(Aus dem physiologischen Institut der Universität in Budapest.)

Ueber Gasentwicklung bei Pankreasverdauung.

Von

Ferd. Klug.

I.

Die Frage, ob Darmgase durch die Thätigkeit ungeformter Fermente entstehen, hat Hüfner¹⁾ im Jahre 1874, durch mit grosser Umsicht ausgeführte Versuche, in bejahendem Sinne beantwortet. Hüfner untersuchte die Fibrinverdauung mittelst Pankreas bei möglichstem Ausschluss von Pilzen und Bakterien. Anfangs wurde die unmittelbar dem Thiere entnommene, 1—2 Tage unter absolutem Alkohol aufbewahrte Drüse, mit einer vorher abgekochten und nachher wieder erkalteten Fibrinmasse in einem ziemlich complicirten Apparat in der Weise zusammen gebracht, dass keine der beiden Substanzen vorher mit anderer als mit durchgeglühter Luft in Berührung kam. Doch schon nach mehreren Versuchen zeigte sich, dass die frische Drüse selbst nicht zu gebrauchen war; das Innere derselben war inficirt, Fäulniss trat ein. Sobald aber an Stelle des frischen Pankreas das amorphe, aus Glycerinextract mit Alkohol gewonnene Fermentpulver angewandt wurde, gelang der Versuch. Die Dauer der Einwirkung betrug 3—6 Tage. Das Resultat war: Ausscheidung von Kohlensäure, keine Entwicklung brennbarer Gase, wie auch die Thatsache, dass während des Versuchs von irgend einer der in Lösung befindlichen Substanzen Sauerstoff chemisch gebunden wurde. Kohlensäureentwicklung trat auch dann ein, wenn selbst die geringe Menge Sauerstoffgas, welche mit der Fermentlösung in die Kolben gelangte, ausgepumpt worden war (Versuch 10). Dem mit Fibrin und Ferment gefüllten Kolben wurde jegliches noch restirendes Gas, also auch jeglicher noch auspumpbare, nicht chemisch gebundene Sauerstoff genommen, und doch bestand das am Ende des Versuchs

1) Journal für praktische Chemie Bd. 10 S. 1. 1874.

ausgepumpte Gas überwiegend aus Kohlensäure. Versuche zeigten auch, dass die Fermentlösung schon allein so fest Sauerstoff bindet, dass derselbe nicht wieder angepumpt werden kann. Hüfner vermuthet, „dass erst während der Berührung des Fibrins mit dem sauerstoffbeladenen Ferment, während der Reaction der beiden auf einander, Kohlensäure gebildet werde. Welches der Beiden, ob das Fibrinmolecul oder das des Ferments die Kohlensäure ausgibt, bleibt vor der Hand ungewiss.“

In einer zweiten Mittheilung¹⁾ theilt Hüfner Versuche mit, bei welchen Sauerstoff und Fibrin ohne Ferment auf einander wirkten und binnen drei Wochen aller Sauerstoff verschwand, dafür aber Kohlensäure auftrat und bei welchen sich auch zeigte, dass die Menge der am Ende des Versuches gebildeten Kohlensäure um so geringer wurde, je sorgfältiger und vollkommener alle vorhandene Luft aus dem Kolben entfernt worden war. Hüfner schliesst hieraus, dass die Kohlensäureentwicklung durchaus nicht mit der Thätigkeit des Ferments zusammenhängt, sondern vielmehr nur die Folge eines Oxydationsprocesses ist, der auch ohne Gegenwart des Ferments verläuft. Brennbare Gase traten selbst bei möglichstem Ausschluss von Sauerstoff nicht auf. Hüfner vermuthet, dass am Ende doch nur lebendige mikroskopische Organismen das Auftreten brennbarer Gase während der Verdauung veranlassen. Bei Versuchen mit Fibrin in einem Infus von faulendem Käse entwickelte sich in der That Wasserstoffgas, welches jedoch ebenso von den Eiweisssubstanzen wie auch von dem Fette des Käses herrühren konnte.

Auch Kunkel²⁾ hat die bei künstlicher Pankreasverdauung auftretenden Gase untersucht und unter denselben Kohlensäure, Wasserstoff, Schwefelhydrogen, Nitrogen und Methan gefunden, von welchen Schwefelhydrogen und Methan erst gegen das Ende des 9—10 Stunden anhaltenden Versuches auftraten. Wenn man diese Ergebnisse mit jenen von Hüfner vergleicht und weiss, dass Kunkel mit der Drüse in toto verdaute, demnach Fäulniss nicht vermeiden konnte, so wird man geneigt, die Entwicklung der Gase dieser letzteren zuzuschreiben.

Wassilieff³⁾ hat bei Verdauung von Fibrin in Pankreasextract,

1) Journal für praktische Chemie Bd. 11 S. 43. 1875.

2) Verhandlungen der physikalisch-medicinischen Gesellschaft in Würzburg N. F. Bd. 8 S. 134. 1875.

3) Zeitschrift für physiologische Chemie Bd. 6 S. 112. 1881.

welchem Kalomel in solcher Menge (1 %) beigegeben war, dass derselbe erwiesener Maassen antiseptisch und aseptisch wirkte, geringere Entwicklung von Kohlensäure beobachtet, als in solchem Pankreas-extract, der kein Kalomel enthielt; niemals aber fand sich Wasserstoff oder Schwefelwasserstoff vor.

