Ueber Labwirkung.

Von

G. Lörcher,

Assistenten am physiologischen Institut in Tübingen.

1) Nomenclatur.

Um Missverständnissen vorzubeugen, dürfte eine kurze Auseinandersetzung über die in vorliegender Arbeit angewandte Nomenclatur nicht überflüssig sein.

Wir bezeichnen das werdende Lab, die Vorstufe des fertigen Ferments, als Labzymogen, Vorlab oder Prolab, das fertige Ferment als Labenzym, Labferment¹⁾ oder schlechtweg Lab. Wenn ich dagegen von Labextracten oder Lablösungen spreche, so verstehe ich darunter auch, wie übrigens aus dem Sinn der betreffenden Stellen ohne Weiteres hervorgeht, Flüssigkeiten, die beides, Ferment und Vorferment, enthalten.

Den Vorgang der Ueberführung der Zymogene in Enzyme bezeichnet Arthus²⁾ als zymogénèse. Da wir aber logischer Weise, wie es auch Arthus thut, die zur ζύμη werdende Substanz, die Vorstufen der Fermente, als Zymogene bezeichnen, müssten wir nicht von Zymogenese, sondern von Enzymogenese reden. Das umformende Agens (agent zymogénique, Arthus) besonders zu bezeichnen, halten wir für entbehrlich.

Unter Gerinnung der Milch verstehen wir ganz allgemein die Ueberführung des Caseïns aus der flüssigen in die feste Form. Bei der Gerinnung unterscheiden wir zwei Unterarten, die Säure- und die Labgerinnung, und bezeichnen wie Hammarsten, Arthus³⁾ und andere die erstere als Fällung (précipitation), die letztere als Verkäsung (caséification) des Caseïns.

1) Vgl. hierzu: Podwyssozki jun., Arch. f. d. ges. Phys. Bd. 39 S. 62. „Zur Methodik der Darstellung von Pepsinextracten.“

2) M. Arthus, Nature des enzymes. Jouve éditeur. pag. 13. Paris 1896.

3) M. Arthus, Remarques sur le ferment. Arch. de phys. 5^e série T. 6 pag. 258. 1894.

2) Darstellungsmethoden von Labflüssigkeiten.

Da das Lab im Verdauungstractus, so viel wir bis jetzt wissen, wohl ausschliesslich im Magen vorkommt und sich hier im Magensaft und der Magenschleimhaut als fertiges Ferment und als Vorferment findet, gibt es dementsprechend zwei Methoden, dasselbe zu gewinnen.

Aus dem Magensaft lässt es sich gewinnen: durch Aushebern resp. Ausdrücken des Magensaftes mittelst der Magenpumpe oder des Schlauches, in verdünnter Form durch die Magenspülung, ferner durch den künstlich hervorgerufenen Brechact, durch Anlegung einer Magenfistel und endlich durch Einführung von Schwämmchen.

Bei der Darstellung von Labextracten aus der Schleimhaut handelt es sich zunächst darum, ob die frische oder getrocknete Schleimhaut benutzt werden soll. Im Allgemeinen wird für die Wahl der einen oder andern der Zweck maassgebend sein, den man mit dem Extract verfolgt.

Im Ganzen ist die getrocknete Schleimhaut vorzuziehen.

Die Trocknung schädigt das Ferment in keiner Weise, da der zur Trocknung nöthige Wärmegrad die Körpertemperatur nicht zu überschreiten braucht.

Abgesehen davon, dass das Arbeiten mit der getrockneten Schleimhaut reinlicher ist, ist es leichter, sie in gleiche Theile zu theilen, sie durch Pulverisirung gleichmässiger zu mischen, oder, wo es wünschenswerth ist, gewisse Parteen getrennt zu untersuchen. Die wesentlichsten Vorzüge bietet jedoch das Arbeiten mit der getrockneten Schleimhaut da, wo es sich darum handelt, Untersuchungen über den Gehalt der Schleimhaut an Vorferment und fertigem Ferment, an Zymogen und Enzym, anzustellen. Beim Zerquetschen und Abschaben der Schleimhaut ist es nicht zu vermeiden, dass die der Schleimhautoberfläche anhaftende Säure auch mit den tieferen Schleimhautparteen in Berührung kommt und sehr viel Zymogen in Enzym überführt.

Die von mir später zu beschreibenden Versuche über den Enzym- und Zymogengehalt der Magenschleimhäute von Katzen haben mich hierauf aufmerksam gemacht. Es sei zum Beleg hiefür einer der Versuche angeführt.

Versuch 1.

Die Magenschleimhaut einer Katze wird in den Linien der grossen und kleinen Curvatur halbirt und die eine Hälfte frisch, die andere trocken mit gleichviel Glycerin extrahirt. Während nun das aus der frischen Schleimhaut bereitete Extract, in einer bestimmten Menge zu 10 ccm Milch gebracht, diese in 2 Stunden 25 Minuten zur Gerinnung bringt, braucht das aus der getrockneten Schleimhaut bereitete Extract, in derselben Menge zu ebensoviel Milch gesetzt, unter denselben Bedingungen 4 Stunden. Es werden nun beide Extracte durch Zusatz gleicher Volumina 0,1% HCl in Säureextracte verwandelt und aus enzym- und zymogenhaltigen Extracten in nur enzymhaltige Lablösungen verwandelt. Während das Glycerinextract aus der frischen Schleimhaut an Wirksamkeit das Extract aus der getrockneten fast um die Hälfte übertroffen hatte, dreht sich bei den Säureextracten das Verhältniss um. Das Säureextract der frischen Schleimhaut braucht 23 Minuten, das der getrockneten nur 5 Minuten¹⁾.

Es ist also in dem Extract der getrockneten Schleimhaut viel mehr unverwandelter Zymogen geblieben als in dem der frischen.

Endlich bietet das Arbeiten mit getrockneter Schleimhaut bei allen vergleichenden Untersuchungen des Fermentgehalts von Thieren, die sich in verschiedenen Stadien der Verdauung befinden, nicht nur gewisse Vorthelle, sondern es ist gegenüber der Untersuchung der frischen Schleimhaut die richtigere, fehlerfreiere Methode.

Die Magenschleimhaut eines verdauenden Thieres ist schwerer und grösser als die eines Thieres, dessen Magen durch langes Hungern vollständig entleert ist. Auch bei sonst gleichen Thieren kann man sich hievon durch Wägung der Schleimhäute und durch Vergleichung ihrer Fläche überzeugen. Die Magenschleimhaut eines verdauenden Thieres ist in Folge ihrer grösseren Blutfülle, ihres vermehrten Feuchtigkeitsgehalts überhaupt einmal schwerer, ferner aber auch in Folge der grösseren Ausdehnung durch den Mageninhalt grösser als die Magenschleimhaut eines Hungerthieres.

Es lassen sich also, wenn nicht Fehler gemacht werden sollen, weder Gewichts- noch Flächentheile frischer Schleimhäute von hungernden und verdauenden Thieren vergleichen.

Die wesentlichste Fehlerquelle, der verschiedene Feuchtigkeitsgehalt der zu vergleichenden Schleim-

1) Es wäre zu erwarten gewesen, dass beide Säureextracte gleich wirksam gewesen wären. Das Extract aus der getrockneten Schleimhaut ist wohl wirksamer, weil der fein gepulverten Magenschleimhaut in derselben Zeit überhaupt mehr Ferment entzogen werden konnte, als der frisch zerschnittenen.

häute, wird bei der Vergleichung der aus trockenen Schleimhäuten gewonnenen Extracte vermieden.

Bei der Präparation der Magenschleimhaut verfähre ich nach der von Ebstein und Grützner¹⁾ angegebenen Methode.

Der in der Linie der kleinen Curvatur aufgeschnittene Magen wird, mit der Schleimhautseite gegen die Hohlhand gerichtet, über die gespreizten Finger gespannt. Die Muscularis wird durch Scheerenschnitte entfernt, dann die Schleimhaut mit der Aussenseite auf Filtrirpapier gelegt, manchmal auch auf eine Korkplatte aufgespannt und in der Nähe des Ofens oder einer Flamme bei 30—40° C. getrocknet. Der Process der vollständigen Trocknung nimmt wenige Stunden in Anspruch. Nach Entfernung des anhaftenden Filtrirpapiers wird die fein zerschnittene Schleimhaut in gut verkorkten Gläsern aufbewahrt. Bei Bedarf eines Extractes wird die zerschnittene Schleimhaut auf ein Sieb gebracht und unter Zerreiben durchgeseiht. Von dem nunmehr fast staubfeinen Pulver werden Extracte gemacht.

Schon die verschiedensten Flüssigkeiten wurden zur Extraction verwendet. Salzsäurelösungen, Kochsalzlösungen, Thymolwasser, Glycerin, sogar Sodalösungen wurden angewandt. Schumburg²⁾ prüfte, wie es früher schon Baginsky³⁾ gethan, diese Methoden und ordnete die gewonnenen Extracte nach ihrer Wirksamkeit in absteigender Reihenfolge so an, wie es oben geschehen ist. Maly⁴⁾ hält die wässrige Lösung eines durch Ausfällung mit Alkohol aus einem Glycerinextract gewonnenen Niederschlags für die empfehlenswertheste Form einer Lablösung. Hammarsten⁵⁾ benutzte seiner Zeit allerdings diese Form der Extraction. Trotzdem die so gewonnene Lablösung noch in ungeheurer Verdünnung wirksam ist, geht bei ihr doch, wie schon a priori klar ist und der Versuch bestätigt, von dem im Labglycerinextract enthaltenen Ferment verloren.

1) P. Grützner, Ueber Bildung und Ausscheidung des Pepsins S. 37. Breslau 1875.

2) W. Schumburg, Ueber das Vorkommen des Labferments im Magen des Menschen. Virchow's Archiv Bd. 97 S. 263.

3) Baginsky in Hoppe-Seyler, Zeitschr. f. phys. Chemie Bd. 7 S. 209.

4) Maly, Chemie der Verdauungssäfte in Hermann's Handbuch d. Phys. II. Teil S. 51.

5) Hammarsten, Zur Kenntniss des Caseïns und der Wirkung des Labferments S. 50, 54 und 63. Upsala 1877.

Es erscheint mir vortheilhaft, sich eine Stammlösung von Lab herzustellen, die sich nicht leicht zersetzt und sowohl Enzym als Zymogen enthält. Sowohl die wässrige Lösung als die Säurelösung besitzen die erstere Eigenschaft nicht. In beiden entstehen nach kurzer Zeit, besonders in der heissen Jahreszeit, Pilzbildungen, in der letzteren endlich wird alles Zymogen in Enzym umgeformt. Die von mir stets benutzten Glycerinextracte sind sehr haltbar, erhalten Zymogen und Enzym in unveränderter Form und sind in ihrer Wirkung recht constant. Da das Prolab in das Glycerin übergeht, kann jeder Zeit durch Zusammenbringen von Labglycerinextract und 0,1 % HCl eine sehr kräftig wirksame Lablösung erhalten werden.

Folgender Versuch diene zur Bestätigung des Gesagten:

Versuch 2.

1) Von einem Labglycerinextracte (1 g Schleimhautpulver [Kalb] auf 100 ccm Glycerin) wird 0,1 ccm zu 10 ccm Milch gebracht. Die Gerinnung wird bei einer Temperatur des Wasserbads von 35° untersucht.

Die Gerinnung erfolgt nach 1 Stunde 2 Minuten.

2) Eine wässrige Lablösung wird nach Hammarsten's Vorschrift folgendermaassen aus dem eben erwähnten Glycerinextracte gewonnen. Es werden 2 ccm Labglycerinextract mit 20 ccm Alkohol gefällt und der Niederschlag in 10 ccm H₂O gelöst. Von dieser wässrigen Lösung werden bei einer Temperatur von 35° im Wasserbad 0,5 ccm zu 10 ccm Milch gesetzt. Gerinnung nach 3 Stunden 2 Minuten.

3) Ein Säureextract wird dargestellt, indem 1 ccm des Glycerinextracts mit 1 ccm HCl 0,1 % für 1/2 Stunde zusammengebracht werden. Darauf Zusatz von 2 ccm H₂O. Von diesem Säureextract wird 0,1 ccm zu 10 ccm Milch bei einer Temperatur des Wasserbads von 35° gebracht.

Die Gerinnung erfolgt nach 8 Minuten.

Es befinden sich nun in Lab enthalten in

		Gerinnung nach
Nr. 1)	Labglycerinextract: 0,001 g Schleimhautpulver	1 Stunde 2 Min.
Nr. 2)	alkohol. Lösung: 0,001 g „	3 Stunden 2 Min.
Nr. 3)	Säureextract: 0,00025 g „	8 Min.

Es lässt sich nun gegen die Verwendung des nicht neutralisirten Säureextractes einwenden, dass die in 0,1 ccm desselben enthaltene Menge von 0,025 ccm 0,1 % HCl die Gerinnung beschleunigt habe. Allein ich habe darüber Versuche angestellt und gefunden, dass eine solch' geringe Menge Säure nur eine unbedeutende, ernstlich nicht in Betracht kommende Eigenwirkung entfaltet, die sich zur Lab-

wirkung addirt. Ich sah auch späterhin, wenn nicht ein besonderer Werth auf die neutrale Reaction gelegt wurde, von der Neutralisation schwachsaurer Lablösungen häufig ab. Auch sie hat ihre Nachtheile.

Es ist bei der ungemein schädigenden Wirkung, welche Alkalien auf das Labferment ausüben (vgl. hierüber S. 167), die Neutralisation, auch wenn sie sehr vorsichtig gemacht wird, eine nicht ungefährliche Operation.

Der Versuch ergibt also in schlagender Weise die unverhältnissmässig grössere Wirksamkeit des Säureextracts.

Was also die Wahl der Extractionsmethode betrifft, so ist da, wo es sich darum handelt, eine sehr wirksame, nicht aufzubewahrende Lablösung zu erhalten, das Säureextract am Platze; wünscht man ein haltbares, die Untersuchung auf Zymogen und Enzym gestattendes Extract zu bekommen, empfiehlt sich das Glycerinextract.

3) Wirkung einiger Laugen und Salze auf die Labgerinnung.

a) Literatur.

Bei der Anführung der Literatur sehe ich davon ab, diejenigen Arbeiten genauer zu citiren, die über das Verhältniss der Salze zum Casein, ganz abgesehen von der Labgerinnung, handeln. Es ist zwar zur Erklärung der Salzwirkung auf die Labgerinnung von grösster Wichtigkeit, die Beziehungen der Salze zum Casein zu kennen, allein da ich hierüber nicht gearbeitet habe, begnüge ich mich damit, anzuführen, dass sich das Wesentlichste hierüber bei Hammarsten¹⁾, Söldner²⁾, Courant³⁾, Arthus⁴⁾ und Röhmann⁵⁾ findet.

Ausführliche Angaben über die Salzwirkung auf die Labgerinnung finden wir bei Hammarsten¹⁾. Er stellt zunächst die Be-

1) Hammarsten, Vgl. S. 144 dieser Arbeit. Zur Kenntniss u. s. w. S. 7, 11, 20.

2) Söldner, Inauguraldissertation „Die Salze der Milch und ihre Beziehungen zum Casein.“ 1888.

3) Courant, Pflüger's Archiv Bd. 50 S. 109. 1891.

4) M. Arthus, Substances albuminoides du lait. Paris. Arch. de phys. no. 4 pag. 673. Octobre 1893.

5) Röhmann, Ueber einige salzartige Verbindungen des Caseins und ihre Verwendung. Berlin. Klin. Wochenschrift 1895 Nr. 24.

dingungen fest, die es dem durch das Lab chemisch umgewandelten Casein möglich machen, ausgefällt zu werden. Er sagt: Für die Gerinnung ist die Anwesenheit von einer genügenden Menge Calciumphosphat nothwendiges Bedingniss. Die Phosphorsäure kann durch andere Säuren, wie Schwefelsäure und Kohlensäure, der Kalk durch andere alkalische Erden, wie diejenigen von Baryum, Strontium, Magnesium, ersetzt werden. Genauere Versuche, die später theilweise besprochen werden sollen, wurden über den Einfluss von Calcium-, Natrium- und Kaliumchlorid auf die Labgerinnung angestellt. Von dem phosphorsauren Natron¹⁾ wurde ein die Labgerinnung verlangsamender oder sie ganz aufhebender Einfluss festgestellt.

Boas²⁾ benutzte die gerinnungsbeschleunigende Wirkung von Chlorcalcium, um Spuren von Lab nachzuweisen. Er gibt (S. 256) folgende Gerinnungstheorie: Casein und Erdphosphate befinden sich in einem bestimmten Verhältniss zu einander, das bei Anwesenheit von Labferment gelockert wird. Dies geschieht um so schneller, sobald durch weiteren Zusatz von Kalksalzen das molekulare Gleichgewicht zwischen Casein und Erdphosphaten aufgehoben wird. Er gibt ferner an: Mundspeichel, neutrales Olivenöl und Fette wirken auf die Gerinnung nicht hemmend, Galle hemmt und zwar bei Zusatz von 1% choleinsäurem Natron erheblich. Ein Zusatz von 2% hebt die Labwirkung auf.

In der neueren Literatur sind besonders die Beobachtungen von Arthus und Pagès³⁾ bemerkenswerth. Sie unterscheiden mit Hammarsten⁴⁾ bei der Labgerinnung zwei Vorgänge, die chemische Umformung des Caseins und das Ausfällen des chemisch veränderten Caseins mit Salzen. Dem entsprechend sondern sie auch die Salze und andere Agentien in zwei Gruppen, die eine beeinflusst die chemische Umwandlung des Caseins durch das Lab, die andere beeinflusst die Ausfällung des veränderten Caseins. Gewisse Salze müssen endlich beiden Gruppen beigezählt werden.

