Am Anfange dieses Versuches wurde keine Verspätung des Effectes beobachtet.

- Curve V. Ruhiger Hund. a-Schrei ins Ohr. Eben solche, aber etwas weniger ausgeprägte Veränderung des Blutdruckes und Pulses wurde bei Reizung der cauda corporis striati vor und nach a beobachtet.
- Curve VI. Respiration des Hundes. a—b Reizung der Cauda corporis striati (nucl. lentiformis). Die Schwankungen m sind durch Herzschläge bedingt.
- Curve VII. Fortsetzung desselben Versuchs. a—b Reizung des mittleren Theiles des corpus striatum; c—d dasselbe, Reizung etwas mehr nach aussen und hinten (nucl. lentif.).
- Curve VIII. Blutdruck im peripherischen Ende der art. carotis des Hundes, nach Aufhören der Curarewirkung. a—b Reizung des n. tibialis. c—d schwache Reizung der Cauda corporis striati. Bei a—b Wedeln des Schweifes. (s. Text IV.)
-

Untersuchungen über die ungeformten Fermente.

Von

Otto Nasse.

E. du Bois-Reymond theilt in seiner bekannten Arbeit über die Säuerung des Muskels¹⁾ die Beobachtung mit, dass in gesättigten Lösungen von Chlornatrium, salpetersaurem Kali, schwefelsaurem Natron und schwefelsaurer Magnesia keine Säurebildung eintritt, und kommt im Weiteren betreffs der ganzen Erscheinung zu dem Schluss: »Erwägt man, dass die Säuerung des Muskels durch Temperaturerhöhung innerhalb gewisser Grenzen ausnehmend beschleunigt, durch Temperaturerniedrigung hingegen gehemmt, dass sie durch Siedehitze, Alkohol, Salze gänzlich verhindert wird, so ist es freilich nicht leicht, sich der Vorstellung zu erwehren, dass man es hier mit einem wahren Gährungs Vorgang zu thun habe.« Die Verhinderung der Säuerung durch gesättigte Salzlösungen ist also

1) Ueber angeblich saure Reaction des Muskelfleisches. Monatsber. d. kön. Akad. d. Wiss. zu Berlin. 1859. p. 288.

eine Instanz zu diesem Schlusse, der allgemein acceptirt worden ist mit der Ausdehnung, dass die Muskelstarre überhaupt, von der die Säurebildung nur eine Theilerscheinung ist, als ein Fermentationsvorgang aufgefasst wird ¹⁾. Nun braucht aber, um die Fermentation aufzuhalten, die Salzlösung nicht eine vollkommen gesättigte zu sein, auch niedere Concentrationen können schon das Wasser so fest halten, — das ist ja der Sinn der fraglichen Erscheinung, die längst in der Praxis zum Conserviren von pflanzlichen und thierischen Produkten verwerthet wird, — dass die beim Muskel noch nicht näher ergründete Umsetzung, von der wir aber mit sehr grosser Wahrscheinlichkeit annehmen dürfen, dass sie unter Aufnahme von Wasser verläuft, nicht mehr Statt finden kann. So wird jetzt allgemein wenn die Säuerung verhindert werden soll, eine zehnprocentige Kochsalzlösung angewendet. Es ist selbstverständlich, dass eine bestimmte Concentration (dabei noch vorausgesetzt ein bestimmtes Verhältniss zwischen der Menge der Muskelsubstanz und der Salzlösung) als die Säuerung hemmend überhaupt nicht angegeben werden kann; so steigt schon mit zunehmender Temperatur die zur Aufhaltung der Fermentation nöthige Salzmenge.

Wenn man nun für verschiedene Salze — es handelt sich dabei nur um neutrale und die Eiweisskörper nicht direkt coagulirende Salze, also wesentlich die Salze der Alkalien und der alkalischen Erden — bei derselben Temperatur, derselben Dauer des Versuches und endlich bei demselben Material feststellte, welche Concentrationen in gleichem Maasse die Säuerung des Muskels hemmten, so konnte man wohl erwarten, dass die erhaltenen Werthe in bestimmter Beziehung zu einer der allgemeinen Eigenschaften der betreffenden Salze stehen würden, und zwar zu der Wasser anziehenden Kraft derselben. Salzlösungen, die in gleichem Grade die Wassertheilchen festhielten, würden, so dachte ich mir, auch in gleichem Grade den aller Wahrscheinlichkeit nach mit Wasseraufnahme verbundenen Säurationsprocess im Muskel aufhalten.

1) Vgl. hierzu: Kühne, Untersuchungen über das Protoplasma etc. Leipzig 1864. pag. 25 ff. — L. Hermann, Untersuchungen über den Stoffwechsel der Muskeln. Berlin 1867 und: Weitere Untersuchungen zur Physiologie der Muskeln und Nerven. Berlin 1867. — Hoppe-Seyler, Ueber Fäulnisprocesse und Desinfection. Medicin. chem. Untersuch. Heft. IV. pag. 575. Berlin 1871. Michelsohn, Einige Versuche über die Todtenstarre. Inaug.-Dissert. Dorpat 1872. Med. Centralbl. 1873. p. 541.

Wie lernt man aber die Wasser anziehende Kraft der Salze bzw. ihrer Lösungen kennen?

Wenn es gelänge — und das ist wohl keine absolute Unmöglichkeit — eine Membran herzustellen mit Poren von solcher Grösse, dass nicht die Salzmoleküle, wohl aber noch die Wassermoleküle durch sie hindurch treten könnten, und man brächte dann auf die beiden Seiten der Scheidewand unter demselben Drucke gleiche Mengen von Lösungen verschiedener Salze, so müsste offenbar bei einem Unterschied in der Wasser anziehenden Kraft die eine der beiden Lösungen an Wasser zunehmen, ihr Volumen sich vermehren. So liessen sich gewiss durch eine allerdings wohl nothwendige grössere Anzahl von Versuchen unter Berücksichtigung der Temperatur u. s. w. bestimmte Werthe erhalten. Derartige Versuche sind noch nicht gemacht; ich selbst habe aus Gründen, die sehr bald sich ergeben werden, den Gedanken an eine Ausführung derselben aufgegeben. Es liegen aber Untersuchungen anderer Art vor, aus denen man auf die Wasser anziehende Kraft Schlüsse machen kann. Es sind dies die Untersuchungen über die Dampfspannung wässriger Salzlösungen. Ist die Voraussetzung, die Verminderung der Tension entspricht der Wasser anziehenden Kraft der Salzmoleküle, richtig, so würden also Salzlösungen von gleicher Dampfspannung in gleichem Grade die Säuerung des Muskels und so wahrscheinlich auch jeden anderen Gährungsprocess hemmen. Es erscheint dies um so annehmbarer, wenn man an den die Tension des Wasserdampfes und ebenso die Stärke der Fermentation treffenden Einfluss der Temperatur denkt. Vielleicht ist auch der Druck von ähnlichem Einfluss auf die Fermentation. Man käme somit wohl zu dem Schluss, dass die Fermentation *cet. par.* eine Funktion der Dampfspannung des betreffenden Gemisches ist, und würde bei chemisch reinen Fermenten in ihr eine Art von Maass für die Kraft der Fermente haben können.

Die genauesten Bestimmungen über die Dampfspannung wässriger Salzlösungen sind von Wüllner¹⁾ gemacht. Wüllner fand, dass die Verminderung der Spannkraft des Wasserdampfes durch gelöstes Salz bei derselben Temperatur direkt proportional ist den

1) Versuche über die Spannkraft des Wasserdampfes aus wässrigen Salzlösungen. *Poggend. Annal.* CIII, pag. 529. — Versuche über die Spannkraft der Dämpfe aus Lösungen von Salzgemischen. *Poggend. Annal.* CV, pag. 85.

Mengen des gelösten Salzes, und weiter, dass nur Kochsalz und Glaubersalz dem einfachen Gesetz folgen, dass sie in allen Temperaturen die Spannkraft in demselben Verhältniss vermindern, bei salpetersaurem Kali, salpetersaurem Natron und Chlorkalium die Verminderungen der Spannkräfte rascher, bei schwefelsaurem Kali langsamer als die Spannkräfte selbst wachsen. Bezeichnet man die Spannkraft des Dampfes aus reinem Wasser mit T , so werden die entsprechenden durch 1% Salzgehalt bewirkten Verminderungen V durch folgende Formeln dargestellt:

$$\begin{aligned} \text{für NaCl} & V = 0.00601 T \\ \text{» Na}_2\text{SO}_4 & V = 0.00236 T \\ \text{» NaNO}_3 & V = 0.00315 T + 0.000000907 T^2 \\ \text{» KCl} & V = 0.00390 T + 0.000000538 T^2 \\ \text{» K}_2\text{SO}_4 & V = 0.00383 T - 0.0000019 T^2 \\ \text{» KNO}_3 & V = 0.00196 T + 0.00000108 T^2 \end{aligned}$$

Willner hebt noch hervor, dass zwischen der Verminderung der Spannkraft und den Eigenschaften der Salze, welche mit der Temperatur sich nicht ändern, keine Beziehung Statt finden kann, aber auch zwischen ihr und der Löslichkeit der Salze keine solche besteht.