Neuere Angaben über Bildung von Gasen bei Ausschluss der Fäulniss sind mir nicht bekannt, und da die von Hüfner beobachtete Bildung der Kohlensäure sich als Oxydationsproduct erwiesen und dasselbe bei den Versuchen von Wassilieff auch nicht ausgeschlossen war — denn dieser letztere Forscher gab die Verdauungsflüssigkeit in einen Gasometer mit Luft und umschüttelte den Gasometer während der Verdauung auch häufig —, so steht heute der Satz wohl noch unangefochten da, dass Enzymwirkungen bei der Verdauung keine Gase entwickeln. Speciell wird die bei der Verdauung im Darm frei werdende Kohlensäure, theils von Blut, theils von der Eiweissfäulniss, von der Milch- und Buttersäuregährung der Kohlenhydrate, theils von dem Freiwerden aus dem Alkalikarbonat des Pankreas- und des Darmsaftes, bei deren Neutralisation durch die Salzsäure des Magensaftes, und die bei der Gährung entstehenden organischen Säuren¹⁾ abgeleitet. Dem gegenüber beweisen meine in Folgendem mitzutheilenden Erfahrungen, dass Gase und speciell auch die Kohlensäure als Producte einer Enzymwirkung entstehen.

II.

Wenn man von Blut und anhängenden Geweben möglichst gereinigte frische Pankreas fein haschirt der Digestion aussetzt, indem man zugleich die Fäulniss durch Zugabe von Thymol ausschliesst, so kann man oft Gasentwicklung beobachten. — Als ich zu anderem Zweck 10 Stück, 2750 g wiegender Rinderpankreas, mit 1000 ccm destillirtem Wasser und 27 g pulverisirtem Thymol, bei 38—40° C. in einem 7 Liter fassenden Cylindergefäss, 20 Stunden lang der Verdauung aussetzte, so fand sich der Inhalt stark verdaut und über der Flüssigkeit die Pankreasreste in schäumendem Zustande; ja ein Theil derselben war ausgeflossen und bedeckte die Aussenwand des Gefässes, wie auch den Boden des Thermostats. Bei einem anderen Versuch entwickelten 300 g Pankreas, 150 ccm Wasser und 3 g

1) O. Hammarsten, Lehrbuch der physiologischen Chemie 3. Aufl. S. 279. 1895. — Arthur Gangae, Die physiol. Chemie der Verdauung S. 482. 1897.

Thymol 0,1659 g Kohlensäure. Bei mit anderen Drüsen, so mit Magenschleimhaut, in ganz ähnlicher Weise gemachten Verdauungsversuchen fiel mir nie Gasentwicklung auf, und andere Autoren, welche Thymol als Desinficiens benützen, machen ebenfalls keine Erwähnung davon, als hätten sie Gasentwicklung beobachtet. Die Gasentwicklung muss also hier eine ganz spezifische Erscheinung sein.

Eine 0,1 %ige Thymollösung soll hinreichen, um die alkoholische, sowie die milchsäure Gährung aufzuheben (Lewin); das von mir der Verdauungsmasse beigemischte Thymol überstieg bei Weitem diese Menge. Wohl löst sich Thymol nur schwer in kaltem Wasser, doch geht von demselben in der Verdauungstemperatur etwas mehr in Lösung über. Auf jeden Fall enthielt die Masse genug Thymol gelöst, um die Fäulniss zu hemmen, wie dies aus der Erfahrung folgt, nach welcher, selbst wenn man Pankreas und Thymol 3 Wochen lang und darüber in der obigen Weise digerirt oder den verdauten und abfiltrirten Pankreasextract ähnlich lange stehen lässt, keine Fäulniss eintritt und das gelöste Trypsin hierbei seine verdauende Wirkung beibehält. Es schien also der Mühe werth, diese zufällig beobachtete Gasentwicklung bei Pankreasverdauung mit Thymol näher zu untersuchen, um so mehr, als ich unter Umständen auch mit dem abfiltrirten, künstlichen Pankreassaft Gasentwicklung erhalten konnte. — Da sowohl die bekannten Versuche von Hüfner und von Wassilieff, wie auch meine Beobachtungen vorzüglich auf Kohlensäureentwicklung deuteten, so trachtete ich vor Allem, diese eingehender zu untersuchen.

III.

Als Versuchsobject diente Rinderpankreas. Dasselbe wurde am Morgen aus dem Schlachthause geholt, dann gewöhnlich bis gegen Mittag dem Wasserstrahl ausgesetzt, hierauf von Bindegewebe, Fett, Blutgefässen gereinigt und mittelst Fleischmühle zermahlen. Nun wurde der Drüsenbrei entweder direct zum Versuch angewandt oder aus demselben, durch 20 Stunden anhaltende Digestion, ein Extract bereitet, welcher, am kühlen Orte aufbewahrt, als künstlicher Pankreassaft ebenfalls zur Verdauung diente.

Das Verdauungsgefäss war eine, nach Art der Spritzflaschen adjustirte, luftdicht verschliessbare Flasche, in welche das Pankreas oder der Extract mit der zu verdauenden Substanz gegeben wurde. Das längere, in die Flüssigkeit tauchende Glasrohr des Gefässes diente

zum Einführen von reiner Luft. Die Luft wurde nämlich vorerst, um kohlenstofffrei zu sein, durch zwei Kalilauge und ein Baryumhydroxydlösung enthaltendes Gefäß geleitet und gelangte so in die Verdauungsflasche. Das kurze Gasrohr, das zur Ableitung der Gase diente, wurde mit zwei nach einander folgenden Pettenkofer'schen Röhren, welche mit titrierter Barytlösung angefüllt waren, verbunden. Ein Aspirator besorgte das mässige Durchstreichen der Luft. Einige in solcher Weise mit Pankreas, künstlichem Pankreasextract, Pankreas-siccum und Trypsin gemachte Versuche sind aus der folgenden Tabelle (Tab. I) zu ersehen.

