorgt, die wahrscheinlich [vgl. S. J. M. Auld¹⁾] in folgender Reihenfolge zusammenwirken:

Zuerst spaltet ein auf α -Glucoside eingestelltes Ferment ein Molekül Hexose ab und erzeugt Mandelnitrilglucosid. Dieses Ferment bewirkt also die Zerlegung des im Amygdalin vorhandenen Disaccharids, der Amygdobiose, und wird Amygdalase genannt.

Das Mandelnitrilglucosid oder Prunasin wird dann in Traubenzucker und Benzaldehydcyanhydrin gespalten durch die Wirkung eines β -Fermentes, der Prunase.

Die letzte Stufe des Abbaues, die aus dem Benzaldehydcyanhydrin Bittermandelöl und Blausäure erzeugt, ist das Werk der Oxynitrilase.

Allein die mittlere von diesen drei Reaktionen ist eine wirkliche β -Glucosidspaltung. Nur das Ferment für diese Re-

¹⁾ S. J. M. Auld, Chem. Centralbl. 1907, I, 1698.

aktion, die Prunase, ist dem alten „Emulsin“ vergleichbar. Die Hydrolyse des Amygdalins durch Hefe ist nachgewiesen. Noch nicht völlig geklärt ist aber die Frage nach der Abtrennbarkeit der drei Fermentwirkungen von der Hefenzelle.

Emil Fischer¹⁾ zeigte vor Jahren, daß durch Wasser von amygdalinspaltenden Fermenten aus Froberg-Hefe allein die Amygdalase aufgenommen wird; aus dem Amygdalin wird durch einen solchen Extrakt Traubenzucker und Mandelnitrilglucosid gebildet, ohne daß mehr als Spuren Blausäure und Benzaldehyd freigemacht würden.

Th. A. Henry und S. J. M. Auld²⁾ fanden, daß der Preßsaft aus obergäriger englischer Preßhefe, ebenso wie diese selbst, das Amygdalin vollständig spaltet. Aus den in dieser Richtung nicht ganz übersichtlichen Angaben von R. J. Caldwell und J. L. Courtauld³⁾ kann man wohl schließen, daß sie mit Extrakten von ober- wie untergärigen Hefen, ebenso wie Emil Fischer, das Mandelnitrilglucosid erhielten und daß dieses nicht weiter zerlegt wurde. A. Bau⁴⁾ konnte kein blausäureabsplattendes Ferment in wäßrigen Auszügen seiner Trockenhefen nachweisen, die trotz ihres Alters in toto noch alle die drei genannten Enzyme in wirksamem Zustande enthielten; extrahierbar war nur die Amygdalase und sicher kein cyanogenes Ferment. Ähnlich lautet eine Angabe von Th. Bokorny⁵⁾: ein wäßriger Extrakt aus der von ihm verwendeten, in frischer und trockener Form das Amygdalin cyanogen spaltenden Hefe gab keinen Bittermandelölgeruch mit Amygdalin; ob Amygdalasewirkung eintrat, stellte er nicht fest.

Obergärige wie untergärige Hefen enthalten in frischer und getrockneter Form die zur vollständigen Aufspaltung des Amygdalins in seine vier Komponenten nötigen Fermente. An Wasser geben die Hefen bei einfacher Digestion höchstens

¹⁾ Emil Fischer, Ber. 28, 1508, 1895.

²⁾ Th. A. Henry und S. J. M. Auld, Proc. Roy. Soc. 76, 568, 1905; Chem. Centralbl. 1905, II, 1812.

³⁾ R. J. Caldwell und S. L. Courtauld, Proc. Roy. Soc. 79, 350, 1907; Chem. Centralbl. 1907, II, 620.

⁴⁾ A. Bau, diese Zeitschr. 73, 340, 1916.

⁵⁾ Th. Bokorny, diese Zeitschr. 75, 376, 1916; Arch. f. d. ges. Physiol. 164, 203, 1916.

die Amygdalase ab, in den Preßsaft aus englischer Oberhefe gehen aber alle drei Fermente über.

Dies fanden wir nun auch für den Hefemacerations-saft der untergärigen Münchener Trockenhefe von Schroder. Bei Gegenwart von Toluol entwickelt der wie üblich hergestellte Macerationssaft aus dem Amygdalin Zucker bzw. Alkohol und Kohlendioxyd und bildet Benzaldehyd und Blausäure, die beide nachgewiesen wurden. Aus der Titration der erzeugten Blausäure berechnet sich eine Spaltung von 30,2⁰/₁₀ des angewandten Amygdalins.

Damit ist also die Abtrennbarkeit der sämtlichen zur Amygdalinhydrolyse erforderlichen Fermente von der lebenden Zelle auch durch die Maceration und auch für Unterhefe festgestellt. Damit war aber noch kein sicherer Schluß auf die Wirkung des Macerations-saftes gegenüber wirklichen β -Glucosiden möglich; denn es ist ja auch zweifelhaft, zu welchen Glucosidasen die Prunase zu zählen ist. Die bisher vorliegenden Literaturangaben geben keinen Aufschluß über diese Fragen.

Zwar dehnten Henry und Auld¹⁾ ihre Untersuchungen auch auf andere, einfache Glucoside aus; sie prüften aber nur die Einwirkung der lebenden englischen Hefe, nicht auch die des Preßsaftes. Sie fanden, daß bei Gegenwart von Toluol zwar Salicin, Arbutin und Phaseolunatin, nicht aber Quercitrin, Digitalin und Sinalbin gespalten wurden. Th. Bokorny²⁾ hat ebenfalls keine Enzymlösungen, sondern nur frische oder trockene Hefen selbst (Münchener Brauereihefe, zum Teil auch Getreidehefe) auf einige einfache Glucoside einwirken lassen. Wenn er weder bei Arbutin noch bei Salicin und Coniferin eine Zerlegung findet, so wäre es möglich, daß der Mißerfolg an seiner Untersuchungsmethode liegt. Er schreibt, daß er beim Zusammenrühren in einem Becherglase weder Gärung noch Geruch bemerkt habe. Ein Geruch war überhaupt nicht zu erwarten, da die Paarlinge der erwähnten Glucoside [außer Hydrochinon und o-Oxybenzylalkohol auch Coniferylalkohol³⁾] nicht

¹⁾ a. a. O.

²⁾ a. a. O.

³⁾ F. Tiemann, Ber. 11, 669, 1878.

riechen; und wie das Ausbleiben der Gärung sicher festgestellt wurde, ist aus seinen Angaben nicht zu erkennen.

Wir fanden den Hefemacerationssaft¹⁾ aus Münchener Trockenhefe auch gegen Arbutin und Salicin wirksam. Bei Gegenwart von Toluol lieferte er im Eudiometer mit beiden Glucosiden sowohl Kohlendioxyd als auch die an den Zucker gebundenen Komponenten Hydrochinon bzw. Saligenin, die isoliert und identifiziert werden konnten.

Wesentlich anders liegen die Verhältnisse bezüglich des Myrosins. Die Erkenntnis, daß zu einer Spaltung der ganz abweichend konstituierten Senfölgucoside ein besonderes Ferment erforderlich ist, wird auch durch die mit Hefen angestellten Spaltungsversuche bekräftigt. Henry und Auld²⁾ fanden nämlich kein Myrosin in der englischen obergärigen Preßhefe, während diese, wie erwähnt, gewöhnliche Glucoside spaltet. Kurz vorher hatte auch A. Kossowicz³⁾ mitgeteilt, daß sich durch Hefen keine Abspaltung von Senföl aus myronsaurem Kalium erzielen läßt. Im Gegensatz dazu gibt Bokorny⁴⁾ an, daß Münchener Brauerei- und Getreide-Preßhefe Myrosin enthalten; allerdings ist hier das Bedenken am Platze, daß Bokorny kein Antisepticum angewendet hat, das bei seiner Versuchsanordnung besonders wünschenswert gewesen wäre.

Um die Widersprüche zwischen diesen Angaben aufzuklären, haben wir myronsaures Kalium (Sinigrin) der Wirkung von untergäriger Münchener Trockenhefe bei Gegenwart von wenig Thymol oder Toluol in wechselnden Mengenverhältnissen ausgesetzt: ein Senfölguch oder die beweisendere Abspaltung von Bisulfat oder Eintritt einer Gärung waren selbst während langer Versuchsdauer niemals wahrzunehmen. Ebenso erfolglos waren die Versuche, eine Myronatspaltung durch Hefemacerationssäfte oder frische Hefen zu erreichen; frische Münchener Unterhefe stand uns nicht zur Verfügung, untergärige und obergärige Berliner Hefe (Rasse U und OM) wirkten in Gegen-

¹⁾ Besonders betont sei, daß nur nach weitgehender Zertrümmerung der Hefezelle, nicht aber durch einfache Auslaugung mit Wasser das emulsinartige Ferment in Lösung gebracht werden kann; es dürfte deshalb wie die Zymase zu den Endoenzymen gehören.

²⁾ a. a. O.

³⁾ A. Kossowicz, Ch. C. 1905, II, 643.

⁴⁾ a. a. O.

wart von Thymol jedenfalls nicht auf Kaliummyronat. Auch ohne Antiseptikum blieb innerhalb 48 Stunden die Spaltung aus.

Es ergab sich also folgendes:

1. Von untergäriger Hefe lassen sich alle drei zur vollständigen Amygdalinhydrolyse notwendigen Fermente (Amygdalase, Prunase und Oxynitrilase) abtrennen. Sie gehen in den Hefemacerationssaft über und wirken in Anwesenheit von Toluol.

2. Wahre β -Glucoside, die durch frische englische Oberhefe zerlegt werden, unterliegen auch der Spaltung durch den Macerationssaft aus Münchener Unterterhefe in Gegenwart von Toluol.

3. Myrosinferment ist (ebensowenig wie in frischen englischen Oberhefen) weder in untergäriger Münchener Trockenhefe oder in dem daraus bereiteten Macerationssaft noch in frischer Berliner Ober- und Unterhefe nachweisbar.

Auszug aus den Versuchsprotokollen.

I. Spaltung des Amygdalins durch Macerationssaft aus untergäriger Hefe.

a) 0,5 g Amygdalin ($C_{20}H_{27}NO_{11} + 3H_2O$) werden in 10,0 ccm Macerationssaft aus Münchener Trockenhefe vom April 1914 gelöst und nach Zusatz von 0,5 ccm Toluol bei 37° aufbewahrt. Nach 12 Stunden war starker Geruch nach Benzaldehyd vorhanden und mäßige Gärung im Gange. Nach drei Tagen wurde die in einer Flasche mit Gärverschluß aufbewahrte Flüssigkeit, die während dieser Zeit ununterbrochen Kohlensäure entwickelt hatte, nach Verdünnung durch Wasser mit Dampf destilliert. Es gingen über: Bittermandelöl, nachweisbar als Phenylhydrazon, sowie Blausäure, die in Berlinerblau übergeführt wurde.

b) Es wurde eine Lösung von 4,0 g Amygdalin in 80,0 ccm Macerationssaft (aus 1914er Hefe) hergestellt. Davon wurden:

1. 30,0 ccm im Brutschrank bei 37° und
2. 30,0 " " " " " 44 bis 45°

nach Zugabe von 0,5 ccm Toluol aufbewahrt.

In der bei 44 bis 45° (45° wird als optimale Temperatur für die Emulsinwirkung angegeben) aufbewahrten Lösung war kräftigere Schaumbildung und ersichtlich stärkere Gärung eingetreten. Nach 3 Tagen wurden aus beiden Proben durch Behandlung mit Wasserdampf Blausäure und Benzaldehyd übergetrieben.

c) 20,0 ccm der obigen Mischung wurden mit 0,5 ccm Toluol in ein Eudiometer übergeführt und bei 37° aufbewahrt. Dabei wurden entwickelt nach:

2	14	26	40	60	65	Stunden
6,5	7,5	13,5	24,0	26,2	26,4	ccm CO ₂

Der Inhalt des Eudiometers wurde dann mit Wasser in einen Destillationskolben übergeführt und mit Wasserdampf vorsichtig destilliert. Das Destillat verbrauchte 3,0 ccm $\frac{n}{10}$ -AgNO₃ = 16 mg Blausäure. Diese Menge entspricht einer Spaltung von 0,302 g krystallwasserhaltigem Amygdalin = 30,2% der angewendeten Menge.

II. Spaltung des Arbutins durch Macerationssaft aus untergäriger Hefe.

3,0 g Arbutin wurden in 50,0 ccm Macerationssaft gelöst und im Eudiometer zusammen mit 1 ccm Toluol bei 37° aufbewahrt. Nach 7 Tagen hatten sich 49,0 ccm Kohlendioxyd angesammelt. Dann trat Stillstand der Gärung ein.

Durch Erhitzen auf dem Wasserbade wurde die im Eudiometer enthalten gewesene Flüssigkeit von koagulablem Eiweiß befreit. Die filtrierte Lösung wurde im Vakuum eingeeengt und mit heißem Alkohol extrahiert. Der alkoholische Auszug wurde im Vakuum zur Trockne verdampft und der Rückstand mit Äther verrührt, in dem das unveränderte Glucosid unlöslich ist, während entstandenes Hydrochinon leicht aufgenommen wird. Die ätherische Lösung hinterläßt beim Verdampfen einen braunen, öldurchtränkten Rückstand. Durch Umkrystallisieren desselben aus heißem Wasser erhält man Hydrochinon in noch etwas braun gefärbten Krystallen. Durch Zusatz von Eisenchlorid oder Kaliumbichromat zur wäßrigen Lösung tritt vorübergehend Chinhydrinfärbung und scharfer Chinongeruch auf.

III. Spaltung des Salicins durch Macerationssaft aus untergäriger Hefe.

3,0 g sehr fein gepulvertes Salicin wurden in 50,0 ccm Macerationssaft eingetragen und nach Zugabe von 1 ccm Toluol in einem Eudiometerrohr über Quecksilber bei 37° aufbewahrt. Nach 5 Tagen waren 39,5 ccm Kohlensäure entwickelt, und die Gärung war beendet. Die Aufarbeitung geschah genau in der beim Arbutin (sub II.) beschriebenen Weise. Aus der ätherischen Lösung kristallisierte das durch Hydrolyse des Salicins entstandene Saligenin (o-Oxybenzylalkohol) direkt aus; es schmolz nach dem Abdecken mit Benzol und Streichen auf Ton wie ein reines Präparat von Kahlbaum bei 80 bis 81° und zeigte die diesem zukommenden Reaktionen.

IV. Versuche zur Zerlegung von myronsaurem Kalium durch Macerationssaft aus untergäriger Hefe.

a) 0,5 g myronsaures Kalium wurden in 10,0 ccm Macerationssaft aus Hefe vom April 1914 gelöst und bei 37° unter Zusatz von 0,05 ccm Toluol aufbewahrt. Im Verlauf von 7 Tagen trat kein Geruch nach Senföl auf, und auch bei Behandlung mit Wasserdampf wurde kein nach Senföl riechendes Destillat erhalten.

b) 1,0 g myronsaures Kalium wurde in 100,0 ccm Macerationssaft vom Januar 1915 gelöst. Die Probe wurde in 2 Teile geteilt und die eine Hälfte mit 0,25 g Thymol versetzt. Diese zeigte auch nach 10 Tagen weder Gärung noch Abspaltung von Senföl. In der ohne Antisepticum aufbewahrten Probe war nach 5 Tagen Fäulnis und zugleich ein ganz schwacher Geruch nach Senföl aufgetreten.

c) Eine Wiederholung des Versuches b) mit Saft aus Münchener Trockenhefe vom März 1916 ergab das gleiche Resultat: nur in dem Ansatz ohne Toluol trat ein undeutlicher Geruch nach Senföl auf, und es entwickelte sich bei der eingetretenen Fäulnis 1,2 ccm Gas, von dem 0,9 ccm durch Kalilauge nicht absorbierbar waren.

V. Versuche zur Zerlegung von myronsaurem Kalium durch getrocknete Münchener Unterhefe.

a) 0,5 g myronsaures Kalium wurden gelöst in 5 ccm Wasser und versetzt mit 0,5 g Trockenhefe vom März 1916.

b) 0,5 g myronsaures Kalium wurden gelöst in 10 ccm Wasser und versetzt mit 0,5 g Trockenhefe vom März 1916.

c) 0,2 g myronsaures Kalium wurden gelöst in 20 ccm Wasser und versetzt mit 0,5 g Trockenhefe vom März 1916.

Nach Zugabe einer Spur Thymol trat in keiner der verschlossenen Proben nach Aufbewahrung bei Zimmertemperatur Spaltung ein, selbst nach 2 wöchentlichem Stehen nicht. Der Zusatz von Thymol erwies sich auch hier als notwendig, um Fäulnis auf die Dauer zu verhindern.

d) e) f) und g) In Eudiometern wurden dann — ohne Zugabe eines Antisepticums — noch folgende Versuche angestellt.

d) 18,0 ccm H_2O ,
 2,0 g Trockenhefe,
 0,5 g Kaliummyronat. Es wurden entwickelt nach:

14	24	48 Stunden
0,2	1,5	2,5 ccm CO_2

e) 18,0 ccm H_2O ,
 2,0 g Trockenhefe,
 0,2 g Traubenzucker. Es wurden entwickelt nach:

14	24	48 Stunden
3	7,0	11,5 ccm CO_2

f) 18,0 ccm H_2O ,
 2,0 g Trockenhefe. Es wurden entwickelt nach:

14	24	48 Stunden
0,2	1,5	3,0 ccm CO_2

Daraus geht hervor, daß innerhalb 48 Stunden, d. h. solange hinreichende Sterilität gewährleistet schien, die gärkräftige Trockenhefe aus Myronat nicht mehr Kohlendioxyd in Freiheit zu setzen vermochte, als der bekannten Selbstgärung dieses Materials entsprach; dagegen wurde aus einem der Myronat-

menge entsprechenden Quantum Traubenzucker eine ansehnliche Menge CO_2 entwickelt.

VI. Versuche zur Zerlegung von myronsaurem Kalium durch frische Berliner Unter- und Oberhefe¹⁾.

a) 0,5 g myronsaures Kalium wurden mit 10 ccm Wasser und 2 g frischer untergäriger Hefe (Rasse U) versetzt, und nach Zugabe von 0,05 g Thymol blieb die Mischung eine Woche im Brutschrank bei 37° stehen. Es war keine Spaltung des Myronats erkennbar.

b) und c) Ebenso negativ verliefen die entsprechenden Versuche mit 0,5 g myronsaurem Kalium in 20 ccm Wasser plus 4 g Unterhefe und 0,05 g Thymol sowie mit 1 g Kaliummyronat in 40 ccm Wasser und 0,1 g Thymol sowie 10 g Unterhefe bei 37°.

d) e) und f) Drei ganz entsprechende Versuche wurden mit frischer Berliner Oberhefe (Rasse OM) ausgeführt, sie hatten das gleiche Ergebnis.

g) h) i) k) l) m) Schließlich wurden die Versuche (a bis f) nochmals mit denselben Hefenrassen (U und OM) zu anderen Zeiten angestellt, aber ohne Antisepticum. Sie konnten so 2 bis 3 Tage einwandfrei bei 37° aufbewahrt werden; die Zerlegung des Myronates blieb jedoch auch hier überall aus.

¹⁾ Die Hefen verdanken wir dem Institut für Gärungsgewerbe in Berlin; sie waren von gewohnter Güte.

Über Magenatmung beim Menschen.

Von

Arvo Ylppö.

(Aus dem Kaiserin Auguste Victoria Hause zur Bekämpfung der Säuglingssterblichkeit im Deutschen Reiche, Charlottenburg.)

(Eingegangen am 25. Oktober 1916.)

Mit 1 Figur im Text.

Zu dieser Arbeit gab folgende Beobachtung Anlaß: Gelegentlich von Untersuchungen der Magengase bei Säuglingen mit pathologischem Luftschlucken (Aerophagie) fand ich oft Werte für den CO_2 -Gehalt, die auffallend wenig voneinander abwichen. Um die Ursache dieser Konstanz klarzulegen, habe ich die hier folgenden Selbstversuche vorgenommen. Ich glaube, durch sie in diese Frage der CO_2 -Konstanz einiges Licht gebracht zu haben, indem ich durch die folgenden Untersuchungen einen eindeutigen Zusammenhang der Magengase, darunter der Kohlensäure, mit den Alveolargasen nachgewiesen habe. Dies nur vorweg.

Der genauen Mitteilung meiner Untersuchungen sei in Kürze eine Übersicht unserer bisherigen Kenntnisse über das Verhalten der Gase, speziell Resorption und Diffusion im menschlichen Magen-Darmkanal vorangeschickt.

Im Tierreiche haben wir zahlreiche Beispiele dafür, daß neben der Lunge andere Einrichtungen und Organe bei der Atmung eine wichtige Rolle spielen. Ich erwähne hier nur die Hautatmung bei Fröschen und die Darmatmung beim Schlammpeizger (*Cobitis fossilis*), einem Fisch, bei dem sie zu höchst wichtiger funktioneller Bedeutung gelangt. Dieser Fisch kann ausschließlich von heruntergeschluckter Luft leben, die dann später mit geringerem O_2 -Gehalt und vermehrtem CO_2 -Gehalt

per Anum entleert wird, was von Baumert¹⁾ schon im Jahre 1855 festgestellt worden ist. Beim Menschen dagegen spielt nach der allgemeinen Ansicht der Gasaustausch im Magen-Darmkanal keine Rolle. Von seiten der Physiologen wird aber immerhin ein Diffundieren der Gase durch die Magen- und Darmwand nicht in Abrede gestellt. Hermann²⁾ z. B. erwähnt in seinem Lehrbuch kurz, daß im Darm „der Sauerstoff der verschluckten Luft verschwindet und durch Kohlensäure ersetzt wird“. Bohr³⁾ sagt ebenfalls, „daß im Darmkanal der Warmblüter der Sauerstoff aus der mit dem Speichel verschluckten atmosphärischen Luft nach und nach durch die Wände des Verdauungstraktus hindurch aufgenommen wird, ebenso wie einige Kohlensäure aus dem Blute in den Darmkanal oder umgekehrt diffundieren kann, je nachdem der prozentige Gehalt an Kohlensäure, die beim Verdauen in verschiedener Menge gebildet wird, im Darmkanal mehr oder weniger reichlich ist“.

Die ersten speziellen Untersuchungen über Magengase stammen von Planer⁴⁾ aus dem Jahre 1860. Sie beziehen sich, mit Ausnahme von einigen Untersuchungen an verstorbenen Menschen, auf Hunde, deren Magen- und Darmgase mitten in der Verdauung, einige Stunden nach der letzten Mahlzeit der getöteten Tiere, entnommen wurden. Planer fand hierbei nur zweimal eine zur Analyse genügende Menge Gas. Dieses Gas bezeichnete er als verschluckte Luft. Weil nun aber zufälligerweise das Verhältnis (die absoluten Prozentzahlen wichen wegen der stattfindenden Verdauung stark voneinander ab) der CO_2 zu der im Magen verschwundenen O_2 -Menge (O_2 -Menge der Luft als Ausgangspunkt angenommen) sich wie 2 : 1 verhielt, so glaubte er, daß dies auf irgendein Diffusionsgesetz zurückzu-

¹⁾ Baumert, Chemische Untersuchungen über die Respiration des Schlampeizgers (*Cobitis fossilis*), Heidelberg 1852 (Monographie).

²⁾ Hermann, L., Lehrbuch der Physiologie, 13. Auflage, Berlin 1905. Dasselbst IX. Kapitel XXX, S. 535. Die Haut- und die Darmatmung.

³⁾ Bohr, Christian, Blutgase und respiratorischer Gaswechsel. Handbuch der Physiologie des Menschen (Nagel). 1, 1. Hälfte 1909. Dasselbst 4. Abschnitt, S. 219, die Darmatmung.

⁴⁾ Planer, Die Gase des Verdauungsschlauches und ihre Beziehungen zum Blute. Sitzungsber. d. mathem.-naturw. Klasse d. K. Akad. d. Wissensch. 42, 307, 1861.

führen wäre, nach dem für jedes aufgenommene Volumen O_2 immer 2 Volumen CO_2 durch die Magenwand abgegeben werden sollten.

Den Hund hat auch Schierbeck¹⁾ als Versuchsobjekt in seinen Untersuchungen über „Kohlensäure im Ventrikel“ benutzt. Er hat versucht, Aufschluß über die Magengase dadurch zu bekommen, daß er den Hunden größere Mengen von Wasser entweder in den nüchternen oder in den verdauenden Magen einführte, es nach kürzerer Zeit (8 bis 10 Minuten) wieder ausheberte und durch eine sehr umständliche Methode seinen Gehalt auf CO_2 prüfte. Die gefundenen Werte übertrug er dann auf die Verhältnisse im Magen und gibt als Ergebnis seiner Untersuchungen an, daß die CO_2 -Spannung von der Verdauung abhängig ist, auf der Höhe derselben ca. 130 bis 140 mm beträgt, um, nachdem die Nahrung den Ventrikel wieder verlassen hat, auf ca. 30 bis 40 mm zu fallen, welcher letzteren Wert die Spannung im nüchternen Magen stets bewahrt. Weil er Kohlensäure im ausgespülten und vom Darm abgesperrten Magen fand, glaubte Schierbeck, daß die CO_2 nur allein auf eine sekretorische Tätigkeit der Magenschleimhaut zurückzuführen wäre. Für diese Ansicht sichtet er noch in einer weiteren Arbeit²⁾, und auch Bohr³⁾ scheint ihm beizustimmen.

Die Magengase beim Menschen hat meines Wissens Hoppe-Seyler⁴⁾ zuerst untersucht. Er hat aber nur kranke Menschen beobachtet und seine Versuche nicht bei nüchternem Magen, sondern während der Verdauung resp. bei Vorhandensein von Nahrungsresten im Magen ausgeführt. Die Gase wurden mittels Woulfscher Flasche über H_2O aufgefangen, sie waren meistens brennbar und bestanden aus CO_2 , O_2 und H_2 , ohne daß hierbei bezügl. der prozentuellen Zusammensetzung irgendwelche Gesetzmäßigkeit sich herausgestellt hätte.

¹⁾ Schierbeck, Über Kohlensäure im Ventrikel. Skandin. Arch. f. Physiol. 3, 437, 1892.

²⁾ Schierbeck, Fernere Untersuchungen über das Auftreten der Kohlensäure im Magen. Skandin. Arch. f. Physiol. 5, 1, 1895.

³⁾ s. Anmerk. ²⁾ auf S. 274.

⁴⁾ Hoppe-Seyler, Zur Kenntnis der Magengärung mit besonderer Berücksichtigung der Magengase. Deutsches Arch. f. klin. Med. 50, 83, 1892.

Auch beim Säugling sind schon einmal von Leo¹⁾ die Magengase analysiert worden. Sein Material umfaßt in der Hauptsache kranke Kinder, bei denen die Magengase außerordentlich starke Abweichungen voneinander zeigten. Beim gesunden Kinde hat er 1½ bis 2 Stunden nach der Mahlzeit niedrigere Werte für CO₂ (3,8 bis 4,6⁰/₀) gegenüber den bedeutend höheren Werten (bis 17⁰/₀) bei kranken Kindern gefunden. Bei Versuchen, das Vorhandensein der CO₂ im Magen zu erklären, bespricht er verschiedene Möglichkeiten, in erster Linie die Gärungsprozesse. Uns interessiert aber an dieser Stelle besonders seine Vermutung, daß die CO₂ auch teils durch die Diffusion der CO₂ aus dem Blute stammt.

Fernerhin hat Loening²⁾ beim Menschen die Resorption der CO₂ aus CO₂-haltigem Wasser einem besonderen Studium unterworfen. Sein Verfahren gleicht im großen und ganzen dem bei Schierbeck³⁾ besprochenen. Er hat hierbei festgestellt, daß der menschliche Magen imstande ist, in erheblichem Maße CO₂, die ihm im Wasser zugeführt wird, zu resorbieren. Nach ihm wird die Hauptmenge schon in den ersten Minuten resorbiert, nach 10 bis 15 Minuten ist schon ³/₄ von der eingeführten Gesamtmenge resorbiert. Er betont aber interessanterweise, daß noch nach 1 Stunde immerhin ein kleiner Rest von CO₂ übrig bleibt, ein Rest, der entweder außerordentlich langsam oder überhaupt nicht resorbiert wird.

Zuletzt wäre noch zu erwähnen, daß Quest⁴⁾, der hauptsächlich mit den Flatusgasen der Säuglinge sich beschäftigt hat, auch einmal bei einem Kinde die Magengase untersuchte. Er hat einen Versuch ausgeführt, indem er einem Kinde 150 ccm Zimmerluft mittels Woulfischer Flasche einführte und nach 20 Minuten 120 ccm ausheberte. Die Zusammensetzung der Magengase zeigte einen CO₂-Gehalt von 4,03⁰/₀ und einen O₂-Gehalt von 17,82⁰/₀. Weil sich nun die gefundene CO₂-Menge zu der im Magen verschwundenen O₂-Menge annähernd wie 2:1 verhielt, so glaubte er, daß dieses Verhältnis auf irgend-

¹⁾ Leo, Über den gasförmigen Mageninhalt bei Kindern im Säuglingsalter. *Zeitschr. f. klin. Med.* 41, 108, 1900.

²⁾ Loening, Das Verhalten der Kohlensäure im Magen. *Zeitschr. f. klin. Med.* 56, 26, 1905.

³⁾ s. Anmerk. ¹⁾ auf S. 275.

⁴⁾ Quest, Untersuchungen über Darmgase bei Säuglingen mit Tympanites. *Jahrb. f. Kinderheilk.* 59, 293, 1904.

eine Weise bei Resorption der Gase aus dem Magen-Darmkanal immer konstant wäre, eine Vermutung, die, wie erwähnt, schon früher von Planer¹⁾ ausgesprochen wurde.

Dies wäre so schließlich alles, was man über die Magengase weiß²⁾. Um nun einen genaueren Einblick in die Resorptions- und Diffusionsverhältnisse verschiedener Gase im menschlichen Magen zu bekommen, habe ich zunächst folgenden Weg eingeschlagen: Ich ging von dem Gedanken aus, daß die CO₂ des nüchternen Magens in erster Linie durch Diffusionsvorgänge aus dem Blute stammen sollte. Die oben erwähnte Konstanz des CO₂-Gehaltes im Magen der luftschluckenden Säuglinge gab ja einen Hinweis, daß die Ursprungsquelle der CO₂ in erster Linie in den Blutgasen, die bekanntlich ihrerseits konstante Zusammensetzung besitzen, zu suchen wäre. Damit war für mich der Weg gegeben, um den Beweis eines möglichen Abhängigkeitsverhältnisses zwischen den Magengasen und den Blutgasen zu erbringen. Ich mußte demzufolge die Zusammensetzung der Blut- und der Magengase gleichzeitig bestimmen. Nun weiß man aber, daß die Alveolargase im Gleichgewicht mit den Blutgasen stehen. Ich konnte folglich meine Aufgabe dadurch lösen, daß ich gleichzeitig Alveolar- und Magengase analysierte.

Method.

Zur Bestimmung der Alveolargase benutzte ich die Methode von Haldane und Priestley. Ihr Verfahren besteht darin, daß man durch einen etwa 1¹/₂ m langen Gummischlauch mit einem gläsernen Mundstück von ca. 25 mm Lichtung ausatmet. An dem Mundstück ist ein kleines seitliches Capillarrohr befestigt, das im Zusammenhang mit einer mit Quecksilber gefüllten Gasbürette steht. Die Gasentnahme selbst geschieht dadurch, daß man zuerst bei geschlossener Nase eine möglichst tiefe Expiration macht, dann das Mundstück mit der Zunge schließt und eine Probe von dem letzten Teil der Expirations-

¹⁾ S. Anmerk. ⁴⁾ auf S. 274.

²⁾ Auch die Behauptung von Federn (Münch. med. Wochenschr. 1916, S. 1820) auf meine vorläufige Mitteilung (Münch. med. Wochenschr. 1916, S. 1650), daß er die Magenrespiration beim Menschen bereits vor mir durch rein äußerliche „Beobachtung“ und „Perkussion“ des Magens nachgewiesen hätte, ändert hieran nichts. Die Federnsche Arbeit (Über Tuberkulose, siehe Wien. klin. Wochenschr. 1914, S. 1291), worauf er seine Behauptung stützt, hat außer dem Wort Magenrespiration nichts Gemeinsames mit der Magenatmung, wie sie hier aufgefaßt wird.

luft durch Senken des Quecksilbers in die Gasbürette bringt. [Siehe Genaueres über die Methode bei Barcroft¹⁾ 2).]

Die Untersuchungen der Magengase verliefen folgendermaßen: In den nüchternen Magen wurden morgens früh, ca. 14 bis 18 Stunden nach der letzten Mahlzeit, verschiedene Mengen (700 bis 1100 ccm) von Gasen (Zimmerluft, O₂, CO₂) eingeführt. Der Vorgang bei der Magenfüllung wird durch die nebenstehende Skizze veranschaulicht.

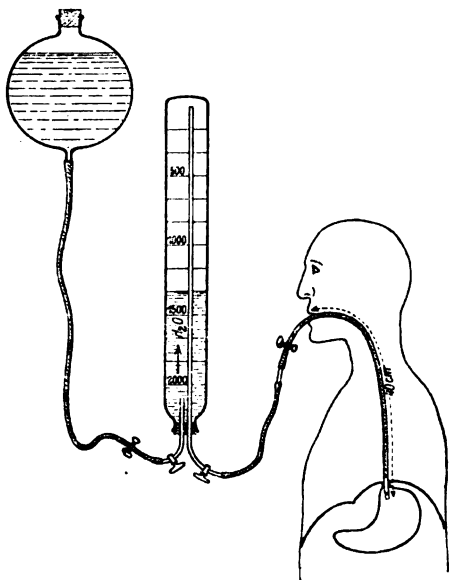


Fig. 1.

Die Gase wurden durch Wasserdruck langsam in den Magen gepreßt. Nach der Einführung von ca. 700 bis 1100 ccm fühlte ich eine gewisse Spannung und einen leichten Druck in der Magengegend; ich hörte dann mit der Einführung auf. Die Magen-sonde wurde rasch herausgezogen, danach verrichtete ich teils klinische, teils Laboratoriumsarbeiten und entnahm die Gasproben in Abständen von 15 Minuten bis 2 Stunden

nach der Einführung. Zur Entnahme der Magengase benutzte ich denselben ca. 1 cm dicken Magenschlauch wie eingangs beschrieben. Derselbe wurde vor dem Einführen mit Wasser gefüllt und mit einer Klemme verschlossen in den Magen ge-

¹⁾ Barcroft, The respiratory function of the blood. Cambridge 1914 (Monographie). Dasselbst S. 309.

