

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Kiel
und der zoologischen Station in Neapel.)

Über Hemmung von Fermentreaktionen durch indifferente Narkotika ¹⁾.

Von

Otto Meyerhof.

(Mit 10 Textfiguren.)

Zellatmung und Gärung lassen sich, wie O. Warburg mit seinen Schülern feststellte ²⁾, durch indifferente Substanzen nach derselben Regel hemmen, die Hans Meyer ³⁾ und E. Overton ⁴⁾ für die Gehirnnarkose von Kaulquappen fanden. Diese Regel besagt, dass die Wirkungsstärke einer grossen Zahl von Substanzen unabhängig von ihrer besonderen chemischen Natur und den damit verknüpften Eigenschaften ist und nur beherrscht wird von ihrer Stellung in einer homologen Reihe, derart, dass mit dem Aufsteigen in der Reihe die Wirkung zu- bzw. die hemmende Konzentration eines Stoffes abnimmt. Mit dem Aufsteigen in der homologen Reihe ändern sich gleichsinnig verschiedene bekannte physikalische Eigenschaften der Stoffe; so nimmt z. B. der Siedepunkt zu, die Dielektrizitätskonstante ab, der Teilungskoeffizient Öl:Wasser nimmt zu, ebenso die Oberflächenspannung erniedrigung Wasser gegen Luft.

1) Die Ergebnisse des ersten Teiles der Arbeit (Versuche an Invertase) sind bereits auf dem intern. Physiologenkongress in Groningen (Sept. 1913) vorgetragen.

2) O. Warburg, Atmung von Vogelerthrocyten. Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 69 S. 452. 1910. — O. Warburg und R. Wiesel, Bakterien. Pflüger's Arch. Bd. 144 S. 465. 1912. — Usui, Leberzellen, Zentralnervensystem vom Frosch. Pflüger's Arch. Bd. 147 S. 100. 1912. — Dorner, Gärung von Hefezellen. Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 81 S. 100. 1912.

3) Hans Meyer, Schmiedeberg's Arch. Bd. 42 S. 109. 1899. — Baum, Schmiedeberg's Arch. Bd. 42 S. 190. 1899.

4) Overton, Studien über die Narkose. Jena 1901.

Von diesen Eigenschaften machen Hans Meyer und Overton bekanntlich den Teilungskoeffizienten Öl : Wasser, die „Lipidlöslichkeit“, für die Wirkungsstärke verantwortlich. Unter der Annahme, dass in den Lipoiden der Angriffspunkt der Narkotika zu suchen ist, würde damit folgen, dass diese Stoffe an ihrem Wirkungsorte in äquimolekularer Konzentration annähernd gleich wirksam sind. Andererseits sieht I. Traube¹⁾ in der Zunahme der Oberflächenaktivität der Stoffe mit dem Aufsteigen in der Reihe den Grund für die Hemmungsfolge: Je mehr ein Stoff die Oberflächenspannung des Wassers gegen Luft und damit auch gegen die angrenzende Plasmahaut verringert, um so leichter soll er in die Zelle eindringen, und hiermit soll sein narkotischer Effekt zunehmen (wobei die „Geschwindigkeit“ der Diosmose von dem erreichten „Gleichgewicht“, das allein für die hemmende Konzentration entscheidend ist, nicht deutlich getrennt wird). Warburg hat bereits gelegentlich darauf hingewiesen, dass die Lipoidtheorie die Beeinflussung der chemischen Reaktionen in der Zelle, der Atmung und Gärung, nicht anschaulich erklärt und auch den Erscheinungen quantitativ nicht gerecht wird²⁾. Zugleich deuten Befunde, die er gemeinsam mit Wiesel erhoben hat, in eine andere Richtung³⁾: Ebenso wie die Gärung in lebenden Zellen wurde auch die Presssaftgärung nach dem Gesetz der homologen Reihe gehemmt, und es traten hierbei Niederschläge auf, deren Stärke deutlich dem Grad der Hemmung entsprach. Indem es sich hier um die Hemmung eines Ferments, der Zymase, handelt, wurde die Vorstellung nahegelegt, dass eine in der Fällung zum Ausdruck kommende Oberflächenverkleinerung der kolloid gelösten Zymase (bzw. eines ihrer Bestandteile) die Abschwächung ihrer Wirkung verursacht. — Nun haben Versuche von Warburg und mir⁴⁾ aus jüngster Zeit die Annahme sehr wahrscheinlich gemacht, dass auch die Sauerstoffatmung ein durch

1) Siehe unter anderem Pflüger's Arch. Bd. 105 S. 541 u. 559. 1904; Bd. 132 S. 511. 1910.

2) Es müsste z. B. nach dem Verhältnis der Teilungskoeffizienten Öl: Wasser Isobutylalkohol 180 mal so stark wirken als Äthylalkohol; er wirkt aber nur zirka zehnmal so stark. Phenylurethan müsste etwa 4000 mal so stark wirken wie Äthylurethan (Urethan), wirkt aber nur 100 mal so stark.

3) Pflüger's Arch. Bd. 144 S. 465. 1912.

4) O. Warburg und O. Meyerhof, Pflüger's Arch. Bd. 148 S. 295. 1912. — Vgl. auch O. Warburg in Asher-Spiro Bd. 14 S. 253. 1914.

Enzyme hervorgerufener (oder beschleunigter) chemischer Prozess ist, und so lag es nahe, auch die Atmungshemmung durch indifferente Stoffe als eine Enzymbeeinflussung aufzufassen.

Aus diesem Grunde erschien es mir wichtig, zu untersuchen, ob die indifferenten Narkotika imstande sind, allgemein Fermentreaktionen reversibel zu hemmen, und zwar nicht nur die „energieliefernden“ enzymatischen Reaktionen, wie Atmung und Gärung, sondern auch gewöhnliche gut bekannte Fermentprozesse, für die die Rohrzuckerinversion durch Invertase als geeignetes Versuchsbeispiel dienen konnte. Studien an diesem Prozesse konnten ferner Einblick in den physikalischen Mechanismus der Hemmungen verschaffen, und eine weitere Aufgabe war es dann, die Ergebnisse dieser Versuche für die Erklärung der Atmungs- und Gärungshemmung in lebenden Zellen heranzuziehen¹⁾.

In dem ersten Teil der folgenden Arbeit ist gezeigt, dass die Rohrzuckerinversion durch Invertase in der Tat von den indifferenten Narkotica in der gleichen Reihenfolge reversibel gehemmt wird wie Atmung und Gärung, wenn auch eine Reihe von Unterschieden bestehen, die zum Teil näher untersucht wurden. Es liess sich unter anderem durch Versuche an adsorbierter Invertase sehr wahrscheinlich machen, dass die Narkotika den physikalischen Zustand des Ferments direkt beeinflussen.

