Die Energieumwandlungen im Muskel.

I. Über die Beziehungen der Milchsäure zur Wärmebildung und Arbeitsleistung des Muskels in der Anaerobiose.

Von

Otto Meyerhof.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Kiel.)

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 15. März 1920.)

Die folgenden Untersuchungen wurden mit Unterstützung der Jagorstiftung (Berlin) ausgeführt, der auch an dieser Stelle mein bester Dank für die gewährte Hilfe ausgesprochen sei.

Inhaltsangabe:

Einleitung.

I. Kapitel. Über das Milchsäuremaximum.

1. Methodisches (S. 234).
2. Das Milchsäuremaximum bei der Chloroformstarre (S. 242).
3. Das Milchsäuremaximum bei Ermüdung (S. 245):
 - a) Tetanus.
 - b) Einzelreize.
 - c) Unvollständige Ermüdung.
 - d) Einfluß der Temperatur.
 - e) Einfluß der Jahreszeit.
 - f) Isometrisches und isotonisches Maximum.
4. Milchsäurebildung in der Ruheanaerobiose (S. 256).

II. Kapitel. Vergleich von Wärme und Milchsäurebildung unter anaeroben Bedingungen (S. 257).

1. Methodisches (S. 257).
2. Chloroformstarre (S. 260).
3. Wärmebildung bei elektrischer Reizung des Muskels (S. 263).
4. Ruhe-Anaerobioseversuche (S. 268).

III. Milchsäurebildung und isometrische Leistung (S. 274).

1. Methodisches (S. 276).
2. Milieuversuche (S. 279).
3. Temperaturversuche (S. 280).

Einleitung.

Daß ein Verständnis für die Energieumwandlungen im arbeitenden Muskel nicht allein aus der physikalischen Analyse der Muskelarbeit gewonnen werden kann, wie sie die klassische Physiologie seit Helmholtz vorwiegend betrieb, sondern daneben die Kenntnis der chemischen

Vorgänge und ihrer Zuordnung zu den thermischen und mechanischen Äußerungen der Muskeltätigkeit unerläßlich ist, diese Wahrheit ist im Laufe des letzten Dezenniums immer mehr zum Allgemeingut der Erforscher des „Muskelproblems“ geworden. Seit Fletcher und Hopkins¹⁾ in ihrer klassischen Untersuchung über die Milchsäurebildung im arbeitenden Muskel das Augenmerk der Forschung auf die gesetzmäßigen Beziehungen gelenkt haben, die zwischen den mechanischen Vorgängen Arbeit, Ermüdung, Starre, Erholung einerseits, dem Auftreten und Verschwinden der Milchsäure andererseits bestehen, sind eine Reihe vortrefflicher Arbeiten erschienen, die viel Licht in diese Verhältnisse gebracht, manche Rätsel gelöst und manche neue aufgegeben haben. Es sei nur an die Wärmemessungen Hills und seiner Mitarbeiter, an die Untersuchungen der Embdenschen Schule über die Milchsäurevorstufe, an die Studien v. Fürths über die Totenstarre, an die Arbeiten von Weizsäcker, Parnas, Verzár erinnert. Da in jüngster Zeit einige umfangreiche Referate erschienen sind, die den Gegenstand nach dem neuesten Stand der Forschung erschöpfend behandeln, kann ich mich im folgenden darauf beziehen. Es sind dies die Referate von Verzár²⁾ „Über den Gaswechsel des Muskels,“ von A. V. Hill³⁾ „Über die Beziehungen zwischen der Wärmebildung und den im Muskel stattfindenden chemischen Prozessen“, sowie von A. v. Fürth⁴⁾ „Die Kolloidchemie des Muskels und ihre Beziehung zu den Problemen der Kontraktion und der Starre“.

Im Zentrum unserer Betrachtungen über den Arbeitschemismus des Muskels steht die Milchsäure. Ob diese, wie es wahrscheinlich ist, direkt oder auf indirektem Wege den Kontraktionsvorgang hervorruft, ist dafür gleichgültig, aber daß sie mit ihm in engster Beziehung steht, ist außer Zweifel. Diese Verbindung wird durch das folgende noch enger erscheinen als bisher. Auftreten und Verschwinden der Milchsäure sowie ihr weiteres chemisches Schicksal, die Verknüpfung dieser Vorgänge mit dem Sauerstoffverbrauch und der Wärmebildung im Muskel, endlich der Vergleich der Milchsäurebildung mit den mechanischen Äußerungen der Muskeltätigkeit ist der Gegenstand dieser und der folgenden Arbeiten.

In dieser ersten Arbeit berichte ich nur über die Vorgänge in der Arbeitsphase des Muskels, während in der folgenden die Erholungsphase untersucht wird; in einer späteren soll dann dem weiteren Schicksal der Milchsäure nachgegangen werden.

¹⁾ Journ. of physiol. **35**, 247. 1906—07.

²⁾ Asher-Spiro, Ergebnisse der Physiologie **15**, 1. 1916.

³⁾ Ebenda. S. 340; diese Arbeit ist leider durch Übersetzungsfehler, Vertauschen von Tabellen und Figuren bis zur Unverständlichkeit entstellt.

⁴⁾ Asher-Spiro, Ergebnisse der Physiologie **17**, 363. 1919.

I. Kapitel. Über das Milchsäuremaximum.

1. Methodisches.

Die Untersuchungen von Fletcher und Hopkins müssen zweifellos der Ausgangspunkt aller Methodik von Milchsäurebestimmungen sein. Sie haben wohl abschließend alle Fehler vermeiden gelehrt, die durch Neubildung oder Schwund von Milchsäure durch fehlerhafte Behandlung der Muskeln entstehen, und einen Weg angegeben, der zu quantitativen Messungen brauchbar ist.

Aber eine andere Frage ist, ob die von ihnen gewonnenen Zahlen nicht nur unter sich gut vergleichbar, sondern auch absolut richtig sind, insbesondere ob nach fünfmaliger Ausschüttlung einer angesäuerten wässrigen Lösung mit Äther (von dreifachem Volumen) die Extraktion der Säure als quantitativ beendet angesehen werden kann. Sie selber haben daran gezweifelt, aber doch nicht, soweit ich sehe, die genaue Größe dieses Fehlers ermittelt und ihre Zahlen auch nicht auf Verluste korrigiert.

Der erste Verlust könnte schon dadurch veranlaßt werden, daß in dem in Alkohol ausgedrückten und ausgewaschenen Muskel ein Teil der Milchsäure an den Rückstand gebunden zurückbleibt. v. Fürth hat diesen Verdacht kürzlich generell für alle bisherigen Milchsäurebestimmungen ausgesprochen¹⁾, da nach Mondschein beim Auskochen des Muskels etwa $\frac{1}{3}$ der Säure an Muskeleiweiß gebunden bleiben und erst durch Verflüssigen des Muskelrückstandes in Alkali in Freiheit gesetzt werden²⁾. Es ist indes von vornherein unwahrscheinlich, daß ein in Alkohol entwässerter zerriebener Muskel ein ähnliches Bindungsvermögen besitzt. Ich habe mich von den möglichen Verlusten dadurch überzeugt, daß ich den Rückstand von 60 g Froschmuskel, der zu einem Versuch von Chloroformstarre gedient hatte, mit einem Milchsäuregehalt von 0,55% (vgl. Versuch 8, Tabelle VII) nach Mondschein in 2proz. Natronlauge gelöst habe. Die Flüssigkeit wurde mit Ammonsulfat und Natriumchlorid im Überschuß versetzt, durch Glaswolle filtriert, mit Schwefelsäure überneutralisiert und ein abgemessenes Volumen mit Amylalkohol extrahiert. In etwa $\frac{1}{15}$ der gesamten Menge befand sich 1,1 mg Milchsäure. In der ganzen Menge also etwa 16 mg. Da im ganzen in der Muskulatur 365 mg Milchsäure bestimmt wurde, entspricht dies etwa 4% des Milchsäuregehalts, wobei es jedoch möglich ist, daß ein Teil erst durch Spaltung ausgelaugter Kohlehydrate in Alkali entstanden ist. Der Verlust der Milchsäure im Muskelrückstand beträgt also nur höchstens etwa 4% des gesamten Gehaltes.

Es ergibt sich kein größerer Verlust, wenn man eine bestimmte Menge milchsäuren Lithiums zu zerriebener Muskulatur von bekanntem Milchsäuregehalt hinzusetzt und dieses Gemisch wie üblich verarbeitet. Z. B. zwei Schenkel von zusammen 7,9 g von nach Vorschrift getötetem Frosch, ungereizt, wurden getrennt auf Milchsäure verarbeitet. Der eine Schenkel, 3,95 g, gab 0,85 ccm n/100 Jod (korrigiert) = 0,38 mg Milchsäure = 0,010%, zu dem anderen Schenkel wurde 5 ccm n/100 Lithiumlactat hinzugesetzt, und dieser dann ebenfalls verarbeitet. Es ergab sich 10,4 ccm n/100 Jod (korrigiert), nach Abzug des Ruhegehalts 0,85 ccm also 9,55 ccm, statt theoretisch 10 ccm. Es fehlen also auch hier etwa 4%. Im übrigen fällt die Differenz in die Fehlerbreite der Milchsäurebestimmung im Muskel³⁾.

¹⁾ Asher - Spiro a. a. O. S. 386.

²⁾ Biochem. Zeitschr. **42**, 105. 1912.

³⁾ Obige Kontrollversuche wurden erst angestellt, als die Arbeit weit vorgeschritten war. Es wurde daher unterlassen, die hier ermittelten 4% Verlust bei der Korrektur (s. das folgende) zu berücksichtigen und alle Bestimmungen daraufhin umzurechnen. Es wäre jedoch richtiger gewesen, unter Berücksichtigung dieses Milchsäureverlustes statt des im folgenden ermittelten Faktors von 1,19 den Faktor 1,24 zu benutzen, was für genaue Verwertung der erhaltenen Durchschnittszahlen dieser und der folgenden Arbeit zu beachten ist.

Die alkoholische Lösung der Milchsäure wird von Fletcher und Hopkins völlig zur Trockne eingedampft, dann mit Wasser aufgenommen, nochmals zur Trockne eingedampft, und nach Abdestillieren des Äthers findet ein drittes Eindampfen statt. Dazu machen sie die Bemerkung, daß dadurch kleine Mengen flüchtiger Säuren entfernt werden, während nur unmeßbar geringe Verluste an Milchsäure auftreten. Ich habe in zahlreichen Fällen die Beobachtung gemacht und auch in Kontrollbestimmungen mit milchsaurem Lithium bestätigt gefunden, daß man wohl vorsichtig auf dem Wasserbad die mit etwas Wasser versetzte alkoholische oder ätherische Lösung knapp zur Trockne eindampfen darf; sobald man aber den Rückstand vollständig eintrocknet und auch nur kurze Zeit auf dem kochenden Wasserbad erhitzt, treten schon Verluste an Milchsäure ein, die bei sehr kleinen Milchsäuremengen prozentual recht groß sein können. Ja bei längerem derartigen Erhitzen kann man, wenn man es mit wenigen Milligramm Milchsäure zu tun hat, die Hälfte zum Verschwinden bringen. Dieser Punkt muß jedenfalls sorgfältig beachtet werden. Trotzdem kam bei dem wechselnden Gasdruck der Sperrzeiten in meinen Versuchen wiederholt das Versehen vor, daß das Eindampfen zu lange fortgesetzt wurde und es mindestens unsicher blieb, ob dadurch Verluste hervorgerufen wurden. In wenigen solchen Fällen, wo keine Doppelbestimmungen mehr ausgeführt werden konnten, habe ich, falls der Fehler nur unbeträchtlich sein konnte, die Bestimmung verwertet, aber ebenso wie andere Versuche mit Verlusten geringen Umfangs mit einem Stern versehen (*). Diese Zahlen sind also um einen nicht genau angebbaren Betrag (etwa 5—15%) zu klein.

Das größte Bedenken hinsichtlich quantitativer Vollständigkeit muß sich gegen die Extraktionsmethode der englischen Autoren richten. Sie haben die wässrige Lösung mit $\frac{1}{4}$ Volumen stark konzentrierter Phosphorsäure angesäuert, aber im übrigen nicht mit Salz gesättigt. Nach den Bestimmungen von Ohlsson¹⁾ ist der Teilungskoeffizient von freier Milchsäure zwischen Äther und Wasser gleich 0,1 und wird durch Mineralsäuren nur wenig geändert, wohl aber durch Sättigung mit Ammonsulfat, wo er 0,3 beträgt. Läßt man nun den Teilungskoeffizienten durch die starke Phosphorsäure sich auf 0,2 verändern, so ergibt sich, daß beim fünffachen Ausschütteln mit dem dreifachen Volumen Äther die Teilungszahlen für die wässrige Lösung 62,5; 39; 24; 15; 9,4 sind; mithin bleiben, wenn sonst ohne jeglichen Verlust gearbeitet wird, etwa 10% zurück. Schüttelt man dagegen nach Parnas²⁾ zehnmal mit dem gleichen Volumen Äther unter Sättigung mit Ammonsulfat, so berechnet sich der Extraktionsverlust theoretisch (jedesmal absolutes Gleichgewicht vorausgesetzt) nur zu 2%.

Nachdem ich jedoch auch bei zehnfachem Ausschütteln mit Äther stets Extraktionsverluste von gegen 10% erhielt, ging ich zu der von Ohlsson angegebenen Methode der Extraktion mit Amylalkohol über (Teilungskoeffizient Amylalkohol: Ammonsulfat gesättigtes Wasser = 1,3), die ich, abgesehen von besonderen Vergleichsversuchen, für alle Experimente dieser Arbeit verwandt habe. Hiermit kann man bei gleichem Zeitaufwand, fünffachem Ausschütteln der sauren Lösung mit Amylalkohol und fünffachem Ausschütteln des Amylalkohols mit Soda und einer Reihe weiterer Manipulationen, die nicht mehr Zeit beanspruchen als die Verarbeitung des Ätherrückstandes, tatsächlich eine vollständige Extraktion erzielen und zu Werten gelangen, die sich auch bei sehr geringen Mengen Milchsäure von den Kontrollbestimmungen ohne Extraktion kaum unterscheiden.

Gegenüber der von den englischen Autoren befolgten Methode der Wägung der Milchsäure als wasserfreies Zinklactat hat sich inzwischen die Milchsäure-

¹⁾ Skandinav. Arch. f. Physiol. **33**, 231. 1916.

²⁾ Zentralbl. f. Physiol. **30**, 1. 1915.

bestimmung von Fürth und Charnass dank ihrer größeren Bequemlichkeit und Feinheit allgemein eingebürgert und kommt für die Bestimmung weniger Milligramm Milchsäure allein in Betracht. Parnas hat hierfür ein Mikroverfahren im Anschluß an Embden¹⁾ ausgearbeitet, das ich übernommen habe. Nur habe ich zur Zersetzung nicht $n/1000$ Kaliumpermanganat, sondern, falls es sich um etwas größere Mengen Milchsäure handelte (4—20 mg) $n/200$, wenn Mengen unter 4 mg zu erwarten waren, $n/400$ benutzt. Weitere Verdünnungen ergaben mir keine genaueren Resultate. Es erwies sich als notwendig, die Vorratsflasche von Bisulfit ($n/100$) gegen Luftkohlensäure zu schützen und die Flüssigkeit aus einer mit Natronkalkrohr versehenen Bürette in die Vorlage abzufüllen. Ohne diese Vorsichtsmaßregel band die Lösung nach längerem Stehen an der kohlen säurehaltigen Luft den Aldehyd nicht mehr quantitativ. Zur Titration diente $n/100$ -Jodlösung. Diese wurde eingestellt mit Natriumthiosulfat, welches wiederholt mit Kaliumpermanganat titriert wurde; Einstellung des Kaliumpermanganat mit Natriumoxalat (1 ccm $n/100$ Jod = 0,45 mg Milchsäure).

Sowohl vor Beginn der systematischen Versuche wie auch häufig zwischen denselben wurden Kontrollbestimmungen mit Kahlbaumschem Lithiumlactat gemacht. Die Präparate wurden vor Benutzung bei 105° getrocknet. Es wurden jeweilig bestimmt die Werte, die bei unmittelbarer Verarbeitung einer $n/50$ - oder $n/100$ -Lösung des milchsauren Salzes erhalten wurden, ferner nach Ausschüttelung mit Amylalkohol bzw. Äther und schließlich solche, die sich ergaben, wenn die Lösung des Lithiumlactats alle Prozeduren durchgemacht hatte, die der Muskelauszug bei seiner Verarbeitung erfährt: Verreiben mit Sand in Alkohol, Ausdrücken in Gaze, Filtration durch Papier, Eindampfen usw. Theoretisch erwies es sich als möglich, verlustlos zu arbeiten. Das Fürth-Charnasssche Verfahren selbst arbeitet bekanntlich nicht quantitativ. Bei der von mir benutzten Modifikation und den in Betracht kommenden Milchsäuremengen entgehen 4—10%, im Durchschnitt 7%, der Bestimmung. (Vgl. Tabelle I.) Indes

Tabelle I.

Direkte Milchsäurebestimmungen nach Fürth-Charnass (Milchsaures Lithium).

Nr.	Datum 1919—1920	Benutzte Menge	ccm Jod	Titer $n/100$ J	Auf 1 ccm $n/10$ Milchsäure	
					$n/100$ J verbr.	Defizit %
1	28. I.	5 cm $n/50$	18,75	0,985	18,45	8
2	28. I.	5 cm $n/50$	18,6	0,985	18,35	8
3	1. II.	5 cm $n/50$	18,25	0,985	18,0	10
4	1. II.	5 cm $n/50$	19,05	0,985	18,75	6
5	3. III.	5 cm $n/25$	37,1	0,985	18,3	8,5
6	6. X.	5 cm $n/50$	18,9	1,00	18,9	5,5
7	31. X.	2 cm $n/52^2)$	7,2	1,00	18,9	5,5
8	16. XI.	4 cm $n/50$	15,4	1,00	19,25	4
9	29. I.	5 cm $n/100$	9,2	1,00	18,4	8
Durchschnitt					18,58	7,1

war ein solches verlustloses Verarbeiten der Muskelextrakte sehr zeitraubend; es mußte sehr häufig nachgespült, deshalb mehrmals größere Flüssigkeitsmengen eingedampft werden und man verbrauchte viel Amylalkohol. Ich befolgte vielmehr ein „Routineverfahren“, dessen Gesamtverlust in mehreren Bestimmungen sich übereinstimmend auf 8—10% ergab, was, zu dem Defizit der Fürth-

¹⁾ Abderhaldens Arbeitsmethoden V, 2, S. 1256.

²⁾ Freie Milchsäure.

schen Methode hinzuaddiert, ein Minus von 15—17% ergibt, so daß alle erhaltenen Werte mit dem Faktor 1,19 multipliziert werden mußten¹⁾.

Innerhalb der Arbeit änderte ich gelegentlich das Zusatzglied etwas, je nach der Genauigkeit, mit der verfahren wurde und gewissen Modifikationen, doch lag es bei normalen Versuchen stets zwischen 17 und 20%; die Differenzen sind also unwesentlich. Nur wenn irgendwo geringe Verluste vorkamen, besonders beim Eindampfen von milchsäurehaltiger Ringerlösung wurde mit einem Gesamtdefizit von 17—20% gerechnet, und mithin als Zusatzglied 20—25% zur Bestimmung addiert.

Außer im Muskel mußte für die Versuche des Kapitels II die Milchsäure in größeren Quantitäten Ringerscher Lösung bestimmt werden. Ich habe dann einen aliquoten Teil nach der Vorschrift Embdens für Blut verarbeitet²⁾: Zusatz von Sublimat und Salzsäure, Entfernung des Quecksilbers mit Schwefelwasserstoff. Ein Teil der von Schwefelwasserstoff befreiten, mit Natronlauge fast neutralisierten Lösung wurde im Vakuum bei 55° auf wenige Kubikzentimeter eingedampft, mit Ammonsulfat gesättigt und wie die Muskelextrakte mit Amylalkohol ausgeschüttelt. Bei reichlichem Milchsäuregehalt der Flüssigkeit konnte das Eindampfen im Vakuum unterbleiben. Es wurden dann 10 ccm direkt ausgeschüttelt. Die Verluste beim Eindampfen sind etwas höher als bei der Muskelverarbeitung, es wurden 20—22% als Zusatzglied addiert.

Über den Vergleich der Ergebnisse bei Amylalkohol- und Ätherextraktion geben die Tabellen II und III Aufschluß. Die Ätherextraktionen waren jeweils den entsprechenden Amylalkoholversuchen hinsichtlich Genauigkeit, Mengenverhältnissen vollständig analog. Es entsprechen sich also in Tabelle II Versuch 1 und 2 einerseits und 8, sowie Versuche 4—7 und 9 und ebenso sind die Extraktionen bei den Versuchen der Tabelle III genau übereinstimmend. Es wurde zehnmal mit der doppelten Menge Äther ausgeschüttelt.

Tabelle II.

Milchsäurebestimmung nach Extraktion mit Amylalkohol und Äther.

a) Amylalkohol.

Nr.	Datum 1919	Benutzte Menge	Behandlung	ccm Jod	Titer $\frac{n}{100} J$	Auf 1 ccm $\frac{n}{100}$: $\frac{n}{100} J$ verbr.	Gesamtdefizit % (Verluste % Aldehydbest.)
1	1. II.	5 cm $\frac{n}{50}$	direkt extrahiert	18,85	0,985	18,55	7
2	2. II.	3 cm $\frac{n}{50}$	" "	11,1	0,985	18,2	9
3	21. V.	5 cm $\frac{n}{50}$	Vollständ. Kontrolle m. vermehrt. Spülung	17,95	1,00	17,95	10
4	7. III.	5 cm $\frac{n}{25}$	Vollständ. Kontrolle „Routinemethode“	33,8	0,985	16,65	17
5	11. III.	3 cm $\frac{n}{25}$	"	20,4	0,985	16,75	16
6	21. V.	5 cm $\frac{n}{50}$	"	17,05	1,00	17,05	15
7	31. X.	5 cm $\frac{n}{52}$	"	16,0	1,00	16,65	17
Routinemethode.				Durchschnitt		16,8	16

b) Äther.