²⁾ Um die Luftproben immer zu gleichem Zeitpunkt am Ende des Expiriums entnehmen zu können, bedarf es einer gewissen Übung. Ich überwand in einiger Zeit diese methodischen Schwierigkeiten und bekam gut übereinstimmende Werte. Diese sind, da ich keine Luftproben am Ende des Inspiriums analysiert habe, demnach eigentlich als Höchstwerte für CO₂ zu betrachten.

führt¹⁾. Nachher wurde die Klemme geöffnet, das Wasser mittels Bauchpresse aus dem Schlauch in ein Schälchen unter Wasser herausgepreßt, bis zum Erscheinen der ersten Gasblasen. Dann wurde der Hahn geschlossen, der Schlauch direkt an eine mit Quecksilber gefüllte Gasbürette angeschlossen und durch langsames Senken des Quecksilbers die Gasprobe aus dem Magen entnommen. Alle Analysen wurden im Haldaneschen Gasanalysen-Apparat ausgeführt. Bestimmt wurden CO_2 und O_2 ; die erstere mittels 20⁰/₀iger Kalilauge, die letztere mittels 10⁰/₀igem Pyrogallol in stark konzentrierter Kalilauge (200 Kalilauge, 100 Wasser). Es wurden überall Doppelanalysen gemacht.

Durch diese „trockene“ Gasentnahme wurde jeglicher Verlust von CO_2 vermieden, im Gegensatz zu den „nassen“ Methoden, bei denen die Gase über Wasser aufgefangen werden. Dies letztere Verfahren führt ja wegen der großen Löslichkeit der CO_2 im Wasser leicht zu größeren Fehlern. Die größten Schwierigkeiten der Methode sind folgende: Nach der Gasfüllung des Magens muß man sich peinlich vor Schluckbewegungen hüten, durch die frische Luft in den Magen kommen könnte. Und fernerhin muß man bei Einführen der Sonde zum Zwecke der Gasentnahmen jegliches Schlucken möglichst unterdrücken und den Schlauch möglichst nur durch Drücken in den Magen einführen, um den Zufluß von frischer Luft zu vermeiden. Es dauert eine gewisse Zeit, bis man diese Schwierigkeiten zu überwinden lernt. Aus diesem Grunde, und weil das wiederholte Schlucken eines Magenschlauches manchem sowieso nicht angenehm ist, habe ich meine Versuche auf mich selbst beschränken müssen. Diesen Nachteil habe ich durch um so zahlreichere Bestimmungen einigermaßen aufzuheben versucht.

Versuche mit Zimmerluft.

Die ersten Versuche habe ich mit Zimmerluft angestellt. In den nüchternen Magen führte ich von dieser ca. 750 ccm ein

¹⁾ Die Länge des eingeführten Schlauches, von der Zahnreihe gemessen, betrug jedesmal 40 cm. Dann reichte die Spitze des Schlauches mit den beiden ovalen Öffnungen einige Zentimeter in den Fundusteil des Magens hinein (siehe die Skizze), wie ich es röntgenologisch feststellen konnte. Bekanntlich sammeln sich die letzten Gasreste immer an dem obersten Teil des Magens. Um sie auffangen zu können, ist dies Verfahren unbedingt nötig.

und entnahm in verschiedenen Zeitabständen, wie aus der folgenden Tabelle I genauer ersichtlich, kleinere Gasproben aus dem Magen. Dabei stellte sich heraus, daß die CO_2 schon in kurzer Zeit in beträchtlichen Mengen, 2 bis 3^o/_o, vorhanden war. Nach 40 bis 60 Minuten trat dann eine gewisse Konstanz auf, bei der die einzelnen CO_2 -Werte zwischen 4 und 5^o/_o schwankten. Bei den späteren Gasproben, soweit überhaupt noch Gas im Magen vorhanden war, fand ich meistens wieder den gleichen Wert; nur bisweilen war der Prozentgehalt der CO_2 niedriger als 4^o/_o, was aber aller Wahrscheinlichkeit nach darauf zurückzuführen ist, daß bei der Einführung des Magenschlauches trotz aller Vorsichtsmaßregeln doch kleinere Mengen Luft mit hineingedrungen waren, die aber genühten, um die noch im Magen vorhandene geringe Menge Gas in seinem CO_2 -Gehalt herabzusetzen. Als mittlere Zahl des CO_2 -Gehaltes nach ca. 40 bis 60 Minuten ergab sich 4,4^o/_o, für den O_2 -Gehalt der gleichen Gasproben 15,9^o/_o. Die eingeführte Luft, die 0,2 bis 0,3^o/_o CO_2 und 20 bis 21^o/_o O_2 enthielt, hat also im Magen eine ganz andere, aber ziemlich konstante Zusammensetzung angenommen; eine Zusammensetzung, die, wie die obigen Zahlen zeigen, der für die Gase der Alveolarluft beim Menschen annähernd gleicht. Und die gleichzeitig bei mir ausgeführten Alveolargas-Analysen ergaben auch dementsprechend bei verschiedenen Analysen, an allen Versuchstagen, für CO_2 im Mittel 4,8^o/_o und für O_2 15,6^o/_o. Diese Zahlen und ihr konstantes Auftreten beweisen meiner Meinung nach zur Genüge, daß es sich hier nicht um gassekretorische Tätigkeit der Magenschleimhaut [Schierbeck¹⁾ ²⁾], auch nicht um zufälliges Hineindringen von Darmgasen handeln kann, sondern daß sie nur so zu erklären sind, daß im Magen ein Gasaustausch zwischen Blutgasen und den in den Magen eingeführten Gasen etwa in ähnlicher Weise stattfindet, wie in der Lunge. Das Gleichgewicht der Magengase mit den Blutgasen spricht demnach eindeutig dafür, daß der Gasaustausch im Magen einfach durch Diffusionsvorgänge vor sich geht. Nach diesem Ergebnis möchte ich noch nebenbei darauf hinweisen, daß man

¹⁾ Siehe Anmerk. ¹⁾ auf S. 275.

²⁾ Siehe Anmerk. ²⁾ auf S. 275.

in diesen einen weiteren Beitrag für die Loewy-Zuntzsche¹⁾ Anschauung erblicken kann, nach der der Gasaustausch in der Lunge lediglich durch Diffusionsvorgänge erfolgt, dies gegenüber der von Bohr²⁾ lebhaft angefochtenen Behauptung, daß der Gasaustausch der Lunge auf bestimmte Sekretionsvorgänge der Alveolarzellen zurückzuführen wäre.

Führt man nun Luft in den menschlichen Magen-Darmkanal, so verschwindet aus derselben O₂, während dieselbe mit CO₂ angereichert wird. Der Stickstoff aber ist als Gas im allgemeinen an den Verbrennungsvorgängen nicht beteiligt. Es ist demnach anzunehmen, daß derselbe aus dem Magen-Darmtraktus unverändert wieder ausgeschieden wird. Ich habe die Veränderungen des N₂ des weiteren analytisch nicht festgestellt, an der Hand meiner Selbstversuche beobachtete ich aber nach jedem Versuch mit Zimmerluft, beginnend ca. 2 Stunden nach der Einführung, eine ziemlich starke Flatulenz; die 2 bis 3 Stunden andauerte. Dies spricht dafür, daß N₂ als toter Ballast den Körper in viel kürzerer Zeit verläßt, als man im allgemeinen von der Durchgangspassage der Gase im Darmkanal angenommen hat. Breslau³⁾ z. B. hat angenommen, daß die Darmgase 12 Stunden benötigen, um bei Neugeborenen den ganzen Darmkanal zu passieren.

Versuche mit CO₂.

Diese Versuche geben einen weiteren Beitrag dafür, daß das Vorhandensein der CO₂ im Magen auf Diffusionsvorgänge und nicht auf sekretorische Tätigkeit der Magenschleimhaut zurückzuführen ist. Ich führte in meinen Magen reine CO₂, die aus dem Kippschen Apparat direkt in das Gasreservoir geleitet worden war, und die einen CO₂-Gehalt von 94 bis 98% zeigte. Die eingeführten Mengen betragen, wie aus der Tabelle II ersichtlich, ca. 700 bis 1050 ccm. Die Gasproben, die

¹⁾ Loewy: Die Gase des Körpers und der Gaswechsel. I. Die Gase des Körpers. Handbuch d. Biochem. des Menschen u. d. Tiere. (Oppenheimer.) 4, 1. Teil, 10, 1911.

²⁾ Siehe Anmerk. *) auf S. 274.

³⁾ Breslau, Über Entstehung und Bedeutung der Darmgase beim neugeborenen Kinde. Monatsschr. f. Geburtak. 28, 1, 1866.

9. IX. 1916. Barom. 740 mm, Temp. 18°											
9	750 ccm Luft in den nüchternen Magen	8 ^h 20'	—	—	Nach 50 Min.	24	11 ^h 40'	14	4,6	16,5	
	Magengase	9 ^h 10'	4,1	16,8	Nach 1 Std. 10 Min.						
10	Magengase	9 ^h 30'	4,4	14,7	Nach 1 Std. 10 Min.						
	Nochmals 750 ccm Luft in den nüchternen Magen	9 ^h 35'	—	—	Nach 1 Std. 10 Min.						
11	Magengase	10 ^h 45'	4,1	15,0							
	Nochmals 750 ccm Luft in den nüchternen Magen	12 ^h	—	—							
12	Magengase	12 ^h 50'	4,0	16,1	Nach 50 Min. (Starke Flatulenz.)	25	12 ^h 20'	13	4,4	16,2	
11. IX. 1916. Barom. 735 mm, Temp. 18°											
13	750 ccm Luft in den nüchternen Magen	8 ^h 20'	—	—	Nach 40 Min.						
	Magengase	9 ^h	3,8	16,7	Nach 2 Std. 20 Min.	26	11 ^h 30'	13	4,7	15,2	
14	Magengase	10 ^h 40'	4,0	15,2	Nach 2 Std.						
	Nochmals 750 ccm Luft in den nüchternen Magen	10 ^h 45'	—	—	Nach 1 Std.						
15	Magengase	11 ^h 45'	4,2	16,6	Nach 2 Std. (Mäßige Flatulenz.)	27	12 ^h 50'	13	4,5	15,8	
16	Magengase	12 ^h 45'	3,2	17,8							
12. IX. 1916. Barom. 740 mm, Temp. 16°											
17	750 ccm Luft in den nüchternen Magen	8 ^h 10'	—	—	Nach 45 Min.						
	Magengase	8 ^h 55'	4,3	16,8	Nach 2 Std.	28	8 ^h 30'	14	5,0	14,8	
18	Magengase	10 ^h 10'	2,9	17,2	Nach 2 Std.						
	Nochmals 750 ccm Luft in den nüchternen Magen	11 ^h 45'	—	—							
19	Magengase	12 ^h 35'	4,7	14,8	Nach 50 Min. (Mäßige Flatulenz.)	29	12 ^h	14	4,6	15,4	

Ergebnis:

Magengase:

CO₂ (im Mittel der höchsten Werte) 4,4%
 O₂ (" " " " " ") 15,9%

Alveolargase:

CO₂ 4,8%
 O₂ 15,6%

nach ca. 1 Stunde aus dem Magen entnommen wurden, zeigten mit Ausnahme von einer einzigen Bestimmung (Versuch 38) konstant Werte zwischen ca. 4,4 bis 5,2⁰/₀; mit Berücksichtigung des Ausnahmeresultates war der Durchschnittswert 5,3⁰/₀ CO₂. Und diesem gegenüber ergab der CO₂-Gehalt der Alveolarluft den Durchschnittswert von 4,9⁰/₀ CO₂. Also hier hatte die CO₂ aus dem Magen hindusdiffundiert und hatte sich auch in ca. 1 Stunde annähernd ins Gleichgewicht mit den Blutgasen gesetzt. Gleichzeitig war wiederum O₂ aus dem Blute in den Magen hineindiffundiert, und der O₂-Gehalt resp. die Spannung im Magen entsprach annähernd dem des Blutes.

Als interessante Beobachtung in diesen Versuchen möchte ich zunächst erwähnen, daß ich keinen nennenswerten Ructus hatte, wie er nach dem Trinken von CO₂-haltigen Wässern bekannt ist. CO₂ an und für sich scheint den Ructus auch nicht in stärkster Konzentration hervorzurufen; ob seine Entstehung auf die heftige Entwicklung der freien CO₂ in der Magenwärme und dadurch entstehende plötzliche Spannung der Magenwand oder auf Reiz der kalten Flüssigkeit auf die Contraction der Magenmuskulatur beruht, vermag ich nicht zu entscheiden, sondern will hier nur die Tatsache feststellen.

Dagegen hatte ich während dieser und anderer Versuche unter ziemlich hochgradiger Salivation zu leiden, ferner, was besonders interessant ist, blieb bei diesen Versuchen jegliche Flatulenz aus. Die CO₂ wurde demnach restlos durch die Lunge ausgeschieden. Hierbei kam es jedoch nicht zu einer Steigerung des CO₂-Gehaltes in der Alveolarluft, wie man zunächst vielleicht hätte annehmen können, sondern dieser Extrazugang verteilte sich auf so große Mengen von Expirationsluft, daß eine feststellbare Anreicherung nicht auftreten konnte. Nebenbei sei noch erwähnt, daß der Puls eine Beschleunigung von 64 bis 84 unmittelbar nach Einführung der CO₂ in den Magen zeigte, auch machte sich ein leichtes Schwindelgefühl nach den zwei ersten Versuchen bemerkbar, das späterhin nicht mehr auftrat.

Tabelle II. Versuche mit CO₂.

Versuch	Maugengase			Bemerkung	Versuch	Alveolargase			
	Zeit	im Mittel CO ₂ %	im Mittel O ₂ %			Zeit	Respirationsfrequenz pro Minute	CO ₂ im Mittel %	O ₂ im Mittel %
30	21. IX. 1916. Barom. 735 mm, Temp. 16° Gasgemisch	8 ^a vm. 10 ^b 20' 11 ^a 05' 11 ^b 35'	95,3 — 14,0 5,1	0,3 — 16,2 17,3					
31	Davon 700 ccm in den nüchternen Magen				42	12 ^a 06'	14	5,3	16,9
32	Magengase			Nach 45 Min. Nach 1 Std. 15 Min.	43	12 ^b 35'	13	5,1	16,2
33	22. IX. 1916. Barom. 740 mm, Temp. 16° Gasgemisch	8 ^a vm. 9 ^b 10 ^b 05'	97,6 — 3,0	0,1 — 18,3					
34	Davon 750 ccm in den nüchternen Magen				44	9 ^b 05'	14	4,6	16,4
35	Magengase			Nach 1 Std. 5 Min. Bei der Gas- entnahme Luft geschluckt. Keine Flatulenz.					
36	Von demselben Gasgemisch nochmals 750 ccm in den nüchternen Magen	10 ^a 30' 11 ^a 05' 11 ^b 23'	— 12,9 4,4	— 15,7 15,9	45	11 ^b 45'	13	4,5	16,8
37	23. IX. 1916. Barom. 737 mm, Temp. 16° Gasgemisch	8 ^b vm. 9 ^a 10 ^b	96,9 — 9,3	0,5 — 15,3					
38	Davon 750 ccm in den nüchternen Magen				46	11 ^b 30'	13	5,1	16,7
39	Magengase			Keine Flatulenz. Nach 1 Std.					
40	26. IX. 1916. Barom. 740 mm, Temp. 19° Gasgemisch	8 ^b 10 ^b 25' 11 ^a 25'	94,1 — 5,2	0,2 — 16,4					
41	Davon 750 ccm in den nüchternen Magen				47	10 ^b 40'	13	4,7	15,9
	Magengase			Nach 1 Std.					
	Von demselben Gasgemisch nochmals 1050 ccm in den nüchternen Magen	11 ^b 56' 1 ^a 10'	— 4,8	— 16,1	48	11 ^b 30'	14	5,0	16,7
	Magengase			Keine Flatulenz. Nach 1 Std. 14 Min.					

Ergebnis:

Maugengase:	
CO ₂ (nach ca. 1 Std. und länger)	5,3%
O ₂ (" " " ")	16,6%

Alveolargase:

CO ₂	4,9%
O ₂	16,5%

Versuche mit O₂.

Der O₂, der in diesen Versuchen benutzt wurde, war aus O₂-Bomben entnommen und enthielt 90 bis 97,2% O₂. Von demselben wurden wieder Mengen von 700 bis 1100 ccm auf einmal, oft zweimal im Verlaufe des Vormittags in den nüchternen Magen eingeführt. In diesen Versuchen zeigte sich, daß O₂ aus dem Magen auch allmählich verschwindet. Führt ich nur ca. 700 ccm ein, so war nach ca. einer Stunde der mittlere O₂-Gehalt der Magengase nur noch 24,2%, also ziemlich nahe dem in den Alveolargasen gefundenen Werte für O₂. Bei Einführung von 1000 ccm und mehr war aber der O₂-Gehalt der Magengase nach ca. 1 Stunde noch bedeutend höher, die Diffusion hatte also noch nicht ausgereicht, um in diesen größeren Mengen ein Gleichgewicht mit den Alveolargasen hervorzurufen. Der O₂-Gehalt der Alveolargase in den Proben, die während dieser Versuche entnommen wurden, war etwas größer als in den vorangegangenen Versuchsserien. Ob dies irgendwie im Zusammenhang mit der O₂-Einführung in den Magen steht, lasse ich dahingestellt. Aus der bei CO₂ besprochenen Überlegung heraus scheint es mir aber nicht wahrscheinlich.

Irgendwelche Störungen des Allgemeinbefindens, auch besondere Veränderungen bezüglich der Pulszahl während dieser O₂-Versuche konnte ich nicht beobachten. Was die Flatulenz betrifft, so fehlte sie bei Versuchen mit nur 700 ccm völlig, bei Versuchen mit größeren Mengen oder in den wiederholten Versuchen mit 700 ccm im Verlaufe eines Vormittags trat sie im mäßigen Grade auf, aber doch lange nicht so intensiv wie nach Einführung von Zimmerluft. Dieser letztere Umstand ist auch erklärlich, wenn man bedenkt, daß wegen des im Blute herrschenden O₂-Partialdruckes von dem in den Magen-Darmkanal eingeführten O₂ nur so viel aufgenommen werden kann, bis diese Spannungsdifferenz ausgeglichen, d. h. bis der O₂-Gehalt der Magen-Darmgase bis zu ca. 15% herabgegangen ist. Hatte ich demnach im Verlaufe des Vormittags z. B. insgesamt 2000 ccm O₂ in den Magen eingeführt, so müßten nach dieser Berechnung ca. 300 ccm unresorbiert im Darmkanal zunächst verbleiben, um sich später als Flatus zu entleeren. Das letztere schien bei mir binnen kurzem zu geschehen.

Die Versuchsanordnung bot nun keinen sicheren Anhalt dafür, ein wie großer Teil von den eingeführten Gasen im Magen selbst aufgenommen wurde. Dies aus dem Grunde, weil der Weg nach dem Pylorus zu offen war, und ein Teil der Gase sich während des Versuches nach dem Darm entleeren konnte. Dies ließe sich nur durch Tierversuche feststellen, wozu mir aber während des Krieges keine Gelegenheit gegeben ist.

Aus allem Vorangegangenen ist somit feststehend, daß die Resorption der Gase aus dem Magen im Grunde durch physikalische Kräfte und Gesetze geregelt wird. Und hiermit zeigt sich ein Weg, um einen annähernden Überblick über die im Magen resorbierten Mengen von O_2 und CO_2 zu bekommen.

Nehmen wir zuerst die Resorption von CO_2 . Wenn ich versuche, die Mengenverhältnisse hierbei durch Berechnung festzustellen, so muß ich vorausschicken, daß man mit viel Näherungswerten und mit vielen Vermutungen rechnen muß, die bei Beurteilung des Resultates nicht vergessen werden dürfen.

Die diffundierende Gasmenge läßt sich nach folgender Formel berechnen:

$$v = \frac{L \cdot [(P_I - e) - P_{II}] \cdot c}{760 \cdot \sqrt{m \cdot d}}$$

Diese Formel gibt an, wieviel Kubikzentimeter Gas in 1 Minute durch eine 1 qcm große Fläche und 1 mm dicke Flüssigkeitsschicht hindurchdiffundiert [siehe Loewy¹⁾ l. c. S. 104].

L = Absorptionskoeffizient bei 37° für CO_2 . . . = 0,57

(aus Loewyschen Zahlen [l. c. S. 103]

durch Interpolation berechnet).

m = Molekulargewicht = 44,0

P_I = Anfangs- CO_2 -Spannung für 100% CO_2 . . . = 760,0 mm Hg

e = Wasserdampfspannung bei 37° = 46,6 mm Hg

P_{II} = CO_2 -Spannung in den Magenvenen = 40,0 mm Hg

c = Diffusionsfaktor für die Lunge = 0,139

[Dieser Wert von Loewy und Zuntz²⁾ für das Lungengewebe, einerlei ob lebend oder tot, mit Säuren oder Alkalien behandelt, gefunden. Nach ihnen hängt dieser Wert mit der lipoiden Membran der Zellen zusammen, womit auch die Zellen der Magenschleimhaut versehen sind.]

¹⁾ Loewy, s. Anmerk. ¹⁾ auf S. 281.

²⁾ Derselbe, ebenda.

Tabelle III.
Versuche mit O₂.

Versuch	Magengase			Bemerkungen	Versuch	Alveolargase				
	Zeit	im Mittel CO ₂ %	im Mittel O ₂ %			Zeit	Respirationsfrequenz pro Minute	CO ₂ im Mittel %	O ₂ im Mittel %	
49	15. IX. 1916. Barom. 744 mm, Temp. 16°. Gasgemisch Von diesem 700 ccm in den Magen	8 ^b vm. 8 ^b 45'	0,3 —	91,2 —						
50	Magengase Von demselben Gasgemisch nochmals 700 ccm in den Magen	9 ^a 11 ^b 07' 12 ^a	4,6 —	62,4 —	71	Nach 15 Min.	9 ^b 10' 12 ^b 40'	14 13	4,8 4,8	17,9 17,3
51	Magengase		5,1	42,1	72	Nach 53 Min.				
52	16. IX. 1916. Barom. 745 mm, Temp. 17°. Gasgemisch	8 ^b vm. 8 ^b 30'	0,4 —	90,1 —						
53	Davon 750 ccm in den nüchternen Magen Magengase	9 ^a	5,1	65,9	73	Nach 30 Min.	9 ^a 45'	13	4,7	17,4
54	18. IX. 1916. Barom. 738 mm, Temp. 17°. Gasgemisch	8 ^b vm. 8 ^b 40'	0,6 —	93,2 —						
55	Davon 700 ccm in den nüchternen Magen Magengase	10 ^a	4,7	17,6	74	Nach 1 Std. 20 Min.	8 ^b 50'	14	5,1	18,2
56	Von demselben Gasgemisch nochmals 700 ccm in den nüchternen Magen Magengase	10 ^b 15' 10 ^b 58'	— 3,6	— 22,8	75 76	Nach 43 Min.	12 ^b 50' 6 ^b 15 mm.	12 14	4,8 4,4	17,5 17,6

d = Dicke der Gewebsschicht, hier gleich Dicke der Zellen der Magenschleimhaut = 0,01
 [Dieser Wert ist von Koellikerschen¹⁾ Angaben [l. c. S. 159] abgeleitet, wonach die Belegzellen den größeren Durchmesser von 13 bis 22 μ haben, während andere Drüsenzellen kleiner sind; deshalb der Durchschnittswert = 10 μ = 0,01 mm. Weil nun die Anordnung der Gefäße der Magenschleimhaut nach Koelliker²⁾ eine solche ist, daß sie die Drüsenzellen direkt umweben, so ist der Weg für die Diffusion in der Dicke der Zellen zu suchen.]

Setzen wir die obigen Werte ein, so erhalten wir:

$$v = 0,88 \text{ ccm CO}_2 \text{ pro Minute pro 1 qcm Magenwand.}$$

Nach Einführung der Luft in den Magen nimmt derselbe eine Form an, die am einfachsten mit einer Kugel zu vergleichen wäre. Die Berechnung der Oberfläche dieser Kugel von 1000 ccm Rauminhalt kann mit Hilfe folgender Gleichung ausgerechnet werden:

$$\frac{4 \cdot R^3 \cdot \pi}{3} = 1000 \text{ ccm;}$$

Hiernach beträgt die Oberfläche einer solchen Kugel = 490,6 qcm oder rund 500 qcm.

Die resorbierende Oberfläche des mit 1000 ccm gefüllten Magens würde, wenn die Schleimhaut des Magens als eine glatte Wand zu betrachten wäre, 500 qcm ausmachen. In den folgenden Berechnungen wird dieser Wert, der die Schleimhautfalten unberücksichtigt läßt und deswegen als Minimalwert zu betrachten ist, für die Magenoberfläche angenommen.

Damit würden in 1 Minute durch die Magenwand $500 \cdot 0,88 = 440$ ccm CO_2 diffundieren, und in 1 Stunde 60 mal mehr = 26400 ccm CO_2 . Bei der Diffusion sinkt aber die Spannungsdifferenz der CO_2 im Magen und im Blute allmählich auf Null, wonach zum Schluß die pro Zeiteinheit diffundierende Menge auch = Null ist. Tatsächlich diffundiert aber deshalb im Mittel nur ca. die Hälfte der obigen Menge pro Stunde durch die Magenschleimhaut und folglich:

13200 ccm CO_2 pro Stunde durch die Gesamt-Magenwand.

Dieselbe Rechnungsweise ist auch für die Resorption des O_2 durch die Magenwand anzuwenden, nur sind in der obigen Formel für die Diffusionsgeschwindigkeit die Werte für die einzelnen Faktoren andere, und zwar:

¹⁾ Koelliker, Handb. d. Gewebelehre des Menschen. 6. Aufl., 3, 1899 (Leipzig).

²⁾ Derselbe, ebenda S. 169.

$$\begin{aligned}
 L &= O_2 \text{ bei } 37^\circ \dots\dots\dots = 0,0239, \\
 m &= 100\% \text{ iger } O_2 \dots\dots\dots = 32,0, \\
 P_I &= O_2 \dots\dots\dots = 760,0 \text{ mm Hg,} \\
 e &= \text{wie oben,} \\
 P_{II} &= O_2\text{-Spannung in den Magenarterien} = 100,0 \text{ mm Hg,} \\
 c &= \text{wie oben} \dots\dots\dots = 0,139, \\
 d &= \text{wie oben} \dots\dots\dots = 0,01 \text{ mm Hg.}
 \end{aligned}$$

Setzen wir diese Werte in die Formel ein, so erhalten wir:

$$v = 0,0462 \text{ ccm } O_2 \text{ pro Minute 1 qcm Magenwand,}$$

daher $0,0462 \cdot 60 \cdot 500 = 1392$ pro Stunde durch die Magenwand. Wegen des Spannungsabfalles während der Diffusion ist dieser Wert wie oben noch zu halbieren, womit als Endwert $696 \text{ ccm} = \text{rund } 700 \text{ ccm}$ pro Stunde O_2 durch die Magenwand resultiert.

Es stellt sich demnach heraus, daß die resorbierte CO_2 -Menge bedeutend größer ist als die resorbierte O_2 -Menge, und zwar rund 20 mal größer. Dieses Resultat steht ja in guter Übereinstimmung mit meinen Beobachtungen während der Versuche. Hat doch da die eingeführte CO_2 sich bedeutend rascher in annäherndes Gleichgewicht mit den Blutgasen gestellt. Andererseits ist es interessant, daß hier rechnerisch für die Resorption im Magen pro Stunde eine Zahl herauskommt, die übereinstimmt mit der O_2 -Menge, die im Versuche innerhalb einer Stunde aus dem Magen verschwunden war. Rechnerisch hätte also diese ganze Menge einfach durch die Magenwand aus dem Magen verschwinden können, ohne daß ein Teil sich hätte in den Darm entleeren müssen, wie es in meinen Versuchen teils der Fall gewesen ist.

Die große Resorbierbarkeit der CO_2 im Magen-Darmkanal, die aus den Versuchen und aus dieser Berechnungsweise zur Genüge hervorgeht, ist für die Frage über die Entstehung des Meteorismus von großem Interesse. Sie zeigt, daß eine wenn auch noch so hochgradige Vermehrung der CO_2 im Darmkanal keinen Meteorismus hervorrufen kann, wenn die Resorption normalerweise vor sich geht. Für die Entstehung des Meteorismus müssen demnach andere, nicht oder schwer resorbierbare Gase (H_2 , CH_4) oder eine Behinderung der CO_2 -Resorption in Frage kommen. Kan Kato¹⁾ hat auch im Experiment am Kaninchen nachgewiesen, daß die Unterbindung der Vena portae zu einer Behinderung der Gasresorption in

¹⁾ Kan Kato, Über Gasresorption im Darm. Intern. Beitr. z. Pathol. u. Therapie d. Ernährungsstörungen 1, 315, 1910.

einer isolierten Darmschlinge führt und hierdurch den Wert der Zirkulationsstörungen für die Entstehung des Meteorismus schon hervorgehoben. Hiermit ist aber die Entstehung des Meteorismus noch lange nicht geklärt.

Die O_2 -Menge, die durch die Magenwand allein resorbiert werden kann, ist im Verhältnis zur CO_2 gewiß klein, nehmen wir aber einen anderen und für den Körperhaushalt wichtigeren Vergleichsmaßstab dafür, so sehen wir, daß sie auch ihre Bedeutung haben kann. Durch die Magenwand diffundieren nach der obigen Berechnung pro Minute ca. 12 ccm O_2 , und wenn wir bedenken, daß der Mensch in der Ruhe nur ca. 250 ccm O_2 verbraucht, so ergibt sich, daß der Magen allein den O_2 -Bedarf des Körpers bis 5% decken kann. Nun haben wir aber allen Grund anzunehmen, daß die Schleimhaut des Darmes bezüglich der Diffusion des O_2 sich in ähnlicher Weise verhält wie die des Magens, wenigstens in den gefäßreicheren Partien, in denen auch Nahrungsresorption vor sich geht. Demnach kann sicherlich durch den gesamten Magen-Darmkanal bedeutend mehr O_2 als die obigen 5% des Ruhebedarfs von O_2 ins Blut übernommen und durch diese Magen-Darmatmung die Lungenatmung gewissermaßen ergänzt werden. Normalerweise kommt ja die Darmatmung zu keiner praktischen Bedeutung, weil die Lunge in überreichlichem Maße den O_2 -Bedarf und die CO_2 -Elimination des Körpers decken kann. Ist aber die Lungenatmung aus irgendwelchem Grunde stark herabgesetzt oder unmöglich geworden, so liegt es nach dem Vorhergesagten nahe, diesen drohenden O_2 -Mangel des Körpers durch Inanspruchnahme der Darmatmung auszugleichen. Von dieser Überlegung heraus habe ich bereits bei asphyktischen Frühgeburten, bei denen die Lungenatmung in den ersten Tagen in bedrohlicher Weise oft aussetzte, während die Zirkulation keine besonderen Störungen aufwies, durch wiederholte Einführung von kleinen O_2 -Mengen mittels Nélatonkatheters den O_2 -Mangel zu bekämpfen versucht. Weiterhin auch in einigen Fällen von Croup und auch von diffuser Capillarbronchitis, bei denen die O_2 -Aufnahme durch Schwellung der Larynxschleimhaut resp. durch die stark mit Schleim verstopften Alveolen außerordentlich behindert war. Ich beschränke mich auf diesen Hinweis und hoffe hierdurch eine Anregung für diese Form der O_2 -Therapie in der Klinik gegeben zu haben.

Zusammenfassung.

In Selbstversuchen, in denen in den nüchternen Magen 700 bis 1100 ccm Zimmerluft oder O₂, oder CO₂, eingeführt wurden, wurde festgestellt, daß die eingeführten Gase in verhältnismäßig kurzer Zeit mit den Blutgasen in annäherndes Gleichgewicht treten. Der Beweis dafür wurde durch gleichzeitige Bestimmung der Alveolar- und Magengase erbracht. Zum Beispiel bei Einführung von Luft ergaben sich folgende Mittelwerte:

		CO ₂		O ₂	
		%	mm Hg	%	mm Hg
Ca. 1 Std. nach der Einführung der Luft gleichzeitig untersucht.	Magengase . .	4,4	31,4	15,9	113,4
	Alveolargase . .	4,8	34,2	15,6	111,2

Die Spannung ist für Luftdruck 760 mm Hg nach Abzug der Wasserdampfspannung 46,6 mm Hg bei 37° berechnet.

In Versuchen mit CO₂ (94 bis 98⁰/₀) und O₂ (90 bis 97,2⁰/₀) wurde nachgewiesen, daß die CO₂ bedeutend rascher als der O₂ soweit durch die Magenwand diffundiert resp. resorbiert wird, bis das erwähnte Gleichgewicht eingetreten ist. Nach Einführung von Luft wurde im Zeitraum von der 2. bis 5. Stunde nach dem Versuche eine beträchtliche Flatulenz beobachtet; dieselbe fehlte bei CO₂-Einfuhr vollständig, ebenso beim Einführen von nur 700 ccm O₂, während sie bei Einfuhr von größeren Mengen O₂ in leichterem Grade vorhanden war.

Dieses Verhalten des Flatus beruht auf dem Übergang der eingeführten CO₂ und des O₂ aus dem Magen-Darmkanal ins Blut und steht in gewissem Einklang mit den Zahlenwerten, die man für die CO₂- und O₂-Diffusion aus den physikalischen Diffusionsgesetzen ableiten kann. Nach denselben Gesetzen würde resultieren, daß durch die Magen-Darmwand gar nicht so geringe Mengen O₂, durch die Magenwand allein unter bestimmten Voraussetzungen ca. 5⁰/₀ des Ruhebedarfs des Körpers, aufgenommen werden können. Dieses letztere Ergebnis wurde auch in der Praxis zu erproben versucht, indem man bei schwersten Störungen der Lungenatmung O₂ in den Magen einführte!

Zur Frage der Oxydationswirkungen von Hefen.