1) Hammarsten, Upsala bekareförenings förhandl. Bd. 8 S. 63—86. 1872. Benutzt Referat in Hofmann-Schwalbe, Jahresb. f. Anat. u. Phys. Bd. 2 S. 392. 1875.

2) Boas, Labferment und Labzymogen im gesunden und kranken Magen. Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 14 S. 256. 1888.

3) Arthus et Pagès, Action du lab et coagulation du lait. Arch. de Phys. 5^e série T. 2 pag. 333, pag. 336—339. 1890.

4) Vgl. diese Arbeit S. 144 Zur Kenntniss u. s. w. S. 61.

Ueber die erste Gruppe sagt er folgendes: Die kaustischen Alkalien, die Alkalicarbonate zerstören das Lab, hindern oder unterdrücken deshalb, je nach der Menge, in der sie vorhanden sind, die Labwirkung. Die Alkalibicarbonate dagegen scheinen diesen verzögernden Einfluss nicht auszuüben. Er nimmt an, dass die Erdalkalisalze nicht bloss die Ausfällung beschleunigen, sondern auch auf die chemische Umformung des Caseïns einen stark beschleunigenden Einfluss ausüben, also beiden Gruppen beizuzählen sind.

Zur zweiten Gruppe gehören die Kalksalze, die durch Magnesium und Baryumsalze ersetzt werden können. Nicht ebenso wirken die Alkalisalze, deren Einfluss auf die Labgerinnung wenig wichtig ist. Werden der Milch die Kalksalze durch oxalsaures Natron oder Fluornatrium entzogen, so tritt keine Gerinnung, wohl aber eine chemische Umsetzung des Caseïns ein.

Ringer¹⁾ constatirt bei der Labgerinnung einen Antagonismus zwischen CaCl_2 auf der einen, NaCl , KCl , NH_4Cl auf der andern Seite. Verdünnte Milch, der Lab zugesetzt ist, kann, wenn ihr vorher NaCl , KCl , NH_4Cl zugefügt wurde und sie einige Zeit gestanden hat, durch CaCl_2 nicht oder fast nicht zur Gerinnung gebracht werden, während dies bei der nur mit Wasser versetzten Milch gelingt. Die gerinnungshemmende Wirkung dieser Salze beruht aber nicht darauf, dass diese Salze die chemische Umwandlung des Caseïns (change from caseinogen to casein) hintanhaltten, sondern darauf, dass sie der Ausfällung des veränderten Caseïns mit Kalksalzen entgegenwirken.

Edmunds²⁾ endlich, dem es gelang, milchgerinnendes Ferment aus fast allen Organen darzustellen, fand die eigenthümliche Thatsache, dass CaCl_2 das eine Mal, nämlich beim Hoden- und Muskel-extract, die Wirkung des Ferments unterstützte, sonst bei allen übrigen Extracten die Fermentwirkung hintanhalt.

1) Ringer, Antagonism of salts. Journ. of Phys. by Foster and Langley Vol. 18 pag. 425. 1895.

2) Arthur Edmunds, Notes on rennet on the coagulation of milk. Journ. of Phys. by Foster and Langley Vol. 19 pag. 466. 1896. Von demselben und anderen Forschern (Gley, Compt. rend. de la société de biologie S. 591, 1896, und ganz neuerdings Locke, Journal of experiment. medicine Vol. 2 pag. 493, 1897) liegen auch Untersuchungen vor über den Einfluss der Peptone auf die Labgerinnung, worüber ich aber keine eignen Erfahrungen besitze. Ich begnüge mich desshalb mit diesem Hinweis.

b) Leitende Gesichtspunkte.

Von Interesse erschienen mir die gleich zu besprechenden Versuche unter folgenden Gesichtspunkten:

Indem diese Versuche zeigen sollen, wie einige Laugen und Salze auf ein für die Magenverdauung besonders Magenkranker ohne Zweifel wichtiges Ferment, das Lab, einwirken, sollen sie einen kleinen Beitrag liefern zur Lösung der Frage, wie Salze überhaupt auf die Fermente wirken.

Dann ist es für sämtliche Untersuchungen von Fermenten, besonders aber da, wo es auf Trennung von Zymogen und Enzym ankommt, gut, die Wirkung der Salze zu kennen, die entweder bei der Extraction verwendet werden, oder bei der Neutralisation des künstlich durch Säure umgeformten Ferments entstehen, um klare Resultate zu haben.

Endlich sind solche Versuche, je mehr ihrer werden, geeignet, die Eigenschaften und das Wesen der Fermente schärfer herauszutreten zu lassen.

c) Methode.

Während bislang bei allen Versuchen, soweit sie über die Wirkung chemischer Agentien auf die Labgerinnung angestellt wurden, procentuale Lösungen verglichen wurden, stellte ich sie auf Anregung von Herrn Prof. Grützner mit äquimolekularen Lösungen an. Nur auf diese Weise ist es möglich, sich nicht nur überhaupt ein Bild von der chemischen Wirksamkeit gewisser Stoffe zu machen, sondern auch die Wirksamkeit dieser Stoffe unter einander zu vergleichen.

Pfleiderer¹⁾ hat unlängst im hiesigen Institute die Wirkung äquivalenter Säuremengen auf die Labgerinnung untersucht. Meine Versuche mögen sich an jene anreihen.

Bei der Ausführung der Versuche hatte ich mich zunächst darüber zu entscheiden, in welcher Form die zu untersuchenden Stoffe der Milch beigelegt werden sollen, ob in Substanz, ob in Lösung. Von letzterem sah ich zunächst ab. Wie Hammarsten schon gezeigt hat und ich selbst in vielen Versuchsreihen gesehen habe, wirkt schon Wasserzusatz von $\frac{1}{10}$ — $\frac{1}{5}$ Volumen merklich hemmend

1) R. Pfleiderer, Dieses Archiv Bd. 66 S. 27. 1897.

auf die Gerinnung. Auch wünschte ich die Wirkung der Salze auf die Labgerinnung der natürlichen Milch, nicht einer milchigen Versuchsflüssigkeit kennen zu lernen. Die Salze fügte ich der Milch so zu, dass dieselbe (abgesehen von ihrem eigenen Salzgehalt) einer Normalsalzlösung oder den Bruchtheilen einer Normalsalzlösung entsprach.

Dasselbe that Hammarsten¹⁾ bei einem Theil seiner Versuche, die er allerdings nicht mit äquimolekularen, sondern mit äquiprocentualen Salzmilchlösungen anstellte.

Die zu untersuchenden Stoffe wurden, nachdem ihnen etwaiges Krystallwasser möglichst vollständig entzogen war, in einer bestimmten Menge zur Milch gesetzt, so dass die Mischung einer Lösung von $\frac{1}{1}$ n, $\frac{1}{10}$ n, $\frac{1}{50}$ n entsprach. Mit einer dieser Lösungen wurden nach Wunsch weitere Verdünnungen mit Milch vorgenommen. Nur Milch in solchen Salzconcentrationen wurde zur Herstellung weiterer Verdünnungen verwendet, die durch den Salzzusatz keine gröbere, mit dem Auge wahrnehmbare Veränderung oder Zersetzung erlitten hatte.

Mit wenigen Ausnahmen wurden zwei oder mehrere Stoffe neben einander mit ein und derselben Milch untersucht und jedes Mal ein Probeversuch ohne Salzzusatz angestellt. Nach Abschluss eines Versuchs wurden die Gerinnungszeiten der mit Salz versetzten Milch mit der Gerinnungszeit der salzfreien Milch verglichen. Wenn nun der Salzzusatz eine Beschleunigung der Labgerinnung erzeugt hatte, wurde der Zahl von Minuten, welche der Beschleunigung entsprach, ein $+$ -Zeichen vorgesetzt. Umgekehrt wurde die der Hemmungszeit entsprechende Zahl von Minuten mit einem $-$ -Zeichen versehen. Wenn also beispielsweise in diesen Versuchen davon die Rede ist, dass $\frac{1}{50}$ n BaCl_2 einen Einfluss auf die Labgerinnung von $+5\frac{1}{2}$, $\frac{1}{50}$ n MgSO_4 von $-3\frac{1}{2}$ ausübe, so heisst dies: BaCl_2 in einer Menge von Substanz zur Milch gesetzt, die einer $\frac{1}{50}$ n-Lösung entspricht, beschleunigt die Labgerinnung der mit Salz versetzten Milch im Vergleich zur natürlichen um $5\frac{1}{2}$ Minuten, MgSO_4 hemmt sie in derselben Concentration um $3\frac{1}{2}$ Minuten.

Als Lablösung wurde das aus der Magenschleimhaut des Kalbes gewonnene, nicht neutralisirte Glycerin-Säureextract verwendet, dessen

1) Hammarsten, Zur Kenntniss u. s. w. S. 69.

Herstellung S. 145 (Vers. 2, 3) beschrieben ist. Es wurde von demselben immer 0,1 ccm zu 10 ccm Milch gebracht. Die Wirkung dieses Extracts war eine gleichmässige. Die Gerinnung der Probemilch erfolgte mit seltenen Ausnahmen innerhalb 8—10 Minuten. Die Temperatur der zur Verwendung kommenden Milch wurde im Wasserbade während der Dauer des Versuchs gleichmässig auf 35° gehalten.

Was das Ergebniss der gleich zu besprechenden Versuche anlangt, so ist vor auszuschicken, dass sich bei Wiederholung der Versuchsreihen — es wurden meist mehrere vorgenommen — zwar analoge Reihen ergaben, dass aber die Hintanhaltung oder Beschleunigung der Milchgerinnung bei einem bestimmten Salzzusatz sich in der einen Versuchsreihe zwar im Wesentlichen, jedoch nicht immer ganz gleich verhielt wie in der andern. Es war dies im voraus zu erwarten, da eben die Milch keine einfache chemische Flüssigkeit von constanter Zusammensetzung ist.

Zu erwähnen wäre noch, dass fast alle Versuche über den Einfluss der Salze auf die Labgerinnung im Wintersemester 1896 bis 1897 angestellt und im Sommersemester 1897 theilweise wiederholt und controlirt wurden.

1) Gruppe der Alkalimetalle.

Am meisten hemmen unter den Verbindungen der Alkalimetalle die Alkalien. Der Beginn der Gerinnung konnte nur bis zu $\frac{1}{500}$ n-Verdünnung genau festgestellt werden. Bei $\frac{1}{100}$ n trat noch Bildung einzelner Flocken, keine typische feste Gerinnung ein. Stärkere Concentrationen machten die Gerinnung unmöglich und zersetzten die Milch.

Versuch 3.

NaOH (Moleculargewicht 40) KOH (56).

Probeversuch: Gerinnung nach 8½ Minuten.

Alkalimilchlösung		Einfluss auf die Labgerinnung (in Minuten) von	
normal	in Procenten	a) NaOH	b) KOH
$\frac{1}{1000}$ n	NaOH 0,004 ‰ KOH 0,006 ‰	— 3½	— 7
$\frac{1}{500}$ n	a) 0,008 ‰ b) 0,012 ‰	— 5½	— 10½
$\frac{1}{100}$ n	a) 0,04 ‰ b) 0,06 ‰	Unvollkommene flockige Gerinnung nach mehreren Stunden	

Viel weniger stark, aber doch noch recht beträchtlich hemmen die Carbonate der Alkalimetalle, und zwar stärker die Carbonate als die Bicarbonate. Noch bei einer Concentration von $\frac{1}{1000}$ n macht sich eine deutlich hervortretende Hemmung geltend. Von $\frac{1}{100}$ n ab wird auch bei den Alkalicarbonaten der Gerinnungsanfang undeutlich.

Versuch 4.

Na_2CO_3 (106) K_2CO_3 (138).

Probeversuch: Gerinnung nach 14 Minuten.

Salzmilchlösung		Einfluss auf die Labgerinnung	
normal	in Procenten	von	
		a) Na_2CO_3	b) K_2CO_3
$\frac{1}{1000}$ n	Na_2CO_3 0,011 % K_2CO_3 0,014 %	— 3	0
$\frac{1}{500}$ n	a) 0,02 % b) 0,03 %	— 6	— 5
$\frac{1}{250}$ n	a) 0,04 % b) 0,05 %	— 12	— 18
$\frac{1}{100}$ n	a) 0,11 % b) 0,14 %	Nach mehreren Stunden keine deutliche Gerinnung.	

Versuch 5.

NaHCO_3 (84) ausnahmsweise für sich allein untersucht.

Probeversuch: Gerinnung nach 9 Minuten.

Salzmilchlösung		Einfluss auf die Labgerinnung
normal	in Procenten	
$\frac{1}{1000}$ n	0,008 %	— $\frac{1}{2}$
$\frac{1}{500}$ n	0,017 %	— 1
$\frac{1}{100}$ n	0,08 %	— 10
$\frac{1}{50}$ n	0,17 %	— 24
$\frac{1}{10}$ n	0,84 %	Nach 10 Stdn. keine Gerinnung
$\frac{1}{2}$ n	4,2 %	Keine Gerinnung. Zersetzt

Wieder etwas weniger hemmend wirken die Sulfate der Alkalimetalle.

Versuch 6. Na_2SO_4 (142) K_2SO_4 (174).

Probeversuch: Gerinnung nach 7 Minuten.

Salzmilchlösung		Einfluss auf die Labgerinnung	
normal	in Procenten	von	
		a) Na_2SO_4	b) K_2SO_4
$\frac{1}{1000}$ n	Na_2SO_4 0,014 % K_2SO_4 0,02 %	— 2	— $1\frac{1}{2}$
$\frac{1}{100}$ n	a) 0,14 % b) 0,17 %	— 3	— 3
$\frac{1}{50}$ n	a) 0,28 % b) 0,35 %	— $3\frac{1}{2}$	— $3\frac{1}{2}$
$\frac{1}{10}$ n	a) 1,42 % b) 1,74 %	— 9	— 11
$\frac{1}{2}$ n	a) 7,1 % b) 8,7 %	ca. — 40	ca. — 60 nicht fest

Die Nitrate stehen den Sulfaten der Alkalimetalle nur in den schwächeren Concentrationen an hemmender Wirkung wesentlich nach. In starken Concentrationen hemmen sie mindestens ebenso stark.

Versuch 7. NaNO_3 (85) KNO_3 (101).

Probeversuch: Gerinnung nach 9 Minuten.

Salzmilchlösung		Einfluss auf die Labgerinnung	
normal	in Procenten	von	
		a) NaNO_3	b) KNO_3
$\frac{1}{100}$ n	NaNO_3 0,085 % KNO_3 0,101 %	— 1	— $\frac{1}{2}$
$\frac{1}{50}$ n	a) 0,17 % b) 0,20 %	— $1\frac{1}{2}$	— $1\frac{1}{2}$
$\frac{1}{10}$ n	a) 0,85 % b) 1,01 %	— 8	— $7\frac{1}{2}$
$\frac{1}{2}$ n	a) 4,25 % b) 5,05 %	— ca. 2 Stunden	— ca. $1\frac{3}{4}$ Stunden

Was die Phosphate der Alkalimetalle anlangt, so unterzog ich nur das gegen Lackmus schwach alkalisch reagirende Dinatriumphosphat (Natrium phosphoricum) und das saure Dikalium-

phosphat einer Untersuchung. Dieselbe ergab, dass K_2HPO_4 die Gerinnung beschleunigt, während Na_2HPO_4 einen stark hemmenden Einfluss ausübt, ja sogar die Gerinnung schon bei einem Salzzusatz, der einer $1/10$ n-Lösung entspricht, ganz aufhebt; ein Ergebniss, das wohl im Wesentlichen durch die verschiedene Reaction der beiden Salze erklärt wird.

Versuch 8.

Na_2HPO_4 (142) K_2HPO_4 (174).

Probeversuch: Gerinnung nach 9 Minuten.

Milchsallzlösung		Einfluss auf die Labgerinnung	
normal	in Procenten	von	
		a) Na_2HPO_4	b) K_2HPO_4
$1/1000$ n	Na_2HPO_4 0,014 % K_2HPO_4 0,017 %	— $1\frac{1}{2}$	+ 1
$1/500$ n	a) 0,028 % b) 0,034 %	— 3	+ $3\frac{1}{2}$
$1/100$ n	a) 0,14 % b) 0,17 %	— 18	+ $4\frac{1}{2}$
$1/10$ n	a) 1,42 % b) 1,74 %	Keine Gerinnung beobachtet	+ $5\frac{1}{2}$

Von den Haloiden der Alkalimetalle kam NaJ, KJ, NaBr, KBr, NaCl, KCl, LiCl zur Untersuchung. Alle hemmen, mit Ausnahme des LiCl, durchweg die Labgerinnung. Die Gruppe der Jodide übertrifft die der Bromide und Chloride an schädigender Wirksamkeit.

Versuch 9.

NaJ (150) KJ (166).

Probeversuch: Gerinnung nach 7 Minuten.

Salzmilchlösung		Einfluss auf die Labgerinnung	
normal	in Procenten	von	
		a) NaJ	b) KJ
$1/100$ n	NaJ 0,15 % KJ 0,17 %	— 2	— $1\frac{1}{2}$
$1/50$ n	a) 0,3 % b) 0,33 %	— 3	— 3
$1/25$ n	a) 0,6 % b) 0,66 %	— 4	— $4\frac{1}{2}$
$1/10$ n	a) 1,5 % b) 1,66 %	— 10	— $8\frac{1}{2}$
$1/2$ n	a) 7,5 % b) 8,3 %	Keine typische Gerinnung	— ca. 3 Stdn. 40Min.

