

(Aus dem chemischen Laboratorium des Pathologischen Instituts zu Berlin.)

## Ueber den Einfluss einiger Eiweisskörper auf Glycogenlösungen.

Von

Dr. med. **Heinrich Schwiening.**

In meiner Arbeit über fermentative Prozesse in den Organen (Virchow's Archiv Bd. 136, S. 444) habe ich einige gelegentliche, sehr auffällige Beobachtungen über die Bildung von Zucker aus Glycogen angeführt. Wässrige Abkochungen von frisch verarbeiteter Leber oder auch Alkoholfällen von solchen Auszügen, aufs Neue in Wasser gelöst, welche Glycogen, aber nur minimale Spuren von Zucker enthielten, wurden mit Chloroform gesättigt bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Nach einigen Wochen gaben diese Lösungen — selbstverständlich vorher vom Chloroform befreit — stets positive Trommer'sche Probe. Es hatte sich also aus Glycogen Zucker gebildet, trotzdem das ursprüngliche Leberferment durch Aufkochen vernichtet worden war. Glycogenlösungen dagegen mit Chloroformzusatz bei Zimmertemperatur oder im Brütöfen aufbewahrt, zeigten auch nach wochenlangem Stehen keine Zuckerreaction.

Diese Versuche erinnerten an alte Versuche von Abeles<sup>1)</sup>, sowie von Seegen und Kratschmer<sup>2)</sup>, nach welchen in durch Auswaschen mit Wasser von Zucker ganz oder nahezu vollkommen befreiten Leberrückständen, wenn man sie stehen lässt, sich aufs Neue Zucker bildet. Seegen und Kratschmer führten diese Erscheinung darauf zurück, dass sich aus den Eiweisskörpern der Leber diastatisches Ferment neu gebildet habe und verallgemeinerten diese Beobachtung dahin, dass Eiweisskörper überhaupt die Eigen-

---

1) Abeles Beitrag zur Lehre von den saccharificirenden Fermenten im thierischen Organismus. Oester. Medic. Jahrbücher. II. Heft, 1876.

2) Seegen und Kratschmer, Beitrag zur Kenntniss der saccharificirenden Fermente. Pflügers Archiv Bd. 14, S. 593 ff.

schaft haben, in Folge der Bildung eines diastatischen Fermentes in Glycogenlösungen Zuckerbildung zu bewirken, sofern von den Eiweisskörpern etwas in Lösung geht, im anderen Falle aber nicht. Sie zogen diesen Schluss aus Versuchen, bei welchen sie coagulirtes Eialbumin, Serumalbumin, Casein und Fibrin mit Glycogenlösungen stehen liessen. Von den ersten drei Körpern ging nachweislich etwas in Lösung über, von dem Fibrin dagegen nicht. In den ersten drei Mischungen fiel die Trommer'sche Probe stets positiv aus, in der vierten negativ. Ich wiederholte diese Versuche mit Eialbumin, sterilisirte aber die Lösungen durch einige Tropfen Chloroform; in all diesen Versuchen blieb das Resultat negativ — es hatte sich auch keine Spur von Zucker gebildet, während Versuche, die nicht steril angestellt wurden, positive Reductionsreaction ergaben. Ich schloss aus diesen Versuchen, dass das Auftreten von Zucker in den Seegen-Kratschmer'schen Versuchen von einer Bacterienwirkung abhängig sei, wie ja von den verschiedensten Spalt- und Schimmelpilzen eine saccharificirende Thätigkeit bekannt ist. Wird die Entwicklung und Wirksamkeit der Bacterien gehemmt, so tritt auch kein Zucker auf. Auch Dastre<sup>1)</sup> kommt durch Versuche, welche er mit Leberauszügen gemacht, zu dem Resultat: „Les fermentations glycosiques sont le résultat de l'activité des microbes“.