Die obigen Werthe zu Grunde legend würde man bei gleicher Temperatur u. s. w. denselben Erfolg in Bezug auf die Muskelsäuerung erwarten (die Zahlen abgerundet)

von einer 10 procent. Lösung von NaCl				
„	„	19	„	„ „ NaNO ₃
„	„	25.5	„	„ „ Na ₂ SO ₄
„	„	15.4	„	„ „ KCl
„	„	20.6	„	„ „ KNO ₃
„	„	15.7	„	„ „ K ₂ SO ₄

Das Verhältniss der Zahlen der Na-Salze zu einander erinnerte mich an eine ganz ähnliche Zahlenreihe aus einer kleinen Untersuchung von mir über die zur Erhaltung der Erregbarkeit von Froschmuskeln günstigsten Salzlösungen¹⁾. Die damals gefundenen Optima waren

für NaCl eine Lösung von 0.6%				
„	NaNO ₃	„	„	1.0%
„	Na ₂ SO ₄	„	„	1.4%

Aus einem Vergleich dieser Zahlen mit den Molekulargewichten der Salze (58,5 resp. 85 und 142) glaubte ich den Schluss ziehen

1) Dieses Archiv. Bd. II, pag. 114.

zu dürfen, dass die günstigsten Lösungen von Na-Salzen (nur um diese handelt es sich, nicht um die giftigen K- und NH_4 -Salze) eine annähernd gleiche Anzahl von Molekülen enthielten. Daneben hatte ich aber noch die Vermuthung ausgesprochen, dass die günstigsten Concentrationen wahrscheinlich diejenigen seien, in welchen die Muskeln weder Wasser aufnehmen noch abgeben, welche also dieselbe Wasser anziehende Kraft besitzen, wie die Muskeln. Unter Berücksichtigung der Wüllner'schen Angaben, die ich damals nicht kannte, bin ich jetzt geneigt den obigen Schluss betr. die Optima der Salzlösungen und ihre Beziehungen zum Molekulargewicht fallen zu lassen, und nur eine Beziehung zu der Wasser anziehenden Kraft, gemessen durch die Verminderung der Tension, zu suchen. Man braucht meinen Zahlen, deren Bestimmung wegen des eigenen Salzgehaltes der Muskeln keine ganz genaue sein konnte, gar keine grosse Gewalt anzuthun, um mit ihnen die neue Erklärung zu begründen. Halte ich etwa den für Na_2SO_4 gefundenen Werth von 1.4% als den richtigsten, so berechnen sich nach der Wüllner'schen Tabelle die Optima

für NaCl auf 0.55%
 „ NaNO_3 „ 1.05%¹⁾.

Doch gehen wir endlich zu der Muskelsäuerung in ihrer Abhängigkeit von Salzen über. Um dieselbe zu studiren ist es nicht nöthig die gesammte Muskelsubstanz zu nehmen. Man kann sich vielmehr, und hierdurch wird die Beobachtung wesentlich erleichtert, eines filtrirten Salzauszuges des Muskels bedienen, in welchen sowohl die Muttersubstanz der Säure als auch das Ferment übergeht. Das hatte ein Vorversuch mit einem 10procent. Kochsalzauszug aus Froschmuskeln gezeigt, der beim Verdünnen mit Wasser je nach der Menge des zugesetzten Wassers sich rascher oder langsamer säuerte. So machte ich mir dann mit den oben

1) Bei dieser Gelegenheit möchte ich die früher von mir nicht veröffentlichten Zahlen für die günstigsten Lösungen der Salze der alkalischen Erden mittheilen, wenn sich auch eine Deutung derselben bis jetzt noch nicht finden lässt. Es enthalten die günstigsten Lösungen von

CaCl_2 . .	0.28%	BaCl_2 . .	0.54%
CaN_2O_6 . .	0.83 „	BaN_2O_6 . .	0.64 „
MgCl_2 . .	0.87 „	SrCl_2 . .	0.5 „
MgN_2O_6 . .	0.74 „	SrN_2O_6 . .	0.64 „
MgSO_4 . .	1.86 „		

erwähnten sechs Salzen der Wüllner'schen Untersuchung unter Zerreiben der Muskeln mit dem trockenen Salz und nachträglichem Zusetzen von Wasser Salzauszüge aus frischen durch verdünnte Kochsalzlösung blutfrei gemachten Froschmuskeln. Auf gleiche Gewichtstheile Muskelsubstanz wurden auch gleiche Mengen von Flüssigkeiten genommen, so dass die Auszüge und schliesslich auch die Filtrate — allerdings unter der noch nicht bewiesenen Annahme der in allen Salzlösungen gleichen Löslichkeit der säurebildenden Substanz und des Fermentes — auch gleiche Mengen dieser beiden Substanzen enthielten. Man gewinnt ein geeignetes Filtrat, wenn man auf ein Gewichtstheil Muskel etwa die sechs- bis siebenfache Menge der Flüssigkeit rechnet. Das Filtriren geht bei dieser geringen Verdünnung immer noch sehr langsam vor sich. Die Filtrate sind ganz klar, mit Ausnahme der mit NaNO_3 und KNO_3 bereiteten, die ich stets trüb gefunden habe. Von den Filtraten wurden endlich in Reagensröhrchen je 2 Cc. mit gleichen Mengen neutraler Lakmuslösung und wechselnden Mengen von Wasser und concentrirter Lösung des betreffenden Salzes versetzt, so dass die Volumina sämmtlicher Gemische gleich waren. Alle diese Operationen müssen möglichst zu gleicher Zeit gemacht und die gefüllten Gläser bei derselben Temperatur und vor Staub geschützt aufbewahrt werden. Man sieht dann allmählig, an der Röthung der Lakmustinktur erkenntlich, Säurebildung eintreten, beginnend in den salzärmsten Mischungen, und vergleicht man die verschiedenen Reihen, so kann man annähernd feststellen, welche Concentrationen den verschiedenen Salzen in der Beeinflussung des Säurungsprocesses sich gleich kommen. Die Methode ist allerdings roh, ob die oben angestellte Betrachtung über die Wasser anziehende Kraft der Salze richtig ist, musste sich aber bei den grossen Unterschieden in den betreffenden Werthen doch wohl sehen lassen.

Das erste, was in den Versuchen selbst auffiel war, dass die mit den schwefelsauren Salzen bereiteten Auszüge und zwar bis zu einem Salzgehalt von 90% in der Mischung hinauf schon nach 24 Stunden sich vollkommen roth zeigten, zu einer Zeit, wo auch die mindest concentrirten Mischungen der anderen Salze kaum eine beginnende Säuerung bemerken liessen. Somit fielen die Versuche mit den schwefelsauren Salzen sofort aus. Die fortgesetzte Beobachtung ergab dann, dass nach weiteren 24 Stunden die Säurebildung auch in anderen Salzgemischen begonnen hatte, die ursprüngliche blaue

Farbe des Lakmus sich nur mehr in den concentrirteren Mischungen fand.

Zwei Versuche habe ich angestellt — wie alle weiteren in dem hiesigen pathologischen Institute, dessen Räumlichkeiten und Apparate zu benutzen mir Herr Prof. Ackermann gütigst gestattet hat — beide ungefähr unter denselben Bedingungen. Von gleicher Farbe, dem ursprünglichen Blau, fanden sich zu einer bestimmten Zeit die Gemische mit ungefähr

6% NaCl
3% NaNO₃
4% KCl
7% KNO₃.

Mögen die Versuche auch noch so ungenau sein, so berechtigen sie doch schon zu dem Schluss, dass die durch die Tension gemessene Wasser anziehende Kraft der Salze nicht das einzige Maassgebende in Bezug auf die Wirkung ist, und also entweder diese Art der Bestimmung der Wasser anziehenden Kraft eine unrichtige ist, oder die Salze noch in anderer, und zwar ein jedes in ganz spezifischer Weise, den Fermentprocess beeinflussen. Nähere Zahlenverhältnisse waren aber, wenn die Zahl der Versuche nicht enorm werden sollte, bei dieser Methode nicht zu erwarten. War ich denn aber an die Muskelsubstanz allein gebunden? Sollte nicht, wie oben schon angedeutet wurde, das, was für den einen Fermentationsvorgang galt, auch für die anderen Giltigkeit haben? Ich wusste einstweilen keine Thatsache, die gegen die Annahme des gleichen Einflusses der Salzlösungen auf alle Fermentationen sprach.