Versuch 10.

NaBr (103) KBr (119).

 Probeversuch: Gerinnung nach $8\frac{1}{2}$ Minuten.

Salzmilchlösung		Einfluss auf die Labgerinnung	
normal	in Procenten	von	
		a) NaBr	b) KBr
$\frac{1}{100}$ n	NaBr 0,103 % KBr 0,12 %	— $\frac{1}{4}$	— $1\frac{1}{2}$
$\frac{1}{50}$ n	a) 0,21 % b) 0,24 %	— 1	— $4\frac{1}{2}$
$\frac{1}{25}$ n	a) 0,41 % b) 0,48 %	— 2	— 6
$\frac{1}{10}$ n	a) 1,03 % b) 1,19 %	— 6	— 38
$\frac{1}{2}$ n	a) 5,15 % b) 5,95 %	— 42	— 1 Stunde 36 Min.

Versuch 11.

NaCl (58,5) KCl (74,5).

 Probeversuch: Gerinnung nach $8\frac{1}{2}$ Minuten.

Salzmilchlösung		Einfluss auf die Labgerinnung	
normal	in Procenten	von	
		a) NaCl	b) KCl
$\frac{1}{100}$ n	NaCl 0,06 % KCl 0,074 %	— 2	— $\frac{1}{2}$
$\frac{1}{50}$ n	a) 0,12 % b) 0,15 %	— 2	— $\frac{1}{2}$
$\frac{1}{10}$ n	a) 0,58 % b) 0,74 %	— 3	— $3\frac{1}{2}$
$\frac{1}{2}$ n	a) 2,92 % b) 3,72 %	— $14\frac{1}{2}$	— 20
n	a) 5,85 % b) 7,45 %	— 27	— 32

Das Lithiumchlorid macht von allen von mir untersuchten Neutralsalzen der Alkalimetalle insofern eine Ausnahme, als es, in sehr schwachen Concentrationen zur Milch gesetzt, die Labgerinnung sehr unbedeutend beschleunigt, ein Verhalten, das insofern nicht sehr befremden kann, als die Salze des Lithium auch sonst in ihren

Eigenschaften denen des Magnesium ähnlich sind. Die Gruppe der Magnesiumsalze aber übt eine im wesentlichen gerinnungsbeschleunigende Wirkung auf die Labgerinnung aus.

Versuch 12.

LiCl (42,5).

Probeversuch: Gerinnung nach 8 Minuten.

Milchsatzlösung		Einfluss auf die Labgerinnung
normal	in Procenten	
$\frac{1}{1000}$ n	0,004 %	+ $\frac{1}{2}$
$\frac{1}{500}$ n	0,0085 %	+ $\frac{1}{2}$
$\frac{1}{100}$ n	0,04 %	+ $\frac{1}{4}$
$\frac{1}{50}$ n	0,085 %	+ $\frac{1}{4}$
$\frac{1}{10}$ n	0,42 %	— 1
$\frac{1}{2}$ n	2,12 %	ca. — 32

Endlich wurde noch mit dem dieser Gruppe angehörigen Fluornatrium und dem oxalsauren Kali ein Versuch angestellt. Derselbe ergab für beide Salze eine die Labgerinnung bei schwachem Salzzusatz stark hemmende, bei höheren Concentrationen eine die Gerinnung fast ganz oder ganz aufhebende Wirkung.

Versuch 13.NaFl (42) $K_2C_2O_4$ (166).

Probeversuch: Gerinnung nach 10 Minuten.

Salzmilchlösung		Einfluss auf die Labgerinnung	
normal	in Procenten	von	
		a) NaFl	b) $K_2C_2O_4$
$\frac{1}{1000}$ n	NaFl 0,004 % $K_2C_2O_4$ 0,002 %	0	— 14
$\frac{1}{500}$ n	a) 0,008 % b) 0,034 %	nicht beobachtet	— 73
$\frac{1}{100}$ n	a) 0,04 % b) 0,17 %	— 17	— 8 Stunden 35 Min.
$\frac{1}{10}$ n	a) 0,42 % b) 1,66 %	Innerhalb 20 Stunden keine Gerinnung beobachtet.	

Wenn wir die bisher gewonnenen Resultate zusammenfassen, so ergibt sich aus obigen und aus vielen andern Versuchen über die Wirksamkeit der Salze der Alkalimetalle Folgendes:

Während die Alkalien und gleich nach ihnen Fluornatrium und oxalsaures Kali am stärksten hemmen, ist der hemmende Einfluss der Carbonate etwas schwächer, noch schwächer der der Bicarbonate. Die Sulfate und Nitrate stehen wieder hinter den Carbonaten an Schädlichkeit zurück, indem sie die Labgerinnung auch bei ziemlich concentrirten Salzmilchlösungen nicht ausschliessen. Beachtenswerth ist, dass von den Neutralsalzen die Sulfate es sind, die auch in schwachen Concentrationen stark hemmend auf die Labgerinnung wirken. Aehnliches konnte Grützner¹⁾ für die Wirkung der Sulfate auf die Pepsinverdauung nachweisen. Was die Phosphate betrifft, so kamen von ihnen nur zwei zur Untersuchung: Na_2HPO_4 hemmt die Gerinnung sehr stark, K_2HPO_4 beschleunigt sie. Den vorher erwähnten Gruppen von Salzen mit Ausnahme des K_2HPO_4 stehen in Bezug auf die Behinderung der Labgerinnung nahe die Haloidsalze, von denen die Jodide und Bromide an Schädlichkeit die Chloride noch beträchtlich übertreffen.

Das Lithiumchlorid, das doch nicht so ganz zur Gruppe der Alkalimetalle gehört, beschleunigt in gewissen Concentrationen die Labgerinnung in sehr unbedeutender, aber doch noch deutlich zu beobachtender Weise.

Wenn wir Natrium- und Kaliumsalze im ganzen vergleichen, so finden wir, dass sie in äquimolekularen Mengen in ihrer Wirkungsweise wenig differiren. In höheren Concentrationen wirken die Kaliumsalze im Durchschnitt wohl etwas intensiver schädigend als die Natriumsalze.

II) Gruppe der Erdalkalimetalle.

Im Gegensatz zu den meisten Salzen der Alkalimetalle wirken die der Erdalkalimetalle im Wesentlichen gerinnungsbeschleunigend auf die Labgerinnung. Dass die Erdalkalien $\text{Ca}(\text{OH})_2$ und $\text{Ba}(\text{OH})_2$ gerinnungshemmend wirken, ist bei ihrer Natur als Laugen, die das Ferment mehr oder weniger zerstören, im voraus zu erwarten.

1) R. Pfeleiderer, Ein Beitrag zur Pepsin- und Labwirkung. Dieses Archiv Bd. 66 S. 625. 1897.

Versuch 14.Ca(OH)₂ (74) Ba(OH)₂ (171).

Probeversuch: Gerinnung nach 8 Minuten.

Laugemilchlösung		Einfluss auf die Labgerinnung	
normal	in Procenten	von	
		a) Ca(OH) ₂	b) Ba(OH) ₂
¹ / ₁₀₀₀ n	Ca(OH) ₂ 0,007 % Ba(OH) ₂ 0,017 %	— 1½	— 2
¹ / ₅₀₀ n	a) 0,015 % b) 0,034 %	— 4	— 4
¹ / ₁₀₀ n	a) 0,07 % b) 0,17 %	— 30	— 16
¹ / ₅₀ n	a) 0,15 % b) 0,34 %	Gerinnungsanfang undeutlich	

Es wirken also sowohl Calcium- als Baryumlauge auf die Labgerinnung stark hemmend. Auch Strontiumhydroxyd wurde untersucht. Es steht gegenüber den zwei erstgenannten Stoffen an hemmender Wirkung beträchtlich zurück. Die hemmende Wirkung tritt erst bei ¹/₅₀ n auf.

Von den Nitraten der Erdalkalimetalle kam nur Baryumnitrat zur Untersuchung. Dasselbe beschleunigt die Gerinnung in fast allen von mir untersuchten Concentrationen. In sehr starker Verdünnung ist keine Beeinflussung der Labgerinnung mehr festzustellen.

Versuch 15.Ba(NO₃)₂ (261).

Probeversuch: Gerinnung nach 8 Minuten.

Salzmilchlösung		Einfluss auf die Labgerinnung
normal	in Procenten	von Ba(NO ₃) ₂
¹ / ₅₀₀ n	0,05 %	0
¹ / ₁₀₀ n	0,26 %	+ 2
¹ / ₅₀ n	0,52 %	+ 3
¹ / ₁₀ n	2,61 %	+ 3½
¹ / ₅ n	5,22 %	+ 1½

Beachtenswerth ist das Ergebniss, das die Untersuchung der Chloride der Erdalkalimetalle ergab.

Trotzdem die Gewichtsmengen der zur Milch gesetzten Salze wegen der Verschiedenheit des Atomgewichts der zu untersuchenden Stoffe beträchtlich differiren, entfalten doch äquimolekulare Mengen eine recht gleichmässige Wirkung.

Ferner springt die schon von Hammarsten beobachtete Tatsache in die Augen, dass ein und dasselbe Salz je nach der Menge, in der es zur Milch gebracht wird, einen fördernden oder hemmenden Einfluss auf die Labgerinnung auszuüben vermag.

Versuch 16.

CaCl₂ (111) SrCl₂ (159) BaCl₂ (208).

Probeversuch: Gerinnung nach 8 Minuten.

Milchsatzlösung		Einfluss auf die Labgerinnung		
normal	in Procenten	von		
		a) CaCl ₂	b) SrCl ₂	c) BaCl ₂
$\frac{1}{1000}$ n	CaCl ₂ 0,011 %	+ 2	+ 1	+ 1 $\frac{1}{2}$
	SrCl ₂ 0,016 %			
	BaCl ₂ 0,021 %			
$\frac{1}{500}$ n	a) 0,022 %	+ 2 $\frac{1}{2}$	+ 2	+ 2
	b) 0,032 %			
	c) 0,042 %			
$\frac{1}{100}$ n	a) 0,11 %	+ 5 $\frac{1}{2}$	+ 4 $\frac{1}{2}$	+ 5
	b) 0,16 %			
	c) 0,21 %			
$\frac{1}{50}$ n	a) 0,22 %	+ 6 $\frac{1}{2}$	+ 5	+ 6
	b) 0,32 %			
	c) 0,42 %			
$\frac{1}{10}$ n	a) 1,11 %	+ 5	+ 3 $\frac{1}{2}$	+ 6 $\frac{1}{2}$
	b) 1,59 %			
	c) 2,08 %			
$\frac{1}{2}$ n	a) 5,55 %	— 20	— 4	— 3 $\frac{1}{2}$
	b) 7,95 %			
	c) 10,4 %			

III) Salze der Magnesiumgruppe und Aluminiumchlorid.

Zur Untersuchung kamen Magnesium-, Zink- und Cadmiumchlorid, dann noch Magnesiumsulfat und das allerdings nicht in diese Gruppe gehörige Aluminiumchlorid.

Im grossen Ganzen steht die beschleunigende Wirkung, welche diese Salze auf die Labgerinnung besonders in mittleren Concentrationen ausüben, im Vordergrund.

Versuch 17.MgCl₂ (95) ZnCl₂ (136).

Probeversuch: Gerinnung nach 9 1/2 Minuten.

Salzmilchlösung		Einfluss auf die Labgerinnung	
normal	in Procenten	von	
		a) MgCl ₂	b) ZnCl ₂
1/1000 n	MgCl ₂ 0,009 % ZnCl ₂ 0,014 %	— 5	+ 2
1/500 n	a) 0,019 % b) 0,027 %	— 4	+ 2 1/2
1/100 n	a) 0,095 % b) 0,136 %	0	+ 3
1/50 n	a) 0,19 % b) 0,27 %	+ 6	+ 4
1/10 n	a) 0,95 % b) 1,36 %	+ 7	— 16
1/2 n	a) 4,75 % b) 6,8 %	Gerinnungsanfang undeutlich	

Besonders schön ist in Versuch 17 beim MgCl₂ zu sehen, wie ein Salz bei gewissen Concentrationen schädigt, dann bei Steigerung des Zusatzes bei einem gewissen Punkt indifferent wird, um dann bei fortgesetzter Steigerung des Zusatzes eine befördernde Wirksamkeit zu entfalten.

Da im folgenden Versuch die Milch in stärkeren Concentrationen als 1/10 n sofort selbstständig ohne Labzusatz, zwar nicht fest, aber grobflockig gerinnt, wird von der Untersuchung dieser höheren Concentrationen abgesehen.

Versuch 18.CdCl₂ (183) AlCl₃ (133,9).

Probeversuch: Gerinnung nach 8 Minuten.

Salzmilchlösung		Einfluss auf die Labgerinnung	
normal	in Procenten	von	
		a) CdCl ₂	b) AlCl ₃
1/10000 n	CdCl ₂ 0,002 % AlCl ₃ 0,0013 %	ca. + 1/4	ca. + 1/2
1/5000 n	a) 0,004 % b) 0,003 %	+ 1/2	+ 1
1/1000 n	a) 0,02 % b) 0,013 %	+ 1	+ 2
1/500 n	a) 0,04 % b) 0,03 %	+ 3	+ 4
1/100 n	a) 0,18 % b) 0,13 %	+ 4	+ 5 1/2

Versuch 19. MgSO_4 (120) $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$ (261).

Probeversuch: Gerinnung nach 8 Minuten.

Salzmilchlösung		Einfluss auf die Labgerinnung	
normal	in Procenten	von	
		a) MgSO_4	b) $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$
$1/1000$ n	MgSO_4 0,012 % $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$ 0,026 %	+ $1/2$	0
$1/500$ n	a) 0,024 % b) 0,05 %	+ 1	+ $1/2$
$1/100$ n	a) 0,12 % b) 0,26 %	+ 3	+ 2
$1/10$ n	a) 1,20 % b) 2,61 %	+ 1	+ $3 1/2$
$1/2$ n	a) 6,0 % b) 13,05 %	— 52	nicht beobachtet

4) Einfluss des Kochsalzes auf die Labgerinnung bei Zusatz desselben in wässriger Lösung.

Hammarsten¹⁾ gibt an, dass Kochsalz, in Substanz zur Milch gesetzt, die Labgerinnung verlangsamt, dagegen bei einer gewissen Verdünnung der Milch mit Wasser und Zusatz des Salzes in wässriger Lösung eine die Gerinnung befördernde Wirkung ausübt. Dasselbe sagt er vom Chlorkalium.

Auch ich machte mehrere Versuche, unter Zusatz gleicher Mengen verschieden wirksamer Labextracte.

Versuch 20—23.

Nr.	Gehalt der Versuchsfliissigkeit an NaCl	Milch ccm	5nNaCl-lösung ccm	H_2O ccm	Gerinnungszeit in Minuten			
					Vers. 20	Vers. 21	Vers. 22	Vers. 23
1	0 %	8	0	2	$7 1/2$	$8 1/2$	$23 1/2$	30
2	5,8 %	8	2	0	30	$30 1/2$	130	120
3	2,9 %	8	1	1	21	$20 1/2$	85	90
4	1,16 %	8	0,4	1,6	15	$13 1/2$	45	57
5	0,58 %	8	0,2	1,8	10	$10 1/4$	31	52
6	0,29 %	8	0,1	1,9	$8 1/2$	$9 1/2$	$29 1/2$	42
7	0,03 %	8	0,1 von $1/2$ n	1,9	8	$9 1/2$	30	$42 1/2$

1) Hammarsten, Zur Kenntniss u. s. w. S. 71.

Alle diese Versuchsreihen ergaben ein und dasselbe Resultat, nämlich Kochsalz hemmt. Da ich mir nicht bewusst war, anders vorgegangen zu sein als Hammarsten, so war mir dies Ergebniss befremdlich.

Ich suchte mir nun diese hemmende Wirkung des Kochsalzes bei der Gerinnung von verdünnter Milch so zu erklären, dass ich annahm, die von Hammarsten benutzte Milch habe mehr Wasser enthalten als die von mir benutzte. Ich verdünnte desshalb 6 Theile Milch mit 4 Theilen Wasser, ohne den procentarischen Gehalt der Versuchsflüssigkeit an NaCl zu ändern.

Versuch 24.

Die Anordnung war dieselbe wie in Nr. 20—23, nur die Verdünnung 6:4.

Nr.	Gerinnung nach
1	10 Minuten
2	94 „
3	34 „
4	18 „
5	11 ¹ / ₂ „
6	10 ¹ / ₂ „
7	10 „

Da auch dieser Versuch kein Ergebniss im Sinne Hammarsten's ergab, nahm ich eine weitere Verdünnung vor. Erst bei dieser konnte ich, sowie Hammarsten, eine beschleunigende Wirkung des Kochsalzes beobachten, wie der folgende Versuch ausweist.

Versuch 25.

Je 5 ccm Milch werden mit je 5 ccm H₂O verdünnt. Gehalt der Versuchsflüssigkeit an NaCl wie in Versuch 20—23.

Nr.	Gerinnung nach
1	16 Minuten (flockige Gerinnung)
2	33 „ (feste Gerinnung)
3	25 „ (ebenso)
4	12 „ (ebenso)
5	9 ¹ / ₂ „ (ebenso)
6	8 „ (ebenso)
7	10 „ (flockige Gerinnung)

Auch ein Versuch mit einer H_2O -Verdünnung 6:4 bestätigte mir Hammarsten's Angabe, dass $NaCl$ auf die Labgerinnung unter Umständen auch beschleunigend wirken kann.