In meiner schon citirten Arbeit habe ich ferner angegeben, dass Chloroform die Lösung des Eialbumins verhindere. Ich hatte damals die gewöhnliche Kochprobe mit folgendem Säurezusatz zum Eiweissnachweis angewandt, welche vollständig negativ blieb. Bei später wiederholten Versuchen benutzte ich die Salzsäure-Phosphorwolframsäure-Reaction und bekam nun auch in den mit Chloroform sterilisirten Filtraten von Eialbuminsuspensionen positive Eiweiss-Reaction, während mittelst der Kochprobe, ja auch der Essigsäure-Ferrocyankali-Reaction kein gelöstes Eiweiss mehr nachzuweisen war. Es gehen also doch, wenn auch nur in Spuren, gewisse Mengen von Eialbumin in sterilisirtem Wasser in Lösung, ohne dass sie eine saccharificirende Wirkung ausgeübt hätten. Ich versuchte die anderen Eiweissarten, mit denen Seegen-Kratschmer operirten, und fand bei Casein und Serumalbumin ähnliche

1) A. Dastre Recherches sur les ferments hépatiques. Archiv de physiologie. 1888. pag. 70.

Resultate: Einige Gramm dieser Substanzen, mit Chloroformwasser stehen gelassen, lassen nur Spuren in Lösung gehen, welche durch Phosphorwolframsäure sehr leicht, durch Essigsäure-Ferrocyan Kali schwerer, durch Kochen mit Säurezusatz meist gar nicht nachweisbar sind, während ohne Chloroformzusatz bedeutende Mengen in Lösung gehen.

Das Fibrin, welches nach Seegen-Kratschmer vollkommen unlöslich sein soll, löste sich jedoch sowohl in gewöhnlichem destillirtem Wasser als auch in Chloroform rasch in solchen bedeutenden Mengen, dass die Kochprobe evidente Reaction zeigte. Diese Widersprüche, welche sich zu den Angaben Seegen-Kratschmer's als auch meinen früheren ergaben, liessen es mir nöthig erscheinen, diesem Gegenstande — der saccharificirenden Eigenschaft der Eiweisskörper — noch einige weitere Versuche zu widmen. Ich will in Folgendem kurz über dieselbe referiren, trotzdem sie, wie ich von vorn herein bemerken will, zu keinem entscheidenden Resultat geführt haben. Leider scheint man überhaupt auf dem eingeschlagenen Wege in dieser meiner Meinung nach durchaus nicht unwichtigen Frage zu keinem entscheidenden Ziele gelangen zu können. Da jedoch meine neuen Versuche mit meinen früheren Angaben über dasselbe Thema nicht ganz übereinstimmen, ich aber zu meinem Bedauern durch anderweitige dienstliche Arbeit verhindert bin, die Versuche in veränderter Form fortzusetzen, so glaubte ich, dieselben der Oeffentlichkeit auch so übergeben zu sollen. Hoffentlich ist es mir später wieder möglich, mich mit vorliegender Frage, wenn sie nicht bis dahin entschieden sein sollte, weiter zu beschäftigen.

Ich habe nun Versuche angestellt, wie sich andere Sterilisierungsmethoden der Lösung der Eiweisskörper und der dadurch bedingten Saccharification von Glycogenlösungen gegenüber verhielten. Und zwar wählte ich die einfachste und sicherste Methode, die Sterilisirung im strömenden Dampf, ca.  $\frac{3}{4}$ —1 Stunde lang.

Einige Gramm der vier schon genannten Eiweissarten (Eieralbumin und Serumalbumin wurden stets frisch coagulirt, Casein und Fibrin, gekocht und in Chloroformwasser aufbewahrt, stammten aus der Sammlung des Laboratoriums) werden in kleinen, 100 ccm fassenden Erlenmeyer'schen Kölbchen mit Wasser übergossen, mit Wattepfropf verschlossen und theils so bei Zimmer-

temperatur stehen gelassen, theils im strömenden Dampf sterilisirt<sup>1)</sup>. Nach ca. 24–48 Stunden ist in allen Portionen Eiweiss in Lösung gegangen. Von auscoagulirtem Eialbumin hat sich am wenigsten sowohl in sterilen wie in nicht sterilen Proben, gelöst, sodass nur die Phosphor-Wolframsäure-Reaction positiv ausfällt, von Casein ist am meisten in Lösung gegangen.

Nachdem also die, wenn auch geringe Löslichkeit sämmtlicher 4 Eiweisskörper auch in sterilisirtem Zustande constatirt war, wurden folgende weiteren Versuche angestellt:

In den kleinen Erlenmeyer'schen Kölbchen wurden meist ca. 50 ccm einer  $\frac{1}{2}$ –1 % Glycogenlösung mit Eiweiss in Substanz versetzt, die Kölbchen mit Wattepfropfen gut verschlossen und dann sterilisirt, resp. ohne vorheriges Sterilisiren bis zur Untersuchung auf gebildeten Zucker bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Zur Untersuchung auf Zucker wurden die Lösungen dann sorgfältig filtrirt.

