

XXIII.

Ueber die Einwirkung der Kohlensäure auf die diastatischen Fermente des Thierkörpers.

Aus dem Laboratorium der medicinischen Klinik in Göttingen.

Von Wilhelm Ebstein und Carl Schulze.

I. Einleitung.

Veranlassung zu den Untersuchungen, über deren Ergebniss in diesem Aufsatze berichtet werden soll, gab uns zunächst eine Mittheilung über den gleichen Gegenstand von N. P. Schierbeck¹). Derselbe ist durch seine Versuche zu dem Schluss gekommen, dass die Kohlensäure sowohl einen fördernden als hemmenden Einfluss auf die Zuckerbildung durch die thierischen Diastasen auszuüben vermag, je nachdem dieselben entweder in einer neutralen oder alkalischen oder in einer sauren Flüssigkeit wirksam sind.

Bei neutraler oder alkalischer Reaction soll nach Schierbeck die Kohlensäure die verzuckernde Wirkung der Fermente befördern, bei saurer Reaction dagegen stets hindern.

Schierbeck irrt sich aber, wenn er meint, der Grund dafür, dass einer von uns (Ebstein) bei allen seinen Versuchen²) nur eine hemmende Wirkung der Kohlensäure herausbekommen hat, müsse darin zu suchen sein, dass Ebstein stets mit sauren Flüssigkeiten gearbeitet habe.

In den wenigen Versuchen von Ebstein, wo die Reaction eine schwach saure war, ist dies von ihm stets bemerkt worden. Im Uebrigen hat Ebstein (a. a. O. S. 10 Zeile 3 von unten) ganz allgemein angegeben, dass er abgemessene Mengen der saccharificirenden Fermentlösungen auf wässrige immer neutral reagirende Glykogenlösungen — Ebstein hat nur mit solchen,

¹⁾ Skandinavisches Archiv für Physiologie. Bd. 3. 1892. S. 344 ff.

²⁾ Ebstein, Die Zuckerharnruhr, ihre Theorie und Praxis. 2. Abschnitt. Wiesbaden 1887.

nie mit Stärkekleister gearbeitet — habe wirken lassen. Die Reaction der von Ebstein benutzten Fermentglycerinlösungen war nie sauer, der Anteil, welchen das ebenfalls stets neutral reagirende Glycerin etwa bei schwach diastatisch wirkenden Fermenten an der diastatischen Wirkung haben konnte, wurde überdies in jedem Falle bestimmt, und der dabei entstandene Werth in Abzug gebracht (a. a. O. S. 13).

Dass der sehr verdünnte Speichel (1:20), mit welchem Ebstein arbeitete, keine saure Reaction hatte, braucht wohl nicht besonders hervorgehoben zu werden. Wo anderweitige Säuren (Milchsäure, Salzsäure) zu den Versuchen von Ebstein verwandt wurden, ist die Concentration der Säuren genau angegeben worden. (Vgl. Ebstein a. a. O. S. 26.)

Der Grund der verschiedenen Ergebnisse, welche Ebstein und Schierbeck bei ihren Versuchen erhielten, ist daher, wie auch aus den nachstehenden Mittheilungen sich herausstellen wird, nicht darin zu suchen, dass Ebstein mit sauer reagirenden Lösungen arbeitete. Indessen bildet die Erörterung dieser Widersprüche keineswegs den alleinigen Gegenstand unserer Arbeit; abgesehen davon haben sich bei unseren Versuchen eine Reihe von Thatsachen ergeben, welche einige, soviel wir übersehen, neue Gesichtspunkte in der Lehre von der Wirksamkeit der thierischen Diastasen näher beleuchten.

II. Vorbemerkungen zu den nachstehenden Versuchen.

Den weiter unten im Einzelnen zu besprechenden Versuchen mögen zuerst einige allgemeine Bemerkungen vorangeschickt werden.

Diejenigen Kohlenhydrate, bei welchen wir die Wirksamkeit der unten aufgezählten thierischen Diastasen unter verschiedenen Bedingungen studirten, waren Kartoffelstärke und Glykogen.

Erstere, die gewöhnliche des Handels, zeigte auch in der höchsten von uns angewandten Concentration 2,5 pCt. gegen empfindlichstes Lakmuspapier keine andere als absolut neutrale Reaction.

Zu den Versuchen mit Glykogen wurde theils ein noch vorhandener Rest von dem, welches Ebstein seiner Zeit für seine Versuche hatte herstellen lassen (vgl. Ebstein a. a. O. S. 11),

nachdem es noch zweimal mit Alkohol umgefällt war, benutzt, theils ein solches, welches einer von uns (Schulze) aus den Lebern von 10 Kaninchen nach der Methode von E. Külz herstellte. Die Thiere wurden, bevor sie getötet wurden, erst einige Tage mit Zuckerrüben gefüttert, um die Lebern möglichst glykogenreich zu machen. Aus 700 g Lebersubstanz betrug die Ausbeute etwa 58 g, also ungefähr 5,8 pCt. Das Glykogen bildete ein staubfreies schneeweisces Pulver, und seine Lösung reagirte wie die der Stärke völlig neutral.

Die zur Verwendung gekommenen Fermente sind folgende:

- 1) Menschlicher Speichel,
- 2) aus menschlichem Speichel dargestelltes Ptyalin,
- 3) Submaxillaris-Glycerinextract,
- 4) verschiedene Pankreas-Glycerinextracte.
- 5) Blutserum und in Glycerin gelöstes Blutferment.
- 6) Diastatisches Muskelferment
- 7) - Nierenferment } (Glycerinfermente).
- 8) - Leberferment }

Ueber die Darstellung dieser Fermente möge kurz Folgendes gesagt werden.

Der Speichel, durch Kauen eines Gummistückchens erhalten, wurde filtrirt und kam in den in den Tabellen näher angegebenen Mengen und Verdünnungen zur Verwendung.

Das in Versuch XXXIX Tab. 1a gebrauchte Ptyalin wurde erhalten durch Fällen von 50 ccm filtrirtem Speichel mit 95prozentigem Alkohol, Filtriren des Niederschlages, Auswaschen des selben mit Alkohol und Aether, Trocknen im Exsiccator und Aufnehmen in Glycerin.

Das Submaxillarisferment stammte aus den bezüglichen Drüsen der 10 Kaninchen, deren Lebern auf Glykogen verarbeitet wurden. Die Drüsen wurden mit Glas zerrieben und mit Glycerin (puriss.) extrahirt. Ganz analog wurde bei der Darstellung der Pankreasfermente, von denen No. I bis III aus dem Pankreas eines Ochsen, No. IV aus dem Pankreas eines Hundes stammte, und den diastatischen Muskel-, Nieren- und Leberfermenten, die sämmtlich von demselben Hunde herührten, verfahren. Von den Glycerinextracten dieser Drüsen bezw. Organe wurde nur aus dem mit Pankreasferment I bezeichneten das Ferment erst

mit Alkohol gefällt u. s. w. und wieder in Glycerin aufgenommen, bei den übrigen wurde das klar filtrte Glycerinextract selbst gleich benutzt und zwar aus folgendem Grunde. Als aus Proben von den Glycerinextracten, besonders von Pankreas II und III die Fermente vermittelst der schon erwähnten Alkohol-Fällungsmethode dargestellt wurden, zeigte es sich, dass die nunmehr erhaltenen Glycerinfermentlösungen an Wirksamkeit ganz ausserordentlich eingebüsst hatten, die Fermente also, wie es bekanntlich mehr oder weniger immer der Fall ist, durch die Alkoholfällung stark geschädigt waren. Da es aber natürlich von Interesse sein muss, die zu prüfenden Fermente möglichst in ihrer vollen Wirksamkeit zu erhalten, wurde auf die Alkoholfällung verzichtet. In den erwähnten Fällen wurden also die klar filtrten Glycerinextracte direct benutzt. Pankreasferment I zeigte auch nach der Alkoholfällung eine sehr gute Wirksamkeit.

Bei den Muskel-, Leber- und Nierenfermenten kommt dann noch hinzu, dass ihre Wirksamkeit ohnehin schon eine äusserst geringe ist, ein Grund mehr um eine Fällung mit Alkohol nicht ratsam erscheinen zu lassen. Das benutzte Blutserum entstammte demselben Hunde, dem auch Pankreasferment IV und ebenso das Muskel-, Leber- und Nierenferment entstammte.