Im zweiten Teil wird gezeigt, dass der Dispersitätsgrad verschiedener Eiweisslösungen (bestimmt am osmotischen Druck) durch Zusatz von Narkotika noch in relativ hohen Konzentrationen nicht verringert wird.

Im dritten Teil der Arbeit wird die Hemmung der Atmung von befruchteten und unbefruchteten Seeigelleiern sowie der Sauerstoffzehrung des Saftes der mechanisch zerstörten Eier und des Acetonpulvers aus Eiern bearbeitet, und es liess sich hier ein Übergang von der Hemmung lebender Zellen

1) Inzwischen sind einige Arbeiten von anderer Seite erschienen, die im Anschluss an die Feststellungen Warburg's die Hemmungen von Oxydasen durch Substanzen der homologen Reihe behandeln. Diese Hemmungen sind aber im Gegensatz zu den hier behandelten irreversibel; die Oxydasen werden zerstört. — Vgl. Vernon, Journ. of Phys. vol. 45 p. 197. 1912. — Biochem. Zeitschr. Bd. 47 S. 374. 1912. — Batelli und Stern, Biochem. Zeitschr. Bd. 52 S. 226 und 253. 1913.

bis zu fast völliger Wirkungslosigkeit der narkotischen Substanzen gegenüber dem Acetonpulver aufdecken.

I. Teil.

Versuche an Invertase.

1. Methodische Vorbemerkungen.

Die Benutzung der Invertase als Versuchsobjekt empfahl sich wegen der einfachen und exakten quantitativen Messung des Inversionsverlaufs mittels der Polarisierung, der Leichtigkeit, das Ferment in grossen Mengen gleichförmig herzustellen, und wegen seiner weitgehend erforschten — wenn auch noch nicht völlig aufgeklärten — Reaktionskinetik.

Die Invertase wurde ähnlich der Vorschrift von Michaelis hergestellt¹⁾. Presshefe wurde mit der gleichen Menge Chloroformwasser (1 ccm Chloroform auf 100 ccm Wasser) 5–6 Tage unter gelegentlichem Umrühren im Eisschrank stengelassen, die Flüssigkeit durch Zentrifugieren von den Hefezellen möglichst befreit und dann (eventuell unter schwachem Ansäuern mit Essigsäure) das Eiweiss durch Kaolinzusatz ausgefällt (20 g Kaolin auf 100 ccm Extrakt). Die Flüssigkeit wurde so lange durch Faltenfilter filtriert, bis eine völlig klare, schwach gelblich gefärbte Lösung resultierte. Die so gewonnene Menge Invertaselösung wurde mit überschüssigem Chloroform im Eisschrank aufgehoben und reichte meistens mehrere Wochen lang für die Versuche aus. Ausser einigen besonders angegebenen Versuchen wurde die Invertase nicht weiter gereinigt, sondern stellt in dieser Form einen fast eiweissfreien, wässrigen Auszug aus Hefe dar, der reichlich Salze enthält.

Vor jedem Versuch wurde aus der zu benutzenden Invertaselösung das Chloroform durch längeres Durchleiten von Sauerstoff entfernt. Andererseits wurde 20%ige Rohrzuckerlösung in Soxhlet-Flaschen, im Autoklaven sterilisiert, vorrätig gehalten. Zu der entsprechend verdünnten Rohrzuckerlösung wurde eine gewisse Menge Citrat-Salzsäuregemisch nach Sørensen²⁾ zugegeben, damit die H⁺-Ionen-Konzentration nach Zugabe des Invertins 10^{-4} bis $10^{-4.5}$ betrug, was nach Sørensen²⁾ sowie nach Michaelis und Davidsohn³⁾

1) Abderhalden's Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden Bd. III 1 S. 7.

2) Biochem. Zeitschr. Bd. 21 S. 131. 1909.

3) Michaelis u. Davidsohn, Biochem. Zeitschr. Bd. 35 S. 386. 1911.

dem Optimum der Invertasewirkung entspricht und ausserdem gleichartige Bedingungen schafft. Der Vergleich der H^+ -Ionen-Konzentrationen geschah mit einer Citratreihe nach Sørensen (Indikator Methylorange).

Abgesehen von einigen Versuchen bei 42° fanden die Zuckerinversionen in einem Wasserthermostaten von 29° statt. Dafür waren in eine Reihe von Kölbchen die Gemische: Rohrzucker — Citrat — dest. Wasser mit (bzw. als Kontrolle ohne) Zusatz der narkotischen Substanzen gefüllt, derart, dass die Rohrzuckerkonzentration in allen Kolben genau gleich war, und wurden dann im Thermostaten vorgewärmt; es wurde dann schnell in jedes Kölbchen die gleiche abgemessene Menge Invertaselösung hineinpipettiert, kräftig umgeschüttelt und sofort aus jeder Mischung eine bestimmte Flüssigkeitsmenge in bereitstehende 0,2 m Na_2CO_3 enthaltende Kölbchen zurückpipettiert. Dann wurden die Versuchskolben wieder in den Thermostaten gehängt und nach Ablauf einer bestimmten Zeit, meist einer Stunde oder 80 Minuten, wieder eine Portion in Na_2CO_3 pipettiert, und dies eventuell noch zum drittenmal später wiederholt. Bei den höheren Zuckerkonzentrationen wurden je 10 ccm mit 8 ccm Sodalösung vermischt, bei den kleineren meist 15 ccm mit 6 ccm Soda; das Nähere ist bei den einzelnen Versuchen und bei den im Anhang angefügten Versuchsprotokollen angegeben. Dieses Eintragen in Sodalösung bringt die Zuckerinversion zum Stillstand und beseitigt zugleich die Multirotation der Glukose¹⁾. Nach dem Vermischen mit Sodalösung wurde mindestens eine Viertelstunde gewartet und dann die Drehung im 2-dm-Rohr mit einem Lippich'schen dreiteiligen Halbschattenapparat bestimmt²⁾. Die Rohre waren mit einem Wassermantel versehen, damit während der Bestimmung die Temperatur möglichst konstant blieb (Zimmertemperatur). Die Temperatur während der Bestimmung musste für die Berechnung der Gesamtdrehung berücksichtigt werden. Aus der ersten Bestimmung der unmittelbar nach dem Vermischen mit Invertase abpipettierten

1) Vgl. C. S. Hudson, Journ. Americ. Chem. Soc. vol. 30 p. 1160 and 1564. 1908. — Siehe auch Landoldt, Optisches Drehungsvermögen organischer Substanzen, 2. Aufl., S. 241. 1898.