8	1. II.	5 cm $\frac{n}{50}$	direkt extrahiert	16,25	0,985	16,0	20
9	31. X.	5 cm $\frac{n}{52}$	Vollständ. Kontrolle entspricht „Routinemethode“	13,85	1,00	14,4	28

¹⁾ Vgl. Anm. 3 S. 234.

²⁾ Abderhaldens Arbeitsmethoden V. 2, S. 1254.

Tabelle III. Vergleich von Äther- und Amylalkoholextraktion in Muskelauszügen

Nr.	Datum 1919	Muskelbehandlung	% Milchsäure	ccm J in aliquotem Teil		Minus % in Äther
				Amylalkohol- extraktion	Äther- extrakt.	
1	11. X.	direkte tetan. R.	0,225	12,4	11,4	8
2	10. X.	indirekte Einzelreiz.	0,358	$\begin{cases} 24,0 \\ 24,3 \end{cases}$	21,9	9

Zu Vergleichszwecken und vor allem zum Entscheid der Frage, ob wirklich alle aldehydbildende Substanz der Extrakte auch Milchsäure ist, habe ich in einer Reihe von Versuchen die Milchsäure als wasserfreies Zinklactat bestimmt. Es wurde die mit überschüssigem Ammonsulfat und 2 ccm glasiger Phosphorsäure versetzte Lösung zehnmal mit annähernd der doppelten Menge Äther ausgeschüttelt (meist 20 ccm Äther bei 12 ccm Extrakt), der Äther unter Zusatz von 10 ccm Wasser abdestilliert, das zurückbleibende Wasser abgegossen, reichlich mit heißem Wasser nachgespült, filtriert und das Filtrat 2 Stunden erst auf dem Wasserbad, dann bei offener Flamme in einem Porzellanschälchen mit 0,5 g sehr gut gewaschenem Zinkcarbonat digeriert; nachher filtriert, in gewogenem Krystallisierschälchen eingedampft, bei 105° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet; darauf wieder gelöst und in einem aliquoten Teil die Milchsäure als Aldehyd bestimmt. Die Behandlung mit Bleicarbonat wurde unterlassen, da nicht die Gewichtsmenge Zinksalz, sondern die Aldehydausbeute als Maß der Milchsäuremenge benutzt wurde. Dies Verfahren, das dem der englischen Autoren nahe kam, wurde vor allem verwandt, um ihre Zahlen mit den meinigen bei ermüdetem und starrem Muskel zu vergleichen. In der Tat stimmten die Werte jetzt vollständig mit den ihrigen überein, waren dagegen um etwa 15% kleiner als die unkorrigierten, also 25% kleiner als die auf Verlust korrigierten Werte meiner eigenen Routinemethode. Gegenüber etwaigen Zweifeln, ob nun alle Aldehyd bildende Substanz tatsächlich Milchsäure sei, ist aber zu bemerken, daß bei Kontrollen mit milchsaurem Lithium sich ein gleiches Defizit von etwa 15% ergab und andererseits, daß wenn an die Ätherextraktion direkt eine Aldehydbestimmung angeschlossen wurde, ebenfalls ein Minus von gegen 10% auftrat. Der Hauptgrund der Differenz liegt also zweifellos an der Extraktionsmethode und den Verlusten der Verarbeitung in beiden Fällen. Trotzdem könnten ganz wenige Prozente bei der Aldehydbestimmung etwas anderes als Milchsäure sein; so fand Mondschein im totenstarren Muskel etwas β -Oxybuttersäure gleich 1% der anwesenden Milchsäure. Der Umstand, daß in meiner Arbeit derartige Spuren fremder Säuren als Milchsäure gerechnet werden, ist keinesfalls für irgendeine der in der Arbeit behandelten Fragen von Bedeutung.

Tabelle IV. Zinksalzdarstellung mit anschließender Aldehydbestimmung.

Nr.	Datum	Benutzte Menge	Behandlung	mg Zn- Lactat	Davon f. Alde- hydbest.	$\frac{n}{100}$ J korr. ¹⁾	Sa. mg Milchs.	Theor. mg Milchs.	Verlust %
1	31. X.	50 cm $\frac{n}{52}$ Milchsäure	direkt best.	123	1 : 10	18,95	85,3	86,4	1,1
2	1. XI.	5 cm $\frac{n}{5}$ Li-Lact.	Ätherextr. (direkt)	120,5	1 : 10	17,15	77	90	14,5
3	17. XI.	5 cm $\frac{n}{5}$ Li-Lact.	„	114,4	1 : 10	17,3	77,8	90	13,5

¹⁾ In dieser Tabelle ist der Jodverbrauch schon auf $\frac{n}{100}$ umgerechnet und um 8% vermehrt, so daß der Aldehydfehler herausfällt. Daher entspricht die letzte Spalte dem Milchsäureverlust der Methode.

Tabelle V. Vergleich von Zinksalzdarstellung mit Aldehydbestimmung und Amylalkoholextraktion an Muskelauszügen.

Nr.	Datum 1919–20	Muskelbehandlung	Milchs. %	ccm Jod in aliquotem Teil		Minus % Zinksalz
				Amylalko- holextrakt.	Zinksalz- + Aldehydbest.	
1	25. II.	indir. tetan. Reizung	0,15	18,1	16,1	11
2	1. XII.	indir. Einzelreizung	0,316	18,1	15,75	13
3	5. XI.	Chloroformstarre	0,552	13,85	10,8	22
4	12. XII.	Chloroformstarre	0,44	16,7	14,3	14,1

Durchschnitt 15,1

Es sei noch kurz Behandlung und Verarbeitung des Materials in der benutzten Routinemethode beschrieben, die mit leichten Modifikationen während der ganzen Untersuchung festgehalten wurde.

Die Frösche, falls irgend zu beschaffen, *Rana esculenta*, die im Keller kalt aufbewahrt und evtl. im Eisschrank vorgekühlt wurden, werden auf einem auf Eis stehenden Teller verarbeitet. Vor dem Ausbohren des Rückenmarks wird mit kräftigem Schnitt oberhalb des Beckens die Wirbelsäule durchtrennt, um Tötungsstreckkrämpfe zu vermeiden. Die Hinterschenkel werden dann zu dem betreffenden Versuch benutzt, meist erst nachher abgehäutet und gewogen; je nachdem, ob die Milchsäure im ganzen Schenkel oder nur im Gastrocnemius bestimmt werden sollte, wird etwas verschieden verfahren. Im letzten Fall — hierzu wurden mit wenigen Ausnahmen große Esculenten (aus Würzburg) mit Gastrocnemien von 0,8–1,5 g benutzt — wird der Gastrocnemius sorgfältig abpräpariert, für sich gewogen, in kleinem Wägegläschen vorgekühlt, aber nicht gefroren, schnell in eisgekühlten Alkohol (95%) geworfen und mit etwas Sand zerdrückt. Im anderen Fall werden die ganzen Schenkel erst in einem in Eis stehenden Glaszylinder vorgekühlt, auf eisgekühltem Teller die Muskeln abgeschnitten und sofort von einer Gehilfin in eisgekühltem Alkohol zerdrückt. Knochen und nichtverarbeitete Muskelreste werden zurückgewogen, nachträglich die Knochen sorgfältig abpräpariert. Der Abfall von Muskeln, der nicht mit auf Milchsäure verarbeitet ist, wurde für die Berechnung der für den Versuch, z. B. Wärmemessungen, benutzten Muskelmenge zum übrigen Gewicht hinzuaddiert. Die zerriebene Muskulatur blieb in Alkohol über Nacht stehen, wurde über Gaze abfiltriert, ausgedrückt, neu mit Alkohol begossen und dies dreimal wiederholt, schließlich wurde der Alkohol durch Papier filtriert. Handelte es sich dagegen um einzelne Gastrocnemien, so wurde gleich durch Papier filtriert, der Muskelrückstand dreimal mit Alkohol verrührt und jedesmal filtriert. Darauf wurde der Alkohol auf dem Wasserbade unter Zugabe eines Siedesteinchens weitgehend eingedampft, falls nötig etwas n/10-Salzsäure zur Neutralisierung zugesetzt. Die auf einige Kubikzentimeter eingedampfte alkoholische Lösung wurde jetzt entweder direkt in offener Schale fast zur Trockne eingedampft oder, falls nicht alles gleichzeitig verarbeitet werden sollte, in Meßkölbchen übergefüllt und weiterhin ein aliquoter Teil benutzt. In allen Wärmemessungen geschah stets das letztere. Einmal gestattete diese Einteilung der Gesamtmenge, stets mit derselben n/100-Titrationsflüssigkeit zu arbeiten und die zu bestimmende Milchsäuremenge in bequemen Grenzen unter 20 mg zu halten. Auf der anderen Seite erlaubte sie Doppelbestimmungen. Diese wurden bei allen wichtigen Versuchen ausgeführt. Es wurde nur so viel verwandt, daß Gelegenheit zu einer dritten Bestimmung blieb, falls sich eine größere Differenz zeigen sollte oder gelegentlich ein Versuch verunglückte.

Der in dem Porzellanschälchen fast zur Trockne eingedampfte Alkoholrückstand wird (nach Parnas) mit gesättigter Ammonsulfatlösung verrührt und

unter Druck durch ein kleines Asbestfilter in den zum Ausschütteln dienenden Meßzylinder filtriert. Ich benutzte zur Filtration einen kleinen mit Capillarrhahn versehenen, etwa 5 ccm fassenden Scheidetrichter, bei dem nur der Ansatz der Capillare bis zum Hahn mit Asbest gefüllt wurde und der oben mit einem Schlauch an die Sauerstoffbombe angeschlossen werden konnte. Das Filtrat ist fast immer wasserklar, manchmal schwach gelb. Unter dreimaligem Nachgeben von gesättigter Ammonsulfatlösung (je 2 ccm) wird der Milchsäureextrakt in mit eingeschliffenem Stopfen versehene Meßzylinder von 50 ccm übergefüllt, wobei darauf geachtet wurde, daß die Lösung im Zylinder nicht mehr als 10 ccm betrug. Die Lösung wurde mit $\frac{1}{10}$ ihres Volumens 50 proz. Schwefelsäure und festem Ammonsulfat versetzt und dann mit Amylalkohol von gut doppeltem Volumen der gesamten wässerigen Lösung, in der Regel 25 ccm. Dann $1\frac{1}{2}$ —2 Minuten geschüttelt, absetzen gelassen und darauf der Amylalkohol mit einer Pipette in eine Flasche von 50 ccm Fassungsvermögen pipettiert, in der sich 10 ccm 4 proz. Sodalösung befindet. Der Amylalkohol wird mit Soda ebenfalls $1\frac{1}{2}$ Minute geschüttelt, wobei die Milchsäure in die Sodalösung übergeht, absetzen gelassen, mit derselben Pipette der Amylalkohol in den Standzylinder zurückpipettiert, von neuem $1\frac{1}{2}$ Minute geschüttelt, wieder in die Flasche mit Sodalösung übertragen und derart mit demselben Amylalkohol fünfmal die saure Lösung und fünfmal die Sodalösung geschüttelt. Das Schütteln geschah meist mit der Hand, in den späteren Versuchen der Arbeit mit der Schüttelmaschine. Am Schluß wird in dem Sodafläschchen die völlige Klärung abgewartet, dann der Amylalkohol in eine Vorratsflasche zurückpipettiert. Um ihn zu neuen Versuchen wieder verwenden zu können, wurde er durch Destillation gereinigt. Nach dem letzten Abpipettieren wird die Sodalösung, die sich durch Abgabe von Wasser an den Amylalkohol auf etwa 6—8 ccm verringert hat, in einen 10 ccm fassenden länglichen Scheidetrichter mit Capillarrohr übertragen und von da unter Zurücklassung der Amylalkoholschicht in einen größeren, 25 ccm fassenden Scheidetrichter, Sodafläschchen und der erste Scheidetrichter werden nacheinander dreimal mit $1\frac{1}{2}$ ccm Sodalösung nachgespült, dieses Spülwasser in den großen Scheidetrichter nachgegeben, wobei die Amylalkoholschicht zum Schluß in die Capillare des kleinen Scheidetrichters abgelassen wird, so daß alle wässrige Lösung quantitativ sich im größeren befindet. Um den in Soda gelösten Amylalkohol zu entfernen, wird dreimal mit je 2 ccm reinem Benzol ausgeschüttelt, das Benzol abpipettiert und der Inhalt des Scheidetrichters unter Zurücklassung der Benzolschicht in ein Porzellanschälchen abgelassen, dreimal mit destilliertem Wasser nachgespült, die Sodalösung in dem Porzellanschälchen mit Schwefelsäure versetzt, bis sie nach Aufschäumen neutral gegen Lackmus reagiert; sie wird zum Vertreiben des Benzols kurze Zeit auf dem Wasserbad erhitzt und auf etwa 12 ccm eingedampft; danach in einen 100 ccm fassenden Claisenschen Destillierkolben abgegossen, mit 0,5 proz. Schwefelsäure nachgespült, bis das Gesamtvolumen 30 ccm beträgt und weiterhin ähnlich der Parnassschen Vorschrift verfahren. Unter Zugabe von Talkum wird auf einem Sandband zum Kochen erhitzt und dann aus einem graduierten Tropftrichter Permanganat entsprechend der abdestillierten Flüssigkeitsmenge zufließen gelassen, nachdem eine mit n/100 Bisulfit und Wasser (im ganzen 50 ccm) beschickte Liebigsche Vorlage mit einem Gummistopfen an das senkrecht nach unten gehende Ablaufrohr eines kleinen Liebighschen Kühlers luftdicht angesetzt war. Die Vorlage befindet sich ebenso wie die Bisulfitkontrolle in Eis. In die Bisulfitkontrolle wird später genau soviel Wasser nachgegeben, wie in die Vorlage überdestilliert ist.

Um die verwandte Methode gegen alle Bedenken sicherzustellen, muß auch ermittelt werden, daß man nicht zu hohe Werte bekommt. Diese können herrühren 1. von nachträglicher Milchsäurebildung in den Muskeln bei ihrer Verarbeitung; 2. von Spaltung des Zuckers beim Eindampfen der Extrakte; 3. von

Aldehydbestimmungsfehlern infolge nicht entfernten Amylalkohols u. dgl. Punkt 3 läßt sich mit Leichtigkeit durch Leerversuche ausschließen. Punkte 1 und 2 werden ausgeschlossen durch Bestimmung des Milchsäuregehalts an frischen ungereizten, nach obiger Angabe präparierten Froschmuskeln. Die so gefundenen Werte liegen stets um 0,015% Milchsäure, bezogen auf das Muskelgewicht, niemals über 0,02% und stimmen genau überein mit dem Milchsäuregehalt von in Sauerstoff völlig erhaltenen Gastrocnemien (vgl. nächste Arbeit, Kapitel I). Diese Werte entsprechen den niedrigsten Anfangswerten von Fletcher und Hopkins, die in der Regel 0,025—0,035% Milchsäure verzeichnen¹⁾. Indessen erhält man diese ganz niedrigen Werte nur, wenn die Frösche ohne Streckkrämpfe getötet werden. Das erhält aus folgendem: Wurden die Frösche nach kurzem Tötungsstreckkrampf verarbeitet, so betrug der Anfangsmilchsäuregehalt 0,04—0,05%, in einem Fall, wo bei sehr erregbaren Fröschen ein anhaltender Streckkrampf auftrat, war der Anfangsgehalt 0,08%. Handelt es sich also darum, die durch Reizung hervorgerufene Milchsäurebildung mit irgendeiner anderen Größe zu vergleichen, so dürfen nur völlig reizlos getötete Frösche benutzt werden. Andererseits wurde auch der Einfluß von Manipulationen an den Fröschen, wie sie zur Vorbereitung der Wärmemessungen des Kapitel II unvermeidlich sind, untersucht. Die Erhöhung des Milchsäuregehaltes war ganz unbedeutend, er blieb unter 0,02%. Ob es überhaupt einen Ruhemilchsäuregehalt gibt und die gefundenen 0,015% nicht durch unvermeidliche momentane Reizung beim Durchschneiden der Nerven, Abpräparieren der Muskel und Zerreibung im eisgekühlten Alkohol hervorgerufen werden, lasse ich dahingestellt; das letztere ist ja nicht unwahrscheinlich. Dieser Gehalt bedeutet dann also das methodische Fehlerminimum, das nicht unterschritten werden kann. Für alle Fälle, wo die Milchsäurebildung unter experimentellen Bedingungen mit irgendeiner anderen Größe (Wärme, Arbeit, Sauerstoff) verglichen werden sollte, wurden daher bei unkomplizierten Fällen 0,015 bis 0,02% Anfangsmilchsäure in Abzug gebracht. In einzelnen anderen Fällen,

Tabelle VI. Milchsäureruhewerte in frisch getöteten Esculenten.

Nr.	Datum 1919—20	Bemerkungen	G-Muskeln	ccm $\frac{n}{100}$ J, corr. ²⁾	mg Milchs.	%
1	28. V.	getötet nach Vorschrift	12,3	3,6	1,6	0,013
2	4. VI.	" " "	7,1	2,4	1,1	0,015
3	27. IX.	getötet nach Vorschrift (Haut mit zerrieben)	5,7	1,45	0,65	0,011
4	11. X.	dgl. getötet 1 ^h bei Zimmertemp.	5,9	2,05	0,9	0,0155
5	31. V.	dgl. 1 ^h bei Zimmertemp.	14,3	5,6	2,5	0,0175
6	14. VI.	dgl., wie für Wärmeversuch behand.	9,9	3,7	1,7	0,017
7	1. III.	nach Vorschrift. 1. Schenkel	3,95	0,85	0,38	0,010
Durchschnitt: 0,014						
8	20. V.	getötet mit Streckkrampf	12,8	13,9	6,25	0,049
9	27. IX.	dgl.; übererregbar, starke Streckkrämpfe.	6,2	10,9	4,9	0,079

¹⁾ Die Werte der englischen Autoren für Zinklactat habe ich stets auf Milchsäure umgerechnet.

²⁾ In dieser und allen folgenden Tabellen sind die Jodwerte auf $\frac{n}{100}$ umgerechnet und mit 17—20% Zusatz versehen, zur Korrektur von Verlusten und Aldehydefizit.

bei leichtem Tötungskampf, ferner wo beim Durchziehen der Drähte unter den Nerven stärkere Reizungen stattfanden, sowie in der Anfangszeit der Untersuchung 0,03—0,04%, was dem Anfangsmilchsäuregehalt der damaligen unvollkommenen Versuchsanordnung entsprach. Durch diesen Anfangsgehalt kommt eine unvermeidliche Unsicherheit in alle absoluten Berechnungen hinein, doch läßt sich diese bei richtiger Behandlung der Frösche auf $\pm 0,01\%$ Milchsäure einengen. Durch den niedrigen Milchsäuregehalt der Ruhefrösche von 0,015% sind auch gleichzeitig andere methodische Bedenken widerlegt. Auch wenn wenige Prozent des Endwertes durch andere aldehydbildende Substanzen als Milchsäure bedingt sein sollten, wären auch diese Substanzen nicht präformiert, sondern müßten gleichzeitig mit der Milchsäure entstehen.

2. Das Milchsäuremaximum bei der Chloroformstarre.

Das Maximum an Milchsäure, das unter verschiedenen Umständen im Muskel gebildet wird, ist seit Fletcher und Hopkins Gegenstand vielfacher Untersuchungen gewesen. Die Autoren erhielten bei der Wärmestarre ein Milchsäuremaximum von zu höchst 0,42%¹⁾ dasselbe nach Zerschneiden des Muskels und Aufbewahren der zerkleinerten Muskulatur bei Zimmertemperatur und schließlich auch bei der durch Chloroformdampf erzeugten Starre. Jedoch war das Starremaximum in den verschiedenen Monaten nicht gleich, es lag in den Frühjahrsmonaten bei etwa 0,28%, in den Herbstmonaten bei 0,4%. Interessanter aber war noch ein anderes Faktum: Wurden die Muskeln erst gereizt und sogleich in Starre versetzt, so war das Starremaximum nicht verändert, aber auch dann, wenn die Starre nach wiederholter Reizung und anschließender Erholung in Sauerstoff ausgelöst wurde, blieb das Milchsäuremaximum dasselbe. Indes der Schluß, den die Autoren daraus zogen, daß dies für eine in konstanter Menge vorhandene Vorstufe spräche, in die sich die Milchsäure jeweilig in der Erholung wieder zurückverwandelt, kann nach den Versuchen Laquers nicht mehr aufrecht erhalten werden²⁾. Nach ihm entsteht das Maximum durch Selbsthemmung der Milchsäurebildungsreaktion infolge zunehmender Acidität; zerschnitt er die Muskeln, suspendierte sie in 2% Bicarbonatlösung und versetzte die zerschnittenen Muskeln in Wärmestarre, so erhielt er erheblich höhere Werte; in einem Versuch (24. X. 13) z. B. 0,9% Milchsäure, während sich in Kochsalzlösung 0,4% ergab; gleichzeitig nahm der Glykogengehalt von 1,34% in Bicarbonat auf 0,14%, in Natriumchlorid auf 0,46% ab. Im ersten Fall ist also fast das ganze Glykogen in Milchsäure umgewandelt. Andererseits fanden fast gleichzeitig Fletcher und Brown³⁾, daß das Starremaximum bei Suspendierung der Froschmuskeln in verdünnter Salzsäure nur etwa 0,2% beträgt.

¹⁾ Übersicht über die Starremaxima bei verschiedenen Tieren bei A. v. Fürth a. a. O. S. 386.

²⁾ Zeitschr. f. physiol. Chemie **93**, 60. 1914—15.

³⁾ Journ. of physiol. **48**, 201. 1914.

Unter diesen Umständen kann also die Konstanz des Starremaximums unabhängig von vorhergehender Reizung nicht für die Theorie der Rückverwandlung der Milchsäure in Anspruch genommen werden.