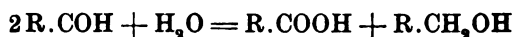
Von

E. Färber.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie, Chemische Abteilung, in Berlin-Dahlem.)

(Eingegangen am 28. Oktober 1916.)

Wie Neuberg¹⁾ und seine Mitarbeiter in den letzten Jahren gezeigt haben, besitzen Hefen die biologisch allgemein interessante Fähigkeit, Reduktionen zu bewirken. Dieses Reduktionsvermögen der Hefe tritt zutage bei der Überführung von Aldehyden in Alkohole, von Thioaldehyden in Mercaptane, von Disulfiden in Sulphydrate, von Nitrokörpern und Nitrosoverbindungen in Amine usw. Sowohl Vertreter der aliphatischen wie der aromatischen Reihe unterliegen dieser phytochemischen Reduktion. Der Mechanismus dieser Hydrierungen ist noch nicht völlig geklärt. Woher der zur Reduktion der Nitro- und Nitrosoverbindungen dienende Wasserstoff stammt, ist unbekannt, und für die Umwandlung der Aldehyde in Alkohole steht so viel fest, daß sie nicht nach dem Schema der Cannizzarischen Reaktion erfolgt; denn hiergegen sprechen schon einfach die Ausbeuten, die höher an Reduktionsprodukt sind, als der Gleichung:



entspricht.

Immerhin haben sich in manchen Fällen Anhaltspunkte für die Entstehung kleiner Mengen Säuren bei der Einwirkung von Hefen auf Aldehyde ergeben (vgl. die Mitteilungen von Neuberg und Mitarbeitern über das Verhalten der Aldehyde zu Hefen). Da nun überhaupt wenig über Oxydationsleistungen der Hefe bekannt ist, habe ich die hauptsächlich hierüber vorliegende Angabe nachgeprüft.

¹⁾ C. Neuberg und Mitarbeiter, diese Zeitschr. 1912 bis 1915.

Vor 13 Jahren hat R. O. Herzog¹⁾ in einer vorläufigen Mitteilung angegeben, daß Salicylalkohol bei der Digestion mit Hefe zu Salicylsäure oxydiert wird, daß in ähnlicher Weise Thymol in eine Säure übergeht und daß Cymol eine merkwürdige Umwandlung zu einer stickstoffhaltigen Substanz erfährt. Da der Autor in der vergangenen langen Zeit über die damals angekündigte Fortsetzung dieser Versuche meines Wissens nichts berichtet hat, so glaubte ich, ruhig die einzige genaue Angabe von Herzog, die Umwandlung von Salicylalkohol zu Salicylsäure durch Hefe, nachprüfen zu dürfen. Die von dem Autor eingeschlagene Versuchsanordnung war folgende:

„Die Versuche wurden stets so angestellt, daß ca. 2 l gut gewaschener frischer Bierhefe mit ca. 10 g Substanz versetzt wurden und, wenn diese nicht selbst antiseptische Eigenschaften besaß, genügend Toluol zugesetzt. Dann wurde im Brutschrank (bei 38°) 2 bis 3 Wochen oder bei Zimmertemperatur zirka die doppelte Zeit lang stehen gelassen.

Die Verarbeitung gestaltete sich meist so, daß zunächst von dem abgesetzten Niederschlag abgossen und filtriert wurde, dann wurde bis zur Koagulation erhitzt, wieder filtriert und hierauf zumeist mit Äther ausgeschüttelt oder im Extraktionsapparat mit Äther erschöpft.“

Dieselbe Arbeitsweise habe auch ich eingeschlagen mit dem einzigen Unterschiede, daß ich statt der schlecht definierten flüssigen Bierhefe Reinkulturen von Hefe benutzt habe, und zwar von untergäriger wie obergäriger. Zur Verwendung gelangten die Hefe U sowie die Hefe OM des Instituts für Gärungsgewerbe in Berlin.

Indem ich bezüglich der Einzelheiten auf einige nachstehend angeführten Versuchsprotokolle verweise, will ich vorweg angeben, daß es mir in keinem Falle gelungen ist, eine Umwandlung des Salicylalkohols (Saligenins) in Salicylsäure nachzuweisen. Bemerken möchte ich noch dazu, daß die Hefe nach von P. Mayer²⁾ mitgeteilten Erfahrungen keine Neigung besitzt, selbst Salicylaldehyd zu Salicylsäure zu oxydieren.

Die einfachste Erklärung für meine abweichenden, aber mit einwandfreien Hefenarten erzielten Ergebnisse dürfte die sein,

¹⁾ R. O. Herzog, Zeitschr. f. physiol. Chem. 37, 396, 1903.

²⁾ Paul Mayer, diese Zeitschr. 62, 461, 1914.

daß Herzog mit einem durch fremde Erreger verunreinigten Hefematerial gearbeitet hat, so daß seine Befunde nicht reproduzierbar sind. Unter diesen Umständen habe ich die Umwandlungen von Thymol und Cymol, die der Verfasser in chemischer Hinsicht selbst offen läßt, nicht erst nachgeprüft.

Versuche.

Versuch 1. 5 g Saligenin wurden in 1000 ccm Wasser gelöst und mit 100 g Hefe U + 10 ccm Toluol versetzt. Toluol wurde zugegeben, weil bei Vorversuchen ohne diesen Zusatz Fäulnis eingetreten war.

Die Mischung wurde 2 Wochen bei 37° aufbewahrt. Dann wurde aufgeköcht, klar filtriert und nach dem Alkalisieren mit Soda im Vakuum eingeeengt. Der etwa 50 ccm betragende Rückstand wurde in einem kontinuierlich arbeitenden Extraktionsapparat mit Äther erschöpft. Aus dem Ätherauszuge schieden sich reichliche Mengen unveränderten Saligenins ab. Die Extraktion wurde fortgesetzt, bis der Verdunstungsrückstand des Äthers mit Eisenchlorid keine Blaufärbung mehr ergab. Nunmehr wurde die bei alkalischer Reaktion erschöpfte Lösung mit Schwefelsäure angesäuert und abermals im Perkulator mit Äther behandelt. Es ging keine Spur Salicylsäure in den Ätherextrakt über. Zur Sicherheit wurde außerdem der saure Rückstand noch mit Wasserdampf destilliert. Das durch kleine Mengen flüchtiger Säuren sauer reagierende Destillat ($1\frac{1}{3}$ l) wurde mit Natronlauge versetzt und bei alkalischer Reaktion auf dem Wasserbade bis auf 30 ccm eingeeengt; auch hier verlief die Prüfung mit Eisenchlorid auf Salicylsäure negativ.

Versuch 2. Ansatz genau wie bei 1, jedoch vierwöchentliche Aufbewahrung bei Zimmertemperatur während der Monate Juni—Juli.

Versuch 3. Entsprechend mit Hefe OM; 14tägiger Aufenthalt im Brutschrank bei 38°.

Versuch 4. Ebenso mit Hefe OM; 8 Wochen bei Zimmertemperatur während der Monate Juli—August.

Bei keinem der Versuche war Salicylsäure entstanden.

Kataphoretische Versuche mit Thrombin und Fibrinogen.

Von

Alfred Resch, Zürich.

(Eingegangen am 13. November 1916.)

In den neueren Arbeiten auf dem Gebiet der Gerinnungsphysiologie haben Herzfeld und Klinger¹⁾ versucht, tiefer in das biologische Geschehen des Gerinnungsvorganges einzudringen. Die beiden Autoren gingen von einer von Herzfeld²⁾ neu aufgestellten Theorie aus, die darin gipfelt, daß als echte Eiweißkörper nur die durch Hitzekoagulation gewonnenen zu bezeichnen sind, während die in Lösung sich befindenden Proteine eine Mischung von kolloidalem Eiweiß und ihren Abbauprodukten darstellen, wobei den letzteren die Funktion zukommt, die einmal eingeleitete hydrolytische Spaltung der Eiweißkörper weiter zu unterhalten und den einmal erreichten kolloidalen Zustand der Proteine zu erhalten. Allerdings sind es nicht die Abbauprodukte als solche, denen diese Fähigkeit zukommt, sondern ihre komplexen Verbindungen mit NaCl. Indem sich das NaCl an die NH₂-Gruppe anlagert, bildet sich eine Neutralsalzverbindung im Sinne Pfeiffers³⁾.

Auf Grund dieser Anschauung unterwarfen Herzfeld und Klinger die bei der Gerinnung einzeln beteiligten Komponenten einer ausgedehnten experimentellen Prüfung. Dabei konnten sie zeigen, daß der Globulinkörper Fibrinogen als ein

¹⁾ Herzfeld und Klinger, diese Zeitschr. 70, 391, 1915; 75, 145, 1916.

²⁾ Herzfeld, diese Zeitschr. 70, 262, 1915.

³⁾ Pfeiffer und v. Modelski, Zeitschr. f. physiol. Chem. 81, 331, 1912; 85, 1, 1913. — Pfeiffer und Wittka, Ber. 48, Heft 12, S. 1289, 1915.

durch Eiweißabbauprodukte + NaCl in Lösung gehaltener Eiweißkörper aufzufassen ist.

Im Gegensatz zu dieser NaCl-Salzverbindung stellt das Thrombin eine Verbindung von Eiweißabbauprodukten mit CaCl_2 dar. Diese besitzen für das Fibrinogen keine lösenden Eigenschaften, sondern sollen von diesem adsorbiert werden und dadurch seine Ausfällung als Fibrin bewirken. Überwiegen die NaCl-Verbindungen, so bleibt das Fibrinogen in Lösung, überwiegen die CaCl_2 -Verbindungen, so tritt Gerinnung ein.

Die übrigen Komponenten der Gerinnung, das Serozym und Cytozym, sind an dem eigentlichen Gerinnungsvorgang nicht beteiligt, sondern haben für diesen eine vorbereitende Bedeutung, identisch den bisherigen Anschauungen.

Herzfeld und Klinger sehen nun in dem Serozym die durch Hydrolyse des Serums gebildeten polypeptidartigen Eiweißabbauprodukte, die ihrerseits durch Anlagerung von CaCl_2 das Thrombin bilden. Das Cytozym befördert die hydrolytische Spaltung, unterstützt somit die Bildung der zum Gerinnungsprozeß nötigen Abbauprodukte.

Diese in den erwähnten Arbeiten niedergelegten Vorstellungen veranlaßten mich, auch vom physikalisch-chemischen Standpunkte aus das Problem experimentell anzugehen und durch Überführungsversuche bei bestimmter Wasserstoffionenkonzentration näheren Aufschluß über die elektrische Aufladung der einzelnen Gerinnungskomponenten zu erhalten. Es war nicht ausgeschlossen, auf diese Weise auch über deren chemischen Aufbau Näheres zu erfahren.

Bekanntlich verhalten sich die Eiweißkörper und die ganze Skala ihrer hydrolytischen Abbauprodukte bis zu den Aminosäuren hinunter wie amphotere Elektrolyten. Auf Grund der NH_2 - und COOH -Gruppe treten sie in saurer Lösung als Base, in alkalischer Lösung als Säure auf. Ihre elektrische Ladung ist folglich je nach der vorhandenen Reaktion nicht nur quantitativ, sondern auch qualitativ variabel. In diesem Sinne interessiert uns besonders das Verhalten des kolloidalen Eiweißes, denn in dem Thrombin haben wir nicht nur CaCl_2 -Verbindungen von tieferen Abbaustufen zu sehen, sondern neben Produkten weitgehender hydrolytischer Spaltung werden auch hochmolekulare, noch mit allen kolloiden Eigenschaften

ausgestattete Verbindungen mit CaCl_2 in Reaktion treten. Ebenso liegen die Verhältnisse bei dem Fibrinogen.

Wir wissen, daß entgegengesetzt geladene Kolloide sich gegenseitig ausfällen. Nicht alle im kolloidalen Zustand sich befindenden Stoffe gehorchen so weitgehend diesen elektrischen Gesetzen. Wenn der gesetzmäßige Ablauf elektrischer Erscheinungen auch für die Suspensioide seine volle Gültigkeit besitzt, so lassen die Emulsionskolloide ein gewisses Hervortreten andersartiger Vorgänge erkennen. Trotzdem lag die Vermutung nahe, daß bei dem Gerinnungsphänomen die elektrische Aufladung der kolloiden Eiweißmoleküle sowohl bei dem Thrombin wie auch dem Fibrinogen eine wesentliche Rolle spielt.

Ferner ließ ich die Kataphorese bei verschiedenen Wasserstoffionenkonzentrationen vor sich gehen, um darüber Aufschluß zu erhalten, wie sich Thrombin und Fibrinogen im Bereiche eines ev. vorhandenen isoelektrischen Punktes verhalten würden.

Die in vorliegender Darstellung mitgeteilten Versuche erstrecken sich auf Thrombin und Fibrinogen.

Technik.

Zur Bestimmung der Wanderungsrichtung bediente ich mich des von Michaelis¹⁾ angegebenen Apparates, der ein Konstanthalten der einmal gegebenen Wasserstoffionenkonzentration ermöglicht. Außerdem besitzt er den Vorzug, daß durch die Depolarisation eine Änderung der Reaktion an den Elektroden verhindert wird.

Die Thrombinlösung wurde nach der Schmidtschen Methode gewonnen (Serum von spontan geronnenem frischen Blut abzentrifugiert, mit 20facher Menge 93^o/_oigem Alkohol versetzt, die zum Versuch nötige Menge des Niederschlages abfiltriert, im Wärmeschrank getrocknet, in der Reibschale zu Pulver zerrieben und 12 bis 24 Stunden mit 2^o/_oiger NaCl-Lösung bei Zimmertemperatur extrahiert). Zum Nachweis des mit dem elektrischen Strom gewanderten Thrombins kam ein nach Alex. Schmidt bereitetes Fibrinogen zur Verwendung. 1 Teil Magnesiumsulfatlösung (28^o/_oig) wird mit 3 Teilen Blut ge-

¹⁾ Michaelis, Die Wasserstoffionenkonzentration, 1914.

mischt, geschüttelt, scharf zentrifugiert. Zu dem Versuch wird das Plasma 10fach verdünnt.

Die Kataphorese mit Fibrinogen wurde mit einer nach Herzfeld und Klinger¹⁾ hergestellten Fibrinogenlösung vorgenommen. (100 ccm scharf abzentrifugiertes Oxalatplasma werden mit 100 ccm gesättigter NaCl-Lösung und 25 ccm gesättigter Ammoniumsulfatlösung versetzt, der Niederschlag abzentrifugiert und in 100 ccm 2⁰/₀iger NaCl-Lösung wieder gelöst.) Um die mit dem Niederschlag mitgerissenen erheblichen Mengen von Eiweißabbauprodukten möglichst zu reduzieren, wird die erhaltene Lösung nochmals mit gesättigter NaCl-Lösung ausgefällt, zentrifugiert und der Niederschlag erneut in 2⁰/₀iger NaCl-Lösung gelöst. Die so erhaltene ziemlich reine Fibrinogenlösung gelangt für den Versuch unverdünnt zur Verwendung.

Die gewünschte Wasserstoffionenkonzentration stellte ich mit Hilfe der von Sörensen²⁾ angegebenen Regulatoren her, deren Mischungsverhältnis nach der Sörensenschen graphischen Tabelle bestimmt wurde, unter Berücksichtigung der für die Phosphatkurve notwendigen Korrektur (Palitzsch).

Um womöglich auch in die quantitativen Verhältnisse der überführten Thrombin- und Fibrinogenmengen einen Einblick zu gewinnen, schien mir die Wohlgemuthsche Reihenmethode sehr geeignet.

Vor jedem Versuch wurde die Fibrinogen- und Thrombinlösung auf ihre Wirksamkeit geprüft. Trat bei der Mischung von 1 ccm Thrombin + 2 ccm Fibrinogen innerhalb $\frac{1}{4}$ bis $\frac{1}{2}$ Stunde keine Gerinnung ein, so fanden die beiden Lösungen keine Verwendung und wurden durch frische ersetzt (die benötigten Blutmengen verdanke ich dem Entgegenkommen von Herrn Dr. Schellenberg). Kontrollversuche mit dem Regulatormischung ergaben, daß diese den Gerinnungsvorgang weder im negativen noch im positiven Sinne beeinflussen. Als unbrauchbar erwiesen sich Regulatormischungen von $\frac{1}{8}$ -prim. Natriumphosphat und $\frac{1}{8}$ -sek. Natriumphosphat, hergestellt nach den Angaben von Michaelis³⁾. Deren Verwendung läßt das

¹⁾ Herzfeld und Klinger, l. c.

²⁾ Sörensen, diese Zeitschr. 21, 131, 1909.

³⁾ Michaelis, l. c., S. 182.

Fibrinogen auch ohne Thrombinzusatz in kurzer Zeit gerinnen. Der durchgeleitete Strom erreichte eine Spannung von 105 Volt. (Herr Prof. Feer stellte mir in liebenswürdiger Weise die Gleichstromeinrichtung seines Laboratoriums zu Verfügung.)

Thrombin.

Versuch 1. Die Mittelflüssigkeit setzt sich zusammen aus 3 ccm einer Mischung von 8,82 ccm sek. Natriumphosphat + 1,18 ccm prim. Kaliumphosphat. Dazu kommen 30 ccm wäßriger Thrombinlösung. Die gegebene Wasserstoffionenkonzentration ist somit

$$[H'] = 2,56 \cdot 10^{-8} \quad \text{oder} \quad P_H = 7,59$$

bei $18^\circ \pm 0,5^\circ$.

Seitenflüssigkeit: Um die entsprechende $[H']$ in den Seitengefäßen zu erzielen, wurden 6 ccm obiger Regulatormischung mit 62 ccm destilliertem Wasser versetzt. Durchströmungsdauer 24 Stunden bei 18° .

Tabelle I.

Anodenflüssigkeit:

Röhren	1%iges NaCl ccm	Anodenflüssigkeit ccm	Absol. Thrombinmenge	Fibrinogenlösung 10fach verdünnt ccm		Gerinnung
1	0,0	1,0	1,0	2,0	24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen lassen	+
2	1,0	1,0	0,5	2,0		+
3	1,0	1,0	0,25	2,0		+
4	1,0	und so jedesmal 1 ccm von dem vorhergehenden Gläschen	0,125	2,0		+
5	1,0		0,062	2,0		+
6	1,0		0,031	2,0		Spur
7	1,0	0,0	0,0	2,0		-

In der Kathodenflüssigkeit war kein Thrombin nachweisbar.

Versuch 2. Mittelflüssigkeit: 3 ccm einer Mischung von 9,7 ccm sek. Natriumphosphat + 0,3 ccm prim. Kaliumphosphat zu 30 ccm wäßrigem Thrombinextrakt.

$$[H'] = 1 \cdot 10^{-8} \quad P_H = 8.$$

Seitenflüssigkeit: 6 ccm des Regulatoremischung + 62 ccm dest. Wasser. Durchströmungsdauer 24 Stunden.

Tabelle II.
Anodenflüssigkeit:

Röhrchen	1%iges NaCl ccm	Anodenflüssigkeit ccm	Absol. Thrombinmenge	Fibrinogenlösung 10fach verdünnt ccm		Gerinnung
1	0,0	1,0	1,0	2,0	24 Std. bei Zimmertemp. stehen lassen	+
2	1,0	1,0	0,5	2,0		+
3	1,0	⋮	0,25	2,0		+
4	1,0	⋮	0,125	2,0		-
5	1,0	0,0	0,0	2,0		-

Die Kathodenflüssigkeit ist frei von Thrombin.

Versuch 3. Mittelflüssigkeit: 3 ccm einer Mischung von 8,77 ccm prim. Kaliumphosphat + 1,23 ccm sek. Natriumphosphat mit 30 ccm wäßriger Thrombinlösung gemischt.

$$[H] = 1 \cdot 10^{-6} \quad P_H = 6.$$

Seitenflüssigkeit: 6 ccm des Regulatormischung + 62 ccm dest. Wasser. Durchströmungsdauer 24 Stunden.

Tabelle III.
Anodenflüssigkeit:

Röhrchen	1%iges NaCl ccm	Anodenflüssigkeit ccm	Absol. Thrombinmenge	Fibrinogenlösung 10fach verdünnt ccm		Gerinnung
1	0,0	1,0	1,0	2,0	24 Std. bei Zimmertemp. stehen lassen	+
2	1,0	1,0	0,5	2,0		+
3	1,0	1,0	0,25	2,0		+
4	1,0	1,0	0,125	2,0		-
5	1,0	0,0	0,0	2,0		-

Kathodenflüssigkeit ist frei von Thrombin.

Versuch 4. Mittelflüssigkeit: 3 ccm einer Mischung von 9,89 ccm prim. Kaliumphosphat + 0,11 ccm sek. Natriumphosphat zu 30 ccm wäßrigem Thrombinextrakt.

$$[H] = 1 \cdot 10^{-5} \quad P_H = 5.$$

Seitenflüssigkeit wie oben.

Tabelle IV.

Anodenflüssigkeit:

Röhr- chen	1%iges NaCl ccm	Anoden- flüssigkeit ccm	Absol. Thrombin- menge	Fibrinogen- lösung 10fach ver- dünnt ccm		Ge- rinnung
1	0,0	1,0	1,0	2,0	24 Std. bei Zimmertemp. stehen lassen	+
2	1,0	1,0	0,5	2,0		+
3	1,0	1,0	0,25	2,0		+
4	1,0	.	0,125	2,0		-
5	1,0	0,0	0,0	2,0		-

Kathodenflüssigkeit ist frei von Thrombin.

Die Versuche zeigen übereinstimmend eine eindeutige Wanderung des Thrombins nach der Anode, und zwar im Bereiche einer Wasserstoffionenkonzentration von $P_H = 5$ bis $P_H = 8$. Die Wanderungsrichtung ist in der untersuchten Aciditätszone somit nicht von der $[H^+]$ abhängig. Selbst bei einer stark sauren Reaktion ($P_H = 5$), die wesentlich über den wahren Neutralpunkt hinausgeht, tritt keine Änderung des Wanderungssinnes ein. Das Thrombin verhält sich folglich kataphoretisch wie eine Säure, obschon an seinem Aufbau amphotere Elektrolyten zur Hauptsache beteiligt sind. Die bisher nach dieser Richtung untersuchten Proteine, Peptone, Polypeptide und Aminosäuren äußern ihren amphotereren Charakter ja gerade darin, daß sie bei einer bestimmten Wasserstoffionenkonzentration ihre elektrische Ladung verlieren, bzw. sie wandern bei diesem Punkte überhaupt nicht oder die Wanderung geht nach beiden Elektroden. Wird die $[H^+]$ größer als die des isoelektrischen Punktes, der für jeden Ampholyten eine mit ziemlicher Genauigkeit fixierbare Größe besitzt, so verhält sich der amphotere Elektrolyt wie eine Base, wird die $[H^+]$ vermindert, wie eine Säure. Wie aus den Versuchen hervorgeht, scheint dem Thrombin der isoelektrische Punkt zu fehlen, wenigstens in der untersuchten Aciditätszone. Es ist aber kaum wahrscheinlich, daß bei einer noch weiteren Erhöhung oder Verminderung der $[H^+]$ der isoelektrische Punkt für das Thrombin doch noch auffindbar wäre. Denn die bisher festgestellten Aciditätswerte im isoelektrischen Punkte der meisten Aminosäuren, Polypeptide und Proteine

bewegen sich zwischen $2,2 \cdot 10^{-6}$ und $6,2 \cdot 10^{-8}$, folglich innerhalb der bei den Versuchen festgesetzten Aciditätszone. Nur das Casein ($4,1 \cdot 10^{-5}$) und das genuine Serumalbumin ($1,9 \cdot 10^{-5}$) haben ihren isoelektrischen Punkt bei einer etwas saureren Reaktion. Wir müssen daher annehmen, daß durch die Anlagerung von CaCl_2 an das Molekül der Proteine und der Eiweißabbauprodukte diese ihre amphotere Eigenschaft eingebüßt haben. Diese Eiweiß-Neutralsalzverbindungen zeigen nun durch ihre anodische Wanderung ein Verhalten, wie wenn sie der saure Bestandteil eines Salzes wären. Das von Pfeiffer und Modelski¹⁾ den Peptid-Neutralsalzverbindungen gegebene Konstitutionsschema ist $\text{R} \begin{matrix} \text{COOMe} \\ \text{NH}_3\text{X} \end{matrix}$, wo Me das Kation und X das Anion bezeichnet. Eine Leitung des elektrischen Stromes ist aber nur möglich, wenn das Amphisalz sich in einer Ionisation befindet nach der Formel Me^+ und $\left(\text{R} \begin{matrix} \text{COO} \\ \text{NH}_3\text{X} \end{matrix} \right)^-$. Die anodische Wanderung des Thrombins zwingt uns zu der Annahme, daß die tieferen Abbaustufen desselben in gleicher Weise dissoziieren. Für diese Ionisation müßte sich der endgültige Beweis erbringen lassen, wenn es gelänge, in der Kathodenflüssigkeit das Ca (in Bindung mit Phosphationen) nachzuweisen.

Handelt es sich aber um höher molekulare Abbaustufen, die noch in vollem Besitz ihres kolloidalen Charakters sind, und um Proteine selbst — beide müssen wir im Thrombin als vorhanden annehmen —, so ist in Analogie der Ionisation des Alkalieiß kaum eine wesentliche Bildung von reinen Metallkationen (Ca) zu erwarten, sondern es dominieren umfangreiche organische Kationen (Robertson). Es könnte in diesem Falle die vollständige Unwirksamkeit der Kathodenflüssigkeit nur so eine Erklärung finden, wenn die an das positive Ca angelagerte positive organische Komponente des Thrombins für den Gerinnungsvorgang überhaupt nicht in Betracht käme. Andererseits kann der anodisch gewanderte Thrombinkomplex nicht völlig von Ca entblößt sein. Dessen Fehlen würde die Ausfällung des Fibrinogens verhindern oder wenigstens erheblich verlangsamen. Hier kann aber nur eine reine physikalische

¹⁾ Pfeiffer und v. Modelski, l. c.

Adsorption in Betracht kommen, indem das Proteokolloidanion bei seiner Wanderung nach der Anode zum Teil dissoziiertes, zum Teil undissoziiertes CaCl_2 an sich reißt und mitschleppt. Je nach der Verwendung von noch nicht durchströmtem Thrombin-Regulatorenngemisch oder der Anodenflüssigkeit (nach 24stündiger Kataphorese) zeigt sich bei letzteren eine entschiedene Verlangsamung der Gerinnung, was auf geringeren Ca-Gehalt zurückgeführt werden kann. Allerdings muß auch der Verdünnungsfaktor berücksichtigt werden, da bei einer Durchströmungsdauer von 24 Stunden nicht alles Thrombin restlos nach der Anode wandert. Es bleibt somit die Frage immer noch offen, ob der undissoziierte Anteil des Thrombinmoleküls oder das Thrombinanion bei dem Gerinnungsvorgang hauptsächlich in Betracht kommt. Weitere Versuche müßten darüber näheren Aufschluß erbringen.

Die absichtlich gewählte $[\text{H}^+]$ von $P_{\text{H}} = 7,59$ entspricht der Alkalität des venösen Blutes bei 18° .

Fibrinogen.

Die Versuchsanordnung bleibt die gleiche, auch das zum Nachweis des Fibrinogens gebrauchte Thrombin wurde auf dieselbe Weise gewonnen.

In sämtlichen Versuchen zeigte das Fibrinogen bei den 4 verschiedenen Wasserstoffionenkonzentrationen weder eine Wanderung zur Anode noch zur Kathode. Es verhält sich als Polyaminosäurederivat wie ein schwacher amphoterer Elektrolyt, dessen Dissoziation so gering ist, daß sich die durch den konstanten Strom nach der Anode bzw. der Kathode überführten Ionen dem Nachweis entziehen. Die elektrische Neutralität wird auch von einer sauren Reaktion von $P_{\text{H}} = 5$ auffallenderweise nicht beeinflußt.

Die ursprüngliche Annahme, daß vielleicht die Gerinnung auf der Ausfällung entgegengesetzt geladener Kolloide beruht, besteht folglich nicht zu Recht. Doch wissen wir aber, daß gerade elektrisch neutralen Eiweißkörpern in ihrem physikochemischen Verhalten eine gewisse Labilität eigen ist. Neben verminderter innerer Reibung und geringerer Hydratation besitzen sie eine erhöhte Koagulierbarkeit. Ferner ist uns bekannt, daß die Erdalkalisalze in der Vermehrung der neutralen

Eiweißteilchen und damit der Fällbarkeit (durch Herabsetzung der Hydratation) den Alkalisalzen weit überlegen sind.

Nach Herzfeld und Klinger hätten wir in dem Fibrinogen ein durch Eiweißabbauprodukte-Neutralsalzverbindung in kolloidalem Zustand gehaltenes Eiweiß zu sehen. Arbeiten von Pauli und Handowsky haben gezeigt, daß komplexe Verbindungen von Salzen und Eiweißmolekülen nach dem

Schema $R \begin{cases} \text{NH}_3 \text{Cl} \\ \text{COONa} \end{cases}$ durchaus im Bereich des Möglichen liegen.

Die Doppelbindung bewirkt eine mehr oder weniger starke Dehydrierung und Ionenverminderung, die bis zur völligen elektrischen Neutralität gehen kann, aber doch noch den flüssigen kolloidalen Zustand des ganzen Komplexes garantiert. Als einen solchen Zustand können wir auch das Fibrinogen ansehen, wobei wir auf die Eiweißabbauprodukte als lösenden Faktor verzichten könnten. Das höchst labile Gleichgewicht dieses Komplexes kann nun durch CaCl_2 derart gestört werden, daß Ca durch Anlagerung an die Carboxylgruppe das hier locker gebundene Na nach der Aminogruppe verdrängt, nach

dem Schema $R \begin{cases} \text{NH}_3 \begin{cases} \text{Na} \\ \text{Cl} \end{cases} \\ \text{COO} \frac{\text{Ca}}{2} \end{cases}$ (Pauli), wobei der noch gerade in

gelöstem Zustand gehaltene Eiweiß-Neutralsalzkomplex zur Ausfällung gelangt. Der dem Ca angelagerte organische Komplex würde bei diesem Verdrängungsprozeß unterstützend wirken.

Wir hätten somit in dem Gerinnungsvorgang einen dem Auftreten von Adsorptionsverbindungen analogen Prozeß zu sehen, der den Adsorptionsgesetzen gehorcht und wo die chemische Umlagerung im Fibrinogenmolekül genügt, um dieses aus dem Sol- über den Gelzustand der Gerinnung zuzuführen.

Ferner widerspricht das elektrisch neutrale Verhalten des Fibrinogens der Annahme Hekmas¹⁾. Dieser Autor glaubt auf Grund seiner Versuche dem Fibrinogen den Charakter eines Alkalihydrosols zusprechen zu dürfen. In diesem Falle müßte sich das Fibrinogen unbedingt wie Alkalieiweiß verhalten und nach der Anode wandern, was aber nicht zutrifft.

¹⁾ Hekma, diese Zeitschr. 65, 311, 1914.

Zusammenfassung.

1. Das Thrombin bzw. der negativ geladene Teil desselben wandert im Gleichstromfeld anodisch.
2. Die Dissoziation des Thrombins verläuft zum Teil nach dem Schema $\left(\text{R} \begin{array}{l} \text{NH}_3\text{X} \\ \text{COO} \end{array}\right)^-$ und Ca^+ , zum Teil unter Bildung komplizierter organischer Kationen und Anionen. Der anodische Komplex enthält höchstwahrscheinlich das Ca in Form einer reinen physikalischen Adsorption.
3. Ob das undissoziierte Thrombin oder sein Anion durch Anlagerung an das Fibrinogenmolekül die Gerinnung herbeiführt, ist noch nicht sichergestellt.
4. Der Ladungssinn des Thrombins wird durch eine Acidität von $\text{P}_\text{H} = 5$ bis $\text{P}_\text{H} = 8$ nicht beeinflusst.
5. Fibrinogen zeigt keine Wanderung, es verhält sich elektrisch neutral.
6. Der Gerinnungsvorgang hängt sehr wahrscheinlich mit einer chemischen Umlagerung zusammen. Die Ca-Komponente verdrängt im Fibrinogenmolekül durch Addition das Na von der COOH-Gruppe nach NH_3 und führt damit das vorher schon in labilem Solzustand gehaltene Fibrinogeneiweiß über den Gelzustand zum Fibrin über.
7. Die ursprüngliche Annahme, daß bei der Gerinnung neben anderen physikalisch-chemischen Vorgängen auch dem entgegengesetzten Ladungssinn des Thrombins und Fibrinogens eine Bedeutung zukommt, besteht nicht zu Recht.

Stärkebildung bei Schimmelpilzen.

Von

Friedrich Boas.

(Aus dem botanischen Laboratorium der Akademie Weihenstephan.)

(Eingegangen am 22. November 1916.)

Stärke und stärkeähnliche Produkte kommen bei Schimmelpilzen nicht vor, d. h. sie wurden bis jetzt nicht konstatiert. Außerdem ist der Stoffwechsel der Pilze so verschieden von dem der grünen Pflanze, daß Stärkebildung unter normalen Bedingungen auch nicht zu erwarten ist. Die Angaben Belzungs über Stärke bei Pilzen erwiesen sich denn auch als falsch.

Dagegen liegen Beobachtungen von E. Tanret und C. Wehmer vor, aus denen erhellt, daß bei Pilzen unter dem Einflusse bestimmter Säuren Substanzen erhalten werden können, die mit Jodlösung allein sich bläuen, sich also wie Stärke verhalten. Indessen wurden diese Beobachtungen nicht weiter verfolgt und auch nicht genauer studiert.

1. Methodik.

Zu den Versuchen dienten sterilisierte Zuckerlösungen mit Ammonsalzen der Mineralsäuren als Stickstoffquelle. Gewöhnlich wurden 5- bis 10%ige Lösungen (100 bis 200 cem) mit 1 bis 5% Ammonsalz verwendet. Diese Lösungen in destilliertem Wasser enthielten noch 0,2% der notwendigen Salze Magnesiumsulfat und sekundäres Kaliphosphat.

Die Temperatur betrug stets über 30°, meist 33°; doch wurden Kulturen auch noch bei 37° ausgeführt. Diese hohen Temperaturen sind nötig, da bei Zimmertemperatur die Resul-

tate unsicher werden. Damit ist von vornherein der Einfluß der Temperatur festgelegt.

Als Versuchsorganismus diente meist *Aspergillus niger*; doch kamen auch noch andere Arten von *Aspergillus* zur Anwendung, ebenso die Arten der Gattung *Penicillium*.