2) Zu einem grossen Teil der Messungen konnte die bequeme von Beckmann beschriebene Natriumlampe mit Sauerstoffmantel benutzt werden. Berl. Ber. Bd. 45. 1912.

Rohrzuckerlösung und der zweiten späteren ist durch Extrapolation der Anfangswert des Drehungswinkels gewonnen (nur um einige hundertstel Grade von dem der ersten Bestimmung verschieden) und aus diesem Anfangswert (a) die Gesamtdrehung (g) nach der Formel $g = a(1 + 0,427 - 0,005 t)$ berechnet (t : Temp. in $^{\circ}$ C.). Zu jedem gemessenen Winkel während der Drehung wird $a(0,427 - 0,005 t)$ hinzuaddiert, um den noch nicht invertierten Rohrzuckeranteil gegenüber dem Gesamtwert der Drehung zu ermitteln. Die Anfangskonzentration (c) des Rohrzuckers berechnet sich dagegen, abgesehen von der Verdünnung durch Soda, die entsprechend berücksichtigt werden muss, für das 2-dm-Rohr und 20° C. nach der Formel $c_{20} = 0,7520 \alpha_{[20]}$. Ausser der Temperatur sind noch die zugesetzten Narkotika von Einfluss auf die spezifische Drehung des Zuckers und daher auch für die Berechnung des Umsatzes von Bedeutung. Wie zuerst Jodin¹⁾ feststellte, wird die spezifische Drehung des Invertzuckers durch Äthylalkoholzusatz sehr stark verändert, die des Rohrzuckers nur wenig. Für die in dieser Arbeit benutzten Konzentrationen kann die Beeinflussung der Rohrzuckerdrehung ausser Betracht bleiben. Dagegen wurde die Drehungsänderung des Invertzuckers — d. h. des Inversionsgemisches nach vollendeter Invertierung — ermittelt, die durch Zusatz der Narkotika (Alkohole, Ketone, Urethane) verursacht wird. Bei Invertzuckerkonzentrationen von 2,5—5 % im Polarisationsrohr, die ungefähr den Konzentrationen während der Ablesungen in den Versuchen entsprechen, ergibt sich angenähert, dass pro ein Gewichtsprozent Alkohol (Methyl-, Äthyl-, Propyl-, Isobutyl-, Gärungsamylalkohol) oder Keton (Aceton, Methylpropylketon) die spezifische Drehung des Invertzuckers um etwa 1 % verringert wird, für Konzentrationen zwischen 3 % und 20 % der zugesetzten Stoffe. Die Urethane dagegen haben nur einen ganz geringfügigen Einfluss. Da bei 20° C. die Drehung des Invertzuckers etwa ein Viertel der „Gesamtdrehung“ bei der Inversion ausmacht, so muss zu der bei der Ablesung erreichten Drehungsänderung 0,25 % ihres Wertes pro 1 % des im Rohr vorhandenen Alkohols oder Ketons hinzuaddiert werden, um die wahre Umsatzgrösse zu finden. Diese Korrektur ist in den erforderlichen Fällen angebracht worden. Ebenso sind die Invertase-

1) Compt. rend. t. 58 p. 613. 1864. — Vgl. Landoldt, Optisches Drehungsvermögen S. 528. 1898.

lösungen und die zugesetzten Substanzen auf Eigendrehung geprüft worden und hierfür in einzelnen Fällen geringfügige Beträge abgezogen worden.

Einige Versuche mit 0,2%iger und 0,3%iger Rohrzuckeranfangskonzentration wurden nach der titrimetrischen Zuckerbestimmung von Bertrand angestellt¹⁾. Zur Berechnung der absoluten Zuckerkonzentrationen müsste die für Glukose geltende Tabelle (Abderhalden's Handbuch S. 183) für Invertzucker umgerechnet werden, dessen Reduktionsverhältnis gegen Fehling'sche Lösung im Vergleich zu Glukose nach Soxhlet gleich $\frac{101,2}{105,2}$ ist.

Da aber 342 g Rohrzucker 360 g Invertzucker bilden, so gilt für die Einheit des verschwundenen Rohrzuckers auf Grund der Messung der Invertzuckerreduktion das Reduktionsverhältnis $\frac{101,2}{105,2} \times \frac{360}{342} = 1$.

Man kann daher die Zahlen der Tabelle direkt benutzen. Bei Gegenwart von viel Rohrzucker und wenig Invertzucker treten bei der Kupferreduktion gewisse Ungenauigkeiten auf²⁾. Für meine Versuche erwies sich als störend, dass bei Urethangegenwart geringe Mengen Kupferoxyduls nicht erscheinen. Es mussten daher für jeden Versuch Doppelbestimmungen gemacht werden, derart, dass bei der Bestimmung der ersten Kontrollösung kein Urethan zugegeben wurde, zu einer zweiten Kontrollösung aber so viel Urethan, als in der dritten Probe, in der „narkotisierten“ Versuchslösung, bei der Inversion und nachherigen Bestimmung anwesend war. Die aus der Differenz der ersten und zweiten Kontrollprobe ermittelte Korrektur für die nicht erschienene Cu_2O -Menge wurde dann auch zu den Zahlen der dritten, „gehemmten“ Lösung hinzuaddiert. Auch so sind die Messungen nicht als sehr genau zu betrachten.

Die exakte Berechnung der Invertasehemmungen durch die zugesetzten Substanzen ist nicht ganz leicht. Die Rohrzuckerinversion durch Invertase verläuft weder, wie O. Sullivan und Thompson³⁾ meinten, nach der Formel der monomolekularen Reaktion, noch ist die Geschwindigkeit in gleichen Zeiten konstant, unabhängig von der Konzentration der zerfallenden Moleküle, wenn dies letztere auch,

1) Vgl. Abderhalden's Handb. Bd. 2 S. 181.

2) Siehe Barendrecht, Zeitschr. f. physikal. Chem. Bd. 49 S. 456. 1904.

3) Journ. chem. Soc. vol. 57 p. 834. 1890.

wie Brown¹⁾ und Duclaux²⁾ annahmen, in einem gewissen Konzentrationsbereich theoretisch zu erwarten wäre und nur durch die Anwesenheit des Invertzuckers verhindert würde, dagegen z. B. für den Anfangsteil des Inversionsverlaufs (nach Michaelis etwa ein Fünftel) annähernd zutreffen soll! In Wirklichkeit liegt der Verlauf bei der hier benutzten Rohrzuckerkonzentration, Temperatur, Azidität und Salzgehalt der Lösung stets zwischen diesen beiden Extremen³⁾, d. h. die nach der Formel der monomolekularen Reaktion berechnete „Konstante“ der Reaktionsgeschwindigkeit steigt während der Inversion langsam an.

