[Aus dem hygienischen Institut der Universität zu Kristiania.]

Über experimentellen Skorbut.

II. Mitteilung.

Weitere Untersuchungen über das Konservieren und Extrahieren der spezifischen Bestandteile der antiskorbutischen Nahrungsmittel.

Von

Dr. **Axel Holst**,
o. ö. Professor der Hygiene.

und Dr. **Theodor Frölich**,
Kinderarzt.

In unserer 1912 veröffentlichten Arbeit „Über experimentellen Skorbut“¹ wurde dargelegt, daß beim Meerschweinchen Skorbut entsteht, wenn der Nahrung gewisse chemische Verbindungen bisher unbekannter Natur fehlen. Weil diese Verbindungen in den sogenannten antiskorbutischen Nahrungsmitteln enthalten sind, vermögen letztere die Krankheit zu verhüten bzw. zu heilen; weil sie dagegen in den verschiedenen Getreidesorten, in Mehl und Grütze fehlen oder nur in unzulänglichen Mengen vorhanden sind, erzeugen diese Nahrungsmittel bei einseitiger Ernährung die Krankheit.

So weit gelangt, daß wir mit Sicherheit das Vorkommen derartiger Verbindungen annehmen konnten, lag es nahe zu versuchen:

1. ob wir die antiskorbutischen Nahrungsmittel in solcher Weise konservieren könnten, daß sich diese Verbindungen nach längerer Aufbewahrungszeit wirksam erhielten, und

2. ob wir auf chemischem Wege die spezifischen Bestandteile aus den antiskorbutischen Nahrungsmitteln extrahieren könnten.

¹ Diese Zeitschrift. 1912. Bd. LXXII.

Hinsichtlich dem Konservieren schien es zufolge unserer Versuche¹ hoffnungslos, ein solches mittels eines Kochens frischer Vegetabilien zu erzielen, weshalb wir unsere Zuflucht dazu nehmen mußten, durch vorsichtiges Trocknen zu versuchen, die antiskorbutischen Eigenschaften zu konservieren.

Vermittels zahlreicher Versuche brachten wir, wie 1912 besprochen, zunächst ins Reine, daß Löwenzahnblätter, wenn 8 Tage lang bei 37° getrocknet, schon während des Trocknens ihre antiskorbutischen Eigenschaften verlieren, und daß Karotten, selbst wenn sie ihre antiskorbutischen Eigenschaften während des Trockenprozesses nicht einbüßen, dieselben doch zum wesentlichsten Teil verlieren, wenn sie in getrocknetem Zustand einige Monate lang bei Zimmertemperatur aufbewahrt werden, gleichgültig ob sie an der Luft oder im Vakuum getrocknet, oder ob sie in verschlossenen oder offenen Behältern aufbewahrt werden.

Etwas anders gestalteten sich dagegen die Versuche mit Weißkohl, der, bei 37° getrocknet, $\frac{1}{2}$ bis 1 Jahr in offenen oder geschlossenen Behältern bei Zimmertemperatur verblieb; allerdings bekamen auch sämtliche mit Hafer und diesem Kohl gefütterten Tiere Skorbut; jedoch zeigte der in geschlossenen Behältern aufbewahrte Kohl einen entschieden günstigen Einfluß auf die mikroskopischen Veränderungen, vielleicht auch auf die Lebenszeit der Tiere.

Auf dieser Grundlage — indem Kohl uns als Ausgangsmaterial diene — stellten wir unsere weiteren Versuche an.

Aus verschiedenen Gründen glaubten wir annehmen zu können, daß das bessere Resultat des in geschlossenen Behältern aufbewahrten Kohls sich vielleicht dadurch erklären ließ, daß er gegen Feuchtigkeit geschützt war.

Um diese Frage zu entscheiden, stellten wir ferner eine Reihe von Versuchen an, bei denen wir den Kohl $1\frac{1}{2}$ bzw. 6 Monate vor Beginn der Versuche in offenen Behältern im Brutschranke bei 37° stehen ließen. Diese Versuche ergaben, daß der Kohl nach $1\frac{1}{2}$ Monaten in nur unbedeutendem Maße seine antiskorbutische Wirkung eingebüßt hatte, und daß er nach 6 Monaten allerdings weniger präventiv wirkte, aber doch immerhin seine antiskorbutischen Eigenschaften in weit höherem Grade bewahrt hatte als der bei Zimmertemperatur aufbewahrte Kohl.