Meine eigenen Messungen an starren Muskeln wurden größtenteils in anderem Zusammenhang vorgenommen. Ich teile die Resultate hier mit, einmal wegen der absoluten Zahlen und um die Veränderung des Maximums bei Fröschen verschiedener Herkunft zu zeigen. Wie im methodischen Teil berichtet, sind die Milchsäurewerte bei mir 20–25% höher als bei den englischen Autoren. Im übrigen ergibt sich der gleiche Unterschied zwischen Frühjahrsfröschen einerseits und Herbstfröschen andererseits, und dieser wäre vielleicht noch größer, wenn nicht die Starre bei ersteren in Ringerlösung, bei letzteren in Wasserstoffatmosphäre vorgenommen wäre. Die Chloroformstarre wurde in Ringerlösung durch Zugabe von 5–8 cem Chloroform und kräftiges Schütteln hervorgerufen. Am Temperaturanstieg (vgl. Abb. 3) läßt sich beobachten, daß die aktive Starre nach etwa 3–4 Stunden beendet ist. Die Muskeln sind dann weiß, wie geronnen, und in Starreverkürzung. Die Starre in Wasserstoffatmosphäre wurde dadurch herbeigeführt, daß Wasserstoff durch eine mit Chloroform gefüllte Waschflasche unter eine geschlossene Glasglocke geleitet wurde, unter der die Muskeln auf einem Glasteller lagen. In diesem Fall blieben die Muskeln etwa 20 Stunden bei Zimmertemperatur im Chloroformdampf liegen, ehe sie verarbeitet wurden. Versuche 1 und 2: Frühjahr, Versuche 3–6: Sommer, 7–8: Herbst, und 9: Winter 10: Temporaria. (Tab. VII).

Tabelle VII. Milchsäuremaximum bei Chloroformstarre.

Nr.	Datum 1919–20	Art und Vorbehandlung der Frösche	Milieu	Dauer d. Starre	Temp. Grad	G-Mus- keln	mg Milchs.	%
1	5. III.	gr. Escul. (Würzburg.)	Ringerlsg.	15 ^h	22	67	287	0,42
2	13. III.	" " "	"	6 ^h	22	58,5	261	0,445
3	17. VI.	Escul., frische Sommerfrösche (Holstein)	"	6 ^{1/2} ^h	22	32,5	161,5	0,50
4	15. VII.	kl. Escul. frisch. (H.)	"	5 ^h	14	48,3	235	0,485
5	18. VII.	dgl.	"	5 ^h	27,5	46,8	226,5	0,485
6	22. VII.	dgl.	"	6 ^h	27,5	45,3	199	0,44
7	16. IX.	kl. Escul., frische Herbstfrösche (H.)	"	5 ^h	14	44,5	254	0,57
8	5. XI.	große Escul. frisch. (Würzburg)	H ₂	21 ^h	ca. 13	66,3	365	0,552
9	12. XII.	Würzburger Escul. Hungerfrösche	H ₂	22 ^h	ca. 10	40,0	176	0,44
10	17. II.	Temporaria. kl. Holst.	Luft	20 ^h	ca. 16	16,9	99	0,59

In Versuchen 8 und 9 ist die Milchsäure in einem aliquoten Teil auch als Zinksalz bestimmt, in Versuch 8 ergibt sich ohne Korrektur für Verluste 267 mg Milchsäure = 0,402%, in Versuch 9 ohne Korrektur

138 mg Milchsäure = 0,345%. Dies Ergebnis stimmt genau mit dem von den englischen Autoren in den gleichen Monaten erhaltenen überein. Es kann nicht fraglich sein, daß die hier erzielten größeren Werte lediglich auf vollständigere Extraktion und genauere Korrekturenberechnung zurückzuführen sind.

Wodurch wird die Verschiedenheit des Milchsäuremaximums in den einzelnen Monaten bewirkt? Wenn, wie aus den Versuchen Laquers zu entnehmen ist, weder der Glykogenvorrat noch die begrenzte Menge einer Milchsäurevorstufe für das Maximum maßgebend ist, sondern die Selbststeuerung des Prozesses durch H-Ionen, so müssen wir folgern, daß in den verschiedenen Monaten eine wechselnde Empfindlichkeit dagegen besteht. Das läßt sich auch wahrscheinlich machen. Mancherlei Anhaltspunkte sprechen dafür, daß die anaerobe Erschöpfung durch elektrische Reizung ebenfalls durch die Zunahme der Acidität bedingt wird. Und man findet, daß das Starremaximum bei Fröschen verschiedener Herkunft und Vorbehandlung sich ganz ähnlich wie das Ermüdungsmaximum verhält. So fiel bei Fröschen, die in den Wintermonaten im Keller hungerten, das Starremaximum ebenso ab wie das Reizmaximum (vgl. Abb. 1). Andererseits ergaben Temporarien, die noch im Winter das allerhöchste Ermüdungsmaximum aufwiesen, das ich jemals erhielt, auch gleichzeitig das höchste Starremaximum (0,59%). Dabei kann es dahingestellt bleiben, ob die wechselnde Empfindlichkeit gegen H-Ion auf Neutralisationsvorgängen im Muskel oder auf einer direkten Änderung der Labilität des säurebildenden Prozesses beruht.

Andere Formen chemischer Starre habe ich nicht systematisch untersucht, ich möchte aber der Ansicht Ausdruck geben, daß wahrscheinlich alle echte Starre, d. h. auf aktiver Verkürzung contractiler Elemente, nicht auf Schrumpfung von Bindegewebe, Gerinnung von Muskelplasma und dergleichen beruhend, durch Milchsäurebildung hervorgerufen wird, daß es eine andere Verkürzungssubstanz nicht gibt, und daß alle diese chemischen Körper nur zur Auslösung der Bildung von Milchsäure dienen. Wenigstens für eine Substanz, bei der man am ehesten an primäre Starre denken könnte und gedacht hat, für Natronlauge, habe ich mich auch experimentell davon überzeugt. So betrachtet Mines¹⁾ in seiner scharfsinnigen Analyse des Kontraktionsvorganges die Natronlauge ebenso wie die Milchsäure als Verkürzungssubstanz, und sieht die Wirksamkeit beider geradezu als einen Beweis der Quellungstheorie der Muskelkontraktion an. In einigen Starreversuchen mit Natronlauge und Ammoniak fand ich, daß man zwar mit geringen Konzentrationen Natronlauge oder auch in Ammoniakdampf nur eine mangelhafte Milchsäurebildung erzielt. Dann ist aber auch der Muskel

¹⁾ Journal of Phys. 46, 13. 1913.

nicht maximal starr, sondern nur gequollen oder von teigiger Beschaffenheit und in diesem Zustand wahrscheinlich abgestorben. Legt man dagegen den Muskel für eine Reihe von Stunden in $\frac{n}{10}$ -NaOH, wo er abgesehen von gallertiger Quellung gleichzeitig maximale Starrecontractur aufweist, so erhält er jetzt das Starremaximum. In einem solchen Versuch an Temporarien ergab sich 0,56% Milchsäure, was dicht bei dem auch sonst erreichten Maximum lag.

3. Das Milchsäuremaximum bei Ermüdung.

Für die Theorie der Kontraktion von größerer Wichtigkeit als das Starremaximum der Milchsäure scheint mir das Ermüdungsmaximum zu sein. Fletcher und Hopkins geben an, in 16 Versuchen das Ermüdungsmaximum nach tetanischer Reizung bestimmt zu haben und trotz weitgehender Variation der Bedingungen immer annähernd dasselbe Resultat erzielt zu haben. Alle Werte lagen zwischen 0,11 und 0,21% Milchsäure. 13 von diesen zwischen 0,135 und 0,19%, der Durchschnitt war 0,16%.

„Obwohl“, sagen sie, „der Reizstrom derselbe war, waren doch die Einzelheiten des Stromdurchgangs verschieden, ebenso die Jahreszeit, Temperatur, vorherige Ermüdung oder Ruhe der Frösche, Feuchtigkeit, Verteilung der Reize zwischen verschiedenen Muskelgruppen und Ähnliches. Die Reizperioden wurden von einer Stunde zu zwei geändert, mit den verschiedensten Variationen von Ruheintervallen. Obwohl wir gleiche Ermüdungsbedingungen weder erwarteten noch wünschten, so blieb doch der Milchsäuregehalt, mag er ein wahrer Indikator für die Ermüdung sein oder nicht, auffällig konstant. Es wurde immer mehr zur Überzeugung, daß das Maximum ganz dicht bei 0,16% liegt. Dies stützt die Annahme, daß unsere Durchschnittszahl so etwas wie ein Ermüdungsmaximum repräsentiert, das vermutlich leicht erreicht wird...“ In der Regel reizten die Verfasser direkt, bei indirekten Reizungen wurde aber dasselbe Ermüdungsmaximum erzielt.

Andere Autoren, Peters, Laquer, Parnas, bestätigten die Befunde der englischen Forscher in der Richtung, daß auch sie ein derartiges Ermüdungsmaximum erreichten, das in den von Fletcher und Hopkins angegebenen Grenzen lag. Trotzdem aber ist die, wie es scheint, so gut begründete Annahme eines konstanten Ermüdungsmaximums doch nicht unter allen Umständen gültig. Vielmehr haben die Autoren gewisse Variationen, durch die man sehr charakteristische Veränderungen dieses Maximums erzielt, offenbar nicht vorgenommen. Bestätigen kann ich, daß unter gewissen Bedingungen das Maximum sehr konstant ist. So z. B. erhält man genau dieselben Milchsäuremengen, wenn man einen schon etwas ermüdeten oder ganz frischen Muskel längere Zeit tetanisch reizt, ob man dasselbe für kurze Zeit, etwa 20 bis 30 Minuten, oder auch 1–2 Stunden fortsetzt, ob man mehrmals oder selten unterbricht und die Stärke des Stroms erheblich variiert, vorausgesetzt, daß der Muskel maximale Kontraktionen ausführt

und so lange gereizt wird, bis er nur noch ganz schwach reagiert. Andererseits sind die Differenzen bei Variationen der Bedingungen oft gering, aber das ist keineswegs immer der Fall. Meine eigenen Untersuchungen führten mich vielmehr ganz allgemein zu folgendem Schluß: Es gibt für bestimmte Reizarten und Anordnungen charakteristische Ermüdungsmaxima, die jedoch untereinander nicht ganz gleich sind, vielmehr genau der unter anaeroben Bedingungen erfolgenden mechanischen Gesamtleistung der Muskeln entsprechen. Ob man noch genauer sagen darf „direkt proportional sind der isometrischen Arbeit, die in Abwesenheit von Sauerstoff geleistet wird“, lasse ich dahingestellt. Experimentell ist dies nicht entscheidbar, weil es nicht möglich ist, die Milchsäure aus einer einzelnen Zuckung, sondern nur als Resultante einer ganzen Serie zu bestimmen. Dabei brauchen die anaeroben Bedingungen nicht besonders streng genommen zu werden: Ganze Hinterschenkel, zumal solche großer Frösche, in ausgekochter Ringerlösung, oder nicht abgehäutete Schenkel in Luft genügen bereits diesen Anforderungen, ja selbst mit abgehäuteten Schenkeln in Luft erhält man fast ebenso schnell das gleiche Ermüdungsmaximum, weil, wie wir aus der folgenden Arbeit sehen werden, die Fortschaffung der Milchsäure sich bei völliger Ermüdung über 15–24 Stunden hinzieht, so daß die während einer kurzen Reizperiode verschwindende Milchsäuremenge sehr gering ist. In allen Fällen aber, wo es auf den Vergleich anderer Größen (Wärme, Arbeit, Erholungssauerstoff) mit dem Milchsäuremaximum ankam, wurden größere Vorsichtsmaßregeln ergriffen. In der Regel wurde die Atmung der Muskeln durch Zusatz von Blausäure ($\frac{n}{2000}$) zur Ringerlösung aufgehoben, in einigen anderen Versuchen wurde in Wasserstoffatmosphäre ermüdet.

a) *Tetanus.*

Das tetanische Ermüdungsmaximum, das ich fand, stimmt mit dem der englischen Autoren überein, nur daß meine korrigierten Werte auch hier 15–20% höher sind. Bei Esculenten fand ich das höchste tetanische Ermüdungsmaximum bei 0,24%. Auch sah ich keinen Unterschied, ob die Muskeln direkt oder indirekt gereizt wurden.

In der Regel wurde die indirekte Reizung so ausgeführt, daß Drähte seitlich von den Ischiadici durch die Beckenwand durchgestoßen und um die Hüftknochen herumgeschlungen wurden. Die Schenkel wurden meistens nicht abgehäutet. Für die direkte Reizung wurden die Drähte um die Fußgelenke geschnürt und die ganzen Schenkel durchströmt. Meist genügte für die Bestimmungen ein Frosch, aber auch die Benutzung mehrerer zugleich machte keine Schwierigkeiten: Diese wurden für die Durchströmung hintereinander geschaltet. Es fanden nur Induktionsströme Verwendung; zur Unterbrechung des Stroms diente statt des Wagnerschen Hammers meist ein Bernsteinunterbrecher mit Quecksilberkontakt, der mit 25 Unterbrechungen pro Sekunde benutzt wurde.

b) Einzelreize.

Ganz anders aber gestaltet sich das Ergebnis, wenn man die Muskeln mit Einzelinduktionsschlägen erschöpft. Diese wurden durch ein mit Quecksilberkontakt versehenes Metronom erzeugt, das in den primären Stromkreis eingeschaltet wurde, meist mit etwa 60 Reizen pro Minute. Unter diesen Umständen ist das Ermüdungsmaximum beträchtlich höher als bei tetanischer Reizung, und zwar ist der Unterschied zwischen beiden am größten bei frischen Herbstfröschen, wo die Steigerung gut 60% beträgt; bei Hungerfröschen sinkt die Differenz, beträgt aber auch dann noch 25–40%. Bei frischen Herbstfröschen ergaben sich nun Ermüdungsmaxima von gegen 0,4% Milchsäure; das höchste bei Esculenten betrug 0,39%, bei Temporarien sogar 0,43%. Auch dieses Maximum wird ebenso leicht bei indirekter wie bei direkter Reizung erreicht. In Tab. VII ist nur ein Teil der außerordentlich zahlreichen Versuche dieser Art wiedergegeben. Unter einer Nummer sind stets Versuche an Fröschen genau gleicher Herkunft und Vorbehandlung in dicht beieinander gelegenen Zeiten und bei derselben Temperatur miteinander verglichen. (Vgl. dazu auch Abb. 1.)

Tabelle VIII. Ermüdungsmaximum durch tetanische Reizung und Einzelinduktionsschläge. (Unter jeder Nummer sind einander ähnliche Versuche bei gleicher Temperatur an Fröschen gleicher Herkunft und Vorbehandlung verglichen.)

Nr.	Datum 1919–20	Froschart	Temp. ° C	Reizart	Tetanische Reizung			Einzelreizung			Einzelreiz Steigrg. %
					Muskelart ¹⁾ u. Gewicht	mg Milchs.	% Milchs.	Muskelart u. Gewicht	mg Milchs.	%	
1	13. IX.	Esc. Holst.	22	direkt	6,1 g H	14,7	0,241				
	6. X.	"	22	"				5,4 g H	20,9	0,388	60
2	13. XI.	"	5	"	6,0 g H	9,1	0,152				
	2. X.	"	5	"				5,1 g H	14,9	0,292	90
3	24. X.	"	14	indir.	26,7 g H	65,0	0,243				
	10. X.	"	14	"				17,6 g H	63,0	0,358	50
4	22. X.	"	ca. 15	"	5,1 g H	11,3	0,222				
	10. X.	"	ca. 15	"				4,8 g H	17,4	0,362	65
5	11. X.	Esc. Würzbg.	ca. 13	direkt	11,6 g H	26,0	0,225				
	18. X.	"	ca. 13	"				50,7 g H ²⁾	169,0	0,333	50
6	29. X.	"	ca. 13	indir.	0,8 g G	1,64	0,205				
	31. X.	"	ca. 13	"				0,7 g G	1,80	0,26	25
7	4. XI.	"	ca. 14	"	1,2 g G	2,4	0,20				
	8. XI.	"	14	"				37,1 g H	105,0	0,283	40
8	6. XII.	"	ca. 6	"	14,3 g H	25,5	0,178				
	8. XII.	"	ca. 8	"				8,65 g H	22,0	0,254	45
9	12. I.	"	14	"	1,35 g H	2,18	0,162				
	14. I.	"	14	"				1,45 g G	3,5	0,24	50
10	31. XII.	Temp. H.	12,5	direkt				0,68 g G	2,75	0,39	
	26. I.	"	ca. 15	"				0,82 g G	3,37	0,41	
	27. I.	"	13	indir.				0,5 g G	2,16	0,43	

¹⁾ G = Gastrocnemius. H = ganze Hinterschenkel. ²⁾ 3 Frösche.

Unter Nr. 10 sind die höchsten Werte des Ermüdungsmaximums bei Einzelreizen verzeichnet, die an Gastrocnemien von Temporaria erzielt wurden.

Wie soll man nun erklären, daß durch Einzelinduktionsschläge, die etwa 60 mal in der Minute appliziert werden, in gleicher Zeit und bei gleichem Rollenabstand eine viel größere Menge Milchsäure angehäuft wird, als wenn durch den Bernsteinunterbrecher die 25fache Zahl der Reize zugeführt wird? Auch wenn durch den Öffnungsfunken des Metronoms vielleicht ein stärkerer Reiz ausgeübt werden sollte als durch den Hg-Unterbrecher des Bernsteinschen Apparats, so ist das in keiner Weise entscheidend, denn das Resultat wird nicht verändert, wenn man die Reizung mittels des Metronom nicht bis auf den Rollenabstand 0 verstärkt, sondern man erhält mindestens angenähert dasselbe Maximum bei viel schwächeren Strömen (etwa ein Akkumulator und 16 cm R.-A.). Bei erregbaren Fröschen findet bei der weiteren Reizung mit abnehmendem Rollenabstand nur eine äußerst geringfügige Mehrbildung an Milchsäure statt. Die mechanische Antwort des Muskels ist diesem Verhalten völlig analog. Der mit schwächeren Reizen ermüdete Muskel zeigt bei stärkerem Reiz nur noch sehr schwache Zuckungen und insbesondere beim Tetanus kann man feststellen, daß schließlich nur nach Ruhepausen noch eine Kontraktion auf die tetanische Reizung ausgeführt wird. Ja, bei Benutzung des Spannungshebels (siehe Kapitel III) sieht man, daß diese Verkürzung bei stärkerer Ermüdung sich von Einzelzuckungen kaum unterscheidet und damit ist dann auch das wesentlichste Moment bezeichnet, daß für die paradoxen Resultate der verschiedenen Ermüdungsmaxima verantwortlich ist. Wird ein Muskel tetanisch gereizt, so erreicht er in kurzer Zeit annähernd sein tetanisches Ermüdungsmaximum und geht bei fortwauernder Reizung völlig in Erschlaffung über, aber jedesmal wenn man den Strom selbst nur für eine Sekunde unterbrochen hat, erfolgt eine Anfangszuckung. Ebenso antwortet ein für eine Stunde und länger tetanisierter Muskel nachher noch auf eine lange Reihe von Einzelinduktionsschlägen. Es ist kaum fraglich, daß, wenn man den Tetanus nur oft genug unterbrechen würde, man wenigstens angenähert das Ermüdungsmaximum der Einzelzuckung erreichte. Daß die stärkere Erregbarkeit gegenüber Einzelreizen für das erhöhte Ermüdungsmaximum wesentlich verantwortlich ist, habe ich dadurch bewiesen, daß ich von den beiden Gastrocnemien eines Frosches zunächst beide indirekt tetanisch ermüdete, länger als zur Erreichung des Maximums nötig ist, darauf den einen entfernte und den anderen mit Einzelinduktionsschlägen weiter indirekt gereizt habe. Im zweiten Fall wurde annähernd das Ermüdungsmaximum der Einzelreize erzielt und ein Plus von 25% gegenüber dem tetanischen Maximum. Auch habe ich unter-

sucht, ob man dasselbe Maximum erhält, wenn man einen Muskel nur mit Einzelschlägen ermüdet oder ihn erst tetanisch ermüdet und dann mit Einzelreizen. Zu diesem Zweck wurden die beiden Gastrocnemien eines Frosches mit den Nerven abpräpariert, zunächst der eine Ischiadicus über zwei Drähte, die auf Korkplatten befestigt waren, gelegt und tetanisiert. Nach einer $\frac{1}{2}$ Stunde wurde der Ischiadicus des zweiten Muskels ebenfalls über die Drähte gelegt und jetzt beide gemeinsam mit dem Metronom ermüdet. In der Tat ergab sich in beiden Fällen genau dasselbe Maximum. Feinere Unterschiede der Milchsäuremengen in einzelnen Gastrocnemien müssen allerdings der Bestimmung entgehen; zudem handelte es sich in diesem Fall um die Muskeln von Hungerfröschen, die nur etwa 25% Steigerung bei Metronomreizung zeigen, und noch dazu um isotonische Kontraktionen, bei denen das Maximum, wie wir sehen werden, verringert ist. Es könnte ganz gut möglich sein, daß das besonders hohe Ermüdungsmaximum für Einzelreize bei frischen Herbstfröschen auf solche Weise nicht erzielbar wäre.

Versuch 1 (19. XII.). Große Holsteiner Esculenta, indirekt gereizt mit Wagnerhammer 25 Min.: ein Gastroc. entfernt und zerrieben: 1,1 g, 2,16 mg Milchsäure = 0,196%. Dann weiter mit Metronom gereizt (80 R. pro 1 Min.): Gastroc. zerrieben: 2,72 mg = 0,247%. Steigerung = 25%.

Versuch 2. Würzburger Esculenta. Herstellung von Schenkelpreparaten; Achillessehne gelöst (isotonische Kontraktion). Nerv über Kupferdrähte. 1. 30 Min. tetanisch gereizt; dann 35 Min. mit Metronom (70 R. pro 1 Min.) 1,1 g Gastroc.: 2,16 mg Milchsäure = 0,196%. 2. Zweites Präparat nur 35 Min. mit Metronom gereizt, dito 2,16 mg Milchsäure = 0,196%.

e) Unvollständige Ermüdung.

Zur Ermittlung der Geschwindigkeit, mit der das Ermüdungsmaximum erreicht wird, habe ich eine Reihe von Versuchen mit unvollständiger Ermüdung ausgeführt und sie mit unter gleichen Umständen (Frösche, gleicher Herkunft, gleiche Jahreszeit, Temperatur, Reizart) erzielten Ermüdungsmaxima verglichen. Es ergab sich bei indirekter tetanischer Reizung in zweimal 20 Sekunden (Rollenabstand 17 und 15 cm) ein Milchsäuregehalt von 0,139% (14. X. 14°, 35,2 g Muskel, 49 mg Milchsäure). In einem anderen Versuch einmal 40 Sekunden, einmal 20 Sekunden gereizt (Rollenabstand 17 und 15 cm, 14°, 19,1 g Muskeln, 25 mg Milchsäure 11. X.), 0,13% Milchsäure. An gleichem Material wurde bei erschöpfender tetanischer Reizung ein Ermüdungsmaximum von 0,23% erzielt. In weniger als einer Minute ist also schon über die Hälfte davon gebildet.