Da es nicht angängig ist, die Inversion im Rohr selbst stattfinden zu lassen, so war es auch nicht gut möglich, die zu einem bestimmten Umsatz erforderlichen Zeiten zu vergleichen. Es wurden deshalb aus der Anfangsmessung und einer zweiten, die zwischen einem Drittel und der Hälfte des Gesamtumsatzes liegt, für genau gleiche Zeiten die Geschwindigkeitskonstanten nach der Formel der monomolekularen Reaktion berechnet und aus der Differenz der Konstanten der gehemmten Inversionen und der Kontrolle die prozentischen Hemmungen bestimmt. Der hierbei begangene Fehler beträgt bei Hemmungen von 30 % nur etwa 2 %, ist bei kleinen Hemmungen entsprechend kleiner, bei grossen grösser; er ergibt sich daraus, dass die Konstante der Kontrolle, wenn sie nicht für den faktisch erreichten Umsatz, sondern für einen etwas kleineren bestimmt wäre, wie er von den „gehemmten“ Zuckerlösungen erreicht ist, einen etwas kleineren (mittleren) Wert gegeben haben würde. Die berechneten Hemmungen sind also alle um etwas zu gross, aber annähernd um den gleichen relativen Betrag, und der Fehler spielt daher für das Folgende keine Rolle. Unter Berücksichtigung der verschiedenen

1) Journ. chem. Soc. vol. 81 p. 373. 1902.

2) Mikrobiol. Bd. 2 S. 142. 1899. Zitiert nach Herzog in Oppenheimer, Fermente S. 215. 1910.

3) Vgl. dazu auch gegen die ursprünglich abweichende Darstellung von Sørensen (Biochem Zeitschr. Bd. 21 S. 131. 1908), Michaelis und Davidsohn, Biochem. Zeitschr. Bd. 35 S. 386. 1911, denen sich später Sørensen anschloss: Asher-Spiro Bd. 12 S. 472. 1912. — Neuerdings haben Michaelis und Menten, Biochem. Zeitschr. Bd. 49 S. 333. 1913, die Annahme von Brown, Duclaux, Henri, dass sich ein Additionsprodukt von Enzym und Rohrzucker bildet, für verschiedene Saccharosekonzentrationen rechnerisch durchgeführt und in gutem Einklang mit der Erfahrung gefunden.

Versuchungsungenauigkeiten, Berechnungsfehler, Ablesegenauigkeit und unter Umständen geringer Progressivität der Hemmungen ergibt sich für die Anfangszeit eine absolute Genauigkeit der prozentischen Hemmungen von etwa 5 %, eine Fehlerbreite, die auch bei Doppelbestimmungen mit Variierung verschiedener einflussloser Umstände nicht überschritten wurde.

2. Versuche mit Invertase in Lösung.

Es ergibt sich allgemein: Diejenigen Stoffe, die eine Gärungshemmung im Hefepresssaft bewirken, hemmen auch die Invertase. Die Reihenfolge der Wirkungsstärken ist dieselbe. Die Glieder der homologen Reihen, die wegen ihrer Schwerlöslichkeit wohl noch die Zellgärung, nicht mehr die Presssaftgärung hemmen, wirken auch nicht oder nur ganz unbedeutend auf die Geschwindigkeit der Zuckerinversion. Zugleich seien aber auch die Abweichungen von den Hemmungen der chemischen Zellreaktionen hervorgehoben, die aus den folgenden Tabellen ersichtlich sind. Erstens sind die für eine bestimmte prozentische Hemmung erforderlichen Konzentrationen noch grösser als bei der Presssaftgärung, die nach Warburg und Wiesel¹⁾ und Dorner²⁾ erst bei höheren Konzentrationen der Narkotika eintritt als in der lebenden Zelle. Zweitens folgen die Stoffe einer Reihe sehr viel dichter aufeinander. Auch die relative Hemmungsstärke der Stoffe verschiedener Reihen entspricht nicht stets den dort beobachteten Verhältnissen; dies wird zum Teil dadurch bedingt, dass die Reihen sich gegen Änderung der Rohrzuckerkonzentration verschieden verhalten. Die Hemmungsstärke der Urethane nimmt z. B. bei Verkleinerung der Rohrzuckerkonzentration ziemlich stark zu, die der Alkohole wenig oder gar nicht.

Endlich sei betont, dass im Gegensatz zur Zellatmung³⁾ und wahrscheinlich auch zur Presssaftgärung⁴⁾ die relative Wirksamkeit einer Substanz bei höherer Konzentration geringer als bei niedriger

1) Pflüger's Arch. Bd. 144 S. 465.

2) Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 81 S. 99. 1912.

3) Vgl. O. Warburg, Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 76 S. 331. 1912; insbesondere S. 333 ff. und die Kurven.

4) Siehe dazu Dorner, Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 81, die Tabelle S. 100. 1912.

ist: Die Stoffe zeigen ein Verhalten, wie es z. B. zu erwarten wäre, wenn man annimmt, dass die Hemmung auf der Adsorption der narkotischen Substanz an der Enzymoberfläche beruht und der adsorbierten Menge proportional ist. Besonders deutlich ergab sich dies bei der Prüfung von sechs verschiedenen Konzentrationen von Äthylalkohol innerhalb einer Versuchsserie. Es macht infolgedessen einen Unterschied, welche Hemmungen man zum Vergleich heranzieht. Im folgenden wurde als mittlerer Vergleich 30 % Hemmung gewählt.

Da die Hemmungen für die meisten Stoffe bei niederer Rohrzuckeranfangskonzentration grösser sind als bei hoher, so sind in der folgenden Tabelle für drei Saccharosekonzentrationen die gewichtsprozentischen und molekularen Konzentrationen angegeben, die etwa 30 % Invertasehemmung (bei 29° C.) entsprechen.