So verliess ich denn die Muskeln und wählte zu der weiteren Untersuchung wegen der leichten Löslichkeit nicht bloss des Fermentes, sondern auch des zu zersetzenden Körpers, — der in der Folge einfach das Substrat des Fermentes heissen mag, — das invertirende Ferment der Hefe und Rohrzucker. Bis ich ersteres einiger Maassen rein dargestellt hatte, machte ich einige Versuche mit Speichel und Stärkekleister, zunächst unter Zusatz steigender Mengen von Chlornatrium, um die Form der Curve der Hemmung bezogen auf die Salzprocente der Mischung kennen zu lernen.

Hier sind aber zuvor einzuschalten einige Worte über die Versuchseinrichtung, die bei den später folgenden Experimenten mit anderen Fermenten ebenfalls in Anwendung gebracht worden ist. In Probirröhren von gleicher Weite, bis zu 4 Cm. unterhalb der

Oeffnung 25 Cc. fassend werden genau gemessene gleiche Volumina der Lösung des zu zersetzenden Körpers und der verschieden concentrirten Salzlösungen und zum Schluss gleiche Quantitäten des zugehörigen Fermentes gebracht, und der Inhalt durch Schütteln wohl gemischt. Sämmtliche zu einem Versuch gehörige Gläser werden in den passend hergerichteten Löchern einer dicken Korkscheibe befestigt. Letztere schwimmt in einem Wasserbad und wird durch die Hand oder eine Maschine in steter Drehung erhalten, während eine kräftige Lampe das anfangs nur zimmerwarme Wasser des Wasserbades bis zum Kochen erhitzt. So werden alle Mischungen annähernd gleiche Zeit und gleichmässig erwärmt. Der Versuch endet mit der Zerstörung des Fermentes; weitere nachträgliche Zersetzungen sind nicht möglich.

Die von mir in dem Folgenden benutzten Fermente sind alle solche, welche aus nicht reducirenden Kohlehydraten Zuckerarten der Traubenzuckergruppe bildeten, um deren quantitative Bestimmung es sich also schliesslich handelte. Die Methode, die mich hierbei am besten zum Ziele führte, zumal da ich stets nur mit kleinen Mengen zu thun hatte, war ganz ähnlich der in einer früheren Arbeit ¹⁾ bereits von mir benutzten Modification des von Brücke ²⁾ zur Bestimmung des Zuckers im Harn angegebenen Verfahrens. Es werden nämlich anfangs mit nur kleinen Mengen Mischungen der (auf 100 Cc. verdünnten) zu titirenden Flüssigkeit und einer sehr stark verdünnten (1 Cc. = 0,001 zum Traubenzucker) Lösung von Kupfervitriol in verschiedenen Verhältnissen angefertigt, und je nach dem Ausfall der Proben: ob Entfärbung der stark alkalisch gemachten Probe eintritt oder nicht, Mischungen in andern Verhältnissen gemacht mit immer grösser werdenden Mengen, von denen aber zum Kochen stets nur einige Cc. verwendet werden. So rückt man dem Punkte, bei dem noch grade Entfärbung eintritt, von beiden Seiten immer näher. Da aber dieser Punkt stets schwer zu bestimmen ist wegen des die Farbe der Kupferlösung verdeckenden Kupferoxyduls, so dachte ich letzteres in Lösung zu erhalten, und setzte zu dem Zwecke der zu kochenden Flüssigkeit einige Tropfen einer concentrirten Lösung von Chlorammonium zu. Ich kann dieses Verfahren nur empfehlen.

1) Dieses Archiv Bd. II. pag. 102 ff.

2) Allgemeine Wiener medicinische Zeitung 1860. 12.

Die Columnen der Versuchstabellen verstehen sich leicht aus den Ueberschriften. Die letzte Columnne »Stärke der Fermentwirkung« gibt an, wie viel reducirender Zucker (Traubenzucker oder Invertzucker) gebildet ist, die in der salzfreien Mischung von Ferment, Substrat und Wasser gebildete Menge = 100 gesetzt.

Diese Versuchsmethode wurde wesentlich festgestellt in den oben bereits angemeldeten Versuchen mit Speichel und Stärkekleister. Bei einem der letzten derselben kam ich zu meiner Ueberraschung zu folgenden Zahlen:

Versuch I.

	Procentischer Gehalt an NaCl	1 Cc. Cu-Lösung wird reducirt durch Cc.	Stärke der Ferment- Wirkung
I	Null	2.05	100
II	3.85	1.58	130
III	7.7	2.85	72
IV	11.5	3.55	57.7
V	15.4	4.5	45.5
VI	19.2	5.2	39.8

Das Auffallende für mich war die bis dahin noch niemals beobachtete Beförderung der Fermentation im Gemisch Nr. II. Es wurde sofort ein Controlversuch gemacht unter möglichst denselben Bedingungen.

Versuch II.

	Procentischer Gehalt an NaCl	1 Cc. Cu-Lösung wird reducirt durch Cc.	Stärke der Ferment- Wirkung
I	Null	1.6	100
II	3.85	1.35	116
III	7.7	1.55	103
IV	11.5	2.45	65.3
V	15.4	3.2	50
VI	19.2	3.85	42

Wieder zeigte sich ein Optimum, die Erscheinung war also eine normale. Ein Vergleich der Bedingungen dieser beiden letzten Versuche mit den früheren ergab als einzigen Unterschied, dass eine grössere Menge von Stärkekleister angewendet war, und in

allen Gläsern sich nach Beendigung der Fermentation noch unzersetztes Substrat fand.

Alle Fermentversuche müssen also so eingerichtet werden, dass eine hinreichende Menge von Substrat unzersetzt bleibt.

Nun war ich natürlich begierig zu erfahren, ob bei den Versuchen mit Rohrzucker und invertirendem Fermente ähnliche Verhältnisse sich zeigten, und die Frage weiter stellend, ob die beobachtete Erscheinung bei allen Salzen einträte, bei welchem Salzgehalt der Mischung u. s. f.

Durch einen Zufall zunächst noch von der Ausführung dieses Planes zurückgehalten, schaltete ich eine andere Versuchsreihe ein, die ich auch schon längst beabsichtigt hatte. Derselben lag folgender Gedanke zu Grund. Man hat sehr oft die Wirkung der Fermente verglichen mit der Wirkung einfacherer anorganischer Verbindungen, insbesondere der Mineralsäuren, die ja ebenfalls selbst in sehr geringer Menge grosse Quantitäten von Substrat umwandeln. Die Zersetzung durch die Säuren wird nun, wovon man sich rasch durch eine kleine Probe überzeugen kann, durch Zusatz von Salzen gehemmt. Von den bei solchen Bestimmungen gefundenen Beziehungen verschiedener Salze zu einander hatte ich nun, ehe ich die eigenthümlichen Beobachtungen über die Muskelsäuerung und über den Einfluss des Kochsalzes auf die Thätigkeit des Speichelfermentes gemacht, erwartet, dass sie sich in den Fermentversuchen wiederfinden würden und so zur Controle dieser dienen könnten. Jetzt lagen die Dinge freilich schon anders, indess einmal eingerichtet für Versuche dieser Art glaubte ich dieselben doch noch nebenbei anstellen zu sollen.

Ich begann mit der Invertirung von Rohrzucker durch Schwefelsäure bei Gegenwart von schwefelsauren Salzen. Die Einwirkung liess ich wiederum in Reagenzgläsern im Wasserbad vor sich gehen. Zuvor war ganz genau bestimmt, wie viel Wasser zugesetzt, wie hoch und wie lange erhitzt werden musste und durfte, so dass noch stets Rohrzucker unzersetzt zurück blieb. Bei der von mir verwendeten Menge von Schwefelsäure genügte ein binnen 20 Minuten erreichtes Erwärmen des Wasserbades bis zu 60° C. In den im Wasserbad erkalteten Gemischen neutralisirte ich schliesslich die Säure durch entsprechende Mengen von kohlensaurem Natron, um nachträglichem Weitergehen der Invertirung vorzubeugen,

da die Zuckertitrirungen nicht zu gleicher Zeit vorgenommen werden können.

Zwei der Versuche folgen hier.

Versuch III.