Wie im Jahre 1912 besprochen, fällt dies Resultat mit einer verhältnismäßig geringen relativen Feuchtigkeit der Luft im Brutschranke zusammen. Dies Ergebnis führte ferner zu folgendem 1912 besprochenen Versuche:

¹ A. a. O. S. 56 ff.

Eine im Thermostat bei 37° und zwar einen Monat lang getrocknete Portion Kohl wurde in zwei gleiche Teile geteilt. Beide Hälften wurden in je einem Brutschranke bei 37° und in je einem offenen Glasgefäße angebracht. Auf den Boden des einen, nicht aber des andern Gefäßes wurde Wasser gegossen, und zwar so, daß der Kohl nur einer Durchfeuchtung mit dem entwickelten Wasserdampfe, nicht aber mit dem Wasser selbst ausgesetzt wurde.

Nach Verlauf von 5 Wochen wurde eine Anzahl Meerschweinchen mit je einer dieser Portionen (+ Hafer) gefüttert, und zwar mit dem Ergebnis, daß die mit dem über Wasser stehenden Kohl gefütterten Tiere nach 27 bis 38 Tagen an ausgesprochenem Skorbut erkrankt waren, während die mit dem trockenen Kohl ernährten Tiere nach 65 Tagen, als sie geschlachtet wurden, nur ganz leichte Zeichen der Krankheit verrieten.

Eine Wiederholung des Versuches ließ den Unterschied noch schärfer hervortreten; denn die mit dem trocken gehaltenen Kohl gefütterten Tiere waren, als sie am 73. Tage getötet wurden, vollständig gesund, während die anderen binnen 48 Tagen an ausgesprochenem Skorbut starben.

Wägungen des über Wasser aufbewahrten Kohls vor und nach dem 5 wöchentlichen Aufenthalte im Brutkasten ergaben, daß er 4 bzw. 1.2 Prozent an Gewicht, bzw. an Wassergehalt zugenommen hatte, während das Gewicht des trocken gehaltenen Kohls beim ersten Versuch nur einen Anstieg von 0.4 Prozent zeigte und beim zweiten Versuch sogar abgenommen hatte; d. h. der Kohl hatte während des Aufbewahrens an Trockenheit gewonnen. Die diesmalige absolute Schutzwirkung des Kohles auf die Tiere ist aller Wahrscheinlichkeit nach diesem letzteren Umstand zuzuschreiben.

Aus diesem Versuche erhellt, daß der getrocknete Kohl, wenn er einer feuchten Luft ausgesetzt wird, seine antiskorbutischen Eigenschaften einbüßt, während sich dieselben in einer Luft, welche verhältnismäßig trocken ist, um vieles besser erhalten. Noch deutlicher tritt dies letztere in einem neuen Versuche zutage (s. Tabelle Ia), demzufolge Kohl, im Februar 1911 getrocknet und 1¼ Jahr lang im Exsikkator über H_2SO_4 aufbewahrt, ebenfalls vermochte, dem Ausbrechen der Krankheit bei unseren Versuchstieren während ca. 2—3 Monaten vorzubeugen.

In diesem neuen wie auch in den vorigen Versuchen kam der Kohl in ungekochtem Zustand zur Verwendung.

Wie gestalten sich aber die Dinge, wenn der getrocknete Kohl vor dem Füttern gekocht wird?

Mit Bezug hierauf möchten wir daran erinnern, daß frischer Kohl, wie 1912 gezeigt, durch ½ bis 1 stündiges Kochen seine antiskorbutische Wirkung zwar etwas einbüßt, jedoch nicht mehr, als daß wir bei Ver-

abreichung dieses Kohles zusammen mit Hafer einige Tiere bis zu 153 Tagen am Leben erhalten haben, ohne daß sie Spuren der Krankheit erkennen ließen.

Aber auch frischgetrockneter Kohl zeigt sich beim Kochen höchst widerstandsfähig; in einigen unserer Versuchsreihen (Tabelle Ib u. c) wurden 12 Tiere mit Hafer und frischgetrocknetem, $\frac{1}{2}$ Stunde in $\frac{1}{2}$ prozentigem Salzwasser bzw. Essigwasser gekochtem Kohl gefüttert; von diesen waren zwar 2 nach 90 bzw. 92 Tagen stark skorbutisch; als aber einige der übrigen nach 123 Tagen getötet wurden, zeigten sie keinerlei Anzeichen von Skorbut.