Metronomreizung: Bei erschöpfender Reizung, September, frische Herbstfrösche 0,36%; dagegen in

7 Min. = (45 Schläge pro 1 Min.) = 320 Reize, R.-A. 15–12 cm: 0,226% (20. IX. 23,7 g Muskel, 53,5 mg Milchsäure);

- 6 Min. = (45 Schläge pro 1 Min.) = 270 Reize, R.-A. 15–12 cm · 0,168% (23. IX. 20,8 g Muskel, 33,1 mg Milchsäure);
 2 Min. = 45 Schläge pro 1 Min. = 90 Reize, R.-A. = 14 cm : 0,118% (26. IX. 17,8 g Muskel, 21 mg Milchsäure).

Man sieht, daß mit etwa 300 Einzelzuckungen, die nicht ganz maximal sind, gut die Hälfte, mit 90 Reizen schon $\frac{1}{3}$ der gesamten Milchsäure gebildet ist. Dem entspricht durchaus das Bild der isometrischen Leistung des Muskels bei anaerober Ermüdung mit Einzelreizen. Reizt man in ähnlicher Weise, wie das hier geschehen ist, annähernd maximal und verkleinert den Rollenabstand entsprechend den kleiner werdenden Zuckungen allmählich bis auf Null, so kann man mit einem großen Gastrocnemius von 1 g gut 1000 isometrische Zuckungen verzeichnen, bis die Kontraktionen vom Spannungshebel nicht mehr deutlich geschrieben werden. Man findet dann bei Berechnung der Spannungsarbeit, daß in den ersten 200 Zuckungen etwa die Hälfte der gesamten Arbeit geleistet ist. Damit soll nicht gesagt werden, daß auch zahlenmäßig trotz fortschreitender Ermüdung eine der isometrischen Arbeit ganz genau gleiche Milchsäuremenge gebildet wird (vgl. Kapitel III). Nach Hills Messungen nimmt bei der Ermüdung die Spannungsarbeit stärker ab als die initiale Wärmebildung. Wir werden aber im nächsten Kapitel sehen, daß die Wärme pro Milchsäureeinheit bei der Ermüdung nicht zunimmt, sondern annähernd konstant bleibt. Danach muß bei der Ermüdung die Milchsäuremenge relativ zur Spannungsarbeit etwas zunehmen. Dies ändert aber nichts an dem weitgehenden Parallelismus beider Größen und an dem allgemeinen Resultat, daß eine ganz geringfügige oder völlig unmerkliche Zuckung einer ebenfalls ganz unmerklichen Milchsäurebildung entspricht.

d) *Einfluß der Temperatur.*

Eine weitere Variation des Milchsäuremaximums erzielt man durch Änderung der Temperatur und zwar steigt bis etwa 25° das erreichbare Maximum mit zunehmender Temperatur an. Der Unterschied scheint bei sehr erregbaren Fröschen geringer, als bei schlechter erregbaren zu sein. Dieser Unterschied ist in gleicher Weise bei der Reizung mit Einzelschlägen wie bei Tetani, bei direkter und indirekter Reizung vorhanden. In einer Reihe von Fällen wurden die Versuche so angestellt, daß zwei Schenkelpaare von genau gleich behandelten Fröschen, die sich in feuchten Kammern bei verschiedener Temperatur befanden, mit demselben Strom (direkt oder indirekt) gereizt wurden: Die Reizung wurde fortgesetzt, bis keiner von beiden mehr deutliche Zuckungen zeigte. Diese Versuche sind in Tab. 9 unter A verzeichnet; unter B sind einige zu anderen Zwecken unternommene Versuche mitgeteilt, wo die Reizung nicht mit demselben Strom und nicht am gleichen Tage,

aber unter völlig übereinstimmenden Bedingungen geschah, unter C endlich solche, die mit den Gastrocnemien des gleichen Frosches nacheinander bei Erschöpfung am Spannungshebel gewonnen wurden. Ganz besonders gering sind die Maxima, die dicht bei 0° C erreicht werden. Unter Nr. 7 sind drei derartige Versuche mitgeteilt. Der zweite Versuch ist genau bei 0,5° angestellt, die Schenkel kühlten vorher eine Stunde in Ringerlösung ab. Man könnte ja zunächst an Kältelähmung der Nerven denken, dem widerspricht aber der dritte Versuch, der ähnlich angestellt ist, nur daß hier direkt gereizt wurde. Bei zwischen gelegenen Temperaturen sind die Unterschiede natürlich geringer, aber auch hier nachweisbar. Als Mittel von 4 Versuchen tetanischer Ermüdung bei 22° (24. V.—14. VI.) ergibt sich 0,210%, als Mittel von 4 ebenso angestellten Versuchen bei 14° (24. VI.—4. VII.) 0,17%.

Tabelle IX.

Ermüdungsmaximum durch gleiche Reizung bei verschiedenen Temperaturen.

A. Reizung durch denselben Strom.

Nr.	Datum	Reizart	Tiefe Temperatur				Höhere Temperatur				% Abn. b. tief. Temp.
			° C	Musk.- gew.	mg Milchs.	%	° C	Musk.- gew.	mg Milchs.	%	
1	13. IX.	dir. Tet.	5	6,0	9,1	0,152	21	6,1	14,7	0,241	37
2	6. X.	dir. Einzelind.	8	4,8	15,9	0,33	22	5,4	20,9	0,388	17
3	6. XII.	indir. Tet.	6	14,3	25,5	0,178	21	13,1	26,0	0,20	11

B. Reizung, nicht gleichzeitig, aber unter gleichen Umständen am selben Froschmaterial.

4	21. I. 20	indir. Tet.	7,5	26,6	26,3	0,099					
	7. II. 20	"					20,5	29,9	45,3	0,151	35
5	21. I. 20	"	7,5	23,3	28,0	0,120					
	9. II. 20	"					20,5	27,5	47,3	0,172	30
6	18. VI.	"	3—5	11,4	10,5	0,092					
	4. VI.	"					ca. 17	7,0	12,7	0,181	50
7	25. VI.	"	2—3	6,9	2,9	0,042					
	28. VI.	"	0,5	16,8	6,3	0,038					
	2. VII.	dir. Tet.	0,5	14,2	4,4	0,031					
	14. VI.	indir. Tet.					22,5	30,6	64,5	0,21	

C. Reizung zweier Gastrocnemien eines Frosches am Spannungshebel.

8	28. II.	dir. Einzelr.	9	1,0	2,8	0,28	24	1,0	3,42	0,34	18
9	6. III.	dir. Einzelr.	8	1,0	2,75	0,275	25	1,0	3,45	0,345	20

Auch hier entspricht dem herabgesetzten Milchsäuremaximum in der Kälte eine verringerte mechanische Leistung. Genauere Vergleiche sind im Kapitel III mitgeteilt. Hier sei nur das Folgende angeführt: Wenn man Froschgastrocnemien am Spannungshebel bei niedriger Temperatur, z. B. 5°, erschöpft und dann auf eine höhere Temperatur, z. B. 20°, bringt, so kann man noch eine ganze Serie von isometrischen Zuckungen erzielen. Der umgekehrte Versuch gelingt nie: Kühlt man

bei 25° erschöpfte Muskeln auf 5° ab, so zucken sie dann nicht mehr. Nachträglich habe ich festgestellt, daß Cavallo und Weiss¹⁾ ähnliche Versuche mit dem gleichen Resultat angestellt haben, nur daß sie isotonisch zucken ließen. Diese Autoren finden, daß zwischen 0° und 25° die Erwärmung den bei tieferer Temperatur erschöpften Gastrocnemius stets zu einer neuen Kontraktionsreihe befähigt. Sie meinen, daß auch eine vorübergehende Erwärmung genügt, um, wenn nachträglich wieder auf die alte Temperatur abgekühlt wird, eine solche Zuckungsreihe zu erhalten. Ich kann aber dies Resultat nicht bestätigen. Wartet man lange genug nach wiedererfolgter Abkühlung, um sicher zu sein, daß ein Temperatúrausgleich stattgefunden hat und sorgt bei Temperaturwechsel für Fortbestehen der Anaerobiose, so findet man, daß der Muskel solange er noch wärmer ist, zu Kontraktionen befähigt ist, nach völliger Abkühlung aber wieder unerregbar geworden ist. Wir finden mithin: Der ermüdete Muskel ist im Gegensatz zum unermüdeten bei hohen Temperaturen erregbarer als bei tiefen, er kann noch bei einem Milchsäuregehalt arbeiten, wo der erstere schon unerregbar ist, daher häuft sich auch in dem wärmeren Muskel eine größere Menge Milchsäure an.

e) *Einfluß der Jahreszeit.*

Schon aus dem Bisherigen geht hervor, daß den Änderungen der Erregbarkeit Änderungen des Ermüdungsmaximums parallel gehen, und das ist auch maßgebend für den Vergleich der Frösche in verschiedenen Jahreszeiten, insbesondere für das Herabgehen des Maximums bei Winterfröschen, die ohne Nahrung gehalten werden. Es besteht ein annähernder Parallelismus für die Höhe des Starremaximums, des Ermüdungsmaximums für Einzelreize und des tetanischen Maximums, nur daß, soweit ich sehe, der Abstand zwischen den beiden letzteren bei frischen Fröschen mit höherer Erregbarkeit größer ist, als bei anderen. Über die Durchschnittszahlen, die sich an Herbstfröschen, die hungernd im Keller gehalten wurden, ergaben, gibt Tab. X Auskunft (vgl. dazu auch Abb. 1).

Tabelle X. Milchsäuremaxima (in %) von Herbstfröschen, die hungernd gehalten werden (Esculenta). (Durchschnittswerte).

Monat	Starre	Einzelreize	Tetanus
Sept.—15. Okt.	0,57	0,36	0,24
15. Okt.—15. Nov.	0,55	0,30	0,21
15. Nov.—15. Dez.	0,44	0,26	0,20
15. Dez.—30. Jan.	—	0,24	0,18
Febr.	—	0,24	0,16

¹⁾ Journ. de physiol. et pathol. 1, 990. 1899.

Während das Ermüdungsmaximum für Einzelreize bei Hungerfröschen Anfang Dezember nur noch 0,25% betrug, gaben frisch gefangene Holsteiner Frösche zu derselben Zeit 0,36%, und auch dieses Maximum war Anfang Januar auf 0,30% gefallen. Ähnliche Verhältnisse scheinen auch in den verschiedenen Jahreszeiten vorzuliegen, doch verfüge ich da über keine systematischen Versuche. Für den Zusammenhang zwischen Starremaximum und Ermüdungsmaximum spricht auch, daß Temporarien, die noch im Winter das höchste Maximum auf Einzelreize (etwa 0,40%) ergaben, auch das höchste Starremaximum aufwiesen. Immerhin ist das tetanische Ermüdungsmaximum im Mittel verhältnismäßig konstant bei 0,20% gelegen.

Weniger deutlich ist der Einfluß des Milieus auf das Ermüdungsmaximum. Zwar ergeben die Versuche des nächsten Kapitels, daß bei

Abb. 1. Milchsäuremaximum bei Starre und Ermüdung an Esculenten vom 1. X.—10. II. □ Chloroformstarre von Würzburger Esculenten. (Hungernd vom Oktober). ○ Einzelreize von Würzburger Esculenten. × Tetanische Ermüdung von Würzburger Esculenten. ● Einzelreizermüdung von Holsteiner Esculenten (Hungernd von Mitte September.) ■ Chloroformstarre von Holsteiner Esculenten, zweite Hälfte September. Die Abszisse gibt das Datum an, die Ordinate den Gehalt an Milchsäure in Promille (von $\frac{1}{100}$ an).

Reizung des Muskels in Ringerlösung innerhalb von einer Stunde etwa 20% der Milchsäure in die umgebende Lösung tritt. Trotzdem ist es mir nicht gelungen, einen deutlichen Einfluß auf das Milchsäuremaximum nachzuweisen. Sei es, daß die Differenz zu klein ist, sei es, daß die blausäurehaltige Ringerlösung einen etwas ungünstigen Einfluß hat und daher die durch die Wegdiffusion von Milchsäure bedingte Entlastung des Muskelinnern kompensiert. Im Kapitel III sind eine Reihe von isometrischen Ermüdungskurven angeführt, die mit Gastrocnemien desselben Frosches einerseits in Wasserstoffatmosphäre, andererseits in blausäurehaltiger Ringerlösung (mit Bicarbonat) erhalten wurden. Mindestens ebensooft war die Arbeitsleistung in Wasserstoff etwas größer als umgekehrt. Die betreffenden Milchsäurebestimmungen mißlangen zum Teil, indessen ergab ein Versuch, bei dem in Ringerlösung ein Minus der Arbeitsleistung von 10% vorhanden war, genau das gleiche Minus des Milchsäuremaximums gegenüber dem in Wasserstoffatmosphäre.

f) *Isometrisches und isotonisches Maximum.*

Theoretisch viel bedeutsamer erscheint der Unterschied des „isometrischen“ und „isotonischen“ Ermüdungsmaximums. Wenn ein Schenkelpaar indirekt mit Einzelschlägen oder Dauerreizen gereizt wird, erhalten wir Streckkrämpfe; indes sind die Bewegungen, die dabei ausgeführt werden, nicht beträchtlich infolge gleichzeitiger Innervation der Antagonisten. Der Haupterfolg der Reizung ist die Zunahme der Spannung. Angenähert können wir daher diese auxotonischen Zuckungen als isometrische betrachten. Das gilt auch für den Gastrocnemius, wenn wir ihn in seiner natürlichen Verbindung lassen. Wenn wir nun ein Schenkelpaar indirekt am Plexus ischiadicus reizen, aber auf der einen Seite die Achillessehne durchtrennen und den Muskel ablösen, so daß er nur noch an seinem oberen Ende fest sitzt, so macht er jetzt isotonische Kontraktionen. Vergleichen wir das Milchsäuremaximum an zwei Gastrocnemien eines Frosches, dessen Plexus durchströmt wird, wenn wir den einen Muskel an der Achillessehne ablösen, den anderen nicht, so ist das Milchsäuremaximum in dem sich isotonisch verkürzenden geringer als in dem isometrischen, und zwar sowohl bei tetanischer wie bei Einzelreizung. Auch wenn die Reizung nicht ganz bis zur Ermüdung durchgeführt wird, erhalten wir diesen Unterschied, ja nach einigen Versuchen scheint er sogar dann noch größer zu sein; doch lasse ich das bei den kleinen Ausschlägen dahingestellt. Im allgemeinen beträgt der Unterschied etwa 20%.

Tabelle XI. Ermüdungsmaxima bei isometrischer und isotonischer Kontraktion der Gastrocnemius.

Nr.	Datum	Reizart	Temp.	Isometrisch			Isotonisch			Differenz %
				Muskel- gew. in g	Milchs. mg	%	Muskel- gewicht	Milchs. mg	%	
1	14. I.	Einzelr.	ca. 10	1,45	3,5	0,24	1,45	2,9	0,20	20
2	7. I.	"	ca. 15	—	—	—	1,1	2,16	0,196	25
	7. I.	"	ca. 17	0,9	2,27	0,25	—	—	—	—
3	27. I.	"	13	0,5 ¹⁾	2,16	0,43	0,5	1,87	0,37	15
4	12. I.	Tetan.	14	1,35	2,18	0,16	1,35	2,05	0,15	6
5	19. I.	"	10	—	—	—	1,12	0,79	0,07	30
	21. I.	"	8	1,55	1,55	0,10	—	—	—	—
6	14. II.	"	16	1,1 ³⁾	(1,95 ²⁾	(0,178)	1,1	1,75	0,159	10
7	28. II.	Tet., nicht erschöpfend	16	1,1 ³⁾	1,1	0,10	1,1	0,74	0,067	35

In Tab. 11 sind mehrere Versuche dieser Art verzeichnet; die in einer Reihe geschriebenen sind in der genannten Weise angestellt. Die in

¹⁾ Temporaria

²⁾ Bestimmung nicht ganz genau.

³⁾ Je zwei Gastrocnemien.

zwei Zeilen sind an verschiedenen Fröschen, aber unter genau gleichen Bedingungen (mit Ausnahme der Ablösung der Achillessehne) vorgenommen.

Wenn wir die Bedeutung dieser Tatsache verstehen wollen, müssen wir einige Wärmemessungen Hills heranziehen. Hill maß die initiale Wärme, die bei der Muskelzuckung gebildet wird, a) wenn der Muskel ganz verhindert wird, sich zu verkürzen, b) wenn derselbe sich zunächst verkürzen kann, aber während der Kontraktion festgehalten wird, und zwar nach mehr oder minder fortgeschrittener Verkürzung, c) wenn er sich ganz frei kontrahiert. Es ergab sich dabei, daß um so weniger Wärme frei wird, je kürzer der Muskel im Moment des Festhaltens war, am wenigsten aber bei völlig freier Verkürzung. Die Herabsetzung beträgt beim Gastrocnemius etwa 30—40%¹⁾ und wird bei Ermüdung geringer bis auf 20%. Das nächste Kapitel wird uns lehren, daß eine sehr weitgehende Proportionalität besteht zwischen der bei der Reizung gebildeten Milchsäure und der dabei auftretenden Wärme unter anaeroben Bedingungen; die Größe der Kontraktionswärme zeigt also direkt die freiwerdende Milchsäuremenge an. Unser Befund erklärt demnach die Hillsche Beobachtung. Daß meine Differenz etwas geringer ist, hat wohl zwei Ursachen. Erstens ist die Kontraktion des Gastrocnemius in seiner natürlichen Stellung keine streng isometrische, zweitens gleicht sich offenbar bei fortschreitender Ermüdung die Differenz teilweise aus. Der Befund, daß die gebildete Milchsäure bei isotonischer Kontraktion geringer ist und kein so-hohes Ermüdungsmaximum dabei erzielt wird, scheint mir aus theoretischen Gründen bedeutsam. Hill schließt aus seinen Versuchen auf eine direkte Abhängigkeit der Wärme von der Länge des Muskels. Es ist aber nicht zu verkennen, daß in all diesen Fällen, auch wenn der Gastrocnemius im Verlauf der Kontraktion festgehalten wird, gleichzeitig eine Abnahme der maximalen Spannung erfolgt. Würde tatsächlich die Länge allein entscheidend sein, so wäre bei der Konstanz des Volumens des sich kontrahierenden Muskels der Hillsche Schluß, daß die Wärme ein Oberflächeneffekt, kein Volumeneffekt ist, äußerst naheliegend. Denn die Oberfläche des Muskels und insbesondere die der doppeltbrechenden Fibrillenabschnitte nimmt entsprechend der Verkürzung ab, während ihr Volumen konstant bleibt (Hürthle); und da die Wärme auf die Milchsäuremenge zurückzuführen ist, würde weiter folgen, daß die Milchsäure an den sich verkleinernden Oberflächen entsteht und sich an diesen nur bis zu einer gewissen Dichte (Sättigung) anhäufen kann, aber nicht darüber hinaus. So wahrscheinlich auch diese Deutung sein mag, ist auch andererseits nach Hill die Kontraktionswärme der entwickelten Spannung direkt proportional. So findet er, daß, wenn ein

¹⁾ Journ. of physiol. 47, vgl. auch Asher-Spiro a. a. O. S. 437.

Muskel losgelassen wird, ehe er seine volle Spannung entwickelt hat, die Wärme 20–30% geringer ist, als wenn er nach Entwicklung der maximalen Spannung sich verkürzt. Aber bei der isotonischen Kontraktion lassen wir den Muskel schon zu Beginn der Spannungsentwicklung los; dieser Faktor kann ebensowohl hierbei maßgebend sein

4. Milchsäurebildung in der Anaerobiose in Ruhe.

Fletcher und Hopkins haben gezeigt, daß es auch bei Muskelruhe zu einer langsam verlaufenden anaeroben Milchsäureanhäufung kommt, die etwa bis zu derselben Höhe fortschreitet wie bei der Wärme- und Chloroformstarre. Bei Betrachtung ihrer Kurven sieht man, daß die Milchsäuremenge zunächst linear mit der Zeit zunimmt, dann kurz ehe das Maximum erreicht wird, steiler ansteigt und schließlich die Bildung fast ganz aufhört. Kurz vor der Stelle, wo das steile Stück in das fast gradlinige übergeht, verzeichnen sie das Erlöschen der elektrischen Erregbarkeit. Die Deutung der Kurve ist offenbar die, daß die Milchsäurebildung so lange gleichmäßig fortschreitet, bis die Konzentration eine Höhe erreicht, um als chemischer Reiz zur Auslösung einer Starre zu dienen, die auch von den Autoren festgestellt wird. Mit dem Beginn dieser Starre nimmt die Milchsäurebildung als Ausdruck des Verkürzungsvorgangs rascher zu, bis sie das Starremaximum erreicht und dadurch zum Stillstand kommt. Bemerkenswert ist dabei, daß die Aufhebung der elektrischen Erregbarkeit von den Autoren bei einem Gehalt von 0,25–0,3% Milchsäure verzeichnet wird, den sie durch elektrische Reizung niemals haben erzielen können. Es leuchtet doch ein, daß, wenn ein Muskel noch elektrisch erregbar ist, also infolge der Kontraktion noch Milchsäure bilden kann, diese Konzentration sich auch durch direkte Ermüdung mittels elektrischer Reizung müßte erreichen lassen. Dieser Widerspruch wird durch das im vorigen Abschnitt über das Einzelzuckungsmaximum Gesagte geklärt.

Meine Versuche über die anaerobe Milchsäureanhäufung sind nicht streng vergleichbar mit denen des vorigen Abschnitts, weil dabei nicht das Maximum erzielt werden sollte, sondern die Milchsäureproduktion in bestimmten Zeiträumen mit der gebildeten Wärme zu vergleichen war. Abgehäutete Schenkel großer Frösche wurden in bicarbonathaltiger Ringerlösung suspendiert, meist unter Zugabe von Blausäure. Unter diesen Umständen lassen sich Milchsäureausbeuten erzielen, die noch höher liegen als bei der Chloroformstarre in gleicher Jahreszeit. Das liegt ohne Zweifel daran, daß unter solchen Umständen ein besonders großer Teil der Milchsäure noch bei Lebzeiten des Muskels in die Ringerlösung übertritt. In einem Fall z. B. betrug die Milchsäurekonzentration am Schluß 0,56%, während bei Chloroformstarre sich bei den gleichen Muskeln 0,43% ergab. Dabei befanden sich im Anaerobioseversuch

140 mg Milchsäure in den Muskeln und 123 mg Milchsäure in der Ringerlösung. Vgl. Tab. XII.