Tabelle I.

Datum	Nummer der Versuche	Anordnung der Versuche	Kohlen-säure in g	Bemerkungen
1897				
24. März	1	300 g Pankreas, 150 ccm Wasser, 3 g Thymol	0,1659	
29. "	2	300 g Pankreas, 150 ccm Wasser, 3 g Thymol, 10 ccm Mandelöl	0,275	
7. April	3	300 g Pankreas, 150 ccm Wasser, 3 g Thymol, 10 ccm Oel	0,155	
8. "	4	200 ccm Pankreasextract, 10 ccm Oel	0,259	Dieses Pankreasextract wurde am 7. April aus 1260 g Pankreas, 630 ccm Wasser und 18 g Thymol gewonnen.
11. "	5	200 ccm Pankreasextract	0,058	Dieser Pankreasextract wurde am 10. April aus 1230 g Pankreas, 600 ccm Wasser und 18 g Thymol gewonnen.
		200 ccm desselben Extractes, 20 ccm Oel	0,159	Derselbe.
		200 ccm desselben Extractes, 20 g gekochte Stärke	0,025	Derselbe.
12. "	6	200 ccm desselben Extractes, 20 ccm Oel	0,239	Derselbe.
13. "	7	200 ccm desselben Extractes	0,025	Derselbe.

Datum	Nummer der Versuche	Anordnung der Versuche	Kohlen- säure in g	Bemerkungen
21. April	8	200ccmPankreasextract, 4 g Fibrin	0,038	Dieser Pankreasextract wurde am 20. April aus 1650 g Pankreas, 1650 ccm Wasser mit 32 g Thymol bereitet. Verdaut Eiweiss gut.
		200ccmPankreasextract, 10 ccm Oel	0,078	
27. "	9	45 g Pankreas siccum, 405 ccm Wasser, 3 g Thymol	0	Pankreas siccum selbst wurde hierbei gut verdaut.
		45 g Pankreas siccum, 405 ccm Wasser, 3 g Thymol, 10 ccm Oel	0,012	
29. "	10	200 ccm Trypsinlösung, 2 g Thymol, 10 ccm Oel	0	Die Trypsinlösung ent- hielt 2% Trypsin und verdaute Eiweiss sehr gut.
		200 ccm Trypsinlösung, 2 g Thymol, 4 g Fi- brin (gekocht)	0	

Aus diesen Versuchen folgt, dass während der Selbstverdauung des Pankreas Kohlensäure frei wird (Vers. 1—3), wie auch, dass mit künstlichem Pankreassaft während der Verdauung Kohlensäure gewonnen werden kann, wenn man zu demselben Oel gibt (Vers. 5, 6). Während ein Pankreasextract für sich 0,058 g Kohlensäure lieferte, gaben andere 200 ccm desselben Extracts, welchen Oel beigegeben worden war, 0,159—0,239 g Kohlensäure. Aus Stärke entwickelte sich bei der Verdauung gar keine, aus Fibrin (Vers. 8) ebenfalls keine oder doch nur sehr wenig Kohlensäure. Die letztere, wenn sich eine solche überhaupt bildete, kann von dem wenigen im Fibrin enthaltenen Fett stammen. Dies folgt daraus, dass bei der Verdauung von Fibrin mit Trypsin (Vers. 10) keine Kohlensäure frei wird. Bei einem Vergleich der Versuche 4—7 mit den mit 8 bezeichneten ist es sehr auffallend, dass bei den Letzteren überhaupt eine ungemein schwache Gasentwicklung stattfand. Es scheint demnach nicht ein jedes Pankreas die Fähigkeit zu besitzen, aus Fett-Kohlensäure frei

zu machen; dies wird durch an anderer Stelle mitzutheilende Versuchsergebnisse noch bestätigt werden. Auch der Pankreasextract, welcher frisch, sowie am 1.—2. Tag, bei der Verdauung noch Gas liefert, verliert diese Fähigkeit, sobald derselbe eine entschieden saure Reaction gewinnt. Bei der Selbstverdauung von Pankreas siccum erhielt ich keine Kohlensäure und auch nach der Zugabe von Oel (Vers. 9) waren nur Spuren von Kohlensäure zu gewinnen. Hier ist also jenes Enzym, welches Kohlensäure frei macht, nicht oder doch nur in ungemein geringer Menge vorhanden. Verdauungsversuche mit Trypsin und Oel bewiesen, dass jenes bei der Entwicklung von Kohlensäure nicht mit betheilig ist.

Diese Versuche deuten demnach darauf hin, dass die Kohlensäure, welche bei der Selbstverdauung von Pankreas frei wird, dem in derselben enthaltenen Fett entstammt, und erwecken den Verdacht, dass diese Erscheinung die Folge einer Enzymwirkung auf Fett ist.

IV.