Tabelle I¹⁾.

| Etwa 30 % Hemmung wird erzielt | | | | | | |
|-------------------------------------|-----------------------|---------------------|-------------------------|---------------------|------------------------|---------------------|
| durch | f. ca. 9% Rohrzucker | | f. ca. 3% Rohrzucker | | f. ca. 0,2-0,3% Rohrz. | |
| | Gewichts- procente | molare Konzentr. | Gewichts- procente | molare Konzentr. | Gewichts- procente | molare Konzentr. |
| Methylalkohol . . | 8,5 | 3,0 | 8,5 | 3,0 | — | — |
| Äthylalkohol . . | 7,0 | 1,5 | 6,0 | 1,3 | 5,0 | 1,0 |
| Propylalkohol . . | 3,0 | 0,50 | 3,0 | 0,50 | — | — |
| Isobutylalkohol . | 2,3 | 0,31 | 2,0 | 0,27 | — | — |
| Gärungsamyl- alkohol | ca. 2,0 gesättigt | ca. 0,23 | ca. 1,8 fast gesätt. | ca. 0,21 | 1,5 | 0,4 |
| Methylurethan . . | 11,0 | 1,5 | 7,2 | 0,95 | 5,5 | 0,75 |
| Äthylurethan . . | 8,0 | 0,90 | 6,0 | 0,67 | 5,2 | 0,6 |
| Propylurethan . . | 6,0 | 0,58 | 5,0 | 0,48 | 3,0 | 0,3 |
| Isobutylurethan . | — | — | — | — | 2,5 | 0,2 |
| Asymm. Dimethyl- harnstoff . . . | 5,5 | 0,63 | 4,5 | 0,51 | — | — |
| Asymm. Diäthyl- harnstoff . . . | 5,0 | 0,45 | 4,8 | 0,43 | — | — |
| Aceton | 10,0 | 1,7 | 7,2 | 1,25 | — | — |
| Methylpropylketon | — | — | ca. 3,6 gesättigt | ca. 0,42 | — | — |

1) Versuchsprotokolle siehe im Anhang.

Es gilt in erster Annäherung: Bei 29° und innerhalb der ersten 1—2 Stunden wird die Kurve des Reaktionsverlaufs durch die meisten daraufhin geprüften Substanzen nicht verändert, d. h. die Stoffe wirken nur quantitativ auf die Geschwindigkeit der Reaktion, aber ändern nicht das Gesetz des Inversionsverlaufs.

Da dies Gesetz selbst nicht bekannt ist, so kann man sich davon nur durch eine graphische Interpolation überzeugen¹⁾; dazu ist erforderlich, dass man ausser der Anfangsbestimmung noch mindestens zwei Umsätze für jede Versuchslösung bestimmt hat. Man zeichnet dann für den Kontrollversuch die Zeiten als Abszissen, die dazugehörigen Umsätze als Ordinaten in ein Koordinatensystem und gewinnt so die „Standardkurve“. Um die Kurve bei gehemmter Inversion hiermit vergleichen zu können, muss man für diese die Abszissenwerte umrechnen, derart, dass man als Abszisse nicht die Zeiten, sondern das Produkt aus Zeit mal relativer Geschwindigkeitskonstanten wählt (im Kontrollversuch ist also die Geschwindigkeitskonstante gleich 1 gesetzt). Die relativen Geschwindigkeitskonstanten erhält man am besten, wenn sich in den „gehemmten Kurven“ zufällig Punkte von ganz gleichem Umsatz wie im Kontrollversuch finden, indem man in diesem Fall die Geschwindigkeitskonstanten den Zeiten umgekehrt proportional setzt; wo dies aber, wie meistens, nicht möglich ist, berechnet man die Geschwindigkeitskonstanten für den ersten Umsatz nach der monomolekularen Reaktion und multipliziert dann alle Zeiten des „gehemmten“ Verlaufs mit der relativen Geschwindigkeitskonstanten, z. B. bei einer Hemmung von 22% mit 0,78, bei einer Hemmung von 39% mit 0,61. Fügen sich die Punkte der so umgerechneten Kurven bei der Einzeichnung in das Koordinatensystem der Standardkurve ein, so beherrscht alle dasselbe Gesetz.

Als Beispiel sind in folgender Fig. 1 die Kurven für 7,7% und 15,5% Methylurethan (9,5% Rohrzucker; 29°) entsprechend ausgerechnet; erstere ergibt 22,5% Hemmung; die Zeiten sind also mit 0,775 multipliziert; letztere entspricht 39% Hemmung und hat daher 0,61 als Zeitfaktor.

1) Vgl. dazu Michaelis und Davidsohn, Biochem. Zeitschr. Bd. 35 S. 398. 1911.

Die Abszisse der Standardkurve gibt die Zeit in Minuten an. Die Ordinate gibt die vorhandene Rohrzuckerkonzentration in abgelesenen Graden des Polarimeters; die Kurve verläuft also gegen

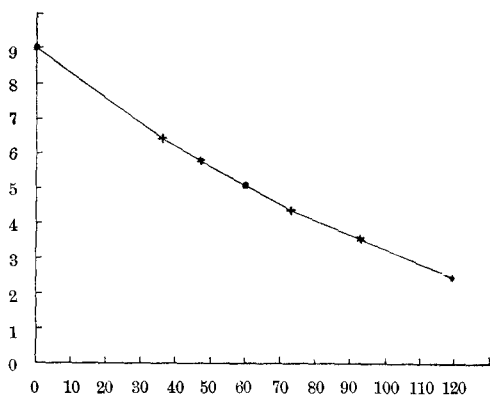


Fig. 1. • Kontrollversuch, * 7,7% Methylurethan, + 15,5% Methylurethan.

die Abszissenachse. Man sieht, dass die Punkte der „gehemmten Inversionen“ mit den Punkten des Kontrollversuchs auf einer Kurve liegen.

Abweichungen von diesem Verhalten finden sich in geringem Grade bei den Alkoholen, deutlich bei allen länger dauernden Inversionen und ferner stark ausgesprochen bei höherer

Temperatur: 42° statt 29°, und zwar stets in dem Sinne eines progressiven Verlaufs der Hemmung. Diese Zunahme der Hemmung ist in Übereinstimmung mit der progressiven Gärungshemmung im Hefepresssaft und mit der später beschriebenen Atmungshemmung des Saftes der Seeigelleier.

Wie bereits erwähnt wurde, nimmt die relative Wirkung höherer Konzentrationen der Stoffe in einer Weise ab, wie es mit der Annahme einer Adsorption in Übereinstimmung stehen würde. Zeichnet man z. B. für die sechs bei Äthylalkohol bestimmten Werte als Abszisse die Logarithmen der Konzentrationen, als Ordinate die Logarithmen der Hemmungen auf, so erhält man eine fast gerade, ganz schwach gegen die Abszissenachse konkave Linie, wie sie bei Adsorptionen häufig vorliegt¹⁾. Doch ist hierauf nicht allzuviel zu geben, weil derartige Kurven bei den verschiedenartigsten Vorgängen beobachtet werden.

In der folgenden Fig. 2 sind für die Alkohole als Abszisse direkt die molaren Konzentrationen, als Ordinate die Hemmungen in Prozenten eingezeichnet. Temperatur 29°; Rohrzuckeranfangskonzentration 8–10%.

1) Siehe Freundlich, Kapillarchemie S. 94. 1909, und die logarithmischen Kurven der Oberflächenspannung der Alkohole S. 67. — Desgleichen Traube, Liebig's Ann. Bd. 265 S. 27. 1891.