Tabelle XII. Milchsäurebildung in der Anaerobiose bei 22°.

No.	Datum	Zusatz zur Ringerlösung	Dauer	Muskelgewicht in g	Milchsäure		% des Muskels (i. ganzen)	% in 1 ^h geb. ¹⁾
					mg in Muskeln	mg in Ringerlsg.		
1	14. III.	NaHCO ₃	22 ^h	57,4	140	96,5	0,415	0,017
2	19. III.	Bicarb. + KCN	26 ^h	46,1	137,5	123	0,563	0,021
3	2. VI.	Bic. + KCN	24 ^h	57,5	141	117	0,449	0,018
4	16. VI.	Bic. + KCN	23 ^h	41,4	97	90	0,452	0,019

II. Kapitel. Vergleich von Wärme und Milchsäurebildung unter anaeroben Bedingungen.

1. Methodisches.

Bezüglich der Milchsäure ist im vorigen Kapitel das nötige gesagt. Der alkoholische Extrakt der Muskeln wurde in einem Meßkolben bis auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt und in jedem Versuch die Milchsäure sowohl in diesem Extrakt als im „Schenkfiltrat“ der Ringerlösung doppelt bestimmt (außer in den Reizversuchen, wo die Milchsäuremenge der Ringerlösung sehr gering ist). Wichen die Resultate mehr als etwa 5% voneinander ab, wurde die Bestimmung noch einmal wiederholt. In der Regel bestand also jeder Versuch aus vier Milchsäurebestimmungen, wozu noch etwaige Wiederholungen und Kontrollbestimmungen für den Anfangsgehalt der Milchsäure kamen.

In den Wärmemessungen wurde die früher benutzte Methode¹⁾ mit gewissen Abweichungen wieder benutzt. In einer Reihe von Versuchen bediente ich mich der thermoelektrischen Meßmethode von A. V. Hill, bei der ein bügelförmiges Thermoelement in zwei Dewargefäße mit gleichem Abkühlungskoeffizienten gesenkt wird, in deren einem sich das Versuchsmaterial befindet. Um die Genauigkeit dieser Differentialmethode noch zu erhöhen, wurden beide Dewargefäße in einen genau regulierten Thermostaten versenkt. Nachdem ich Vorzüge und Nachteile dieser Methode gegenüber meiner eigenen kennengelernt hatte, kehrte ich wieder zu der älteren Temperaturmessung mit Beckmannschem Thermometer unter Benutzung eines sehr exakt regulierten Wasserthermostaten zurück. In dem Hillschen Verfahren konnte ich nur einen wesentlichen Vorzug erkennen, nämlich die größere Feinheit der elektrischen Temperaturmessung bei genügend empfindlichem Galvanometer. Diesen Vorzug auszunutzen, gestattete jedoch das mir zur Verfügung stehende Galvanometer nicht. Mit geprüftem Beckmannschen Thermometer und zentrierter Lupeneinstellung kann man leicht auf $\pm 0,001^\circ$ genau ablesen. Nun kommt es in allen hier mitgeteilten Versuchen gar nicht auf eine größere Empfindlichkeit an, weil die Fehlergenauigkeit nicht durch die Temperaturablesung, sondern durch die Unsicherheit im Abkühlungskoeffizienten der Calorimeter beherrscht wird. Diese Unsicherheit wird noch größer, wenn man statt eines zwei Gefäße benutzen muß. Auch ist die Wärmeleitung durch die Drähte des Thermoelements mindestens gleich der des Thermometers, schon bei Drähten von etwa 0,15 mm Querschnitt; dieser Umstand verbietet auch, Elemente mit beiderseits mehreren Lötstellen zu verwenden.

¹⁾ Der Anfangsmilchsäuregehalt ist aus Parallelversuchen in Abzug gebracht.

²⁾ Biochem. Zeitschr. **35**, 246. 1911.

Die größte Unsicherheit der Wärmemessungen entsteht durch die Abweichung der Zimmertemperatur von der Thermostatentemperatur. Hierdurch verändert sich der gegenüber dem Thermostaten bestimmte Abkühlungskoeffizient infolge Leitung der Wärme durch die in Luft ragenden Teile der Anordnung mit guter Leitfähigkeit, also insbesondere elektrischer Drähte. Dieser Einfluß läßt in den ersten Stunden dauernd nach. Um ihn möglichst gering zu machen, wurde der Versuch frühestens eine Stunde nach Einhängung des Gefäßes in den Thermostaten begonnen; falls die Zimmertemperatur mehrere Grade abwich, $1\frac{1}{2}$ Stunden später; die trotzdem noch nötige Korrektur für abweichende Zimmertemperatur wurde in Leerversuchen, die den Hauptversuchen genau gleich angeordnet waren, ermittelt und danach der theoretisch berechnete Abkühlungswert korrigiert. Diese Korrekturen betrugen unter Umständen, z. B. bei Versuchen im Hochsommer und einer Thermostatentemperatur von 14° in den Versuchszeiten von $\frac{3}{4}$ —1 Stunde bis zu $0,010^{\circ}$, meistens nur etwa $\frac{1}{3}$ soviel. Da die Korrektur auf $\frac{1}{3}$ ihres Wertes unsicher ist und der gesamte Temperaturanstieg in den „Reizversuchen“ $0,050^{\circ}$ bis $0,100^{\circ}$ beträgt, kann hierdurch immerhin eine merkliche Ungenauigkeit verursacht werden.

Abweichend von früher wurde der Thermostat während der längsten Zeit der Untersuchung elektrisch geheizt und reguliert. Äußere Veranlassung hierzu war die Gassperre. Durch geringe Modifikationen wurde erreicht, daß die Regulation unter Benutzung derselben oder wenig veränderter Toluolregulatoren für Gas eine fast zehnfach so große Genauigkeit aufwies als bei Gasheizung. Ein großer viereckiger Thermostat von etwa $\frac{1}{4}$ cbm konnte mit einem 400 ccm fassenden schlangenförmigen Toluolregulator bei besonderer Vorsicht den Tag über auf $0,001^{\circ}$ konstant erhalten werden, mit Leichtigkeit aber auf $0,005^{\circ}$, ein kleiner runder Thermostat unter Wasserkühlung auf $0,01^{\circ}$ bis $0,02^{\circ}$. Diesem Vorzug größerer Empfindlichkeit stehen als Hauptnachteile gegenüber, daß die Regulation einer viel sorgfältigeren Überwachung bedarf, und daß höhere Temperaturen in einem großen Thermostaten nur mit besonderen Vorkehrungen erreicht werden können. Im Prinzip besteht die Methode darin¹⁾, daß ein Stromkreis, der die Quecksilberkuppe des Toluolregulators und einen senkrecht in sie hinein ragenden Platindraht durchfließt, bei seinem Schließen den Heizstrom des Thermostaten vermittelt eines Relais unterbricht, beim Öffnen ihn freigibt. Je schneller Öffnen und Schließen den Temperaturänderungen des Thermostaten folgt, um so feiner ist die Einstellung. Dies geschieht erstens durch sehr starke Rührung des Thermostaten, zweitens durch einen möglichst großen Toluolbehälter mit großer Oberfläche, drittens durch eine starke Verengung der Quecksilbersäule des Regulators an der Kontaktstelle, viertens durch wiederholtes Reinigen der Quecksilberkuppe mittels Alkohol und Auffüllen von Alkohol auf den Kontakt. Außerdem muß das Relais natürlich Stromschluß und Unterbrechung ohne weiteres folgen. Als Relais dienten teils im Institut befindliche Unterbrecher, teils käufliche Schwachstromrelais, die so verändert wurden, daß sie als Öffnungsrelais für Lichtstrom funktionieren konnten. Die Kontakte wurden durch Platin ersetzt und das Relais durch einen, höchstens zwei Akkumulatoren betrieben. Die Heizlampe wird direkt in den Thermostaten gehängt. Zur Heizung des kleinen Thermostaten genügte eine 32-Kerzen-Kohlenfadenlampe, in dem großen hing eine AEG-Heizlampe (250 Watt), die bei mittlerer Zimmertemperatur den Thermostaten bis auf 28° C heizen konnte. Um die lästige Lichtbogenbildung beim Öffnen des Relais zu verhindern, wurde ein variabler Drahtwiderstand außerhalb des Thermostaten vor die Lampe gesetzt und soviel Widerstand vorgeschaltet, daß die Lampe bei ununterbrochenem Brennen nur eine um wenig höheres Thermostatentemperatur

¹⁾ Vgl. Ostwald - Luther, Physiko-chemische Messungen, 3. Aufl., S. 115.

erzeugte, als der Regulation entsprach. Dann ist die Einstellung auch am genauesten und beim Abstellen der Rührung über Nacht kommt es nicht zu allzu großen Temperaturschwankungen, so daß Versuche mit weniger großer Temperaturempfindlichkeit (Sauerstoffmessungen) auch über Nacht ohne Rührung fortgesetzt werden können (die Schwankungen betrugen dann etwa $0,5^{\circ}\text{C}$).

Als Calorimeter dienten Dewarflaschen, deren Wasserwert und Abkühlungskoeffizient zum Teil schon früher bestimmt waren und mehrfach kontrolliert wurden. Die Bestimmung des Wasserwerts nahm ich jetzt immer nach der Mischungsregel vor, entsprechend den Angaben von Rubner¹⁾. Für die Versuche dieses Kapitels dienten ausschließlich zwei kugelige, 250 ccm fassende Gefäße, ein enghalsiges für die Anaerobiose- und mehrere Starreversuche, das bei Füllung bis zum Halse einen stündlichen Abkühlungskoeffizienten von 2,3% hatte, für die Reizversuche ein weithalsiges, das bei gleicher Füllung einen Abkühlungskoeffizienten von 5% hatte, der sich durch die besondere Anordnung zur elektrischen Reizung je nach den Einzelheiten derselben auf 6,4—7,4% erhöhte.

Für die Versuche mit elektrischer Reizung wurde stets nur ein einziges Schenkelpaar verwandt; dazu dienten sehr große Esculenten (meist aus Würzburg), von denen das Schenkelpaar 30—50 g wog. Die Schenkel wurden an der Wirbelsäule in einer verschraubbaren Hartgummiklammer gefaßt, welche neben dem Thermometer im Hals des Dewargefäßes saß und die Schenkel in aufrechter Stellung im Gefäß hielt (vgl. Abb. 2). Die Klammer saß in einem mit Paraffin ausgegossenen Glasrohr, durch das die Reizdrähte zugeführt wurden. Die Reizdrähte (meist von 0,15 mm Durchmesser) wurden um Platindrähte gewickelt, in einzelnen Versuchen Lamettadrähte, die am Becken des Frosches befestigt waren; die Befestigung wurde mehrfach geändert (vgl. bei Versuchen). Maßgebend hierfür war, daß jede Zerrung oder sonstige unabsichtliche Reizung der Nerven vermieden wurde, andererseits schwache Ströme zur völligen Ermüdung ausreichten. Aus dem letzteren Grunde durfte nur so viel Ringerlösung benutzt werden, daß die Reizstelle oberhalb des Flüssigkeitsspiegels lag. Dies ließ sich leicht erreichen, indem das obere Beckenende noch in den Hals des Gefäßes ragte, während die Ringerlösung gerade den Gefäßbauch ausfüllte (vgl. Abb. 2). Auf das Dewargefäß wurde wasserdicht eine Glashülse aufgesetzt, die mit Watte ausgefüllt wurde.

Zur Ringerlösung wurde immer Bicarbonat zugegeben (etwa 0,04%), damit für die in die Flüssigkeit übergehende Milchsäure die bekannte Neutralisationswärme: $\text{Milchsäure} + \text{NaHCO}_3 \rightarrow \text{NaLactat} + \text{H}_2\text{CO}_3$ in Ansatz kommen konnte; außerdem in fast allen Fällen, wo nichtabgehäutete Frösche benutzt wurden, KCN. Man kann berechnen, daß 1 g luftgesättigter Muskel bei Verbrauch seines Sauerstoffes etwa 0,05 g cal oxybiotisch bilden kann, das würde bei Reizversuchen schon immerhin 10% der anaeroben Ermüdungswärme sein; jedoch darf ange-

Abb. 2. Calorimeter mit Anordnung zur indirekten elektrischen Reizung eines Schenkelpaares. Der horizontale Strich entspricht dem Wasserstand des Thermostaten; der Strich im Gefäß dem Spiegel der Ringerlösung.

¹⁾ Arch. f. Physiologie 1912. Suppl. S. 31.

nommen werden, daß dieser Sauerstoff in den zwei Stunden, welche vom Töten des Frosches bis zum Versuchsbeginn verstreichen, verbraucht ist. Anders ist es aber, wenn weiterhin Sauerstoff aus der Ringerschen Lösung in den Muskel diffundieren kann. Um dies auszuschließen, wurde in den ersten Versuchen bis zum Beginn Wasserstoff durch die Lösung geleitet, späterhin aber stets Blausäure zugesetzt in einer Konzentration von etwa $n : 1500$, die die Atmung aufhebt. Nur bei nichtabgehäuteten Fröschen konnte es unterbleiben. In diesem Fall wurde auch die Haut auf Milchsäure verarbeitet, doch ist deren Milchsäuregehalt wahrscheinlich minimal.

Über die Fehlergenauigkeit der Versuche ist es schwer, genaue Angaben zu machen, da die einzelne Messung weitgehend von der Geschicklichkeit des Experimentators und zum Teil auch von Zufällen beeinflusst wird, z. B. davon, ob es gelingt, die mittlere Innentemperatur des Kalorimeters möglichst dicht an die Thermostatentemperatur heranzubringen, wie weit die Zimmertemperatur von der Thermostatentemperatur abweicht u. dgl. Ich glaube, daß die Wärmemessungen einzeln bis auf etwa $\pm 10\%$ genau sind, die Milchsäurebestimmungen auf etwa $\pm 5\%$. Bei übereinstimmenden Versuchen einer Serie erhöht sich natürlich die Sicherheit des Resultats.

Die Berechnung der Versuche geschah so, daß der Wasserwert der Anordnung mit dem korrigierten Temperaturanstieg multipliziert wurde, zur Ermittlung der gesamten Calorien. Daraus wurde die in 1 g Muskel gebildete Wärme gefunden und durch die während des Versuches pro 1 g Muskel gebildete Milchsäuremenge dividiert, um den Quotienten cal : g Milchsäure zu bestimmen. Dieser Quotient wird im folgenden als calorischer Quotient der Milchsäurebildung, abgekürzt c_{Q_M} bezeichnet. Die spezifische Wärme der Schenkel wird auf Grund älterer Angaben zu 0,83 gerechnet, die der Volumeneinheit Ringerlösung der von Wasser gleichgesetzt. Zu der in der Versuchszeit gefundenen Wärmeproduktion wurde noch für die erste Stunde des Temperatenausgleichs die der Messung entgehende Wärme der Ruheanaerobiose aus anderen Versuchen bei gleicher Temperatur eingesetzt und zu dem gegebenen Betrag addiert. Andererseits wurde der Anfangsgehalt der Milchsäure von der Milchsäurebestimmung in Abzug gebracht.

2. Chloroformstarre.

Schon Hill¹⁾ und Peters²⁾ haben Wärmemessungen bei Chloroformstarre angestellt. Abgesehen von methodischen Einzelheiten unterscheiden sich meine Versuche von den ihrigen darin, daß erstens gleichzeitig die Milchsäure bestimmt wurde, daß zweitens hier wie in allen anderen Versuchen auf anaerobe Bedingungen geachtet wurde, drittens, daß die Temperatur systematisch zwischen 14° und 275° variiert wurde. Doch spielen diese beiden letzten Punkte gerade bei den Starreversuchen keine große Rolle und so stimmen meine Werte

¹⁾ Journ. of physiol. **44**, 466.

²⁾ Ebenda **47**, 262.

für die Wärmebildung der Starre bezogen auf 1 g Muskel vollständig mit ihren Zahlen überein. Peters¹⁾ findet dreimal genau 1,70 cal pro 1 g Muskel, Hill um 1,4 cal. Bei mir selbst ergab sich in 6 Versuchen, bei denen gleichzeitig Wärme und Milchsäurebildung bestimmt wurde: a) bei 14° 1,63 cal, 1,88 cal; b) bei 22,2° 1,45 cal, 1,6 cal; c) bei 27,5° 1,2 cal, 1,39 cal. Die Herabsetzung der Größe in den beiden letzten Versuchen ist teils durch die Höhe der Temperatur, teils durch die Jahreszeit bedingt. Andererseits entspricht dem höchsten Wert 1,88 cal auch das höchste Milchsäuremaximum. Die Übereinstimmung der Werte für den calorischen Quotienten ist sehr gut, er betrug bei 14° 360 und 346 cal, bei 22° 350 und 338 cal, bei 27,5° 290 und 350 cal im Durchschnitt 340 cal. Hill hat aus den Petersschen Messungen im Vergleich mit dem Milchsäuremaximum von Fletcher und Hopkins bei Wärmestarre die höhere Durchschnittszahl von 450 cal berechnet. Da aber, wie im vorigen Kapitel dargestellt, die Milchsäurewerte von Fletcher und Hopkins 25% zu klein sind, so ergibt sich unter Berücksichtigung dieser Korrektur aus den Versuchen der englischen Forscher dasselbe wie hier.

Was die Ausführung der Versuche anlangt, so besteht die Hauptschwierigkeit darin, das Chloroform so einzuführen, daß es unmittelbar vor der Auslösung der Starre genau die Innentemperatur des Calorimeters oder doch eine dicht dabei gelegene bekannte Temperatur besitzt. Ersteres erreichte ich in einigen Vorversuchen und auch in einem mitgeteilten dadurch, daß eine abgeschnittene, nach oben gebogene 5 ccm-Pipette, mit Chloroform gefüllt und durch Gummischlauch mit Quetschhahn verschlossen; in den durchbohrten Stopfen des Calorimeters neben das Thermometer eingesetzt wurde. Diese blieb während des Temperaturengleichs im Dewargefäß, und wenn die Starre ausgelöst werden sollte, wurde der Quetschhahn entfernt und das Chloroform durch von außen zugeleiteten, auf Thermostaten temperatur vorgewärmten Wasserstoff herausgedrückt. Diese Anordnung ist vom theoretischen Standpunkt aus ideal, weil das Chloroform vor dem Vermischen dann absolut genau die abgelesene Innentemperatur des Calorimeters besitzt. Bei der Ausführung ergeben sich aber leicht Schwierigkeiten, das Chloroform läuft teilweise zu früh aus oder wird nicht vollständig ausgedrückt; deshalb ging ich dazu über, das Chloroform von außen bei genau bekannter Temperatur, die dicht bei der Calorimetertemperatur lag, einzufüllen und aus der Mischungsregel eine Korrektur zu berechnen. Zu diesem Zweck wurde ein 8 ccm fassendes längliches Scheidetrichterchen mit Capillare und Capillarahn versehen, in den Stopfen des Calorimeters eingesetzt; der Scheidetrichter wurde mit Chloroform von etwas zu hoher Temperatur gefüllt, und mit einem kleinen, in $\frac{1}{10}$ Grade geteilten Thermometer der Moment festgestellt, wo es sich auf Calorimetertemperatur abgekühlt hatte, worauf es durch Öffnen des Capillarahns ins Calorimeter eingelassen wurde. Da die spezifische Wärme des Chloroforms nur 0,23 ist, so ist die Korrektur jedesmal geringfügig. Nach Zufügen des Chloroforms muß die Flüssigkeit gut vermischt werden. Deshalb werden die Gefäße nur etwas mehr als $\frac{2}{3}$ mit Flüssigkeit gefüllt und alle 10 Minuten, bis der Haupttemperaturanstieg erreicht war, im Thermostaten kräftig herumgeschwenkt. Eine Kurve

1) Journ. of Physiol. 44. 466.

des unkorrigierten Temperaturanstiegs ist auf Abb. 3 abgebildet. Von den Chloroformschenkeln wurde meist nur die eine Hälfte auf Milchsäure verarbeitet, indem jedes Schenkelpaar in der Mitte durchtrennt wurde.

Etwas genauer sei ein Versuch (vgl. die Abb.) geschildert. (13. III.) Temperatur des Thermostaten ($22,2^{\circ}$) entspricht $4,45^{\circ}$ des Calorimeter-Beckmannthermometers. Calorimeter enthält 118 ccm Ringerlösung, Pipette mit 5 ccm Chloroform, 73,7 g Froschbeine (zwei Schenkelpaare), dieselben bestehen aus 15,2 g Knochen und 58,5 g Muskulatur. Gesamtwasserwert 199 (Gefäß von 240 ccm Rauminhalt). Gefäß $10^h 50'$ in den Thermostaten, $11^h 30'$ Chloroform herausgedrückt (etwas zu früh), Temperatur steigt von $4,209^{\circ}$ bis $3^h 15'$ auf $4,612^{\circ}$, fällt von da kontinuierlich bis $5^h 30'$ auf $4,598^{\circ}$, was genau der berechneten Auskühlung für die Abweichung von der Thermostaten-Temperatur entspricht. Die Starre ist also

Abb. 3. Unkorrigierter Temperaturanstieg bei Chloroformstarre (Vers. 13. III. 19.) Abszisse Zeiten. Am Pfeil: Einfüllen des Chloroforms. Ordinate: Temp. in $^{\circ}\text{C}$ (Beckmannthermometer). Die gestrichelte Gerade bedeutet die Thermostaten-Temperatur.

spätestens $3^h 15'$ abgelaufen. Gemessener Anstieg $0,403^{\circ}$; dazu Korrektur berechnet $0,026^{\circ} = 0,429^{\circ}$. — $0,429^{\circ} \times 199 = 85,0$ cal. oder auf 1 g Muskel: 1,45 cal. Dazu $\frac{1}{2}$ Stunde Anaerobiose vorher 0,02 cal. = 1,47 cal.