2. Chemische Vorgänge bei der Stickstoffversorgung.

Bei der Ernährung mit Ammonsalzen treten die Erscheinungen der Ionenwirkung in ausgesprochenem Maße in Erscheinung. Es wird aus der Nährlösung das Ammonradikal verbraucht, das Säureradikal reichert sich in weitgehendem Maße in der Nährlösung an. Daneben bildet sich bei niedrigeren Temperaturen noch bei Anwendung von *Aspergillus* reichlich Oxalsäure, was Wehmer schon vor Jahren konstatierte.

Man könnte also sagen, das Zuckermolekül steht unter der Wirkung einer nascierenden Mineralsäure, da ja andauernd als Folge des Eiweißaufbaues neue Mineralsäureanionen aus den Ammonsalzen abgespalten werden. Indessen ist auf die Entstehung der nascierenden Säure, wie spätere Versuche beweisen, kein besonderes Gewicht zu legen.

Unter dem Einfluß der Säure entsteht aus Zucker eine Substanz, die folgende Eigenschaften hat:

1. Sie erhält durch Jodlösung eine intensive reinblaue Farbe.
2. Sie wird durch Diastase (Malz- und Speicheldiastase) abgebaut, die Färbung mit Jod unterbleibt also.
3. Durch Erwärmen verschwindet die Bläuung.
4. Durch Kalilauge kann man in günstigen Fällen eine intensive Quellung erzielen. (An Präparaten unter dem Mikroskop).

Alle diese Erscheinungen kommen der Stärke zu. Man kann also mit Sicherheit behaupten: Unter dem Einflusse von Säure bilden gewisse Schimmelpilze aus Zucker eine der Stärke äußerst nahestehende Substanz.

3. Wo befindet sich diese Pilzstärke?

Diese Pilzstärke, wie wir sie nennen wollen, findet sich in der Nährflüssigkeit in Lösung. Denn die Nährlösung gibt

mit Jod eine mehr oder weniger intensive Bläuung. Weder durch Zentrifugieren noch durch Filtrieren ist diese Stärke aus der Nährlösung zu entfernen. Dagegen bleibt natürlich die Bläuung aus, wenn die Lösung mit Diastase behandelt war.

Außer in Lösung findet sich auch noch an den Wänden der Pilzzellen ein stark jodbläuender Körper, der sich von außen her an die Wände als krystallinische (?) Inkrustation niederschlägt. Jedenfalls kann man durch Kochen mit Wasser Stärke aus den Pilzzellen in Lösung bringen. Natürlich müssen die Mycelien der Versuchspilze vor dem Aufkochen säurefrei gewaschen werden, da sonst die Stärke durch die Säure hydrolysiert wird und dann die Jodreaktion negativ ausfällt.

Behandelt man junge Mycelteile nach der Tötung durch Alkohol mit Diastase, so unterbleibt Blaufärbung nach Jodzugabe. Es findet sich also auch in und an den Mycelien Pilzstärke, denn unbehandelte Mycelien färben sich mit Jod blau.

Aufkochen mit verdünnten Säuren bringt natürlich die Stärke zur Hydrolyse; die Bläuung mit Jod bleibt dann aus.

Aus der filtrierten Nährlösung läßt sich durch Alkohol (in großem Überflusse) eine flockige Substanz niederschlagen; durch Zentrifugieren von der Flüssigkeit getrennt, gibt sie alle oben angeführten Reaktionen der Stärke.

4. Aus welchen Zuckern bildet sich die Pilzstärke?

Auf diese Frage soll folgende Tabelle Antwort geben. Die Tabelle bezieht sich auf Kulturen, die bei 33 bis 36° vier Tage lang im Brutschrank standen. Die Nährlösung betrug 100 ccm; der Versuchspilz war *Aspergillus niger*; als Stickstoffquelle diente Ammonnitrat (1 bis 5%).

Kohlenstoffquelle	Reaktion des Mycels	Reaktion der Nährlösung
Dextrose	jodbläuend	jodbläuend
Lävulose	jodbläuend	jodbläuend
Saccharose	jodbläuend	jodbläuend
Galaktose	—	—
Milchzucker	—	—
Maltose	—	—
Dextrin	jodbläuend	?
Tannin	—	—
Glycerin	—	—

Aus dieser Zusammenstellung ist ersichtlich, daß Dextrose, Lävulose und Saccharose geeignet sind zum Aufbau der Stärke. Dann bildet sich auch noch aus Dextrin (Handeldextrin, aufgekocht angewendet und nicht mehr jodbläuend) Stärke. Ob aus den anderen Zuckern unter gewissen Umständen sich nicht auch Stärke bilden kann, ist noch nicht sicher. Jedenfalls ist charakteristisch, daß die natürlich vorkommenden Zucker: Dextrose, Lävulose und Saccharose auch rasch wieder in Stärke übergeführt werden können.

Unter den Substanzen, die die höhere Pflanze rasch in Stärke überführen kann, ist auch das Glycerin zu nennen, wober man Pfeffers Pflanzenphysiologie vergleichen möge. Unter den gewählten Bedingungen wird Glycerin jedenfalls nicht in Stärke übergeführt. Es dürfte sich demnach bei den Pilzen um eine Stärkebildung handeln, die mit der der höheren Pflanzen nicht gleichzusetzen wäre. Doch müssen hier noch weitere Untersuchungen ausgeführt werden.

Die gebildeten und bis jetzt erhaltenen Stärkemengen sind sehr gering, so daß eine Analyse noch nicht vorgenommen werden konnte. Physiologisch ist der Vorgang jedenfalls interessant, denn er zeigt, daß Organismen Stoffe unter Umständen bilden können, die normal in ihrem Stoffwechsel niemals auftreten und deren Fehlen als ein hervorragendes Charakteristikum einer ganzen großen Gruppe von Organismen gilt.

5. Ist bei der Bildung der Pilzstärke ein Enzym beteiligt?

Betrachtet man die bis jetzt mitgeteilten Versuche, so könnte man zu der Annahme kommen, Stärke bilde sich aus Zucker unter dem Einfluß einer nascierenden Säure. Es würde sich also nur darum handeln, Säure in statu nascendi auf Zucker wirken zu lassen, um Stärke zu erhalten. Diese Annahme scheint nicht zu Recht zu bestehen. Denn man bekommt ebenfalls Stärke, wenn man Bierwürze, die ja neben Maltose geringe Mengen Dextrose und Lävulose enthält, mit freier Schwefelsäure versetzt und dann impft. Die Säuregabe betrug gewöhnlich 2 bis 3 ccm $\frac{1}{4}$ -Schwefelsäure auf je 10 ccm Würze. Bereits innerhalb 20 Stunden erhält man ein stark jodpositives Mycel; die Würze selbst ist nach 2 bis 3 Tagen meist deutlich jodpositiv. Bei der Ausführung dieser

Reaktion mit Würze ist einige Vorsicht nötig, da es vielfach von Haus aus jodpositive Würzen gibt.

Statt Schwefelsäure kann man auch Phosphorsäure verwenden; auch hohe Gaben von Weinsäure wirken ähnlich. Jedenfalls erhielt ich bei Gegenwart von 10 bis 20% freier Weinsäure bei anderen Schimmelpilzen ganz ähnliche Resultate.

Durch die Zugabe freier Säure zu Würze fällt die Möglichkeit der Bildung der Stärke durch nascierende Säure weg. Denn in Würze ist keine anorganische Stickstoffquelle vorhanden, aus der der Pilz Mineralsäuren abspalten könnte. Dagegen hat er neben Maltose, Dextrose, Lävulose und Dextrinen reichliche Mengen organischer Stickstoffverbindungen. Es ist damit der Schluß gerechtfertigt, daß die Bildung der Stärke aus Zucker bei Gegenwart freier Mineralsäuren (in geringer Konzentration) oder freier organischer Säuren (in hoher Konzentration) unter dem Einfluß eines Enzyms stattfindet.

Literatur.

Belzung, Nach Czapek: Biochemie der Pflanzen 1, 300, 1913 (2. Auflage).

Pfeffer, Pflanzenphysiologie 1, 808, 1897 (2. Auflage).

Tanret, Bull. soc. chimique de Paris 1907. (Nach Lafar-Cohn, Technische Mykologie 1, 224.)

Wehmer, Übergang älterer Vegetationen von *Aspergillus fumigatus* in Riesenzellen unter Wirkung angehäufter Säure. Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 31, 257 ff., 1913.

Beiträge zum Stoff- und Energieumsatz der Vögel.

Von

Paul Hári.

(Aus dem Physiolog.-chem. Institut der Universität Budapest
[Direktor: Paul Hári]).

(Eingegangen am 23. November 1916.)

Der Stoffwechsel und Energieumsatz der Vögel wurde bisher nur wenig untersucht. Außer älteren Versuchen von Regnault und Reiset¹⁾, ferner von Richet²⁾ an Gänsen im „Stadium der Verdauung“, liegen aus neuerer Zeit solche von Bleibtreu³⁾ und von Lehmann und Voit⁴⁾ vor; es wurde von diesen Autoren der Gaswechsel hungernder und gefütterter Gänse untersucht. Aus neuester Zeit stammen die ausführlichen Untersuchungen von Gerhartz⁵⁾ an hungernden und gefütterten Hühnern.

Da es auf diese Weise wünschenswert erschien, diese spärlichen Daten durch neuere zu ergänzen, will ich im folgenden über mehrere Versuchsreihen berichten, die ich in den Jahren 1909 bis 1911 im Patholog. Institut der Universität (damaliger Direktor: Prof. Tangl) an hungernden und gefütterten Gänsen ausgeführt habe.

¹⁾ Bei N. Zuntz in Hermanns Handbuch der Physiologie 4, 2, S. 135 ff.

²⁾ Charles Richet, De la mesure des combustions respiratoires chez les oiseaux. Arch. de physiolog. norm. et path. 22, 483.

³⁾ Max Bleibtreu, Fettmast und respiratorischer Quotient. Arch. f. Physiol. 85, 345.

⁴⁾ K. B. Lehmann und Erwin Voit, Die Fettbildung aus Kohlenhydraten. Zeitschr. f. Biol. 42, 619.

⁵⁾ Heinrich Gerhartz, Über die zum Aufbau der Eizelle notwendige Energie (Transformationsenergie). Arch. f. d. ges. Physiol. 156, 1.

I. Versuchseinrichtung.

Zu meinen Versuchen wurden 4 Tiere (A, B, C und D) verwendet. An den Tieren A und B wurden in kürzeren oder längeren Zwischenräumen verschiedene Versuchsreihen ausgeführt, im Hunger sowohl als auch bei verschiedener Fütterung; an den Tieren C und D hingegen bloß je 3 Hungerversuche.

Die Tiere wurden in einem Stoffwechsellkäfig gehalten, der das Sammeln der Entleerungen (Harn und Kot vermischt) ohne Verlust ermöglichte. Zu diesem Behuf war über dem Boden des Käfigs ein Gitter angebracht, bestehend aus 0,5 cm dicken, gut verzinkten Eisenstäben in Abständen von 1 cm, welche die flüssigen und festen Ausscheidungen in eine darunter befindliche geräumige Schale aus Porzellan durchfallen ließen. Ganz ähnlich, wie dies schon Lehmann und Voit beschrieben, habe ich im Käfig seitlich und rückwärts herausnehmbare Tafeln aus Blech angebracht, an denen die aus der Kloake oft weit hin gespritzten Entleerungen in die unter dem Gitter befindliche Porzellanschale hinunterflossen.

Um die Entleerungen möglichst frei von den beständig in großer Menge abfallenden Federflaum und Bruchstücken der Federkiele zu erhalten, haben Lehmann und Voit ihre Tiere in einem Tuch „aufgehängt, so daß die Beine durch zwei Schlitze des Tuches gesteckt frei sich bewegen konnten, während die Flügel mit drei Binden fest zusammengehalten wurden“. Ich habe, um das Aufhängen der Tiere zu vermeiden und mehr natürliche Lebensbedingungen zu schaffen, sie in ein Kleid aus dichtem Organtin förmlich eingenäht. Das Kleid hatte drei Schlitze; durch einen wurde vor dem Vernähen der Kopf mit dem Hals durchgezogen, durch die beiden anderen die Beine. Organtin habe ich statt des Tuches gewählt, um die durch das dichte Federkleid ohnehin eingeschränkte Wärmestrahlung nicht noch mehr zu beeinträchtigen.

In den ersten orientierenden Versuchen entstanden nennenswerte Fehler daraus, daß die Gänse die Entleerungen, die sie an die hintere Blechtafel spritzten, mit dem langen Federschwanz teilweise wieder abwischten. Um dies zu vermeiden, habe ich die Schwanzfeder der Tiere möglichst kurz zugestutzt, und da auch das nicht half, die Tiere mit einem Riemzeug

und zwei langen leichten Ketten so an den Vorderteil des Käfigs fixiert, daß sie sich wohl verhältnismäßig frei bewegen, jedoch die hintere Blechtafel nicht abwischen konnten.

Die spärlichen Entleerungen der Hungertiere waren am Ende eines jeden Versuchstages in der Porzellanschale bereits halb trocken vorgefunden. Ein anderer Teil war an den Gitterstäben und an den Blechtafeln angetrocknet und wurde möglichst ohne Verlust heruntergeschabt, mit der Hauptmenge vereinigt und die ganze Menge bei etwa 30° eingetrocknet, 24 Stunden lang im Zimmer stehen gelassen und dann lufttrocken gewogen. In der lufttrockenen, nur wenig Gramm wiegenden Substanz habe ich den N-, C- und Energiegehalt bestimmt, und zwar in Versuchsreihen I, II, V und VI in der täglich gesondert aufgefangenen Menge, in Versuchsreihen III und IV in der während der ganzen Versuchsreihen gesammelten Menge. Der N wurde nach Kjeldahl unter Verwendung von metallischem Quecksilber als Katalysator, C auf nassem Weg nach dem von Tangl und Kereszty¹⁾ modifizierten Verfahren von Messinger-Brunner-Schultz, der Energiegehalt durch Verbrennung in einer modifizierten Berthelot-Mahlerschen Bombe.

Die hauptsächlich aus Harnsäure bestehenden Entleerungen der hungernden Gänse konnten ohne geeigneten Zusatz nicht verbrannt werden; sie verbrannten aber rasch und vollkommen unter Zusatz einer aus 0,10 bis 0,15 g Naphthalin gepreßten, sorgfältig gewogenen Pastille.

Die Gitterstäbe, die Blechtafeln und die Porzellanschale wurden nach peinlich genauer Entfernung der angetrockneten Entleerungen mit lauwarmem Wasser abgespült und in dem Spülwasser der N-Gehalt bestimmt. Aus der Relation zwischen dem N-Gehalt der Hauptmasse der Entleerungen und des Spülwassers wurde der C- und Energiegehalt des letzteren berechnet. In einigen Versuchen gelang das Abschaben der Entleerungen besser, in anderen so wenig, daß das Spülwasser mehr N als die Hauptmasse selbst enthielt.

Die Menge des in den Entleerungen ausgeschiedenen N und C war an den den Respirationsversuchen folgenden freien

¹⁾ F. Tangl und G. v. Kereszty, Zur Methode der Bestimmung des Kohlenstoffs organischer Substanzen auf nassem Wege. Diese Zeitschr. 32, 266.

Tagen in der Regel größer, offenbar weil die Tiere an den Respirationstagen kein Wasser tranken und so durch die verringerte Diurese N- und C-haltige Abbauprodukte zurückhielten, die erst am nächsten Tag, wo die Tiere wieder Wasser erhielten, durch die größere Harnflut wieder herausgeschwemmt wurden. Um den hierdurch bedingten Fehler zu korrigieren, wurden zur Berechnung des N- und C-Umsatzes in denjenigen Versuchsreihen, in denen die Respirationsversuche von je einem freien Tag unterbrochen waren, die Mittelwerte des N- und C-Gehaltes der Entleerungen von dem betreffenden Respirationstagen und einem vorangehenden resp. nachfolgenden Tag verwendet.

Von Zeit zu Zeit wurden an den Tieren die Respirationstagen in der Dauer von 18 bis 23 Stunden im Rubnerschen Respirationscalorimeter angestellt; und zwar in einigen Versuchsreihen immer in Zwischenpausen von je mindestens 24 Stunden, in anderen von höchstens einigen Stunden. Der Respirationsschrank war ähnlich wie der Stoffwechsellkäfig mit Gitter, Blechtafeln und Schale zum Auffangen der Entleerungen versehen.

In den Respirationstagen wurde einerseits die Menge der durch Strahlung und Leitung abgegebenen Wärme bestimmt, andererseits die der abgegebenen Kohlensäure und des Wasserdampfes.

Der Sauerstoffverbrauch wurde nicht direkt bestimmt, sondern aus den Angaben des Tieres und seiner Gewichtsveränderung während des Respirationstages berechnet, enthält daher alle Fehler der genannten Bestimmungen. Da aber diese kaum mehr als je 0,1 bis 0,2 g, also insgesamt höchstens 1 g betragen, so dürfte die Bestimmung des Sauerstoffverbrauches auf etwa 2 bis 3% richtig sein; darum habe ich sie in die weiter unten angeführten Tabellen aufgenommen.

An den vier Tieren wurden insgesamt 6 Versuchsreihen angestellt, und zwar vier (I bis IV) bei 27 bis 28°, zwei (V bis VI) bei etwa 16°.

II. Die Ergebnisse der Hungerversuche

sind in den Tabellen I bis VII ersichtlich.

Da es zur Beurteilung der Ergebnisse mancher Versuchsreihen wünschenswert sein kann, die Ernährungs- und Gewichts-

verhältnisse der lange Zeit hindurch beobachteten Tiere A und B während der den einzelnen Versuchsreihen vorangehenden Perioden zu kennen, habe ich in den Tabellen I und II alle hierauf bezüglichen Daten zusammengestellt. Tabelle III enthält die allgemeinen Daten der Respirationsversuche; Tabelle IV die auf 1 kg Körpergewicht und 1 qm Körperoberfläche¹⁾ redu-

Tabelle I (Gans A).

Versuchsreihe	Datum	Täglich verzehrt		Veränderung des Körpergewichtes		An diesem Tage wurde ausgeführt der Respirationsversuch Nr.
		Mais g	Wasser ccm	während der angegebenen Zeit	pro 24 Std.	
	27. IX.—18. X. 09	Wechselnde Mengen	ad libitum	3580—3653	+ 3	
I	18.—23. X. 09	0	ad libitum	3653—3169	— 97	1
	23.—24.	0	0	3169—3070	— 99	
	24.—25.	0	350			2
	25.—26.	0	0	3089—2992	— 97	
	26.—27.	0	320			
	27.—28.	0	0	3020—2936	— 84	3
	28. X.—7. XI. 09	200	ca. 2000	2936—3227	+ 29	
IX	7.—23. XI. 09	100	ca. 500	3227—3524	+ 18	25
	23.—24.	100	100	3524—3441	— 83	
	24.—26.	100	ca. 700			
	26.—27.	100	200	3474—3466	— 8	
	27. XI. 09—7. I. 10	100	ca. 1000	3504—3655	+ 14	
VII	7.— 9. I. 10	50	500	3655—3578	— 77	20
	9.—10.	50	0	3578—3452	— 126	
	10.—11.	50	500			
	11.—12.	50	100	3504—3467	— 37	
	12.—18.	50	500	3467—3442	— 4	
	18. I.—23. IV. 10	100	ad libitum	3442—3352	— 1	
V	23.—27. IV. 10	0	ad libitum	3352—2737	— 154	14
	27.—28.	0	0	2737—2636	— 101	
	28.—29.	0	ad libitum			
	29.—30.	0	0	2633—2541	— 92	
	30. IV.—2. V.	0	ad libitum			
	2.—3.	0	0	2486—2408	— 78	
	3.—4.	0	ad libitum			
XI	4.— 6. V. 10	100	ad libitum			30
	6.— 7.	100	150	2501—2498	— 3	
	7.— 9.	100	ad libitum			
	9.—10.	100	50	2495—2461	— 34	
	10.—11.	100	500			
	11.—12.	100	75	2520—2514	— 6	

¹⁾ Oberfläche = $10,45 \times \text{Körpergewicht}^{2/3}$.

zierten Werte für die 24 stündige Kohlensäure- und Wasserabgabe und den Sauerstoffverbrauch; Tabelle V die Analyse der Entleerungen; Tabelle VI die Daten zur Berechnung des Eiweiß- und Fettverbrauchs und der Wärmeproduktion (indirekte Calorimetrie); Tabelle VII die Daten der direkten Calorimetrie.

Tabelle II (Gans B).

Versuchsreihe	Datum	Täglich verzehrt		Veränderung des Körpergewichtes		An diesem Tage wurde ausgeführt der Respirationsversuch Nr.
		Mais g	Wasser ccm	während der angegebenen Zeit	pro 24 Std.	
	28. IX.—7. X. 09 7.—23. X.	Wechselnde Mengen do.	ad libitum do.	3341—3175	— 18	
II	23.—29. X. 09 29.—30. 30.—31. 31. X.—1. XI. 1.—2. 2.—3. 3.—4. 4.—5.	0 0 0 0 0 0 0 0	ad libitum 0 400 0 775 0 300 0	2956—2878 2882—2803 2814—2736 2741—2659	— 83 — 79 — 78 — 82	4 5 6 7
	5.—11. XI. 09 11. XI.—19. XII.	200 100	ca. 1000 ca. 800	2659—3017 3017—3205	+ 60 + 23	
VIII	19.—20. XII. 09 20.—21. 21.—22. 22.—23. 23.—24.	50 50 50 50 50	0 500 125 500 150	3205—3138 3155—3066 3097—3086	— 67 — 89 — 11	22 23 24
X	24. XII. 09—2. I. 10 2.—3. 3.—4. 4.—5. 5.—6. 6.—7. 7.—8.	100 100 100 100 100 100 100	500 500 0 700 100 700 130	3086—3098 3096—2984 3171—3050 3109—3032	± 0 — 112 — 121 — 77	27 28 29
	8. I.—16. IV. 10	100	ad libitum			
VI	16.—21. IV. 10 21.—22. 22.—23. 23.—24. 24.—25. 25.—26.	0 0 0 0 0 0	ad libitum do. do. do. do. do.	2964—2843 2906—2817 2871—2751	— 121 — 89 — 120	17 18 19

Tabelle III.

Versuchsreihe	Versuchs-Nr.	Wievielter Hungertag	Datum des Versuches	Beginn des Versuches	Dauer des Versuches	Ventilation pro 24 Stunden	Temperatur des Tierraumes °C	Körper-Temperatur		Brutto-Körpergew. ¹⁾		Mit der Ventilationsluft abgeführt		Dejekte	O ₂ -Verbrauch (berechnet)	Respiratorischer Quotient
								am Ende des Versuches °C	am Beginne des Versuches °C	am Ende des Versuches g	am Beginne des Versuches g	CO ₂ g	H ₂ O g			
I Gans A	1	5	23.—24. X. 09	10 ^h 40' vorm.	21,84	14,6	26,90	?	39,6	328,5	3229,0	42,6	87,9	8,3	38,7	0,800
	2	7	25.—26.	10 ^h 52' "	22,14	13,9	26,85	?	89,4	3248,5	3151,1	44,5	87,3	7,8	42,2	0,766
	3	9	27.—28.	10 ^h 35' "	21,84	12,2	26,90	39,5	89,7	3263,0	3179,8	45,7	75,6	5,6	44,1	0,754
	4 ²⁾	7	29.—30. X. 09	10 ^h 37' vorm.	21,88	5,6	26,90	40,6	40,0	3126,4	3043,5	43,4	41,1 ³⁾	12,7	?	?
	5 ⁴⁾	9	31. X.—1. XI. 09	10 ^h 10' "	22,16	15,8	26,90	40,2	40,0	3052,0	2972,9	45,8	107,6 ⁵⁾	2,5	?	?
	6	11	2.—3.	10 ^h 17' "	22,97	23,7	26,90	40,0	39,7	2984,5	2906,0	41,4	75,5	3,0	41,4	0,727
	7	13	4.—5.	10 ^h 10' "	22,58	35,0	26,90	40,5	40,1	2911,5	2829,2	39,8	81,4	1,4	40,3	0,719
III Gans C	8	3	6.—7. XI. 11	9 ^h 10' vorm.	22,83	41,5	28,20	39,8	40,2	4207,0	3977,0	78,3	207,5	17,0	72,9	0,782
	9	4	7.—8.	12 ^h 24' nachm.	20,60	44,2	28,25	40,2	40,2	3936,0	3788,5	70,4	185,4	9,5	67,8	0,755
	10	3	13.—14.	9 ^h 22' vorm.	23,88	38,6	28,15	40,5	40,3	3466,0	3329,0	62,2	127,5	10,5	63,2	0,711
IV Gans D	11	3	8.—9. XI. 11	3 ^h 53' nachm.	19,62	41,0	28,25	40,2	40,3	3960,5	3764,0	68,8	165,3	22,0	60,3	0,830
	12	4	9.—10.	4 ^h 07' "	23,38	39,6	28,25	40,1	40,2	3730,0	3548,0	72,2	159,9	17,0	67,0	0,768
	13	6	11.—12.	8 ^h 30' vorm.	23,85	39,9	28,20	40,1	40,1	3442,5	3297,3	71,1	127,4	13,0	66,5	0,776
V Gans A	14	4	27.—28. IV. 10	10 ^h 07' vorm.	24,71	31,4	15,80	40,9	38,8	2961,0	2860,0	46,3	63,7	35,0	44,0	0,765
	15	6	29.—30.	9 ^h 18' "	23,12	31,6	15,80	40,7	38,9	2857,0	2764,7	44,9	55,3	31,2	39,1	0,835
	16	9	2.—3. V.	10 ^h 40' "	23,00	27,6	15,90	40,4	38,5	2710,0	2632,2	44,0	49,0	28,7	43,9	0,729
VI Gans B	17	4	21.—22. IV. 10	10 ^h 15' vorm.	23,37	29,2	15,80	40,2	38,7	3162,0	3040,7	51,4	58,9	63,5	52,5	0,712
	18	6	23.—24.	3 ^h 45' nachm.	17,75	25,3	15,80	39,5	38,7	3104,0	3015,0	35,8	47,0	40,9	34,7	0,749
	19	8	25.—26.	9 ^h 55' vorm.	23,83	28,5	15,80	40,3	39,5	3069,2	2948,5	50,4	55,1	61,0	45,8	0,800

Bei 27 bis 28°

Bei 16°

¹⁾ Inklusive Riemenzug und Organinkleid.

²⁾ Bildung von Kondenswasser infolge ungenügender Ventilation.

³⁾ Verdampfung des Kondenswassers aus dem vorangehenden Versuch.

Tabelle IV.

CO₂, H₂O-Ausgaben und O₂-Verbrauch auf 24 Stunden, ferner auf 1 kg Körpergewicht und 1 qm Körperoberfläche berechnet.

Versuchsreihe	Versuchs-Nr.	Körpergewicht am Beginne des Versuches	Pro 24 Stunden			Pro 24 Stunden und 1 kg Körpergewicht			Pro 24 Stunden und 1 qm Körperoberfl.			
			Mit der Ventilationsluft abgeführt		O ₂ Verbrauch	Mit der Ventilationsluft abgeführt		O ₂ Verbrauch	Mit der Ventilationsluft abgeführt		O ₂ Verbrauch	
			CO ₂ g	H ₂ O g		CO ₂ g	H ₂ O g		CO ₂ g	H ₂ O g		
Bei 27 bis 28°	I Gans A	1	3169	46,8	95,9	42,5	14,8	80,3	13,4	207,6	425,4	188,6
		2	3089	48,3	94,6	45,7	14,4	30,6	14,8	200,9	427,1	206,4
		3	3019	50,2	83,5	48,5	16,6	27,6	16,0	230,1	382,4	222,0
	II Gans B	4 ¹⁾	2956	47,6	—	—	16,1	—	—	221,1	—	—
		5 ²⁾	2882	49,6	—	—	17,2	—	—	234,4	—	—
		6	2814	43,3	78,9	43,2	15,4	28,0	15,4	207,7	379,0	207,6
		7	2741	42,3	86,5	42,8	15,4	31,6	15,6	206,8	422,8	209,2
	III Gans C	8	4039	82,3	218,2	76,6	20,4	54,0	19,0	310,7	823,1	289,1
		9	3768	82,0	157,8	79,0	21,8	41,9	21,0	324,1	623,6	312,1
		10	3466	68,9	131,2	65,0	18,4	37,8	18,8	267,1	548,2	271,7
	IV Gans D	11	3792	84,2	202,2	73,8	22,2	53,3	19,4	331,4	795,9	290,3
		12	3562	74,1	164,1	68,9	20,8	46,1	19,3	304,0	673,3	282,2
13		3442	71,8	128,8	67,2	20,9	37,4	19,5	301,4	540,6	282,0	
Bei 16°	V Gans A	14	2737	45,0	61,9	42,7	16,4	22,6	15,6	220,0	302,7	208,9
		15	2633	46,6	57,4	40,6	17,7	21,8	15,4	234,0	288,1	203,6
		16	2486	45,9	51,1	45,8	18,5	20,6	18,4	239,4	266,6	238,9
VI Gans B	17	2964	52,8	60,5	53,9	17,8	20,4	18,2	244,8	280,5	250,0	
	18	2906	48,3	63,6	46,9	16,6	21,9	16,1	227,2	298,8	220,5	
	19	2871	50,7	55,3	46,1	17,7	19,2	16,1	240,4	261,8	218,5	

1. Der Körpergewichtsverlust im Hungerzustand.

In nachstehender Tabelle VIII habe ich den täglichen Gewichtsverlust der Tiere während der Hungerperiode, innerhalb deren die Respirationsversuche stattfanden, berechnet und in Prozenten des Anfangsgewichtes ausgedrückt. Vergleichshalber habe ich auch die entsprechenden Werte aus den Versuchen der obengenannten Autoren berechnet und in die Tabelle eingetragen.

¹⁾ Im Respirationsraum hat sich Kondenswasser angesammelt daher sind die Daten der Wasserdampfbestimmung bloß zur direkten Calorimetrie zu verwenden.

²⁾ Das Kondenswasser vom vorigen Versuch ist in diesem Versuch wieder verdampft; daher sind die Daten der Wasserverdampfung nur zur direkten Calorimetrie zu verwenden.

Tabelle V.
Zusammensetzung der Entleerungen.

Versuchsreihe	Datum	Die Entleerungen wurden gesammelt durch Stunden	Kot und Harn lufttrocken täglich g	100 g lufttrockene ¹⁾ Entleerungen (ohne Spülwasser) enthalten			In 24 Stunden wurden entleert inklusive Spülwasser			An diesen Tage wurde ausgeführt der Respirationsversuch Nr.
				N g	C g	chem. Energie kg/Cal	N g	C g	chem. Energie kg/Cal	
I	19.—20. X. 09	24,0	3,50 ²⁾	12,29	—	—	0,88	—	—	1
	20.—21.	24,0	2,38	20,08	—	—	0,69	—	—	
	21.—22.	24,0	2,85	16,22	—	—	0,62	—	—	
	22.—23.	24,0	2,25	18,96	32,81	312,8	0,51	0,89	8,5	
	23.—24.	21,8	2,09	19,58	32,64	305,7	0,51	0,88	7,9	
	24.—25.	26,4	2,25	20,24	33,47	345,2	0,56	0,93	9,6	
	25.—26.	22,1	1,80	19,19	31,85	312,7	0,44	0,73	7,2	
	26.—27.	25,6	1,67	20,88	34,39	356,2	0,51	0,87	8,6	
27.—28.	21,8	1,44	26,34	31,10	300,2	0,49	0,60	5,6	3	
II	26.—27. X. 09	32,0	2,50	19,31	—	—	0,59	—	—	4
	27.—29.	40,0	1,23	26,42	30,42	328,0	0,53	0,61	7,9	
	29.—30.	21,9	1,26	23,04	30,23	296,9	0,41	0,57	4,8	
	30.—31.	25,7	0,91	15,72	?	?	0,59	?	?	
	31. X.—1. XI.	22,2	1,19	24,17	32,37	272,6	0,39	0,53	4,4	
	1.—2.	25,9	1,77	20,59	38,38	397,4	0,63	1,18	12,2	
	2.—3.	23,0	1,32	28,30	30,27	283,9	0,46	0,49	4,6	
	3.—4.	24,9	1,59	22,10	36,63	374,2	0,56	0,92	9,4	
4.—5.	22,6	1,16	25,22	36,35	277,1	0,34	0,49	3,8	7	
III	5.—8. XI. 11	78	5,26	16,59	22,91	?	1,39	0,97	?	8—10
IV	8.—12. XI. 11	89	3,49	21,45	31,93	303,5	1,44	2,03	20,5	11—13
V	27.—29. IV. 10	48,0	2,53	22,60	34,87	316,0	0,73	1,19	10,5	14
	29. IV.—2. V.	73,8	2,48	23,99	35,23	314,4	0,75	1,23	10,2	15
	2.—4.	45,5	2,72	24,07	34,85	308,4	0,83	1,25	11,1	16
VI	21.—23. IV. 10	54,7	1,90	19,75	38,04	319,7	0,64	1,54	13,2	17
	23.—25.	41,2	1,30	22,05	34,09	324,0	0,58	1,14	12,1	18
	25.—27.	48,0	1,44	24,57	38,02	323,5	0,57	1,15	10,0	19

Bei Lehmann und Voit.

II	4. Hungertag	24	2,15	}19,00	33,10		0,41	0,71		
	5. "	24	2,14				0,41	0,71		
III/1	2. Hungertag	24	4,06	}18,64	29,07		0,76	1,18		
	3. "	24	4,13				0,77	1,20		
III/2	2. Hungertag	24	4,06	}19,28	33,93		0,78	1,38		
	3. "	24	2,55				0,49	0,87		
III/3	2. Hungertag	24	4,89	}16,83	34,58		0,82	1,69		
	3. "	24	4,24				0,71	1,47		

¹⁾ Wassergehalt 4 bis 6%.

²⁾ Im mikroskopischen Präparat noch reichlich Pflanzenfasern enthaltend.

Tabelle VI.
Wärmeproduktion (berechnet).