	Procentischer Gehalt an Salz	Art des Salzes	1 Cc. Cu-Lösung wird reducirt durch Cc.	Stärke der Schwefelsäurewirkung.
I	Null	—	0.57	100
II	2.08	Na_2SO_4	1.23	46.3
III	4.16	»	1.55	36.7
IV	6.25	»	1.8	31.7
V	8.33	»	1.93	29.5
VI	1.875	K_2SO_4	1.14	50
VII	3.75	»	1.46	39
VIII	5.625	»	1.71	33.3
IX	7.5	»	1.92	30
X	2.08	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	1.25	45.6
XI	4.16	»	1.56	36.4
XII	6.25	»	1.78	32
XIII	8.33	»	1.95	29.2

Versuch IV.

	Procentischer Gehalt an Salz	Art des Salzes	1 Cc. Cu-Lösung wird reducirt durch Cc.	Stärke der Schwefelsäurewirkung.
I	Null	—	0.424	100
II	2.08	Na_2SO_4	0.92	46
III	4.16	»	1.15	36.9
IV	8.33	»	1.45	29.3
V	1.875	K_2SO_4	0.85	50
VI	3.75	»	1.08	39
VII	7.5	»	1.43	30
VIII	2.08	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0.92	46
IX	4.16	»	1.14	37
X	8.33	»	1.44	29.4

Trägt man die Zahlen der letzten Columnen auf die Ordinaten eines rechtwinkligen Abscissensystemes, dessen Abscissen den pro-

centischen Salzgehalt der Mischungen angeben, so zeigt sich, dass die Curven der drei Salze eines jeden Versuches fast vollständig übereinander fallen, dass also *cet. par.* gleiche Gewichtsmengen der verwendeten schwefelsauren Alkalien die Wirkung der Schwefelsäure in gleichem Grade hemmen. Also auch hier wieder kein Zusammenhang zwischen der beobachteten Hemmung und der aus der Dampfspannung ihrer Lösungen abgeleiteten Wasser anziehenden Kraft der Salze? Noch ist zu bedenken, dass man es nicht mehr mit reinen Lösungen von Na_2SO_4 u. s. w. zu thun hat, sondern mit Gemischen von neutralen und sauren Salzen, letztere wahrscheinlich in Dissociation befindlich. Ueber die Dampfspannung von Gemischen lässt sich aber im voraus gar Nichts sagen.

Nun kam ich endlich zu den Versuchen mit Rohrzucker und invertirendem Ferment. Das verwendete Ferment, aus Hefe gewonnen nach den Angaben von Liebig¹⁾ und Hoppe-Seyler²⁾, war in Glycerin gelöst; von der Lösung — in der ich die Abwesenheit von Organismen irgend welcher Art wiederholt constatirte — war genau bestimmt, wie viel bei der oben beschriebenen Versuchsweise nöthig war, um von 0,4 Gramm Rohrzucker etwa den dritten Theil zu invertiren. Der erste Versuch wurde gemacht unter Zusatz von schwefelsauren Alkalien.

Versuch V.

	Procentischer Gehalt an Salz	Art des Salzes	1 Cc. Cu-Lösung wird reducirt durch Cc.	Stärke der Schwefelsäurewirkung
I	Null	—	1.06	100
II	2.08	Na_2SO_4	0.95	112
III	4.16	»	0.955	111
IV	8.33	»	0.97	109
V	1.875	K_2SO_4	1.14	93
VI	3.75	»	1.19	89
VII	7.5	»	1.38	77
VIII	2.08	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0.55	193
IX	4.16	»	0.54	196
X	8.33	»	0.56	189

1) Ueber Gährung, Quelle der Muskelkraft und Ernährung. Annalen d. Chem. u. Pharm. CLIII. pag. 137.

2) Tageblatt der 44. Naturf. Versammlung. Rostock 1871. pag. 137.

Der Vergleich mit Vers. III und IV ergibt einen bedeutenden Unterschied in Bezug auf den Einfluss der Salze, viel bedeutender, als ich ihn vermuthet hatte. Jedenfalls waren, wie oben auch schon angedeutet wurde, die anfangs beabsichtigten Invertirungen mit Salzsäure und Salpetersäure unter Zusatz der Alkalisalze dieser Säuren, so interessante Resultate sie auch in allgemein chemischer Hinsicht liefern können, für meine Zwecke nun unnöthig geworden.

Es folgen nun zwei weitere Versuche mit Rohrzucker und invertirendem Ferment bei Anwesenheit von salz- und salpetersauren Salzen.

Versuch VI.

	Procentischer Gehalt an Salz	Art des Salzes	1 Cc. Cu-Lösung wird reducirt durch Cc.	Stärke der Ferment-Wirkung
I	Null	—	0.92	100
II	5.2	NaCl	1.29	71.3
III	10.4	»	3.3	27.9
IV	20.8	»	mehr als 25	weniger als 4
V	5.2	KCl	mehr als 25	weniger als 4
VI	4.17	NH ₄ Cl	0.56	164
VII	8.33	»	0.62	148
VIII	16.7	»	0.92	100

Versuch VII.

	Procentischer Gehalt an Salz	Art des Salzes	1 Cc. Cu-Lösung wird reducirt durch Cc.	Stärke der Ferment-Wirkung
I	Null	—	1.08	100
II	4.17	NaNO ₃	1.23	87.8
III	8.33	»	1.26	85.7
IV	16.7	»	1.7	63.5
V	2.92	KNO ₃	1.57	68.8
VI	5.83	»	1.83	59
VII	11.7	»	2.14	50.5
VIII	4.17	NH ₄ NO ₃	0.615	175
IX	8.33	»	0.68	160
X	16.7	»	0.87	124

Sodann suchte ich in weiteren Experimenten, von denen ich je eines hier mittheile, in Salzversuchen mit gleicher Basis der Salze den durch die Säure bedingten Unterschied ihres Einflusses festzustellen.

Versuch VIII.

	Procenti- scher Gehalt an Salz	Art des Salzes	1 Cc. Cu-Lö- sung wird reducirt durch Cc.	Stärke der Ferment- Wirkung
I	Null	—	1.48	100
II	2.08	NaCl	1.54	96
III	8.33	»	1.94	76
IV	16.7	»	5.95	25
V	2.08	NaNO ₃	1.95	76
VI	4.17	»	1.8	82
VII	8.33	»	1.64	90
VIII	16.7	»	2.18	68
IX	2.08	Na ₂ SO ₄	1.27	117
X	4.17	»	1.12	132
XI	6.25	»	1.12	132
XII	8.33	»	1.11	132

Versuch IX.

	Procenti- scher Gehalt an Salz	Art des Salzes	1 Cc. Cu-Lö- sung wird reducirt durch Cc.	Stärke der Ferment- Wirkung
I	Null	—	1.25	100
II	1.88	KCl	2.66	47
III	7.5	„	mehr als 50	weniger als 2
IV	1.87	KNO ₃	1.8	70
V	3.7	„	1.84	68
VI	7.5	„	1.91	65.5
VII	1.88	K ₂ SO ₄	1.02	122.5
VIII	5.6	„	1.09	115
IX	7.5	„	1.04	110

Versuch X.

	Procenti- scher Gehalt an Salz	Art des Salzes	1 Cc. Cu-Lö- sung wird reducirt durch CC.	Stärke der Ferment- Wirkung
I	Null		0.955	100
II	2.08	NH ₄ Cl	0.59	162
III	4.16	„	0.595	160
IV	6.25	„	0.605	158
V	8.33	„	0.65	147
VI	2.08	NH ₄ NO ₃	0.62	154
VII	4.16	„	0.61	155
VIII	6.25	„	0.65	147
IX	8.33	„	0.675	142
X	2.08	(NH ₄) ₂ SO ₄	0.57	168
XI	4.16	„	0.57	168
XII	6.25	„	0.58	165
XIII	8.33	„	0.595	160

Die Verschiedenheit des Einflusses der benutzten Salze ist nach allen diesen Versuchen eine äusserst beträchtliche. Während manche Salze, wie insbesondere KCl die Invertirung in hohem Grade hemmen, finden wir bei anderen, insbesondere bei den Ammoniaksalzen und zwar bis zu den stärksten Concentrationen ihrer Lösungen eine ganz auffallende Förderung des Fermentationsprocesses. Da mich diese, eine bisher ganz unbekannte Erscheinung, in besonderem Grade interessirte, so suchte ich in Versuch VI die Abhängigkeit des Einflusses von der Menge des Salzes noch näher zu ergründen.

Versuch XI.