Die Frage betreffend, ob es sich hier um eine Bildung der Kohlensäure durch Oxydation oder um eine Abspaltung derselben handelt, ist seit Abelous und Biarne¹⁾ bekannt, dass das Pankreas der oxydirenden Thätigkeit entbehrt. Andererseits erhielt Hugo Schulze²⁾ aus Fetten nur bei einer Temperatur über 100° C. Kohlensäure durch Oxydation und schliesst, dass nur Fermente dem Sauerstoff die Möglichkeit gewähren, das Fett zu oxydiren, während nach Otto Frank³⁾ die Salze der höheren Fettsäuren schon bei gewöhnlicher Temperatur, unter Einwirkung des Sauerstoffs der Luft, eine Zersetzung, eine oxydative Spaltung erleiden. Ich machte daher auch mit Ausschluss des Oxygens Versuche, indem ich vorerst, anstatt Luft, reines Hydrogen durch die Verdauungsflüssigkeit leitete.

Das Hydrogen wurde durch Einwirkung von Zink auf Schwefelsäure gewonnen, musste aber, um in das Verdauungsgefäss zu gelangen, ebenso wie in den vorangegangenen Versuchen die Luft, Kalilauge und Barytwasser enthaltende Gefässe durchstreichen. Alle diese, der Apparat zum Entwickeln des Hydrogens, wie auch die

1) Archiv de physiol. normal et path. S. 198. 1895.

2) Dieses Archiv Bd. 18 S. 398—404.

3) Archiv für Physiologie S. 51. 1894.

Reinigungsgefäße und das Verdauungsgefäß selbst waren unter einander und mit den Pettenkofer'schen Absorptionsröhren nur durch Glasröhren, ohne eingeschaltete Kautschukröhren, verbunden und ausserdem noch in ausgekochtes Wasser gestellt; der Zutritt von Luft war also ganz unmöglich gemacht. Auch gebrauchte ich als Desinficiens ausser Thymol noch Sublimat. Ich fand nämlich, dass Versuche mit thymolisirtem Pankreasextract und Oel nicht immer von jeder Fäulniss frei sind, und glaube, dies daher ableiten zu müssen, dass Oele Thymol leicht lösen, demnach auch Thymol aus dem Pankreasextract aufnehmen, dem zu Folge dieser zu wenig desinficirt bleibt. Sublimat erwies sich überhaupt als ein sehr gutes Desinficiens bei der Verdauung und hemmte die Gasentwicklung nicht. So entwickelte sich in einem Gefäß, in welchem 3335 g Pankreas, 1660 ccm Wasser und 5 g Sublimat der Verdauung angesetzt waren, 3,7 g Kohlensäure.

Eine Sublimatlösung von 1:5000 soll bereits ein ganz sicheres Desinfectionsmittel sein. Ja, ein Theil Sublimat auf 20 000—30 000 ccm Wasser vernichtet mit Sicherheit zur Untersuchung genommene Mikroorganismen, sporenfreie wie sporenhältige Bacillen und Coccen (R. Koch)¹⁾. P. Zweifel²⁾ jedoch fand das Blut in einer 0,2 ‰ Sublimatlösung nach vielen Wochen ganz verändert, voller Mikroccoccen und Stäbchenbakterien, wie auch sehr schlecht riechend. Eiweissartige Substanzen binden das Sublimat unter Bildung von HgO-Albuminat, welch letzteres schlechter als Carbolsäure desinficirt (Mikulicz). Allein diese Bildung von HgO-Albuminat verläuft langsam und stört die Verdauung nicht durch Fäulniss, wenigstens nicht in den ersten zwei Tagen, während welcher ich niemals Fäulniss beobachtete. Doch darf man nicht weniger als 1 ‰ Sublimat nehmen; übrigens geht die Verdauung auch bei einem Sublimatgehalt von 2 ‰ gut vor sich. Bei 1:2000 Sublimat fand ich am Schluss einer 24 stündigen Digestion bereits Spuren von Fäulniss vor. Wie günstig und eben nicht störend Sublimat auch der Eiweissverdauung ist, beweist der folgende Versuch. 15 g Pankreas, 200 ccm Wasser und 0,2 g Sublimat wurden 24 Stunden lang im Thermostat der Verdauung ausgesetzt und dann die Flüssigkeit abfiltrirt. Im Filtrat entsprach die

1) W. Bernatzki und A. E. Vogl, Lehrbuch der Arzneimittellehre S. 138 u. 449. 1891.

2) Zeitschrift für physiologische Chemie Bd. 6 S. 420. 1881.

Menge des gelösten Albumins, mit dem Spectrophotometer untersucht, dem Extinctionscoefficienten 1,62408. In 30 ccm dieses Filtrats wurden 15 g Fibrin der Verdauung 20 Stunden lang ausgesetzt. Der nachher von Neuem abfiltrirten Flüssigkeit entsprach der Extinctionscoefficient von 7,00560¹⁾. Von faulem Geruch, Schwefelhydrogen war absolut keine Spur zu entdecken. Es lässt sich übrigens, wie bekannt, die Bildung von HgO-Albuminat durch Zusatz von Kochsalz, dessen Menge wenigstens das Zehnfache des Quecksilberchlorids beträgt, verhindern²⁾. Ich machte auch mit 0,1% Sublimat und 1,0% Kochsalz etliche Versuche, fand aber bei denselben die Verdauung weniger gut, auch erfolgte nach einigen Tagen, bei Zugabe von Oel, trotz Kochsalz, Zersetzung des Sublimats.