Ich muss noch nachtragen, dass ich bei späterer Wiederholung dieser Versuche gefunden habe, dass diese beschleunigende Wirkung von $NaCl$ nicht immer bei jeder Milch gezeigt werden kann. Ich habe bei ein und derselben Milch verschiedene Verdünnungen (8:2, 6:4, 5:5) angestellt und eine Beschleunigung durch Kochsalzzusatz nicht beobachten können.

Kochsalz ist also im Stande, bei sehr stark mit Wasser verdünnter Milch die Gerinnung zu beschleunigen, doch ist diese beschleunigende Wirkung nicht bei jeder Milch bei ein und derselben Wasserverdünnung nachzuweisen.

Was die Ursache dieser Unregelmässigkeit ist, kann ich nicht angeben. Für das Wahrscheinlichste halte ich, dass der jeweilig verschiedene Salzgehalt der Versuchsmilch die Ungleichheit bedingt.

Verschieden von der durch das Lab erzeugten Gerinnung unverdünnter Milch war auch die Art der Gerinnung. Während die Milch, der bemerkenswerthe Mengen von $NaCl$ zugefügt worden waren, eine für die Labgerinnung typische Gerinnungsart zeigte, trat bei der nur oder fast nur mit Wasser verdünnten Milch eine grobflockige Gerinnung ein. (Vgl. Vers. 25.) Ob bei noch stärkerem Salzzusatz die Festigkeit der Gerinnung wieder abnimmt (Hammarsten), habe ich nicht untersucht.

Ich habe diese Versuche deshalb so oft wiederholt, weil mir an der Bestätigung des Satzes Hammarsten's¹⁾ viel lag, „dass nämlich die Chloralkalien unter Umständen nothwendige Bedingungen für die Caseingerinnung werden können. Wie durch Zusatz von $CaCl_2$ kann also die schädliche Wirkung von Verdünnung mit Wasser auch durch Zusatz von Chloralkalien aufgehoben werden.“

Es ist nämlich diese schon im Jahre 1877 constatirte Thatsache nirgends in die Literatur übergegangen, vielmehr ist überall die Anschauung vertreten, dass Labgerinnung nur bei Gegenwart löslicher Kalksalze möglich sei.

Nach Abschluss meiner Versuche finde ich, dass Hammar-

1) Hammarsten, Zur Kenntniss u. s. w. S. 73.
E. Pflüger, Archiv für Physiologie. Bd. 69.

sten¹⁾ in einer neuen Arbeit die Fähigkeit von Chloralkalien, die Rolle der löslichen Kalksalze zu vertreten, auf andere Weise bewiesen hat.

Nach der schon erwähnten Anschauung von Ringer (vgl. S. 148) könnte man die Thatsache, dass NaCl, zu gewöhnlicher Milch gesetzt, hemmend wirkt, durch die der Ausfällung des veränderten Caseins mit Kalksalzen entgegenwirkende Thätigkeit des NaCl erklären. Werden nun der Milch die Kalksalze entzogen, oder verdünnter Milch so viel NaCl zugesetzt, dass die NaCl-Wirkung stärker wird als die Kalkwirkung, so fällt das umgeformte Casein mit NaCl aus.

5) Gruppierung der chemischen Agentien nach ihrer Beeinflussung der einzelnen bei der Labgerinnung beteiligten Factoren.

Bei der Betrachtung der Wirkungsweise chemischer Agentien auf die Labgerinnung ist die Thatsache, dass die einen die Labgerinnung fördern, die andern sie schädigen, die augenfälligste. Man ist deshalb versucht, die chemischen Agentien unter diesem Gesichtspunkte in Gruppen einzutheilen.

Allein schon eine oberflächliche Ueberlegung ergibt, dass diese Art der Betrachtung und Eintheilung werthlos wäre, da sie nur das Endergebniss der Wirkung gewisser Stoffe auf die Labgerinnung feststellen würde, dagegen über die Ursachen des Ergebnisses, die Wirkungsweise der einzelnen Stoffe, nichts aussagen würde. Ausserdem wäre es schwierig, Stoffe zu finden, welche die Fermentwirkung schlechthin unterstützen oder schädigen. Nur die Alkalien und diejenigen Salze, die eine ausgesprochen alkalische Reaction zeigen, üben einen durchweg schädigenden Einfluss auf die Labgerinnung aus und die Säuren, soweit bekannt, in schwachen Lösungen einen fördernden.

Man könnte nun versuchen, die chemischen Agentien in Gruppen einzutheilen, die nur an einem Acte der Labgerinnung beteiligt sind. Es ist das Verdienst von Hammarsten²⁾, Arthus und Pagès²⁾, gezeigt zu haben, dass bei der Labgerinnung zwei Vorgänge scharf zu trennen sind, die Umformung des Caseins durch

1) Hammarsten, Ueber das Verhalten des Paracaseins zu dem Labenzyme Zeitschr. f. physiol. Chemie S. 101. Strassburg 1896/97.

2) Vgl. Citat diese Arbeit S. 147.

das Lab und die ganz unabhängig vom Lab erfolgende Ausfällung des umgeformten Caseïns durch Kalksalze. Allein so werthvoll die Betrachtung der Beziehungen der einzelnen Stoffe zu diesen beiden Vorgängen sein mag, dürfte sich eine Eintheilung der die Labgerinnung beeinflussenden Agentien unter diesem Gesichtspunkte doch nicht empfehlen, da wir diese beiden Vorgänge bei der Labgerinnung noch nicht so gut kennen, um sie scharf getrennt betrachten zu können¹⁾.

Am lohnendsten dürfte es sein, zu untersuchen, wie die chemischen Agentien auf die einzelnen bei der Gerinnung beteiligten Factoren einwirken, und sie dementsprechend zu gruppieren.

Um die käsige Gerinnung möglich zu machen, müssen ausser dem Wasser 3 Factoren unumgänglich gegeben sein: das Labferment, das Caseïn und lösliche Salze (Kalksalze, ev. Alkalichloride). Ausserdem ist aber erforderlich, dass die die Gerinnung ermöglichenden Componenten in einem bestimmten Verhältniss zu einander stehen. Endlich ist die Labgerinnung nur innerhalb gewisser Temperaturgrenzen möglich.

Um also die Wirksamkeit irgend eines Stoffes auf die käsige Gerinnung der Milch festzustellen, ist einmal zu sehen, ob und wie er die einzelnen Factoren der Gerinnung verändert, dann was für einen Einfluss er auf das Verhältniss der Gerinnungsfactoren untereinander ausübt, endlich wie sich seine Wirksamkeit auf die einzelnen Factoren bei verschiedenen Temperaturgraden innerhalb der Temperaturgrenzen der Labgerinnung verhält.

Es mögen einige Versuche über den Einfluss einiger chemischen Agentien auf einzelne Gerinnungsfactoren folgen.

6) Einfluss einiger chemischer Agentien auf einzelne Gerinnungsfactoren.

a) Calciumchlorid.

Die Rolle, welche die Kalksalze bei der Labgerinnung spielen, ist noch nicht nach allen Richtungen hin festgestellt.

1) Ganz kürzlich hat Hillmann in einer mir leider nicht zugänglichen Zeitschrift (ref. Centralblatt f. Physiol. Bd. 11 S. 200, 1897) diese Frage vom experimentellen und praktischen Standpunkt aus behandelt und festgestellt, dass die Menge des ungewandelten Caseïns, und demnach die Menge des ge-

Boas¹⁾ nimmt an, dass das CaCl_2 , zur Milch gesetzt, dem Labzymogen es möglich macht, Käse bildend zu wirken. Hammarsten²⁾ und mit ihm Arthus und Pagès³⁾ sind der Anschauung, dass CaCl_2 nicht nur das durch Lab umgeformte Casein ausfalle, sondern auch „auf den fermentativen Vorgang einwirke“ (Hammarsten) und „die Umformung des Caseins durch das Lab beschleunige“ (Arthus und Pagès).

Letztere haben Versuche angestellt, welche „unwiderleglich“ beweisen sollen, dass die Kalksalze die Umformung des Caseins durch das Lab beschleunigen.

Sie bringen zu entkalkter, mit Lab versetzter Milch zu verschiedenen Zeiten nach erfolgtem Labzusatz Kalksalze und finden, dass die Gerinnung da am raschesten eintritt, wo sie die Kalksalze am frühesten zugesetzt haben.

Einen ähnlichen Versuch, den ich mit nicht entkalkter Milch anstellte, möchte ich hier anführen.

Versuch 26.

Es werden zu je 10 ccm Milch 0,2 ccm eines sehr schwach wirksamen Labextractes zugesetzt. Verschieden lange Zeit nachher werden in die einzelnen Reagensgläser je 0,3 ccm CaCl_2 -Lösung (5%) gebracht. Temperatur des Wasserbads 37°.

Nr.	Zeit, die zwischen Lab- und Kalkzusatz zur Milch lag	Gerinnungszeit	Beschleunigung der Gerinnung gegenüber Nr. 7
1	3 Minuten	1 Stunde 13 Minuten	+ 27 Minuten
2	5 "	1 " 13 ¹ / ₂ "	+ 26 ¹ / ₂ "
3	9 "	1 " 16 ¹ / ₂ "	+ 23 ¹ / ₂ "
4	15 "	1 " 18 "	+ 22 "
5	25 "	1 " 25 "	+ 15 "
6	40 "	1 " 33 "	+ 7 "
7	60 "	1 " 40 "	—

Arthus und Pagès erwähnen noch einen weiteren Versuch, den sie in der Art anstellten, dass sie Milch von verschiedenem

bildeten Käses mit der Menge der Kalksalze zunimmt, eine für die Käserei höchst interessante Thatsache.

1) Vgl. Citat diese Arbeit S. 147. Labferment u. s. w. S. 259.

2) Vgl. Citat diese Arbeit S. 144. Zur Kenntniss u. s. w. S. 61.

3) Vgl. Citat diese Arbeit S. 147. Action etc. S. 337.

Kalkgehalt mit Lab versetzten¹⁾ und zu verschiedenen Zeiten nach erfolgtem Zusatz die Lösungen kochten. Im Moment des Kochens wird der Kalkgehalt der Mischungen überall gleich gemacht. Es ergibt sich nun, dass die durch die Hitze erhaltene Ausfällung²⁾ um so grösser ist, je reichlicher die Menge der ursprünglich in der Milch enthaltenen Kalksalze war.

Was das Ergebniss dieser Versuche betrifft, so dürfte durch dieselben einzig und allein die Thatsache festgestellt sein, dass die Gerinnung um so rascher eintritt, bezw. die während des Processes der Labgerinnung gebildete Menge von Käse um so grösser ist, je mehr Kalksalze sich in der Milch befinden und je länger ihnen Zeit gegeben wird, ihre Rolle bei der Gerinnung zu spielen.

Sowohl der Process der Umformung des Caseins durch das Lab als der Vorgang der Vereinigung von Paracasein und Kalksalzen braucht eine gewisse Zeit, um sich vollziehen zu können. Beide Vorgänge werden sich rascher vollziehen, wenn sie neben einander hergehen können, als wenn sie hinter einander verlegt sind.

Dass die Kalksalze nur durch Ausfällung des Paracaseins beschleunigend wirken, ist durch diese Versuche nicht widerlegt; dass die Kalksalze den Process der Umformung des Caseins durch Lab beschleunigen, nicht bewiesen.

Da wir also nur bestimmt wissen, ein Mal, dass die Kalksalze (innerhalb gewisser Grenzen) die Labgerinnung beschleunigen, zum andern, dass sie bei der Ausfällung des Paracaseins betheiligt sind, weiter aber nichts, so hat die Hypothese, dass die Kalksalze durch ihre ausfällende Wirkung gerinnungsbeschleunigend wirken, am meisten für sich.

b) Verhalten des Labferments gegen Alkalien.

Der schädliche Einfluss, den stärkere Alkalien auf Pepsin ausüben, ist bekannt. Hammarsten stellte dasselbe auch für das Labferment fest. Boas³⁾ gibt für das menschliche Lab an, dass „bereits ein Ueberschuss von 0,0028 KOH⁴⁾ das Ferment zerstöre.“ Es lässt sich dies in dieser Allgemeinheit, wie gleich gezeigt werden soll, nicht aufstellen. Maly⁵⁾ macht folgende Angabe: Schon

1) Der Zusatz von Labferment ist S. 337 der cit. Arbeit von Arthus und Pagès nicht erwähnt, ist aber offenbar zu ergänzen.

2) Die Ausfällung wäre nach Neumeister (Lehrb. d. phys. Chemie 2. Aufl. S. 241, 1897) nicht etwa ausgefalltes Paracasein, sondern Käse.

3) Boas, Labferment und Labzymogen S. 253.

4) Es ist wohl zu ergänzen 0,0028 „Procent“.

5) Maly, vgl. diese Arbeit S. 144. Chemie der Verdauungssäfte S. 52.

0,025 % Na_2O in der Flüssigkeit (es ist Labflüssigkeit gemeint), sind genügend binnen 24 Stunden und bei Zimmertemperatur eine kräftige Fermentlösung völlig unwirksam zu machen. Die Zahl der zerstörten Fermentmoleküle scheint dabei mit der Dauer der Einwirkung der Menge des Alkalis und der Höhe der Temperatur zu steigen.

Die Wirkung der Alkalien auf das Labferment mögen folgende zwei Versuche anschaulich machen:

Versuch 27.

Von einem genau neutralisirten Säurelabextract (Kalb) und von NaOH verschiedener Concentration werden gleiche Volumina zusammengebracht, nach verschieden langer Zeit neutralisirt und dann untersucht. Nach vollendeter Neutralisation werden die Volumina der einzelnen Mischungen auf ein gleiches Volumen gebracht und eine entsprechende Menge des verwendeten Labextracts durch Wasserverdünnung in gleicher Weise verdünnt. Mit letzterer Lösung wurde ein Probeversuch angestellt. Es werden nun von jedem Gemisch je 0,5 ccm zu 10 ccm Milch bei 37°C . im Wasserbad gebracht.

Probeversuch: Gerinnung nach 7 Minuten.

Bei Zusatz von NaOH	Verzögerung der Gerinnung nach einer Dauer der Alkalisierung von			
	5 Minuten	10 Minuten	30 Minuten	60 Minuten
$\frac{1}{1000} \text{ n}$	0	0	0	0
$\frac{1}{100} \text{ n}$	— ungefähr $\frac{1}{2}$ Minute			
$\frac{1}{10} \text{ n}$	— 41 Min.	— 4 Stunden	— 9 Stunden	— ungef. 20 St.

Die Neutralisation wurde in diesem und den folgenden Versuchen so ausgeführt, dass mit der zu neutralisirenden Flüssigkeit kleine Stückchen Phenolphthaleinpapier zerrieben wurden. Diese Mischungen wurden nachher mit Verdünnungen von HCl neutralisirt, die dem Alkaligehalt der Lösungen entsprachen.

Versuch 28.

Versuchsanordnung wie im letzten Versuch.

Probeversuch: Gerinnung nach 60 Minuten.

Bei Zusatz von NaOH	Verzögerung der Gerinnung nach einer Dauer der Alkalisierung von		
	10 Minuten	20 Minuten	36 Stunden
$\frac{1}{500} \text{ n}$	— 2 Min.	— 30 Min.	— $5\frac{3}{4}$ Stunden
$\frac{1}{100} \text{ n}$	— 10 "	— 56 "	— 6 "
$\frac{1}{50} \text{ n}$	— 15 "	— 1 Std. 15 Min.	— ca. 24 "
$\frac{1}{10} \text{ n}$	Nach 2 Tagen keine Gerinnung		
$\frac{1}{5} \text{ n}$			
$\frac{1}{1} \text{ n}$			

Während also im ersten Versuch eine NaOH-concentration von $\frac{1}{100}$ n einen kaum merkbaren, schädigenden Einfluss auf das Lab ausübte, war im zweiten Versuch schon bei $\frac{1}{500}$ n eine sehr beträchtliche Schädigung zu beobachten.

Diese Thatsache erklärt sich einfach daraus, dass im Versuch 27 der Labgehalt des Extracts ein viel grösserer ist, als in Versuch 28.

Beide Versuche zeigen gleicher Weise, dass das Alkali eine gewisse Zeit braucht, um das Ferment zu vernichten. Es ist also durchaus nicht so selbstverständlich, im Gegentheil unrichtig, wenn Boas¹⁾ annimmt, dass alles Enzym zerstört sei, sobald der Mageninhalt bis zum deutlichen Ausschlag auf rothes Lackmuspapier alkalisirt sei.

Es lässt sich hiernach das Gesagte über die Wirkung der Alkalien auf das Labenzym dahin zusammenfassen:

Alkali zerstört das Lab, und zwar um so rascher und vollständiger, je schwächer die Lablösung ist, je höher die Concentration des Alkalis ist und je länger das Alkali einwirkt.

Ferner: Ein Labextract von mittlerer Wirksamkeit wird durch Zusatz eines gleichen Volumens NaOH von $\frac{1}{10}$ — $\frac{1}{5}$ n im Verlauf von Minuten fast ganz, nach Stunden vollständig zerstört.

c) Verhalten des Labenzym's gegen Säure.

Es sind mir Angaben hierüber in der Literatur nicht aufgestossen.

Die Wirkung der Säuren auf Lab ist eine ganz ähnliche wie die des Alkalis. Auch Säure schädigt in höherer Concentration und bei genügend langer Einwirkung das Labferment. Es tritt diese nachtheilige Wirkung allerdings erst bei Concentrationen ein, die beim Arbeiten mit Lab, weder beim Extrahiren, noch beim Umformen von Prolab in Lab zur Anwendung kommen.