Versuchsreihe	Versuchs-Nr.	Körpergewicht am Beginn des Versuches	Stickstoff in den Entleerungen	Kohlenstoff-Ausfuhr			Körpereiwweiß zersetzt	Körperfett zersetzt	(a) In Wärme umgesetzte chemische Energie			(b) Energiegehalt der Entleerungen	Wärmeproduktion a—b	Wärmeproduktion pro 24 Stunden und 1 qm Körperoberfläche	
				in den Ent- leerungen	im expi- rierten CO ₂	Zusammen			aus zer- setztem Eiwweiß	aus zer- setztem Fett	Zu- sam- men				
		g	g	g	g	g	g	g	kg/Cal	kg/Cal	kg/Cal	kg/Cal	kg/Cal	kg/Cal	
I Gans A	1	3169	0,51	0,88	12,76	13,64	3,20	15,54	18,1	146,1	164,2	8,2	156,0	692	
	2	3089	0,50	0,84	13,16	14,00	3,14	16,05	17,7	150,9	168,6	8,4	160,2	723	
	3	3019	0,50	0,73	13,70	14,43	3,13	16,62	17,7	156,2	173,9	7,2	166,7	764	
	II Gans B	4	2956	0,47	0,57	12,98	13,55	2,94	15,61	16,6	146,7	163,3	6,3	157,0	729
		5	2882	0,49	0,58	13,53	14,06	3,08	16,17	17,4	153,0	170,4	6,3 ¹⁾	164,1	775
		6	2814	0,54	0,83	11,79	12,62	3,41	14,08	19,3	132,3	151,6	8,4	143,2	687
		7	2741	0,45	0,70	11,54	12,24	2,81	13,99	15,9	131,5	147,4	6,6	140,8	688
III Gans C	8	4039	1,39	2,09	22,46	24,55	8,67	26,00	48,9	244,4	298,3	20,6 ²⁾	272,7	1029	
	9	3768	1,39	2,09	22,37	24,46	8,67	25,88	48,9	243,3	292,2	20,6 ²⁾	271,5	1073	
	10	3466	?	?	17,44	?	?	?	?	?	?	?	?	?	
IV Gans D	11	3792	1,44	2,08	22,97	25,00	9,03	26,33	51,0	247,5	298,5	20,5	278,0	1094	
	12	3562	1,44	2,08	20,20	22,23	9,03	22,73	51,0	213,7	264,7	20,5	244,2	1002	
	13	3442	1,44	2,03	19,59	21,62	9,03	21,94	51,0	206,2	257,2	20,5	236,7	994	
V Gans A	14	2737	0,73	1,19	12,27	13,46	4,57	14,38	25,8	135,2	161,0	10,5	150,5	736	
	15	2636	0,75	1,23	12,71	13,94	4,69	14,92	26,5	140,2	166,7	10,2	156,5	785	
	16	2486	0,83	1,25	12,52	13,77	5,17	14,38	29,2	135,1	164,4	11,1	153,2	799	
VI Gans B	17	2964	0,64	1,54	14,40	15,94	4,02	18,00	22,7	169,2	191,9	13,2	178,7	829	
	18	2906	0,58	1,14	13,19	14,33	3,61	16,17	20,4	152,0	172,4	12,1	160,3	753	
	19	2871	0,57	1,14	13,84	14,98	3,56	17,04	20,1	160,2	180,3	10,1	170,2	806	

Bei 27 bis 28°

Bei 16°

1) Aus Versuch 4.

2) Auf Grund der Relation Cal: N aus Versuchsreihe 4 berechnet.

Tabelle VII.
Wärmeproduktion (direkt bestimmt).

Versuchsreihe	Versuchs-Nr. Wievielter Hungertag		Körpergewicht am Beginn des Versuches	Wärmeabgabe				(B) Der Gewichts- und Temperatur- veränderung des Tieres entspricht eine Wärmeabgabe von	Wärmeproduktion (A—B)	Wärme- produktion pro 24 Std. und				
				An das Calorimeter abgegeben	Mit der Ventilations- luft abgeführt	Verdampfungswärme des Wasserdampfes in der Ventilationsluft	(A) Gesamte Wärmeabgabe			kg/Cal	kg/Cal	kg/Cal	1 kg Körper- Gewicht	1 qm Körper- Oberfläche
Bei 27° bis 28°	I Gans A	1 5	8169	98,0	4,2	56,3	158,5	3,1	155,4	49,0	689			
		2 7	3089	113,3	3,9	55,6	172,8	3,0	169,8	55,0	766			
		3 9	3019	100,4	3,5	49,1	152,9	2,5	150,4	49,8	689			
	II Gans B	4 7	2956	117,8	1,4	26,4 ¹⁾	145,6	4,1	141,5	47,9	657			
		5 9	2882	84,1	4,5	68,4 ²⁾	157,0	3,0	154,0	53,4	728			
		6 11	2814	101,5	6,8	46,8	155,7	2,5	152,6	54,2	733			
	III Gans C	7 13	2741	67,7	9,9	51,2	128,8	3,5	125,3	45,7	612			
		8 3	4039	123,1	16,4	128,1	272,6	6,4	266,2	65,9	1004			
		9 4	3768	175,1	16,4	92,7	284,2	4,8	279,4	74,1	1104			
IV Gans D	10 3	3466	155,3	11,0	77,1	243,4	5,0	238,4	68,8	996				
	11 3	3792	154,3	15,1	118,8	288,2	5,7	282,5	74,5	1111				
	12 4	3562	159,8	14,2	96,4	270,4	5,6	264,8	74,3	1086				
Bei 16°	V Gans B	13 6	3442	133,5	14,1	75,6	223,2	4,6	218,6	63,5	917			
		14 4	2737	118,6	13,4	36,4	168,4	7,7	160,7	58,7	786			
		15 6	2633	114,2	13,0	33,7	160,9	6,7	154,2	58,6	774			
	VI Gans B	16 9	2486	121,9	11,6	30,0	163,5	6,2	157,3	63,3	820			
		17 4	2964	109,8	13,8	35,5	159,1	7,5	151,6	51,2	703			
		18 6	2906	132,0	13,5	37,3	182,8	4,6	178,2	61,3	837			
		19 8	2871	136,1	14,1	32,5	182,7	5,6	177,1	61,7	839			

a) Gewichtsverlust bei 27°. Wie ersichtlich, war der Gewichtsverlust der Tiere A und B wesentlich geringer als der der Tiere C und D. Dies hat zum Teil wohl folgenden Grund: Um die Hungerversuche möglichst lange fortsetzen zu können, habe ich den Tieren A und B bloß die Nahrung, aber nicht auch das Wasser entzogen. (Tiere C und D erhielten auch kein Wasser!) Sie erhielten an den freien Tagen zwischen je zwei Respirationsversuchen 1 l Wasser vorgesetzt, und nachher wurde aus dem Rückstand die Wassermenge berechnet, die die Tiere in 24 Stunden aufgenommen hatten (s. Tabellen I und II). Es hatte dies den Vorteil, daß die

¹⁾ Bildung von Kondenswasser im Tierraum.

²⁾ Verdampfung des Kondenswassers vom vorangehenden Versuch.

Tierkörper, die im Respirationsschrank verhältnismäßig große Mengen von Wasserdampf abgegeben hatten, den starken Wasserverlust an den freien Tagen wieder decken konnten, wodurch auch eine Entstellung der Körpergewichtsverluste hintangehalten werden konnte. Durch diese Wasseraufnahme ist es auch erklärlich, daß die Tiere am Beginn eines nächsten Respirationsversuches manchmal ebensoviel, manchmal sogar mehr wogen als 24 Stunden vorher, am Ende eines vorangegangenen Respirationsversuches. Zum größeren Teil wurde der stärkere Gewichtsverlust der Tiere C und D sicherlich durch den regeren Stoffumsatz (s. unten) verursacht.

Tabelle VIII.

Gans	Versuchsreihe	Hungertag	Versuchstemp. temperatur °C	Körpergewicht ¹⁾		Gewichtsverlust pro 24 Std. in % des Anfangsgewichtes	Anmerkungen
				am Beginn am d. Periode g	am Ende am d. Periode g		
A	I	5.—9.	27—28	3169	2936	1,4	} An versuchsfreien Tagen Wasser getrunken
B	II	7.—13.	27—28	2956	2659	1,4	
C	III	3. u. 4.	27—28	4039	3620	5,1	} Kein Wasser getrunken
D	IV	3.—6.	27—28	3792	3297	3,3	
A	V	4.—9.	16	2737	2408	1,7	} An versuchsfreien Tagen Wasser getrunken
B	VI	4.—8.	16	2964	2751	1,8	

Bei Bleibtreu:

I	IV	1.—6.	10	6570	6090	1,3
II	V	1.—3.	14	3990	3640	2,9

Bei Lehmann und Voit:

VII	II	4. u. 5.	14	3739	3671	0,9	In 3 Tagen 90 g Wasser getr.
VII	III/1	2. u. 3.	16	3782	3637	1,8	.. 2 .. 10g
VIII	III/2	2. u. 3.	13,5	3553	3403	2,1	.. 2 .. kein
IX	III/3	2. u. 3.	15	3045	2901	2,4	Am 3. Tag 78 g

b) Gewichtsverlust bei 16°. Solche Versuche wurden bloß an Tieren A und B angestellt; der Gewichtsverlust ist etwas größer als an denselben Tieren bei 27°, was ja ganz begreiflich ist, wenn wir den der niedrigeren Temperatur ent-

¹⁾ In meinen Versuchen: ohne Futter, Trinkwasser, Riemzeug und Organtinkleid.

sprechenden höheren Stoffverbrauch der Tiere in Betracht ziehen (s. weiter unten S. 327). Mit diesen etwas größeren Werten stimmen im großen und ganzen auch die von Bleibtreu sowie Lehmann und Voit überein, deren Versuche bei einer ähnlich niedrigen Temperatur angestellt wurden (Tabelle VIII).

Ein Vergleich mit den Werten, die für den täglichen Gewichtsverlust anderer hungernder Warmblüter von früheren Autoren erhalten wurden, zeigt, daß sich die Gans von jenen nicht unterscheidet. So wurde gefunden

beim Hund¹⁾ 3 bis 28 kg = 1,1 bis 2,8⁰/₀,

bei der Katze²⁾ 3 kg = 1,6 bis 2,5⁰/₀,

beim Kaninchen³⁾ . . 1,5 bis 3 kg = 2,1 bis 4,1⁰/₀,

wobei zu bemerken ist, daß in den hier zitierten Versuchen es meistens nicht angegeben ist, ob den Tieren auch das Wasser entzogen wurde oder nicht.

2. Die Körpertemperatur

der Tiere (s. Tabelle III) war vor dem Einsetzen in den Respirationsschrank in der Regel ca. 40⁰, also durchaus normal. Während des 17 bis 23 Stunden langen Aufenthaltes bei 27 bis 28⁰ (Versuchsreihe I bis IV) blieb die Temperatur nahezu unverändert, indem sie bloß um einige 0,1⁰ sank oder stieg. In Versuchsreihen V und VI, bei 16⁰, war durchwegs eine Abkühlung der Tierkörper um etwa 1⁰ erfolgt. Es ist

¹⁾ Ferdinand August Falck, Physiologische Studien über die Ausleerungen der auf absolute Karenz gesetzten Hunde. Beiträge z. Hygiene, Pharmakol. u. Toxikol. 1, 39, 1875. — Immanuel Munk, Die Fettbildung aus Kohlenhydraten beim Hund. Virchows Archiv 101, 96, 1885, und Beiträge zur Stoffwechsel- und Ernährungslehre. Arch. f. d. ges. Physiol. 58, 319, 1894. — Bernhard Schöndorff, Über den Einfluß der Schilddrüse auf den Stoffwechsel. Ebenda 67, 432, 1897. — E. Leyden und A. Fraenkel, Über den respiratorischen Gasaustausch im Fieber. Virchows Archiv 76, 161 u. 164, 1879.

²⁾ August Carl Sedlmair, Über die Abnahme der Organe, insbesondere der Knochen, beim Hunger. Zeitschr. f. Biol., N. F. 19, der ganzen Reihe Bd. 37, 37 u. 38. — C. Voit, Über die Verschiedenheiten der Eiweißzersetzung beim Hungern. Zeitschr. f. Biol. 2, 327, 1866.

³⁾ H. Weiske, Über Knochenzusammensetzung bei verschiedenartiger Ernährung. Zeitschr. f. Biol. 10, 421, 1874. — K. Katsuyama, Über die Ausscheidung der Basen des auf absolute Karenz gesetzten Kaninchens. Zeitschr. f. physiol. Chem. 26, 547, 1889.

dies eine um so eher bemerkenswerte Tatsache, da ja die Temperatur von 16° nicht als besonders niedrig bezeichnet werden kann, und spricht für eine auffallende Labilität der Körpertemperatur hungernder Gänse gegenüber einer relativ nicht besonders kalten Umgebungstemperatur — eine Labilität, die bei größeren Säugetieren wohl nicht zur Beobachtung kommt.

3. Die Wasserdampfabgabe.

a) Bei 27 bis 28° . Die Menge des in der Ventilationsluft abgegebenen Wasserdampfes, pro 24 Stunden und 1 qm Körperoberfläche berechnet, betrug an Tier A 382 bis 425 g, bei Tier B 380 bis 423 g; hingegen bei Tier C 498 bis 823 g und bei Tier D 540 bis 796 g. Die bei weitem größere Wasserdampfabgabe der beiden letzteren Tiere entspricht ihrer größeren Wärmeproduktion, wovon weiter unten die Rede sein wird.

b) Bei 16° . Entsprechend der niedrigen Umgebungstemperatur, durch die die Wärmeabgabe durch Strahlung wesentlich gefördert wird, war die Wasserdampfabgabe der Tiere A und B bei 16° wesentlich geringer als bei 27° (Tiere C und D wurden bloß bei 28° untersucht); sie betrug an Gans A 220 bis 239 g, an Gans B 227 bis 245 g. In den erwähnten Versuchsreihen von Lehmann und Voit, die bei 14° angestellt wurden, verhalten sich die betreffenden Werte wie folgt:

Versuchsreihe II.		Versuchsreihe III/2.	
4. Hungertag . . .	193	2. Hungertag . . .	158
5. " . . .	232	3. " . . .	157
Versuchsreihe III/1.		Versuchsreihe III/3.	
2. Hungertag . . .	202	2. Hungertag . . .	220
3. " . . .	158	3. " . . .	249

Gerade jene Versuchsreihen (II und III/3), in denen die Tiere Wasser getrunken hatten — wenn auch weniger als meine —, zeigen in der Menge des ausgeschiedenen Wasserdampfes eine gute Übereinstimmung mit meinen Versuchen.

So viel erhellt aus meinen Befunden jedenfalls, daß die Wasserdampfabgabe wohl von der Umgebungstemperatur und von dem Umstände abhängt, ob die Tiere während des Hun-

gerns Wasser zu trinken erhielten oder nicht, jedoch unter gleichen äußeren Umständen eine ziemlich konstante Größe hat.

4. Die Kohlensäureproduktion.

Obzwar die Werte für die Kohlensäureproduktion und den Sauerstoffverbrauch an sich kein weiteres Interesse beanspruchen, da ja der Energieumsatz — sowohl aus den Zersetzungen berechnet als auch durch direkte Calorimetrie bestimmt — weiter unten besprochen sein soll, will ich sie doch kurz besprechen und zwar aus dem Grunde, da calorimetrische Versuche — namentlich direkte — von anderer Seite nur in spärlicher Anzahl vorliegen, und weil ein Vergleich meiner Versuchsergebnisse mit früheren wohl nur auf Basis der Kohlensäureproduktion und des Sauerstoffverbrauches vorgenommen werden kann. Die Kohlensäureproduktion betrug:

a) Bei 27 bis 28° pro 24 Stunden und 1 qm Körperoberfläche bei Gans A 208 bis 230 g, bei Gans B 207 bis 234 g, bei Gans C 267 bis 311, bei Gans D 301 bis 331 g. Die höheren Werte bei den beiden letzteren Tieren entsprechen ihrem höheren Stoffverbrauch (S. 325).

b) Bei 16° produzierte Gans A 220 bis 239 g, Gans B 227 bis 245 g, also um 4,5 resp. 7%₀ mehr als bei 27°. Diese Steigerung zeugt für den erhöhten Stoffverbrauch bei der niedrigeren Außentemperatur und entspricht der chemischen Regulation der Körpertemperatur.

In den obengenannten Versuchen von Bleibtreu produziert Tier I bei 10° 640 g, Tier II bei 14° 523 g Kohlensäure, also das 2- bis 3fache der von mir an Tieren A und B bei 16° erhaltenen Werte. Dieser enorme Unterschied ist wohl nur zu einem geringen Teile der niedrigeren Außentemperatur zuzuschreiben, zum größeren Teil dem Umstande, daß Bleibtreus Versuche bloß 65 resp. 39 Minuten gedauert hatten, in so kurzdauernden Versuchen aber Unruhe des Tieres einen ganz bedeutenden Ausschlag geben kann.

In den Versuchsreihen von Lehmann und Voit bei 14° war die Kohlensäureproduktion weit geringer als in denen von Bleibtreu. Sie betrug:

Versuchsreihe II.		Versuchsreihe III/2.	
4. Hungertag . . .	322	2. Hungertag . . .	242
5. " . . .	335	3. " . . .	244
Versuchsreihe III/1.		Versuchsreihe III/3.	
2. Hungertag . . .	313	2. Hungertag . . .	207
3. " . . .	292	3. " . . .	294

Die Kohlensäureproduktion war also bald so groß wie an meinen Tieren A und B, bald weit größer.

5. Der Sauerstoffverbrauch betrug:

a) bei 27 bis 28° pro 24 Stunden und 1 qm Körperoberfläche bei Gans A 189 bis 222 g, bei Gans B 208 bis 209 g, bei Gans C 277 bis 312 g, bei Gans D 282 bis 290 g; also an beiden letzteren Tieren wesentlich mehr.

Ganz ähnliche Werte wie an meinen Gänsen A und B erhält man aus der Umrechnung der Gerhartzschen Zahlen in der sog. Ruheperiode bei 28,7 resp. 23,8°. Unter diesen Umständen verbrauchten seine Hühner 210 resp. 203 g Sauerstoff.

b) bei 16° verbrauchte Gans A 209 bis 239 g, Gans B 220 bis 250 g, Bleibtreus Tiere bei 10 resp. 14° das 2- bis 3fache davon; der Grund hierfür war schon oben (S. 327) besprochen. Lehmann und Voits Tiere verbrauchten bei 14°:

Versuchsreihe II.		Versuchsreihe III/2.	
4. Hungertag . . .	311	2. Hungertag . . .	260
5. " . . .	351	3. " . . .	209
Versuchsreihe III/1.		Versuchsreihe III/3.	
2. Hungertag . . .	320	2. Hungertag . . .	297
3. " . . .	265	3. " . . .	258

Die Werte zeigen dieselben großen Schwankungen wie die der Kohlensäureproduktion.

6. Der respiratorische Quotient.

Da die Berechnung des Sauerstoffverbrauches, wie erwähnt, auf einige Prozente sichergestellt ist, sind auch die Werte für den respiratorischen Quotienten wohl zu verwenden. Unter 17 Hungerversuchen war der höchste Wert 0,830, der niedrigste 0,711; im Mittelwert aller Versuche betrug er 0,764. Aus

diesen Zahlen ist zu ersehen, daß der Glykogenvorrat der Gänse durch einige Tage langes Hungern großenteils verschwindet, gleichwie bei den Säugetieren.

Bleibtreu fand Quotienten von 0,728 und 0,690. Aus Lehmann und Voits Daten berechnete ich:

Versuchsreihe II.		Versuchsreihe III/2.	
4. Hungertag . . .	0,753	2. Hungertag . . .	0,679
5. " . . .	0,694	3. " . . .	0,846
Versuchsreihe III/1.		Versuchsreihe III/3.	
2. Hungertag . . .	0,710	2. Hungertag . . .	0,703
3. " . . .	0,800	3. " . . .	0,828

Gerhartz' in der Ruheperiode am Huhn angestellte Versuche ergeben Quotienten von 0,632 und 0,799.

7. Harn und Kot.

Sowohl die Menge der Hungerentleerungen, als auch die absolute Menge des in ihnen ausgeschiedenen N und C weisen, wie aus Tabelle V zu ersehen ist, an den Tieren A und B einerseits und C und D andererseits bedeutende Unterschiede auf. Dieselben Schwankungen sind auch an Lehmann und Voits Daten aufzufinden, die ich vergleichshalber in Tabelle V zu unterst eingetragen habe. Der N- und C-Gehalt der Entleerungen stimmt in diesen und meinen Versuchen gut überein.

Den Quotienten $\frac{\text{Cal}}{\text{N}}$ der Entleerungen habe ich aus den Daten der Tabelle V berechnet. Derselbe beträgt in Versuchsreihe I 15,7, in Versuchsreihe II 14,2, in Versuchsreihe IV 14,2, in Versuchsreihe V 13,8, und bloß in Versuchsreihe VI wesentlich mehr: 19,6. Es wäre natürlich von großem Wert, diesen Quotienten für den reinen, nicht mit Kot vermischten Harn zu berechnen; da aber dieser an meinen Tieren nicht gesondert aufgefangen wurde, mußte ich mich mit obigen Quotienten begnügen.

8. Der Energieumsatz.

In allen Versuchsreihen wurde die Wärmeproduktion einerseits direkt bestimmt, andererseits aus den Zersetzungen unter Vernachlässigung des Glykogens berechnet, was ja am Hungertier — wenn auch prinzipiell fehlerhaft — doch gestattet ist.

In zahlreichen Respirationsversuchen, die ich im Laufe der Jahre an Hunden ausführte und deren mehrere in dieser Zeitschrift mitgeteilt wurden, war der prozentuale Unterschied zwischen der direkt bestimmten und der berechneten Wärme-
produktion oft recht gering, namentlich wenn es sich um größere Tiere gehandelt hatte. Wurde jedoch die Wärme-
produktion an kleineren Tieren, wie z. B. in vorliegender Arbeit an leichteren Gänsen, bestimmt, so müssen die unvermeidlichen
Versuchsfehler auch bei direkter Calorimetrie, weit mehr bei indirekter Calorimetrie stark ins Gewicht fallen, demzufolge
auch einen weit größeren prozentualen Unterschied in den nach den zwei Methoden erhaltenen Werten bedingen. In je
einem Versuch ist bald der durch direkte Bestimmung, bald der durch Berechnung erhaltene Wert höher; doch gleichen
sich diese Unterschiede so ziemlich aus, wenn man innerhalb jeder Versuchsreihe die Mittelwerte vergleicht. So erhielt ich
in kg/Cal pro 24 Stunden in:

Versuchsreihe	Direkt	Indirekt	Versuchsreihe	Direkt	Indirekt
I . . .	158,5	159,2	IV . . .	255,3	253,0
II . . .	143,3	151,3	V . . .	157,4	153,4
III (2 Vers.)	272,8	272,1	VI . . .	169,0	169,7

Da die Versuchsfehler der direkten Calorimetrie offenbar die geringeren sind, sollen in nachfolgender Betrachtung immer nur die durch direkte Bestimmung erhaltenen und auf 1 qm Körperoberfläche reduzierten Werte in Betracht gezogen werden (Tabelle VII).

a) Energieumsatz bei 27 bis 28°. Die Wärmeproduktion von Gans A und B beträgt für die Einheit der Körperoberfläche im Durchschnitt von je 3 resp. 4 Versuchen 715 resp. 682 kg/Cal, die der Gänse C und D 1035 resp. 1038 kg/Cal; die beiden letzteren Tiere produzieren demnach um etwa 48% mehr Wärme als die beiden ersteren.

Worin ist dieser Unterschied begründet? Man könnte zunächst an die bekannte Tatsache denken, daß im protrahierten Hunger der Energieumsatz abnimmt; in der Tat handelt es sich bei Gans A um den 5. bis 9., bei Gans B um den 7. bis 13., bei Gans C hingegen um den 3. und 4., bei Gans D um den 3. bis 6. Hungertag. Nun ist ja der Unterschied in der Dauer der vorausgegangenen Hungerperiode zwischen Gans B und C

tatsächlich recht groß, jedoch bei weitem nicht so groß zwischen Gans A und D; und doch verhalten sich einerseits Gans A und B, andererseits C und D ganz gleichmäßig.

Wenn auch die kürzere Hungerzeit der beiden letzten Tiere ihren größeren Energieumsatz teilweise verursachen kann, muß der eigentliche Grund hierfür anderswo zu suchen sein; so kann es sich zunächst um Rassenunterschiede zwischen beiden Tierpaaren handeln, denn Tiere A und B wurden gleichzeitig bei einem Händler gekauft, desgleichen $1\frac{1}{2}$ Jahre später Tiere C und D bei einem anderen Händler. Natürlich habe ich gar keine Gewähr dafür, daß je 2 Tiere auch wirklich je einer Zucht angehören, mit einiger Wahrscheinlichkeit kann dies jedoch angenommen werden.

Ferner konnten A und B einerseits und C und D andererseits jüngere resp. ältere Tiere, oder umgekehrt, gewesen sein.

Der deutliche Unterschied im Gewichte der beiden Tierpaare (C und D waren wesentlich schwerer) konnte durch Rassen- oder Altersunterschied bedingt sein, oder etwa auch durch einen reichlicheren Fettvorrat der Tiere C und D, wovon ich mich nach Abschluß der Versuche zu überzeugen leider versäumt habe. Wäre nun letzteres der Fall gewesen, hätte er den größeren Energieumsatz um so weniger erklären können, da ja in diesem Falle *ceteris paribus* ein relativ geringerer Energieumsatz hätte konstatiert werden müssen. Wie dem immer sei, der unmittelbare Grund der starken Divergenz im Energieumsatz ist anderswo, und zwar meines Erachtens in dem Umstande zu suchen, daß die Eiweißzersetzung in den Tieren C und D wesentlich höher war als in A und B. An der Hand von 17 Versuchsreihen, die ich an Hunden ausgeführt und an anderer Stelle¹⁾ ausführlich beschrieben hatte, wurde gezeigt, daß die bei kritischer Temperatur hungernden Hunde, auf 1 kg Körpergewicht oder 1 qm Körperoberfläche berechnet, einen um so größeren Energieumsatz aufweisen, je mehr Eiweiß sie zersetzen. Es wurde dort gezeigt, daß in den Tieren mit dem relativ geringsten Stoff- und Energieumsatz die Relation: Eiweiß:Fett:Energieumsatz sich verhält wie 1:3,3:34,8. Wird jedoch in einem

¹⁾ Diese Zeitschr. 66, 1.

hungernden Hunde mehr Eiweiß als das erwähnte Minimum zersetzt, so wird auch entsprechend mehr Fett in die Verbrennung mit hineingezogen, und zwar entspricht einer Mehrverbrennung von 1 g Eiweiß eine Mehrverbrennung von ebenfalls ca. 1 g Fett. Dem Plus von je 1 g an verbranntem Eiweiß und Fett entspricht dann die Steigerung des Energieumsatzes um 14 bis 15 kg/Cal.

Wir wollen nun sehen, ob sich diese Gesetzmäßigkeit auch in den an Gänsen ausgeführten Versuchen wiederfindet.

In nachstehender Tabelle IX habe ich den Eiweiß- und Fettverbrauch in den Hungerversuchsreihen I bis IV auf 1 kg Körpergewicht und 1 qm Körperoberfläche berechnet und dabei folgendes gefunden.

Tabelle IX.

Versuchsreihe	Versuchs-Nr.	Eiweiß zersetzt pro 24 Std.		Fett zersetzt pro 24 Std.		Wärmeproduktion pro 24 Std.	
		und 1 kg Körpergewicht g	und 1 qm Körperoberfläche g	und 1 kg Körpergewicht g	und 1 qm Körperoberfläche g	und 1 kg Körpergewicht kg-Cal	und 1 qm Körperoberfläche kg-Cal
I Gans A	1	1,00	14,1	4,90	68,9	49,0	689
	2	1,02	14,2	5,20	72,4	55,0	766
	3	1,04	14,3	5,50	76,1	49,8	689
Mittelwerte:			14,2		72,5		715
II Gans B	4	0,99	13,7	5,28	72,5	47,9	657
	5	1,07	14,5	5,61	76,4	53,4	728
	6	1,21	16,4	5,00	67,6	54,2	733
	7	1,02	13,7	5,10	68,3	45,7	612
Mittelwerte:			14,6		71,2		682
III Gans C	8	2,15	32,7	6,44	98,1	65,9	1004
	9	2,30	34,3	6,87	102,2	74,1	1104
	10	?	?	?	?	68,8	996
Mittelwerte:			33,5		100,1		1035
IV Gans D	11	2,38	35,5	6,94	103,6	74,5	1111
	12	2,53	37,0	6,38	93,3	74,3	1086
	13	2,62	37,9	6,37	92,1	63,5	917
Mittelwerte:			36,8		96,3		1038

Bei Gans A und B wird durchschnittlich 14,4 g Eiweiß und 71,8 g Fett verbrannt und 706 kg/Cal umgesetzt; bei Gans C und D 35,1 g Eiweiß und 98,2 g Fett verbrannt und 1036 kg/Cal umgesetzt; das Plus an Eiweiß beträgt 20,7 g, an

Fett 26,4 g, an Wärmeproduktion 330 kg/Cal. Berechnen wir hieraus das Plus an verbranntem Eiweiß und Fett und an umgesetzter chemischer Energie bei Tieren C und D im Vergleich zu den Tieren A und B, so ergibt sich auch hier, wie bei den hungrigen Hunden, daß die Mehrverbrennung von 1 g Eiweiß eine Mehrverbrennung von Fett, und zwar in einer Menge von ca. 1,3 g involviert, indem dieses quasi in die Verbrennung mit hineingerissen wird, wodurch es nun aus doppeltem Grund zu einer Steigerung des Energieumsatzes kommt.

Natürlich darf es nicht übersehen werden, daß ich in meinen Hunderversuchen 5 Versuchsreihen mit dem kleinsten Eiweißverbrauch als Vergleichsbasis zur Verfügung hatte, und weitere 12 Reihen, in denen aus dem in verschiedenem Grade gesteigerten Eiweiß- und Fettverbrauch eine Gesetzmäßigkeit leicht abgeleitet werden konnte.

Über eine ähnliche Fülle an Versuchen über Gänse verfüge ich leider nicht; bloß über 2 Versuchsreihen mit einem geringeren und 2 Versuchsreihen mit einem wesentlich höheren Stoff- und Energieverbrauch. Allerdings sind die Unterschiede sehr bedeutend, indem die an den 4 Gänsen beobachteten niedrigsten und höchsten Werte für den Energieumsatz dem in 17 Hunderversuchsreihen beobachteten Minimum und Maximum nahezu gleichkommen.

Ferner ist auch zu bemerken, daß die Temperatur von 27 bis 28°, bei der alle Versuche angestellt wurden, sicherlich sehr nahe der kritischen Temperatur für Hunde ist, während für Gänse die kritische Temperatur noch nicht festgestellt ist (Gerhartz vermutet sie für Hühner bei 23°).

Obzwar demnach die — in einer größeren Anzahl von Versuchsreihen — an Hunden festgestellten Gesetzmäßigkeiten nicht ohne weiteres auf andere Tierarten, namentlich auf Vögel, übertragbar sind, glaube ich auch in den oben mitgeteilten wenigen Versuchsreihen die Analogie mit den Ergebnissen der Hunderversuche wiederzufinden und den auffallenden Unterschied im Energieumsatz der beiden Tierpaare in der verschieden starken Eiweißzersetzung begründet zu sehen.

b) Der Energieumsatz bei 16° wurde bloß an den Tieren A und B festgestellt; derselbe beträgt im Mittel von je drei Versuchen an beiden Tieren 793 kg/Cal pro 1 qm. Die

Steigerung gegenüber der bei 27 bis 28° gefundenen Werte beträgt daher 78 resp. 96 kg/Cal, d. i. 10 resp. 13⁰/₀. Wäre die kritische Temperatur für Gänse festgestellt, so ließe sich aus den bei 27 bis 28° und den bei 16° ausgeführten Versuchen berechnen, um welchen Betrag der Energieumsatz gesteigert wird, wenn die Umgebungstemperatur um 1° sinkt.

Da jedoch die kritische Temperatur der Gänse noch nicht bekannt ist und entsprechende Versuche auch in meinen Versuchsreihen fehlen, läßt sich obige Berechnung nur annäherungsweise und zwar in der Annahme ausführen, daß die kritische Temperatur bei 27 bis 28° liegt. In diesem Falle würde das Sinken der Umgebungstemperatur um 1° den Energieumsatz um etwa 0,8 bis 1,1⁰/₀ steigern.

Es wäre auch von Interesse gewesen, zu berechnen, ob in diesen, bei niedrigerer Außentemperatur angestellten Versuchen ein ziffernmäßig ähnlicher Zusammenhang zwischen gesteigertem Eiweiß- und Fettverbrauch besteht, wie oben ausführlich erörtert war; mit anderen Worten, ob ein Plus von 1 g verbrannten Eiweißes auch in dem Falle eine Mehrverbrennung von gerade 1,3 g Fett verursacht, wenn nicht die Stoffzeretzung zweier bei derselben Temperatur untersuchter Tiere verglichen wird, sondern die eines, bei verschiedenen Außentemperaturen untersuchten Tieres.

Leider läßt sich diese Berechnung nicht ausführen, da die Eiweißverbrennung der Tiere A und B bei 16° eine sehr verschiedene war, indem sie pro 24 Stunden und 1 qm Körperoberfläche bei Tier A 24,3 g, bei Tier B jedoch bloß 17,6 g beträgt.

Ich habe in Lehmann und Voits bei 14° angestellten Versuchen den Energieumsatz aus den Zersetzungen berechnet und die Ergebnisse in folgendem zusammengestellt:

Versuchs-	{	4. Hungertag	1085	Versuchs-	{	2. Hungertag	830
reihe II		5. "	1128	reihe III/2		3. "	827
Versuchs-	{	2. "	1055	Versuchs-	{	2. "	997
reihe III/1		3. "	985	reihe III/3		3. "	1100

Man sieht, daß die Schwankungen recht große sind, ebenso wie es die Kohlensäureproduktion und der Sauerstoffverbrauch waren; und daß auch der kleinste Wert höher ist, als die von mir gefundenen; es kann dies teilweise aus der um zwei Grade niedrigen Versuchstemperatur erklärt werden.

c) Kritische Temperatur der Gänse.