Dass 1‰ Sublimat in der That gut desinficirt, beweisen noch Versuche, die ich mit Speicheldrüsen, rohem Fleisch, sowie auch mit gekochter Pankreasdrüse gemacht, und bei welchen consequenter Maassen keine Gasentwicklung zu beobachten war. Ebenso erhielt ich ganz frische Pankreasdrüsen, mittelst welchen weder bei Desinfeirung mit Sublimat noch mit Thymol während der Digestion Gasentwicklung stattfand, während dieselbe mit anderen Pankreasdrüsen eintraf. Es unterliegt unter solchen Umständen keinem Zweifel, dass Sublimat bei der Verdauung als Desinficiens gut zu brauchen ist.

Die Resultate, welche ich unter dem Einflusse von Hydrogengas erhalten habe, zeigt die folgende Tabelle (Tab. II S. 338).

Diese Versuche bezeugen, dass es sich hier nicht um Oxydation, sondern um Abspaltung von Kohlensäure handelt. — Versuche mit Glycerin ergaben nicht mehr Kohlensäure als solche, bei welchen dem Pankreasextract gar nichts beigegeben worden war. Es kann also die Kohlensäure nicht vom Glycerin stammen. Am wenigsten Kohlensäure lieferte das Extract nach Zugabe von 2% Essigsäure. In solcher Menge zerstört die Essigsäure das Enzym vollkommen. Eben weil Säuren das hier wirksame Enzym rasch zerstören, lässt sich auch mit Sublimat anstatt Thymol ein solcher

1) Wenn R. Pfeleiderer (Dieses Archiv Bd. 66 S. 613) an den vielen Decimalstellen der mit Spectrophotometer erhaltenen Ergebnisse Anstoss findet, so kann ich dafür, dass die Zahlen der Logarithmentafeln 5—7 Decimalstellen haben, eben so wenig, wie ich auch daran keine Schuld trage, dass diesem Autor die spectrophotometrische Methode zu umständlich ist.

2) Bernatzki und Vogl a. a. O.

Tabelle II.

Datum	Nummer des Versuchs	Anordnung der Versuche	Kohlen- säure in g	Bemerkungen
13. Mai	1	200 ccm Pankreasextract	0,109	Dieser Extract wurde am 12. Mai aus 2860 g Pankreas, 2860 ccm Wasser und 29 g Thymol ge- wonnen.
		200 ccm Pankreasextract, 20 g Glycerin	0,0994	
14. "	2	200 ccm Pankreasextract, 4 ccm Acid. aceticum	0,0421	Derselbe Extract.
		200 ccm Pankreasextract, 4 ccm Fibrin, gekocht	0,0897	
15. "	3	200 ccm Pankreasextract, 20 ccm Mandelöl	0,4305	Derselbe Extract.
31. "	4	200 ccm Pankreasextract, 10 g Oel, 0,6 g Thymol	0,217	Extract aus 2750 g Pankreas, 1400 ccm Was- ser, 28 g Thymol.
		200 ccm Pankreasextract, 10 g Stearin, 0,6 g Thymol	0,024	
10. "	5	150 g Pankreas, 150 ccm Wasser, 0,3 HgCl ₂	0,304	

Extract der Drüse höchst schwer gewinnen, welcher mit Fett der Digestion ausgesetzt, Kohlensäure frei machen könnte, denn die Verdauungsflüssigkeit, die man aus der Pankreasdrüse mit Sublimat nach 24 stündiger Verdauung gewinnt, reagirt, wenn Spaltung von Fetten stattfand, bereits so stark sauer, dass das Fettzzym seine Wirkung mehr oder weniger verloren hat; Versuche mit Sublimat als Desinficiens gelingen also besser, wenn die Drüse in Substanz, wie bei Versuch 5, benutzt wird. Aus Tabelle II, Versuch 4, kann man auch ersehen, dass Verdauungsversuche mit Stearin ganz erfolglos sind. Ich habe probeweise, ausser mit Oel, auch mit frisch zerlassener Butter Versuche gemacht und erhielt in einem Fall circa 0,338 g Kohlensäure. Aus dem folgt, dass nur Fette, die in der

Verdauungstemperatur flüssig werden, bei der Pankreasverdauung Kohlensäure liefern.

V.

Wenn, wie die Versuche zeigen, bei der Spaltung von Fetten Kohlensäure entwickelt wird, so ist es nicht unmöglich, dass auch andere Gase, etwa Hydrogen, frei werden. Um hierüber Aufklärung zu erhalten, führte ich den obigen ähnliche Verdauungsversuche mit Glassgefäßen aus, welche jenen ähnlich waren, die man zur Cultur anaerober Bakterien verwendet. Die Gefäße waren mit Glashähnen versehen und konnten mit der Quecksilberluftpumpe ausgepumpt werden. Das Pankreas oder der künstliche Pankreassaft wurden also in das Gefäß gegeben, dann die Luft ausgepumpt und so das Gefäß in den Thermostaten gestellt. Nach der Verdauung wurde das über der Flüssigkeit befindliche Gas durch Quecksilber in ein Eudiometer getrieben und die Analyse nach der Bunsen'schen Methode durchgeführt.