	Procenti- scher Gehalt an Salz	Art des Salzes	1 Cc. Cu-Lö- sung wird reducirt durch Cc.	Stärke der Ferment- Wirkung
I	Null	—	1.31	100
II	1.04	NH ₄ Cl	0.495	265
III	2.08	„	0.448	292
IV	4.16	„	0.452	290
V	8.33	„	0.478	274
VI	16.7	„	0.625	210

	Procenti- scher Gehalt an Salz	Art des Salzes	1 Cc. Cu-Lö- sung wird reducirt durch Cc.	Stärke der Ferment- Wirkung
VII	1.04	NH_4NO_3	0.628	209
VIII	2.08	„	0.554	236
IX	4.16	„	0.503	260
X	8.33	„	0.525	250
XI	16.7	„	0.685	191
XII	1.04	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0.53	247
XIII	2.08	„	0.463	283
XIV	4.16	„	0.42	312
XV	8.33	„	0.428	306

Endlich habe ich noch einen Versuch über die Wirkung der Salze der alkalischen Erden anzuführen.

Versuch XII.

	Procenti- scher Gehalt an Salz	Art des Salzes	1 Cc. Cu-Lö- sung wird reducirt durch Cc.	Stärke der Ferment- Wirkung
I	10.2	CaCl_2	4.06	33
II	4	CaN_2O_6	0.82	162
III	4	MgCl_2	0.82	162
IV	4	MgN_2O_6	0.83	161
V	4	MgSO_4	0.7	190
VI	4	BaCl_2	1.06	125
VII	4	BaN_2O_6	2.2	60
VIII	4	SrCl_2	0.82	162
IX	4	SrN_2O_6	1.58	84
X	Null	—	1.33	100

Die Nebeneinanderstellung der für dasselbe Salz in verschiedenen Versuchen gewonnenen Werthe (s. die letzten Columnen) ergibt nun nicht unbedeutende Abweichungen derselben von einander, die einzelnen Abschnitte der Curven fallen nicht immer auf denselben Salzgehalt. Die Dauer des Versuches und die Temperatur (die Menge des angewendeten Fermentes war stets dieselbe) mögen hier wesentlich von Einfluss sein in einer Weise, die ich bisher nicht genau habe verfolgen können. Diese Unregelmässigkeiten hindern aber nicht für einen bestimmten gleich grossen Zusatz von Salzen zu dem Fermentationgemisch festzustellen eine Reihenfolge

der Salze ihrer Wirkung nach in der Art, dass die Reihe läuft von dem am stärksten hemmenden bezw. am wenigsten befördernden zu dem am wenigsten hemmenden bezw. am stärksten befördernden Salze. So finden wir in den drei Reihen von Alkalisalzen für einen Gehalt von etwa 4 % Salz, dass die Salze sich folgender Maassen zu einander stellen:

KCl	NaCl	NH ₄ NO ₃
KNO ₃	NaNO ₃	NH ₄ Cl
K ₂ SO ₄	Na ₂ SO ₄	(NH ₄) ₂ SO ₄

Um die Reihenfolge noch genauer zu gewinnen, und zwar genau für 4 % Salz, wurde noch ein Versuch gemacht, und zwar mit neu dargestelltem invertirendem Ferment.

Versuch XIII.

	Art des Salzes (Salzgehalt 4 %)	1 Cc. Cu-Lösung wird reducirt durch Cc.	Stärke der Ferment-Wirkung
I	—	1.02	100
II	NaCl	3.52	29
III	NaNO ₃	1.44	71
IV	Na ₂ SO ₄	1.06	96
V	KCl	mehr als 50	weniger als 2
VI	KNO ₃	2.52	40.5
VII	K ₂ SO ₄	1.17	87
VIII	NH ₄ Cl	0.49	208
IX	NH ₄ NO ₃	0.52	196
X	(NH ₄) ₂ SO ₄	0.47	217

Die Reihenfolge der Salze bei der Invertirung von Rohrzucker durch das invertirende Ferment der Hefe ist demnach für einen Salzgehalt von 4 %:

(NH₄)₂SO₄
 NH₄Cl
 NH₄NO₃
 Na₂SO₄
 K₂SO₄
 NaNO₃
 KNO₃
 NaCl
 KCl

Dass die Intervalle zwischen den einzelnen Gliedern der Reihe nicht gleich sind, lehrt ein Blick auf die Versuchstabellen.

Nach diesem Controlversuch durfte ich somit als erwiesen betrachten, dass bei übrigens annähernd gleichen Versuchsbedingungen insb. der gleichen Fermentmenge für einen bestimmten Salzgehalt die Reihenfolge der Salze ihrer Wirkung nach geordnet stets dieselbe ist, und konnte nun daran gehen zu prüfen, ob die anderen Fermente des Thier- und Pflanzenkörpers unter möglichst ähnlichen Verhältnissen in gleicher Weise in ihrer Wirksamkeit durch die Salze beeinflusst würden. Meine Beobachtungen erstrecken sich, natürlich wieder für 4 % Salz in dem Gemisch, auf die Verzuckerung von (je 10 Cc.) Stärkekleister durch menschlichen Speichel, Pankreasferment vom Rind und Diastase, die beiden letzten Fermente gelöst in Glycerin.

Versuch XIV (Speichel).

	Art des Salzes (Salzgehalt 4 %)	1 Cc. Cu-Lösung wird reducirt durch Cc.	Stärke der Ferment-Wirkung
I	Null	2.49	100
II	NaCl	1.95	128
III	NaNO ₃	2.73	91
IV	Na ₂ SO ₄	2.08	120
V	KCl	4.86	51
VI	KNO ₃	2.41	103
VII	K ₂ SO ₄	2.8	89
VIII	NH ₄ Cl	2.11	118
IX	NH ₄ NO ₃	7.97	31
X	(NH ₄) ₂ SO ₄	3.1	80

Versuch XV (Pankreasferment).

	Art des Salzes (Salzgehalt 4 %)	1 Cc. Cu-Lösung wird reducirt durch Cc.	Stärke der Ferment-Wirkung
I	Null	2.53	100
II	NaCl	1.96	129
III	NaNO ₃	2.02	125
IV	Na ₂ SO ₄	2.02	125
V	KCl	2.19	115
VI	KNO ₃	1.92	131
VII	K ₂ SO ₄	2.35	107
VIII	NH ₄ Cl	1.96	129
IX	NH ₄ NO ₃	2.21	114
X	(NH ₄) ₂ SO ₄	2.25	112

Versuch XVI (Diastase).

	Art des Salzes (Salzgehalt 4 ‰)	1 Cc. Cu-Lösung wird reducirt durch Cc.	Stärke der Ferment-Wirkung
I	Null	1.67	100
II	NaCl	3.12	53
III	NaNO ₃	2.36	71
IV	NaSO ₄	2.05	81
V	KCl	11	15
VI	KNO ₃	2.18	77
VII	K ₂ SO ₄	1.79	93
VIII	NH ₄ Cl	1.64	102
IX	NH ₄ NO ₃	1.73	97
X	(NH ₄) ₂ SO ₄	1.6	104

Stellen wir nun für die vier bisher benutzten Fermente die Reihenfolge der Salze nebeneinander:

Invertir. Ferment	Speichel	Pankreasferment	Diastase
(NH ₄) ₂ SO ₄	NaCl	{ KNO ₃	{ (NH ₄) ₂ SO ₄
NH ₄ Cl	{ NH ₄ Cl	{ NaCl	{ NH ₄ Cl
NH ₄ NO ₃	{ Na ₂ SO ₄	{ NH ₄ Cl	{ NH ₄ NO ₃
Na ₂ SO ₄	KNO ₃	{ NaNO ₃	{ K ₂ SO ₄
K ₂ SO ₄	{ NaNO ₃	{ Na ₂ SO ₄	{ Na ₂ SO ₄
NaNO ₃	{ H ₂ SO ₄	{ KCl	{ KNO ₃
KNO ₃	(NH ₄) ₂ SO ₄	{ NH ₄ NO ₃	{ NaNO ₃
NaCl	KCl	{ (NH ₄) ₂ SO ₄	{ NaCl
KCl	NH ₄ · NO ₃	K ₂ SO ₄	KCl

Die Unterschiede sind so bedeutend, dass nicht daran gedacht werden darf den Umstand, dass die angewendeten Fermente keine chemisch reinen Körper waren, als Erklärung gelten zu lassen. Dass ferner das Substrat nicht die Ursache der Verschiedenheiten ist, beweisen die drei an demselben Substrat, Stärkekleister, mit verschiedenen Fermenten angestellten Versuche. Dürfen wir somit das Ferment als den beeinflussten Theil der Fermentation betrachten, so bleibt doch noch immer die Frage offen, ob bei demselben Ferment nicht eine Aenderung des Substrates auch eine Verschiebung der Reihenfolge der Salze nach sich zieht. Um dies zu entscheiden, wollte ich Salicin durch Speichel zerlegen, fand

aber wie Cohnheim¹⁾, dessen Angaben mir nicht gegenwärtig gewesen waren, dass Speichel gar nicht auf Salicin wirkt. Ebenso wenig wird Salicin durch die anderen drei Fermente verändert. Emulsin, das mehrere Glucoside spalten soll, stand mir grade nicht zu Gebote. Uebrigens bemerke ich im Voraus, dass, wenn bei einer Zerlegung von Amygdalin und von Salicin durch Emulsin (bei gleichem Salzgehalt der Mischungen) die Reihenfolge der Salze in den beiden Fällen sich verschieden ergeben sollte, der Einwand, dass Emulsin ein Gemenge von Fermenten ist, mir nicht unberechtigt scheint.