Versuch 29.

Von einem genau neutralisirten Glycerin-Säureextract und von HCl verschiedener Concentration werden gleiche Volumina zusammengebracht und nach verschieden langer Zeit des Zusammenstehens untersucht. Es werden von dem Gemisch einige Cubikcentimeter entnommen und neutralisirt. Nach der Neutralisation werden die Volumina der zu untersuchenden Flüssigkeiten überall auf ein und dasselbe vorher bestimmte Volumen gebracht. Jedesmal wird mit einer in gleichem

1) Boas, Vgl. S. 147 dieser Arbeit. Labferment u. s. w. S. 259.

Grade verdünnten Menge des ursprünglichen Glycerin-Säureextracts ein Probeversuch angestellt.

Probeversuch: Gerinnung nach $8\frac{1}{2}$ Minuten.

Bei Zusatz von HCl	Verzögerung der Gerinnung nach einer Dauer der Ansäuerung von			
	1 Stunde	2 Tagen	10 Tagen	17 Tagen
$\frac{1}{10}$ n	0	0	0	0
$\frac{1}{5}$ n	— ca. $\frac{1}{2}$ Min.	— ca. $\frac{1}{2}$ Min.	— ca. $\frac{1}{2}$ Min.	— 3 Min.
$\frac{1}{2}$ n	— 3 Min.	— 3 Min.	— 1 St. 32 Min.	— $4\frac{1}{2}$ Stdn.
$\frac{1}{1}$ n	— 3 „	— 6 „	— 12 Stunden	—

Es muss jedoch bei diesen Versuchen in Betracht gezogen werden, dass Spuren von Ferment auch bei vorsichtiger Neutralisation mit Alkali zerstört werden. Die verschiedenen geringen Mengen von Kochsalz hingegen, welche sich in den Versuchen 27—29 bilden, sind von untergeordneter Bedeutung.

7) Der Einfluss der Temperatur auf das Labenzym und die Labgerinnung.

Hammarsten¹⁾ sagt hierüber: Labenzymlösung wird beim Erhitzen zerstört, und zwar leichter bei saurer als bei neutraler Reaktion. In einer mit Wasser von 3 p. m. HCl bereiteten, kräftig wirkenden Infusion einer Magenschleimhaut kann durch Erwärmen auf $37-40^{\circ}$ C während 48 Stunden sämtliches Lab zerstört werden, während Pepsin zurückbleibt.

Dieser Beobachtung fügt Maly²⁾ hinzu: Lablösung kann momentan auf 70° erhitzt, mitunter während einiger Augenblicke gekocht werden, ohne wenigstens alle Wirkung zu verlieren.

Bei Boas³⁾ finden sich folgende Angaben (Seite 253): Bei Zimmertemperatur ($14-16^{\circ}$ R) wirkt das Ferment unter gewöhnlichen Umständen nicht. Wohl aber (Seite 256) bei Zusatz von Kalksalzen. Ferner (Seite 256): Bei Temperaturen, die unter 20° liegen, hört die Labwirkung im Gegensatz zum Pepsin auf. Am günstigsten

1) Olaf Hammarsten, Lehrbuch der physiologischen Chemie S. 154. Wiesbaden 1891.

2) Maly, Chemie der Verdauungssäfte. Hermann's Handb. d. Physiologie Bd. 5 II. Teil S. 52.

3) Boas, Labferment und Labzymogen u. s. w. S. 253.

ist die Wirkung des Labferments (Seite 253) bei 35—40° C, aber auch bei Temperaturen bis 55° C ist die Labwirkung nicht wesentlich vermindert. Für höhere Temperaturen liegt die Grenze der Wirksamkeit etwa bei 70° C, doch kann auch bei dieser Temperatur und selbst darüber hinaus Labferment noch wirksam bleiben. — Allerdings ist dies nicht absolut konstant. — Sehr beachtenswerth ist, dass der Salzsäuregehalt des Mageninhalts in bestimmtem Verhältniss zur Resistenz des Ferments Temperaturen gegenüber steht. — Die Temperaturresistenz (Seite 255) kann nichts anderes bedeuten, als dass Fermentmoleküle bei höherm Labgehalt zum Theil unzerstört bleiben, bei niederem dagegen zerstört werden. Da nun die Temperaturresistenz des Ferments bei hohem Salzsäuregehalt die bei niederem wesentlich übertrifft, so folgt daraus, dass der Salzsäuregehalt zum Labgehalt in bestimmtem Verhältniss stehen muss.

Johnson¹⁾ äussert sich hierüber: Die Temperatur scheint etwas, wenn auch nicht ganz bestimmt, auf die Coagulation einzuwirken; diese erfolgt bei einer Temperatur von 36—40° C völlig unregelmässig; die bei 19,5° C erzielte Coagulation ging etwas, wenn auch unbedeutend, langsamer vor sich. Unter 19,5° C ist kein Gerinnungsversuch gemacht worden. In den Fällen, wo die Coagulation mit gekochter Milch bewerkstelligt wurde, schien es fast, als ob eine Neigung zur Verzögerung der Coagulation vorhanden wäre.

Arthus und Pagès²⁾ machen folgende Angaben: Die Kälte verzögert die chemische Umformung der Milch durch Lab; dieselbe ist bei 0° fast gleich Null. Es scheint sich indessen eine sehr leichte Modification einzustellen, wenn man mit Oxalsäure versetzte Milch dem Einfluss einer sehr grossen Menge Lab während 24 Stunden und weniger aussetzt. —

Um ein richtiges Urtheil darüber zu gewinnen, wie die Labgerinnung durch verschiedene Temperaturgrade beeinflusst wird, ist es nöthig, einmal zu sehen, ob sich die Milch in Folge der Einwirkung höherer Temperaturen in ihrem Verhalten dem Lab gegenüber ändert, dann wie das Labferment sich Temperatur-

1) E. G. Johnson, Vorkommen des Labferments im Magen des Menschen. Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 14 S. 243 u. 244. Berlin 1888.

2) Arthus et Pagès, Recherches sur l'action etc. pag. 336.

einflüssen gegenüber verhält, und endlich wie sich der Process der Labgerinnung bei verschiedenen Temperaturen vollzieht.

Folgender Versuch möge zeigen, dass die Milch, wenn sie einige Zeit höheren Temperaturen (80—90°) oder gar dem Kochen ausgesetzt wurde, langsamer gerinnt, als nicht erhitzte.

Versuch 30.

6 Reagensgläser mit je 10 ccm Milch werden der Reihe nach auf 50°, 60° u. s. w. 5 Minuten lang erhitzt, dann abgekühlt und in's Wasserbad von 35° C. gebracht. Sobald sie sich auf die Temperatur des Wasserbads erwärmt haben, wird in jedes Reagensglas 0,5 ccm Lablösung gebracht.

Nach einer Erhitzung auf	Gerinnung nach
50°	4½ Minuten
60°	4½ "
70°	4½ "
80°	6½ "
90°	8½ "
100°	9½ "

Es gerinnt also nicht gekochte Milch rascher als solche, die vorher gekocht oder einige Zeit auf höhere Temperaturen erhitzt worden war.

Was die Angaben über den Einfluss der Temperaturen auf das Labferment betrifft, die sich in der Literatur finden, so ist in denselben eine ganz beträchtliche Unsicherheit nicht zu verkennen.

Es handelte sich mir bei meinen Versuchen darum, einmal den Einfluss der Reaction der Lablösung auf die Temperaturresistenz festzustellen; dann wollte ich in zweiter Linie sehen, ob die Art der Flüssigkeit, in der das Ferment gelöst ist, die Temperaturresistenz beeinflusse.

Es ist bei Untersuchungen, die die Temperaturresistenz des Labenzymys klar legen sollen, vor allem darauf zu achten, dass man ausschliesslich mit Lösungen arbeitet, die nur Enzym, nicht auch Zymogen enthalten. Es kann das Arbeiten mit Enzym und Zymogen haltigen Lablösungen schwerwiegende Fehler zur Folge haben, und zwar aus folgendem Grunde. Die Gefahr, dass Spuren von Säure in der Milch auftreten, ist besonders im Sommer sehr gross. Arbeitet man nun mit Extracten, die sowohl Zymogen als Enzym enthalten, und erhitzt sie einige Zeit lang auf bestimmte

Temperaturgrade, so kann das erhitzte Extract eine grössere Wirksamkeit entfalten, als es seinem ursprünglichen Enzymgehalt gemäss zeigen sollte. Dies kommt daher, dass sein Vorferment, das eine höhere Temperaturresistenz besitzt, in der Milch in Enzym umgewandelt wird. Es ist dieser Fehler besonders dann bedenklich, wenn untersucht werden soll, ob neutrale oder saure Extracte grössere Temperaturresistenz haben. Erstere enthalten, wenn sie nicht neutralisirte Säureextracte sind, sondern mit neutral reagirender Flüssigkeit extrahierte Lablösungen sind, Prolab und Lab, letztere nur Lab.

Findet man also, dass ein Säureextract nach einer gewissen Zeit der Erhitzung seine fermentative Kraft verloren, ein Glycerinextract von gleicher Wirksamkeit aber, das neutral reagirt, dieselbe noch in schwachem Maasse besitzt, so ist der Schluss, dass das Glycerinextract resistenter gegen höhere Temperaturen sei, nur dann richtig, wenn das Glycerinextract nur Enzym und kein Zymogen enthält, oder wenn die Milch sicher keine Spur freier Säure enthält, die das Zymogen während der in solchen Fällen gewöhnlich ziemlich langen Gerinnungszeit hätte in Enzym umwandeln können.

Versuch 31.

Ein ziemlich wirksames, mehrere Tage altes Säureextract wird neutralisirt. Das neutralisirte Extract wird der Reihe mit H_2O , 0,1% HCl und mit Glycerin im Verhältniss von 2:8 verdünnt. Von diesen 3 Mischungen werden nun je 1 ccm auf verschiedene Temperaturen 10 Minuten lang erhitzt. Den erhitzten und nachher wieder abgekühlten Lösungen werden je 10 ccm Milch zugefügt und die Gerinnungszeiten festgestellt. Temperatur des Wasserbads 37° .

Probeversuch.

- 1) 1 ccm nicht erhitzter H_2O -Lablösung erzeugt Gerinnung in 13 Minuten
- 2) 1 " " " HCl- " " " " $11\frac{1}{2}$ "
- 3) 1 " " " Glycerin- " " " " 14 "

I) Erhitzung der Lablösungen auf $45^\circ C$.

	Gerinnung nach
1) H_2O - Lösung	$15\frac{1}{2}$ Min.
2) HCl- "	14 "
3) Glycerin- "	18 "

II) Erhitzung der Lablösungen auf 50° C.

	Gerinnung nach
1) H ₂ O- Lösung	16½ Min.
2) HCl- "	18 "
3) Glycerin- "	18 "

III) Erhitzung der Lablösungen auf 55° C.

	Gerinnung nach
1) H ₂ O- Lösung	2 Stunden 31 Min.
2) HCl- "	54 Min.
3) Glycerin- "	18 "

IV u. V) Erhitzung der Lablösungen auf 60 und 65° C.

Da die Gerinnung in IV und V erst nach 5½ Stunden, allerdings bei der auf 60° erhitzten Reihe auch bei Nr. 3 zuerst eintritt, wird wegen der Länge der Gerinnungszeit auf dieses Ergebniss wenig Werth gelegt.

Die Versuche I—III aber zeigen Folgendes:

Da bei einer 10 Minuten dauernden Erhitzung auf 55° von den neutralen Lösungen die Glycerinlösung in viel kürzerer Zeit Gerinnung erzeugte als die wässrige Lösung, so folgt daraus, dass wirksames Lab in einer Glycerinlösung in grösserer Menge erhalten blieb als in einer wässrigen, dass also von den neutralen Lösungen die Glycerinlösung eine höhere Temperaturreistenz besitzt, als die wässrige Lösung.

Da ferner die saure Lösung wirksamer bleibt als die wässrige, so folgt, dass saure Reaction die Temperaturreistenz erhöht.

Endlich sehen wir, dass Lab, in Glycerin gelöst, trotzdem die Lösung neutrale Reaction zeigt, doch noch resistenter ist, als Lab in saurer wässriger Lösung.

Versuch 32.

Ein sehr wirksames Labglycerinextract wird mit 0,1% HCl versetzt, einige Stunden gemischt gelassen, dann neutralisirt. Von dieser neutralisirten Lablösung werden je 3 ccm der Reihe nach mit 7 ccm H₂O, Glycerin und 0,1% HCl gemischt. Es werden nun immer je 2 ccm der einzelnen Lösungen auf ver-

schiedene Temperaturgrade 5 Minuten erhitzt. Temperatur des Wasserbads 37°. Dauer der Beobachtung 3 Stunden.

Grad der Erhitzung	Gerinnungszeit in Minuten bei Zusatz von je 2 ccm der Lösung: 10 ccm Milch		
	H ₂ O-Lösung	Glycerin-Lösung	HCl-Lösung
Probeversuch	7 ¹ / ₂	8	4
50°	12	8	4
55°	100	8 ³ / ₄	5
60°	—	75	90
65°	—	—	—

Ergebniss: Dasselbe wie in Versuch 31.

Versuch 33.

Eine Säurelösung von Labferment wird das eine Mal mit H₂O (2 Vol. Lablösung: 8 Vol. H₂O), das andere Mal mit Glycerin (2:8) verdünnt. Temperatur des Wasserbads 37°. Dauer der Beobachtung 3 Stunden.

Grad der Erhitzung	Gerinnungszeit in Minuten bei Zusatz von je 2 ccm der Lösung: 10 ccm Milch	
	H ₂ O-Lösung	Glycerin-Lösung
Probeversuch	10	10
50°	10 ¹ / ₂	10 ¹ / ₂
55°	11	10 ¹ / ₂
60°	60	17
70°	—	62

Ergebniss: Sauer reagirende Lablösung ist gegen höhere Temperaturen resistenter, wenn die Lösungsflüssigkeit Glycerin ist, als wenn sie Wasser ist.

Es zeigen diese Versuche in klarer Weise einmal, dass die saure Reaction der Labflüssigkeit die Temperaturresistenz erhöht, dann, dass auch die Art der Lösungsflüssigkeit von Einfluss auf die Temperaturresistenz ist, und zwar, dass das Labferment bei einem niedrigeren Grade der Erhitzung zerstört wird, wenn es in Wasser gelöst ist, als wenn Glycerin als Lösungsflüssigkeit verwendet wurde,

dass also das Lab in einer Lösung von saurem Glycerin am widerstandsfähigsten gegen hohe Temperaturen ist.

Was nun das erste Ergebniss betrifft, die Erhöhung der Temperaturreistenz einer Lablösung durch saure Reaction, so befinde ich mich hierüber im Widerspruch mit Hammarsten, kann dagegen die diesbezüglichen Angaben von Boas nur bestätigen.

Wie ich sehe, hat Biernacki¹⁾ für das Pepsin dasselbe gefunden, nämlich dass saure Reaction das Pepsin gegen den Einfluss höherer Wärmegrade schützt, während Trypsin in alkalischer Reaction der Einwirkung der Hitze besser Widerstand leistet. Es bestätigt sich also die für das Pepsin und Trypsin von Biernacki festgestellte Thatsache, dass diejenige Reaction, bei der ein Enzym seine spezifische Leistungsfähigkeit am besten entfalten kann, zugleich das Enzym am besten vor schädigenden Wärmeeinflüssen schützt, auch für das Labenzym.

Was die obere Temperaturgrenze betrifft, bei der Labferment in solchen Mengen unzerstört bleibt, dass eben noch Labgerinnung festzustellen ist, so zeigen diese und viele hier nicht wiedergegebenen Versuche, dass dieselbe je nach der Reaction und Art der Lösungsflüssigkeit und der Menge des vorhandenen Ferments eine verschiedene ist, ferner dass im Allgemeinen mit nur ganz vereinzelt Ausnahmen durch eine 10 Minuten lang dauernde Erhitzung auf 65—70° alles Ferment zerstört wird.

Durch Erhitzung auf 38—40° während 48 Stunden fand ich entgegen der Angabe Hammarsten's das Ferment in starken Lösungen nicht zerstört, dagegen allerdings seine Wirksamkeit wesentlich herabgesetzt. Es ist dies vielleicht auf die Verschiedenheit meiner und Hammarsten's Lablösungen zurückzuführen. Eine bestimmte Angabe, welche Lösung Hammarsten zur Feststellung dieser Thatsache benutzte, finde ich nicht.²⁾ Biernacki hat gezeigt, dass ein Ferment durch die Hitze um so eher zerstört wird, je reiner es ist. Vielleicht enthielten meine Lablösungen mehr von diesen schützenden Stoffen.

Wir hätten endlich noch zu sehen, bei welchen Temperaturen

1) E. Biernacki, Das Verhalten der Verdauungsenzyme bei Temperaturerhöhungen. Zeitschr. f. Biologie. Ganze Reihe: Bd. 28 S. 66. München und Leipzig 1891.

2) Vgl. Hofmann u. Schwalbe, Jahresbericht u. s. w. Bd. 2 S. 391. 1875.

die Labgerinnung vor sich gehen kann. Es ist selbstverständlich, dass bei höheren Temperaturen, die das Lab schon in wenig Minuten zerstören, eine Labgerinnung unmöglich ist. Es ist auch wirklich die Labgerinnung um 60° herum, gewöhnlich aber früher aufgehoben, da die Erhitzung bei diesen Versuchen gewöhnlich eine andauernde ist und hierdurch alles Ferment zerstört wird. Ich kann hier die Angaben von Boas nur bestätigen.