Milchsäurebestimmung: Je ein Bein verarbeitet, zusammen 23,4 g Muskeln, Alkoholextrakt auf 100 ccm; je 20 ccm bestimmt. a) 20,2 n/100 Jod corr., b) 20,3 n/100 Jod corr. = 9,1 mg Milchsäure. In 100 ccm 45,5 mg oder auf 58,5 g Versuchsmuskeln 114 mg Milchsäure. Von 122 ccm Flüssigkeit (Ringerlösung + Chloroform) 100 verarbeitet + 100 Salzsäure + 100 Sublimat. Je 50 ccm Schenkelfiltrat eingedampft: a) 44,9 n/100 Jod corr., b) 43,3 n/100 Jod corr. = 20 mg Milchsäure; in der ganzen verarbeiteten Menge 120 mg oder in 122 ccm Flüssigkeit 146 mg Milchsäure. Zusammen 114 und 146 mg = 260 mg Milchsäure oder in 1 g Muskel 0,445%. Ab für den Anfangsgehalt 0,025%, gibt 0,42% Milchsäurebildung. $1,47 \text{ cal}/0,42 \text{ Milchsäure} = 0,350 \text{ cal}$. Auf 1 g Milchsäure also 350 cal. gebildet.

In der gleichen Weise sind die übrigen Versuche der Tabelle 13 ausgerechnet. Die Menge der Milchsäure, die in die Ringerlösung übergegangen ist, ist schwankend. Dies hat für das erreichte Milchsäuremaximum wohl keine erhebliche

Bedeutung, da die Hauptmenge jedenfalls erst nach Entwicklung der Starre aus dem abgestorbenen Muskel in die Flüssigkeit übergetreten ist.

Tabelle XIII. Wärme und Milchsäurebildung bei Chloroformstarre (die gleichen Nummern von A. und B. gehören zusammen).

A. Wärmeversuche.

Nr.	Datum	Versuchs-temp. °	Zahl der Frösche	Muskelgewicht in g	ccm Ringerlösung	Gesamtwasserwert	corr. Temp. °	Cal.	Cal. pro 1 g	Cal. pro 1 g für Anfang
1	15. VII.	14	4	48,3	136	198	0,400	79	1,63	0,015
2	16. IX.	14	4	44,5	135	198	0,425	84	1,88	0,02
3	13. III.	22	2	58,8	122	199	0,429	85	1,45	0,02
4	17. VI.	22	2	32,5	150	204	0,255	52	1,60	0,04
5	18. VII.	27,5	4	46,8	122	191	0,303	58	1,24	0,10
6	22. VII.	27,5	4	45,3	125	192	0,327	63	1,39	0,08

B. Milchsäureversuche¹⁾.

Nr.	Verarbeitete Muskelmenge	mg Milchsäure	mg in Menge der Wärmeversuche	mg in Ringerlösung	% Milchs. im ganzen	ab % Milchs. Anfangsgehalt	eQ aus A. und B. berechnet
1	20,7	35	82	152	0,485	0,03	360
2	27,7	39,2	103,5	150,5	0,573	0,025	346
3	23,4	45,5	114	146	0,445	0,025	350
4	13,7	25,5	60,5	104	0,505	0,02	338
5	19,2	34,2	83,5	143	0,485	0,02	290
6	18,3	27	67	132	0,441	0,02	350
Durchschnitt: 0,489							340

3. Wärmebildung bei elektrischer Reizung des Muskels.

In allen Hauptversuchen wurde stets indirekt gereizt, einige Versuche mit direkter Reizung ergaben keine guten Resultate. Als Variationen kamen vor allem in Betracht die Versuchstemperatur, die Dauer der Reizung, d. h. völlige oder teilweise Ermüdung, endlich tetanische Reizung oder Einzelinduktionsschläge. In methodischer Hinsicht wurde nur die Befestigung der Reizdrähte variiert. In der Mehrzahl der Versuche, so in allen späteren, wurde dicht neben den Hüftknochen die Beckenwand beiderseits möglichst hoch durchlöchert und auf jeder Seite ein Platindraht um den Knochen festgeschlungen. Um die Platinschlinge wurde dann der von oben kommende Kupferdraht herumgewickelt. Bei all diesen Vorbereitungen wurde der Nerv weder berührt, noch gezerrt. Anfangs habe ich die Metalldrähte unmittelbar an den Nerven herangebracht, doch war es dann schwierig, sie genügend zu befestigen ohne Zerrung des Nerven. Zuerst zog ich Lamettafäden zwischen den Nerven und der Beckenwand hindurch (mit einer stumpfen Pinzette); die Lamettafäden wurden an der Rückwand geknotet. In einigen Versuchen wurde das Steißbein herausgeschnitten und nun beiderseits Platindrähte durch das Loch hindurchgezogen, die um die Hüftknochen gebunden wurden. Bei allen gut erregbaren Fröschen genügte aber die späterhin beutzte Methode durchaus und ist weitaus die schonendste.

Die Gesamtzahl der Versuche ist sehr groß. Eine nicht unbeträchtliche Zahl mißlangen, die Mehrzahl im Sommer bei ungenügender Erregbarkeit der Frösche,

¹⁾ Vgl. Tab. VII, Nr. 2—6.

Abb. 4. Wärmebildung: unkorrigierter Temperaturanstieg bei tetanischer Ermüdung. — Die schwarzen Felder geben Reizdauer und Reizstärke an: horizontal die Dauer der Tetani in Min. (oberhalb des Feldes verzeichnet). Die Höhe die ungefähre Reizstärke (R.-A. in cm, unterhalb angegeben). Deutlicher Reizerfolg erst von 14 cm an.

aus gleichem Grunde mißrieten alle Versuche bei $27,5^\circ$ und dicht über 0° , so daß ich im folgenden nur Versuche bei $7,5^\circ$, 14° , 22° (bzw. $20,5^\circ$) mitteilen kann.

Abb. 5. Unkorrigierter Temperaturanstieg bei tetanischer Ermüdung. Erklärung s. Abb. 4. Reizerfolg schon von R.-A. 26 cm.

Die Hauptfrage, die mich dabei beschäftigte, war, abgesehen von der absoluten Größe des cQ, ob derselbe unter verschiedenen Bedingungen, verschiedenen Temperaturen, völliger oder unvollständiger Ermüdung, verschiedenen Reizarten gleich wäre und ob der Wert mit dem der Chloroformstarre genau identisch ist. In Abb. 4 u. 5 ist der Temperaturanstieg zweier typischer Wärmeversuche (23. V., 26. V.) abgebildet — in Abb. 4 ist ein deutlicher Reizerfolg erst bei R—A 14 cm vorhanden, weil die Reizdrähte in die Ringerlösung eintauchen. In Abb. 5 ist dies nicht der Fall. Die Resultate von 22 vollständigen Versuchen sind in Tabelle XIV A und B enthalten, die mit derselben Nummer bezeichneten Reihen von Milchsäure- und Wärmebestimmung gehören zu einem Versuch. Die

Tabelle enthält nur einen kleinen Ausschnitt aus den Protokollen. Alle Einzelheiten sowie Doppelbestimmungen sind fortgelassen und nur die Ausrechnung angegeben.

1—17 sind Versuche mit tetanischer Reizung, 18—22 mit Einzelreizung. Ferner sind 8, 9 und 10 Versuche mit unvollständiger tetanischer Erschöpfung 18, 19 und 20 mit unvollständiger Ermüdung durch Einzelreize. Wo die Frösche abgehäutet benutzt sind, sind stets etwa 20% der Milchsäure in die Ringerlösung übergegangen; wurden die Frösche dagegen nicht abgehäutet, so enthielt die Ringerlösung nur etwa 2 mg Milchsäure. In diesem letzteren Fall wurde bei einzelnen Versuchen die Milchsäure in der Ringerlösung nicht bestimmt, sondern der Wert aus genau gleich angestellten Experimenten der gleichen Serie ergänzt. Die Zahl ist dann in eckigen Klammern angegeben. Der mögliche Fehler ist unter 0,5 mg Milchsäure und kommt nicht in Betracht. Die Ringerlösung enthielt stets Bicarbonat, ihre Menge betrug zwischen 157 und 172 ccm (in der Tabelle nicht angegeben). In der Tabelle ist enthalten: A) bei den Wärmeversuchen: die Thermostatentemperatur, die Art der Anaerobiose (vorheriges Wasserstoffdurchleiten, unabgehäutete Frösche, Blausäurezusatz); die Dauer der tetanischen Reizung und die Zahl der Pausen (2. Zahl in der Spalte) bzw. bei der Einzelreizung die Gesamtdauer der Metronomreizung und die Gesamtsumme der Einzelschläge; die Versuchszeit unter Abrechnung der Vorzeit von 1—2 Stunden für den Temperatenausgleich; das Gewicht der Muskeln:

Tabelle XIV. Wärme- und Milchsäurebildung bei elektrischer Reizung.

A. Wärmeversuche.

Nr.	Datum	Versuchs-temp.	Anaerobiose ¹⁾	Tetanusdauer. Zahl der Pausen	Vers.-zeit Min.	Muskel in g	Gesamt-wasserwert	corr.Temp.-anstieg in 0,001 ° C	Cal.	Cal. pro 1 g Muskel.	Cal. für Anfang ²⁾
1	21. I. 20	7,5	Na	8,5' : 5	20	26,6	215	54	11,6	0,436	0,005
2	22. I. 20	7,5	Na	10,5' : 5	22	23,3	210	50	10,5	0,450	0,005
3	21. VI.	14,5	H ₂	17' : 3	33	29,2	215	60	12,9	0,440	0,015
4	24. VI.	14,5	Na	25' : 10	50	20,1	202	72	14,5	0,720	0,010
5	25. VI.	14,5	Na	27' : 11	60	19,8	214,5	62,5	13,4	0,677	0,015
6	1. VII.	14	KCN	31' : 14	60	30,3	210	106	22,2	0,732	0,010
7	4. VII.	14	KCN	32' : 16	62	27,1	207	86,5	17,9	0,66	0,010
8	29. VII.	14	Na	5' : 3	18	19,8	202	63,5	12,8	0,645	0,015
9	11. X.	13,9	Na	1' : 1	18	19,1	197	42,5	8,4	0,44	0,02
10	14. X.	13,9	Na	40'' : 1	15	35,2	223	71	15,8	0,45	0,02
11	24. X.	14,1	Na	27' : 7	60	26,7	208	112	23,4	0,875	0,02
12	24. V.	22	KCN	15' : 12	45	28,4	208	93	19,4	0,683	0,05
13	28. V.	22	KCN	20' : 10	55	25,2	214	70,5	15,1	0,60	0,07
14	31. V.	22	H ₂	28' : 15	70	38,3	217	87	18,9	0,493	0,07
15	14. VI.	22	H ₂	26' : 8	50	30,6	201	104	20,9	0,682	0,06
16	7. II. 20	20,5	Na	8' : 5	23	29,9	216	78,5	17,0	0,57	0,05
17	9. II. 20	20,5	Na	11' : 3	33	27,5	218	68,5	14,9	0,54	0,06
18	20. IX.	14	Na	7' : 320	21	23,7	197	88	17,3	0,73	0,02
19	23. IX.	14	Na + KCN	6' : 270	25	29,8	200	48	9,6	0,46	0,025
20	26. IX.	14	KCN	2' : 90	22	17,8	198	33	6,5	0,365	0,025
21	10. X.	14	H ₂	25' : 2000	32	17,6	196	87,1	17,0	0,965	0,025
22	8. XI.	14	Na	40' : 2800	55	37,1	224	153	34,3	0,925	0,02

¹⁾ H₂: Wasserstoff durchleiten. Na: nicht abgehäuteter Schenkel. KCN: ⁿ/₁₆₀₀.

²⁾ Korrektur für anaerobiotische Wärmebildung der Anfangszeit (1—2 Std.) pro 1 g Muskel.

B. Milchsäureversuche.

Nr.	Verarb. Muskel	mg Milchs.	mg in Mus- keln des Wärmevers.	mg in Rin- gerlösung	% Milchs. im ganzen	% Anfangs- gehalt	c Q	Durch- schnitt c Q
1	17,8	16,8	25,1	1,6	0,100	0,014	512	470
2	17,7	20,5	26,5	[1,6]	0,120	0,014	430	(7,5°)
3	20,2	19,6	28,4	7,2	0,122	0,015	410	435 (14°)
4	15,0	23,8	31,8	3,2	0,174	0,015	460	
5	15,2	21,6	28,3	2,2	0,154	0,015	500	
6	22,7	37,5	50,0	8,4	0,193	0,020	428	
7	20,5	27,9	36,8	7,5	0,164	0,020	465	
8	15,3	22,4	29,0	1,5	0,154	0,020	492	
9	14,3	17,4	23,2	1,8	0,131	0,015	396	
10	28,0	37,7	47,0	[1,8]	0,139	0,015	380	390 (22°)
11	20,8	48,0	61,2	3,5	0,243	0,015	393	
12	20,7	37,5	51,5	10,0	0,216	0,035	405	
13	18,2	34,5	47,3	11,0	0,232	0,035	340	
14	28,5	40,0	53,7	15,3	0,180	0,025	363	
15	23,4	39,2	51,2	13,6	0,212	0,020	385	
16	23,6	34,3	43,5	1,9	0,152	0,015	452	
17	20,3	35,0	45,0	[1,9]	0,170	0,015	387	352 (14°) Einzelnr.
18	17,8	38,6	51,5	2,0	0,226	0,020	364	
19	15,9	23,8	31,1	2,0	0,168	0,020	330	
20	13,2	12,9	21,0	3,6	0,118	0,020	400	
21	12,9	42,6	63,0	4,9	0,358	0,035	305	
22	29,4	82,0	103,0	2,3	0,283	0,020	360	

Schenkelgewicht minus Knochen; Gesamtwasserwert (Gefäß mit Thermometer + Ringerlösung + Froschschenkel); korrigierter Temperaturanstieg; die gesamte Calorienproduktion, die durch Reizung hervorgerufen ist, daraus die entsprechenden cal pro 1 g Muskel, schließlich in der letzten Spalte die für die Anaerobiose der Vorzeit zu ergänzenden cal. B. Bei den Milchsäureversuchen ist angegeben: die auf Milchsäure verarbeitete Muskelmenge; die darin gefundene Menge Milchsäure und die Umrechnung auf die Muskelmenge des Wärmeversuchs, sowie die in der Ringerlösung enthaltene Menge; der Prozentgehalt an Milchsäure im ganzen, berechnet auf das Muskelgewicht, in der folgenden Spalte der prozentische Anfangsgehalt der Muskeln an Milchsäure, aus Kontrollbestimmungen ergänzt. Schließlich der cQ-Wert und in der letzten Spalte die Durchschnittszahl von cQ für jede Temperatur.

Bei Betrachtung der Tabelle sieht man, daß bei sehr verschiedenem Milchsäuregehalt von 0,10–0,36% die Werte für cQ im großen und ganzen dieselben sind. Noch näher liegen die Werte innerhalb jeder Serie beieinander, die größten Abweichungen betragen darin 25%. Auch zwischen teilweiser und vollständiger Ermüdung ist kein deutlicher Unterschied. Andererseits gewinnt man den Eindruck, daß geringe systematische Unterschiede zwischen den Serien vorhanden sind. Bei tiefen Temperaturen liegt der cQ-Wert etwas höher als bei hohen Temperaturen. Besonders auffällig ist, daß die Wärmebildung bei der Reizung mit Einzelschlägen geringer ist. Was das erstere anlangt,

so sind die Unterschiede doch nicht so groß, um die Fehlergrenze der Versuche deutlich zu überschreiten. Die Durchschnittszahlen in dem Bereich von $7,5^{\circ}$ – $22,5^{\circ}$ sind nur um 20%–25% voneinander verschieden und es ist noch darauf hinzuweisen, daß die hohen Werte bei 14° im Hochsommer erhalten wurden, wo wegen der hohen Zimmertemperatur die Korrektionsberechnung ziemlich schwierig ist, während im Oktober, wo die Zimmertemperatur nahe bei 14° lag, die Werte für 14° mit den Durchschnittszahlen von 22° fast übereinstimmen. Es ist mithin nicht sicher, aber immerhin wahrscheinlich, daß ein geringer Einfluß der Temperatur auf den cQ der Milchsäurebildung vorliegt¹⁾. Merkwürdiger noch ist die Herabsetzung des cQ-Wertes bei Einzelreizen. Auch hier ist der Unterschied nicht sehr groß, aber doch wahrscheinlich jenseits der Fehlergrenze, da auch in derselben Jahreszeit Differenzen zwischen beiden Serien vorkamen. Die schon im Kapitel 1 erörterte Möglichkeit, daß in diesen Fällen, wo bei erschöpfender Reizung ein besonders hohes Maximum erzielt wird, einige Prozent der aldehydbildenden Substanz nicht auf Milchsäure zu beziehen sind, könnte für den Unterschied kaum in Betracht kommen. Eine zweite Möglichkeit, die uns auch im nächsten Abschnitt noch einmal begegnen wird, ist die, daß der Erregungsprozeß selbst mit einer wenn auch nur geringen Wärmetönung verbunden ist, und die Zahl der wirksamen Erregungen bei Einzelreizung ist viel geringer als bei tetanischer; schließlich ist der kleinste Wert bei einem besonders hohen Milchsäuremaximum erhalten, und wenn auch zwischen mehr und minder weitgehender Ermüdung keine ausgesprochene Differenz vorliegt, so ist es auch schon auf Grund des kleineren Wertes bei Chloroformstarre und der im nächsten Kapitel beschriebenen Anaerobioseversuche wahrscheinlich, daß sehr erhebliche Milchsäurebildung mit geringen cQ-Werten einhergeht. Ob diese Faktoren zur Erklärung ausreichen, lasse ich dahingestellt.

Auch die Wärmebildung bei tetanischer Ermüdung ist schon von Peters gemessen worden²⁾. Peters ging, abgesehen von der thermoelektrischen Meßmethode, auch darin anders vor, daß er sechs kleine Froschschenkelpaare mit präparierten Nerven an einer Rührerscheibe befestigte, die Beine in halb mit Ringerlösung gefüllte Zylindergefäße hängte und durch Heben und Senken des Rührers einen Temperaturausgleich in der Flüssigkeit hervorrief. Die Anaerobiose ist dabei sehr

¹⁾ Für das Vorhandensein dieses Temperatureinflusses in dem gemessenen Umfang spricht, daß Weizsäcker einen ähnlichen Einfluß auf das Verhältnis Wärmebildung: isometrische Spannungsleistung beobachtet hat, was nach dem folgenden (vgl. Kap. III) wesentlich als Änderung des cQ der Milchsäure erklärt werden muß.

²⁾ A. a. O., S. 257 ff.

unvollkommen, und eine gewisse Wärmemenge kann, ja muß sogar oxydativer Natur sein. Dies ist wohl der Grund, daß seine Werte mit den meinigen nicht ganz so gut übereinstimmen wie bei der Chloroformstarre, sondern etwas höher liegen. In acht als weniger genau bezeichneten Versuchen findet er pro 1 g Muskel bei erschöpfender Reizung eine Wärmeproduktion zwischen 0,36 und 1,08 cal, im Mittel 0,78 cal, in acht als genauer betrachteten Versuchen im April und Mai 0,68 bis 0,94 cal (Versuchstemperatur 14—19°), darunter 5 mal über 0,9 cal. Meine Werte für tetanische Reizung, die ja sehr verschiedenen Milchsäuremaxima entsprechen, liegen im ganzen in einem ähnlichen Bereich zwischen 0,44 und 0,88 cal, die im Frühjahr bei entsprechender Temperatur wie die von Peters angestellten Versuche zwischen 0,6 und 0,75 cal, die kleineren Werte bei ihm sind also offenbar die richtigen. In anderen Versuchen mit ähnlicher Vorbehandlung und Reizung der Frösche hat Peters die Milchsäure (als Zinklactat) bestimmt, er findet in vier Versuchen 0,215—0,15%; wenn man die Werte entsprechend umrechnet, stimmen auch diese ganz gut mit den meinigen überein, schließlich aber hat er einen Ruhewert von 0,08% Milchsäure gefunden; zieht man diesen von seinen übrigen Werten ab, so erhält man allerdings erheblich kleinere Zahlen für die Milchsäurebildung und entsprechend einen zu großen Wert des cQ. Indes darf man annehmen, daß bei den Wärmeversuchen mit hohen Ausschlägen ähnlich große Ruhewerte, die auf starke vorhergehende Reizung der Muskeln deuten, nicht vorliegen. Damit dürften die Abweichungen seiner Ergebnisse aufgeklärt sein, welche bei ungenügender Berücksichtigung der Ursachen die Forscher zu unrichtigen Schlüssen veranlaßt haben und zu der Annahme, seine Wärmewerte wären, bezogen auf die Milchsäurezahlen, nicht etwa zu groß, sondern eher erheblich zu klein (vgl. dazu die folgende Arbeit).

4. Anaerobioseversuche bei Muskelruhe.

Die Messung der anaeroben Wärme- und Milchsäurebildung in der Ruhe ist frei von manchen Komplikationen der bisher geschilderten Versuche. Es genügt, die Schenkel in blausäurehaltiger Ringerlösung zu suspendieren und längere Zeit den Temperaturanstieg zu beobachten. Um große Ausschläge zu erhalten, wurden die Versuche etwa 24 Stunden fortgesetzt. Bei ununterbrochener Rührung kamen keine Temperaturänderungen des Thermostaten über 0,01° vor. Die Versuche stimmen auch unter sich gut überein. Die cQ-Werte sind ausgesprochen kleiner als in den bisher mitgeteilten Versuchen. Der Durchschnitt ist $cQ = 280$ cal. Dieser Befund gibt auch der nicht großen Differenz, die wir zwischen Chloroformstarre und Ermüdung fanden, eine größere Sicherheit. Der Starrewert liegt ziemlich genau in der Mitte zwischen den

beiden anderen. Wir finden bei 22° tetanische Reizung $cQ = 390$, Chloroformstarre $cQ = 340$, Anaerobiose $cQ = 280$. Die Versuche wurden mit abgehäuteten Fröschen angestellt, durch die ausgekochte mit Bicarbonat versetzte Ringerlösung Wasserstoff hindurchgeleitet und meistens noch Blausäure zugesetzt. Die Wärmebildung innerhalb der Versuchszeit bleibt ziemlich konstant, steigt höchstens gegen Ende etwas an (vgl. Abb. 6); dieser Anstieg geschieht etwa bei derselben Milchsäurekonzentration, bei der der Knick auf den Kurven von Fletcher

Abb. 6. Wärmebildung bei Anaerobiose in der Ruhe. (19. III.) Abszisse: Zeit in Std.: 25. stündiger Versuch. Ordinate: Temp. in $^\circ\text{C}$. Die ausgezogene Gerade $\times$ — $\times$ unkorrigierter Temperaturanstieg; die stark gestrichelte Linie $\bullet$ — $\bullet$ korrigierter Anstieg. Die feingestrichelte Horizontale die Thermostatentemp. (auf $0,01^\circ$ genau).

und Hopkins sichtbar ist. Jedenfalls ist Milchsäure- und Wärmebildung am Schluß der Versuche noch nicht abgeschlossen. Je nachdem Blausäure zugesetzt wird oder nicht, ist die stündliche Wärmeproduktion verschieden; im ersteren Fall etwas höher, offenbar wegen der durch die Alkaleszenz der Lösung beschleunigten Milchsäurebildung. Bei Verdoppelung der Blausäuremenge ($n/800$ statt $n/1600$) in Versuch 7, Tab. XV, ist daher die stündliche Wärmeproduktion noch mehr gesteigert und erreicht bereits in 20 Stunden den größten Wert, von da ab läßt die Wärmebildung wieder nach und ist in den folgenden 26 Stunden nur mehr $\frac{1}{3}$ so groß; dann ist also die Starre schon größtenteils abgelaufen. In Versuchen 1–4 ist gleichzeitig Wärme und Milchsäure, in Versuchen 5–7 nur erstere bestimmt worden.