Es wäre erwünscht gewesen, diese bei 16° und 27 bis 28° angestellten Hungerversuche durch solche in mehreren Temperaturintervallen zu ergänzen; dadurch wäre es möglich gewesen, auch die kritische Temperatur der hungernden Gänse festzustellen. Leider mußte dies aus äußeren Gründen unterbleiben. Daraus jedoch, daß bei 27 bis 28° eine Hyperthermie der Tiere nicht eintrat, läßt sich folgern, daß diese Temperatur die kritische, wenn sie sie überhaupt erreicht hat, nur wenig hatte überschreiten können.

d) Verteilung der Wärmeabgabe. Es ist von vornherein zu erwarten, daß in der Wärmeabgabe Strahlung und Leitung einerseits, Wasserverdampfung andererseits sich bei hoher resp. niedrigerer Außentemperatur nicht im selben Verhältnis beteiligen werden, und daß jenes Verhältnis sich zugunsten der ersteren um so mehr verschieben wird, je niedriger die Außentemperatur gehalten wird. In nachstehender Tabelle X habe ich die prozentuale Beteiligung der Wärmeabgabe der beiden Faktoren in allen Versuchen berechnet¹⁾.

Tabelle X.

Bei 27 bis 28° entfallen							Bei 16° entfallen				
Versuchsreihe	Versuchs-Nr.	von der gesamten Wärmeabgabe		Versuchsreihe	Versuchs-Nr.	von der gesamten Wärmeabgabe		Versuchsreihe	Versuchs-Nr.	von der gesamten Wärmeabgabe	
		auf Strahlung und Leitung %	auf Wasserverdampfung %			auf Strahlung und Leitung %	auf Wasserverdampfung %			auf Strahlung und Leitung %	auf Wasserverdampfung %
I	1	65	35	III	8	45	55	V	14	78	22
	2	68	32		9	67	33		15	79	21
	3	68	32		10	68	32		16	82	18
II	6	70	30	IV	11	59	41	VI	17	78	22
	7	61	39		12	65	35		18	80	20
					13	67	33		19	83	17

Aus Tabelle X ist ohne weiteres ersichtlich, daß beim Übergang von 28 auf 16° die Wärmeabgabe durch Strahlung und Leitung von 59 bis 70% auf 78 bis 83% ansteigt, also

¹⁾ Versuch 4 und 5 bleiben hier unberücksichtigt, da im ersteren Kondenswasser im Respirationsschrank zurückgeblieben, im letzteren aber dasselbe wieder verdampft ist.

um etwa den fünften Teil zunimmt; und umgekehrt, die Wärmeabgabe durch Wasserverdampfung, die an sich bereits geringer ist, von 30 bis 41% auf 17 bis 22%, also auf nahezu die Hälfte sinkt.

Es ist dies ein lehrreiches Beispiel der mannigfaltigen kompensatorischen Einrichtungen im Wärmehaushalt der Warmblüter, vermöge deren sie ihre Körpertemperatur nahezu unverändert beibehalten. Schwer ist allerdings zu sagen, welcher Vorgang der primäre ist; denn die Steigerung der Wärmeabgabe durch Strahlung und Leitung bei niedrigerer Außentemperatur ist im großen und ganzen rein physikalisch ebenso begründet, wie die Einschränkung der Wasserverdampfung.

B. Versuche an gefütterten Gänsen.

Zweck dieser Versuche war, manche, an gefütterten Tieren der Vogelwelt noch wenig oder gar nicht bearbeiteten Fragen der Lösung näher zu bringen. Zu ersteren gehören der Stoff- und Energieumsatz gefütterter Vögel überhaupt, der abnorm hohe respiratorische Quotient bei starker Kohlenhydratfütterung, zu letzteren die Feststellung der kritischen Temperatur gefütterter Gänse, sowie die Berechnung des Produktionswertes des an Gänse verfütterten Maisfutters.

Leider muß ich vorausschicken, daß der bereits genannten äußeren Umstände halber die geplante Anzahl der Versuchsreihen wesentlich reduziert werden mußte, und auch von den ausgeführten einige, als mißlungen, nicht verwendet werden konnten. Es blieben mir so insgesamt 5 Versuchsreihen, die wohl Genügendes über den Energieumsatz gefütterter Gänse und über das Verhalten des respiratorischen Quotienten ergaben, jedoch hinsichtlich der beiden anderen obengenannten Fragen nur wenig Stützpunkte liefern.

I. Versuchseinrichtung.

Zu diesen Versuchen wurden die Gänse A und B der oben erörterten Hungerversuche verwendet. Bezüglich der Versuchseinrichtung kann ich auf Kapitel A verweisen, da sie nur in folgenden geringen Details von der dort getroffenen verschieden war.

Vom Mais, den die Tiere erhalten sollten, wurde eine große Menge gut durchgemischt, und davon einerseits eine für

Monate hinreichende Anzahl von Portionen zu 50 resp. 100 g auf 1 dg genau abgewogen und in Papiertüten verwahrt. Andererseits wurden 100 g Mais vermahlen und im groben Mehl N-, C- und Energiegehalt bestimmt. Das Mehl enthielt 1,78% N, 41,06% C; 1 g desselben hatte einen Gehalt an chemischer Energie von 4033 g/Cal.

Die sehr massigen Entleerungen der Tiere sonderten sich sehr bald in einen mehr festen, dickbreiigen und einen ganz flüssigen Anteil, die voneinander durch bloßes Neigen der zum Aufsaugen dienenden Porzellanschale mit Leichtigkeit zu trennen waren. Nachdem spärliche Reste von Federn sorgfältig herausgeholt und abgespült wurden, habe ich, um nicht zu große Mengen von Flüssigkeiten eindampfen zu müssen, was viel Zeit und wahrscheinlich bedeutende Verluste an N und vielleicht auch an C verursacht hätte, den festen Anteil vom flüssigen einfach durch Abgießen getrennt und gesondert aufgearbeitet. Der flüssige Anteil wurde durch Glaswolle filtriert, der Filtrückstand zum festen Anteil geschlagen, und dieser durch einen raschen, 30° warmen Luftstrom getrocknet, was in der Regel 12 bis 20 Stunden in Anspruch nahm. In der getrockneten Substanz wurde N, C und chemische Energie, im Filtrate bloß der N bestimmt und sein Gehalt an C und chemischer Energie aus der Relation des N-Gehaltes des festen und flüssigen Anteiles berechnet.

In einer Versuchsreihe wurden alle Bestimmungen täglich ausgeführt. In allen übrigen aber, da dies bei den sehr variierenden Mengen der täglichen Entleerungen als zwecklos sich herausstellte, in den gesammelten Entleerungen der betreffenden Versuchsreihen. An den Gänsen A und B wurden insgesamt 5 Versuchsreihen angestellt, und zwar Versuchsreihe VII und VIII bei 27° und einer täglichen Maisration von 50 g; Versuchsreihe IX und X bei 27° und täglich 100 g Mais; Versuchsreihe XI an Gans A bei 16° und einer Maisration von täglich 100 g.

II. Die Ergebnisse der Fütterungsversuche

sind in nachfolgenden Tabellen XI bis XV enthalten, und zwar enthält Tabelle XI die allgemeinen Daten der Respirationsversuche. Tabelle XII die auf die Körpergewichts- und Ober-

Tabelle XI.

Versuchsreihe	Versuchs-Nr.	Datum des Versuches	Beginn des Versuches	Dauer des Versuches	Ventilation pro 24 Stunden	Temperatur des Tierraumes °C	Körpertemperatur		Gewicht ¹⁾		Mit der Ventilationsluft abgeführt		Dejecte	O ₂ -Verbrauch	Respirationsquotient	Anmerkungen
							am Beginne des Versuches °C	am Ende des Versuches °C	am Beginne des Versuches g	am Ende des Versuches g	CO ₂ g	H ₂ O g				
			Std.		mm	°C	°C	°C	g	g	g	g	g	?		
VII (Gans A	20 ²⁾	9.—10. I. 10	10 ^h 35' vorm.	22,42	13,8	26,70	41,1	40,5	3840,2	3644,0	74,3	151,2	25,0	?	?	täglich 50 g Mais
	21 ²⁾	11.—12.	10 ^h 05' "	22,92	19,2	26,70	41,1	40,2	3866,0	3679,2	74,9	136,1	26,8	?	?	
VIII (Gans B	22 ²⁾	19.—20. XII. 09	10 ^h 28' vorm.	22,03	18,2	26,80	41,1	41,4	3509,4	3353,0	82,9	135,6	27,3	?	?	täglich 50 g Mais
	23 ²⁾	21.—22.	9 ^h 55' "	23,08	18,7	26,70	40,8	40,5	3495,0	3281,5	82,6	175,8	85,5	?	?	
	24 ²⁾	23.—24.	10 ^h 05' "	22,67	20,0	26,70	40,6	39,7	3462,5	3301,5	79,8	136,9	20,8	?	?	
IX (Gans A	25	23.—24. I. 09	10 ^h 26' vorm.	21,55	20,4	26,85	41,1	40,9	3965,2	3685,0	101,5	206,7	43,0	?	?	täglich 100 g Mais
	26	26.—27.	10 ^h 17' "	22,72	23,2	26,85	40,6	40,9	4017,5	3710,2	108,6	230,3	44,5	?	?	
X (Gans B	27 ²⁾	3.—4. I. 10	10 ^h 37' vorm.	22,55	17,3	26,70	40,8	41,2	3456,7	3244,5	100,7	179,3	?	?	?	täglich 100 g Mais
	28 ²⁾	5.—6.	9 ^h 42' "	23,80	16,0	26,70	40,8	40,7	3171,0	3050,0	104,4	182,3	65,9	?	?	
	29 ²⁾	7.—8.	10 ^h 55' "	22,83	15,4	26,70	41,0	41,0	3108,7	3032,0	99,7	184,0	65,3	?	?	
XI (Gans A	30	6.—7. V. 10	10 ^h 05' vorm.	22,94	24,8	15,80	40,4	39,9	2970,5	2718,9	92,7	94,4	123,0	?	?	täglich 100 g Mais
	31	9.—10.	9 ^h 00' "	24,23	26,9	15,85	40,4	40,1	2866,2	2681,7	87,4	78,3	73,5	?	?	
	32	11.—12.	9 ^h 35' "	22,67	25,9	15,90	41,1	39,8	2916,5	2735,0	85,7	59,7	84,7	?	?	

¹⁾ Inklusive Futter, Trinkwasser, Riemzeug und Organtinkleid.

²⁾ CO₂ und Wasserdampfbestimmung auf etwa 5% ungenau, daher Berechnung des O₂-Verbrauches und des respiratorischen Quotienten unmöglich.

flächeneinheit reduzierten Werte für die 24stündige Kohlensäure- und Wasserabgabe und den Sauerstoffverbrauch; Tabelle XIII die Analyse der Entleerungen; Tabelle XIV die Daten zur Berechnung des Eiweiß- und Fettverbrauchs und der Wärme- produktion (indirekte Calorimetrie); Tabelle XV die Daten der direkten Calorimetrie.

1. Die Körpertemperatur blieb in den Versuchen bei 27° beinahe unverändert. Auch bei 16°, bei der bloß Gans A untersucht wurde, fand eine Abkühlung des Tierkörpers nicht statt, während am selben Tiere bei dieser Temperatur im Hunger- zustande eine Erniedrigung der Körpertemperatur um mehr als 1° zu konstatieren war. Die dort erwähnte Labilität bezieht sich demnach bloß auf das Hungertier.

Tabelle XII.

CO₂-, H₂O-Abgabe und O₂-Verbrauch auf 24 Stunden, ferner auf 1 kg Körpergewicht und 1 qm Körperoberfläche berechnet.

Versuchsreihe	Versuchs-Nr.	Körpergewicht am Beginne des Versuches g	Pro 24 Stunden			Pro 24 Stunden und 1 kg Körper- gewicht			Pro 24 Stunden und 1 qm Körper- oberfläche				
			mit der Ventilations- luft abgeführt		O ₂ - Verbrauch g	mit der Ventila- tionsluft abgeführt		O ₂ - Verbrauch g	mit der Ventilations- luft abgeführt		O ₂ - Verbrauch g		
			CO ₂ g	H ₂ O g		CO ₂ g	H ₂ O g		CO ₂ g	H ₂ O g			
			CO ₂ g	H ₂ O g	O ₂ g	CO ₂ g	H ₂ O g	O ₂ g	CO ₂ g	H ₂ O g	O ₂ g		
Bei 27°	VII Gans A	20 ¹⁾ 21 ¹⁾	3578 3504	79,5 78,4	161,9 142,5	?	22,2 22,4	45,2 40,7	?	325,4 325,2	662,1 591,1	?	
	VIII Gans B	22 ¹⁾ 23 ¹⁾ 24 ¹⁾	3205 3155 3097	90,4 85,8 84,5	147,7 182,8 166,1	?	28,2 27,2 27,3	46,1 57,9 53,6	?	397,8 381,9 380,5	650,3 813,0 748,1	?	
	IX Gans A	25 26	3524 3474	113,1 114,7	230,3 243,4	83,7 80,4	32,1 33,0	65,3 70,1	23,7 23,1	467,2 478,8	951,6 1015,0	345,8 335,4	
	X Gans B	27 ¹⁾ 28 ¹⁾ 29 ¹⁾	3097 3171 3109	107,2 105,2 107,3	190,8 183,8 198,0	?	34,6 33,2 34,5	61,6 58,0 63,7	?	482,7 466,7 482,1	859,5 815,0 889,6	?	
	Bei 16°	XI Gans A	30 31 32	2499 2495 2520	97,0 86,5 90,7	98,0 77,5 63,2	60,5 54,1 51,4	38,8 34,7 36,0	39,3 31,1 25,1	24,2 21,7 20,4	503,9 449,9 468,7	509,2 403,2 326,5	314,2 281,6 265,9

¹⁾ CO₂- und Wasserdampfbestimmung auf etwa 5% ungenau; daher die Berechnung des O₂-Verbrauches unmöglich.

Tabelle XIII.

Versuchsreihe	Exkreme nte, gesammelt von	Gewicht lufttrocken pro 24 Stunden g	100 g Exkreme nte ohne Spülwasser enthalten			Täglich wurden ausgeschieden inklusive Spülwasser		
			N	C	chem. Energie	N	C	chem. Energie
			g	g	kg/Cal	g	g	kg/Cal
VII	9.—10. I. 09	8,50	}9,47	}42,24	}383,3	}0,95	}4,24	}38,4
	10.—11.	10,60						
	11.—12.	8,15						
	12.—13.	11,80						
VIII	21.—22. XII. 09	10,45	}8,89	}41,93	}379,3	}0,89	}4,22	}38,2
	22.—23.	10,45						
	23.—24.	8,85						
	24.—25.	7,15						
IX ¹⁾	22.—23. XI. 09	16,93	7,63	40,76	}385,3	1,38	7,35	}68,3
	23.—24.	13,31	8,79	39,70		1,21	5,50	
	24.—25.	21,35	8,13	38,90		1,89	9,07	
	25.—26.	16,72	9,14	38,53		1,62	7,26	
	26.—27.	15,56	8,59	38,35		1,38	6,15	
	27.—29.	16,73	8,81	40,51		1,55	7,11	
X	1.—3. I. 10	13,52	}7,22	}40,60	}394,9	}1,20	}6,75	}65,4
	3.—4.	15,00						
	4.—5.	18,40						
	5.—6.	17,12						
	6.—7.	15,45						
	7.—8.	17,05						
	8.—9.	18,11						
XI	6.—7. V. 10	20,08	}6,33	}41,21	}401,3	}1,21	}7,37	}79,6
	7.—9.	16,43						
	9.—10.	17,40						
	10.—11.	14,25						
	11.—12.	17,20						

2. Die Wasserdampfabgabe.

a) Bei 27°. Ein Vergleich der auf 1 qm berechneten Wasserdampfabgabe bei der Fütterung mit verschiedenen Mengen von Mais ergab folgendes:

¹⁾ In Versuchsreihe IX wurde der N- und C-Gehalt täglich, der Energiegehalt in einem Gemisch aus aliquoten Anteilen der Exkreme von jedem Versuchstage bestimmt; zur Berechnung der Respirationsversuche wurden die Mittelwerte von den 6 Versuchstagen benutzt. — In allen übrigen Versuchsreihen wurden die Bestimmungen in den vereinigten Exkrementen ausgeführt.

	Gans A	Gans B
Hunger . . .	382—425	380—433
50 g Mais .	591—662	650—813
100 g Mais .	952—1015	815—890

Es ist daher die Wasserdampfabgabe bei der spärlichen Fütterung um mehr als die Hälfte, bei reichlicher Fütterung hingegen auf mehr als das Doppelte gegen den Hungerzustand angestiegen. Weiteres über die Bedeutung dieser Daten soll weiter unten ausgeführt werden.

b) Bei 16° ist naturgemäß die Wasserdampfabgabe weit geringer als bei 27°; darauf kommen wir weiter unten noch zurück.

3. Die Kohlensäureproduktion.

a) Bei 27°. Der Vergleich mit den betreffenden pro 1 qm Körperoberfläche berechneten Daten im Hungerzustande ergibt folgendes:

	Gans A	Gans B
Hunger . . .	208—230	207—234
50 g Mais .	325—325	380—398
100 g Mais .	467—478	466—482

Es findet also bei 50 g Mais gegenüber dem Hungerzustande eine Steigerung um zirka 48 resp. 78% statt; bei 100 g Mais beträgt die Steigerung an beiden Tieren über 100%.

b) Bei 16° ist die Steigerung an Gans A bloß in einem Versuche größer als bei 27°, sonst ungefähr gleich.

4. Die Berechnung des Sauerstoffverbrauches ist leider nur in zwei Versuchsreihen möglich gewesen; in allen übrigen hatte sich infolge einer schadhafte Lötstelle im Ventilationsrohr ein Fehler in der Kohlensäure- und Wasserbestimmung von etwa 5% eingeschlichen (wie nachträglich festgestellt wurde), die die Brauchbarkeit dieser Werte wohl wenig beeinflußt, jedoch die Berechnung des Sauerstoffverbrauches und, was besonders zu bedauern ist, die des respiratorischen Quotienten unmöglich macht.

Bei 27° hatte der Sauerstoffverbrauch von Gans A im Hungerzustande 189 bis 222 g pro 1 qm Körperoberfläche betragen, bei der Fütterung mit 100 g Mais 335 bis 346, also um

Tabelle XIV.
Wärmeproduktion (berechnet).

Versuchsreihe	Versuchs-Nr.	N pro 24 Stunden			Eiweiß-Bilanz			C pro 24 Stunden			Fett-Bilanz			Energiegehalt								Wärme- pro- duktion (a—b)		Anmer- kungen
		im Mais eingeführt	in Harn und Kot	Bilanz	im Mais eingeführt	in der abgegebenen CO ₂	im Harn und Kot	zusammen	Bilanz	im Mais eingeführt	in der abgegebenen CO ₂	im Harn und Kot	zusammen	des verbrannten Körpereiwweißes	des verbrannten Körperfettes	der Entleerungen	des deponierten Eiweißes	des deponierten Fettes	zusammen (b)	pro 24 Stunden	pro 24 Stunden u. 1 qm Körper- oberfläche			
VII	20 ¹⁾	0,89	0,95	- 0,06	- 0,37	20,53	21,69	4,24	25,98	- 5,40	- 6,76	201,6	2,1	68,5	267,2	38,4	-	-	38,4	228,8	936	täglich		
Gans A	21 ¹⁾	0,89	0,95	- 0,06	- 0,37	20,53	21,38	4,24	25,62	- 5,09	- 6,36	201,6	2,1	59,8	263,5	38,4	-	-	38,4	225,1	934	50 g Mais		
VIII	22 ¹⁾	0,89	0,89	+ 0	+ 0	20,53	24,65	4,22	28,87	- 8,34	- 10,84	201,6	-	101,9	303,5	38,2	-	-	38,2	265,3	1168	täglich		
Gans B	23 ¹⁾	0,89	0,89	+ 0	+ 0	20,53	23,40	4,22	27,62	- 7,09	- 9,22	201,6	-	86,7	288,3	38,2	-	-	38,2	250,1	1112	50 g Mais		
	24 ¹⁾	0,89	0,89	+ 0	+ 0	20,53	23,04	4,22	27,26	- 6,73	- 8,75	201,6	-	82,2	283,8	38,2	-	-	38,2	245,6	1071	täglich		
IX	25	1,78	1,51	+ 0,27	+ 1,71	41,06	30,84	7,01	37,85	+ 3,20	+ 3,00	403,3	-	-	403,3	68,3	9,6	28,2	106,1	297,2	1228	täglich		
Gans A	26	1,78	1,51	+ 0,27	+ 1,71	41,06	31,29	7,01	38,30	+ 2,75	+ 2,42	403,3	-	-	403,3	68,3	9,6	22,7	100,6	303,5	1266	100 g Mais		
X	27 ¹⁾	1,78	1,20	+ 0,58	+ 3,62	41,06	29,23	6,75	35,98	+ 5,08	+ 4,13	403,3	-	-	403,3	65,4	20,4	38,8	124,6	278,7	1255	täglich		
Gans B	28 ¹⁾	1,78	1,20	+ 0,58	+ 3,62	41,06	28,70	6,75	35,45	+ 5,61	+ 4,82	403,3	-	-	403,3	65,4	20,4	45,3	131,1	272,2	1207	100 g Mais		
	29 ¹⁾	1,78	1,20	+ 0,58	+ 3,62	41,06	29,26	6,75	36,01	+ 5,05	+ 4,09	403,3	-	-	403,3	65,4	20,4	38,4	124,2	279,1	1254	täglich		
XI	30	1,78	1,21	+ 0,57	+ 3,61	41,06	26,45	7,37	33,82	+ 7,24	+ 6,95	403,3	-	-	403,3	79,6	20,4	65,3	165,3	238,0	1236	täglich		
Gans A	31	1,78	1,21	+ 0,57	+ 3,61	41,06	25,59	7,37	30,96	+ 10,10	+ 10,67	403,3	-	-	403,3	79,6	20,4	100,3	200,3	203,0	1056	100 g Mais		
	32	1,78	1,21	+ 0,57	+ 3,61	41,06	24,74	7,37	32,11	+ 8,95	+ 9,18	403,3	-	-	403,3	79,6	20,4	86,3	186,3	217,0	1121	täglich		

¹⁾ CO₂-Bestimmung auf etwa 5% ungenau.

Tabelle XV.

Wärmeproduktion (direkt bestimmt).

Versuchsreihe	Versuchs-Nr.	Körpergewicht am Beginne des Versuchs g	Wärmeabgabe				(A) Gesamt- Wärmeabgabe kg/Cal	(B) Der Gewichts- und Temperaturveränderung entspricht eine Wärmeabgabe kg/Cal	Wärmeproduktion (A-B) kg/Cal	Wärme- produktion pro 24 Std. und		An- merkung
			an das Calorimeter kg/Cal	mit d. Ventilations- luft abgeführt kg/Cal	Verdampfungs- wärme des Wasser- dampfes in der Ventilationsluft kg/Cal	1 kg Körper- Gewicht kg/Cal				1 qm Körper- Ober- fläche kg/Cal		
Bei 28° Gans A	20 ¹⁾	3578	106,5	5,5	95,1	207,1	5,8	191,3	53,5	783	täglich 50 g Mais	
	21 ¹⁾	3504	101,3	8,8	83,7	193,8	3,7	190,1	54,2	788		
Bei 28° Gans B	22 ¹⁾	3205	101,2?	6,9	86,8	194,9?	4,1	190,8?	59,5?	840?	täglich 50 g Mais	
	23 ¹⁾	3155	138,7	6,9	107,0	252,6	+0	252,6	80,1	1124		
	24 ¹⁾	3097	130,7	6,7	97,6	235,0	5,7	229,3	74,0	1033		
Bei 28° Gans A	25	3524	135,2	9,2	135,9	280,3	3,2	277,1	78,7	1146	täglich 100 g Mais	
	26	3474	117,8	11,7	143,5	273,0	2,7	270,3	77,9	1125		
Bei 28° Gans B	27 ¹⁾	3097	129,9	7,4	112,1	249,4	5,0	244,4	78,9	1101	täglich 100 g Mais	
	28 ¹⁾	3171	110,6	7,0	108,0	225,6	8,5	217,1	68,5	962		
	29 ¹⁾	3109	123,4	6,3	116,3	246,0	8,5	237,5	76,4	1067		
Bei 16° Gans A	30	2499	168,7	11,8	58,0	238,5	7,9	230,6	92,3	1198	täglich 100 g Mais	
	31	2495	158,4	14,4	46,0	218,8	6,5	212,3	85,1	1104		
	32	2520	188,1	13,3	37,1	238,5	5,6	232,9	92,4	1203		

etwa 65% mehr. Bei 16° im Hungerzustande 227 bis 245 g, mit 100 g Mais gefüttert 265 bis 314, also bloß um 21% mehr.

Ist der calorische Wert des verbrauchten Sauerstoffes schon recht verschieden, wenn die respiratorischen Quotienten in normalen Grenzen, d. i. von 0,7 bis 1 schwanken, kann die Verwertung des Sauerstoffverbrauches zur quantitativen Schätzung der energetischen Vorgänge schon gar nicht herangezogen werden, wenn es sich um so abnorm große Quotienten handelt, wie sie in meinen Versuchen vorkamen und gleich besprochen werden sollen. Aus diesem Grunde ist es überflüssig, die Veränderung des Sauerstoffverbrauches gegen den Hungerzustand näher zu besprechen.

5. Der respiratorische Quotient konnte aus Gründen, die bei Besprechung des Sauerstoffverbrauches erwähnt waren, bloß in Versuchsreihen IX und XI berechnet werden. Er ist

¹⁾ Wasserdampfbestimmung auf etwa 5% ungenau; dies bedeutet in der calorimetrischen Bestimmung einen Fehler von höchstens 2%.

im ersteren etwas größer als 1, im letzteren sogar weit größer, entsprechend der Umwandlung von Kohlenhydrat in Fett, die besonders in Versuchsreihe XI in bedeutendem Umfange (bis zu 10 g Fett täglich) stattgefunden hat.

Solch hohe Quotienten finden sich auch an Bleibtreu's gemästeten Gänsen, und zwar Werte von 1,117 bis 1,380. In Lehmann u. Voits Versuchen sind die für den Sauerstoffverbrauch berechneten Werte nach eigener Angabe der Autoren, insbesondere infolge „. . . . der ungenügenden Schätzung des aufgenommenen und mit den Exkrementen abgegebenen Wassers“ mit großen Fehlern behaftet.

Ich berechnete die Quotienten in ihrer Versuchsreihe II zu 1,125, 0,757, 1,155, 1,224, 2,070 (!), 2,250 (!), 0,864.

6. Der Energieumsatz. War schon an Hungertieren in mehreren Versuchen ein erheblicher Unterschied zwischen der aus den Zersetzungen — unter Vernachlässigung des Glykogens — berechneten und der direkt gemessenen Wärmeproduktion zu konstatieren, so ist dies in noch weit erheblicherem Grade für die Fütterungsversuche der Fall, denn hier fällt die Vernachlässigung des Glykogens ganz bedeutend in die Wagschale, namentlich wenn das Futter überwiegend aus Kohlenhydraten besteht.

Wenn man z. B. für Versuchsreihen VII und VIII, in denen täglich noch 6 bis 11 g Fett verbrannt sein sollen, annimmt, daß dem C-Defizit entsprechend nicht Fett, sondern Glykogen verbrannte, so wären in Versuch 20 nicht 6,76 g Körperfett, sondern 11,7 g Glykogen aus dem Körperbestand verbrannt und daher nicht 63,5, sondern bloß 49,5 kg/Cal Wärme entstanden. Dann würde der Unterschied zwischen der direkt gemessenen und der berechneten Wärmeproduktion nicht 37,5, sondern bloß 23,5 betragen. Hierbei haben wir aber nur diejenige Menge von C in Betracht gezogen, die als Defizit aus den C-Einnahmen und -Ausgaben des Tieres zu berechnen war. Es ist aber möglich, daß noch ein weiterer Anteil des C nicht von verbranntem Fett, sondern von Glykogen her stammt; in diesem Falle wäre dann noch eine weitere Reduktion der aus den Zersetzungen berechneten Wärmeproduktion vorzunehmen.

Dies sind längst bekannte Tatsachen, und obige Ausführungen liefern eben nur wieder ein Beispiel dafür, daß ohne

genaue Feststellung des Sauerstoff- und auch des Wasserstoffumsatzes eine genaue Berechnung der Wärmeproduktion aus den Zersetzungen nicht möglich ist. Aus diesem Grunde sollen bei der Besprechung des Energieumsatzes in folgendem hauptsächlich die direkt ermittelten und zwar auf 1 qm Körperoberfläche berechneten Werte berücksichtigt werden.

a) Energieumsatz bei 27°. In nachstehender Tabelle XVI habe ich die Mittelwerte für die Veränderung des Energieumsatzes an beiden Tieren nach Einführung von 50 und 100 g Mais berechnet und sowohl die direkt bestimmten, als die berechneten Werte eingetragen.

Tabelle XVI.

Einfluß der Maisfütterung auf den Energieumsatz bei 27°.

Versuchstier	Art des Versuches	Energieumsatz pro 24 Stunden und 1 qm Körperoberfläche					
		direkt bestimmt			aus den Zersetzungen berechnet		
		kg/Cal	Veränderung		kg/Cal	Veränderung	
			kg/Cal	in % des Hungerwertes		kg/Cal	in % des Hungerwertes
Gans A	Hunger . .	715			726		
	50 g Mais .	785	+ 70	+ 10	935	+ 209	+ 29
	100 g Mais .	1135	+ 420	+ 59	1247	+ 521	+ 72
Gans B	Hunger . .	682			720		
	50 g Mais .	999	+ 317	+ 46	1117	+ 397	+ 55
	100 g Mais .	1043	+ 361	+ 53	1239	+ 517	+ 72

Aus Tabelle XVI ist ohne weiteres zu sehen, daß der Energieumsatz beider Tiere in guter Übereinstimmung um mehr als 50 % ansteigt, wenn ihnen $2\frac{1}{2}$ mal soviel chemische Energie im Mais zugeführt wird, als ihr Hungerumsatz beträgt. (Durch indirekte Calorimetrie ermittelt beträgt die Steigerung an beiden Tieren 72 %.)

Bei dem überwiegenden Gehalt an Kohlenhydraten im Mais ist es nicht zu bezweifeln, daß diese ganz bedeutende Steigerung als die beinahe reine spezifisch-dynamische Wirkung (resp. Verdauungsarbeit) der Kohlenhydrate (resp. des Kohlenhydratfutters) anzusehen ist, da ja die Außentemperatur in diesen Versuchen jedenfalls in nächster Nähe der kritischen Temperatur gelegen war.

Diese Wirkung zeigt sich auch bei der Fütterung mit 50 g Mais, durch die der Hungerbedarf bloß um $\frac{1}{8}$ überschritten wird. Nur verhalten sich hier Gans A und B wesentlich verschieden; bei der ersteren ist die Steigerung auffallend gering, bei der zweiten auffallend groß. (In meinen Versuchsprotokollen ist von einer besonderen Unruhe von Gans A nichts verzeichnet, und auch sonst weiß ich für das verschiedene Verhalten beider Tiere keinen Grund anzugeben.) Jedenfalls macht es die Divergenz der Ergebnisse unmöglich, eine nähere Berechnung auszuführen.

b) Der Energieumsatz bei 16 ° wurde bloß an Gans A, die mit 100 g Mais täglich gefüttert wurde, bestimmt. Im Mittel von 3 Versuchen betrug die Wärmeproduktion auf die Einheit der Körperoberfläche reduziert 1168 kg/Cal, also etwa so groß wie bei 27 °. Im Sinne der Rubnerschen Kompensationstheorie läßt sich dies ohne weiteres so erklären, daß bei einer Temperatur, die sich unterhalb der kritischen befindet, die zur chemischen Regulation der Körpertemperatur nötige Wärme eine reichliche Deckung in der großen Menge von Wärme findet, die infolge der spezifisch-dynamischen Wirkung der eingeführten Nahrung freigeworden ist. Da auf diese Weise nahezu die ganze Umsetzung, die sonst zur chemischen Regulation notwendig gewesen wäre, erspart wurde, war der Energieumsatz an dem mit 100 g Mais gefütterten Tier bei 27 und 16 ° nahezu gleich groß.

c) Vergleichen wir die Verteilung der Wärmeabgabe auf Strahlung und Leitung einerseits und Wasserverdampfung andererseits, zwischen hungernden und mit 100 g täglich gefütterten Tieren, so ergeben sich folgende, in nachstehender Tabelle XVII zusammengefaßte, sehr interessante Daten.

Tabelle XVII.

	Durch Strahlung und Leitung pro 24 St. kg/Cal		Durch Wasserverdampfung pro 24 St. kg Cal	
	Gans A	Gans B	Gans A	Gans B
Im Hungerzu- stand	107,8	98,4	53,7	48,2
Mit 100 g Mais gefüttert . .	136,9	128,2	139,7	112,1

Es ist klar ersichtlich, daß das Wärme-Plus, das die bei 27° gehaltenen Tiere entsprechend der spezifischen dynamischen Wirkung der täglich eingeführten Nahrung abgeben mußten, zum größeren Teile durch eine relativ und auch absolut größere Steigerung der Wasserverdampfung abgegeben wurde. Während nämlich die gefütterten Tiere A und B durch Strahlung usw. bloß um 27 resp. 30 % mehr Wärme abgegeben hatten, als dieselben Tiere im Hungerzustande, betrug die Steigerung der Wasserverdampfung 160 resp. 133 %.

Es weist dies jedenfalls darauf hin, daß sich in diesen Versuchen die Tiere sehr nahe zur kritischen Temperaturgrenze befunden haben, indem die physikalische Regulierung ihrer Körpertemperatur bereits sehr stark in den Vordergrund getreten ist.

Vergleichen wir endlich die Verteilung der Wärmeabgabe des mit 100 g Mais gefütterten Tieres A bei 27 und bei 16°, so ergibt sich auch hier der am Hungertier beschriebene Zusammenhang. Wie nämlich aus nachstehender Tabelle XVIII ersichtlich, findet am gefütterten, ebenso wie am Hungertier

Tabelle XVIII.