Die meisten meiner Versuche habe ich eben auf diese Weise gemacht und konnte vor Allem constatiren, dass die Gasentwicklung hierbei bedeutend geringer ausfiel als in den vorangegangenen Versuchen. Ursache dieser Erscheinung ist der Umstand, dass in den vorangegangenen Versuchen die Luft, bezüglich das Hydrogen fortwährend durch die Flüssigkeit gesogen wurden, demnach dieselbe in beständiger Bewegung erhielten, wie auch das gebildete Gas entfernt worden war; die Ruhe und der Umstand, dass Verdauungsproducte der Verdauung selbst hinderlich sind, mässigten die Gasentwicklung bei den nun mitzutheilenden Versuchen bedeutend. Ansonst waren die Versuche ebenfalls mit Pankreas und Pankreasextract gemacht, welches letzterer mit Thymol oder Sublimat enthaltendem Wasser durch Selbstverdauung, wie auch mit Glycerin, nach der Methode von Grützner¹⁾ gewonnen wurde. Die letztere bestand darin, dass 100 g Pankreas mit 900 ccm Glycerin und 100 ccm 1 % Na_2CO_3 -Lösung der Extraction ausgesetzt wurden und das Filtrat als Glycerin-extract zur Verdauung diente. Ein Versuch mit 1 % Fluornatrium und Pankreas, sowie mit mittelst Fluornatriumlösung dargestellten

1) Dieses Archiv Bd. 12 S. 303.

Pankreasextract blieb resultatlos; es konnte weder Fettverdauung constatirt werden, noch trat Gasentwicklung auf. Auch Sublimat + 1% Kochsalz erwiesen sich der Fettverdauung ungünstig, wohl trat etwas Verdauung und Gasentwicklung auf, doch alles dies in bedeutend geringerem Maasse, als wenn Sublimat für sich allein angewandt wurde. Die Salze scheinen also, wenigstens bei 1% und mehr Gehalt, der Fettverdauung nachtheilig zu sein.

Ich setzte auch Oel allein 5 Tage lang in luftleerem Raume der Verdauungstemperatur aus, ferner hielt ich 10 g Oel mit 200 ccm 1% Thymol enthaltendem Wasser, dann mit solchem, das 1% Sublimat, wie auch 1% Sublimat und 1% Kochsalz enthielt, 20 Stunden lang im Thermostat, ohne die geringste Gasentwicklung constatiren zu können. Ebenso trat keine Gasentwicklung auf, wenn anstatt Pankreas Fleisch oder Speicheldrüsen, ob mit Oel oder nicht, zur Digestion verwendet wurden. Wie bei den früheren Versuchen, so kam es auch hier vor, dass ich Pankreas erhielt oder Extract aus Pankreas bereitete, welche bei der Verdauung gar kein Gas entwickelten, während wieder andere Pankreas, bei genau derselben Behandlung, Gas erzeugten.

Nach den Erfahrungen, die man bei der Trypsinverdauung machte, glaubte ich, dies hänge von der Zeit ab, die seit dem Tode des Thieres bis dahin verstrichen ist, bis das Pankreas der Verdauung ausgesetzt worden war. Bestätigt wurde diese Voraussetzung durch die Ergebnisse der Versuche 13—15 der Tabelle III, in welchen mit der frischen Pankreas 2,08, mit jener aber, welche über Nacht an kühlem Ort aufbewahrt gewesen, 8,86 ccm Kohlensäure erhalten werden konnte. Andererseits aber zeigte sich, dass, wenn ein Pankreas, das noch warm in das Institut gelangte und sogleich zur Verdauung benützt wurde, kein Gas entwickelt, so erzeugt der Rest des Pankreas ebenfalls kein Gas, wenn derselbe auch vorerst 12—18 Stunden lang am kühlen Orte, wo keine Fäulniss eintrat, aufbewahrt worden war. Ebenso trat in dem thymolisirten Extract eines solchen Pankreas, selbst dann, wenn dasselbe 1—2 Tage lang an der Luft freistand und nachher mit Fett der Verdauung ausgesetzt wurde, keine Gasentwicklung auf, wie sich auch die neutrale Reaction des Extracts nicht merklich änderte. Wenn sich also das Enzym zu der Zeit, als das Thier getödtet wurde, im Pankreas nicht vorfand, so tritt dasselbe im Pankreas oder dessen Extract auch nicht mehr auf. Am

sichersten erhielt ich bei der Verdauung Gasentwicklung, wenn ich nicht 1 höchstens 2 Pankreas, sondern viele (5—10 Stück) auf einmal in Verwendung nahm, wohl, weil unter soviel Pankreas stets eine oder mehrere vorkamen, die das Enzym enthielten. Aehnlich trifft man ja auch das Trypsin nicht in einem jeden Pankreasextract oder Pankreassekret an, und in den Pankreasextracten, die ich aus Pankreasen an Pneumonie oder Typhus gestorbener Personen gewonnen, fehlte ebenfalls jede Eiweissverdauung, während, im Falle die betreffenden Personen sonst gesund gewesen und eines plötzlichen Todes starben, die gewonnenen Extracte vorzüglich Eiweiss verdauten.

Ich machte mit Pankreas auch einen solchen Versuch, bei welchem ich die eine Hälfte des zermahlenen Pankreas zur Verdauung benützte, während die andere Hälfte desselben, auf einer Glasplatte ausgebreitet, an warmem Ort dem langsamen Eintrocknen, bezüglich der Selbstverdauung ausgesetzt worden war. Die frisch benützte Pankreashälfte lieferte bei der Fettverdauung Gas, während jene, die 24 Stunden lang auf der Glasplatte gelegen, sowie das Extract der letzteren, ohne jede Wirkung war.