Nach dem Vorgange von M. Bial¹⁾ wurde dem Hunde in der Aether-Chloroformnarkose (Bial wandte die Morphium-Chloroformnarkose an) vermittelst einer Glaskanüle aus der Carotis das Blut entnommen.

Nachdem nach 24ständigem Stehen auf Eis das Blut vollständig defibrinirt war, wurde das klare etwas röthlich gefärbte Serum abgehoben und einige Tage, so lange wie die Versuche damit dauerten, auf Eis aufbewahrt. Das Blutserum hielt sich dabei vollkommen unzersetzt.

Aus den 35 cem Blutserum wurde schliesslich durch Fällen mit Alkohol, Auswaschen, Trocknen und Wiederaufnehmen des Niederschlages in Glycerin das Blutferment selbst dargestellt.

Ueber die allgemeine Anordnung der Versuche selbst ist Folgendes zu sagen.

¹⁾ M. Bial, Ueber die diastatische Wirkung des Blut- und Lymphserums. Archiv für Physiologie. Bd. 52. 1892, S. 143 ff.

Wir liessen das zu prüfende diastatische Ferment auf Stärkekleister (1 bis 2,5 pCt.) bzw. auf Glykogenlösung (1 pCt.) immer gleichzeitig in neutraler, saurer und alkalischer Lösung wirken. Bei den späteren Versuchen wurde daneben noch der Einfluss eines den Blutsalzen (vgl. unten) entsprechenden Salzgemisches auf die Wirksamkeit der diastatischen Fermente studirt. Bei jeder Versuchsreihe waren die entsprechenden Lösungen im Allgemeinen doppelt vorhanden, also zwei neutrale, zwei saure, zwei alkalische und eventuell zwei das Blutsalzgemisch enthaltende. Von diesen wurden die einen der Einwirkung von Kohlensäure ausgesetzt, welche langsam aber stetig die betreffende Flüssigkeit durchströmte.

Die Kohlensäure wurde im Kipp'schen Apparat in der üblichen Weise aus Marmor und Salzsäure entwickelt und erst in Sodalösung, dann in destillirtem Wasser gewaschen und vermittelst eines dreifachen bzw. vierfachen Gabelrohres mit Glasschläuchen oder Schraubenquetschhähnen gleichmässig auf die einzelnen Versuchskölbchen vertheilt. Die anderen entsprechenden Lösungen blieben unter einem leichten Watteverschluss ohne Einwirkung von Kohlensäure.

Als Gefässer dienten Erlenmeyer'sche Kölbchen von reichlich 200 ccm Volumen, in denen 100 ccm Stärkekleister eine etwa 33 mm und 50 ccm Glykogenlösung eine etwa 17 mm hohe Schicht bildeten. Für letztere Lösung wurden in einigen Fällen auch Erlenmeyer'sche Kölbchen von etwa 75 ccm Volumen benutzt, welche von 50 ccm Glykogenlösung etwa bis zu halber Höhe gefüllt wurden.

In den nachfolgenden tabellarischen Uebersichten sind die Versuche, um sie für den Leser übersichtlicher zu machen nicht in der Reihenfolge zusammengestellt, wie sie ausgeführt wurden, sondern die Versuche wurden in diesen Uebersichten nach der Reaction der Versuchsstümpfe gruppiert. Damit aber der Leser trotzdem erkennen könne, welche von den in den Tabellen aufgeführten Einzelversuchen einen zu gleicher Zeit angestellten Gesamtversuch bildeten, sind die in dieser Hinsicht zusammengehörenden Einzelversuche in den Tabellen mit den gleichen römischen Ziffern bezeichnet worden.

Unsere sämmtlichen Versuche wurden bei 37 bis 38° C.

Körpertemperatur ausgeführt. Dies wurde in der Art bewerkstelligt, dass die sämmtlichen Versuchskölbchen zusammen in ein auf der angegebenen Temperatur vermittelst Thermoregulator gehaltenes Wasserbad gestellt wurden.

Die Dauer der Versuche war, um den Einfluss auch dieses Factors kennen zu lernen, eine ziemlich verschiedene. Sie ist in den Tabellen in der letzten Column bei jedem Versuche angegeben.

In denjenigen Versuchen, welche in Folge der geringen Wirksamkeit der betreffenden Fermente (Blutserum, Blutferment in Glycerin, Muskel-, Leber- und Nierenferment) über eine verhältnissmässig lange Zeit, 4 Stunden und mehr, ausgedehnt werden mussten, um auch nur eine einigermaassen sicher nachweisbare Zuckermenge zu erzielen, wurde nach dem Vorgange Bial's¹⁾ 1 ccm einer 10prozentigen Lösung von Thymol in verdünntem Alkohol dem Stärkekleister bzw. der Glykogenlösung zugesetzt, um die Möglichkeit einer Beeinflussung der Umwandlung durch Mikroorganismen auszuschliessen.

Wie schon oben erwähnt wurde, waren die von uns verwandten Stärkekleister- und Glykogenlösungen durchaus neutral.

Um nun diesen Lösungen die in den einzelnen Tabellen nach Procenten Milchsäure oder Natriumcarbonat u. s. w. näher angegebene Acidität bzw. Alkalität zu geben, wurde so verfahren, dass den stets zur Verwendung kommenden 100 ccm Stärkekleister immer 1 ccm, den immer benutzten 50 ccm Glykogenlösung nur $\frac{1}{2}$ ccm einer entsprechend concentrirten Milchsäure- bzw. Alkalilösung zugesetzt. Als Aciditäts- bzw. Alkalitätsgrad des Stärkekleisters oder der Glykogenlösung wurde immer $\frac{1}{100}$ der Concentration der zugesetzten Milchsäure- bzw. Alkalilösung angegeben.

Bei 100 ccm Stärkekleister von 0,02 pCt. Na_2CO_3 ist also den 100 ccm neutralen Stärkekleisters 1 ccm einer 2prozentigen Sodalösung zugesetzt u. s. w.

Die geringe Ungenauigkeit von etwa 0,0002 pCt., die dadurch entsteht, dass das Volumen des alkalisch gemachten Stärkekleisters nunmehr 101 ccm beträgt, dürfte wohl um so

¹⁾ Bial, a. a. O. S. 143.

weniger in's Gewicht fallen, als wir eine so weitgehende Empfindlichkeit der Fermente gegen die alkalische Reaction wie Schierbeck nicht haben bemerken können. Schierbeck¹⁾ fand nehmlich noch bei 0,0005 pCt. Na_2CO_3 eine stark hindernde Wirkung des Alkalis gegenüber einer gleich alkalischen aber mit Kohlensäure behandelten Flüssigkeit.

Bei Besprechung der Tabelle 2b kommen wir auf diesen Punkt noch näher zurück.

Die Versuche wurden durch gleichzeitiges Aufkochen der Körbcheninhalte abgebrochen. Die Versuchsresultate haben wir durch Titration der einzelnen Flüssigkeiten mit Fehling'scher Lösung ermittelt. Der Inhalt eines jeden Körbchens wurde zu dem Zweck auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt; bei 100 ccm Stärkekleister auf 200 ccm, bei 50 ccm Glykogenlösung auf 100 ccm und von der Fehling'schen Lösung je nach der entstandenen Zuckermenge 5, 10 oder 20 ccm in der bekannten Weise zur Titration benutzt. Die Titrationsresultate wurden auf Maltose berechnet und die in 100 ccm Stärkekleister bzw. 50 ccm Glykogenlösung entstandene Zuckermenge in Procenten ausgedrückt. Auf Maltose wurden die Resultate berechnet, weil bekanntlich wenigstens ein grosser Theil der diastatischen Fermente des Thierkörpers bei der Hydrolyse von Stärke und Glykogen, Maltose und nicht Dextrose bildet²⁾. 1 ccm Fehling'scher Flüssigkeit entspricht 7,4 mg Maltose³⁾, und es wurde dieser Werth den Berechnungen zu Grunde gelegt. Eine Ausnahme von der Maltosebildung macht nach Bial das diastatische Blutferment⁴⁾, so lange es keiner Behandlung mit Alkohol u. s. w. unterworfen ist. In den entsprechenden Versuchen mit Blutserum sind deshalb die Resultate der Titration auf Dextrose bezogen, nicht aber in den Versuchen, welche mit dem gefällten und in Glycerin gelösten Blutferment angestellt worden waren. Wir haben darauf verzichtet, auch die nach Beendigung der Versuche angestellten Reactionen mit Jodlösung in den Tabellen mit aufzuführen, denn da wir die Versuche, wenn möglich, immer so

¹⁾ Skandinavisches Archiv für Physiologie. 3. 1892. Tabelle III. S. 354.