Dagegen geht es ganz anders, wenn der Kohl nach dem Trocknen eine längere Zeit aufbewahrt wird, selbst wenn Trocken- und Aufbewahrungsverfahren mit größter Sorgfalt beobachtet werden. Es werden dann beim Kochen die antiskorbutischen Verbindungen im Kohl so stark beeinflußt, daß die Lebenszeit der Tiere nicht oder nur wenig verlängert wird, wie auch die meisten, wenn auch nicht alle Tiere beim Ableben das Bild eines ausgesprochenen Skorbutus darbieten (s. Tabelle Id—f).

Selbst wenn wir also durch sorgfältiges Trocknen mit darauffolgender Aufbewahrung bei 37° über H_2SO_4 die antiskorbutischen Eigenschaften 1 $\frac{1}{4}$ Jahr lang zu erhalten vermochten, bleibt uns noch erübrigt, eine Trocken- und Aufbewahrungsmethode ausfindig zu machen, bei welcher der Kohl nach dieser langen Aufbewahrungszeit ebenso thermostabil ist wie der frischgetrocknete Kohl.

Ehe wir zur Besprechung der von uns angestellten Versuche zwecks einer Extrahierung der wirksamen Bestandteile aus den antiskorbutischen Nahrungsmitteln übergehen, möchten wir folgende Ergebnisse unserer Arbeit von 1912 hervorheben:

1. Bei Fütterungsversuchen mit Hafer und 2.5 bzw. 1.0 g^{cm} frischen Kohls pro Tier und Tag verblieben die Tiere bis zu 56 Tagen am Leben und starben, ohne oder fast ohne makro- und mikroskopische Zeichen von Skorbut zu zeigen; mit andern Worten: minimale Mengen eines guten Antiskorbutikums vermochten der Krankheit selbst bei Tieren vorzubeugen, die für Skorbut so empfänglich sind, wie Meerschweinchen.

2. Während frisch gepreßter Kohlsaft — in Dosen von 30 cm pro Tag — die Krankheit zu verhindern vermag, verliert der Kohlsaft einen großen Teil seiner antiskorbutischen Wirkung schon nach zehnminütlicher Erhitzung bis zu 60 bis 70°.

3. Milch, in gleicher Weise behandelt, verliert ebenfalls in wesentlicher Beziehung ihre antiskorbutischen Eigenschaften.

Tabelle I.

Versuche mit getrockneten Weißkohlblättern.

Jedes Tier erhielt täglich eine 30^{grm} des frischen Nahrungsmittels entsprechende Menge des getrockneten Kohles. Außerdem erhielten die Tiere Wasser und so viel Hafer, wie sie fressen wollten.

+ bedeutet ein positives, — ein negatives Resultat der Untersuchungen.

Fütterung	Lebensdauer jedes Tieres in Tagen	Gewicht jedes Tieres am Anfang und Ende des Versuches in grm	Lockerung der Backenzähne	Blutungen um (Anzahl)		Skorbutische Veränderungen des Knochenmarkes in Anzahl mikroskopisch untersuchter Knochen			
				Rippen-epiphysen	Kniegelenke	Rippen	Obere Enden der Tibiae	Untere Enden der Femora	
a) Getrockneter Weißkohl, in einem Exsikkator über konzentrierter H_2SO_4 vom 17. II. 1911 bis 5. VI. 1912 bei 37° aufbewahrt (nach vorhergehendem Trocknen an der Luft im Brutkasten während 8 Tagen). In Wasser aufgeweicht und ohne vorhergehendes Kochen verfüttert.	84 (getötet)	355—337	—	—	—	19 —	2 —	2 —	
	62	332—337	— (?)	—	—	17 —	2 —	2 —	
b) An der Luft (im Brutkasten) während 8 Tagen getrockneter Weißkohl; sofort nach dem Trocknen verfüttert. Vor der Fütterung während 1/2 Stunde mit 1/2 prozent. Salzwasser gekocht.	96	387—430	—	—	—	17 —	2 —	2 —	
	96	410—401	—	—	(Andeut.)	20 — 3 +	2 —	1 — 1 +	
	96	384—390	—	—	—	13 — 4 +	2 —	2 —	
	96	396—368	—	—	—	23 —	2 —	2 —	

e) Derselbe Weißkohl, mit $\frac{1}{2}$ prozent. Essigsäure während $\frac{1}{2}$ Stunde gekocht.