Um nun eine Einwirkung der beiden, in den Kölbchen vorhandenen Substanzen während des Erhitzens zu vermeiden, stellte ich weitere Versuche folgendermassen an:

Eiweiss in Substanz wird im Kölbchen in Wasser suspendirt; dann wird die abgeschnittene untere Hälfte eines Reagenzglases, in welchem sich einige Cubiccentimeter einer etwas stärkeren Glycogenlösung befanden, mittelst eines Glasstabes vorsichtig in das Kölbchen gesenkt und durch den in sein Lumen hineinragenden Glasstab in aufrechter Stellung gehalten und am Umfallen verhindert, sodass eine Vermischung mit dem Inhalt des Kölbchens nicht stattfinden kann; darauf wird letzteres mit einem Wattepfropf, welcher den Glasstab umschliesst, fest verschlossen und so sterilisirt; nach dem Erkalten wird durch Emporziehen des Glasstabes das kleine Reagenzglas umgeworfen und dadurch beide Lösungen mit einander vermischt.

Dass von dem Eiweiss, welches in Substanz zu den Glycogenlösungen hinzugefügt war, auch etwas in Lösung ging, hatten die vorher erwähnten Versuche sicher gestellt.

---

1) Von allen sterilisirten Proben wurden vor der Verwendung Stichproben auf Nährgelatine abgeimpft: die Gelatineröhrchen blieben stets steril, während die mit nicht sterilisirten Portionen geimpften Röhrchen immer eine mehr oder minder reichliche Bacterienentwicklung zeigten.

In den Glycogenlösungen selbst war der Nachweis von Spuren von Eiweiss nicht ganz leicht; die feinste Reaction mit Phosphor-Wolframsäure konnte nicht benutzt werden, weil es sich zeigte, dass dieselbe unter Umständen auch Glycogen ausfällt. So geringe Trübungen, wie sie die gewöhnlichen Eiweiss-Reactionen erzeugen, sind aber in den, schon an sich opacen Lösungen des Glycogens nur schlecht zu beobachten. Jedoch gelang es stets auch mit Essigsäure und Ferrocyankalium nach einigem Stehen eine stärkere Trübung der Lösung zu constatiren.

Weiterhin setzte ich nicht Eiweiss in Substanz zu den Glycogenlösungen, sondern löste direkt in den Spuren von Albumin enthaltenden Filtraten der Eiweiss Suspensionen die entsprechende Quantität Glycogen und behandelte dann diese Mischungen ebenso wie die anderen Versuche, d. h. sterilisirte sie oder liess sie ohne Sterilisation bei Zimmertemperatur stehen. Auch diese Filtrate sterilisirte ich — nach der oben angegebenen Weise — getrennt von den Glycogenlösungen, ehe ich beide Substanzen mischte.

Die Zuckerreactionen wurden stets mit frisch bereiteter Fehling'scher Lösung angestellt, von welcher zur Controle immer eine Probe allein erhitzt wurde. Ein directes Ausfallen von  $Cn_2O$  konnte nicht immer beobachtet werden. Ich habe jedoch eine eigenthümliche, gelblich-röthliche Färbung der Lösung als positive Reaction angesehen, welche davon herrührt, dass der Niederschlag in der Flüssigkeit schwebt, und ihr so im reflectirten Licht dies eigenthümliche, von dem früheren ganz verschiedene Aussehen verleiht.

Ich will jetzt die Resultate der Versuche folgen lassen :

Wie ich schon oben bemerkte, haben die Versuche zu keinem einheitlichen Resultate geführt; es ist sowohl in den sterilisirten als in den nicht sterilisirten Portionen eine reduzierende Substanz entstanden, ohne dass man eine Regelmässigkeit herauszufinden vermochte.

I. Versuche, in denen Eiweiss in Substanz mit Glycogenlösungen vermischt wurden :

1) Eieralbuminzusatz :

In 12 Versuchen, von denen 5 ohne Sterilisirung, 5 mit Sterilisirung, 2 mit getrennter Sterilisirung und nachträglicher Wirkung angestellt wurden, ist in allen Zucker gebildet.