Was die untere Grenze betrifft, so hält Boas unter gewöhnlichen Verhältnissen bei einer Temperatur unter 20° C die Gerinnung für ausgeschlossen. Das ist nun sicher unrichtig. Ich habe bei 15° innerhalb 20–30 Minuten Gerinnung bei Zusatz einer starken Lablösung gesehen, ja sogar bei $8-10^{\circ}$, nur dauerte hier der Process länger. Dagegen gelang es mir nicht, innerhalb 24 Stunden irgend eine Gerinnung bei 0° zu beobachten. Es ist also bei Verwendung starker Lablösungen bei 10° noch eine deutliche Wirksamkeit zu beobachten. Mittelstarke Lablösungen dagegen sind im Allgemeinen nicht im Stande, bei Temperaturen von $6-10^{\circ}$ Gerinnung zu erzeugen, wohl aber bei 15° innerhalb von Stunden. Zum Belege hierfür einige Versuche.

Versuch 34.

Es werden im Winter zu je 5 ccm Milch, die das eine Mal im Schnee steht, das andere Mal im Wasserbad von 17° und von 40° sich befindet, je 0,5 ccm einer 0,1% HCl-Lablösung gebracht. Die eine Lösung wurde durch Extraction des Oesophagus des Frosches, die zweite aus dem Fundus des Froschmagens, die dritte aus der Magenschleimhaut des Kalbs gewonnen.

Nr.	Lablösung vom	Gerinnungs- Temper.	Gerinnung nach
1	a) Frosch: Oesophagus	$0-1^{\circ}$	Innerhalb 24 Stunden keine Gerinnung
2	b) Frosch: Fundus		
3	c) Kalb		
4	a)	17°	2 Stunden
5	b)		Keine Gerinnung beobachtet
6	c)		3 Stunden 15 Minuten
7	a)	40°	10 Minuten
8	b)		Keine Gerinnung beobachtet
9	c)		5 Minuten

Versuch 35.

Es kommen nur Säureextracte und mit Wasser verdünnter Magensaft vom Menschen zur Untersuchung. Das Uebrige wie in Versuch 34.

Nr.	Lablösung vom	Gerinnungs- Temper.	Gerinnung nach
1	a) Kalb	6—8°	Keine Gerinnung beobachtet 5 Stunden Keine Gerinnung
2	b) Mensch		
3	c) Frosch: Oesophagus		
4	d) Frosch: Fundus		
5	a)	15°	ca. 5 Stunden 2 Stunden 22 Minuten Keine Gerinnung
6	b)		
7	c)		
8	d)		
9	a)	25°	8½ Minuten 13 Minuten 21 Minuten Keine Gerinnung
10	b)		
11	c)		
12	d)		
13	a)	40°	4½ Minuten 9½ Minuten 20 Minuten Keine Gerinnung
14	b)		
15	c)		
16	d)		
17	a)	55°	Keine Gerinnung beobachtet
18	b)		
19	c)		
20	d)		

Diese Versuche ergeben ausser dem, was schon oben S. 177 erwähnt ist, dass das Labferment des Frosches ein Mal, wie es ja Grützner¹⁾ zuerst feststellte, wesentlich, vielleicht ausschliesslich im Oesophagus bereitet wird, ferner, dass das Labferment des Frosches im Stande ist, bei niederen Temperaturen eine viel grössere Wirksamkeit zu entfalten, als das bei mittleren Temperaturen viel wirksamere Labferment des Kalbes und des Menschen, wie Aehnliches von dem Pepsin der Kaltblüter im Gegensatz zu dem der Warmblüter Fick und Murisier²⁾ feststellen konnten.

Wenn ich das Ergebniss meiner Beobachtungen über die Temperaturresistenz des Lab kurz zusammenfasse, so ergibt sich:

1) Pflüger's Archiv Bd. 16 S. 105. 1878.

2) Sitzungsber. d. Würzburger phys. med. Ges. N. F. Bd. 4 S. 120. 1873.

Gekochte Milch gerinnt langsamer als nicht gekochte.

Saure Reaction erhöht die Temperaturresistenz des Labferments.

Lösungen von Lab in Glycerin sind resistenter gegen höhere Temperaturen als wässrige Lösungen.

Labgerinnung ist zwischen 10° und $50\text{--}60^{\circ}$ möglich.

Labenzym in mittlerer Concentration wird durch 10 Minuten dauernde Erhitzung auf $60\text{--}70^{\circ}$ zerstört.

Endlich: Das Labferment des Frosches ist im Vergleich mit den Fermenten von Mensch und Kalb bei niederen Temperaturen wirksamer.

8) Verhältniss von Fermentmenge und Gerinnungszeit.

Ogleich die von Hammarsten¹⁾ gemachte Angabe, dass die Gerinnungsgeschwindigkeit proportional der Labmenge sei, meines Wissens von Niemand bestritten wurde, möchte ich doch von den Versuchen, die ich hierüber anstellte; wenigstens einen mittheilen, und zwar desshalb, weil ich Versuche hierüber in der Literatur nicht finde. Da ferner alle Versuche, welche die Fermentmenge einer Lösung feststellen sollen, auf den Beziehungen zwischen Labmenge und Gerinnungszeit basiren, erscheinen mir Versuche, welche diese Beziehungen des Genaueren zu zeigen vermögen, nicht werthlos zu sein.

Versuch 36.

Von einem neutralisirten, mässig wirksamen Säureextract wird eine Verdünnung mit Wasser im Verhältniss von 1 ccm Extract : 9 H_2O hergestellt. Hier- von werden der Reihe nach 0,1, 0,2 u. s. w. bis 0,9 ccm : 10 ccm Milch gesetzt. Hierauf werden dieselben Mengen von dem unverdünnten Extract zu je 10 ccm Milch gebracht. Es ergibt sich nun eine Versuchsreihe, deren Glieder der Reihe nach Mengen von 0,01—1 ccm Lablösung : 10 ccm Milch enthalten.

Da bei dieser Versuchsanordnung eine Differenz in der Menge des zu 10 ccm Milch gesetzten Wassers von 0,9 ccm im Maximum entsteht, müsste diese Ungleichheit beseitigt werden. Es kann jedoch hiervon, wie mir ein Versuch zeigte, abgesehen werden, da eine derartige Differenz im Gehalte an zugesetztem Wasser bedeutungslos ist.

Temperatur des Wasserbades 37° .

1) Citirt nach Klemperer, Zeitschr. f. klin. Medicin Bd. 14 S. 284. 1888.
E. Pflüger, Archiv für Physiologie. Bd. 69.

Menge der zu- gesetzten Lablösung	Gerinnungszeit	Menge der zu- gesetzten Lablösung	Gerinnungszeit
0,01 ccm	Nicht beobachtet	0,1 ccm	43 Minuten
0,02 "	245 Minuten	0,2 "	24 ¹ / ₂ "
0,03 "	155 "	0,3 "	16 "
0,04 "	126 ¹ / ₂ "	0,4 "	12 ¹ / ₂ "
0,05 "	92 "	0,5 "	10 "
0,06 "	78 "	0,6 "	8 ³ / ₄ "
0,07 "	69 ¹ / ₄ "	0,7 "	8 ¹ / ₆ "
0,08 "	63 "	0,8 "	7 ¹ / ₂ "
0,09 "	56 "	0,9 "	6 ² / ₃ "
		1,0 "	6 "

Die Vergleichung der rechts und links stehenden Reihen ergibt, dass nur innerhalb gewisser enger Grenzen die Gerinnungsgeschwindigkeit der Fermentmenge proportional ist, dass dies aber im Allgemeinen nicht gilt und namentlich bei grösseren Fermentmengen die Gerinnungsgeschwindigkeiten immer langsamer zunehmen.

Es lässt sich daraus die praktische Regel entnehmen, dass starke Fermentlösungen, wenn sie in Beziehung auf ihren Fermentgehalt mit schwächeren verglichen werden sollen, so verdünnt werden müssen, dass sie nicht innerhalb zu kurzer Zeit Gerinnung erzeugen, d. h. dass ihre Gerinnungszeit nicht unter die Dauer von etwa 10 Minuten heruntersinkt. Es wird so der Fermentgehalt unter Einrechnung der Verdünnung richtiger bestimmt als bei directer Vergleichung ohne vorausgegangene Verdünnung, da man ohne nennenswerthen Fehler bei sonst gleichen Versuchsbedingungen die Gerinnungsgeschwindigkeiten und die Fermentmengen einander proportional setzen kann. Vergleicht man dagegen sehr starke Lablösungen ohne vorausgegangene Verdünnung mit viel schwächeren, so wird der Fermentgehalt bei den starken Lösungen möglicher Weise viel zu klein gefunden.

Es zeigt sich dies noch deutlicher, wenn Lablösungen zur Verwendung kommen, die in Bruchtheilen von Minuten Gerinnung erzeugen. Hier ist eine einigermaassen correcte Vergleichung nicht mehr möglich. Ist endlich ein Extract so wirksam geworden, dass sein Zusatz zur Milch sofort Gerinnung erzeugt, so erzeugt eben dieselbe Menge eines 10 Mal stärkeren Extracts auch sofortige Gerinnung.

Wenn wir die Untersuchungen von Brücke¹⁾, Ebstein und Grützner²⁾ über das Verhältniss von Pepsinmenge und dem Fortschritt der Verdauung vergleichen, so stimmen ihre Ergebnisse, dass die verdauende Kraft des Pepsins in demselben Sinne, aber mit abnehmender Geschwindigkeit wächst, wie die Pepsinmenge, bis ein gewisses Optimum erreicht ist, mit den meinen überein. Während aber von obigen Forschern, neuerdings auch von Klug³⁾, gezeigt werden konnte, dass eine weitere Vermehrung des Pepsingehaltes über jene Grenze hinaus nicht mehr fördernd, sondern sogar hemmend wirkt (aus hier nicht näher zu erörternden Gründen), so scheint etwas derartiges beim Labferment nicht vorzukommen.

9) Ueber einige Eigenschaften der Vorstufe des Labs, des Labzymogens oder Prolabs.

1) Literatur.

Nachdem von Ebstein und Grützner für das Pepsin festgestellt worden war, dass die Schleimhaut des Magens die Vorstufe des Pepsins, das Propepsin, erzeuge, lag die Vermuthung nahe, dass es sich mit dem Lab ähnlich verhalte.

Hammarsten⁴⁾ hatte beobachtet, dass in der neutralen Infusion der Magenschleimhaut gewisser Säugethiere und Vögel und fast aller Fische sich eine labbildende Substanz befinde, die erst durch Einwirkung einer Säure entsteht.⁵⁾

Bei Grützner⁶⁾ findet sich folgende Angabe: Der Pylorus enthält weniger Labferment als der Fundus und er enthält es in anderer Form, vielleicht in einer Vorstufe, da Glycerin aus demselben sehr wenig zu extrahiren vermag, während die HCl dies thut.

Genauere Angaben über das Prolab finden sich bei Boas⁷⁾.

Als das eigentliche Secret der Drüsenschicht ist nicht das Labferment, sondern das Labzymogen anzusehen, welches erst unter dem

1) Wiener Akademieberichte, math. nat. Classe Bd. 37 S. 131. 1859.

2) Dieses Archiv Bd. 6 S. 11. 1872.

3) Dieses Archiv Bd. 60 S. 54. 1895.

4) Hammarsten, Lehrbuch der physiol. Chemie S. 154. Wiesbaden 1892.

5) Vgl. auch J. W. Warren, Journ. of experimental medicine Vol. 2 p. 475. 1897.

6) Grützner, Ueber Bildung u. s. w. Dieses Archiv Bd. 16 S. 118. 1878.

7) Vgl. Citat in dieser Arbeit S. 147. Labferment u. s. w. S. 258.

Einfluss der Bildung freier Säure (sowohl Salzsäure als Milchsäure) sich in Labferment umwandelt. Was die Zeit des Vorkommens betrifft, so findet er, dass sich Labzymogen jeder Zeit sowohl im verdauenden als im nüchternen Magen findet. Er gibt ferner an, dass das Labzymogen in seinem Verhalten gegenüber Alkalien viel resistenter ist als das Labenzym, eine Thatsache, die Langley auch für das Pepsinogen festgestellt hatte. Endlich wird von Boas noch eine Angabe gemacht über das Verhalten des Labzymogens gegen Temperatureinflüsse des Inhalts, dass das Labzymogen Temperaturen (über 70 °) erträgt, welche das fertige Ferment bereits zerstören.

2) Die Umformung von Labzymogen in Labenzym.

Die Thatsache, dass Labzymogen durch Säure in Enzym übergeführt wird, steht fest. Den Einfluss auf die Gerinnungszeit, den die Säure durch Veränderung der Milch hervorrufen kann, haben Arthus¹⁾ und Pfeleiderer²⁾ studirt, ersterer indem er die Gerinnungsbeschleunigung, die durch Zusatz verschiedener Mengen von HCl zur Milch erzeugt wird, feststellte, letzterer, indem er im Wesentlichen die Art, wie gleiche Mengen verschiedener Säuren die Labgerinnung beeinflussen, beobachtete.

Zur Demonstration der Wirkung der Säure einerseits auf die Milch, andererseits auf das Labzymogen, möge folgender Versuch dienen, der zugleich zeigen kann, dass Säure in Mengen, die, zur Milch gesetzt, kaum gerinnungsbeschleunigend wirken, dies thun, wenn sie zur Zymogen haltigen Lablösung für einige Zeit gebracht werden.

Versuch 37.

In Versuch a) werden zu 10 ccm Milch verschiedene Mengen von HCl (0,1%), dann je 0,5 ccm Labglycerinextract (Kalb) gesetzt.

In Versuch b) werden dieselben Mengen von Säure und demselben Labextract zur Milch gesetzt, nur standen Labextract und Säure zuvor 2 Stunden zusammen.

Glycerinextract	0,1 % HCl	Gerinnung nach	
		Versuch a	Versuch b
1) 0,5 ccm	0,0 ccm	23 Min.	23 Min.
2) 0,5 "	0,05 "	19 ¹ / ₂ "	2 "
3) 0,5 "	0,08 "	18 ¹ / ₂ "	2 "
4) 0,5 "	0,1 "	17 "	2 "
5) 0,5 "	0,5 "	15 ¹ / ₂ "	1 "

1) Arthus, Sur la labogéme. Arch. de phys. Nr. 2. Avril 1894.

2) R. Pfeleiderer, vgl. Citat S. 149 dieser Arbeit.

Da ich bei meinen Versuchen gesehen hatte, dass es immer einiger Zeit bedarf, bis das Zymogen in Enzym übergeführt ist, habe ich hierüber besondere Versuche angestellt.

Versuch 38.

Es werden 2 ccm Labglycerinextract (Kalb) und 2 ccm 0,1% HCl gemischt und zu verschiedenen Zeiten nach erfolgter Mischung je 0,1 ccm der Mischung zu 10 ccm Milch gesetzt. Temperatur des Wasserbades 35°.

Zeit des Gemischtseins von Lab- glycerinextract und Säure		Gerinnung nach	
1)	1 Min.	43	Min.
2)	2 "	24	"
3)	3 "	19	"
4)	5 "	11	"
5)	10 "	6 ¹ / ₄	"
6)	20 "	5 ¹ / ₂	"
7)	30 "	5 ¹ / ₂	"
8)	60 "	5 ¹ / ₂	"
9)	4 Stunden	6	"

Boas hatte beobachtet, dass auch die Milchsäure im Stande ist, die Ueberführung von Labzymogen in Labenzym zu besorgen, so dass also das Vorhandensein von fertigem Ferment nicht an die Salzsäure, sondern wohl an das Vorhandensein freier Säure überhaupt gebunden ist. Es schien mir nun nicht ohne Interesse zu sein, Versuche anzustellen über die Fähigkeit verschiedener Säuren, Labzymogen in Labenzym überzuführen. Alle von mir untersuchten Säuren besitzen diese Eigenschaft, jedoch bei gleicher Concentration ($\frac{1}{5}$ n) nicht in gleichem Maasse. Am raschesten vollzieht die Umformung die Salzsäure und die Schwefelsäure, ohne dass beide Säuren in ihrer Wirksamkeit wesentlich differirten. Dann kommt die Salpetersäure. Ihr folgen die wiederum unter sich ziemlich gleich wirksame Oxalsäure und Phosphorsäure. Viel schwächer umformend wirkt die Milchsäure, am schwächsten endlich die Essigsäure.

Es ist nicht uninteressant, zu beobachten, dass der Grad der umformenden Wirksamkeit der einzelnen Säuren im Wesentlichen parallel geht ihrer Avidität.

Da eine Neutralisation bei dem gleich zu beschreibenden

Versuch nicht zu machen war, zudem überall gleich viel, wenn auch nicht in gleichem Grade wirksame Säure zugesetzt wurde, ausserdem nur 0,05 ccm der Säure jedesmal zur Milch gebracht wurden, konnte der spezifische Einfluss der einzelnen Säuren auf die Milch, ohne grosse Fehler zu machen, vernachlässigt werden.

Versuch 39.

Es werden von den verschiedenen Säuren, die zur Untersuchung kommen, je 2 ccm einer $\frac{1}{5}$ n-Säure mit 2 ccm Labglycerinextract (Kalb) zusammengebracht. Zu verschiedenen Zeiten nach der Mischung werden je 0,1 ccm der Mischung zu 10 ccm Milch gebracht. Temperatur des Wasserbades 37° .

Probeversuch: 0,05 Labglycerinextract + 0,05 H_2O bringen 10 ccm Milch bei 37° nach 2 Stunden 44 Minuten zur Gerinnung.