90	411—200	+	3 +	—	13 +	7 —	1 —	1 +	2 —
123 (getölet)	425—496	—	—	—	17 —	—	2 —	—	2 —
123	394—363	—	—	—	17 —	—	2 —	—	2 —
123 (getölet)	451—285	—	—	—	16 —	1 +	2 —	—	2 —
92	431—294	+	14 +	2 +	6 —	13 +	2 +	2 +	1 —
122 (getölet)	405—426	—	—	—	17 —	—	2 —	—	2 —
29	415—325	—	—	—	10 —	1 +	2 —	—	2 —
122 (getölet)	502—370	—	—	—	18 —	1 +	1 +	—	2 —

d) Getrockneter Weißkohl, im Exsikkator über konzentrierter H_2SO_4 vom 17. II. 1911 bis 21. II. 1912 aufbewahrt (nach vorhergehendem Trocknen an der Luft im Brutkasten während 8 Tagen). Vor der Fütterung mit $\frac{1}{2}$ prozent. Salzwasser während $\frac{1}{2}$ Stunde gekocht.

36	440—269	+	—	—	17 —	1 +	2 —	—	2 —
31	332—191	—	—	—	21 —	—	2 —	—	2 —
34	322—219	—	—	2 +	14 +	—	2 +	—	2 —
36 (getölet)	274—182	—	—	—	18 —	—	1 —	1 +	2 —

e) Weißkohl, im Juni 1911 im Brutkasten während 14 Tagen getrocknet. Darauf wurde er in Erlenmeyerische Kolben geschüttet, durch welche ein mittels $CaCl_2$ und H_2SO_4 getrockneter Luftstrom während 21 Tagen geleitet wurde (am Ende des Prozesses zeigte ein eingeschaltetes Hygrometer immerhin noch 3 Prozent Feuchtigkeit). Darauf wurden die Kolben luftdicht geschlossen und 1 Jahr im Brutschrank aufbewahrt. Vor der Fütterung in $\frac{1}{2}$ proz. Salzwasser während $\frac{1}{2}$ Stunde gekocht.

38	361—218	—	5 +	2 +	9 —	9 +	2 +	—	1 —
40 (getölet)	359—278	+	4 +	2 +	14 —	6 +	1 —	1 +	1 —
40 (getölet)	365—329	—	—	2 +	17 —	3 +	2 —	—	2 —
40	339—224	+	4 +	2 +	14 —	6 +	2 +	2 +	1 —

f) Derselbe Weißkohl. Vor der Fütterung in $\frac{1}{2}$ prozent. Essigsäure während $\frac{1}{2}$ Stunde gekocht (unter Wasserzusatz).

31	283—228	+	7 +	2 +	6 —	15 +	2 +	—	2 —
32	384—285	+	Alle +	—	1 —	14 +	2 +	—	2 —
45 (getölet)	293—243	+	Alle +	2 +	2 —	14 +	2 +	—	2 +

Hierzu kommt — was wir 1912 nicht besprochen haben —, daß frisch ausgepreßter Kohlsaft, im Vakuum bis zur Trockenheit eingedampft, in Dosen von 1.5^{grm} pro Tag und Tier der Krankheit vorzubeugen vermag.

Der Umstand, daß äußerst kleine Mengen antiskorbutischer Nahrungsmittel so spezifische Wirkungen ausüben, zusammen mit der bei einigen (aber nicht bei allen) derselben zutage tretenden Thermolabilität, schien uns auf einer früheren Stufe unserer Untersuchungen die Möglichkeit nahe zu legen, daß die wirksamen Bestandteile der antiskorbutischen Nahrungsmittel enzymartiger Natur sein dürften.

Von dieser Voraussetzung aus stellten wir daher eine Reihe von Versuchen an, um die wirksamen Bestandteile teils aus dem frischen Kohl, teils aus dem frisch gepreßten bzw. aus dem vakuumgetrockneten Kohlsaft zu extrahieren.

Um die lange Reihe mißglückter Versuche bei Seite zu lassen, sei nur angeführt, daß es uns schließlich gelang, durch Auflösung des vakuumgetrockneten Kohlsaftes in Glyzerin mit darauf folgender Zusetzung von Alkohol, Dekantierung des Glyzerinalkohols und schließlichem Abdampfen des Alkohols im Vakuum einen zähen Glyzerinextrakt herzustellen, welcher in Dosen Verwendung fand, die 30^{grm} frischen Kohls pro Tier und Tag entsprachen.