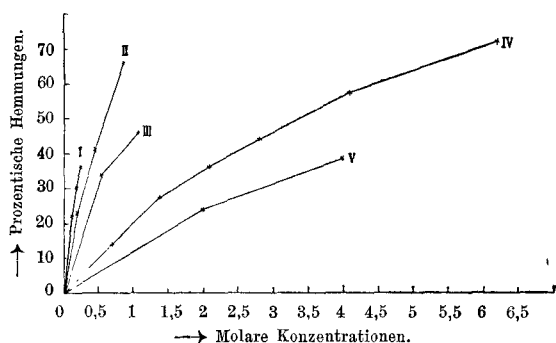


Fig. 2. I Gärungsamylalkohol, II Isobutylalkohol, III n-Propylalkohol, IV Äthylalkohol, V Methylalkohol.

Bei höherer Temperatur (42° C.) sind die Hemmungen ausgesprochen progressiv, jedoch scheinen die Anfangshemmungen denen bei tieferer Temperatur gleich zu sein.

Tabelle II.

Temperatur 42° . Rohrzuckerkonzentration 9,6%.

| | Molare Konzentration | Anfangszeit: proz. Hemmung | Folgezeit: proz. Hemmung ca. |
|----------------------------|----------------------|----------------------------|------------------------------|
| Methylalkohol. | 4,0 | 60': 39 | 50': 50 |
| Äthylalkohol | 1,4 | 70': 31 | 50': 45 |
| Propylalkohol. | 1,08 | 60': 46 | 50': 58 |
| Gärungsamylalkohol | gesättigt ca. 0,2 | 50': 26 | 105': 33 |
| Äthylurethan | 0,9 | 70': 30 | 50': 40 |

Auch die Verringerung der Enzymkonzentration bewirkt wegen der längeren Dauer der Inversion eine schwache Progressivität der Hemmung. Aber auch hier sind die Hemmungen der Grösse nach keine anderen, wie es z. B. der Fall sein würde, wenn durch das Enzym ein merklicher Bruchteil der vorhandenen hemmenden Substanzen weggebunden würde.

Ganz anders wirkt die Verringerung der Substratkonzentration: Abgesehen von den Alkoholen nimmt bei allen geprüften Substanzen die Hemmung bei verringerter Rohrzuckeranfangskonzentration deutlich zu. Dieser Befund ist mit der Annahme im Einklang, dass es sich bei den Hemmungen um eine Verdrängung des Rohrzuckers von der Oberfläche der kolloiden Invertase handelt; muss doch in diesem Fall

Tabelle III¹⁾.

| Stoff | Molare Konzentrationen | Stärkere Rohrzucker- konzentra- tion in Prozenten | Hem- mungen in Prozent. | Schwächere Rohrzucker- konzentra- tion in Prozenten | Hem- mung in Prozent. |
|-------------------------------|---------------------------|---|----------------------------------|---|--------------------------------|
| Methylalkohol . . . | 2,0 | 9,8 | 24 | 3,1 | 21,5 |
| „ . . . | 4,0 | 9,8 | 38 | — | — |
| Äthylalkohol . . . | 0,70 | 7,8 | 14 | — | — |
| „ . . . | 1,4 | 7,8 | 27 | 3,1 | 31 |
| „ . . . | 2,1 | 7,8 | 36 | — | — |
| „ . . . | 2,8 | 7,8 | 44,5 | — | — |
| „ . . . | 4,1 | 7,8 | 57 | — | — |
| „ . . . | 6,2 | 7,8 | 71,5 | — | — |
| n-Propylalkohol. . . | 0,54 | 9,6 | 35 | 3,1 | 30 |
| „ . . | 1,08 | 9,6 | 46 | — | — |
| Isobutylalkohol . . . | 0,16 | 9,8 | 23 | — | — |
| „ . . | 0,33 | 9,8 | 31 | 3,1 | 36 |
| „ . . | 0,41 | 9,6 | 41 | — | — |
| „ . . | 0,83 | 9,6 | 66 | 3,1 | 62 |
| Gärungsamylalkohol . | 0,14 | 9,6 | 22 | — | — |
| „ | ca. 0,2 gesättigt | 9,6 | 29 | — | — |
| „ | ca. 0,25 gesättigt | 6,6 | 35 | 3,1 | 36 |
| Methylurethan . . . | 1,0 | 9,6 | 23 | 3,5 | 34 |
| „ . . | 2,0 | 9,6 | 39 | 3,1 | 50 |
| Äthylurethan . . . | 0,90 | 9,6 | 28 | 3,1 | 38 |
| „ . . | 1,8 | 9,6 | 45,5 | 3,1 | — |
| Propylurethan . . . | 0,39 | 9,6 | 20 | 3,1 | 25 |
| „ . . | 0,58 | 9,6 | — | 3,1 | 36 |
| „ . . | 0,78 | 9,6 | 39 | 3,1 | 45 |
| Isobutylurethan . . . | 0,13 | 9,6 | 8 | 3,1 | 12 |
| „ . . | ca. 0,2 gesättigt | 9,6 | 16 | 3,1 | 16 |
| Aceton. | 1,4 | 9,2 | 24 | 3,1 | 32 |
| „ | 2,8 | 9,2 | 40,5 | 3,1 | — |
| Methylpropylketon . | ca. 0,25 | 7,8 | 19 | 3,1 | — |
| „ . | ca. 0,4 gesättigt | 7,8 | 24 | 3,1 | 30 |
| Methylphenylketon . | ca. 0,02 gesättigt | 9,2 | 7 | 3,1 | 17 |
| Asymm. Dimethyl- harnstoff | 0,68 | 6,8 | 36 | 3,1 | 41,5 |
| Asymm. Diäthylharn- stoff | 0,53 | 6,8 | 36 | 3,1 | 38 |
| Phenylharnstoff. . . | ca. 0,025 gesättigt | — | — | — | 15 |

1) Protokolle siehe Anhang.

bei geringerer Konzentration die Verdrängung einer gleichen Menge Rohrzuckers einen relativ stärkeren Effekt haben. Dass trotz der Wirkungslosigkeit von Rohrzucker und Traubenzucker auf die Oberflächenspannung Wasser gegen Luft beide in beträchtlichem Maasse an der Oberfläche von Tierkohle adsorbiert werden, ist von Rona und Michaelis¹⁾ sowie von Herzog und Adler²⁾ nachgewiesen.