Fassen wir das Bisherige zusammen, so ist also gefunden eine sehr bedeutende Abhängigkeit der Fermente in ihrer Wirkung von der gleichzeitigen Anwesenheit von Salzmolekülen, und zwar eine Abhängigkeit specifisch für jedes Ferment. Von allen bis jetzt untersuchten Fermenten zeigt das invertirende Ferment der Hefe bei Weitem die grösste Sensibilität. Von einer näheren Untersuchung dieses Einflusses der Salzmoleküle bei Aenderung der Zeit und der Temperatur des Versuches und ferner der Menge des Fermentes, von der Beantwortung der Frage, ob die im Allgemeinen hemmenden Salze nicht doch wenn in ganz geringer Menge zugesetzt fördernd wirken können (ähnlich etwa wie nach meinen Versuchen²⁾ die Erregbarkeit der Muskeln in verdünnten Lösungen auch der schädlichsten Salze länger erhalten bleibt als in destillirtem Wasser), von allen solchen Einzelheiten habe ich einstweilen absehen müssen, so wichtig derartige Dinge auch sein müssten sowohl in physiologischer Hinsicht für eine genaue Kenntniss der Fermente, als auch in praktischer Hinsicht. Könnte es sich doch leicht einmal darum handeln die Fermentthätigkeit, sei es intra, sei es extra corpus zu beeinflussen, und zwar nicht bloss hemmend, wozu man ja schon Mittel besass, sondern auch fördernd. Mit nicht vollkommen reinen Fermenten jene Arbeit zu unternehmen wäre aber wohl verlorene Mühe.

Kehren wir nun noch einmal zu dem Ausgangspunkt der ganzen Untersuchung, der Muskelsäuerung in Salzlösungen zurück. Die anfangs mitgetheilten Beobachtungen finden nach diesem eingehen-

1) Zur Kenntniss der zuckerbildenden Fermente. Virch. Arch. XXVIII. pag. 241.

2) Dieses Arch. Bd. II. pag. 116.

den Studium verschiedener anderer Fermentationen nunmehr ihre genügende Erklärung: die verschiedenen Salze wirken in eigener Weise ganz unabhängig von ihrer Wasser anziehenden Kraft. Ich habe aber nachträglich noch zwei Versuche mit einem Kochsalz-Muskelauszug gemacht, von dem je 2 Cc. ganz wie oben mit Lakmus und dem gleichen Volumen verschiedener Salzlösungen vermischt worden sind, so zwar, dass wiederum jedesmal 4 % des betreffenden Salzes in der Mischung enthalten waren. Hierdurch wird auch der früher als möglich angedeutete Fehler der ungleichen Löslichkeit der Muskelsubstanz in den verschiedenen Salzlösungen vermieden. Die ursprünglich gleich blau gefärbten Gläser ordneten sich nach 24^h von Roth nach Blau folgender Maassen:

Zwischen die beiden ersten Gruppen schaltete sich das Reagenzrohr mit der salzfreien Mischung ein. Also auch die Säurebildung im Muskel kann durch Salzmoleküle nicht bloss gehemmt, sondern auch befördert werden.

Richtete man näher die Aufmerksamkeit auf die Abhängigkeit der Gerinnung des Blutes, oder allgemeiner des Faserstoffs von dem Salzgehalt der Flüssigkeit, von welcher ein Einfluss längst bekannt ist, so würden sich gewiss auch ganz bestimmte Verhältnisse finden lassen, wie in allen anderen Fermentprozessen.

Die Literatur weist, abgesehen von den Angaben betr. die Verwerthung concentrirter Salzlösungen, über den Einfluss von Salzen auf ungeformte Fermente nur eine einzige hierher gehörige Beobachtung auf. Gianuzzi¹⁾ theilt mit, dass Muskeln nach zwei- bis dreistündigem Liegen in 0,5 % Kalisalzlösungen Wasserstoffhyperoxyd nicht mehr gasförmig zersetzen. Es ist jetzt wohl kein Zweifel mehr, dass alle Zersetzungen des Wasserstoffhyperoxydes durch thierische oder pflanzliche Theile oder isolirte Substanzen, und so auch die durch den Muskel bedingte auf Fermente zu beziehen sind, nicht, wie Gianuzzi dachte, auf die Eiweisskörper.

1) Die Einwirkung der Eiweisskörper auf Wasserstoffsüperoxyd. Virch. Arch. XXXIV. pag. 443.

Die Angabe von Gianuzzi ist aber selbst nicht richtig. Auch wenn ich Stücke blutfreien Muskels Tage lang in gesättigter Lösung von KCl liegen liess, sah ich noch gasförmige Zersetzung des Wasserstoffhyperoxydes eintreten (ebenso auch bei anderen Organen). Meine zuletzt angeführten Muskelversuche haben nun zwar eine Hemmung der Fermentation »Muskelsäuerung« durch gewisse K-salze dargethan, aber von einer dauernden Zerstörung des Fermentes, die Gianuzzi anzunehmen scheint, kann nicht die Rede sein. Einen controlirenden Versuch habe ich schon vor mehreren Jahren, sehr bald nach der Publication von Gianuzzi gemacht, weil mir schon damals das Factum verwerthbar schien für eine Deutung der Wirkung der K-salze als einer Wirkung auf die Fermente. Da ich aber zu entgegengesetzten Resultaten kam wie Gianuzzi, so liess ich die Sache fallen ¹⁾.

Während nun eine Abhängigkeit der Fermentwirkung von Salzmolekülen bisher so gut wie unbekannt war, sind Beziehungen von Alkaloiden und verschiedenen anderen Stoffen, die zum Theil mit jenen zu den Giften gerechnet werden, bereits mehrfach aufgefunden worden. Es handelte sich dabei aber bis jetzt stets nur um Hemmungen der Fermentationen (die stark hemmenden Stoffe heissen wohl antiseptisch) niemals um Förderungen derselben. Von solchen Substanzen seien nur erwähnt Blausäure, Carbolsäure,

1) Nach Abfassung dieses Artikels erhalte ich durch die Güte des Herrn Prof. Heidenhain das Protokoll der Sitzung der schlesischen Gesellschaft für vaterländische Cultur vom 19. März, in welcher derselbe seine Beobachtungen über die Bauchspeicheldrüse mitgetheilt hat. Unter diesen finde ich eine in meine Untersuchung einschlagende Bemerkung, die folgender Maassen lautet:

„Eine Lösung des Albuminatfermentes in Wasser oder in Salzlösungen wirkt auf Faserstoff um so energischer, je höher — bis zu einer gewissen Grenze — der Gehalt an Ferment oder an Salz (Kochsalz, kohlens. Natron). Schon der Zusatz von 0,1 % Salz beschleunigt die Lösung des Fibrins erheblich. Doch gibt es für jeden Fermentgehalt einen maximalen Salzgehalt und für jede Salzconcentration einen maximalen Fermentgehalt, über welchen hinaus bei weiterem Zusatz von Salz resp. Ferment die Lösungsgeschwindigkeit des Fibrins nicht mehr steigt.“

Heidenhain hat somit zuerst ein neutrales Salz — die Nothwendigkeit eines Zusatzes von Na_2CO_3 zum Albuminatferment der Bauchspeicheldrüse war bereits bekannt — die Thätigkeit von ungeformten Fermenten fördern gesehen.