Nach einer Zeit der Mischung von	Gerinnung in Minuten bei Verwendung von						
	Salzsäure HCl	Schwefels. $\frac{1}{2} \text{H}_2\text{SO}_4$	Salpetersäure HNO_3	Oxalsäure $\frac{1}{2} \text{C}_2\text{O}_4\text{H}_2$	Phosphors. $\frac{1}{3} \text{H}_3\text{PO}_4$	Milchsäure $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3$	Essigsäure $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$
2 Minuten	11	13	$17\frac{1}{2}$	20	28	44	99
5 "	6	$7\frac{1}{2}$	8	10	14	30	76
10 "	4	3	$4\frac{1}{2}$	$6\frac{1}{2}$	6	10	59
3 Tagen	$4\frac{1}{4}$	$3\frac{3}{4}$	$4\frac{1}{2}$	4	$4\frac{1}{4}$	5	$4\frac{1}{2}$

Ein späterer Versuch, der mit $\frac{1}{20}$ n-Säure gemacht wurde, führte mit einer kleinen Verschiebung der H_2SO_4 zu demselben Ergebniss.

3) Methode der Untersuchung auf Labzymogen.

Einfluss der Kalksalze auf Labzymogen.

Boas¹⁾ gibt eine Methode an, die es ermöglichen soll, auf Labzymogen getrennt zu untersuchen. Dieselbe beruht einerseits auf der leichteren Zerstörbarkeit des Labenzymys gegenüber seinem Zymogen durch Alkali, andererseits auf der Annahme, dass Prolab bei Zusatz von CaCl_2 zur Milch fähig sei, gerinnungserzeugend zu wirken. „Man alkalisiert“, sagt er, „einen labhaltigen Mageninhalt bis zum deutlichen Ausschlag auf rothes Lackmuspapier und versetzt die eine Hälfte mit 0,1 CaCl_2 , während die andere ohne Zusatz bleibt. Die erste Probe gerinnt nach kurzer Zeit im Brutofen, die zweite

1) Boas, Vgl. S. 147 dieser Arbeit. Labferment u. s. w. S. 259.

bleibt nach stundenlangem Stehen unverändert. Ein gleichfalls alkalisirtes, aber vorher erhitztes und mit CaCl_2 versetztes Controlpräparat bleibt ebenfalls unverändert. — Diese einfache Methode gewährt die Möglichkeit, in einem Magenfiltrat getrennt auf Labferment und Labzymogen zu untersuchen.“

Klemperer¹⁾ benutzt ausser der Eigenschaft des Prolabs, dass es eine höhere Alkaliresistenz als das Ferment besitzt, noch die, dass es gegen hohe Temperaturen resistenter ist, um auf Prolab zu untersuchen. Er erhitzt den Magensaft auf 70°. Zugesezte Milch gerinnt nicht mehr, dagegen tritt die Gerinnung nach CaCl_2 -Zusatz zur Milch ein. Er erwähnt ferner, dass die Gerinnungsfähigkeit des nur Zymogen haltigen Magensafts sich auch zeige, wenn der Magensaft einen Tag lang mit verdünnter HCl im Brutofen gestanden hat.

Falls die von Boas angegebene Methode der Untersuchung auf Prolab richtig ist, muss das Calciumchlorid entweder das Vorferment umwandeln können, wie es die Säure thut, oder muss das Casein der Milch durch dieses Salz so verändert werden, dass es für die Wirkung des Vorferments zugänglich wird, denn unter gewöhnlichen Verhältnissen erzeugt das Vorferment keine Gerinnung.²⁾

Die Säure ist das einzige chemische Agens, welches, soweit wir bis jetzt wissen, im Stande ist, unwirksames Labzymogen in wirksames Enzym überzuführen.

Um zu sehen, ob das Calciumchlorid im Stande sei, das Vorferment von Lab in Labferment überzuführen, habe ich folgende Versuche angestellt:

1) G. Klemperer, Die diagnostische Verwertbarkeit des Labferments. Zeitschr. f. klin. Medicin Bd. 14 S. 282 u. 283. 1888.

2) Neuere Untersuchungen über den Einfluss des Kalks bei der Blutgerinnung ergeben ähnliche Anschauungen, wie sie Boas über das Labzymogen hat. Pekelharing und Hammarsten¹⁾ erklären die Wirksamkeit des Prothrombin, des Zymogens von Fibrinferment, bei Gegenwart von Kalksalzen dadurch, dass sie den Ca-Salzen die Eigenschaft zuschreiben, Prothrombin in Fibrinferment überzuführen.

Eine ähnliche Wirkung der Kalksalze auf das Labzymogen konnte ich, wie gleich näher gezeigt werden soll, nicht feststellen.

1) Hammarsten, Ueber die Bedeutung der löslichen Kalksalze für die Caseinstoffgerinnung. Hoppe-Seyler's Zeitschr. f. phys. Chemie Bd. 22 S. 364, 374. 1896/1897. Vgl. ebendort ausführliches Citat über Pekelharing.

Versuch 40.

Ein sehr stark zymogenhaltiges Labextract wird mit Calciumchloridlösung (5 %) im Verhältniss 1 : 1 gemischt und zu verschiedenen Zeiten nach der Mischung untersucht. Falls das CaCl_2 ebenso umformend wie Säure wirkt, müssen wie dort (cf. Vers. 38) die Gerinnungszeiten immer kürzer werden.

Nach einer Dauer der Mischung von	Gerinnung nach
2 Minuten	18 Minuten
5 "	18 "
10 "	18 "
20 "	18 "
50 "	17 ¹ / ₂ "
60 "	19 "

Vergleichen wir diesen Versuch — es wurden eine Reihe derartiger Versuche angestellt — mit denen, die über die umformende Kraft von Säuren (S. 43) angestellt wurden, so zeigt sich deutlich, dass etwas derartiges wie bei den Säuren beim Calciumchlorid sich nicht beobachten lässt.

Es lassen sich gegen diesen Versuch folgende Einwände machen: Man kann sagen, die Zeit der Einwirkung des Calciumchlorid auf Prolab hätte noch länger beobachtet werden sollen. Dass jedoch die Kürze der Zeit, die das Calciumchlorid mit Lab zusammenstand, nicht die Ursache des negativen Ergebnisses war, möge folgender Versuch zeigen.

Versuch 41.

Es werden in 8 Reagensgläser je 0,5 ccm eines Enzym und Zymogen haltigen Extracts gebracht. In Reagensglas 1—4 (Reihe a) kommen der Reihe nach 0,1, 0,5, 1,0, 2,0 ccm CaCl_2 -Lösung (5 %). In die übrigen Reagensgläser Nr. 4—8 (Reihe b) wird kein CaCl_2 gebracht. Alle Reagensgläser werden mit Korken geschlossen. Nach 24 stündigem Stehen werden direct vor Beginn des Versuchs die in Reagensglas 1—4 befindlichen Mengen von CaCl_2 nun auch zu Nr. 4—8 (Reihe b) gesetzt. (Vgl. hierzu die Tabelle auf S. 187.)

Obgleich also in diesem Versuche das CaCl_2 24 Stunden lang Zeit hatte, die Umformung des Zymogens in Enzym zu besorgen, war doch eine Aenderung der Wirksamkeit des Labs nicht zu beobachten.

Es könnte der weitere Einwand gemacht werden, die benutzte CaCl_2 -Lösung war so concentrirt, dass die Umformung in einem Moment fertig war.

Zu 10 ccm Milch werden in Reihe a und b gebracht	Gerinnungszeit in Reihe a (Lab + CaCl_2 nach 24 stünd. Beisammensein)	Gerinnungszeit in Reihe b (Lab + CaCl_2 direct nach der Mischung zur Milch gesetzt)
1) Von der Mischung (0,5 ccm Labextract + 0,1 ccm CaCl_2) 0,5 ccm	11 Minuten	11 Minuten
2) Von der Mischung (0,5 ccm Labextract + 0,5 ccm CaCl_2) 0,5 ccm	10 "	9 "
3) Von der Mischung (0,5 ccm Labextract + 1,0 ccm CaCl_2) 1,0 ccm	5 "	5 $\frac{1}{2}$ "
4) Von der Mischung (0,5 ccm Labextract + 2,0 ccm CaCl_2) 1,0 ccm	5 "	4 $\frac{3}{4}$ "

Ich habe, um dies zu widerlegen, Versuche mit CaCl_2 ($\frac{1}{10}$ n), d. h. 1,11 % -Lösung, gemacht, ohne Aenderung der Ergebnisse.

Kurz, ich konnte bei meinen Versuchen eine das Labzymogen in Labenzym umformende Wirkung des CaCl_2 nach Art der Säure nicht beobachten.

Die Frage nun, ob CaCl_2 die Milch in der Weise verändere, dass sie durch die Wirkung des Vorferments zur Gerinnung gebracht werden kann, suchte ich zu beantworten, indem ich Fermentlösungen von ungefähr gleicher Wirksamkeit auf Milch herstellte, von denen die eine Zymogen und Enzym, die andere nur Enzym enthielt. Ist das Vorferment nun wirklich im Stande, bei CaCl_2 -Zusatz zur Milch seine Wirksamkeit zu entfalten, so muss sich natürlich das Enzym und Zymogen haltige Extract nach Kalkzusatz zur Milch viel wirksamer zeigen, als das nur Enzym haltige.

Versuch 42.

A)

	Gerinnung nach
1) Glycerinextract 0,5 ccm : 10 ccm Milch (Lab + Prolab) . . .	24 Minuten
2) Neutralisirtes Säureextract 0,5 ccm : 10 ccm Milch (Lab) . . .	20 "

B)

	Gerinnung nach
1) Glycerinextract 0,5 ccm : 10 ccm Milch + 0,5 ccm CaCl_2 (5 %) (Lab + Prolab)	9 Minuten
2) Neutralisiertes Säureextract 0,5 ccm : 10 ccm Milch + 0,5 ccm CaCl_2 (5 %) (Lab)	8 „

Versuch 43.

Zu je 10 ccm Milch werden der Reihe nach 0,1, 0,2 ccm u. s. w. das eine Mal von einem Labglycerinextract, das andere Mal von einem neutralisierten Säureextract gesetzt. Beide Extracte sind von ungefähr gleicher Wirksamkeit, das Glycerinextract ist sehr stark zymogenhaltig, das neutralisierte Extract enthält nur Enzym. Nachdem die Gerinnungszeiten ohne CaCl_2 -Zusatz zur Milch bestimmt sind, wird wiederum zu je 10 ccm Milch 0,5 ccm CaCl_2 -Lösung (5 %) zugesetzt. Es werden nunmehr wieder bei Zusatz gleicher Mengen Lab die Gerinnungszeiten festgestellt.

Gleiche Mengen von Labglycerinextract (Reihe a) und neutralisiertem Säureextract (Reihe b) werden zu 10 ccm Milch gesetzt.

A)

Extractmenge	Gerinnung in	
	Reihe a	Reihe b
0,1 ccm	38 Minuten	41 $\frac{1}{2}$ Minuten
0,2 „	20 „	22 „
0,5 „	8 $\frac{3}{4}$ „	11 $\frac{1}{4}$ „
0,8 „	6 $\frac{1}{2}$ „	6 $\frac{1}{2}$ „
1,0 „	5 $\frac{1}{4}$ „	5 $\frac{1}{2}$ „

B)

Versuchsanordnung wie in A), nur ist zu je 10 ccm Milch 0,5 ccm CaCl_2 -Lösung (5 %) vor Zusatz der Fermentlösung beigelegt worden.

Extractmenge	Gerinnung in	
	Reihe a	Reihe b
0,1 ccm	16 Minuten	18 $\frac{1}{4}$ Minuten
0,2 „	8 $\frac{1}{2}$ „	9 „
0,5 „	4 $\frac{1}{2}$ „	5 „
0,8 „	3 $\frac{1}{2}$ „	3 $\frac{1}{2}$ „
1,0 „	3 „	3 „

In allen diesen Versuchen wurden nur 0,5 ccm CaCl_2 -Lösung (5 %) zu 10 ccm Milch gesetzt und nicht, wie es Boas und Klemperer zum Theil thaten, 2 ccm. Es wurde nämlich gelegentlich nach einem derartigen grossen CaCl_2 -Zusatz bei 37° eine spontane Gerinnung der Milch innerhalb 4 Stunden beobachtet.

Es zeigen diese Versuche, dass CaCl_2 -Zusatz zur Milch einzig und allein die Wirkung des Enzyms unterstützt. Denn würde es auch dem Zymogen ermöglichen, seine Wirksamkeit zu entfalten, so hätte bei Verwendung eines Zymogen und Enzym haltigen Extracts eine unverhältnissmässig grössere Gerinnungsbeschleunigung zur Beobachtung kommen müssen, als bei Verwendung eines Extracts, das nur Enzym enthielt.

Labzymogen ist deshalb (entgegen der Anschauung von Boas) durch Zusatz von Calciumchlorid zur Milch nicht nachzuweisen.

Wie sind nun die Ergebnisse von Boas zu erklären? Boas glaubt, durch Zusatz von Alkali zu einer Fermentlösung bis zum deutlichen alkalischen Ausschlag auf Lackmus alles Enzym zerstört zu haben. Versuch 27 u. 28 zeigten aber, dass dies nicht der Fall ist. Boas hat deshalb ohne Zweifel, da, wo er Zymogen mit CaCl_2 nachzuweisen glaubte, Spuren von Enzym nachgewiesen. Denn die von Boas festgestellte Thatsache, dass eben durch CaCl_2 -Zusatz Spuren von Enzym nachgewiesen werden können, deren Wirksamkeit ohne diesen Zusatz nicht mehr oder in zweifelhafter Weise zur Beobachtung kommt, kann ich nur bestätigen.

Das Labzymogen lässt sich aber trotzdem leicht nachweisen, da ja die Thatsache der Umformbarkeit des Zymogens in Enzym durch Säure sicher gestellt ist.

Wie im Magen, so kann auch jeder Zeit ausserhalb des Magens ein Zymogen haltiges Extract oder ein neutraler Magensaft durch Ansäuerung (z. B. Zusatz des gleichen Volumens von 0,1 % HCl) in eine nur Enzym haltige Lösung verwandelt werden.

Das Vorhandensein von Vorferment ist bewiesen, wenn durch Zusatz von Säure zur Untersuchungsflüssigkeit und nachträgliche Neutralisation eine Labwirkung entweder erzeugt oder die schon vorher vorhandene Wirkung verstärkt wird. Auf diese Weise kann auch die ungefähre Menge des Prolabs bestimmt werden. Dieselbe lässt sich, wenn die Untersuchungsflüssigkeit vor dem Säurezusatz nur Zymogen und kein Enzym enthielt, bestimmen aus der ganzen

Gerinnungszeit, im andern Fall, bei Zymogen und Enzym haltiger Untersuchungsflüssigkeit, aus der Gerinnungsbeschleunigung.

Soll die Bestimmung eine genauere sein, so muss auch noch die durch Ansäuerung und Neutralisation entstandene Verdünnung der Untersuchungsflüssigkeit in Betracht gezogen werden.

Soll nicht die absolute Grösse des Zymogengehaltes festgestellt werden, sondern nur verschiedene Extracte oder Flüssigkeiten überhaupt auf ihren Zymogengehalt mit einander verglichen werden, so kann man bei gleichmässiger Verdünnung der Untersuchungsflüssigkeiten mit Säure von der Neutralisation absehen.

Auch die Eigenschaften der höheren Temperatur- und Alkaliresistenz des Prolab gegenüber dem Lab können zur Untersuchung benutzt werden. Ich habe über die Temperaturresistenz des Prolab einige Versuche angestellt, von denen ich hier einen anführen möchte.

Versuch 44.

Von einem sehr viel Zymogen und wenig Enzym enthaltenden Labglycerin-extract (Kalb) werden je 2 ccm 15 Minuten lang auf 60°, 70° bezw. 80° erhitzt. Von den erhitzten Extracten werden je 1 ccm : 10 ccm Milch bei einer Temperatur im Wasserbad von 35° gebracht.

Nach einer Erhitzung auf	Gerinnung nach
60°	4 Stunden 20 Minuten
70°	} Keine Gerinnung inner- halb 9 Stunden
80°	

Von den erhitzten Extracten ist je noch 1 ccm übrig geblieben. Es werden nun nachträglich zu je 1 ccm 0,5 ccm HCl (0,1%) gebracht und einige Zeit stehen gelassen. Dann werden die Mischungen zu je 10 ccm Milch gebracht. Das Uebrige wie oben.

Nach der früheren Er- hitzung der Lösung auf	Gerinnung nach
60°	5 Minuten
70°	1 Stunde 50 Minuten
80°	Innerhalb 9 Stunden keine Gerinnung

Der Versuch ergibt, dass durch eine Erhitzung auf 60° fast alles Enzym — es war nur wenig da — zerstört ist, jedoch ziem-

lich viel Zymogen unzerstört blieb, ja sogar noch bei 70° eine nicht unbeträchtliche Menge von Zymogen enthalten ist. Denn wie Versuch 44 zeigt, ist es durch Säurezusatz möglich, aus einem unwirksamen Labextract ein wenn auch schwach wirksames zu erzeugen.

Andere Versuche, in denen Extracte von schwachem Zymogengehalt zur Verwendung kamen, zeigten diese Differenz in der Temperaturresistenz zwischen Lab und Prolab lange nicht so deutlich.