²⁾ Tollens, Handbuch der Kohlenhydrate. Breslau 1888. S. 151.

³⁾ Ebenda S. 152.

⁴⁾ Bial, a. a. O. S. 149.

lange ausgedehnt haben, dass, wenn überhaupt Zucker entstehen konnte, dieser in analytisch wohl nachweisbarer Menge vorhanden war, so konnte die Jodreaction meist nur anzeigen, dass entweder die Stärke oder das Glykogen gar nicht oder so gut wie gar nicht umgewandelt war, oder durch ihr gänzliches Ausbleiben anzeigen, dass der ursprüngliche Körper oder ihm nahe stehende, gleichfalls noch mit Jod reagirende nicht mehr vorhanden waren. Wir haben es nie verfehlt die Jodreaction am Ende der Versuche zu machen, aber tatsächlich bewegten sich bei Anwendung immer gleicher Mengen der zu untersuchenden Flüssigkeit und des Reagens die Resultate immer in den angedeuteten beiden Extremen, so dass die Jodreaction der viel feinere Unterschiede angebenden Titration mit Fehling'scher Lösung gegenüber nicht in's Gewicht fällt.

In den Tabellen 1a und 1b haben wir die Versuchsresultate zusammengestellt, welche wir in neutralen Lösungen erhalten haben.

Col. 1 giebt in römischen Ziffern (siehe oben) die Nummern der Gesamtversuche an, denen jeder Einzelversuch angehört, Col. 2 und 3 machen die nötigen Angaben über die Menge und Concentration der zu hydrolysirenden Körper und der dabei in Anwendung gezogenen diastatischen Fermente; in Col. 3 und ihren Unterabtheilungen sind zunächst die Titrationsresultate mit und ohne Kohlensäurewirkung neben einander gestellt und weiter wird darin angegeben, in welchen Versuchen die Kohlensäure unter dem Druck von 21 mm Quecksilbersäule wirkte. Die letzte Colonne giebt die Dauer der Versuche in Minuten an.

Die Tension der Kohlensäure im Blute entspricht bekanntlich im Mittel einer Quecksilbersäule von etwa 21 mm¹). Wir haben dies nachzuahmen gesucht, um eine eventuell dadurch veranlasste Änderung des Versuchsresultates erkennen zu können. Der eine von uns (Schulze) construirte zu dem Zweck folgenden kleinen Apparat (vgl. nebenstehende Figur).

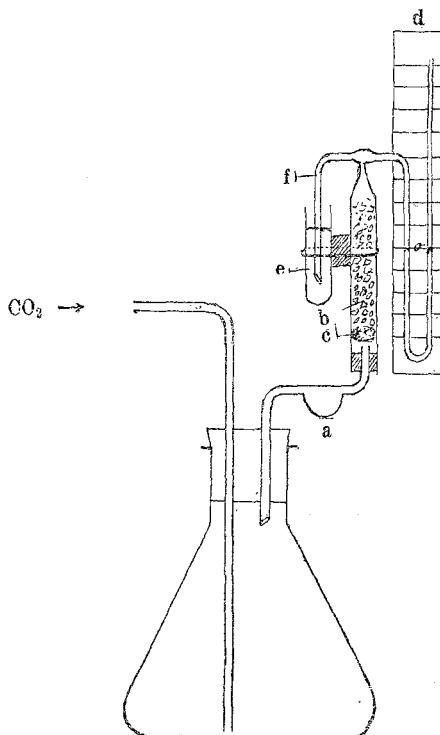
Die betreffenden Versuchskölbchen waren zu dem Zwecke mit doppelt durchbohrten Gummistopfen versehen, durch deren eine Bohrung das bis auf den Boden des Kölbchens reichende

¹⁾ Hammarsten, Lehrbuch der physiologischen Chemie. Wiesbaden 1891.
S. 85.

Einleitungsrohr für die Kohlensäure ging, während die andere das Rohr zur Ableitung der überschüssigen Kohlensäure aufnahm. Letzteres hatte an seinem horizontalen, ausserhalb des Kölbens befindlichen Ende eine Ausbauchung a zur Aufnahme von Condenswasser. Weiterhin war das Ableitungsrohr wieder aufwärts gebogen und trug auf seiner Spitze ein übergeschobenes und vermittelst eines passenden Stückchen Gummischlauchs gedichtetes Rohr b, das mit Chlorcalciumstückchen, die auf dem Glaswollbausch c ruhten, gefällt war. Sie dienten dazu, die abströmende Kohlensäure zu trocknen, damit nicht die Feuchtigkeit das Quecksilber des an den Kopf des Chlorcalcium-

rohres auf der einen Seite angeschmolzenen Manometers d und des auf der anderen Seite befindlichen Widerstandsgefäßes e untauglich mache. Die Anordnung des Manometers ist aus der Figur ersichtlich; als Skala diente ein Streifen Millimeterpapier.

Der Ansatzstelle des Manometers gegenüber befand sich das Ableitungsrohr f, das die nunmehr getrocknete Kohlensäure in das Quecksilber des Widerstandsgefäßes e hineinleitete. Letzteres war durch ein Stückchen Kork und ein Gummiband an dem Chlorcalciumrohr befestigt, und daran auf und nieder schiebbar. Man konnte also durch Verschieben des gefüllten Quecksilbergefäßes der durch f abströmenden Kohlensäure einen Widerstand entgegengesetzen, der von dem Manometer direct angezeigt wurde.



Es liess sich leicht so einrichten, dass das Manometer einen Kohlensäuredruck von 21 mm Quecksilber angab. Es kam dann nur noch darauf an, durch geeignete Stellung des Glashahnes der Zuleitungsröhre den Gasstrom so zu reguliren, dass er nicht stossweise durch das Quecksilber hindurchtrat, in welchem Falle natürlich auch das Manometer einen fortwährend wechselnden Druck anzeigen würde. Der nöthige Ueberdruck der Kohlensäure selbst wurde durch entsprechende Erhöhung der obersten, die Säure enthaltenden Kugel des Kipp'schen Apparates erzielt.

III. Tabellarische Uebersicht der Versuche.

In Tab. 1a zeigt die Kohlensäure in neutraler Lösung stets eine stark hindernde Wirkung auf Saccharification durch die diastatischen Fermente. Änderungen in der Concentration des Stärkekleisters, sowie in der Versuchsdauer änderten an dem allgemeinen Versuchsresultat nichts.

Die Versuche XXXI und XXXI a mit Blutserum machen nur eine scheinbare Ausnahme, denn durch den Zusatz von 5 ccm ziemlich stark alkalischen Blutserums zur Glykogenlösung waren wohl mehr die Bedingungen für eine Kohlensäurewirkung in alkalischer Lösung, welche in derselben die Wirksamkeit der diastatischen Fermente befördert (s. Tab. 2a), geschaffen. Vielleicht waren es auch außerdem noch die mit dem Blutserum hineingebrachten Blutsalze, welche ähnlich, wie das künstliche Blutsalzgemisch (vergl. Tab. 3a), die Fermentwirkung noch unterstützten.

Dass das diastatische Blutferment übrigens sich nicht anders verhält, wie die anderen thierischen diastatischen Fermente, geht aus Versuch XXXVI Tab. 1a hervor, bei dem es in Glycerinlösung in neutraler Flüssigkeit ebenfalls durch Kohlensäure in seiner Wirksamkeit gehindert wurde.