Versuchsreihe	Versuchs-Nr.	Bei 27° entfallen von der gesamten Wärmeabgabe		Versuchsreihe	Versuchs-Nr.	Bei 16° entfallen von der gesamten Wärmeabgabe	
		auf Strahlung und Leitung %	auf Wasserverdampfung %			auf Strahlung und Leitung %	auf Wasserverdampfung %
IX	25	52	48	XI	30	76	24
	26	47	53		31	80	20
					32	84	16

eine bedeutende Verschiebung in dem Sinne statt, daß bei niedrigerer Außentemperatur die durch Strahlung und Leitung abgegebene Wassermenge zu-, die durch Wasserverdampfung abgegebene aber abnimmt.

Die Ergebnisse der besprochenen Versuche lassen sich kurz in folgendem zusammenfassen:

1. Es wurde der Stoffwechsel und Energieumsatz hungernder und gefütterter Gänse bei 27 bis 28° und bei 16° untersucht.

2. Der respiratorische Quotient im Hungerzustand ist ähnlich dem, der an hungernden Säugetieren beobachtet wird.

3. Der Hungerumsatz beträgt bei 27 bis 18° 682 bis 1038 kg/Cal pro 1 qm Körperoberfläche, bei 16° um 10 bis 13% mehr.

4. Die Größe des Hungerumsatzes hängt vom Eiweißverbrauche ab.

5. Am reichlich gefütterten Tier ist der respiratorische Quotient größer als 1.

6. 100 g Mais steigern bei 27° den Energieumsatz um mehr als 50%; bei 16° findet keine weitere Steigerung statt.

Weitere Untersuchungen zur Chemie der Eiweißkörper.

Von

E. Herzfeld und R. Klinger.

(Aus dem chem. Laboratorium der mediz. Klinik und aus dem Hygiene-Institut der Universität Zürich.)

(Eingegangen am 24. November 1916.)

Mit 2 Figuren im Text.

In früheren Arbeiten haben wir auf die Bedeutung hingewiesen, die den Eiweißabbauprodukten für die Löslichkeit, d. h. kolloidale Verteilung der Eiweißkörper zukommt. Es konnte gezeigt werden, daß kolloidale Eiweißlösungen nur dann zustande kommen, wenn genügend Abbauprodukte vorhanden sind und daß deren Wegnahme oder gewisse chemische Umwandlungen derselben zur Folge haben, daß das Eiweiß aus seinen Lösungen ausfällt.

Wir möchten in dem folgenden eine Erscheinung näher beschreiben, die geeignet sein dürfte, diese Vorstellungen zu stützen und in mancher Hinsicht zu erweitern.

Wenn man eine Eiweißlösung, z. B. Blutserum, auf einer Glasplatte, an der Luft oder im Exsiccator bei gewöhnlicher Temperatur eintrocknet, so erhält man eine glasig-spröde Schicht, die auch nach vollständiger Trocknung leicht wieder durch Wasserzusatz in Lösung gebracht werden kann. Wird im entsprechenden Volumen reinen Wassers gelöst, so unterscheidet sich die neue Lösung in nichts Wesentlichem von der ursprünglichen. Wird aber das trockene, harte Eiweiß in einer Porzellanschale zu einem feinen Pulver verrieben, so gelingt es hinterher nur noch sehr unvollkommen, dieses Eiweißpulver in Wasser wieder aufzulösen. Ein Teil des Eiweißes wird zwar auch jetzt wieder kolloidal gelöst, ein meist nicht unbedeutender Anteil bleibt dagegen in Form von kleinen Flocken und

Partikelchen schweben und kann trotz wiederholtem Schütteln, Stehenlassen, Vermehrung des Lösungsmittels (physiol. NaCl-Lösung) nicht besser gelöst werden. Beim Stehen setzen sich die groben Teilchen allmählich zu Boden, darüber bleibt die Flüssigkeit mehr oder weniger trüb.

Diese Erscheinung dürfte vermutlich manchem, der sich mit Verarbeitung und Konservierung von Eiweißlösungen beschäftigt hat, aufgefallen sein. Unseres Wissens wurde sie aber noch nicht näher beschrieben und zu erklären versucht. Wir möchten folgende Erklärung für wahrscheinlich halten:

Wir nehmen an, daß die einzelnen Eiweißteilchen kugelige Gebilde vorstellen, die an ihrer Oberfläche mit einer Schicht von adsorbierten Eiweißabbauprodukten umgeben sind, welche die Wasserlöslichkeit vermitteln. Beim Eintrocknen kleben sie zu einer festen, durchscheinenden Masse zusammen, die aber nicht ganz homogen ist, sondern neben den kompakten Eiweißteilchen noch aus den in dünnen Schichten zwischen denselben eingetrockneten Abbauprodukten besteht.

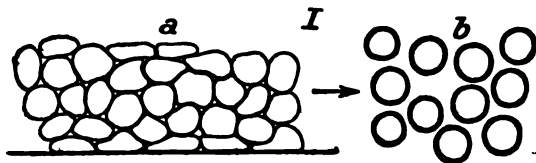


Fig. 1.

Obige Zeichnung gibt schematisch die einzelnen Eiweißteilchen: bei Fig. 1a nach der Eintrocknung auf der Glasfläche, bei Fig. 1b mit Wasser in kolloidale Lösung übergeführt.

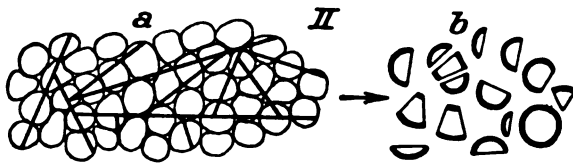


Fig. 2.

Fig. 2a zeigt die beim Verreiben eines derartigen Trocken-eiweißes auftretenden Rißflächen (im Verhältnis zur Molekülgröße natürlich zu eng gezeichnet). Fig. 2b stellt die daraus beim Lösen in Wasser freiwerdenden Teilchen vor, mit den

neuen Oberflächen, denen die angetrocknete Schicht von Abbauprodukten fehlt.

Wird eine eingetrocknete Eiweißschicht mit Wasser versetzt, so dringt dieses längs den Spalten, in denen sich die wasserlöslichen Abbauprodukte befinden, ein, diese gehen in Lösung, die zusammengeklebten Eiweißteilchen fallen wieder auseinander, ein jedes ist neuerlich von seiner Zone von Abbauprodukten umgeben, ihre kolloidale Verteilung kann sich daher wieder rasch herstellen. Wird dagegen die ganze Masse vor der Wiederauflösung fein zerrieben, so wird sie durch tausende von Rissen und Brüchen zersprengt, es entstehen ganz unregelmäßige Bruchstücke und eine große Anzahl neuer Oberflächen, auf denen keine Abbauprodukte absorbiert sind. Wird nun Wasser mit diesem Pulver verrührt, so dringt es zwar auch diesmal in die Spalten ein und löst so die mehr oder weniger intakten kolloidalen Teilchen auseinander. Es resultieren aber hier nicht, wie oben, rings von Abbauprodukten besetzte Teilchen, sondern vielfach nur Trümmer von solchen, die nur auf einem Teil ihrer Oberfläche Abbauprodukte tragen, während alle neuen Bruchflächen frei davon sind. Diese nackten Oberflächen sind aber für die kolloidale Verteilung des Eiweißes wertlos, ja sie verhindern dieselbe geradezu. Denn die nicht mehr durch eine Sphäre von wasserlöslichen Stoffen getrennten Teilchen legen sich aneinander, verkleben zu größeren zum Teil schon mit dem Auge sichtbaren Komplexen, und nur noch ein kleiner Teil intakt gebliebener, oder relativ wenig geschädigter Eiweißteilchen kann in genügend fein disperse „Lösung“ übergeführt werden.

Während bei wirklich wasserlöslichen Stoffen (wie Salzen) die Lösung um so rascher eintritt, je größer die Berührungsfläche mit dem Lösungsmittel ist, liegen die Verhältnisse bei den Eiweißkörpern ganz anders. Der Grund hierfür ist darin gegeben, daß das Wasser nicht direkt, sondern nur mit Hilfe von Abbauprodukten die Lösung von Eiweiß hervorrufen kann, weshalb die zwar sehr reichlichen, aber gewissermaßen kahlen, neuen Oberflächen für die Lösung nicht in Betracht kommen.

Dieses Phänomen liefert somit einen neuen Beweis für die Bedeutung, die den Abbauprodukten beim Zustandekommen kolloidaler Eiweißlösungen zukommt. Es findet durch die von uns vertretene Ansicht über den Bau der Eiweißkörper eine

zwanglose Erklärung, während die bisherigen eiweißchemischen Vorstellungen hierzu kaum imstande sein dürften. Wir glauben ferner, daß es berechtigt ist, auf Grund desselben noch folgenden Schluß über den Bau der einzelnen Eiweißteilchen zu ziehen: Wir haben uns öfters die Frage vorgelegt, ob diese Teilchen als homogene, dichtgefügte Kugeln vorzustellen sind, an denen bloß die Oberflächen von Abbauprodukten besetzt sind, oder ob eher eine schwammige Struktur derselben anzunehmen ist, wobei Eiweiß und Abbauprodukte sich gegenseitig durchtränken. Die mitgeteilte Beobachtung läßt uns die erstere Annahme wahrscheinlicher erscheinen, denn unter der Voraussetzung einer schwammigen Verteilung der Abbauprodukte im Inneren der einzelnen Teilchen wäre das Unlöslichwerden nach dem Verreiben nicht erklärbar.

Unsere Beobachtung ist auch für die Praxis der Eiweißchemie nicht unwichtig. Sie lehrt, daß es falsch wäre, eingetrocknetes Eiweiß, das wieder in Lösung gebracht werden soll, zum Zwecke bequemerer Konservierung, Wägung usw. zu pulverisieren. Dies ist namentlich für die zu biologischen Reaktionen bestimmten Eiweißlösungen, wie Immunsera, komplementierende Sera usw. von Wichtigkeit. Es läßt sich leicht nachweisen, daß mit der unvollständigen Lösung, die nach dem Pulverisieren eintritt, eine entsprechende starke Einbuße der serologischen Funktionen verbunden ist. So sinkt die Komplementwirkung von Meerschweinchenserum (an sensibilisierten Blutkörperchen geprüft) durch schonendes Trocknen und Wiederauflösen nicht merklich, nach Pulverisieren dagegen auf $\frac{1}{4}$ bis $\frac{1}{5}$ des früheren Wertes herab. Ähnliches gilt natürlich für alle anderen, an die kolloidale Verteilung der Teilchen geknüpften biologischen Reaktionen.

Nur solche Eiweißmischungen, die sehr reich an Abbauprodukten sind, wie z. B. aus Bakterienkulturen, können pulverisiert werden, ohne daß ihre Wasserlöslichkeit darunter leidet. Hier überwiegen die wasserlöslichen Bestandteile so sehr, daß auch nach dem Verreiben noch genügend die kolloidale Lösung vermittelnde Stoffe zugegen sind.

Wir haben versucht, ob durch Zusatz von NaCl zu Seren der schädliche Einfluß des Pulverisierens vermieden werden kann. Dies war aber nicht der Fall; nach Zusatz von 10 %

NaCl-Lösung eingetrocknetes und dann verriebenes Serum war ebenso in seiner Löslichkeit herabgesetzt als direkt getrocknetes.

Wir möchten das im vorhergehenden beschriebene Phänomen als „mechanische Denaturierung“ der Eiweißkörper bezeichnen und glauben, daß es uns gelungen ist, dasselbe nicht nur in befriedigender Weise zu erklären, sondern mit demselben eine weitere Stütze für die von uns vertretenen Ansichten über die Chemie der Eiweißkörper zu erbringen.

Die physiologische Bedeutung des Kaliums in der Pflanze.

Entgegnung.

Von

Th. Weevers (Amersfoort, Holland).

(Eingegangen am 24. November 1916.)

In einer neulich in dieser Zeitschrift erschienenen Arbeit Stoklasas¹⁾ behauptet dieser Autor, daß ohne Kalium zwar bei den Bakterien keine Eiweißbildung stattfinden kann, jedoch bei der Zuckerrübe in CO₂-freier Luft bei Gegenwart von Kohlenstoffquellen sowohl bei An- als Abwesenheit von Kalium die Eiweißbildung erfolgt, wenn nur Sonnenenergie einwirkt. Stoklasa verhält sich also ablehnend gegen die Betrachtungen, die ich in meiner Arbeit²⁾ veröffentlicht hatte.

In dieser Arbeit hatte ich nachgewiesen, daß das Kalium hauptsächlich in den Vakuolen vorhanden ist und in den Chromatophoren fehlt, also nicht direkt am Assimilationsprozeß beteiligt sein kann³⁾. Dagegen hatte ich die Ansicht Josts⁴⁾ hervorgehoben, daß das Kalium besonders beim Aufbau der Eiweißkörper sich beteiligt und einige Tatsachen dafür angeführt. Später hat auch Benecke in seiner Arbeit „Stoffwechsel der Pflanzen“⁵⁾ sich dieser Meinung angeschlossen.

¹⁾ J. Stoklasa, Ist das Kaliumion an der Eiweißsynthese in der Pflanzenwelt beteiligt? Diese Zeitschr. 73, 107, 1916.

²⁾ Th. Weevers, Untersuchungen über die Lokalisation und Funktion des Kaliums in der Pflanze. Recueil des Travaux botaniques Neerlandais, 8, 1911.

³⁾ Ich untersuchte die Chromatophoren, z. B. bei *Mnium hornum*, *Marchantia polymorpha*, *Spirogyra*, *Nitella* und *Bryopsis plumosa*. Eigentümlich ist das Verhalten der beiden letzten Objekte; beide geben eine intensive Kaliumreaktion mit Macallums Reagens, die Zellen werden ganz schwarz. Preßt man dann die Zellen zwischen zwei Gläsern, so tritt der Zellinhalt hervor, der nebst dem schwarzen Niederschlag ganz grüne Chromatophoren zeigt.

⁴⁾ Jost, Vorlesungen über Pflanzenphysiologie, I. Auflage.

⁵⁾ Benecke, Handwörterbuch der Naturwissenschaften, 1913.

Dem Anschein nach widersprechen die Ergebnisse, die Stoklasa in obengenannter Arbeit erhielt, meiner Ansicht; ich glaube jedoch, daß Stoklasa sein Experiment mit der Zuckerrübe völlig unrichtig gedeutet hat und möchte hier einige Gründe für meine Meinung anführen.

Zunächst will ich die Frage untersuchen, ob bei Stoklasas Versuchen die Entwicklung der Zuckerrüben, wie er behauptet, in einem Nährmedium ohne Kalium stattfand. Die Versuchsanstellung beschreibt Stoklasa folgendermaßen. „Die Keimpflanzen entwickelten sich in einem Sand, der mit konzentrierter kochender Salzsäure so lange ausgewaschen wurde, bis keine Spuren von Kaliumoxyd mehr nachweisbar waren. Dann wurde der Sand zuerst mit heißem und kaltem Wasser ausgewaschen, bis die Chlorreaktion vollständig verschwand. Hierauf wurde der Sand mit durchgeseibtem, getrocknetem Torf gemischt. Der Torf wurde ebenfalls mit kochender Salzsäure und warmem Wasser gut ausgewaschen, bis keine Spuren von Kalium konstatierbar waren. Das Gemisch, bestehend aus 90 % Sand und 10 % Torf wurde in 34 Vegetationsgefäße gefüllt; in jedem Vegetationsgefäß befanden sich 18 kg Sand.“

„Die Nährlösung enthielt 1,0 g Natriumnitrat, 0,5 g Monocalciumphosphat, 0,2 g Calciumsulfat, 0,1 g Magnesiumchlorid, 0,01 g Ferrichlorid, 0,2 g Natriumchlorid pro 1 l.“

Zu jedem Vegetationsgefäß wurden von der Nährlösung 4 l bis zum 15. Juni zugesetzt, später in jeder Woche 0,5 l.

Die ersten Daten über das Gewicht der Objekte, über Eiweiß- und Zuckergehalt gibt Verfasser vom 3. Juli, die letzten vom 30. September. Die Quantität des zu jedem Vegetationsgefäß zugesetzten Wassers war also $4\text{ l} + 15 \times 0,5\text{ l} = 11,5\text{ l}$.

Wenn wir bedenken, wie schwierig es ist, große Quantitäten eines kolloidalen Mediums wie Torf völlig kaliumfrei zu machen, daß in destilliertem, in gewöhnlichen Glasgefäßen aufbewahrtm Wasser stets Kalium nachzuweisen ist und zuletzt noch in Betracht ziehen, daß die Zuckerrübensamen ziemlich viel Kalium enthalten¹⁾, so ist es deutlich, daß nicht von einem Nährmedium ohne Kalium, lediglich von einem Medium mit

¹⁾ Das Gewicht der Samen ist meistens 10 bis 50 mg, der Kaliumgehalt $\pm 1,2\%$.

sehr wenig Kalium, nicht von Pflanzen ohne Kalium, sondern von kaliumarmen Pflanzen hier die Rede sein kann.

Die Pflanzen enthalten gewiß Kalium in ihrer Asche, eine Tatsache, deren Prüfung Stoklasa leider vernachlässigt hat. Durch diese Betrachtung verschwindet also der Gegensatz, der zwischen Stoklasas neuesten Versuchen und der altbekannten Erfahrung, daß eine Pflanzenkultur¹⁾ ohne Kalium unmöglich ist, zu bestehen schien.

Der Kalimangel in den Versuchspflanzen bedingte auch ihre schwache Entwicklung, wie z. B. aus den Trockengewichten hervorgeht. Blätter, Stiele und Wurzel zusammen waren am 3. Juli 16,39 g, 25. Juli 20,29 g, 30. Sept. 20,9 g, dagegen bei den Kontrollpflanzen im Nährmedium mit normaler Kaliumqualität: 3. Juli 83,92 g, 25. Juli 104,8 g, 30. Sept. 144 g. Mit derartigen durch Kalimangel verkümmerten Pflanzen Versuche in bezug auf Eiweiß- und Zuckerproduktion anzustellen, ist meines Erachtens gefährlich, denn eine Folge des allgemeinen, krankhaften Zustandes kann leicht als eine spezielle Folge des Kalimangels betrachtet werden.

Wo Stoklasa also sagt: „Die Daten zeigen ganz deutlich, daß der Rübenorganismus bei Abwesenheit von Kaliumion im Nährmedium fast dieselben Quantitäten von Gesamtstickstoff sowie Stickstoff in Eiweißform aufwies als bei Gegenwart von Kaliumion im Nährmedium. — Ganz andere Verhältnisse aber finden wir bei der Zuckerproduktion, die bei Nichtvorhandensein von Kaliumion stark gesunken ist.“ So ist diese Folgerung gewiß gefährlich, aber sie ist überdies falsch, denn seine Versuchsdaten geben Stoklasa kein Recht zu solcher Folgerung. Sehen wir uns die Sache etwas genauer an. Stoklasa zieht diese Folgerung aus den Werten des Eiweißstickstoffs und Zuckergehalts, in Prozenten des Trockengewichts ausgedrückt, und hat dann dem Anschein nach recht. Für Eiweißstickstoff sind die Werte in den Pflanzen ohne Kalium fast denjenigen der Kontrollpflanzen gleich, für Zucker sind sie um die Hälfte niedriger. Jedoch muß man hier nicht mit Prozentwerten, sondern mit den absoluten Werten Rechnung halten, und dann wird das Ergebnis ein ganz anderes.

¹⁾ Mit Ausnahme der Cyanophyceae. Vergl. Czapok, Biochemie der Pflanzen, II. T., S. 843.

Berechnet (aus Stoklasas Protokollen) sind die Werte für Wurzel, Blätter und Stiele zusammen.

1°. Bei Abwesenheit von Kalium im Nährmedium:

	N in Eiweißform	Zucker
3. Juli	0,298 g	2,904 g
25. „	0,280 „	4,465 „
30. Sept.	0,307 „	4,833 „

2°. Kontrollpflanzen bei Gegenwart von Kalium:

	N in Eiweißform	Zucker
3. Juli	1,787 g	16,698 g
25. „	1,885 „	37,455 „
30. Sept.	2,001 „	74,489 „

Bei Vergleichung dieser Werte kann die Schlußfolgerung keine andere sein, als daß die Eiweißzunahme bei Kalimangel Null ist, weil Dissimilation und Assimilation einander die Wage halten, die Zuckerbildung dagegen, obschon natürlich in Vergleichung zu den Kontrollpflanzen abgeschwächt, liefert doch ein Plus von fast 2 g, ist also durch Kalimangel viel weniger gehemmt als die Eiweißbildung; völlig das Gegenteil also von der Behauptung Stoklasas.

Die Versuche, die dieser Autor mit künstlich ernährten Zuckerrübenkeimlingen anstellte, sind für die Frage nach der Bedeutung des Kaliums im Stoffwechsel wertlos, denn beim Ende der Versuche hatten die angeblich ohne Kalium entwickelten Pflanzen ein Trockengewicht von 43 bis 47 mg. Diese Werte sind so klein, daß schon der Kaligehalt der Keimlinge fast für derartige Zwergpflanzen ausreichen kann und wiederum höchstens von Kalimangel, nicht von Abwesenheit des Kaliums die Rede sein konnte.

Ich meine also, daß ich meine Behauptung, daß das Kalium nicht in den Chromatophoren vorhanden ist und nicht an der Assimilation beteiligt sein kann, auch nach Stoklasas Veröffentlichung ruhig aufrecht erhalten kann. Mit der Hypothese, daß das Kalium sich am Auf- und Abbau der Eiweißstoffe beteiligt, lassen Stoklasas Versuche sich ganz gut vereinbaren. Die Gründe für diese Hypothese kann ich hier nicht anführen und muß also auf meine obengenannte Arbeit im Recueil des Travaux botaniques Neerlandais verweisen.

Untersuchungen über die Verdaulichkeit der Nährhefe.

Von

A. Deutschland.

(Aus der Ernährungsphysiologischen Abteilung des Instituts für Gärungsgewerbe der Kgl. Landwirtschaftlichen Hochschule zu Berlin.)

(Eingegangen am 28. November 1916.)

Die Frage nach der Verwertung der getrockneten Bierhefe durch die landwirtschaftlichen Nutztiere ist in den letzten Jahren durch eine Reihe von praktischen Fütterungs- und exakten Stoffwechselversuchen beantwortet worden, die im wesentlichen von W. Völtz und seinen Mitarbeitern ausgeführt und im 42. bis 45. Band der Landwirtschaftlichen Jahrbücher veröffentlicht worden sind. Im Verfolg dieser Arbeiten, die ohne Ausnahme in der Trockenhefe eins der konzentriertesten und höchstverdaulichen Futtermittel erkennen ließen, wurde auch die Verwendbarkeit der Hefe als menschliches Nahrungsmittel geprüft. Voraussetzung für einen solchen Gebrauch ist die Entfernung der intensiv bitteren Hopfenbestandteile aus der breiigen Bierhefe, die durch Behandlung mit schwach alkalischen Lösungen vor der Trocknung ohne Schwierigkeit erreicht wird. Mit derartigem Material haben W. Völtz und A. Baudrexel¹⁾ einen exakten Ausnutzungsversuch am Menschen durchgeführt, in dem folgende Verdauungswerte für die Nährhefe ermittelt wurden:

Organ. Substanz	Rohprotein	Rohfett	N-freie Extraktstoffe	Calorien
90	86	70	100	88

¹⁾ W. Völtz und A. Baudrexel, Die Verwertung der Hefe im menschlichen Organismus. Diese Zeitschr. 30, 457 bis 472, 1911, und 31, 355 bis 357.

Der physiologische Nutzeffekt des Präparates betrug 75⁰/₀ seines Energiegehaltes.

Nach diesen und anderen in praktischen Ernährungsversuchen gewonnenen günstigen Erfahrungen ist die in der Versuchsanlage des Instituts für Gärungsgewerbe hergestellte „Nährhefe“ dauernd an weite Kreise abgegeben worden. Die Produktionsbeschränkungen im Braugewerbe und die gesteigerte Nachfrage nach dem Nährmittel machten es schon im ersten Kriegsjahre notwendig, nicht nur aus der überschüssigen Bierhefe Nährhefe zu gewinnen, sondern die Züchtung der Hefe nach dem Verfahren des Instituts für Gärungsgewerbe in selbständigen Großbetrieben vorzunehmen. Da man hierbei der Hefe außer Zucker (in Form von Melasse) nur anorganische Salze zuführt, wird das Produkt auch als „Mineralhefe“ bezeichnet. Sie stellt die Lösung des gerade jetzt sehr bedeutungsvollen Problems dar, aus Ammonsalzen, die nach dem Haberschen Verfahren unter Nutzbarmachung des Luftstickstoffs gewonnen werden können, in wenigen Stunden hochmolekulares Eiweiß zu synthetisieren.

Die Resorption der Mineralhefe, die natürlich frei von Bitterstoffen ist, wurde zuerst von Völtz¹⁾ in einer Versuchsreihe am Hunde festgestellt, der neben 500 g Fleisch täglich 150 g von dem Trockenpräparat erhielt. Die Nährstoffe der Hefezulage wurden zu folgenden Prozentsätzen verdaut:

Organ. Substanz	Rohprotein	Rohfett	Kohlenhydrate	Calorien
71,1	85	34,1	54,5	71,8

Der physiologische Nutzwert der Hefe wurde zu 60,4⁰/₀ ihres Energiegehaltes ermittelt.

Diese Zahlen stehen in befriedigendem Einklang mit dem Befund aus einem früheren Stoffwechselversuch am Hunde, der ebenfalls von Völtz²⁾ ausgeführt worden ist und für die Gesamtnährstoffe (Calorien) und das Protein die Verdauungswerte

¹⁾ W. Völtz, Über die Ausnutzung der in Lösungen von Zucker und anorganischen Salzen gezüchteten Hefe durch den tierischen Organismus. Vortrag in der Berliner physiologischen Gesellschaft vom 9. Juli 1915. Berl. klin. Wochenschr. 1915, Nr. 33.

²⁾ W. Völtz, Über den Einfluß verschiedener Eiweißkörper und einiger Derivate derselben auf den Stickstoffumsatz usw. Arch. f. d. ges. Physiol. 107, 388, 1905.

70 bzw. 87 ergab. Die damals benutzte Hefe war eine von Buchner zur Verfügung gestellte Aceton-Dauerhefe, deren Provenienz und Rasse im übrigen unbekannt sind.

Einen mit gleichartigem Régime — Fleisch + Nährhefe — durchgeführten Ausnutzungsversuch am Hunde hat M. Rubner unlängst publiziert¹⁾. Sein Versuchstier erhielt täglich 150 g lufttrockene Nährhefe als Zulage zu 1000 g Fleisch. Nach Rubners Ergebnissen wurden die Calorien der Hefe zu 89,6⁰/₀, der Stickstoff zu 98,4⁰/₀ resorbiert, also nicht unwesentlich höher, als aus den Versuchen von Völtz hervorgegangen war. Welcher von beiden Gattungen die von Rubner verfütterte Nährhefe angehörte, ist aus seinen Mitteilungen nicht eindeutig ersichtlich. Der Aschengehalt von 8,6⁰/₀ läßt auf entbitterte Bierhefe schließen, da die Mineralhefe wegen der Eigenart der Züchtungsform meist über 10⁰/₀ anorganischer Bestandteile enthält. Andererseits deuten die einleitenden Bemerkungen Rubners, die sich mit dem neuen Herstellungsverfahren beschäftigen, auf die Verwendung der hiernach gewonnenen Mineralhefe hin.

Für die Nachprüfung und Ergänzung der zitierten Arbeiten durch die nachstehend mitgeteilten Versuche waren verschiedene Erwägungen maßgebend.

Die ältere Art der Nährhefe wurde aus untergäriger Bierhefe erhalten, während für die Züchtung der Mineralhefe ausschließlich obergärige Rassen verwendet wurden. Es bestand die Möglichkeit, daß diese Rassenunterschiede, die morphologisch und biologisch mannigfach in Erscheinung treten, sich auch in den Resorptionsverhältnissen geltend machten. Die Klärung dieser Frage war nur durch Stoffwechselversuche mit beiden Arten der Nährhefe an der gleichen Tiergattung zu erzielen, die bis dahin noch nicht vorlagen.

Mit Rücksicht auf den von Völtz bereits ausgeführten Versuch mit Mineralhefe am Hunde hätte die Wiederholung mit entbitterter Bierhefe unter sonst gleichen Bedingungen genügt. Da man aber inzwischen in der Mineralhefefabrikation zur Verwendung besonders schnellwüchsiger Rassen übergegangen

¹⁾ M. Rubner, Die Resorbierbarkeit der Nährhefe. Münch. med. Wochenschr. 1916, 63. Jahrg., Nr. 18, 629 bis 631.

war, die ebenfalls Eigentümlichkeiten hinsichtlich ihrer Verdaulichkeit äußern mochten, so schien es angezeigt, den Mineralhefeversuch mit neuem Material zu wiederholen. Schließlich ließ auch die Unstimmigkeit in den Ergebnissen von Völtz und Rubner die einheitliche Durchführung einer Versuchsreihe mit beiden Hefepräparaten am Hunde wünschenswert erscheinen.

Die Versuchsanstellung schloß sich insofern an die von den beiden genannten Autoren gewählte Methode an, als die zu prüfenden Hefepräparate als Zulage zu einem nur aus Fleisch bestehenden Grundfutter verabreicht wurden. Zugunsten größerer Ausschläge in den Resorptionszahlen wurde das Verhältnis Fleisch:Hefe in den Rationen enger gewählt als bei Rubners Versuch.

Von dem Fleisch waren früher Portionen von je 500 g im Dampftopf sterilisiert und in luftdicht verschlossenen Gläsern aufbewahrt worden. Seine Zusammensetzung und Verdaulichkeit waren von Völtz gelegentlich seines Mineralhefeversuches in einer Periode am Hunde ermittelt worden. Da von Völtz die betreffenden Zahlen bisher nur auszugsweise veröffentlicht worden sind, hat er mir dieselben zur Verfügung gestellt. Es handelt sich um die unter „Grundfutter-Periode“ wiedergegebenen Daten.

Das Versuchstier, eine etwa 11 kg schwere Hündin, wurde in dem von Abderhalden beschriebenen Stoffwechsellkäfig gehalten. Die Harnabgrenzung erfolgte an jedem Morgen durch Katheterisieren. Da die spontane Entleerung der Blase nur selten erfolgte, so gelang auf diese Weise meist die Gewinnung des Tagesharnes in einer Portion. Die scharfe Abgrenzung des Kotes, der in allen Fällen von normaler Konsistenz und gut geformt war, wurde leicht mit Hilfe von gepulverter Holzkohle und Kieselgur oder durch mehrtägige Verfütterung von Knochen erzielt. In dem unter Zusatz von etwas Salzsäure getrockneten Kot wurde außer dem direkt extrahierbaren Fett auch das Seifenfett nach Aufspaltung mit alkoholischer Salzsäure bestimmt. Die Fettbestimmung in den Hefepräparaten wurde nach der von Völtz¹⁾ angegebenen Methode unter Zertrümmerung der Zellen vorgenommen. Die calorimetrische Bestimmung des

¹⁾ W. Völtz, Eine neue Methode der Fettbestimmung. Arch. f. d. ges. Physiol. 97, 606 bis 633, 1903. — Auch die Fettbestimmung im Fleisch war nach dieser Methode erfolgt.

Harnes erfolgte mit Hilfe von Celluloseblöckchen von bekanntem Brennwert, auf denen je 10 ccm des angesäuerten Harns im Vakuum zum Eintrocknen gebracht wurden.

Die prozentische Zusammensetzung des Fleisches und der beiden Hefepräparate enthält die folgende Tabelle.

Tabelle I.

	Trocken- substanz %	Asche %	Organ. Subst. %	Roh- Protein %	Roh- fett %	Kohlen- hydrate %	Calorien in 100 g
Fleisch . . .	24,23	1,13	23,10	20,13	2,25	0,72	133,9
Mineralhefe .	94,40	11,08	83,32	52,58	5,77	24,97	454,3
Entbitterte Bierhefe . .	88,63	9,02	79,61	51,91	2,88	24,82	421,6

Das zur Kotabgrenzung benutzte Kohlenpulver lieferte 6,564 Cal. pro 1 g.

Es folgen zunächst die Daten über die von Völtz¹⁾ an einem männlichen, 16,9 kg schweren Hunde durchgeführte Periode mit ausschließlicher Fleischfütterung.

Grundfutter-Periode Nr. I vom 23. bis 27. IV. 1915.

Versuchstier: Männlicher Hund. Gewicht: 16,9 kg.

Das Tier verzehrte täglich:

500 g Fleisch mit 121,15 g Trocken- 16,10 g N und 669,5 Cal.
substanz,

N-Bilanz.

	Stickstoffausscheidung						N-Ansatz	
	im Harn		im Kot		Summa		g	% der Zufuhr
	g	% der Zufuhr	g	% der Zufuhr	g	% der Zufuhr		
Im Mittel pro Tag	18,67	116,0	0,60	3,7	19,27	119,7	- 3,17	- 19,7

Das Rohprotein wurde also zu 96,3% resorbiert.

Pro Kilogramm Lebendgewicht und Tag erhielt das Tier 0,95 g N und 39,6 Cal.

Zur Schlußabgrenzung des Kotes wurden 3 g Kohlenpulver verwendet. Vorangegangen war eine Periode mit kieselgurhaltigem Endkot.

¹⁾ S. auch Anm. 1 auf S. 359.

Der Kot der vorliegenden Grundfutter-Periode Nr. I wog lufttrocken 36,90 g und enthielt in Prozenten:

Trocken- substanz	Asche	Organische Substanz	Roh- protein	Rohfett	Kohlen- hydrate	Calorien in 100 g
95,41	17,40	78,01	40,31	11,68 ¹⁾	26,02	481,6

Aus diesen Zahlen ergibt sich der folgende Gehalt an Einzelbestandteilen in Gramm pro die:

Lufttrockener Kot	Trocken- substanz	Asche	Organ. Subst.	Roh- protein	Roh- fett	Kohlen- hydrate	Calorien
9,23	8,80	1,60	7,20	3,72	1,08	2,40	44,42
Nach Abzug der zur Abgrenzung benutzten Kohle	8,08	1,60	6,48	3,72	1,08	1,68	39,51

Die folgende Tabelle enthält die Verdauungswerte der vorliegenden

Periode Nr. I.

Tabelle II.