2) Caseinzusatz, 7 Versuche:

2 ohne Sterilisirung: in beiden positive Reaction;  
von 3 mit Sterilisirung geben 2 positive, 1 negative Trom-  
mersche Probe;

2 getrennt sterilisirt ergeben 1 positiven, 1 negativen Ausfall  
der Reaction.

3) Fibrinzusatz, 6 Versuche:

Von 2 nicht sterilisirten Mischungen zeigt 1 Zuckerbildung,  
1 nicht;

von den übrigen 2 sterilisirten und 2 getrennt sterilisirten  
Mischungen ist nirgends Zucker gebildet.

4) Serumalbuminzusatz, 6 Versuche:

2 Mischungen nicht steril: beide negativ;

2 steril: 1 negativ, 1 positiv;

2 getrennt steril: beide negativ.

II. Versuche, in denen die Filtrate der Eiweiss suspensionen mit  
Glycogenlösungen vermischt wurden:

1) Eieralbuminfiltrat, 13 Versuche:

6 Mischungen nicht steril: alle 6 positiv;

8 steril: 4 positiv, 4 negativ;

1 getrennt sterilisirt: negativ.

2) Caseinfiltrat, 16 Versuche:

7 Mischungen nicht sterilisirt: alle 7 positiv;

7 steril: 6 positiv, 1 negativ;

2 getrennt sterilisirt: beide positiv.

3) Fibrinfiltrat, 9 Versuche:

3 Mischungen nicht sterilisirt: 2 positiv, 1 negativ;

3 steril: alle 3 negativ;

3 getrennt sterilisirt: negativ.

4) Serumalbuminfiltrat, 6 Versuche:

2 Mischungen nicht sterilisirt: 1 positiv, 1 negativ;

2 steril: beide negativ;

2 getrennt sterilisirt: beide negativ.

Wenn man auch vielleicht erkennen kann, dass Eieralbumin-  
zusatz einen stärker saccharificirenden Einfluss ausübt, als Fibrin  
und Serumalbumin, so ist doch von einer Regelmässigkeit nirgends  
die Rede. Am constantesten sind noch die Verhältnisse bei dem  
Fibrin; hier ist wirklich stets nur in nicht sterilisirten Proben  
eine reducirende Substanz gebildet, aber auch da nicht einmal

immer, in einigen Fällen ist auch hier keine positive Reaction zu erlangen gewesen.

Eine Erklärung dieser, etwas complicirten Resultate zu geben, bin ich nicht im Stande. Jedenfalls ist ein hemmender Einfluss der Sterilisation im strömenden Dampfe im Allgemeinen nicht anzunehmen, wenngleich ja, wie aus den angeführten Versuchsprotocollen ersichtlich ist, ein öfteres Auftreten einer reducirenden Substanz in den nicht sterilisirten Mischungen gegenüber den sterilen nicht zu verkennen ist; am constantesten sind in dieser Beziehung, wie schon oben gesagt, Fibrin und Serumalbumin.

Ist nun wirklich den gelösten Eiweissstoffen diese saccharificirende Eigenschaft zuzuschreiben? Ich sehe dann nicht ein, warum in einem immerhin grossen Theil der Versuche kein Zucker gebildet ist.

Dass das Eiweiss übrigens eine gewisse Rolle bei der Saccharification spielt, geht daraus hervor, dass Einwirkung von Microorganismen in unsterilisirten Glycogenlösungen allein oder das Sterilisiren derselben ohne Eiweisszusatz keine reducirende Substanz ergibt.

Ist nun mit den gelösten Eiweissstoffen irgend eine Umwandlung vor sich gegangen, einmal durch die Einwirkung der Bakterien, das andere Mal durch die Erhitzung im strömenden Dampf? Wie ja überhaupt den höheren Temperaturen gerade bei den hydrolytischen Spaltungen gewisse Einflüsse zugeschrieben werden müssen. Auch so ist aber die grosse Unregelmässigkeit selbst bei denselben Eiweissarten unverständlich. Es müssen also bei den in Frage stehenden Umwandlungen noch gewisse andere Factoren mitsprechen, über welche die bisherigen Versuche noch keine Aufklärung zu geben im Stande waren.

---

Herrn Professor Dr. E. Salkowski spreche ich auch an dieser Stelle für das freundliche Interesse, welches er meinen Untersuchungen entgegengebracht, und die liebenswürdige Ueberlassung der Mittel des von ihm geleiteten Laboratoriums meinen verbindlichsten Dank aus.

---