Die Versuche der Tab. 1a geben also ein den Schierbeck'schen Versuchen¹⁾ direct entgegengesetztes Resultat, der in neutraler Lösung stets eine fördernde Wirkung der Kohlensäure constatiren konnte, und bestätigen durchaus die früheren Versuche Ebstein's. Wir wollen aber nicht unterlassen, hervorzuheben,

¹⁾ Schierbeck, a. a. O. S. 353 ff.

T a b e l l e 1 a.

Reaction neutral.

Versuchs- No.	Zu hydrolysirende Substanz.	Ferment.	Maltose (pCt.) , entstanden		Ver- suchs- dauer in Min.
			mit CO_2	ohne CO_2 .	
I.	Je 100 ccm Stärkekleister 1 pCt.	Je 2 ccm filtrirter Speichel 1 : 20	0,53	0	300
II.	-	-	0,98	Spuren	135
III.	-	-	1,21	Spuren	180
IV.	-	-	1,18	Spuren	240
VI.	Je 50 ccm Glykogenlös. 1	-	0,33		
XXXVII.	Je 100 ccm Stärkekleister 1	-	0,51	Spuren	95
XXXVIII.	Je 50 ccm Glykogenlös. 1	-	0,58	0,08	75
XXXIX.	-	-	0,45	Spuren	60
XIII.	-	-	0,50	Spuren	60
XIV.	-	-	0,34	Spuren	75
XX.	-	-	0,28		
XXI.	-	-	0,36	Spuren	90
XXVII.	Je 100 ccm Stärkekleister 2	-	0,98	0,36	90
XXXIX.	-	-	0,95	0,47	75
XXX.	-	-	0,88	0,25	150
XXXI.	Je 50 ccm Glykogenlös. 1	-	0,77	0,72	900
XXXIa.	-	-	0,41	0,41	240
XXXVI.	Je 100 ccm Stärkekleister 1	-	0,17	Spuren	480
XXXII.	-	-	1,03	0,5	90
XXXIII.	-	-	0		300
XXXIV.	-	-	etwa 0,097	Spuren	480
XXXV.	-	-	etwa 0,092	Spuren	480

Dex-
trose.

dass wir die Kohlensäure stets durch die Flüssigkeit hindurchgeleitet haben, während Schierbeck, um Schäumen derselben zu vermeiden, die Kohlensäure nur übergeleitet hat, und, um trotzdem eine Sättigung der Flüssigkeit mit derselben zu erzielen, die Versuchskolben öfter umschüttelte (Schierbeck, a. a. O. S. 348).

Wir müssen jedoch von einer Reihe von Ausnahmen berichten, die in der Tabelle 1 b zusammengestellt sind.

T a b e l l e 1 b.

Reaction: neutral.

Ver- suchs- No.	Zu hydrolysirende Substanz.	Ferment.	Maltose pCt. entstanden mit CO_2		Durchleit. Druck unt. 21 mm Hg.	Versuchsdauer in Minuten.
			ohne CO_2 .	einfache Durchleit.		
VII.	Je 100 ccm Stärke- kleister	2,5 pCt.	Je 3 ccm filtr. Speichel 1:3	1,27		1,56
VIII.	-	2,5 -	- 5 - - 1:5	1,48		1,46
IX.	Je 50 ccm Glyko- genlösung	1 -	- 2,5 - - 1:5	0,44		0,51
X.	-	1 -	- 1,5 - - 1:5	0,38	0,49	60
	-	1 -	Je 1,5 ccm filtr. u. neu- tralisierte Speichel I	1:5	0,48	0,51
XI.	-	1 -	Je 1,5 ccm filtr. nicht neutral. Speichel I	1:5	0,41	0,52
	-	1 -	Je 1,5 ccm filtr. nicht neutral. Speichel II	1:5	Spuren	etwa 0,15
XII.	Je 25 ccm Glyko- genlösung	1 -	Je 1,5 ccm Speichel I 1:5	0,46	0,52	60
			Je 3,0 ccm Speichel II 1:5	0,24	0,30	

Zur Orientirung diene Folgendes:

Als wir unsere Versuche einige Zeit unterbrechen mussten um die oben (S. 482) erwähnten Vorbereitungen zur Einleitung der Kohlensäure unter Druck zu treffen, stellte sich bei Wiederaufnahme der Versuche heraus, dass die Kohlensäure keine hindernde Wirkung auf den Speichel ausübt, obgleich derselbe von derselben Person, welche den zu den früheren Versuchen dienenden Speichel geliefert hatte, stammte, und obwohl dieselbe Stärke und das gleiche Glykogen benutzt wurden.

Da bei den hier in Betracht kommenden Versuchen die Kohlensäure unter 21 mm Quecksilberdruck (cf. Tab. I b VII u. folg.) eingeleitet wurde, so lag es nahe, zunächst daran zu denken, dass die Änderung des Versuchsresultates dadurch hervorgerufen sei. Dass dem aber nicht so war, darüber belehrte uns der Versuch X, bei dem auch ohne Druckwirkung der Kohlensäure die besprochene Abweichung in der Speichelwirkung sich zeigte.

In Versuch XI arbeiteten wir nun, daran denkend, eine etwas erhöhte Alkalität des Speichels könne möglicherweise die Ursache des abweichenden Ergebnisses sein, mit Speichel (I von der früheren und II von einer zweiten Person), der durch Milchsäurezusatz derart neutralisiert war, dass empfindlichstes Lakmuspapier keine Farbenänderung zeigte. Aber auch hier war, wie aus der Tabelle ersichtlich ist, kein anderes Resultat zu bemerken. Speichel II zeigte überdies nur eine äusserst geringe Wirksamkeit.

In Versuch XII wurden Speichel I und II noch einmal in nicht neutralisiertem Zustande geprüft. Die Glykogenlösung befand sich hier aber in weiten Reagensgläsern, so dass die Kohlensäure eine sehr hohe Flüssigkeitsschicht durchströmen musste. Von Speichel II wurde seiner geringen Wirksamkeit wegen eine grössere Menge genommen. Das Resultat änderte sich jedoch auch so nicht. Die Höhe der von der Kohlensäure durchströmten Flüssigkeitsschicht ist also ohne Einfluss auf die Fermentwirkung.

Wir brachen damit die Versuche mit Speichel ab, und gingen zur Prüfung der übrigen Fermente über, bei denen wir nie ein von den ersten Speichelversuchen abweichendes Resultat erhielten (Tab. 1 a).

Nach Beendigung dieser Versuche kamen wir jedoch noch einmal auf die Versuche mit Speichel zurück; es wurde wieder Speichel I von derselben Person benutzt (Tab. 1 a, XXXVII und XXXVIII) und nun fand sich, dass das ursprüngliche Verhältniss wieder hergestellt war, das heisst, es wirkte die Kohlensäure in neutraler Lösung wieder hindernd auf den Speichel, desgleichen auf das aus 50 ccm desselben durch Fällen mit Alkohol u. s. w. dargestellte und in Glycerin gelöste Ptyalin (Tab. 1 a, XXXIX).

Wir müssen die Frage nach dem Grunde der in Tab. 1 b angeführten Ergebnisse offen lassen, wir müssen sie aber um so mehr hervorheben, als ja Schierbeck bei allen seinen Versuchen mit Speichel in neutraler Lösung eine fördernde Wirkung der Kohlensäure constatirt hat.

Es ist noch kurz darauf hinzuweisen, dass, wie aus Tab. 1 a XIV und Tab. 1 b VII—IX hervorgeht, die unter dem Drucke von 21 mm Quecksilbersäule stehende Kohlensäure keine Aenderung ihrer Wirkung auf die Verzuckerung zeigt.

Tab. 2 a enthält nun die Resultate, welche wir in alkalischem Stärkekleister und in alkalischer Glykogenlösung ohne und mit Kohlensäurewirkung erhalten haben.

Tabelle 2a.

Reaktion alkalisch.