	Trocken- substanz	Organ. Substanz	Roh- protein	Roh- fett	Kohlen- hydrate	Calorien
500 g Fleisch	121,15	115,50	100,65	11,25	3,60	669,50
Faeces . . .	8,08	6,48	3,72	1,08	1,68	39,51
Also	113,07	109,02	96,93	10,17	1,92	629,99
resorbiert $\left\{ \begin{array}{l} \text{g} \\ \text{\%} \end{array} \right.$	93,4	93,1	96,3	90,3	53,3	94,1

Energieumsatz:

Einnahmen pro Tag 669,50 Cal.

Ausgaben pro Tag:

Im Kot . = 39,51 Cal.²⁾ = 5,9⁰/₁₀₀ der Zufuhr

Im Harn . = 150,15 " = 22,4⁰/₁₀₀ " "

Sa.: 189,66 Cal. = 28,3⁰/₁₀₀ der Zufuhr = 189,66 Cal.

Somit beträgt der physiologische Nutzwert . 479,84 Cal.
entsprechend 71,7⁰/₁₀₀ der Zufuhr.

Calorischer Quotient $\left(\frac{\text{Harn} - \text{Cal. } 150,15}{\text{Harn} - \text{N } 18,67} \right) = 8,0.$

¹⁾ Darin 2,77⁰/₁₀₀ Fett aus Seifen.

²⁾ Der Kot der 4 Versuchstage wog getrocknet 36,90 g und enthielt pro 1 g 4,816 Cal., also insgesamt 177,72 Cal. Die zur Abgrenzung der

Die Resorption des aus Lösungen von Zucker mit anorganischen Salzen gewonnenen Hefepräparats, im folgenden als „Mineralhefe“ bezeichnet, wurde in einer 4 tägigen Periode ermittelt. Zur Abgrenzung des Kotes wurden der ersten Tagesration 3 g Kohlenpulver, der letzten 9 g geglähte Kieselgur zugesetzt.

Mineralhefe-Periode Nr. II vom 17. bis 20. VI. 1916.

Versuchstier: Hündin. Gewicht: 11,25 kg.

Das Tier verzehrte täglich:

als Grundfutter:

125 g Fleisch mit 30,29 g Trocken- 4,03 g N und 167,4 Cal.
substanz,

als Zulage:

37,5 g Mineralhefe mit 35,40 g Trocken- 3,15 g N und 170,4 Cal.
substanz,

Sa. 65,69 g Trocken- 7,18 g N und 337,8 Cal.
substanz,

N-Bilanz.

	Stickstoffausscheidung						N-Ansatz	
	im Harn		im Kot		Summa		g	% der Zufuhr
	g	% der Zufuhr	g	% der Zufuhr	g	% der Zufuhr		
Im Mittel pro Tag	6,76	94,1	0,67	9,3	7,43	103,4	-0,25	-3,4

Das Rohprotein wurde also zu 90,7% resorbiert.

Pro Kilogramm Lebendgewicht und Tag erhielt das Tier 0,64 g N und 30,03 Cal.

Der Kot der vorliegenden Mineralhefe-Periode Nr. II wog lufttrocken 76,7 g und enthielt in Prozenten:

Trocken- substanz	Asche	Organische Substanz	Roh- protein	Rohfett	Kohlen- hydrate	Calorien in 100 g
95,28	34,48	60,80	21,87	7,38 ¹⁾	31,55	327,2

Faeces verfütterten 3 g Kohle enthielten 19,692 Cal. Der Caloriengehalt der Faeces betrug somit 197,72 — 19,692 = 158,03 Cal., bzw. pro Tag 39,51 Cal.

¹⁾ Einschließlich 0,68% Seifenfett.

Aus diesen Zahlen ergibt sich der folgende Gehalt an Einzelbestandteilen in Gramm für den gesamten Kot der 4 Tage:

Lufttrockener Kot	Trocken- substanz	Asche	Organ. Subst.	Roh- protein	Roh- fett	Kohlen- hydrate	Calorien
76,70	73,08 ¹⁾	26,45	46,63	16,77	5,66	24,20	251,0
Nach Abzug von 3 g Kohle und 9 g Kieselgur	61,08	17,45	43,63	16,77	5,66	21,20	231,3

Die folgende Tabelle enthält die Verdauungswerte der vorliegenden

Periode Nr. II.

Tabelle III.

	Trocken- substanz	Organ. Substanz	Roh- protein	Roh- fett	Kohlen- hydrate	Calorien
500 g Fleisch . . .	121,15	115,50	100,65	11,25	3,60	669,5
150 g Mineralhefe	141,60	124,98	78,87	8,65	37,46	681,5
Summa	262,75	240,48	179,52	19,90	41,06	1351,0
Faeces	61,08	43,63	16,77	5,66	21,20	231,3
Also \int g . . .	201,67	196,85	162,75	14,24	19,86	1119,7
resorbiert \int % . .	76,8	81,9	90,7	71,6	48,4	82,9

Die Verdauungswerte für die Mineralhefe sind aus der folgenden Tabelle ersichtlich.

Tabelle IV.

	Trocken- substanz	Organ. Substanz	Roh- protein	Roh- fett	Kohlen- hydrate	Calorien
In den Faeces der Hauptperiode . .	61,08	43,63	16,77	5,66	21,20	231,3
In den Faeces der Grundfutter- periode	8,08	6,48	3,72	1,08	1,68	39,5
Mehr in den Faeces d. Hauptperiode	53,00	37,15	13,05	4,58	19,52	191,8
Die Mineralhefe- zulage enthielt .	141,60	124,98	78,87	8,65	37,46	681,5
Also von der Zu- \int g lage resorbiert \int %	88,60	87,83	65,82	4,07	17,94	489,7
	62,6	70,3	83,5	47,0	47,9	71,8

¹⁾ Einschließlich 9 g Kieselgur und 3 g Kohle.

Mineralhefe-Periode Nr. II.

Energieumsatz:

Einnahmen pro Tag 337,80 Cal.

Ausgaben pro Tag:

Im Kot . = 57,82 Cal. = 17,1% der Zufuhr

Im Harn . = 58,35 " = 17,3% " "

 Sa.: 116,17 Cal. = 34,4% der Zufuhr = 116,17 Cal.

Somit beträgt der physiologische Nutzwert . 221,63 Cal.

entsprechend 65,6% der Zufuhr.

$$\text{Calorischer Quotient } \left(\frac{\text{Harn} - \text{Cal. } 58,35}{\text{Harn} - \text{N } 6,76} \right) = 8,6.$$

Physiologischer Nutzwert der Mineralhefezulage:

In Faeces und Harn der vorliegenden Mineralhefe-

Periode 116,17 Cal.

In Faeces und Harn der Grundfutter-(Fleisch-)Periode 47,41 "

Somit mehr in der Hauptperiode 68,76 Cal.

Die Mineralhefezulage enthielt 170,40 "

Somit beträgt der physiologische Nutzwert

der Mineralhefe 101,64 Cal.

= 59,6%.

Die folgende Periode III mit entbitterter Bierhefe, die in den nachstehenden Tabellen der Kürze wegen als „Nährhefe“ bezeichnet ist, dauerte 6 Tage. Zur Kotabgrenzung wurden 3 Tage vor Beginn der Periode nur Knochen verabreicht; die Schlußabgrenzung geschah durch Zusatz von 15 g Kieselerde zur letzten Tagesration.

Nährhefe-Periode Nr. III vom 8. bis 14. VII. 1916.

Versuchstier: Hündin. Gewicht: 9,82 kg.

Das Tier verzehrte täglich:

als Grundfutter:

166,67 g Fleisch mit 40,38 g Trocken-substanz, 5,37 g N und 223,2 Cal.

als Zulage:

50 g Nährhefe mit 44,32 g Trocken-substanz, 4,15 g N und 210,8 Cal.

 Sa. 84,70 g Trocken-substanz, 9,52 g N und 434,0 Cal.

N-Bilanz.

	Stickstoffausscheidung						N-Ansatz	
	im Harn		im Kot		Summa		g	% der Zufuhr
	g	% der Zufuhr	g	% der Zufuhr	g	% der Zufuhr		
Im Mittel pro Tag	8,62	90,5	0,66	6,9	9,28	97,4	0,24	2,6

Das Rohprotein wurde also zu 93,1% resorbiert.

Pro Kilogramm Lebendgewicht und Tag erhielt das Tier 0,97 g N und 44,2 Cal.

Der Kot der vorliegenden Nährhefe-Periode Nr. III wog lufttrocken 91,2 g und enthielt in Prozenten:

Trocken- substanz	Asche	Organische Substanz	Roh- protein	Rohfett	Kohlen- hydrate	Calorien in 100 g
96,83	21,88	74,95	27,01	4,71 ¹⁾	43,23	379,8

Aus diesen Zahlen ergibt sich der folgende Gehalt an Einzelbestandteilen in Gramm für den gesamten Kot der 6 Tage:

Lufttrockener Kot	Trocken- substanz	Asche	Organ. Subst.	Roh- protein	Roh- fett	Kohlen- hydrate	Calorien
91,20	88,31 ²⁾	19,95	68,36	24,63	4,30	39,43	346,4
Nach Abzug von 15 g Kieselgur	73,31	4,95	68,36	24,63	4,30	39,43	346,4

Die folgende Tabelle enthält die Verdauungswerte der vorliegenden

Periode Nr. III.

Tabelle V.

	Trocken- substanz	Organ. Substanz	Roh- protein	Roh- fett	Kohlen- hydrate	Calorien
1000 g Fleisch . .	242,30	231,00	201,30	22,50	7,20	1339,0
300 g Nährhefe . .	265,89	238,83	155,73	8,64	74,46	1264,8
Summa	508,19	469,83	357,03	31,14	81,66	2603,8
Faeces	73,31	68,36	24,63	4,30	39,43	346,4
Also { g	434,88	401,47	332,40	26,84	42,23	2257,4
resorbiert { %	85,6	85,5	93,1	86,2	51,7	86,7

¹⁾ Einschließlich 0,87% Seifenfett.

²⁾ Einschließlich 15 g Kieselgur.

Die Verdauungswerte für die Nährhefe sind aus der folgenden Tabelle ersichtlich.

Tabelle VI.

	Trocken- substanz	Organ. Substanz	Roh- protein	Roh- fett	Kohlen- hydrate	Calorien
In den Faeces der Hauptperiode . .	73,31	68,36	24,63	4,30	39,43	346,4
In den Faeces der Grundfutter- periode	16,16	12,96	7,44	2,16	3,36	79,0
Mehr in den Faeces d. Hauptperiode	57,15	55,40	17,19	2,14	36,07	267,4
Die Nährhefezu- lage enthielt . .	265,89	238,83	155,73	8,64	74,46	1264,8
Also von der Zu- lage resorbiert $\%$	208,74	183,43	138,54	6,50	38,39	997,4
	78,5	76,8	89,0	75,2	51,6	78,9

Periode Nr. III.

Energieumsatz:

Einnahmen pro Tag 434,0 Cal.

Ausgaben pro Tag:

Im Kot . = 57,7 Cal. = 13,3 $\%$ der Zufuhr

Im Harn . = 70,4 Cal. = 16,2 $\%$ " "

Sa.: 128,1 Cal. = 29,5 $\%$ der Zufuhr = 128,1 Cal.

Somit beträgt der physiologische Nutzwert . . 305,9 Cal.
entsprechend 70,5 $\%$ der Zufuhr.

$$\text{Calorischer Quotient} \left(\frac{\text{Harn} - \text{Cal. } 70,4}{\text{Harn} - \text{N } 8,62} \right) = 8,16.$$

Physiologischer Nutzwert der Nährhefezulage:

In Faeces und Harn der vorliegenden Nährhefe-Periode 128,1 Cal.

" " " " " Grundfutter-(Fleisch-)Periode . 63,2 "

Somit mehr in der Hauptperiode 64,9 Cal.

Die Nährhefezulage enthielt 210,8 "

Somit beträgt der physiologische Nutzwert

der Nährhefe 145,9 Cal.
= 69,2 $\%$.

In der nachstehenden Übersicht sind die bisher aus Stoff-
wechselfersuchen am Hunde ermittelten Verdauungswerte für
Hefetrockenpräparate zusammengestellt.

Tabelle VII.

Autor	Art des Hefe- präparats	Verdauungswerte						Physio- logischer Nutzeffekt
		Trocken- substanz	Organ. Substanz	Roh- protein	Rohfett	Kohlen- hydrate	Calorien	
Völtz	{ Aceton- Dauerhefe }	—	—	87	—	—	70	—
Völtz	Mineralhefe	61,8 ¹⁾	71,1	85	34,1	54,5	71,8	60,4
Rubner	?	—	—	98,4	—	—	89,6	—
Deutschland	Mineralhefe	62,6 ¹⁾	70,3	83,5	47,0	47,9	71,8	59,6
Deutschland	{ Entbitterte Bierhefe }	78,5	76,8	89	75,2	51,6	78,9	69,2

Die Übereinstimmung der von Völtz und von mir für die Verdaulichkeit der Mineralhefe an zwei verschiedenen Tieren ermittelten Werte ist sehr befriedigend und läßt darauf schließen, daß innerhalb der obergärigen Rassen wesentliche Unterschiede hinsichtlich der Ausnutzung nicht bestehen. Die Verdauungswerte für das Rohfett, die allein eine größere Differenz aufweisen, sind an sich wegen des geringen Fettgehaltes der Hefen unsicher.

Für das aus Brauerei-Unterhefe durch Entbitterung und Trocknung gewonnene Nährpräparat stellen sich Resorption und Ausnutzung etwas günstiger als für die Mineralhefe. Es ist zu vermuten, daß die Zellmembran der Mineralhefe den Verdauungsenzymen gegenüber resistenter ist, so daß ein Teil der Zellen den Darm unverändert verläßt. Übrigens sind die in Versuchen am Hunde bestimmten Werte für die Verdaulichkeit der Hefenährstoffe nicht ohne weiteres auf den Menschen übertragbar. Aus den Versuchen mit der Brauereihefe hat sich herausgestellt, daß zwar hinsichtlich der Verdaulichkeit des Hefe-eiweiß keine wesentlichen Unterschiede bei den verschiedenen Tierspezies (ausgenommen das Haushuhn) bestehen; dagegen werden die Kohlenhydrate der Hefe vom Hunde verhältnismäßig schlecht ausgenutzt (zu ca. 50^{0/0}), während sie vom Menschen und Herbivoren restlos verdaut werden. Ganz analog dürften

¹⁾ Bei der Mineralhefe bilden einen wechselnden Teil der Trockensubstanz zellfremde anorganische Substanzen von geringer Löslichkeit (kohlenaurer und phosphorsaurer Kalk), die die Verdaulichkeit der Zeltrockensubstanz nicht klar hervortreten lassen.

auch die Nährstoffe der Mineralhefe vom Menschen höher verwertet werden als vom Hunde.

Die von Rubner ermittelten Verdauungswerte für Stickstoff und Calorien der Nährhefe weichen von Völtz' und meinen Resultaten erheblich nach oben ab. Dies ist um so weniger erklärlich, als Rubner im Gegensatz zu uns nach der Verabreichung der Nährhefe bei seinem Hunde Durchfall beobachtet hat und bei derartigen Darmstörungen erfahrungsgemäß die Ausnutzung der Nährstoffe herabgesetzt wird. Übrigens stößt unter diesen Umständen die Abgrenzung der Faeces auf erhebliche Schwierigkeiten.

Rubner findet das Gesamtergebnis seines Resorptionsversuches, der eine Verdaulichkeit der Calorien zu 89,6% und des Proteins zu 98,4% ergab, „nicht ungünstig“, will aber in der Nährhefe nichts anderes sehen, als ein Eiweißpräparat ohne diätetische Bedeutung. Demgegenüber darf an das bemerkenswerte Resultat der von Völtz¹⁾ ausgeführten Versuche an Ratten erinnert werden, die besonders deutlich den hohen diätetischen Wert der Trockenhefe im Vergleich mit einem wirklichen Eiweißpulver illustrieren. Es zeigte sich nämlich, daß bei Verabreichung von Trockenhefe als einziger Stickstoffquelle im Futter es nicht nur gelang, die Tiere längere Zeit am Leben zu erhalten, sondern daß die Hefe allein sogar beim trächtigen und später beim säugenden Tier den Stickstoffbedarf für die Entwicklung der Jungen und für die Produktion von Milch vollkommen zureichend lieferte. In Parallelversuchen mit Verabreichung von Casein als ausschließlicher Stickstoffsubstanz wurden die Tiere schon nach kurzer Zeit schwach und apathisch, konnten aber durch nachfolgende Hefefütterung wieder hochgebracht werden.

¹⁾ Jahrb. der Vers.- und Lehranstalt für Brauerei in Berlin 1910, 408 bis 412. Siehe auch Völtz, Paechtner und Baudrexel, Über die Verwertung der Trockenhefe durch die landwirtschaftlichen Nutztiere. Landwirtsch. Jahrbücher 42, 193 bis 254, 1912.

Notiz über die reduzierenden Eigenschaften der Stärke.

Von

Wilhelm v. Kaufmann.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie,
Chemische Abteilung, Berlin-Dahlem.)

(Eingegangen am 16. November 1916.)

Wie ich an anderer Stelle¹⁾ zeigen konnte, sind die von Gertrud Woker gemachten Angaben²⁾ über die diastatische Einwirkung des Formaldehyds auf Stärke irrig. Auf Grund des Umstandes, daß 1⁰/₁₀₀ ige Stärkelösungen nach Zugabe bestimmter Mengen Formaldehyds und kurzer Aufbewahrung der Gemische im Brutschrank die Fähigkeit einbüßen, mit ⁿ/₅₀-Jodlösung sich zu bläuen, hatte die genannte Autorin angenommen, daß hier ein Abbau der Stärke unter dem Einfluß des Formaldehyds stattfindet. Ordnet man diesen Versuch in der bei serologischen Arbeiten üblichen Weise an, indem man z. B. in 10 fortlaufend nummerierten Reagensgläsern je 2,0 ccm der 1⁰/₁₀igen Stärkelösung mit je 1,0 ccm Formaldehyd versetzt, der in Verdünnung von 1 bis 1:10 aus der 35- bis 38⁰/₁₀igen Handelsware dargestellt ist, so beobachtet man, daß nach ¹/₂stündigem Verweilen im Brutschranke und darauf folgender Abkühlung die Jodreaktion bei den stärkeren Konzentrationen vollkommen ausbleibt und erst bei einem bestimmten Verdünnungsgrade des Formaldehyds noch positiv ist. Diese Grenze ist nicht absolut scharf, sondern es treten rosa und violette Farbentöne bei den benachbarten Konzentrationen auf. Dieses Verfahren entspricht der Wohlgemuthschen Reihenmethode der Diastasebestimmung, bei der das Violett als Grenzwert gilt.

In der Tat zeigt das sich bietende Bild eine äußerliche Ähnlichkeit mit der Erscheinung, wie sie beim wirklichen fer-

¹⁾ W. v. Kaufmann, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 50, 1917.

²⁾ G. Woker, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 49, 2311, 1916.

mentativen Abbau der Stärke durch Diastase zutage tritt. Da ich aber¹⁾ dargetan habe, daß die Fähigkeit zur Blaufärbung sofort zurückkehrt, wenn der vorhandene Formaldehyd in irgendeiner Weise entfernt wird — sei es durch Abdampfen oder durch Überführung mit Ammoniak in Hexamethylentetramin oder einfach durch Aufhebung der lockeren Stärke-Formaldehydverbindung durch eine Mineralsäure, — so ist ersichtlich Woker einer Täuschung zum Opfer gefallen, die darauf beruht, daß sie die Fähigkeit der Stärke zur Bildung einer reversiblen Verbindung mit Formaldehyd übersehen hat.

Das Vermögen, eine Reaktion mit Formaldehyd einzugehen, teilt die Stärke mit ungefähr allen Kohlehydraten. Mit den einfachen Zuckerarten hat nun die lösliche Stärke auch das Reduktionsvermögen gegenüber Fehlingscher Lösung gemein, eine Eigenschaft, die wenig beachtet und in den Lehrbüchern kaum erwähnt wird. Sämtliche mir zugänglichen Sorten von löslicher Stärke des Handels zeigten Reduktionsvermögen in 1%iger, zum Teil auch in 1‰iger Lösung. Da lösliche Stärke in 1%iger Lösung vielfach als Substrat für den Nachweis diastatischer Prozesse dient, so ist auf diese Eigenschaft Rücksicht zu nehmen, sobald Reduktionsproben als Indicator für den eingetretenen Abbau dienen sollen.

Mit einer reduzierenden freien Aldehydgruppe hängt auch der Eintritt der sogenannten Moore-Hellerschen Probe zusammen, die in der erwähnten Arbeit Gertrud Woker ebenfalls irrtümlicherweise heranzieht zum Beweise eines Abbaues der Stärke durch Formaldehyd. Die Moore-Hellersche Reaktion beruht auf der Gelbfärbung, die sich beim Erwärmen von Zuckerlösungen mit Alkali einstellt. Ein einfacher Kontrollversuch lehrt, daß Formaldehyd allein mit Alkali sich bräunt, was ja auch eine bekannte Aldehydreaktion darstellt. Freilich kommt es hier auf die Konzentrationsverhältnisse an; denn bei den stark reduzierenden Eigenschaften des Formalins kann die Bräunung einer Zuckerlösung durch Alkali durch viel Formaldehyd verhindert oder abgeschwächt werden. Im übrigen hängt es gleichfalls von der Konzentration der Stärkelösung ab, ob sie nicht schon an sich die sogenannte Moore-Heller-

¹⁾ l. c.

sche Reaktion gibt. Die im Handel befindlichen Sorten von löslicher Stärke liefern in 1^o/₀iger Lösung sämtlich deutlichste Gelbbraunfärbung mit Alkali ganz entsprechend dem vorhin erwähnten Reduktionsvermögen gegen Fehlingsche Mischung.

In gleicher Weise ist die lösliche Stärke auch befähigt, mit Phenylhydrazin in Verbindung zu treten. Denn es ist bekannt, daß die mit ihr nahe verwandten bzw. in ihr enthaltenen Amylodextrine mit Phenylhydrazin Osazone bilden. Alle Sorten von löslicher Stärke des Handels verhalten sich ebenso. Sie geben beim Erwärmen mit essigsaurem Phenylhydrazin gelbbraune Niederschläge, deren Menge beim Stehen in der Kälte zunimmt. Deshalb beweist auch die Angabe Wokers, daß man aus Formaldehyd-Stärkelösungen mit Phenylhydrazin eine Verbindung erhalten kann, gar nichts für eine eingetretene Hydrolyse. Überdies führt die Verfasserin an, daß sie mit diesem Reagens eine farblose Verbindung erhalten habe, was sich schon gewiß nicht im Einklang mit einem Abbau befindet, da alle wirklichen Osazone der Zuckerarten gelb gefärbt sind: Vielleicht liegt hier Verwechslung mit einer Formalinverbindung vor.

Es erübrigt sich die Angabe besonderer Versuchsprotokolle über das eindeutige Verhalten von Stärkelösungen zu Fehlingscher Mischung und zu essigsaurem Phenylhydrazin. Über den Verlauf der Moore-Hellerschen Probe geben folgende Daten Auskunft.

Es wurden mehrere Reihenversuche in folgender Weise angestellt: In 10 Reagensgläsern wurden je 2,0 ccm Stärkelösung mit 1,0 ccm 35^o/₀iger Formaldehydlösung (D. A. B. 5), dann mit 0,9 ccm, 0,8 ccm und herab bis 0,1 ccm CH₃O versetzt. Durch entsprechende Zugabe von Wasser wurde stets das Gesamtvolumen von 3,0 ccm hergestellt. Nach halbstündiger Bebrütung und Abkühlung wurde zu jedem Reagensglase das gleiche Volumen (= 3,0 ccm) 50^o/₀iger Natronlauge oder Kalilauge gefügt. Zur Kontrolle wurde dann noch ein 11. und 12. Glas angesetzt, ersteres mit 1,0 ccm Formaldehyd, 2,0 ccm Wasser und 3,0 ccm Lauge, letzteres mit 2,0 ccm 1^o/₀₀iger Stärkelösung, 3,0 ccm 50^o/₀iger Natronlauge und 1,0 ccm 35^o/₀igen Formaldehyds. Die nichtbebrüteten Gläser 11 und 12 wurden mit den 10 bebrüteten zugleich in ein siedendes Wasserbad versenkt: Sämtliche Gläser zeigten eine Gelbbraunfärbung, die an

Tiefe von Reagensglas 1 bis 10 abnahm. Der Grad der Bräunung ging vollkommen parallel dem Gehalte an Formaldehyd. Dementsprechend zeigte auch Probe 11 eine Gelbbraunfärbung ungefähr von der Stärke des Reagensglases 2; Reagensglas 1, das die höchste Konzentration an Formaldehyd neben Stärke enthielt, wies eine unwesentlich tiefere Gelbfärbung auf. Daß dieselbe nicht einer wirklichen hydrolytischen Spaltung der Stärke zu Zucker ihre Entstehung verdankt, lehrt der Kontrollversuch 12, bei dem die Reagenzien in folgender Reihenfolge unmittelbar vor dem Versenken ins Wasserbad gemischt wurden: 2,0 ccm Stärkelösung, 3,0 ccm 50%ige Natronlauge, 1,0 ccm Formaldehyd. Obgleich keine Digestion bei 37° voranging und der CH_2O zur stark alkalischen Stärkelösung zugesetzt war, also wohl kaum „spalten“ konnte, nahm diese Probe 12 die gleiche Nuance wie Probe 1 an. Der Versuch ist mit dem gleichen Ergebnis mehrfach wiederholt. Worauf die etwas stärkere Gelbfärbung bei den Gläsern 1 und 12 beruht, muß dahingestellt bleiben.

Daß die Moore-Hellersche Probe, die als eine der unzuverlässigsten Zuckerreaktionen von allen Analytikern nahezu verlassen ist, durch Formaldehyd noch unsicherer gemacht werden kann, zeigen folgende Versuche:

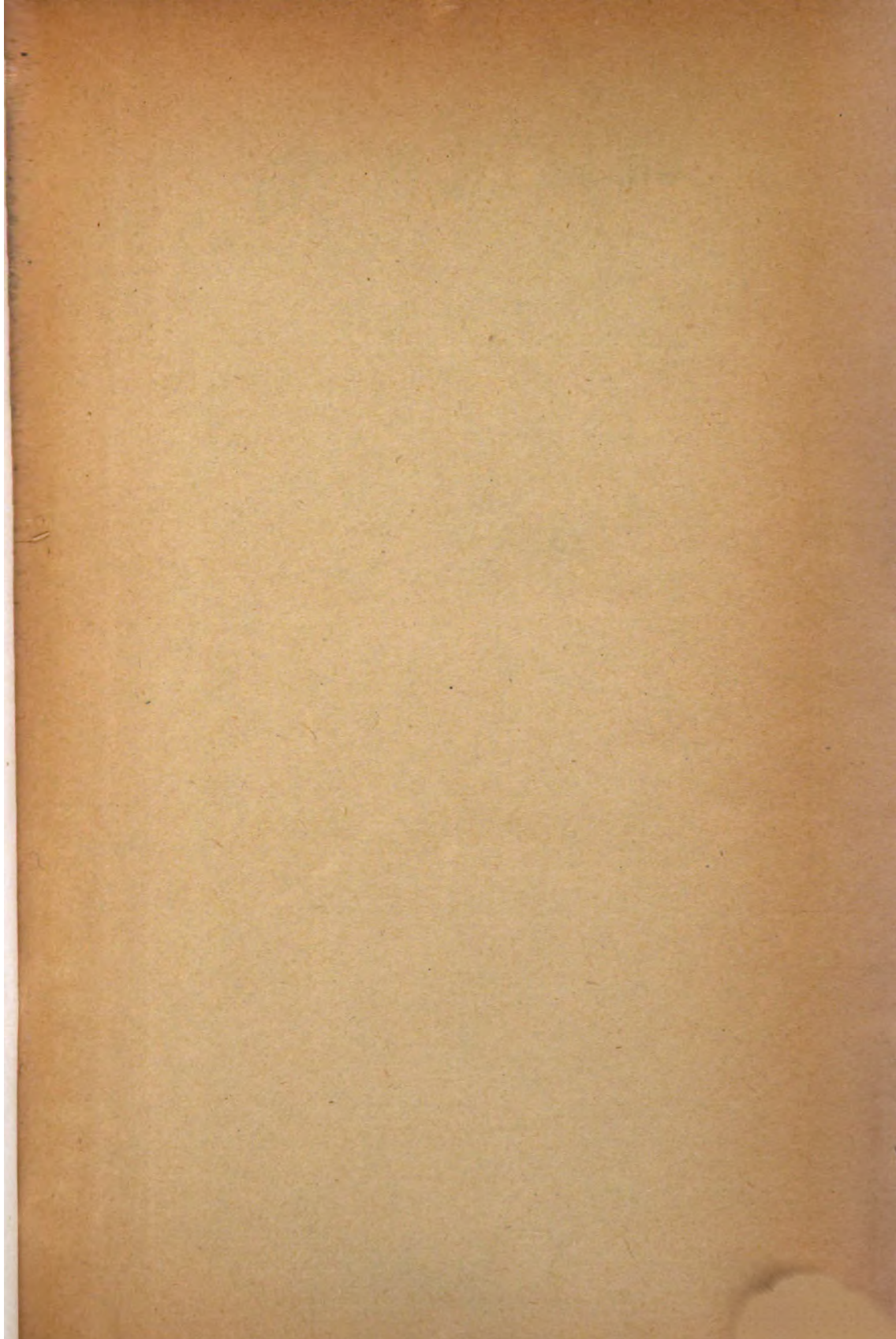
In 2 Reagensgläser wurden je 1,0 ccm 1‰iger Maltoselösung gefüllt. In das erste Glas wurden außerdem 2,0 ccm der 35%igen Formalinlösung und 0,5 ccm 50%ige Lauge, in das zweite 2,0 ccm Wasser und 0,5 ccm 50%ige Lauge gegeben. Während im zweiten Reagensglase beim Erwärmen sofort eine starke Gelbfärbung entstand, trat dieselbe bei dem ersten, das also den Zusatz von Formaldehyd enthielt, auch nach längerem Erwärmen nicht auf. Ganz entsprechend verhielten sich 1%ige Traubenzuckerlösungen. Dieses Ergebnis bestätigten mehrfache Versuche der angegebenen Art.

Während 1‰ige Lösungen von käuflicher löslicher Stärke durch starkes Alkali nicht gebräunt wurden, trat diese Reaktion mit 1%iger Lösung recht deutlich auf. Dementsprechend fand ich auch alle käuflichen Sorten von löslicher Stärke befähigt, mit Phenylhydrazin zu reagieren (siehe S. 373).

Autorenverzeichnis.

- Abelin, J. Über die w-Methylsulfonsäure der p-Aminophenylarsinsäure. S. 191.
- Altmann, K., siehe Sachs.
- Biberfeld, Johannes. Nachtrag S. 144.
- Boas, Friedrich. Stärkebildung bei Schimmelpilzen. S. 308.
- Bürger, Max. Ein Beitrag zur Chemie der Tuberkelbacillenfette. S. 155.
- Christiansen, E., siehe Henriques.
- Dernby, K. G. Notiz betreffend die proteolytischen Enzyme der *Drosera rotundifolia*. S. 197.
- Deutschland, A. Untersuchungen über die Verdaulichkeit der Nährhefe. S. 358.
- Färber, Eduard, siehe Neuberg. — Zur Frage der Oxydationswirkung von Hefe. S. 294.
- Folpmers, T. Tyrosinase, ein Gemenge von zwei Enzymen. S. 180.
- Hári, Paul. Beiträge zum Stoff- und Energieumsatz der Vögel. S. 313.
- Hasselbalch, K. A. Die Berechnung der Wasserstoffzahl des Blutes aus der freien und gebundenen Kohlensäure desselben, und die Sauerstoffbindung des Blutes als Funktion der Wasserstoffzahl. S. 112.
- Henriques, V., und E. Christiansen. Untersuchungen über die Ammoniakmenge im Blute. S. 165.
- Herzfeld, E., und R. Klinger. Weitere Untersuchungen zur Chemie der Eiweißkörper. S. 349.
- Kaufmann, Wilhelm v. Notiz über die reduzierenden Eigenschaften der Stärke. S. 370.
- Klinger, R., siehe Herzfeld.
- Lakon, Georg. Der Eiweißgehalt panachierter Blätter geprüft mittels des makroskopischen Verfahrens von Molisch. S. 145.
- Lenk, Emil. Quantitative Bestimmung der Acetonkörper im Harn. S. 224.
- Lockemann, Georg. Vergleichende Untersuchungen über die Arsenausscheidung durch den menschlichen Harn nach Injektion verschiedener Arsenikalien. S. 1.
- Loewy, A., und R. Wolfenstein. Über die adstringierende Wirkung von Aluminiumsalzen, insbesondere der ameisensauren Tonerde. S. 97.
- Müller, Johannes, und Hans Murschhauser. Über die physiologische Verwertung synthetischer Fettsäureester. I. Mitteilung. Die Verwertung der Fettsäureäthylester. S. 63.
- Murschhauser, Hans, siehe Müller.
- Neuberg, Carl. Horalbumose als teilweiser Ersatz von Fleischiweiß beim Hunde. S. 233.
- und Eduard Färber. Über den Verlauf der alkoholischen Gärung bei alkalischer Reaktion. S. 238.
- — Über das Vorkommen emulsinartiger von den Hefezellen abtrennbarer Fermente in den untergärigen Hefen und das Fehlen von Myrosin in Berliner Ober- und Unterhefen. S. 264.

- Pohl, Julius. Über den Purinstoffwechsel nach Giften. S. 200.
- Resch, Alfred. Kataphoretische Versuche mit Thrombin und Fibrinogen. S. 297.
- Sachs, H., und K. Altmann. Die „Hydrolyabilität“ des Komplements und ihre Ursachen. S. 46.
- Schweizer, Karl. Zur Kenntnis der Desaminierung. S. 37.
- Weevers, Th. Die physiologische Bedeutung des Kaliums in der Pflanze. S. 354.
- Wolfenstein, R., siehe Loewy.
- Ylppö, Arvo. Über Magenatmung beim Menschen S. 273.
- Zuntz, N. Bemerkungen zu der von Gad-Andresen beschriebenen „neuen“ Methode zur Bestimmung von Kohlenoxyd im Blute. S. 231.
-



CHEMISTRY LIBRARY

3 2000 013 063 325

CHEMISTRY LIBRARY

JOURNAL
Does Not Circulate



ALF Collections Vault



3 0000 091 338 982