Fütterungsversuche mit Hafer und diesem Extrakt — von dem die Tiere übrigens nur einen kleineren Teil der zugemessenen Menge fressen wollten — übten zwar keine Wirkung auf die Lebenszeit der Tiere, aber von zehn in dieser Weise gefütterten Tieren zeigten bei der Sektion neun — abgesehen davon, daß die Zähne bei einigen derselben andeutungsweise gelockert waren — keine oder nur sehr geringfügige Zeichen von Skorbut (Tab. IIa).

Da wir indessen trotz vieler Mühe die Tiere nicht dazu bringen konnten, diesen Extrakt in hinreichenden Mengen zu fressen, und wir außerdem durch vergleichende Versuche mit anderen Antiskorbutica immer mehr von der enzymartigen Natur der antiskorbutischen Stoffe abgekommen waren, versuchten wir das Ziel auf anderen Wegen zu erreichen.

Ehe wir hierauf näher eingehen, möchten wir hervorheben, daß, wie wir 1912 besprochen haben, die Wirkung der antiskorbutischen Nahrungsmittel auf dem Vorkommen mehrerer eigentümlicher chemischer Verbindungen beruhen muß, die, von etwas verschiedener Zusammensetzung, in ihren physiologischen Wirkungen doch einander nahe verwandt sein müssen.

Diese unsere Annahme stützt sich auf den Umstand, daß, während frisch ausgepreßter Zitronensaft und Limejuice, die zwar eine verhältnismäßig schwache, aber doch deutlich zutage tretende antiskorbutische

Tabelle II. Versuche mit verschiedenen Extrakten von Weißkohlblättern.
Jedes Tier erhielt täglich eine 30^{grm} des frischen Weißkohles entsprechende Menge des Extraktes.
Außerdem erhielten die Tiere Wasser und so viel Hafer, wie sie fressen wollten.
(+ bedeutet ein positives, — ein negatives Ergebnis der Untersuchungen.)

Fütterung	Lebensdauer jedes Tieres in Tagen	Gewicht jedes Tieres am Anfang u. Ende des Vers. in grm	Lockerung der Backenzähne	Blutungen um (Anzahl)		Skorbutsche Veränderungen des Knochenmarkes in Anzahl mikroskopisch untersuchter Knochen			
				Rippen-epiphysen	Knie-gelenke	Rippen	Obere Enden der Tibiae	Untere Enden der Femora	
a) 4400 ^{grm} frisch gepreßter Saft von Weißkohlblättern, im Vakuum getrocknet, wurde in 800 ^{grm} Glycerin aufgelöst, nachher mit 3000 ^{grm} abs. Alkohol versetzt. Dekantierung und nochmaliges Zusetzen von Alkohol mit nachfolgender Dekantierung. Der Alkohol wurde vor der Fütterung abgedampft.	23	312—130	—	—	—	10	1	1	1
	28	379—159	+	—	—	14	1	1	1
	32	265—145	+	8 +	2 +	14 +	2 +	2 +	2 +
	22	240—135	+	—	—	9	2	2	2
	29	330—196	+	—	+	21	2 +	2	2
	28	350—195	+	—	(Andeut.)	22	1 +	2	2
	20	418—202	+	—	—	16	2	2	2
	29	364—155	—	—	—	18	2	2	2
	11	391—205	—	—	—	20	nicht untersucht	2	2
	18	373—187	—	—	—	20	2	2	2
b) 2000 ^{grm} Weißkohl im Bratkasten getrocknet (nach dem Trocknen war das Gewicht des Kohles 180 ^{grm}) wurde mit 1.5 Liter 80 prozentigem Alkohol, 15 ^{grm} Zitronensäure enthaltend, versetzt. Nach 12 Stunden wurde das Gemisch während 15 Minuten im Wasserbad bis 80° C erhitzt. Der Alkohol wurde abfiltriert und bei Zimmertemperatur abgedampft. Der Rückstand war ein zähes Extrakt.	44	314—183	—	—	—	14	2	2	2
	44	294—176	+	—	—	15	1 +	1 +	2
	41	288—202	+	—	—	16	1 +	2	2
	41	283—200	—	—	—	21	2	2	2
	36	350—191	+	—	—	16	2	2	2
c) Wie im vorangehenden Versuche, das Alkoholgemisch wurde aber während 6 Stunden bis 60° C (mit Rückstoßkühler) erhitzt.	37	336—190	+	—	—	14	2	2	2
	40	316—187	—	—	—	19	2	2	2
	18	308—181	—	—	—	18	2	2	2
	40	357—194	+	—	—	16	2	2	2
	18	348—184	+	—	—	15	2	2	2