Versuchs- No.	Zu hydrolysirende Substanz.	Ferment.	Je 100 ccm Stärkeleister 1 pCt.	Je 2 ccm filtrirter Speichel 1 : 20	Maltose (pCt.) entstanden mit CO_2		Ver- suchs- dauer in Min.
					Alkali: Art und Concen- tration.	ohne CO_2 .	
I.	-	1	-	-	0,02 pCt. NaHCO_3	0	300
	-	2	-	-	0,02 pCt. NaHCO_3	0,33	
II.	-	2	-	-	0,01 pCt. NaHCO_3	0,68	135
	-	4	-	-	0,01 pCt. NaHCO_3	0,42	
III.	-	2	-	-	0,01 pCt. NaHCO_3	0,54	480
	-	4	-	-	0,01 pCt. NaHCO_3	0,42	
IV.	-	2	-	-	0,01 pCt. NaHCO_3	0,42	180
	-	5	-	-	0,01 pCt. NaHCO_3	0,42	
V.	-	2	-	-	0,01 pCt. NaHCO_3	0,42	240
	-	3	-	-	0,01 pCt. NaHCO_3	0,42	
XXXVII.	-	2	-	-	0,03 pCt. Na_2HPO_4	0,67	1,29
	-	3	-	-	0,03 pCt. Na_2HPO_4	0,41	
VI.	-	3	-	-	0,01 pCt. Na_2HPO_4	0,41	1,78
	-	2	-	-	0,03 pCt. Na_2HPO_4	0,92	
	-	1	-	-	0,03 pCt. Na_2HPO_4	0,92	1,76
	-	2,5	-	-	0,03 pCt. Na_2HPO_4	0,24	1,79
	-	1	-	-	0,02 pCt. Na_2HPO_4	0,57	1,74
	-	1	-	-	0,02 pCt. Na_2HPO_4	0,45	95
	Je 50 ccm Glykogenlös.	1	-	-	0,02 pCt. Na_2HPO_4	0,45	

VII.	Je 100 ccm Stärkekleister	2,5	-	3	-	-	-	-	1 : 3	Na ₂ CO ₃	Spuren	1,15
VIII.	-	2,5	-	5	-	-	-	-	1 : 5	Na ₂ CO ₃	Spuren	1,56
IX.	Je 50 ccm Glykogenlös.	1	-	2,5	-	-	-	-	1 : 5	Na ₂ CO ₃	Spuren	1,56
X.	-	1	-	1,5	-	-	-	-	0,02 p.Ct.	Na ₂ CO ₃	Spuren	60
XII.	-	1	-	½	-	Pankreasferment I	-	-	0,02 p.Ct.	Na ₂ CO ₃	Spuren	0,49
XIV.	-	1	-	½	-	-	-	-	0,01 p.Ct.	Na ₂ CO ₃	Spuren	60
XV.	-	1	-	½	-	-	-	-	0,02 p.Ct.	Na ₂ CO ₃	Spuren	75
XVII.	Je 100 ccm Stärkekleister	2	-	1	-	Pankreasferment II	-	-	0,02 p.Ct.	Na ₂ CO ₃	Spuren	0,37
XXVII.	-	2	-	1	-	-	-	-	0,02 p.Ct.	Na ₂ CO ₃	Spuren	60
XXVIII.	-	2	-	1	-	Pankreasferment III	-	-	0,1 p.Ct.	Na ₂ CO ₃	Spuren	90
XXIX.	-	2	-	1	-	-	-	-	0,01 p.Ct.	Na ₂ CO ₃	Spuren	75
XXX.	-	2	-	1	-	Submaxillarisferment	-	-	0,02 p.Ct.	Na ₂ CO ₃	Spuren	150
XXXI.	Je 50 ccm Glykogenlös.	1	-	5	-	Blutserum	-	-	0,02 p.Ct.	Na ₂ CO ₃	Spuren	900
XXXI a.	-	1	-	5	-	-	-	-	0,02 p.Ct.	Na ₂ CO ₃	Spuren	240
XXXVI.	Je 100 ccm Stärkekleister	1	-	2,5	-	Blutferment in Glycerin	-	-	0,02 p.Ct.	Na ₂ CO ₃	Spuren	480
XXXII.	-	2	-	1	-	Pankreasferment IV	-	-	0,04 p.Ct.	Na ₂ CO ₃	Spuren	90
XXXIII.	-	1	-	2,5	-	Muskelferment	-	-	0,03 p.Ct.	Na ₂ CO ₃	Spuren	300
XXXIV.	-	1	-	2	-	Nierenferment	-	-	0,02 p.Ct.	Na ₂ CO ₃	Spuren	480
XXXV.	-	1	-	2,5	-	Leberferment	-	-	0,02 p.Ct.	Na ₂ CO ₃	Spuren	480

Unsere Resultate decken sich hier insoweit vollständig mit denen Schierbeck's, als wir, ebenso wie er, bei einer Alkalität von 0,01—0,03 pCt. Na_2CO_3 stets eine stark hindernde Wirkung des Alkalins und dem gegenüber eine stark fördernde Wirkung der Kohlensäure haben bemerken können. Die Erscheinung ist dabei unabhängig von der Art des Alkalins, wie aus den Versuchen I, II, III, IV, V und XXII dieser Tabelle hervorgeht, in denen wir die Alkalität durch NaHCO_3 , Na_2HPO_4 , $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ und K_2CO_3 hervorriefen.

Bei der Einwirkung der Kohlensäure unter 21 mm Quecksilberdruck zeigte sich auch hier keine Abweichung im Resultat.

In Tab. 2b haben wir nun eine Versuchsreihe zusammengestellt, in der wir am Pankreasferment I den Einfluss der Kohlensäure bei grösseren Unterschieden in den Alkalitätsgraden festzustellen suchten.

T a b e l l e 2 b.

Alkali verschiedener Concentration.

Ver- suchs- No.	Zu hydrolysirende Substanz.	Ferment.	Na_2CO_3 in ver- schiede- ner Con- centrat. pCt.	Maltose (pCt.), entstanden		Versuchsdauer in Minuten.
				ohne CO_2 .	mit CO_2 .	
XV.	Je 50 ccm Glykogenlös. 1 pCt.	Je $\frac{1}{2}$ ccm Pankreasferm. I	0,1	0	0,35	75
			0,01	Spuren	0,21	
			0,001	0,22	Spuren	
			1,0	0	Spuren	
XVI.	-	-	0,125	0	0,44	90
			0,01	Spuren	0,16	
			0,001	0,38	$< 0,1$	
			0,0005	0,37	$< 0,1$	
XVII.	-	-	1,0	0	Spuren	90
			0,1	Spuren	0,44	
			0,01	wenig	0,17	
			0,001	0,37	wenig	
XVIII.	-	-	0,0005	0,41	Spuren	90
			0,5		0,39	
			0,25		0,41	
			0,1		0,45	
			0,075		0,45	
			0,05		0,45	

Versuch XV dieser Tabelle lehrt, dass bei einer Alkalität von 0,1 pCt. Na_2CO_3 ohne Kohlensäure in Folge der hindernden Wirkung des Alkalins keine saccharificirende Wirkung des Fer-

mentes stattgefunden hat, während bei gleichzeitiger Kohlensäurewirkung 0,35 pCt. Maltose entstanden waren.

Bei einer Alkalität von 0,01 pCt. waren ohne Kohlensäure Spuren von Zucker und mit Kohlensäure 0,21 pCt. Maltose entstanden.

Beträgt jedoch die Alkalität nur etwa 0,001 pCt. Na_2CO_3 so hat sich, wie aus Versuch XV Zeile 3 hervorgeht, das Resultat gegenüber dem der Zeile 1 umzukehren angefangen, das heisst die minimale Menge Alkali allein hat nur noch wenig hindernd auf das Ferment eingewirkt, während bei gleichzeitig durchströmender Kohlensäure die hindernde Wirkung dieser als Säure zu überwiegen anfängt.

Derselbe Versuch ist unter No. XVI und XVII noch zweimal wiederholt. Die Alkalität nimmt hier bei 1 pCt. Na_2CO_3 beginnend im Allgemeinen immer um das 10fache bis 0,001 und dann noch um das $\frac{1}{2}$ fache (0,0005 pCt. Na_2CO_3) ab.

Von 1 pCt. bis 0,001 pCt. Na_2CO_3 wiederholt sich die bereits oben bei Vers. XV geschilderte Erscheinung und bei 0,0005 pCt. Alkali entsteht ohne CO_2 beinahe eben so viel Zucker wie bei 0,1 pCt. Alkali mit CO_2 .