Die Hemmungen der meisten Stoffe sind für die Rohrzuckeranfangskonzentrationen von 9—10 % und 3 %, bei einigen auch für 0,2—0,3 % bestimmt. In der Tabelle III (S. 264) und in der folgenden Tabelle IV ist die prozentische Rohrzuckerkonzentration jedesmal angegeben. Die Umsatzzeiten für die Versuche liegen zwischen 50 und 80 Minuten.

Tabelle IV³⁾.

| | Molare Konzentrationen | Rohrzuckerkonzentration | Hemmung in Prozenten |
|----------------------------|------------------------|-------------------------|----------------------|
| Äthylalkohol | 1,4 | 0,3 | 38 |
| Gärungsamylalkohol | gesätt. ca. 0,25 | 0,2 | 43 |
| Methylurethan | 1,05 | 0,3 | 44 |
| Äthylurethan | 0,9 | 0,2 | 46 |
| Propylurethan | 0,4 | 0,3 | 42 |
| Isobutylurethan | 0,21 | 0,3 | 30 |

Bezüglich der Reversibilität der Hemmungen lassen sich aus sonst bekannten Umständen bereits gewisse Rückschlüsse ziehen. Die Invertase wird, wie man weiss, durch Ausfällen mit Alkohol als ein weisses Pulver gewonnen, das in Wasser leicht löslich ist und kräftig invertiert. Bei der Herstellung nach Osborne⁴⁾ wird die Hefe sogar 24 Stunden lang in einer 50 % igen alkoholischen Lösung belassen. Andererseits hat Salkowski⁵⁾ die Beobachtung gemacht, dass bei 40° die Invertase in ca. 30 % Äthylalkohol innerhalb 24 Stunden vollständig zerstört wird. — Für die in dieser Arbeit benutzte Temperatur (29°), Zeiten und Narkotikakonzentrationen war die Hemmung nahezu vollständig reversibel. Die Reversibilität wurde an einzelnen Beispielen derart ermittelt, dass eine bestimmte

1) Biochem. Zeitschr. Bd. 16 S. 489. 1909.

2) Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 60 S. 79. 1909.

3) Bertrand'sche Zuckerbestimmungen.

4) Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 28 S. 399. 1899.

5) Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 31 S. 305, bes. S. 319. 1900/1901.

Menge Invertaselösung, wie sie für einen Versuch diene, mit einem Narkotikum versetzt, mehrere Stunden in den Thermostaten von 29° gehängt wurde, nebst einer Kontrollösung von Invertase ohne Zusatz, und dann zu beiden die Rohrzuckercitratlösung zugegeben, zur Kontrollösung auch noch so viel Narkotikum, dass jetzt die Konzentrationen desselben in beiden Versuchen gleich waren.

Beispiele.

1. a) Zu 5,5 ccm Invertaselösung so viel Isobutylalkohol, dass die Konzentration $3,4\%$ $= 0,46$ mol beträgt; dies entspricht einer Hemmung von 45% , $2\frac{1}{2}$ Stunden bei 29° hängen gelassen. 28,5 ccm Rohrzuckercitratlösung zugegossen, so dass die Rohrzuckerkonzentration im ganzen $9,6\%$ beträgt, die Isobutylalkoholkonzentration etwa auf ein Sechstel sinkt (entsprechend einer Hemmung von etwa 10%).

b) Kontrolle: 5,5 ccm Invertaselösung ohne Zusatz $2\frac{1}{2}$ Stunden bei 29° hängen gelassen, dann Rohrzuckercitrat-Isobutylalkohol dazu, so dass die Lösungen identisch werden:

Geschwindigkeitskonstante (80 Min.) für a): 0,308,
für b): 0,310.

2. a) 5,2 ccm Invertaselösung mit Äthylurethan 8% $= 0,9$ mol (Hemmung etwa 45% oder mehr) $4\frac{1}{2}$ Stunden bei 29° . Dann 26,8 ccm Rohrzuckercitratlösung dazu, so dass Gesamtzuckerkonzentration $9,6\%$ beträgt und die Äthylurethankonzentration etwa auf ein Sechstel sinkt (entsprechend einer Hemmung gegen 10%).

b) 5,2 ccm Invertaselösung als Kontrolle wie oben behandelt.

Geschwindigkeitskonstante (80 Min.) für a): 0,197,
für b): 0,186.

Im ersten Fall ist also eine vollständige Reversibilität vorliegend, im zweiten Fall ist eine Abschwächung von 6% eingetreten, während sie bei Irreversibilität über 30% betragen haben würde.

Die hier beschriebenen Hemmungen wirken auf das Ferment. Die Säureinversion des Rohrzuckers wird durch Zusatz eines Alkoholnarkotikums in dem benutzten Konzentrationsbereich nicht gehemmt¹⁾.

Beispiel.

$9,6\%$ Rohrzucker durch $0,4$ n HCl bei 29° invertiert gibt (65 Min.): $k = 0,284$.

Desgleichen mit $6,4\%$ Methylalkohol: $k = 0,304$.

Desgleichen mit $6,4\%$ Isobutylalkohol: $k = 0,302$.

1) In Alkoholwassergemischen von höherer Konzentration des Alkohols treten nach Cohen, Zeitschr. f. physikal. Chemie Bd. 28 S. 145. 1899, Verlangsamungen der Inversionsgeschwindigkeit auf, ohne Änderung des Dissoziationsgrades der Säure. Bei 50 Vol.-Proz. Äthylalkohol und $\frac{n}{64}$ HCl um etwa 30% , bei 20 Vol.-Proz. Alkohol nur noch $3-5\%$.

3. Versuche mit eiweisshaltiger Invertinlösung und mit adsorbierter Invertase.

Zur Entscheidung der Frage, ob den Hemmungen unmittelbar eine physikalische Zustandsänderung der Invertase zugrunde liegt und nicht nur eine Veränderung des Lösungsmittels, die den Ablauf der chemischen Vorgänge verzögert, wurden verschiedene Variationen der Versuchsbedingungen vorgenommen. Zugleich sollten damit die in der Zelle herrschenden Verhältnisse genauer nachgeahmt werden. Die quantitativen Unterschiede, die zwischen der Hemmung der Invertase und der Zymase bestehen, und der Umstand, dass bei letzterer die Eiweissfällung genau der Hemmungsstärke parallel geht¹⁾, liessen die Vermutung aufkommen, dass der Eiweisszusatz zu Invertase die Hemmungen vermehren könnte, indem das vom Narkotikum ausgefällte Eiweiss das Enzym mitreisst. Dieser für die Zymase wahrscheinlich zutreffende Mechanismus gilt jedoch nicht für die Invertase. Dies Enzym wird bekanntlich schon durch manche Eiweissfällungsmittel, wie Kaolin, nicht gefällt, was nach Michaelis an seiner elektronegativen Ladung liegt²⁾.