Wirkung besitzen, diese Wirkung nach einem längeren Aufbewahren, ja selbst noch nach einstündigem Kochen nicht einbüßen. So verlieren Löwenzahn- und Kohlsaft diese Wirkung, der erste schon nach einem kurzen Aufkochen, der andere nach zehnminütlichem Erhitzen bis 100°; dasselbe ist auch der Fall, wenn Kohl- und Löwenzahnsaft längere Zeit hindurch bei Zimmertemperatur, ja selbst in gefrorenem Zustand aufbewahrt werden.

Es sollte daher richtig erscheinen anzunehmen, daß die wirksamen Bestandteile in den verschiedenen Antiskorbutica nicht völlig identisch sein können.

In rein chemischer Beziehung besteht ein sehr wesentlicher Unterschied zwischen diesen Säften, indem Zitronensaft — bzw. Limejuice — stark sauer, die beiden anderen aber alkalisch reagieren.

Dieser Unterschied schien uns um so beachtenswerter zu sein, als Dr. Fürst bei seinen Versuchen mit Himbeersaft, der ebenfalls stark sauer reagiert, gefunden hatte, daß auch diesem seine antiskorbutische Wirkung sowohl nach Erhitzung — sogar bis zu 110° — wie auch nach längerem Stehen bei Zimmertemperatur erhalten bleibt. Ferner kam Dr. Kjennnerud durch seine Versuche mit dem stark sauren Saft des Sauerampfers zu dem Ergebnis, daß auch dieser noch nach zehnminütlichem Kochen im Besitz seiner antiskorbutischen Eigenschaften ist.

Auf Grund dieser ausgesprochenen Thermostabilität der sauer reagierenden Pflanzensäfte stellten wir eine Reihe von Versuchen an mit dem Ziel vor Augen, Kohl- und Löwenzahnsaft mittels Vorbehandlung mit Säure in thermostabile Verbindungen zu überführen.

Frisch gepreßtem Kohl- und Löwenzahnsaft wurde HCl im Verhältnis 2 Promille, bzw. Zitronensäure im Verhältnis 5 Promille mit darauf folgendem Kochen zugesetzt.

Die Ergebnisse einer Reihe von Fütterungsversuchen mit Hafer zusammen mit diesen säurebehandelten Säften erwiesen, daß ein Zusatz von 5 Promille Zitronensäure wohl den Kohlsaft, aber nicht den Löwenzahnsaft, ein Zusatz von 2 Promille HCl dagegen auch diesen letzteren thermostabil machte.

Auf die Haltbarkeit des Saftes beim Aufbewahren hatte dagegen eine vorhergehende Säurebehandlung keine Wirkung, wie auch der Saft des Sauerampfers ein längeres Aufbewahren bei Zimmertemperatur nicht verträgt.

Es waren diese 1912 mitgeteilten Untersuchungen, die uns auf den Gedanken brachten, daß sich die wirksamen Bestandteile der antiskorbutischen Nahrungsmittel möglicherweise vermittelt Säuren extrahieren ließen.

Als einleitender Versuch wurde frisch getrockneter Kohl, der, wie wir 1912 zeigten, eine sehr starke antiskorbutische Wirkung ausübt,

15 Minuten lang mit $\frac{1}{2}$ prozentiger wässriger Lösung von Zitronensäure gekocht; der wässrige Auszug wurde durch Filtrierpapier filtriert. Hiermit, und zwar in Mengen, die 30^g frischem Kohl pro Tier und Tag entsprachen, wurden acht Tiere gefüttert.¹

Die Tiere wurden am 73. Tage getötet, ohne daß ein einziges derselben makro- oder mikroskopische Zeichen von Skorbut verriet; mit anderen Worten: ein wässriges zitronensaures Extrakt von frischgetrocknetem Kohl hat eine starke antiskorbutische Wirkung. Der Sicherheit halber sei bemerkt, daß Kontrollversuche mit $\frac{1}{2}$ prozentigem Zitronensäurewasser keinen Einfluß auf die Krankheit übten.