Bei etwa 0,01 pCt. Na_2CO_3 scheint der Punkt zu liegen, von welchem an bei einer bis zu einer gewissen Grenze erhöhten Alkalität die Kohlensäure im Stande ist, eine fördernde Wirkung auszuüben, und von welcher an bei verminderter Alkalität die hindernde Wirkung der CO_2 zu überwiegen anfängt.

Das Optimum der Wechselwirkung zwischen Alkali und Kohlensäure erscheint hiernach bei etwa 0,01 pCt. Na_2CO_3 zu liegen und es sind unter No. XVIII einige Versuche mit CO_2 gemacht bei Alkalitätsgraden, die nahe bei 0,1 pCt. Na_2CO_3 liegen.

Dabei ergab sich, dass bei 0,5 und 0,25 pCt. Na_2CO_3 das Alkali der CO_2 gegenüber noch etwas überwiegt, dass von 0,1 bis 0,05 pCt. Na_2CO_3 aber die verschiedenen Alkalitätsgrade keine merkliche Änderung der Zuckerbildung bewirken.

Für das von uns bei diesen Versuchen angewandte Pankreasferment I kommen wir also zu einem anderen Resultate wie Schierbeck¹⁾ für den von ihm angewandten Speichel und den in einem Falle gebrauchten wässrigen Pankreasauszug.

¹⁾ Schierbeck, a. a. O. S. 353 u. 354. Tab. III. und S. 356. Tab. VIII.

Bei ersterem hat genannter Forscher noch eine fördernde Wirkung der Kohlensäure bei 0,0005 pCt. und bei letzterem bei 0,006 pCt. Na_2CO_3 nachweisen können.

In der Tabelle 2c sind bei einer Alkalität von 0,02 pCt. Na_2CO_3 eine Anzahl von Kohlensäure-Luftgemischen zur Anwendung gekommen, und es zeigt sich, dass noch bei einem Verhältniss von 90 pCt. Luft und 10 pCt. Kohlensäure die fördernde Wirkung der Kohlensäure unvermindert zur Geltung kommt. Bei 5 pCt. und noch mehr bei 1 pCt. zeigt sich eine Abnahme derselben. Doch ist die fördernde Wirkung der in der atmosphärischen Luft enthaltenen CO_2 noch erkennbar wie sich aus dem Vergleich mit CO_2 freier Luft ergiebt. (Vergl. Tab. 2c XX u. XXI.)

T a b e l l e 2 c.

Luft-Kohlensäuregemische. Alkali: 0,02 pCt. Na_2CO_3 .

Ver- suchs- No.	Zu hydrolysirende Substanz.	Ferment.	Gas, bezw. Gasge- misch.	Maltose (pCt.) entstan- den.	Ver- suchs- dauer in Min.
XIX.	Je 50 ccm Glykogenlös. 1 pCt.	Je $\frac{1}{2}$ ccm Pankreasferm. I	$\frac{\text{Luft}}{\text{CO}_2} : \frac{50}{50}$	0,37	90
	-	-	$\frac{\text{Luft}}{\text{CO}_2} : \frac{75}{25}$	0,36	
	-	-	$\frac{\text{Luft}}{\text{CO}_2} : \frac{90}{10}$	0,38	
XX.	-	-	$\frac{\text{Luft}}{\text{CO}_2} : \frac{95}{5}$	0,35	90
	-	-	$\frac{\text{Luft}}{\text{CO}_2} : \frac{99}{1}$	0,29	
	-	-	atmosphär.	etwa 0,14	
XXI.	-	-	$\text{CO}_2\text{-freie}$ Luft	Spuren	90
	-	-	CO_2	0,38	
	-	-	ohne ein durchgelei- tetes Gas.	Spuren	

Auf eine Abhängigkeit der Fermentwirkungen von der gleichzeitigen Anwesenheit von Salzen hat besonders O. Nasse¹⁾ hin-

¹⁾ O. Nasse, Untersuchungen über die ungeformten Fermente. Pflüger's Archiv f. Physiologie. 11. 138—166. (Citirt nach: Maly, Jahresbericht der Thierchemie. 5. 1875. S. 262.

gewiesen. Für eine Reihe von Fermenten fand er, dass gewisse Salze eine hemmende, andere eine fördernde Wirkung auf die Fermentthätigkeit ausüben.

E. Pfeiffer¹⁾ hat dann besonders für das Kochsalz eine ausserordentlich fördernde Wirkung hauptsächlich dem Pankreasferment gegenüber nachgewiesen, während dasselbe Salz auf Speichel keine fördernde Wirkung zeigte. Natrium- und Magnesiumsulfat zeigten hingegen eine Verlangsamung der Fermentwirkung.

Da also zweifellos einer der Factoren, die man zu berücksichtigen hat, wenn man sich von der Wirkungsart der Fermente im Organismus ein Bild zu machen versucht, die in den Körpersäften enthaltenen Salze bilden, so haben wir gesucht diesem Verhältniss, so weit es möglich war, dadurch gerecht zu werden, dass wir die Fermente in einer Flüssigkeit wirken liessen, die neben dem zu hydrolysirenden Kohlenhydrat eine Salzmischung enthielt, die möglichst genau den Salzen des Blutes entspricht.

Nach Hoppe-Seyler²⁾ enthält das Menschenblutserum:

Kochsalz	4,92	pro mille
Natriumsulfat	0,44	- -
Natriumcarbonat	0,21	- -
Natriumphosphat	0,15	- -
Calciumphosphat	0,73	- -
Magnesiumphosphat		

und wir prüften nun Flüssigkeiten, welche die oben genannten Salze in den von Hoppe-Seyler für das Blutserum gefundenen Mengenverhältnissen enthielten.

Als Kochsalz benutzten wir dasjenige des Handels, welches den Bestimmungen der Pharm. Germ. III entspricht; durch Erhitzen wurde es von seinem mechanisch anhaftenden Wasser befreit.

Reines Natriumsulfat erhielten wir durch Umkristallisiren

¹⁾ E. Pfeiffer (Wiesbaden), Einfluss einiger Salze auf verschiedene künstliche Verdauungsvorgänge. Mittheilungen d. aml. Lebensmitteluntersuchungsanstalt und chem. Versuchsstation zu Wiesbaden 1883/84. (Ref. Maly's Jahresbericht für Thierchemie. 14. 1884. S. 278.)

²⁾ Landois, Lehrbuch der Physiologie des Menschen. 8. Auflage. S. 59. Wien und Leipzig 1893.

von käuflichem Glaubersalz; durch Erhitzen wurde das Krystallwasser ausgetrieben und das Salz ebenfalls wasserfrei hergestellt.

Reines Natriumcarbonat stellten wir in der üblichen Weise durch schwaches Glühen von käuflichem Natriumbicarbonat her.

Natriumphosphat, das Salz von der Formel $\text{Na}_2\text{HPO}_4 + 12 \text{ Aq.}$, erhielten wir durch Umkristallisiren des käuflichen Phosphates. Eine Wasserbestimmung durch Glühverlust bestätigte uns die richtige Zusammensetzung. Die von Hoppe-Seyler (a. a. O.) gefundene Menge von 0,15 pro mille Na_2HPO_4 beträgt umgerechnet auf $\text{Na}_2\text{HPO}_4 + 12 \text{ Aq.}$ 0,3781 pro mille; und es kam demgemäß soviel des wasserhaltigen Salzes zur Verwendung.

Die beiden Erdkaliphosphate wurden ebenso wie das Natriumphosphat als einfach saure Salze verwendet. Ihre Darstellung gelingt gut durch allmähliches Zusammenbringen äquivalenter Mengen von Chlorcalcium bezw. Chlormagnesium oder Magnesiumsulfat und Dinatriumphosphat. Sind die zusammengegossenen Lösungen genügend verdünnt, so verwandeln sich die anfangs amorphen Niederschläge bald in feine Krystallmassen, die sehr gut auszuwaschen sind, und meist auch nach schnellem Trocknen zwischen Filtrirpapier und im Exsiccator bei der Bestimmung des Glühverlustes den richtigen Wassergehalt von 2HO für CaHPO_4 und 7HO für MgHPO_4 anzeigen.