Chinin, Salicylsäure, Thymol u. s. w. Dass die verschiedenen Fermente des Thierkörpers durch diese Stoffe auch in verschiedener Weise beeinflusst werden, hatten mir schon frühere Versuche über die Zersetzung von Wasserstoffhyperoxyd durch thierische Theile gezeigt. Aus solchen Beobachtungen Schlüsse ziehen zu wollen auf die Art der Wirkung eines Stoffes, die Bestimmung des Organes, welches am meisten afficirt wird, ist gewagt, wenn man nicht die Reaction des betr. Stoffes, oder falls er in Salzform angewendet wurde, wie KCN, die Art des Metalls genau berücksichtigt. Die Wirkung der Alkaloide angehend, so finde ich in meinen älteren Beobachtungen noch die Notiz, dass die Zersetzung des Wasserstoffhyperoxydes durch Muskelsubstanz durch Strychnin mehr gehemmt wird als durch Morphin, durch dieses mehr als durch Chinin.

Meine neuen Versuche beziehen sich auf die in dem ersten Abschnitte dieser Abhandlung benutzten Fermente mit Ausnahme der Diastase. Die Versuche sind wieder ganz wie die früheren mit je 0,4 Gramm Rohrzucker bzw. je 10 Cc. Stärkekleister in 25 Cc. Flüssigkeit angestellt. Die Mengen der Alkaloide sind in jedem Versuche angegeben, übrigens nicht sehr genau abgemessen, indessen, und das ist hier die Hauptsache, sind in den drei folgenden Versuchen stets die gleichen Mengen von Strychnin, Chinin u. s. w. zugesetzt. Unter Curare ist das käufliche, seinem Gehalte an Curarin nach nicht näher bestimmte Material gemeint. Die Versuche sind folgender Maassen ausgefallen.

Versuch XVII (Invertir. Ferment).

	In 1000 Theilen ist enthalten 1 Theil:	1 Cc. Cu-Lö- sung wird reducirt durch Cc.	Stärke der Ferment- Wirkung
I	—	1.02	100
II	Chinin. acet. .	3.1	33
III	Coffein. pur. . .	1.14	90
IV	Strychnin. acet.	2.43	42
V	Veratrin. sulfur.	0.41	249
VI	Morph. acet. .	0.09	114
VII	Curare	0.41	249

Versuch XVIII (Speichel).

	In 1000 Theilen ist enthalten 1 Theil:	1 Cc. Cu-Lö- sung wird reducirt durch Cc.	Stärke der Ferment- Wirkung
I	—	1.72	100
II	Chinin. acet. . .	1.49	115
III	Coffein. pur. . .	1.75	99
IV	Strychnin. acet. .	1.58	109
V	Veratrin. sulfur.	2.08	83
VI	Morph. acet. . .	1.58	109
VII	Curare , . . .	1.38	124

Versuch XIX (Pankreasferment).

	In 1000 Theilen ist enthalten 1 Theil:	1 Cc. Cu-Lö- sung wird reducirt durch Cc.	Stärke der Ferment- Wirkung
I	—	2.42	100
II	Chinin. acet. . .	2.08	108
III	Coffein. pur. . .	2.16	104
IV	Strychnin. acet. .	2.16	104
V	Veratrin. sulfur.	2.0	112
VI	Morph. acet. . .	2.16	104
VII	Curare	1.88	119

Ausser den schon früher, wenn auch nicht für alle diese Stoffe bekannten Hemmungen sehen wir somit auch sehr ausgesprochene Beförderungen der Fermentationen. Das invertirende Ferment der Hefe zeigt sich auch hier wieder als das empfänglichste. Ob die Unempfindlichkeit des Pankreasfermentes sich bei allen Pflanzenfressern findet, ob die Beförderung der Zuckerbildung durch Curare bei dem Curarediabetes mit zu verwerthen ist, muss weiteren Untersuchungen überlassen bleiben.

Auch mit dem Einfluss derselben Alkaloide auf die Muskelsäuerung habe ich mich in derselben Weise wie früher bei den Salzen noch kurz beschäftigt. Man stösst hier in Folge der nicht immer ganz neutralen Reaction der Alkaloide auf einige Schwierigkeiten, so dass ich einstweilen nur aussagen kann, dass die Verschiebung der ursprünglichen Reihenfolge der blau bis violettroth

gefärbten Mischungen auf eine nicht unbeträchtliche Einwirkung der Alkaloide hemmend sowohl wie fördernd schliessen lässt. Genauere Versuche können hier sicher noch manche Aufschlüsse für die allgemeine Muskelphysiologie bringen.

Die im Vorstehenden besprochenen Eigenschaften der Fermente in ganz spezifischer Weise auf die Anwesenheit von fremden Molekülen verschiedenster Art zu reagiren, lässt sich sehr wohl benutzen, um Fermente gleicher Wirkung von einander zu unterscheiden, wie z. B. Ptyalin und Diastase, oder noch näherstehende, wie die aus verschiedenen Drüsen stammenden zuckerbildenden Fermente des Thierkörpers u. dgl. Der Mittel zu solcher Unterscheidung gibt es allerdings noch mehrere, wie die Bestimmung der Temperatur der besten Wirksamkeit, ferner der Zersetzungstemperatur, des mehr oder weniger schädlichen Einflusses eines Zusatzes von Säuren oder Alkalien u. s. w., doch lassen wenigstens die ersten beiden Mittel wegen der Schwierigkeit der Untersuchung besonders bei feineren Unterschieden sehr oft im Stich und werden sicher alle durch die Salzversuche an Feinheit und Leichtigkeit der Handhabung übertroffen.

Noch weitere, zum Theil bereits angedeutete Folgerungen glaube ich aber aus den mitgetheilten Beobachtungen ziehen zu dürfen.

Die Schönbein'schen Arbeiten haben sowohl im Pflanzenreich, wie ganz besonders im Thierreich die weite Verbreitung von Materien nachgewiesen, welche Wasserstoffhyperoxyd gasförmig zersetzen, Materien, die wir jetzt als zu den Fermentsubstanzen gehörig betrachten. Bei einer schon mehrfach erwähnten Untersuchung über die Zersetzung von Wasserstoffhyperoxyd durch thierische Organe und isolirte Substanzen habe ich nun weiter gefunden, dass diese Fermente sehr verschieden von einander sind. Wenn man die blutfreien Organe (natürlich in gleich grossen Stücken u. s. w.) feucht oder trocken eine Zeitlang erhitzt, oder dieselben mit Alkalien oder mit Säuren behandelt, oder wenn man erst gleichzeitig mit dem Wasserstoffhyperoxyd Alkalien oder Säuren, oder irgend ein sogenanntes Gift mit ihnen in Berührung bringt, so beobachtet man ein ganz verschiedenes Verhalten der Organe dem Wasserstoffhyperoxyd gegenüber: die einen zersetzen dasselbe noch unter Freiwerden von Sauerstoff, die anderen viel schwächer oder gar nicht. Nun hat man es freilich nicht mit einfachen Stoffen zu thun, sondern mit einem Gemisch von Fermenten und anderen Substanzen, man könnte

die zu Tage tretenden Unterschiede auf die Eigenschaften dieser beigemengten fremden Stoffe beziehen, die vielleicht unter den besonderen Umständen: in Folge ihrer Veränderung durch die Erhitzung oder wegen der Anwesenheit von Alkalien u. s. w. sich sofort des freiwerdenden Sauerstoffs bemächtigten. Allein die Differenzen, deren Wiedergabe in Tabellen ich für unnöthig halte, die grosse Widerstandsfähigkeit der Fermente in einem Theile der Organe, die grosse Hinfälligkeit in anderen sind doch zu bedeutend, um nicht an eine andere Erklärung denken zu lassen als die, dass überall dasselbe Ferment vorhanden sei, etwa das so weit verbreitete diastatische oder das ebenfalls in vielen Organen gefundene peptische Ferment. Ausserdem, und das scheint mir ein gewichtiger Grund zu sein, sind die Mengen dieser Fermente überhaupt viel zu gering, um eine so lebhafte Zersetzung des Wasserstoffhyperoxydes, wie wir sie schon durch ganz kleine Stückchen der Organe bewirkt sehen, zu veranlassen. Ich beziehe diese Zersetzungen vielmehr auf den Organen eigenthümliche Fermente, nehme grade wie in dem Muskel, bei welchem der Vergleich der bei der Starre auftretenden Erscheinungen mit denen bei der Thätigkeit den Gedanken, auch diese als auf einem Fermentationsvorgang beruhend anzusehen, längst nahe gelegt hat¹⁾, so auch in den anderen Organen und deren Elementen, den Zellen, einen Fermentationsprocess als das Wesen des Lebensprocesses an. In dieser Weise hatte ich meine Auffassung formulirt, als mir die interessante Abhandlung von Pflüger²⁾ »Ueber die physiologische Verbrennung in den lebenden Organismen« zugienge, in welcher (pag. 343) der Lebensprocess als die intramoleculare Wärme höchst zersetzbarer und durch Dissociation sich zersetzender Eiweissmoleküle definirt wird. Die Pflüger'sche Hypothese erklärt den Anfang des organischen Lebens und ist so viel weiter tragend als die meinige. Ob aber die intramoleculare Bewegung wirklich genügt, um alle Erscheinungen in den bereits gebildeten Organismen zu erklären, ob wir bei diesen von den Fermenten so ganz absehen dürfen, wie Pflüger dies ganz ausdrücklich (p. 311) gethan hat, scheint mir mehr als fraglich. Sehen wir die Fermente, die auch das Pflüger'sche »todte Eiweiss« zu verändern im Stande sind, bereits in den einfachsten

1) S. die Citate auf p. 124 dieser Abhandlung.