Alle diese Thatsachen bestätigen die Annahme, dass es in der Pankreas ein Enzym giebt, welches Fette in der Weise spaltet, dass dabei Gase frei werden. Diese Gase können unmöglich von Fäulniss herrühren, denn dann müssten ja dieselben in jedem Falle vorkommen und bei der Verdauung mit Pankreas, welches vor der Verwendung ohne Desinfectionsmittel, längere Zeit sogar, an warmem Ort gelegen, gewiss nicht fehlen. Auch lehren die angeführten Befunde, dass dieses Enzym nicht in jedem Pankreas enthalten ist, nicht nach dem Tode, als post mortale Erscheinung, in der Drüse auftritt. Ferner geht das Enzym leicht zu Grunde, besonders leicht dann, wenn das Pankreas oder der Extract sauer werden.

Die folgende Tabelle (Tab. III S. 342) enthält eine Uebersicht der Resultate von Analysen solcher Gase, welche bei der Verdauung im luftverdünnten, bezüglich luftleeren Raume, gewonnen wurden. Die Gasmengen sind auf 0° C. und 760 mm Quecksilberdruck reducirt.

Das auffallendste Ergebniss der in dieser Tabelle verzeichneten Versuche ist die Gegenwart von Hydrogen bei einem grossen Theil derselben, wobei ausdrücklich hervorzuheben ist, dass Methan absolut nicht, auch nicht in Spuren, zu constatiren war.

Tabelle III.

Nummer der Versuche	Anordnung der Versuche	Unter- suchte Gasmenge ccm	CO ₂ ccm	H ₂ ccm	Verhältniss zwischen		Bemerkungen
					CO ₂ %	H ₂ %	
1	200 ccm Pankreas- extract, 10 ccm Oel	18,88	14,47	3,86	78,95	21,05	Pankreasextract m. Thymol erzeugt. Im ganzen nicht viel Gas.
2	"	20,7	15,22	4,07	78,91	21,09	Derselbe.
3	"	5,23	3,76	1,44	72,31	27,7	Derselbe.
4	"	26,33	15,30	10,64	59,01	40,99	Frischer Pankreas- extract mit Thymol gewonnen. Viel Gas.
5	"	19,44	4,06	4,582	46,88	53,12	Derselbe. Viel Luft gerieth in das Ver- dauungsgefäß.
6	200 ccm Pankreas- extract, 10 g Butter	25,35	12,2	12,4	49,56	50,44	Derselbe. Die But- ter wurde zerlassen benutzt.
7	200 ccm Glycerin- extract, 10 ccm Oel	15,1	2,20	0	—	—	Glycerinextract n. Grützner. Extraction dauerte einen Tag.
8	"	4,99	3,188	0	—	—	Derselbe. Extrac- tion dauerte 2 Tage.
9	"	8,25	0,307	0	—	—	Derselbe. Extrac- tion dauerte 3 Tage.
10	100 g Pankreas, 100 ccm Wasser, 0,2 g HgCl ₂ , 10 ccm Oel	22,36	9,98	9,88	50,26	46,74	Frishes Pankreas.
11	150 g Pankreas, 150 ccm Wasser, 0,3 g HgCl ₂	36,19	19,47	17,05	53,32	46,68	Frishes Pankreas.
12	100 g Pankreas, 100 ccm Wasser, 0,2 g HgCl ₂ , 10g Schwein- efett	18,3	3,211	3,54	47,56	52,44	Frishes Pankreas. Viel Luft gerieth in das Verdauungsge- fäß.
13	100 g Pankreas, 100 ccm Wasser, 2 g Thymol	14,59	2,00	0	—	—	Noch warm aus dem Schlachthaus ge- holtes Pankreas.
14	100 g Pankreas, 100 g Wasser, 2 g Thymol	21,36	8,86	0	—	—	Dasselbe über Nacht an kühlem Ort aufbewahrt.
15	100 g Pankreas, 100 g Wasser, 0,2 g HgCl ₂ , 2,0 g NaCl	4,619	2,648	0	—	—	Das letztere Pan- kreas.

Die Versuche 1—3 wurden mit ein und demselben Pankreas-extract durchgeführt und bei denselben im Ganzen nicht viel Gas gefunden; bedeutend reicher war die Gasentwicklung in den Versuchen 4—6, zu welchen ein anderer Pankreasextract diente. Ausser Oel wurde zum Extract in einem Versuche ausgelassene Butter gegeben; ein wesentlicher Unterschied war aber bei der Gasentwicklung nicht zu beobachten.

Mit aus frischer Pankreas, nach Grützner mit Glycerin gewonnenem Extract, machte ich die Versuche 7—9, bei welchen 200 ccm Extract auf je 10 ccm Oel einwirkte. In allen drei Versuchen konnte ich nach 20 stündiger Verdauung wohl Kohlensäure, doch kein Hydrogen nachweisen. Die Gasentwicklung war überhaupt gering, und am dritten Tage konnte selbst Kohlensäure nur in höchst geringer Menge erhalten werden. Das Enzym befand sich also am zweiten Tage am reichlichsten im Extract und war am dritten Tage bereits zum grössten Theil aus demselben verschwunden.