Für Calcium- und Magnesiumphosphat zusammen hat Hoppe-Seyler (a. a. O.) eine Gesamtmenge von 0,73 pro mille für das Menschenblutserum angegeben, verteilt man diese Menge gleichmässig auf die beiden Phosphate (wasserfrei), so gelingt es nicht von jedem eine Menge von 0,365 pro mille bezw. 0,4616 pro m. $\text{CaHPO}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$ und 0,7482 pro m. $\text{MgHPO}_4 + 7\text{HO}$ (auf wasserhaltiges Salz berechnet) in Lösung zu bringen.

Wir sind immer so vorgegangen, dass wir gleiche Mengen einer Lösung, welche die Blutsalze in doppelter Concentration enthielt und in denen das nicht gelöste Calcium- und Magnesiumphosphat möglichst gleichmässig aufgeschüttelt war, zusammenmischten mit gleichen Mengen Stärkekleister oder Glykogenlösung, die beide Kohlenhydrate ebenfalls in doppelter Concentration enthielten, um schliesslich das gewünschte Volumen 1 bis 2prozentigen Stärkekleisters oder 1prozentiger Glykogenlösung zu

bekommen, welches ausserdem noch die Blutsalze in der auf Seite 493 angegebenen Concentration enthielt. Von dem ueberschüssigen Magnesium- und Calciumphosphat könnten sich dann immer die den jeweiligen Bedingungen entsprechenden Mengen lösen.

Die Reaction eines solchen die Blutsalze enthaltenden Stärkekleisters ist natürlich eine deutlich alkalische, denn sie enthält 0,21 pro mille = 0,021 pCt. Natriumcarbonat, eine Menge, die nach den in Tab. 2a niedergelegten Versuchserfahrungen vollauf genügt, um die saccharificirende Wirkung der Fermente aufs Aeusserste zu schädigen. Dazu kommt, um die Alkalität weiterhin etwas zu erhöhen, noch 0,15 pro mille Na_2HPO_4 , dass nach Tab. 2a in genügender Concentration ebenfalls auf die Fermente hindernd wirkt. Auch eine concentrirte Lösung von Magnesiumphosphat, bereitet durch Schütteln des Salzes mit Wasser in der Kälte, (beim Erwärmen zersetzt es sich bekanntlich) reagirt deutlich alkalisch.

Wie aus Tab. 3a Col. 4 hervorgeht, zeigt sich nun die sehr bemerkenswerthe Erscheinung, dass den in den Flüssigkeiten befindlichen alkalischen Salzen gegenüber die übrigen Salze dieselbe Rolle wie die Kohlensäure spielen können, das also die hindernde Wirkung des Alkali wie sonst durch Kohlensäure, so hier durch die nicht alkalisch reagirenden Blutsalze aufgehoben wird.

Wie schon eingangs dieser Arbeit erwähnt wurde bilden die in den einzelnen Tabellen gleich numerirten Einzelversuche zusammen einen auf einmal und zu gleicher Zeit angestellten Gesamtversuch.

Vergleicht man also die Versuche der Tab. 3a mit den gleich numerirten der Tab. 1a bzw. 2a, so ergiebt sich, dass unter dem Einflusse des Blutsalzgemisches die Saccharification mindestens ebenso weit geht oft sogar noch weiter wie in neutraler Lösung ohne Kohlensäure oder in alkalischer mit Kohlensäure.

Die Zahlen der Col. 4 und 5 der Tab. 3a zeigen ferner, dass durchgeleitete Kohlensäure in einer die Blutsalze enthaltenen Lösung die Saccharification meist noch um ein Geringes befördert gegenüber einer nicht mit Kohlensäure behandelten Blutsalzlösung.

Keinen Unterschied macht es, wie aus dem Versuch XXIV der Tab. 3a hervorgeht, wenn die Natriumsalze des Blutgemisches ersetzt werden durch die entsprechenden Kaliumsalze.

T a b e l l e 3 a.

Blutsalzgemisch.

Ver- suchs- No.	Zu hydrolysirende Substanz.	Ferment.	Maltose (pCt.): ent- standen ohne mit CO ₂ CO ₂		Versuchsdauer in Minuten.
XXIII.	Je 50 ccm Glykogenlös. 1 pCt.	Je $\frac{1}{2}$ ccm Pankreasfern. I	0,42	0,5	60
XXVIII.	Je 100 ccm Stärkekleist. 2 -	- 1 - - II	0,91	1,00	75
XXIX.	- 2 -	- 1 - - III	1,01	1,02	75
XXX.	- 2 -	- 1 - Submaxillarisfern.	0,81	1,00	150
XXXI.	Je 50 ccm Glykogenlös. 1 -	- 5 - Blutserum	0,71	0,86	900
XXXIa.	- 1 -	- 5 -	0,25	0,50	240
XXXVI.	Je 100 ccm Stärkekleist. 1 -	- 2,5 - Blutfern. in Glyc.	0,18	0,33	480
XXXII.	- 2 -	- 1 - Pankreasfern. IV	1,42	1,70	90
XXXIII.	- 1 -	- 2,5 - Muskelferment	0,10	0,05	300
XXXIV.	- 1 -	- 2 - Nierenferment	0,12	0,11	480
XXXV.	- 1 -	- 2,5 - Leberferment	0,082	0,12	480
XXXVII.	- 1 -	- 2,5 - filtr. Speichel 1:5	0,40	0,65	75
XXIV.	Je 50 ccm Glykogenlös. 1 -	- $\frac{1}{2}$ - Pankreasfern. I	0,44	0,50	75
	- 1 -	- $\frac{1}{2}$ -	0,43	0,51	Na-Salze. K-Salze.

Es lag nun natürlich die Frage nahe, welchen bezw. welchen von den Blutsalzen diese die Fermentwirkung auch in alkalischer Lösung fördernde Wirkung zukomme. Wir haben deshalb die einzelnen Blutsalze daraufhin geprüft und sind derart verfahren, dass wir zuerst die beiden hauptsächlichen alkalisch reagirenden Bestandtheile Natriumcarbonat und -phosphat einzeln und zusammen in der angegebenen Concentration wirken liessen, und dann in Lösungen, die ausser diesen beiden alkalischen Salzen noch je eins der übrigen Blutsalze enthielten, diese auf ihre Wirkung den beiden ersten gegenüber prüften.

In der Tabelle 3b sind die Versuchsresultate zusammengestellt.

Die Versuchskölbchen enthielten immer je 50 ccm Glykogenlösung von 1 pCt., die ausserdem die in der Tabelle im Einzelnen angegebenen Salze gelöst enthielt. Zugesetzt wurde in jedem Kölbchen $\frac{1}{2}$ ccm Pankreasferment I.

Die Versuchsdauer war bei Versuch XXV a 60 Minuten, bei XXV b 120 Minuten und bei XXVI 90 Minuten.

Versuch XXVb ist eine Wiederholung von XXVa, die Resultate sind deshalb in der Tabelle nebeneinander gestellt.

Im Versuch XXVI sind die beiden Erdalkaliphosphate noch einmal etwas eingehender auf ihre Wirkung hin geprüft.

Als Maasseinheit für den Grad der Verzuckerung unter den verschiedenen Bedingungen kann der letzte Einzelversuch unter XXVI in neutraler Lösung und ohne irgend ein Salz dienen.

T a b e l l e 3 b.

Die Blutsalze im Einzelnen.

Je 50 ccm Glykogenlösung 1 pCt. Je $\frac{1}{2}$ ccm Pankreasferment I.