Tabelle XV.

Wärme und Milchsäurebildung in der Anaerobie bei 22°.

A. Wärmebildung.

Nr.	Datum	Zahl der Schenkel	KCN-Zusatz	Muskel in g	Dauer des Versuchs in Std.	cm Ringer	Gesamt-wasserwert	corr. Temp. in 0,001° C	Cal.	Cal. pro 1 g	Cal. pro 1 g u. 1 h	Cal. pro 1 g für Anfangszeit
1	14. III.	2	—	57,4	22	170	247	220,5	54,5	0,95	0,044	0,04
2	19. III.	2	+	46,1	25	180	245	263	64,5	1,40	0,056	0,04
3	2. VI.	3	+	57,5	24	170	248	297	73,6	1,28	0,053	0,05
4	16. VI.	2	+	41,4	22,5	193	252	232	48,5	1,17	0,052	0,03
5	3. III.	3	—	67	21	166	250	247	62,0	0,98	0,044	0,04
6	5. III.	3	—	66,6	17	158	245	215	52,6	0,79	0,047	0,03
7	5. VI.	3	++	47,1	20,5 26,5	170 170	243 243	273 134	66,5 32,5	1,41 0,69	0,069 0,026	0,06 —

B. Milchsäurebildung.

Nr.	Verarb. Muskel	mg Milchs.	mg in Menge der Wärmevers.	mg im Ringer	% Milchsäure im ganzen	Ab % Anfangsgehalt	c Q
1	21,8	53,5	140	96,5	0,415	0,035	260
2	18,15	54	137,5	123	0,563	0,035	273
3	21,9	53,6	141	117	0,449	0,02	310
4	15,4	36	97	90	0,452	0,02	278

Durchschnitt **280**

Wenn wir die Bedeutung der gefundenen Zahlen diskutieren, erhebt sich zunächst die Frage, wie der Unterschied zwischen den cQ-Werten bei Ruheanaerobie und bei elektrischer Reizung zu erklären ist. A priori gibt es dafür mehrere Erklärungsmöglichkeiten. Zunächst ist wohl der Erregungsprozeß selbst mit einer besonderen wenn auch geringen Wärmetönung verbunden. Doch darf man es als ziemlich ausgeschlossen betrachten, daß die ganze Differenz, etwa $\frac{1}{4}$ der Kontraktionswärme, hierauf zu beziehen ist. In diesem Fall könnten die chemischen Vorgänge, die dem Erregungsprozeß entsprechen, nicht völlig verborgen bleiben. Eine zweite Erklärung, die einer kritischen Betrachtung noch weniger standhält, könnte die Arbeitsleistung des Muskels selbst dafür verantwortlich machen. Das wäre jedoch nur dann möglich, wenn die chemischen Vorgänge bei der Arbeit andere wären, als bei der Milchsäurebildung in der Ruhe; wenn also entweder das Ausgangsprodukt der Säure anderer Natur wäre, oder am Ende neben der Milchsäure andere Körper aufträten. In der Tat scheint es nach den Versuchen von Laquer, als ob z. B. bei der Wärmestarre neben der Milchsäure freie Phosphorsäure auftritt, bei der Reizung aber nicht, was wir vielleicht so deuten können, daß zwar auch bei der Kontraktion die Phosphorsäure frei wird, aber schon während des

Erschlaffungsvorganges wieder organisch gebunden wird. Ich werde aber in der folgenden Arbeit Versuche mitteilen, die es höchstwahrscheinlich machen, daß die chemischen Vorgänge bei der Milchsäureanhäufung in der Ruhe und bei der Arbeit identisch sind. Zu warnen ist vor dem Fehlschluß, als könnte die Arbeit als solche den Wärmewert der Milchsäurebildung verändern. Gewiß: Bei der Muskelzuckung wird die freiwerdende Energie in Spannung und Bewegung verwandelt und diese erst durch Reibung der Muskelfasern aneinander, an der Wand des Gefäßes usw. in Wärme. Aber bekanntlich kommt es nach dem 1. Hauptsatz auf den Weg der Energieumwandlung nicht an, nur auf Ausgangs- und Endzustand. Diese sind allein dadurch, daß Arbeit geleistet wurde, nicht verändert worden. Wir müssen uns dabei klar machen, daß die gemessene Wärme durchaus nicht die Wärme der physikalischen Zustandsänderung des Muskels bei der Spannungszunahme bzw. Verkürzung vorstellt und diese Größe auch gar nicht enthält. Diese ist weder hier noch von anderen Autoren gemessen worden, obwohl dies fälschlich oft so dargestellt worden ist. Der Verkürzungsvorgang verläuft dazu viel zu rasch, wir haben stets beide Tätigkeitsphasen zusammen, Kontraktion und Erschlaffung. Theoretisch könnte diese Wärmetönung höchstens in einzelnen Beobachtungen Hills enthalten sein, wo er mit einem Galvanometer von geringer Trägheit die Wärme etwas längerer Tetani gemessen hat, praktisch ist das aber auch nicht der Fall. Die einmalige Zustandsänderung zu Beginn kommt gegenüber der fortdauernden Energieproduktion, die für das Aufrechterhalten der Verkürzung erforderlich ist, gar nicht in Betracht und wird auch von der Erschlaffung nicht abgesondert. Was wir in allen Fällen messen, ist eine zusammengesetzte Wärme, bestehend a) aus der Wärmetönung der chemischen Reaktion, die zu Milchsäure führt, b) aus der Wärmetönung, die den Übergang der an bestimmten Stellen, den „Verkürzungsorten“, entstehenden Milchsäure in ihre schließlichen „Ermüdungsorte“, an denen sie sich ansammelt, begleitet. Diese Ermüdungsorte dürften wohl in der Hauptsache das ganze Sarkoplasma des Muskels sein. Ob dabei infolge genügend rascher Anhäufung der Milchsäure an den Verkürzungsorten eine Kontraktion ausgelöst wird, die beim Verlassen dieser Orte in Erschlaffung übergeht oder aber bei der Ruheanaerobiose die Milchsäure an den Verkürzungsorten infolge fortwährender Wegdiffusion niemals die für eine Kontraktion nötige Konzentration erreicht, dies muß für den cQ-Wert ganz gleichgültig sein. Man mißt stets nur die Wärme der „Ermüdung“, der Milchsäureanhäufung.

Aus allgemeinen Überlegungen kann man nur das folgende sagen: Wenn die Kontraktion durch eine bestimmte Milchsäurekonzentration an den Verkürzungsorten ausgelöst wird und durch die Wegdiffusion

an die Ermüdungsorte wieder verschwindet und dabei der Zustand des ganzen Systems vor und nach der Kontraktion völlig gleich ist bis auf die Milchsäureanhäufung, so kann dieser in physikalischem Sinne umkehrbare Prozeß, Verkürzung + Erschlaffung, sich nur abspielen, wenn die freie Energie derjenigen Vorgänge, die die Milchsäure an die Ermüdungsorte fixieren, mindestens so groß ist wie die, die physikalisch an den Verkürzungsorten entwickelt und bei der Erschlaffung rückgängig gemacht wird. Beispielsweise, wenn man die Kontraktion auf Quellung zurückführt, die durch H-Ion bewirkt wird, ließe sich die Entquellung nur durch Zufuhr freier Energie ermöglichen, die, falls sie nicht chemischer Natur ist, in irgendeiner „Absaugung“ des H-Ion von der Verkürzungsstelle zu suchen wäre; dasselbe wäre der Fall, wenn die Milchsäure die capillaren Eigenschaften der contractilen Substanz durch Oberflächenwirkung veränderte; dann wäre an eine Verdrängung bei der Erschlaffung zu denken. Allgemein könnte diese Rückgängigmachung nicht stattfinden, wenn nicht ein anderer freiwilliger Vorgang die nötige Arbeit dafür lieferte. An sich besitzt schon die Diffusion ein gewisses Maß freier Energie, doch wird das wahrscheinlich vermehrt werden durch Erhöhung des Konzentrationsgefälles infolge Neutralisierung, Wegadsorption und durch Quellungsbindung der Milchsäure im Sarkoplasma. Möglicherweise wird die Milchsäure auch aktiv von den Verkürzungsorten entfernt, z. B. verdrängt. Andererseits zeigen die Versuche Hills, die im nächsten Kapitel auf neuem Wege bestätigt werden, daß bei geeigneter Anordnung unter anaeroben Bedingungen die ganze Energie, die bei der Kontraktion frei wird, als Spannungsarbeit erhalten werden kann. Da der Vorgang vermutlich nicht viel mehr Arbeitsfähigkeit besitzt als Gesamtenergie, so kann bei der Energietransformation nirgends eine Vergeudung stattfinden und keine für den Erschlaffungsvorgang unnötige Energie bei dem Übergang der Milchsäure von den Verkürzungsorten zu den Ermüdungsorten auftreten. Bei dieser Beschränkung ist dann Erfordernis, daß die freie Energie und in ähnlicher Weise auch die Gesamtenergie des „Ermüdungsvorganges“ auch nicht wesentlich größer als die des Verkürzungsvorganges sein darf, sondern nur ebenso groß, um ihn gerade rückgängig machen zu können. Wir können mithin beide gleich setzen und kommen auf indirektem Wege zu der Annahme, daß die unbekannte Wärme der physikalischen Zustandsänderung bei der Verkürzung ähnlich groß sein wird wie die gemessene Wärme des ganzen Ermüdungsvorganges, abgesehen von dem thermochemischen Anteil, wobei dann die negative Wärme der Erschlaffung durch eine positive Wärme des Milchsäureentzuges gerade kompensiert würde.

Ist nun vom energetischen Standpunkt aus die anaerobe Milchsäureanhäufung von der Arbeitsermüdung nicht verschieden, abgesehen von

der kaum erheblichen Energie des Erregungsvorganges, so müssen wir nochmal fragen, worauf denn der Unterschied des cQ -Wertes beruhen kann. Ich möchte annehmen, daß er zu einem erheblichen Teil daher rührt, daß bei der Ruheanaerobiose fast die Hälfte der Milchsäure den lebenden Muskel verlassen hat und sich in der Ringerschen Lösung befindet. Diese Milchsäure ist also nicht mit Wärmeentwicklung an die „Ermüdungsorte“ fixiert worden und kann daher, da sie gleichsam über die Schleusen derselben in die Lösung ausgetreten ist, natürlich nur ebensoviel Wärme gebildet haben, als der chemischen Reaktion entspricht, der sie ihre Entstehung verdankt. Würde alle Milchsäure den Muskel verlassen und der Muskel andererseits seinen ursprünglichen Zustand wiedererlangt haben, so käme allein die chemische Reaktionswärme in Betracht. Für diese Überlegung spricht, daß, wenn wir aus der Differenz der cQ -Werte die Größe der chemischen Wärmetönung der Milchsäureentstehung abschätzen, wir ungefähr denselben Wert erhalten, der sich aus thermochemischen Daten ergibt. Wenn bei 22° sich bei Ermüdung für 1 g Milchsäure 390 cal, bei Anaerobiose 280 cal ergeben und im letzteren Fall etwa die halbe Milchsäuremenge nur mit ihrer chemischen Wärme (und der Neutralisation der Carbonate) auftritt, so würde die chemische Wärmetönung der Milchsäurebildung und Neutralisation allein etwa 150–200 cal betragen¹⁾. Wir finden in der Tat einen ähnlichen Wert, wenn wir auf Grund recht unzureichender Kenntnisse diese Wärmetönung berechnen. Auch wenn die Milchsäure unmittelbar aus Glucose oder Hexosediphosphorsäure entsteht, müssen wir als Ausgangsprodukt doch das Glykogen wählen, weil es gleichzeitig mit dem Entstehen der Milchsäure im Muskel verschwindet, denn nach den Feststellungen von Parnas und Wagner²⁾ nimmt der Glykogengehalt des Muskels bei vollständiger Ermüdung durch tetanische Reizung um etwa 2 mg pro 1 g Muskel ab, während eine ähnliche Menge Milchsäure auftritt. Zu der Reaktionswärme Glykogen-Milchsäure kommt dann noch die Neutralisation der Milchsäure durch Bicarbonat: $\text{CH}_3 \cdot \text{CHOH} \cdot \text{COOH} + \text{NaHCO}_3 = \text{CH}_3 \cdot \text{CHOH} \cdot \text{COONa} + \text{H}_2\text{CO}_3$. Diese Wärme hat Hill bestimmt zu 27 cal pro 1 g Milchsäure. Man geht wohl nicht fehl, für die Neutralisation durch Muskeleiweiß oder KCN eine ähnliche Größe anzunehmen. Die Spaltungswärme Glykogen-Milchsäure ist leider nicht sehr genau anzugeben. Besonders die Verbren-

¹⁾ Man könnte dagegen einwenden, daß der cQ bei Chloroformstarre nicht so stark herabgesetzt ist, obwohl noch mehr Milchsäure in die Ringerlösung übergetreten ist. Hier ist aber gleichzeitig auch ziemlich viel Eiweiß aus dem Muskel ausgetreten. Die Milchsäure dürfte größtenteils erst nach dem Absterben des Muskels ausgeschwemmt sein, nachdem sie irreversible Veränderungen in ihm hervorgerufen hat. Das könnte den Unterschied erklären.

²⁾ Biochem. Zeitschr. **61**, 387. 1914.

nungswärme der Milchsäure, die von Luginin¹⁾ aus der des Äthylesters berechnet ist, kann zu Zweifeln Anlaß geben. Vielleicht ist sie etwas zu groß²⁾. 0,9 g Glykogen + 0,1 g Wasser geben 1 g Milchsäure. Daraus ergibt sich $3772 - 3661 = 111$ cal; mit der Neutralisation durch Carbonat zusammen 140 cal. Wir erhalten mithin einen ähnlichen Wert wie den oben berechneten.

Daraus würde folgen, daß über die Hälfte der Kontraktionswärme, etwa 200 cal pro 1 g Milchsäure, nicht chemischen Ursprungs wäre, sondern auf die die Ermüdung begleitenden physikalischen Vorgänge im Muskel, Quellung, Adsorption, kolloide Zustandsänderungen und dergleichen zurückgeführt werden muß. Dieser Wert ist nicht unwahrscheinlich groß. Es ist nur etwas mehr als $\frac{1}{20}$ der Verbrennungswärme der Milchsäure. Es ist bekannt, daß der ermüdete Muskel aus isotonischer Ringerlösung 20—30% seines Gewichts Wasser aufnimmt. Man sieht daraus, daß der quellende Einfluß der Milchsäure auf das Muskelplasma nicht unbedeutend ist. Diese Zunahme des Wassergehalts des Muskels gibt natürlich keinen Anhaltspunkt für die Rolle der Milchsäure bei der Kontraktion; sie ist eine Begleiterscheinung der Ermüdung, nicht des Verkürzungsvorganges. — Ob nun diese Wärmerechnung zutreffend ist, wird sich erst bei genauerer Kenntnis sowohl der chemischen Wärmetönungen wie der sich im Muskel abspielenden Vorgänge sagen lassen. Es ist nicht ausgeschlossen, daß noch ein höherer Betrag, als er hier in Ansatz gekommen ist, auf rein chemische Vorgänge zurückzuführen ist. Aber trotz des hypothetischen Charakters dieser Erörterung und der Unsicherheit der Daten, auf die sie sich stützt, können wir vorläufig annehmen, daß von dem cQ-Wert bei Arbeitsleistung etwa 150—200 cal auf chemische und etwa ebensoviel auf physikalische Prozesse zu beziehen ist.

Kapitel III. Milchsäurebildung und isometrische Leistung.

Durch die Untersuchungen von Blix, Frank, Hill u. a. ist die Annahme gut begründet, daß der primäre Vorgang bei der Muskelzuckung die Entwicklung von Spannung ist. Die Verkürzung folgt sekundär. Der festgehaltene Muskel entwickelt nur Spannung; lassen wir ihn los im Moment, wo er das Maximum der Spannung erreicht hat, so verkürzt er sich. In diesem Fall ist die Zuckungswärme, wie Hill findet, genau ebenso groß, als wenn der Muskel sich nicht verkürzt. Nur solange der Muskel Spannung entwickelt, geht ein wärme-

¹⁾ Vgl. Landolt-Börnstein.

²⁾ Auf meinen Vorschlag hat Herr Professor W. Roth in Braunschweig in Aussicht genommen, in allernächster Zeit die Verbrennungswärme der Milchsäure neu zu bestimmen. Eine genauere Berechnung ist erst mit den dann erhaltenen Werten möglich.

bildender Prozeß in ihm vor. Es genügt daher, den Muskel isometrisch zucken zu lassen; leistet er dabei auch im thermodynamischen Sinn keine Arbeit, so können wir dies doch vom physiologischen Standpunkt aus als eine Arbeitsleistung auffassen, indem wir ausrechnen, wieviel Arbeit der Muskel geleistet haben würde, wenn er sich hätte verkürzen können. Die dazu nötigen Messungen hat Hill am Sartorius, Gracilis und Semimembranosus ausgeführt, indem er bestimmt hat, welche Spannung ein sich zunächst frei verkürzender Muskel entwickelt, wenn er auf verschiedener Länge festgehalten wird. So wurde ein Spannungs-Längendiagramm des gereizten Muskels gewonnen, von dem das des ungereizten (gedehnten) Muskels in Abzug gebracht wurde. Auf diesem Wege findet Hill, daß die potentielle Energie, die ein festgehaltener Muskel entwickelt, gleich $\frac{1}{6} \cdot T \cdot l$ ist, wo T die gemessene Spannung in g, l die Länge des Muskels in Zentimetern ist; bzw. in Calorien: $\frac{10^4 \cdot T \cdot l^1}{6 \cdot 4,27}$. Ich habe in einer

erheblichen Anzahl von Versuchen unter anaeroben Bedingungen die gesamte isometrische Leistung des Gastrocnemius bis zur Ermüdung mit der gleichzeitigen Milchsäurebildung verglichen. Da wir im vorigen Kapitel die Wärmetönung der Milchsäurebildung unter sehr ähnlichen Umständen bestimmt haben, können wir aus diesen Versuchen den „thermischen Wirkungsgrad“ des Muskels in der Anoxybiose berechnen. Die Ausrechnung geschah nach der Hillschen Formel. Auf gewisse allgemeine theoretische Bedenken derselben soll hier nicht eingegangen werden. Fraglich erscheint jedoch, wie sie auf den Gastrocnemius angewandt werden soll, da seine Fasern verschieden lang sind und nicht parallel verlaufen.

Nachdem ich zunächst willkürlich als mittlere Länge l die Länge des schlaffen Muskels benutzt hatte, welche 15—20% kleiner ist, als wenn er im Spannungshebel ausgestreckt wird, habe ich in einer Reihe von Versuchen nach dem Vorbild von Hill am Gastrocnemius das Spannungslängen-Diagramm aufgenommen. Das Verfahren war genau das von Hill beschriebene; dazu wurde der in Abb. 7 abgebildete Spannungshebel benutzt. Durch Drehen der Stellschraube konnte erreicht werden, daß der Muskel entweder direkt am Aufhängedraht zog oder sich über ein zwischen 0 und 6 mm wechselndes Bereich erst verkürzte, ehe er den Spannungshebel bewegte. In der Tat ergab sich, daß der unbekannte Faktor μ der Gleichung: potentielle Energie $= \mu T \cdot l$ recht genau $= \frac{1}{6}$ ist, wenn man als l die um 15% verringerte Länge des gespannten Muskels benutzt. Es wurde in 10 Versuchen an 7 verschiedenen Gastrocnemien Werte von $\frac{1}{\mu} = 6,3; 6,0; 5,7; 5,1; 7,7; 6,1; 6,2; 5,1; 6,8; 6,8$ gefunden, im Durchschnitt 6,2, wobei aber das Flächen

¹⁾ Journ. of Physiol. 46, 450. 1913.

andererseits durch den Messingstab zugeführt wurde. Der Messingstab war mit Schellack lackiert, damit der Strom erst an der Klemmschraube in die Lösung austrat. Der Spannungshebel war an seinem dem Muskelansatz gegenüberliegenden Ende abgeplattet und drückte hier gegen eine (auswechselbare) Feder aus Uhrfederstahl. Vor dem Versuch wurde der Hebel mit Gewichten an der Trommel geeicht. Die Anordnung war sehr bequem: durch eine Feinregulation konnte die Anfangsspannung leicht variiert werden. Der einzige Fehler dabei war eine ungenügende Stabilität, so daß vor allem die Anfangsspannung nachträglich nicht mehr genau gemessen werden konnte. Auch sonst konnten dadurch gewisse Ungenauigkeiten bei der Berechnung entstehen. Die Gesamtspannungsleistung wurde einfach durch Addition aller Spannungshübe berechnet, die mit den Eichungslängen verglichen wurden. Natürlich geschah das überschlagsweise, indem die mittlere Länge ganzer Reihen genommen wurde. Die periodische Reizung mit Einzelinduktionsschlägen geschah zum Teil durch einen am Sekundenzeiger einer Weckuhr befestigten achtstrahligen Stern aus Silberblech (in Ermangelung von Platin), welcher einen Platinkontakt berührte und so bei richtigem Rollenabstand achtmal in der Minute einen Öffnungsinduktionsschlag gab. Da diese Anordnung aber nicht regelmäßig genug funktionierte, benutzte ich meist ein Metronom, daß in der Mehrzahl der Versuche 40 Öffnungsschläge in der Minute gab. Da diese Frequenz für Versuche bei niedrigen Temperaturen zu hoch ist, wurde am Metronom ein seitlicher Quecksilberkontakt angebracht, mit dem die Zahl der Reize auf 20 in der Minute herabgesetzt werden konnte. Zur völligen Trennung der einzelnen Hübe ist zwar auch diese Frequenz bei ermüdeten Muskeln und niedrigen Temperaturen noch nicht ausreichend, aber doch genügend, um eine Ausrechnung der isometrischen Leistung zu ermöglichen.