Unter den Versuchen, welche ich mit Drüsensubstanz und Sublimat gemacht (Tab. III, Vers. 10—12), befindet sich auch ein solcher, bei welchem Schweinefett (Schmalz) der Verdauung ausgesetzt worden war (Vers. 12). Das Mengenverhältniss von Kohlensäure und Hydrogen weicht hier kaum merklich von jenem ab, dass ich bei der Verdauung der Butter in thymolisirtem Pankreasextract (Vers. 6) fand, indem in beiden Fällen ziemlich gleiche Mengen beider Gase vorhanden waren.

Bei einigen Versuchen gelangte während der Verdauung Luft in das Gefäss, weil die Glashähne schlecht schlossen, so besonders in den Versuchen 5, 7, 9, 12—15, doch änderte dieser Umstand nicht merklich den Verlauf der Gasentwicklung, da wir Kohlensäure und Hydrogen in dem während der Verdauung frei gewordenen Gas sowohl bei Gegenwart von Luft, also Oxygen (Vers. 5, 12), wie auch bei nahezu totalem Mangel des letzteren (Vers. 1—4, 6, 10) vorfinden.

Das Mengenverhältniss zwischen Kohlensäure und Hydrogen ist sehr verschieden und entspricht dem bei der Buttersäuregährung nicht ($3 \text{ CO}_2 : 4 \text{ H}_2$). Wie sich der Vorgang hier überhaupt von dem bei der Buttersäuregährung auch darin wesentlich unterscheidet, dass, während die letztere bei Gegenwart des Sauerstoffs stillsteht, die Fettspaltung zu Folge des Pankreasenzym bei Gegenwart des Sauerstoffs nur so vor sich geht wie bei Mangel desselben. Die Art der Fettspaltung lässt sich aus den Resultaten der Tabelle III nicht

erschliessen, da das Verhältniss der Kohlensäure zum Hydrogen kein constantes ist. Bei mässiger Gasentwicklung (Vers. 1—3) enthielt das producirt Gas verhältnissmässig viel mehr Kohlensäure als Hydrogen, während bei starker Gasentwicklung deren Mengen nahe gleich waren. Doch auch in den letzteren Fällen war bald etwas mehr Kohlensäure (Vers. 4, 10, 11), bald mehr Hydrogen (Vers. 5, 6, 12) vorhanden. Schliesslich fehlte in Versuchen, bei welchen die Gasentwicklung eine sehr geringe war, das Hydrogen ganz (Vers. 7—9, 13—15). Es muss also das Hydrogen, während es frei wird, auch wieder chemisch gebunden werden, und die Menge des auf diese Weise verschwindenden Wasserstoffs muss relativ zur gebildeten Kohlensäure grösser sein bei geringer als bei starker Gasentwicklung. Vielleicht dass ungesättigte Fettsäuren, oder andere organische Verbindungen, eventuell das relativ zu anderen Enzymen sehr bald verschwindende Enzym selbst, das Hydrogen in statu nascenti binden. Um in diesen Vorgang eine genauere Einsicht zu gewinnen, wäre es nöthig, das Enzym isolirt zur Verdauung zu benützen. Allein dies stösst vor der Hand auf unüberwindliche Schwierigkeiten, da das Enzym sehr vergänglich ist und aus der Lösung nicht nur beim Ansäuern derselben (Tab. II, Vers. 2), sondern auch sonst binnen wenigen Tagen verschwindet.

Da das Glycerin mit dem Enzym keine Gase liefert, so dürften es die Säureradiale sein, die, während das Fett zerfällt, so weit gespalten werden, dass hierbei Kohlensäure und Hydrogen frei werden. Freilich geschieht dies nur so lange, bis die Säuren nicht in solcher Menge in der Verdauungsflüssigkeit auftreten, dass hierdurch die Enzymwirkung selbst gehemmt wird.

Den Veränderungen, welche die Nährstoffe bei der Verdauung erleiden, sind auch jene Veränderungen gleich, welche dieselben in der Hitze durchmachen. So werden Eiweisse in überhitztem Wasserdampf ebenfalls zu Albuminosen und Peptonen, und diese zerfallen schliesslich in die gewöhnlichen Amidosäuren. Stärke wird durch Behandlung mit siedendem Wasser oder durch Kochen in verdünnten Mineralsäuren zu Dextrin und Zucker umgeändert, und von der Ameisensäure ist ebenso bekannt, dass dieselbe, auf 160° erhitzt, in Kohlensäure und Hydrogen zerfällt, während die höheren, bei gewöhnlicher Temperatur festen Fettsäuren sich bei der Destillation oder im überhitzten Wasserdampfe ebenfalls zersetzen; vielleicht ist die Wirkung des Fettzyms diesem letzteren gleich. Auf jeden

Fall lässt sich aus den mitgetheilten Versuchen mit grosser Wahrscheinlichkeit schliessen, dass auch die Verdauung der Fette nicht allein in der Spaltung zu Fettsäure und Glycerin und in der Bildung von Seifen besteht, sondern dass dieselbe ein viel weiter reichender Vorgang ist, bei welchem als Endproducte schliesslich auch Kohlensäure und Hydrogen entstehen. Die Erscheinung erinnert an die Wirkung des Trypsins auf Eiweiss, deren primäre Producte Albuminosen und Peptone sind, die aber bei anhaltender Einwirkung theilweise weiter in Leucin, Tyrosin und Glutaminsäure zerfallen. Wie Eiweisse, so werden auch Fette bei der Verdauung weiter gespalten, als dies der Verwerthung derselben im Organismus dienlich erscheint.