Ver- suchs- No.	Salze pro mille.	Maltose (pCt.)	
		XXV a. Dauer 60 Min.	XXV b. Dauer 120 Min.
XXV. a u. b.	Na ₂ CO ₃ 0,21	Spuren	Spuren
	Na ₂ HPO ₄ 0,15	0,27	0,33
	Na ₂ CO ₃ 0,21	Spuren	Spuren
	Na ₂ HPO ₄ 0,15		
	NaCl 4,92	0,34	0,40
	Na ₂ CO ₃ 0,21		
	Na ₂ HPO ₄ 0,15		
XXVI. Dauer 90 Min.	Na ₂ SO ₄ 0,44	Spuren	Spuren
	Na ₂ CO ₃ 0,21		
	Na ₂ HPO ₄ 0,15	Spuren	Spuren
	CaHPO ₄ 0,365		
	Na ₂ CO ₃ 0,21	Spuren	Spuren
	Na ₂ HPO ₄ 0,15		
	MgHPO ₄ 0,365	0,14	0,10
	Na ₂ CO ₃ 0,21		
	Na ₂ HPO ₄ 0,15		
XXVI. Dauer 90 Min.	CaHPO ₄ 0,365	Spuren	Spuren
	Na ₂ CO ₃ 0,21		
	Na ₂ HPO ₄ 0,15	Spuren	Spuren
	MgHPO ₄ 0,365		
	Na ₂ CO ₃ 0,21	0,095	0,105
	Na ₂ HPO ₄ 0,15		
	CaHPO ₄ 0,365		
XXVI. Dauer 90 Min.	Na ₂ CO ₃ 0,21	Spuren	Spuren
	MgHPO ₄ 0,365		
	Na ₂ CO ₃ 0,21	0,34	0,308
	MgHPO ₄ 0,365		
	Neutral	0,42	

Aus Versuch XXVa und b geht nun wieder hervor, dass 0,21 pro mille Na₂CO₃ allein die Verzuckerung ziemlich voll-

ständig hindern, 0,15 pro mille Na_2HPO_4 thun es erheblich weniger, bei Gegenwart beider zugleich ist natürlich die Zuckerbildung auch nur eine minimale.

Ist aber ausser Natriumcarbonat und -phosphat noch Chlor-natrium vorhanden, so ist die Zuckerbildung eine reichliche; Natriumsulfat und Calciumphosphat in der angegebenen Menge sind dagegen nicht im Stande der hindernden Wirkung der alkalischen Salze auch nur etwas entgegenzuwirken.

Eine wenn auch nur geringfügige fördernde Wirkung scheint aber auch das Magnesiumphosphat zu haben, trotzdem es nur wenig löslich und diese Lösung ausserdem noch alkalisch ist.

Es geht das auch aus Versuch XXVI hervor, in dem, wie gesagt, die beiden Erdkaliphosphate noch einmal geprüft wurden.

Calciumphosphat hebt die hindernde Wirkung weder des Natriumcarbonats und -phosphat zusammen noch die des ersten allein auf, dagegen entsteht bei Ersatz des Calciumphosphates durch Magnesiumphosphat unverkennbar viel mehr Zucker als wenn nur die beiden alkalischen Salze zusammen oder Natrium-carbonat allein zugegen sind. Die beiden Erdalkaliphosphate allein scheinen eine etwas hindernde Wirkung auf die Fermente in sonst salzfreier neutraler Lösung auszuüben.

Die Versuche haben also ergeben, dass die fördernde Wirkung des alkalischen Blutsalzgemisches wesentlich dem darin enthaltenen Chlornatrium und zum kleinen Theile auch dem Magnesiumphosphat zuzuschreiben ist.

In Tabelle 4 endlich haben wir die Versuchsresultate zusammengestellt, bei denen die Fermente in saurer Lösung mit oder ohne Kohlensäure wirkten. Eine Acidität von 0,01 bis 0,02 pCt. Milchsäure genügte immer, um die Wirksamkeit der Fermente fast völlig lahm zu legen. Die Kohlensäure konnte demgemäß kaum noch eine hindernde Wirkung entfalten. Eine höhere Spannung der Kohlensäure ist auch hier ohne Einfluss.

Die Versuche XXXI und XXXIa können auch hier wieder, wie in den gleichnumerirten Versuchen der Tab. 1a nur als eine scheinbare Ausnahme angesehen werden, wegen der Alkalität des Blutserums, wie in Tab. 1a No. XXXVI zeigt auch hier in Tab. 4 No. XXXVI das Blutferment in Glycerinlösung selbst kein von den übrigen Fermenten abweichendes Verhalten.

T a b e l l e 4.

Reaction sauer.

Versuchs- No.	Zu hydrolysirende Substanz.	Ferment.	Maltose (pCt.), entstanden mit CO_2		Dauer des Ver- suchs in Min.
			Milch- säure ohne CO_2 .	einfache Durch- leitang.	
			pCt.	pCt.	
I.	Je 100 ccm Stärkekleister 1 pCt.	Je 2 ccm filtrirter Speichel 1 : 20	0,02	0	300
VI.	- 50 - Glykogenlös.	- 1 -	1 : 5	0,02	95
VIII.	- 100 - Stärkekleister 2,5	- 5 -	1 : 5	0,02	90
IX.	- 50 - Glykogenlös.	- 2,5 -	1 : 5	0,02	60
XIII.	- 50 -	- 1 -	Pankreasferment I	0,02	75
XIV.	- 50 -	- 1 -	I	0,02	75
XXVII.	- 100 - Stärkekleister 2	- 1 -	II	0,01	90
XXXIX.	- 100 -	- 2 -	III	0,01	75
XXX.	- 100 -	- 2 -	Submaxillarisferment	0,01	150
XXXI.	- 50 - Glykogenlös.	- 1 -	Bluterum	0,01	900
XXXI a.	- 50 -	- 1 -	-	0,73 Dextr.	240
XXXVI.	- 100 - Stärkekleister 1	- 5 -	-	0,03	480
XXXII.	- 100 -	- 2 -	Bluterum in Glycerin	0,21	90
XXXIII.	- 100 -	- 1 -	Pankreasferment IV	Spuren	300
XXXIV.	- 100 -	- 1 -	Muskelferment	Spuren	480
XXXV.	- 100 -	- 1 -	Nierenferment	0,01	480
XXXVII.	- 100 -	- 1 -	Leberferment	Spuren	75
		- 2,5 -	filtrirter Speichel 1 : 5	Spuren	
		- 1 -	- 2,5 -	Spuren	
		- 1 -	- 2,5 -	Spuren	

IV. Schlussfolgerungen.

Als das Resultat unserer Untersuchungen wollen wir heute Folgendes hervorheben:

1) Wir haben bei den von uns untersuchten diastatischen Fermenten in neutraler Lösung eine hindernde Wirkung der Kohlensäure constatiren können (Tab. 1a). Als schwache Säure scheint sie also ebenso zu wirken, wie andere Säuren, z. B. Milchsäure, (vgl. Tab. 4) in entsprechender Verdünnung. Nur beim Speichel scheint die Wirkung der Kohlensäure auch in neutraler Lösung gelegentlich unter z. Th. nicht durchsichtigen Bedingungen eine in geringem Maasse fördernde sein zu können (Tab. 1b).

2) In alkalischer Lösung, die an und für sich der diastatischen Fermentwirkung ungünstig ist, vermag die Kohlensäure die hindernde Wirkung des Alkalis aufzuheben und so die Fermentwirkung zu befördern (Tab. 2a). Jedoch ist dabei nöthig, dass das Alkali mindestens in einer Concentration von etwa 0,01 pCt. Na_2CO_3 vorhanden ist, da sonst die hindernde Wirkung der Kohlensäure überwiegt. Bei höheren Alkalitätsgraden zwischen 0,5—1,0 pCt. Na_2CO_3 anfangend, überwiegt in analoger Weise die hindernde Wirkung des Alkalis (Tab. 2b). Dieselbe wenn auch schliesslich verringerte fördernde Wirkung wie reine Kohlensäure zeigen in alkalischer Lösung mit 0,02 pCt. Na_2CO_3 auch Luftkohlensäuregemische bis herab zu einem Gehalt von 1 pCt. Kohlensäure (Tab. 2c).

3) In alkalischer Lösung von 0,021 pCt. Na_2CO_3 und 0,015 pCt. Na_2HPO_4 können gewisse Salze dieselbe Rolle, wie die Kohlensäure spielen, also die hindernde Wirkung des Alkalis aufheben; es sind das unter den im menschlichen Blutserum enthaltenen Salzen besonders das Kochsalz, und im geringem Maasse auch das Magnesiumphosphat, (angenommen als MgHPO_4) (Tab. 3a u. 3b).

4) Schon eine Acidität der Flüssigkeit von 0,01 pCt. Milchsäure hebt die Wirkung der diastatischen Fermente des Thierkörpers auf.

Einer von uns (Ebstein) behält sich vor, nach Abschluss noch schwedender Untersuchungen auf anderweitige aus den vorstehenden Versuchen etwa zu machende Schlussfolgerungen zurückzukommen.