2) Dieses Arch. Band X. p. 251 ff.

Organismen auftreten, finden wir sie im Ei nur an den Stellen, wo der Embryo sich entwickelt, nicht in dem Nährmaterial des Dotters und des Eiweisses, beachten wir die oben besprochene weite Verbreitung der Fermente, so weist dies Alles doch sicher auf ihre grosse Bedeutung für die Lebensvorgänge hin. Die Temperatur, deren Einfluss auf die intramolecularen Bewegungen Pflüger hervorhebt, ist von demselben Einfluss auf die Fermentationsprocesse. Lässt sich nun auch nicht leugnen, dass wahrscheinlich die Förderung der Fermentation durch Erhöhung der Temperatur wesentlich auf Rechnung der vermehrten intramolecularen Schwingungen der Atome des Substrates zu setzen ist, so ist doch andererseits kein Grund vorhanden, einen Einfluss auf die Fermente selbst gänzlich auszuschliessen.

Der Pflüger'schen Hypothese Rechnung tragend modificire ich nun meine Auffassung dahin, dass ich Fermentvorgänge als einen wesentlichen Theil der Vorgänge im Thierkörper ansehe. Diese Fermentationsprocesse sind in der Ruhe wohl meist sehr gering, werden in manchen Organen periodisch durch Einflüsse verschiedener Art beschleunigt (rhythmische Bewegungen), pflanzen sich in anderen, wenn einmal angeregt, mit grosser aber immer noch messbarer Geschwindigkeit von Querschnitt zu Querschnitt fort¹⁾. Berücksichtigen wir nun die Abhängigkeit der Fermente von der Temperatur, von der Anwesenheit fremder Moleküle verschiedener Art, so dürfen wir doch sicher, wenn wir dieselben Agentien auf den thierischen Organismus, bezw. auf bestimmte Theile desselben einwirken sehen, die Frage aufwerfen, ob es sich hierbei wirklich nur, wie man bisher wohl allgemein angenommen hat, um eine Einwirkung auf die (im allgemeinen Sinne des Wortes) bewegungsfähige Masse der betreffenden Theile, der Muskeln, der Nerven, der Ganglienzellen u. s. w. handle, oder ob nicht daneben auch in manchen Fällen, ja ich behaupte in vielen Fällen sogar ausschliesslich die Fermente es seien, welche beeinflusst werden. Bei dem »ausschliesslich« denke ich vorzugsweise an die sogenannten Gifte, die in minimaler Menge in den Körper gebracht so bedeutende Störungen veranlassen. Mir scheinen grade hier die auch nur in so geringer Quantität vorhandenen Fermente diejenigen Körper zu sein, welche in erster Linie in Betracht zu ziehen sind.

1) Vgl. hierzu die schon mehrfach citirten weiteren Untersuchungen zur Physiologie der Muskeln und Nerven von L. Hermann. Berlin 1867.

Durch einige Beispiele, gegriffen aus dem vorliegenden toxiologischen Material möchte ich meine Auffassung erläutern. In erster Linie sind da die Muskeln zu benutzen, weil sie im Vergleich mit den meisten anderen Organen am besten in chemischer Beziehung bekannt sind, und ferner weil bei ihnen die gemachte Unterstellung eines Fermentationsprocesses als das Wesen der Thätigkeit am wenigsten auf Widerspruch stossen wird. Den Tod des Muskels in Chlorkaliumlösung auf eine Lähmung des Muskelfermentes zurückzuführen trage ich, nachdem die Hemmung der Säurebildung bekannt geworden ist, kein Bedenken mehr. Ganz anders ist sicher der Tod des Muskels in Kohlensäure, die ihn nach den Untersuchungen von G. Liebig¹⁾, J. Ranke²⁾ und L. Hermann³⁾ rasch unerregbar und starr macht. Hier ist die Muskelsubstanz selbst abgestorben, aber ob primär oder erst secundär in Folge eines stark befördernden Einflusses der Kohlensäure auf die Thätigkeit des Muskelfermentes ist nicht entschieden. Ist auch noch gar kein Fall irgend welchen Einflusses von Kohlensäure auf ungeformte Fermente bekannt, so dürfte es sich doch wohl der Mühe lohnen zu untersuchen, ob die Kohlensäure nicht manche Fermentationsvorgänge wie u. A. die in den nervösen Centralorganen vermittelt ihrer Einwirkung auf die betreffenden Fermente befördert, andere Fermente wie z. B. die der Pflanzen in ihrer Thätigkeit hemmt, und so die Oxydation im Pflanzenkörper bei Tag verringert. Ganz besonders ist aber noch der Einfluss von Alkaloiden auf den Zuckungsvorgang zu erwähnen, der in den letzten Jahren so oft Gegenstand der Untersuchung gewesen ist. Nun verhalten sich die Muskeln von *Rana temporaria* und von *R. esculenta* dem Caffein gegenüber verschieden. Schmiedeberg⁴⁾, der Entdecker dieser Unterschiede, nimmt zu ihrer Erklärung eine Verschiedenheit der Muskelsubstanz beider Arten an. Die sonstige vollkommene Uebereinstimmung der Muskeln der beiden Thierarten in chemischer, physikalischer und physiologischer Hinsicht lässt mich

1) Ueber die Respiration der Muskeln. Arch. f. Anat. u. Physiol. 1850. pag. 393.

2) Untersuchung über die chemischen Bedingungen der Ermüdung des Muskels. II. Ebendasselbst 1864. p. 320.

3) Untersuchungen über den Stoffwechsel der Muskeln. p. 54. Berlin 1867.

4) Ueber die Verschiedenheit der Caffeinwirkung an *Rana temporaria* und *Rana esculenta*. Arch. f. exper. Pathol. und Pharmakol. 1874. II. p. 62.

aber viel mehr eine Gleichheit der Muskelsubstanz und eine Verschiedenheit des Fermentes vermuthen. Wenn ich ferner den Krebsmuskel unempfindlich finde gegen Veratrin, niemals, ich mag Dosis und Application des Giftes noch so sehr variiren, auch nur die geringste Veränderung der Muskelcurve beobachte, so möchte ich auch in diesem Falle bei der ebenfalls noch sehr grossen Aehnlichkeit des Muskels des Krebses mit dem des Frosches eine Unempfindlichkeit des Fermentes in jenem annehmen. Die zahlreichen Fälle von Immunität einzelner Thiere oder Thierclassen gegen gewisse Gifte sind überhaupt wohl sehr geeignet, Klarheit in das Wesen der Vergiftungen zu bringen.

Endlich sei es mir zum Schluss noch gestattet, noch eine andere an meine Beobachtungen sich anschliessende Betrachtung kurz zu berühren, nämlich die, dass die Förderung (und natürlich umgekehrt auch die Hemmung) gewisser durch geformte Fermente (Organismen verschiedener Art) hervorgerufener Gährungen durch Salze oder Gifte wenn auch sicher zu einem guten Theil auf die durch dieselben beeinflusste Ernährung und Fortpflanzung der betreffenden Organismen, zu einem anderen Theil aber auch wohl auf ein allerdings noch nicht isolirtes hypothetisches Ferment in denselben bezogen werden könnte. Letzteres angehend, so ist mir der Umstand, dass es bis jetzt vielfach oder meist noch nicht gelungen ist, ein ungeformtes Ferment aus den Fäulniss, Milchsäurebildung u. s. w. erregenden Organismen zu extrahiren, noch kein Beweis gegen die Annahme eines solchen. Es können sehr wohl die Methoden bis jetzt unvollkommen gewesen sein.

Ein Beitrag zur Kenntniss der Lebersekretion.

Von

Dr. N. Socoloff

aus St. Petersburg.

(Aus dem Laboratorium des Herrn Prof. Hoppe-Seyler zu Strassburg i. E.)

Huppert schreibt in seiner Arbeit »über das Schicksal der Gallensäure im Ikterus« ¹⁾ vom Jahre 1864 von einem Antheil der

1) Archiv der Heilkunde, 1864. S. 237.