Die Methode, welche darauf beruht, das Ferment durch einen bestimmten Hitzegrad zu zerstören, der das Vorferment nicht zerstört, ist deshalb nicht empfehlenswerth, da es sehr schwer, ja in vielen Fällen unmöglich ist, alles Ferment zu eliminiren, ohne nicht auch viel oder fast alles Vorferment zu zerstören. Es kommt dies daher, dass die Differenz der Temperaturresistenz zwischen Lab und Prolab nicht sehr beträchtlich ist. Ausserdem ist bei dieser Art des Nachweises ein langweiliges Herumprobiren nothwendig, bis man für die einzelne Fermentlösung den Temperaturgrad gefunden hat, der eben das Vorferment nicht ganz zerstört.

Was die Methode des Nachweises durch die Zerstörung des Ferments durch Alkali betrifft, so verhält es sich hier ohne Zweifel ähnlich.

4) Gehalt der Magenschleimhaut und des Magensaftes an Lab und Prolab im Hunger- und Verdauungsstadium.

Ueber die in der Schleimhaut enthaltene Menge von Labenzym gibt Grützner¹⁾, der allein hierüber Versuche anstellte, an, dass beim Hunde und beim Frosch die Mengen von Labferment (beziehungsweise Prolab), die sich in der Magenschleimhaut finden, in verschiedenen Verdauungsstadien durchaus parallel gehen mit den Pepsinmengen (beziehungsweise Propepsinmengen).

Bei Boas²⁾ finden sich über den Lab- und Prolabgehalt des Magensaftes folgende Angaben:

Eine successive Entnahme des Mageninhaltes im Zustande der Verdauung ergibt, dass das Labferment während der ganzen Dauer der Digestion nachweisbar ist, wobei es dahingestellt sein mag, ob auf der Höhe der Verdauung der Labgehalt ein grösserer ist, um mit dem Nachlass der Magenthätigkeit allmählich abzunehmen. Hier-

1) Grützner, Pflüger's Archiv Bd. 16 S. 105. 1878.

2) Boas, vgl. S. 147 dieser Arbeit. Ueber das Labferment u. s. w. S. 258.

über müssen specielle Versuche entscheiden. Das Labferment findet sich aber innerhalb des Magens nicht allein während der Verdauung, sondern auch im Zustande der Nüchternheit.

Neben dem Labferment kommt aber auch, wie mit Sicherheit nachgewiesen werden konnte, von Beginn bis zum Ende der Verdauung das Labzymogen vor, d. h. (S. 260 der citirten Arbeit) nicht sämmtliches Labzymogen erfährt während dieser Zeit die Umwandlung in Labferment. —

Die Methode, nach der ich bei den gleich zu beschreibenden Versuchen vorging, ist S. 144 beschrieben. Ich versuchte zunächst den Gehalt der Schleimhaut an Lab und Prolab zu bestimmen.

Es wurde bei allen Versuchen darauf gesehen, dass möglichst gleiche Versuchsthiere zur Vergleichung kamen.

Was die Herstellung der Extracte betrifft, so wurde weder in allen Versuchen die gleiche Schleimhautmenge zur Extraction verwendet, noch wurden die Glycerinextracte und Säureextracte einer und derselben Schleimhaut aus gleichen Mengen getrockneter Schleimhaut bereitet. Dagegen wurden natürlich die Glycerinextracte der Magenschleimhaut von Hunger- und Fressthier gleichmässig bereitet, d. h. gleiche Schleimhautmengen mit gleich viel Extractionsflüssigkeit gleich lange Zeit extrahirt. Ebenso gleichmässig war die Herstellung von Säureextracten. Dieselben waren meist keine Schleimhautextracte, sondern durch Verdünnung des Glycerinextracts mit 0,1% HCl zu gleichen Theilen hergestellt.

Als ein wesentliches Ergebniss folgender Versuche möchte ich vorausschicken, dass der Gehalt der Magenschleimhaut an Labenzym ein sehr schwacher ist. Auch die Labmagenschleimhaut des Kalbs enthält unverhältnissmässig wenig Enzym gegenüber dem umwandelbaren Zymogen. Versuch 2 zeigt, dass das umwandelbare Zymogen in diesem Falle ungefähr das 30fache des schon fertigen Enzyms in der Schleimhaut ausmacht. Bei Thieren mit viel schwächerem Labgehalt der Magenschleimhaut, wie Ratten, Katzen, Hunden, ist der Enzymgehalt oft ein so schwacher, dass er sich überhaupt nur mit Mühe feststellen lässt.

Es wurden meist 1—2 ccm des Glycerinextracts zu 10 ccm Milch gesetzt. Eine Gerinnung ist meist erst nach mehreren, gar nicht selten erst nach 6—7 Stunden zu beobachten.

Werden 0,5 ccm desselben Glycerinextracts mit 0,5 ccm Säure gemischt und einige Stunden stehen gelassen und nun 0,5 ccm der

Mischung zu 10 ccm Milch gesetzt, wie es in den folgenden Versuchen gewöhnlich geschah, so tritt meist die Gerinnung ungefähr 10 Mal rascher ein, als bei Zusatz der 4—8fachen Menge des Glycerinextracts. Es ergäbe sich also, dass der Gehalt der Magenschleimhaut an umwandelbarem Zymogen ungefähr 40, ja 80 Mal grösser wäre als der Gehalt an wirksamem Enzym, dass also der Enzymgehalt der Magenschleimhaut gegenüber ihrem Zymogengehalt ein äusserst unbedeutender ist.

A) Versuche über den Ferment- und Vorfermentgehalt der Magenschleimhaut beim hungernden und verdauenden Thiere.

Die Versuche wurden mit Ratten, Hunden und Katzen in oben beschriebener Art angestellt. Die ersteren eignen sich wegen ihres kleinen Magens und demzufolge recht schwachen Labgehalts ihrer Schleimhäute wenig zu derartigen Versuchen.

Versuch 45.

2 Ratten hungern 24 Stunden. Die eine wird getödtet, die andere bekommt Milch und Brod und wird 2 Stunden nach der Nahrungsaufnahme getödtet. Die Magenschleimhäute beider Thiere werden getrocknet, zerschnitten und gleiche Gewichtstheile mit Glycerin extrahirt. Aus den Glycerinextracten werden Säureextracte hergestellt.

		Gerinnung nach
A) Glycerinextract	1) Hungerthier	2 Stunden 15 Minuten
	2) Fressthier	8 Stunden
B) Säureextract	1) Hungerthier	2 Stunden
	2) Fressthier	2 Stunden 4 Minuten

Ergebniss:

Enzymgehalt der Magenschleimhaut grösser beim Hungerthier. (Siehe A.)

Zymogengehalt grösser beim Fressthier, da die Gerinnungsbeschleunigung durch Säurezusatz zum Glycerinextract eine viel grössere ist beim Fressthier als beim Hungerthier.

Gehalt an Zymogen und Enzym etwas grösser beim Hungerthier. (Siehe B.)

Versuch 46.

Zwei junge, männliche Hunde, 10—12 Wochen alt, aus einem Wurf, hungern 20 Stunden. Hierauf wird der eine getödtet, der andere bekommt Milch und Fleisch zu fressen und wird 1¼ Stunden nach der Mahlzeit getödtet. Magen

des ersteren vollständig leer, der des letzteren prall gefüllt. Extraction und Untersuchung wie sonst:

		Gerinnung nach
A) Glycerinextract	1) Hungerhund	48 Minuten
	2) Fresshund	57 "
B) Säureextract	1) Hungerhund	24 $\frac{1}{2}$ "
	2) Fresshund	30 "

Ergebniss:

Enzymgehalt der Magenschleimhaut grösser beim Hungerhund.

Zymogengehalt: Da die durch Säurezusatz erzielte Gerinnungsbeschleunigung bei Hunger- und Fressthier eine nahezu gleichmässige ist, so ist in diesem Versuch ein Unterschied zwischen dem Zymogengehalt der Magenschleimhaut von Hunger- und Fressthier nicht gut festzustellen. Das Fressthier enthielt wohl etwas mehr an Zymogen.

Gehalt an Zymogen und Enzym grösser beim Hungerhund.

Versuch 47.

Zwei nicht ganz ausgewachsene Katzen hungern 48 Stunden. Hiernach wird die eine getödtet, die andere bekommt Wurst und Milch und wird 2 $\frac{1}{2}$ Stunden nach der Mahlzeit getödtet. Alles Uebrige wie sonst.

		Gerinnung nach
A) Glycerinextract	1) Hungerkatze	7 $\frac{1}{2}$ Stunden
	2) Fresskatze	6 $\frac{1}{2}$ "
B) Säureextract	1) Hungerkatze	2 $\frac{1}{2}$ "
	2) Fresskatze	16 Minuten

Ergebniss:

Enzymgehalt grösser beim Fressthier.

Zymogengehalt viel grösser beim Fressthier.

Enzym- und Zymogengehalt ebenso.

Versuch 48.

Zwei Katzen, halb gewachsen, gleich gross, aus einem Wurf, hungern 27 Stunden. Die eine wird getödtet, die andere frisst Brod und Milch und wird 3 $\frac{3}{4}$ Stunden nach dem Fressen getödtet. Das Uebrige wie sonst.

		Gerinnung nach
A) Glycerinextract	1) Hungerthier	2 Stunden
	2) Fressthier	Nicht innerhalb 6 Stunden
B) Säureextract	1) Hungerthier	7 Minuten
	2) Fressthier	30 "

Ergebniss:

Enzymgehalt grösser beim Hungerthier; beim Fressthier ist kein oder nur sehr wenig Enzym nachzuweisen.

Zymogengehalt wohl grösser beim Hungerthier.

Enzym- und Zymogengehalt grösser beim Hungerthier.

Versuch 49.

Zwei Katzen hungern 24 Stunden. Hierauf wird die eine getödtet, die andere frisst Fleisch und Milch und wird 4 Stunden nach dem Fressen getödtet. Das Uebrige wie sonst.

		Gerinnung nach
A) Glycerinextract	1) Hungerthier	5 Stunden
	2) Fressthier	ungefähr 7 Stunden
B) Säureextract	1) Hungerthier	15 Minuten
	2) Fressthier	34 „

Ergebniss:

Enzymgehalt der Magenschleimhaut grösser beim Hungerthier.

Zymogengehalt grösser beim Hungerthier, da die Gerinnungsbeschleunigung durch Säurezusatz eine verhältnissmässig grössere ist beim Hungerthier als beim Fressthier.

Enzym- und Zymogengehalt grösser beim Hungerthier.

Wenn wir die Ergebnisse dieser Versuche zusammenfassen, so müssen wir zunächst Versuch 47 besonders betrachten. Während in allen andern Versuchen die Hungerzeit um 24 Stunden herum betrug, dauerte sie hier 48 Stunden. Dies hat zur Folge, dass das Hungerthier in jeder Beziehung im Labgehalt seiner Magenschleimhaut hinter dem verdauenden Thiere zurückbleibt.

Bei Betrachtung der übrigen Versuche ergibt sich Folgendes als Ergebniss:

Der Gehalt der Magenschleimhaut an Enzym ist beim hungernden und verdauenden Thiere sehr gering.

Die Magenschleimhaut des hungernden Thiers enthält mehr Enzym als die des verdauenden.

Der Gehalt der Magenschleimhaut an Zymogen ist beträchtlich, einerlei, ob sich die Schleimhaut im Hunger- oder Verdauungszustand befindet.

Ob der Zymogengehalt beim hungernden oder fressenden Thiere grösser ist, lässt sich aus diesen Versuchen noch nicht mit Sicherheit

entscheiden. Bei Katzen scheint nach mässigem Hunger der Zymogengehalt grösser zu sein, als in der Verdauung.

Der Gehalt an Zymogen und Enzym ist grösser beim Hungerthier.

Diese Versuche, welche ich übrigens keineswegs als abgeschlossen ansehe, stehen mit denjenigen Grützner's¹⁾ in sofern im Einklang, als auch Grützner aus den Magenschleimhäuten hungernder Thiere (Hunde, Katzen) mehr Ferment (beziehungsweise Vorferment) extrahiren konnte, als aus denjenigen, die in voller Verdauung getödtet wurden. Erstere Extracte verdauten energischer und liessen die Milch schneller gerinnen.

B) Labferment und Labzymogengehalt der verdauenden Magenschleimhaut in den verschiedenen Verdauungsstadien.

Versuch 50.

Drei junge Katzen, halbgewachsen, hungern 24 Stunden, bekommen dann Fleisch und Milch zu fressen. Katze 1 wird 2 Stunden, Katze 2 wird 4 Stunden, Katze 3 endlich wird 8 Stunden nach der Mahlzeit getödtet.

Alle 3 Magen sind gut gefüllt, Nr. 3 am wenigsten. In Magen Nr. 3 ist der Inhalt ein gleichmässiger Brei.

		Gerinnung erfolgt
A) Glycerinextract	1) 2-Stundenthier	innerhalb 12 Stunden nicht
	2) 4-Stundenthier	ebenso
	3) 8-Stundenthier	nach 6 $\frac{1}{2}$ Stunden
B) Säureextract	1) 2-Stundenthier	10 Minuten
	2) 4-Stundenthier	36 "
	3) 8-Stundenthier	27 "

Ergebniss:

Enzymgehalt am grössten gegen den Schluss der Verdauung, aber immerhin sehr gering.

Zymogengehalt am grössten nach 2 Stunden der Verdauung, weniger gross nach 4 und 8 Stunden der Verdauung.

Gehalt an Zymogen und Enzym am grössten 2 Stunden nach Beginn der Nahrungsaufnahme, am kleinsten 4 Stunden nach Beginn der Nahrungsaufnahme, etwas grösser 8 Stunden nach Beginn der Nahrungsaufnahme.

1) l. c. S. 191.

Da ich über den Gehalt der Magenschleimhaut in verschiedenen Stadien der Verdauung nur diesen einen Versuch anführen kann, so soll sein Ergebniss natürlich nicht verallgemeinert werden.

C) Gehalt des Magensaftes zu verschiedenen Zeiten der Verdauung an Labenzym.

Durch die gütige Erlaubniss von Professor Dr. von Liebermeister und durch die Bemühungen seines Assistenzarztes Dr. Schmid wurde ich in die Lage versetzt, den Magensaft zweier Insassen der medicinischen Klinik zu verschiedenen Zeiten der Verdauung untersuchen zu können.

Versuch 51.

Fl., 18 Jahre alt, W., 40 Jahre alt, befinden sich beide in Behandlung wegen Ekzems. Beide besitzen vollkommen normale Magenfunction und haben nie an Störungen der Magenthätigkeit gelitten. Beide hungern 12 Stunden und bekommen dann eine Probemahlzeit, bestehend aus einer Semmel und einer Tasse Thee. Entnahme des Mageninhalts mittelst des Schlauchs bei jedem nach 1, 2, 5 und 6½ Stunden. Von den entnommenen und filtrirten Magensäften werden je 2 ccm mit 8 ccm H₂O verdünnt und von dem Gemisch 0,3 ccm : 10 ccm Milch gesetzt. Es wurde auf diese Weise die Wirkung der etwa in den einzelnen Untersuchungsflüssigkeiten sich in verschiedener Menge findenden Säure möglichst ausgeschlossen.

Fl.:

Nr.	Entnahme des Mageninhalts nach	Gerinnung nach	Bemerkungen über das Filtrat des Mageninhalts
1	1 Stunde	32 Minuten	Ganz schwach gallig gefärbt
2	2 Stunden	13 "	Vollständig klar, farblos
3	5 "	6½ "	ebenso
4	6½ "	2 Stunden 37 Minuten	Magensaft sehr stark gallig gefärbt.

Die auffallend geringe Wirksamkeit des Mageninhalts Nr. 4 ist wohl aus der das Ferment zerstörenden Wirksamkeit der Galle zu erklären.

W.:

Nr.	Entnahme des Mageninhalts nach	Gerinnung nach	Bemerkungen über das Filtrat des Mageninhalts
1	1 Stunde	17 Minuten	Klar, farblos
2	2 Stunden	6 "	ebenso
3	5 "	2½ "	ebenso
4	6½ "	8 "	Schwach gallig gefärbt.

Hiernach ist der Gehalt des Magensaftes an wirksamem Labferment in der ersten Stunde der Verdauung klein, steigt in der zweiten Stunde an, erreicht in der fünften Stunde sein Maximum und geht 6 $\frac{1}{2}$ Stunden nach der Verdauung wieder zurück. Wenn man diese Thatsachen verallgemeinern und den Labgehalt des Magensaftes mit seinem Pepsingehalt während des Ablaufs einer Verdauung vergleichen darf (wie letzterer von Grützner¹⁾ und Heidenhain²⁾ für den Hund festgestellt worden ist), so würde nur insofern eine Uebereinstimmung stattfinden, als beide Fermente etwa um die fünfte Stunde, d. h. gegen Ende der Verdauung am reichlichsten im Magensaft angetroffen werden. Der Pepsingehalt aber, welcher nach der Einführung der Nahrung sehr gross ist, sinkt sehr schnell; der Labgehalt hingegen steigt um diese Zeit an, um erst nach der fünften Stunde schneller als der Pepsingehalt abzufallen.

Weitere nach dieser Richtung hin anzustellende Untersuchungen, zu denen mir leider die Zeit und das Material fehlte, sind überaus wünschenswerth.

Zum Schluss ist es mir angenehme Pflicht, Herrn Professor Grützner meinen besten Dank auszusprechen für die vielfache Unterstützung durch Rath und That, die er mir bei Ausführung dieser Arbeit zu Theil werden liess.

1) Grützner, Neue Untersuchungen u. s. w.

2) Heidenhain, Pflüger's Archiv Bd. 19 S. 159, 1878 und Hermann's Handbuch Bd. 51 S. 156, 1883.