Parallel mit diesen Versuchen wurden zwei Portionen frischgetrockneten Kohls bei Zimmertemperatur mit abs. Alkohol, bzw. mit $\frac{1}{2}$ Prozent Zitronensäure enthaltenden abs. Alkohol extrahiert; nachdem diese einige Tage gestanden hatten, wurde der Alkohol abfiltriert, und das Alkohol- bzw. das saure Alkoholfiltrat mittels eines Flügelventilators bei Zimmertemperatur zu trocknen Extrakten eingedampft.

Eine Anzahl Tiere wurde mit Hafer, Wasser und dem reinen Alkoholextrakt, eine andere mit Hafer, Wasser und dem sauren Extrakt in Dosen gefüttert, die 30^g frischen Kohls pro Tier und Tag entsprachen; tatsächlich erhielten die Tiere aber nicht die volle Dosis, da wir ihnen das Extrakt in Gestalt von Pillen beibringen mußten, und dies Manöver nicht ohne einige Verluste bewerkstelligt werden konnte.

Es stellte sich heraus, daß das neutrale Extrakt (ebenso wie einige früher dargestellte Alkoholextrakte) keine Wirkung ausübte, während das saure Extrakt die Lebenszeit der Tiere etwas verlängerte und auch den skorbutischen Veränderungen in gewisser Weise vorbeugte.

Ein Versuch mittels Petroläther — ohne Säurezusatz — zu extrahieren, führte zu demselben negativen Resultat wie der Versuch mit dem neutralen Alkoholextrakt, während dagegen der Kohl nach der Extraktion immer noch wirksam blieb.

Diese Ergebnisse unserer Arbeit von 1912 schienen also dafür zu sprechen, daß die Verwendung von sauer reagierenden Extraktionsmitteln ein Extrahieren der wirksamen Bestandteile ermöglichen würde.

Wir schritten daher später zu einem Versuchsverfahren, wonach frischgetrockneter Kohl, dem 1 Prozent zitronensäurehaltiger 80prozentiger Alkohol zugesetzt war, auf einem Wasserbad mit Rückflußkühler 15 Min. lang nach Aufkochen des Alkohols erhitzt wurde; der Alkohol wurde abfiltriert und mittels eines Flügelventilators zu einem zähen Extrakt eingedampft.

¹ A. a. O. S. 106.

Mit Hafer und diesem Extrakt, und zwar in Dosen, die 30 ^{grm} frischen Kohls pro Tier und Tag entsprachen, fütterten wir vier Tiere mit dem Ergebnis, daß zwei derselben nach einer Lebzeit von 6 Wochen mikroskopische Veränderungen in einer Rippe, eines derselben auch in einer Tibia zeigten; zudem waren bei beiden die Backenzähne andeutungsweise gelockert, während die übrigen zwei Tiere keinerlei Anzeichen der Krankheit trugen (Tab. IIb). Auch die letzteren lebten 6 Wochen.

Einen zweiten Versuch änderten wir dahin, daß Kohl und derselbe Alkohol auf einem Wasserbad 6 Stunden lang auf 60° erhitzt wurden. Mit dem hieraus gewonnenen Extrakt und mit Hafer fütterten wir sechs Tiere, die bis zu 40 Tagen lebten und die, abgesehen von den bei 4 Tieren andeutungsweise gelockerten Zähnen, weder makro- noch mikroskopische skorbutische Erscheinungen zeigten (Tab. IIc).

Trotzdem, daß also die Tiere in diesen Versuchsreihen nur eine verhältnismäßig kurze Zeit am Leben blieben, zeigt ein Vergleich mit unserer Arbeit von 1912 (S. 22), daß die Extrakte im Besitze nicht zu verkennender antiskorbutischer Eigenschaften waren. D. h. heißer 80 prozentiger Alkohol, mit 1 Prozent Zitronensäure versetzt, vermag antiskorbutische chemische Bestandteile des frisch getrockneten Kohls in Lösung zu bringen. Wegen der kurzen Lebensdauer der Tiere und der, wenn auch geringen Lockerung der Zähne ist jedoch das besprochene Verfahren nicht dazu geeignet, alle Bestandteile dieser Art zu extrahieren.

Über die eigentliche Natur dieser Bestandteile können wir zurzeit nichts mitteilen.