Um in einem Teil der Versuche auch die Milchsäure bestimmen zu können, wurde (vor dem Einspannen) die Tibia im Kniegelenk abgetrennt und mit einem Knochenschaber sorgfältig gereinigt; denn durch Muskelfetzen könnten große Fehler bei der Milchsäurebestimmung hervorgerufen werden. Ein auf diese Weise präparierter Gastrocnemius ergab ohne Reizung 0,02—0,03% Milchsäure, also nur wenig mehr, als dem normalen Ruhewert entsprach. Zu einem großen Teil der Versuche dienten Temporarien, die häufig sehr hohe Milchsäuremaxima gaben.

An erster Stelle habe ich unter verschiedenen Umständen, Muskeln verschiedener Größe und Frösche verschiedener Herkunft mit den verschiedensten Milchsäuremaxima, die isometrische Gesamtleistung und die Milchsäuremenge verglichen. Nachdem die Gesamtspannung

in Gramm ausgewertet war, wurde sie mit $\frac{10^{-4} \cdot l}{6 \cdot 4,27}$ multipliziert und so

die potentielle Energie in Calorien ausgerechnet. Ebenso wird die Milchsäuremenge in Calorien umgerechnet, wobei ich als cQ -Wert für die isometrische Einzelzuckung 350 cal annahm. In allen auf diese Weise durchgeführten Versuchen lag der Wirkungsgrad der anaeroben Kontraktion zwischen 60 und 110%, ebenso wie bei den Versuchen von Hill am Sartorius. Der höchste Wert ist zweifellos zu groß, da der Vergleichsversuch mit dem andern Gastrocnemius einen Wirkungsgrad von 95% ergab, d. h. eine 15% geringere Arbeitsleistung bei genau gleicher Milchsäuremenge; offenbar ist also die Milchsäurezahl im ersten Fall fehlerhaft verkleinert; andererseits sind die kleinsten Werte von 60—70% unter besonderen Bedingungen mit mehrstündiger Ruhe-

anaerobiose erhalten, so daß die Milchsäurewerte dadurch etwas zu groß sind; danach liegt der Wirkungsgrad für alle normalen Versuche zwischen 74 und 104%. Bei Vergleich der Leistungsfähigkeit zweier Muskeln desselben Frosches bestand die Hauptunsicherheit darin, daß die Anfangsspannung nicht genau gleich gemacht werden konnte; nach Hill nimmt aber der Wirkungsgrad bei zunehmender Anfangsspannung etwas ab. Natürlich ist auch die Milchsäurebestimmung an Gastrocnemien unter lg nicht sehr genau. Doch kann so viel gesagt werden, daß bisher trotz aller Variationen keine erheblichen systematischen Änderungen der isometrischen Leistung einer bestimmten Milchsäuremenge nach elektrischer Reizung beobachtet wurden¹⁾. Alle Versuche mit gleichzeitiger Arbeitsmessung und Milchsäurebestimmung sind in Tab. 16 aufgenommen. Versuche mit demselben Datum sind stets an Gastrocnemien eines Frosches angestellt (zu Vergleichszwecken). Das Milieu ist kurz angedeutet. Außer bei den Versuchen in Wasserstoffatmosphäre ist stets Ringer + $\frac{n}{1600}$ KCN als Ausgangslösung anzunehmen.

Tabelle XVI. Isometrische Leistung und Milchsäurebildung in der Anaerobiose.

Nr.	Datum	Frosch- art	Temp. Grad	Milieu	Gew. d. Mus- kels g	Milch- säure mg	Milch- säure %	Länge des M. in mm	Zahl der Hübe	Gesamt- spannung in kg	Aus Milch- säure ber. Cal.	Aus Spanng. $\times$ Länge : Cal.	Wirkungs- grad in %
1	26. VII.	Esc.	17	Ringer-Bic.	0,7	2,1	0,30	26?	?	51,9	0,665	0,53	75
2	31. XII.	Temp.	17	—	0,7	2,75	0,39	26	990	70,2	0,96	0,71	74
3	31. XII.	"	17	ohne KCN	0,7	2,4	0,35	26	700	71,8	0,84	0,73	(87) ²⁾
4	8. I. 20	Esc.	18	Bicarb.	0,9	2,3	0,255	32	675	61,9	0,81	0,77	95
5	8. I.	"	18	Phosphat	0,9	2,3	0,255	32	770	71,7	0,81	0,89	110
6	10. I.	"	18	H ₂ -atm.	1,05	2,5	0,235	34?	570	64,7	0,88	0,86	98
7	13. I.	"	19	Phosphat	1,35	4,5	0,335	35	1060	92,5	1,58	1,26	80
8	13. I.	"	19	Bicarb.	1,35	4,0	0,30	35	950	89,5	1,40	1,22	87
9	24. I.	Temp.	ca. 16	H ₂ -atm.	0,85	2,35	0,28	30	530	54,3	0,82	0,64	78
10	26. I.	"	13	Phosphat	0,82	2,45	0,30	30	500	49,5	0,86	0,58	67 ³⁾
11	26. I.	"	13	Bicarb.	0,82	3,35	0,41	30	710	60,4	1,20	0,71	60 ³⁾
12	9. II.	"	17	H ₂ -atm.	0,6	2,1	0,35	26	1015	75,6	0,74	0,77	104
13	12. II.	"	16	"	0,52	1,87	0,36	26	550	56,0	0,65	0,57	88
14	12. II.	"	16	Ringer-Bic.	0,52	1,7	0,33	26	890	51,5	0,59	0,52	88
15	28. II.	Esc.	8	—	1,0	2,8	0,28	28	585	67,3	0,99	0,735	74
16	28. II.	"	24	—	1,0	3,42	0,34	28	880	85,9	1,20	0,935	78
17	6. III.	"	8	—	1,0	2,75	0,275	29	500	77,0	0,96	0,88	91
18	6. III.	"	25	—	1,0	3,45	0,345	29	1095	110,0	1,21	1,24	102
19	10. III.	"	9	—	1,0	2,95	0,295	28	545	73,0	1,03	0,82	80
20	10. III.	"	27	—	1,0	3,25	0,325	28	775	102,1	1,13	1,11	98

¹⁾ Versuche mit Narkotica, bei denen solche Änderungen auftreten, werde ich in einer späteren Arbeit mitteilen.

²⁾ Keine volle Anaerobiose.

³⁾ Ruhemilchsäurebildung vgl. Text.

Aus den Zahlen der Tab. XVI können wir auch die Milchsäuremenge, die bei einer einzelnen Muskelzuckung gebildet wird, berechnen. Ein Muskel von 0,85 g Gewicht und 30 mm Länge kann z. B. bei einer maximalen isometrischen Zuckung eine Spannung von gut 200 g entwickeln, bis zur Ermüdung entwickelt er 55 kg und enthält 2,3 mg Milchsäure, auf eine Zuckung von 0,2 kg entfallen somit etwa 0,008 mg Milchsäure.

Außerdem wurde noch in einer Reihe von Versuchen die isometrische Gesamtleistung der beiden Gastrocnemien eines Frosches miteinander verglichen, wobei das Milieu und die Temperatur variiert wurden.

2. Milieuversuche: In Ringerlösung mit und ohne KCN (und ohne Bicarbonat) war die Gesamtleistung gleich; der Milchsäuregehalt im letzteren Fall um 15% kleiner. Dies dürfte daher rühren, daß ohne Blausäure eine geringfügige Erholung stattfinden kann, wobei etwas Milchsäure verschwindet. Andererseits ist die anaerobe Gesamtleistung in saurer Ringerlösung etwas geringer als in Gegenwart von Alkali (KCN). Der Vergleich von blausäurehaltiger Ringerlösung mit Bicarbonat und mit Phosphat gab, wie bereits oben erwähnt, nur einen geringen Unterschied. In Übereinstimmung mit der Theorie Embdens über die Beteiligung der Phosphorsäure an der Muskelaktion fand Frl. Neugarten, daß in Gegenwart von neutralem Phosphat die isotonische Leistung der Muskeln bis um 180% erhöht sein kann¹⁾. Bei isometrischer Erschöpfung habe ich eine ähnliche Differenz niemals beobachtet, doch scheint ein, wenn auch nur geringer, günstiger Einfluß des Phosphats vorhanden zu sein. Es wurde auf 3 Teile Ringerlösung 1 Teil Phosphat benutzt, meist $\frac{1}{10}$ m (carbonathaltiges) Na_2HPO_4 ; in einigen Versuchen (7 u. 10) der Tabelle wurde $\frac{1}{8}$ des Phosphats durch KH_2PO_4 ersetzt. Die Zunahme des K-Ions ist vielleicht dann schon etwas groß, so daß die beiden Versuche nicht sehr beweiskräftig sind. Bei Vergleich mit blausäurehaltiger Ringerlösung ohne Bicarbonat ergab sich einmal eine Mehrleistung durch Phosphat von fast 40%; viel geringer aber bei Vergleich von Ringerlösung + Bicarbonat + KCN und Ringerlösung + Phosphat + KCN. Die Differenzen betrugen hier um 10% und durchschnittlich ebensoviel bei Bestimmung der Milchsäuremaxima in beiden Fällen. Da die anaerobe Ermüdung nur etwa $\frac{3}{4}$ Stunde beansprucht, lag der Gedanke nahe, daß die Zeit für das Eindringen des Phosphats nicht ausreicht, und es wurden deshalb zwei Gastrocnemien, nachdem sie teilweise ermüdet waren, mehrere Stunden in Bicarbonat- bzw. Phosphatlösung (mit KCN) suspendiert und erst dann erschöpft. Das Ergebnis war umgekehrt, die Leistungsfähigkeit in Phosphat hatte sich stärker verringert, was jedoch vielleicht an der Schädigung durch das hier mitverwandte Kaliumphosphat lag (Versuch 10 u. 11).

¹⁾ Arch. f. d. ges. Physiol. **175**, S. 94. 1919.

Auch zwischen anaerober Erschöpfung in Ringerlösung und Wasserstoffatmosphäre waren keine erheblichen Unterschiede der Arbeitsleistung und des Milchsäuregehalts vorhanden bzw. schwankten nach beiden Seiten. In Tab. XVI Nr. 13 und 14 ist ein derartiger Versuch angeführt.

3. Temperaturversuche.

Schon im ersten Kapitel ist auf das Verhalten des Muskels bei Temperaturwechsel hingewiesen. Ein Muskel wird bei 8° und abnehmendem Rollenabstand bis zur Erschöpfung gereizt. Nachdem er keine isometrischen Zuckungen mehr zeigt, wird er auf 20–25° erwärmt und ist nun noch zu einer Serie von Kontraktionen befähigt. Aus diesem Versuch sehen wir also, daß die Arbeitsfähigkeit der Muskeln durch Temperaturänderungen gleichsinnig wie das Milchsäuremaximum beeinflusst wird. Indes hat es ein besonderes Interesse, auch die absolute Größe der Arbeitsleistung mit der Milchsäurebildung bei verschiedenen Temperaturen zu vergleichen im Hinblick auf neuere Untersuchungen von Weizsäcker¹⁾. Weizsäcker fand nämlich noch bestimmter als schon Hill vor ihm²⁾ eine Ausnahme von der Regel, daß die initiale Wärme bei der isometrischen Muskelzuckung der Spannung proportional ist, in dem Sinn, daß die Wärme bei tieferen Temperaturen im Verhältnis zur Spannung größer ist als bei hohen. Allerdings nahm bei tiefen Temperaturen nicht nur die Wärme, sondern gleichzeitig die Spannung bei einer maximalen Zuckung etwas zu, aber sehr viel weniger. Zwischen

1° und 22° verringerte sich das Verhältnis $\frac{\text{Wärme}}{\text{Spannung}}$ pro 10° Temperaturerhöhung um etwa 40%. Es erhebt sich die Frage, wird hier bei niedriger Temperatur relativ mehr Milchsäure bei gleicher Spannungsleistung frei oder ist die Milchsäurebildung bei niedriger Temperatur mit einer größeren Wärmetönung verbunden? Dies letztere ist offenbar, wie aus dem vorigen Kapitel hervorgeht, in gewissem Umfang der Fall. Doch beträgt der Unterschied auf jeden Fall weniger; auf 15° bestenfalls 25%. Es war deshalb noch zu untersuchen, ob bei niedrigen Temperaturen auch mehr Milchsäure pro Einheit der entwickelten Spannung frei wird als bei hohen. Dies ist nun ebenfalls, wenn auch nur in geringem Maß, zwischen 8° und 25° der Fall. In Versuch 15, 16; 17, 18; 19, 20 sind drei Vergleiche von Milchsäure und isometrischer Gesamtleistung verzeichnet, die bei diesen beiden Temperaturen einen etwas verschiedenen „Wirkungsgrad“ der Milchsäure ergaben, und zwar bei der tieferen um 5, 11, 18% herabgesetzt.

¹⁾ Journ. of physiol. **48**, 396. 1914, und Sitzungsber. d. Heidelberger Akad., Abt. B, 1917.

²⁾ Journ. of physiol. **44**.

Mehrere andere Versuche, in denen bei zwei Temperaturen nur die Spannungsleistungen zweier Gastrocnemien desselben Frosches verglichen wurden, ergaben Unterschiede, die etwa den in Tab. IX verzeichneten Unterschieden des Milchsäuregehalts entsprechen. Vgl. Tab. XVII. Nur in einem Versuch war der Unterschied beträchtlicher, doch gestattet dies natürlich keinen genauen Vergleich. Nun lassen sich zwar unsere Resultate mit den von Hill und Weizsäcker an einzelnen Zuckungen gewonnenen nicht ganz streng vergleichen, weil hier stets das Integral der ganzen isometrischen Arbeit bis zur Ermüdung genommen wird. Bei der Ermüdung nimmt aber nach Hill das Verhältnis von Spannung : Wärme ebenfalls ab, und hier könnten z. B. Unterschiede in dem Sinne bestehen, daß der ermüdete Muskel bei tieferen Temperaturen relativ günstiger arbeitet als bei hohen. So viel ergibt sich jedenfalls aus meinen Versuchen, daß das Verhältnis Milchsäure : isometrische Leistung durch Temperaturänderungen zwar erkennbar, aber doch nur wenig verändert wird und daß die Änderung des Wirkungsgrades zum größeren Teile auf die Änderung der Wärmetönung der Milchsäurebildung, die wir im vorigen Kapitel betrachtet haben, bezogen werden muß (die aber in Tab. XVI absichtlich unberücksichtigt gelassen ist). Die Addition beider Effekte würde das Resultat Weizsäckers auch quantitativ gut erklären.

Tabelle XVII.

Vergleich der anaeroben Spannungsleistung bei zwei Temperaturen.

Nr.	Datum	Frosch- art	Gewicht des Gastrocn.	Tiefe Temperatur			Hohe Temperatur		
				Temp. Grad	Zahl d. Hübe	Spann. in kg	Temp. Grad	Zahl d. Hübe	Spann. in kg
1	17. IX.	Esc.	1,05	10—15	?	52,8	25	?	63,2
2	24. II. 20	Temp.	0,5	7	380	44,9	22	565	52,6
3	25. II. 20	Temp.	0,46	8	320	33,4	24	715	67,7
4	28. II. 20	Esc.	1,0	8	585	67,3	24	880	85,9
5	6. III. 20	Esc.	1,0	8	500	77,0	25	1095	110,0
6	10. III. 20	Esc.	1,0	9	545	75,0	27	775	102,1

Zusammenfassung.

1. In der vorliegenden Arbeit wird die absolute Größe der anaeroben Milchsäurebildung im Froschmuskel bei Ruhe, elektrischer Reizung und Starre behandelt; ferner die Wärmeproduktion und Arbeitsleistung, die einer bestimmten Menge Milchsäure entsprechen.

2. Mit einer Methodik, die eine vollständige Extraktion gewährleistet, ergibt sich bei der Chloroformstarre ein Gehalt von 0,4—0,6% Milchsäure im Muskel in Abhängigkeit der Jahreszeit und in einem gewissen Parallelismus zum „Ermüdungsmaximum“.

3. Dieses Ermüdungsmaximum ist nicht, wie bisher angenommen wurde, ganz konstant, sondern unter bestimmten Umständen veränderlich: wird ein Muskel statt tetanisch mit Einzelschlägen bis zur Erschöpfung gereizt, so ist das Ermüdungsmaximum bedeutend höher, ganz besonders bei solchen Fröschen, die überhaupt hohe Maxima aufweisen. Bei diesen beträgt z. B. das Einzelreizmaximum 0,35 bis 0,4% Milchsäure, während das tetanische Maximum gleichzeitig 0,22 bis 0,24% beträgt. Die Maxima sind unabhängig von Dauer und Stärke der Reize, wenn diese nur so lange appliziert werden, bis der Muskel auf den betreffenden Reiz fast nicht mehr anspricht. Dies liegt daran, daß annähernd der maximale Milchsäuregehalt sehr schnell erreicht wird; durch einen 40 Sekunden langen Tetanus, bzw. durch 300 Einzelschläge wird schon über die Hälfte des jeweiligen Maximums an Milchsäure gebildet. Weitere Veränderungen werden durch die Temperatur und durch die Jahreszeit hervorgerufen. Zwischen 0° und 25° nimmt das Milchsäuremaximum mit steigender Temperatur zu. Bei 22° gegenüber 7° z. B. ist das Maximum um 20–30% erhöht. Ferner unterliegt das Maximum Schwankungen durch die Jahreszeit. Am deutlichsten ist das Herabgehen im Winter bei Herbstfröschen, die hungernd im Keller gehalten werden. So sank z. B. bei Hungerfröschen der gleichen Herkunft zwischen Anfang Oktober und Ende Januar das tetanische Maximum von 0,22% auf 0,16%, das Einzelreizmaximum von 0,34% auf 0,23%. In allen Fällen geht die mechanische Leistungsfähigkeit des Muskels der Milchsäurebildung parallel. Eine letzte Variation betrifft die isometrische und die isotonische Muskelzuckung. Im ersten Fall ist das Maximum um 15–30% geringer in Übereinstimmung mit dem Hillschen Befund der verringerten Wärmebildung. — In der Ruhe findet unter anaeroben Bedingungen bei 22° eine stündliche Wärmeproduktion von etwa 0,02% Milchsäure statt.

4. Bei gleichzeitiger Messung von Milchsäure- und Wärmebildung ergibt sich als „calorischer Quotient“ (cQ) der Milchsäure (cal pro 1 g Milchsäure) bei Chloroformstarre und drei Temperaturen (14, 22, 27,5°) in 6 Versuchen durchschnittlich 340 cal, bei Ermüdung durch tetanische Reizung bei 7,5° (2 Versuche) durchschnittlich 470 cal, bei 14° (9 Versuche) 435 cal, bei 22° (6 Versuche) 390 cal, endlich bei Einzelreizen und 14° (5 Versuche) 352 cal. Ein gewisses Steigen des Wertes bei Erhöhung der Temperatur ist danach sehr wahrscheinlich, aber wegen der Fehlerbreite der Versuche doch nicht als absolut sicher zu bezeichnen. Ähnliches gilt von der noch ausgesprochenen Verkleinerung des cQ bei Einzelreizen, die nicht ganz leicht zu deuten ist. Bei unvollständiger Ermüdung ist der Quotient unverändert. Erheblich kleiner ist er bei Ruheanaerobie, in 4 Versuchen bei 22° ergaben sich durchschnittlich 280 cal. Die wahrscheinlichste Erklärung dieser Abwandlung ist,

daß neben einer vermutlich geringfügigen Wärmebildung des Erregungsprozesses vor allem der teilweise Übertritt der Milchsäure aus dem Muskel in die Ringerlösung eine Verkleinerung der Quotienten bedingt. Unter Zugrundelegung dieser Erklärung ergibt sich ebenso wie aus thermochemischen Daten, daß vermutlich 150 cal (bis 200 cal) chemischen Ursprungs, der Rest auf physikalische Vorgänge, die die Ermüdung begleiten, zurückzuführen ist. Diese letzteren betragen dann vermutlich $\frac{1}{15} - \frac{1}{20}$ der Verbrennungswärme der Milchsäure (3660).

5. Bei Vergleich der durch isometrische Einzelzuckungen geleisteten Gesamtarbeit des Muskels mit der anaeroben Milchsäurebildung ergibt sich, wenn wir für letztere $cQ = 350$ cal ansetzen, daß etwa 75—100% der initialen Wärme in Spannungsarbeit überführt wird; das entspricht recht genau Hills direkten Bestimmungen am Sartorius. Das Verhältnis isometrische Arbeit : Milchsäure erleidet durch Änderungen des Milieus (Wasserstoffatmosphäre, blausäurehaltige Ringerlösung, Phosphatzusatz) keine ausgesprochenen Veränderungen. Auch die absolute Größe beider Werte ist in den verschiedenen Milieus ziemlich gleich, wird höchstens durch Phosphatzusatz geringfügig gesteigert, während durch Erhöhung der Temperatur, wie schon unter Nr. 2 angegeben, das Milchsäuremaximum und die Gesamtleistung ansteigen, aber die letztere etwas stärker (zwischen 8° und 25° 10—15%). Weizsäckers Feststellung, daß das Verhältnis von isometrischer Leistung : Wärme bei steigender Temperatur günstiger wird, beruht jedenfalls zum größeren Teile auf der Verringerung des Wärmewertes der Milchsäure bei steigender Temperatur.