Zusatz von Eiweiss zum Inversionsgemisch lässt die Hemmungsstärke der Narkotika ganz unverändert. Andererseits wurde die gewöhnlich benutzte, noch Eiweiss Spuren enthaltende Invertinlösung durch mehrfaches Ausfällen in 75% Alkohol, Trocknen im Vakuum über Schwefelsäure und Wiederauflösen in Wasser weiter gereinigt. Auch hierdurch wurde die Hemmungsstärke der Narkotika nicht geändert.

Tabelle V.

| Prozentische Hemmung | | | | |
|----------------------|--------------------|-------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|
| durch | mol. Konzentration | bei gewöhnlicher Invertinlös. | bei eiweissfreier Invertinlös. | bei eiweisshaltiger Invertinlös. |
| Methylurethan . . . | 1,0 | 34 | — | { 33,5 (Hühnereiweiss) |
| Äthylurethan . . . | 0,9 | 38 | 34 | |
| Propylurethan . . . | 0,58 | 36 | — | { 37 (Hühnereiweiss) |
| Äthylalkohol . . . | 1,4 | 31 | 26 | |

1) Vgl. Warburg und Wiesel, Pflüger's Arch. Bd. 144 S. 465.

2) Michaelis, Biochem. Zeitschr. Bd. 7 S. 488. 1908.

Andererseits wurden zahlreiche Versuche mit an kolloidalem Eisenhydroxyd adsorbiertem Enzym ausgeführt. Einmal bot dies eine Analogie zu den Feststellungen Warburg's und seiner Mitarbeiter¹⁾ bezüglich des Unterschieds der Gärungshemmung im Presssaft und in lebenden Zellen: Die höhere Empfindlichkeit lebender Zellen fand darin ihre Erklärung, dass die hemmenden Substanzen sich in der Zelle, und zwar wesentlich an den festen Strukturelementen, anreichern, an denen die vitalen Stoffwechselvorgänge ablaufen. Es konnte deshalb gefragt werden, ob etwa an festem Substrat adsorbierte Invertase von kleineren Konzentrationen eines Narkotikums gehemmt wird als kolloidal gelöste. Da dabei zugleich eine völlige Veränderung des Milieus eintritt, so müsste andererseits, wenn die Hemmungen hierin ihre Ursachen hätten, auch ein Unterschied zutage treten.

Dass die an kolloidalem Eisenhydroxyd adsorbierte Invertase im Niederschlag noch wirksam ist, ist zuerst von Michaelis nachgewiesen²⁾. Diese Feststellung steht in einem gewissen Gegensatz zu den von Hedin³⁾ mit anderen Fermenten, z. B. dem Trypsin, angestellten Versuchen, aus denen hervorgeht, dass dieses Ferment durch Adsorption an Tierkohle seine Wirksamkeit verliert, sie aber bei Kaseinzusatz teilweise wiedergewinnt, indem das Kasein einen Teil des Trypsins in die Lösung zurückdrängt. Es musste daher festgestellt werden, ob sich dies nicht bei Invertase und Rohrzuckerzusatz ebenso verhält.

Zunächst wurde der Rohrzuckerumsatz zweier Lösungen verglichen, deren eine die Invertase gelöst enthielt, während in der anderen das Enzym durch kolloidales Eisenhydroxyd ganz oder teilweise ausgefällt war. Die Umsatzgeschwindigkeiten in beiden Fällen erwiesen sich als nahezu gleich, wenn man den Niederschlag durch langsames Drehen des Gefäßes dauernd in der Flüssigkeit verteilt hält.

Daraufhin wurde die Verteilung der Invertase zwischen Lösung und Niederschlag derart ermittelt, dass eine bestimmte abzentrifugierte

1) Warburg und Wiesel, Pflüger's Arch. Bd. 144 S. 465. — Dorner, Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 81 S. 99. 1912. — Usui, Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 81 S. 175. — Siehe auch O. Warburg, Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 70 S. 413. — Vgl. auch O. Warburg, Über die Wirkung der Struktur auf chemische Vorgänge in Zellen. 1913.

2) Biochem. Zeitschr. Bd. 7 S. 488. 1908.

3) Ergebn. d. Physiol. v. Asher-Spiro Bd. 9 S. 433. 1910.

Niederschlagsmenge, bestehend aus Invertase und Eisenhydroxyd, zu einer Rohrzuckerlösung zugefügt, einige Minuten im Thermostaten von 29° C. gedreht wurde und dann in einem Teil wieder durch scharfes Zentrifugieren aus der Lösung abgetrennt wurde. So liess sich in verschiedenen Versuchen die Wirksamkeit des ganzen Gemisches, der reinen Lösung und des wieder abgetrennten Niederschlags, einzeln ermitteln. Es zeigte sich, dass unter diesen Umständen 50 bis 75 % der Invertase durch den Rohrzuckerzusatz in die Lösung zurückgedrängt werden; der Rest bleibt im Niederschlag und ist in diesem annähernd unverändert wirksam. Durch Waschen mit Wasser wird dagegen die Invertase aus dem Niederschlag nicht wesentlich ausgezogen. Die Zugabe hemmender Substanzen änderte die Verteilung des Enzyms zwischen Niederschlag und Lösung nicht deutlich. Die „Adsorptionsaffinität“ wird also durch diese Stoffe nicht merklich berührt.

Endlich war die Hemmungsstärke der Narkotika in diesen Inversionsgemischen mit teilweise adsorbiertem Ferment zu bestimmen. Trotz einer durch methodische Gründe bedingten etwas grösseren Fehlerbreite der Versuche ergibt sich einwandfrei, dass für die Mehrzahl der geprüften Substanzen die Hemmungsgrösse wenig oder gar nicht verändert ist. Bei den höchststehenden Gliedern der Reihen erfährt die Hemmung allerdings eine geringe Zunahme, wie man sie theoretisch bei Anreicherung des Enzyms erwarten könnte; dieselbe liegt jedoch häufig an der Fehlergrenze und bedeutet auch keine wesentliche Veränderung der Hemmungen.

Zum Belege des in diesem Kapitel Gesagten mögen folgende Experimente dienen.

Bei den Versuchen mit adsorbierter Invertase wurde stets die Menge kolloidalen Eisenhydroxyds (Merck, 5 %) ausprobiert, die einen möglichst grossen Teil der Invertase niederschlägt. Ein Überschuss von Eisenhydroxyd muss vermieden werden, weil sonst beim Zentrifugieren keine Klärung eintritt und die polarimetrische Messung unmöglich wird. In der Regel wurde unmittelbar nach Zugabe des Eisenhydroxyds, bzw. des abzentrifugierten Niederschlags: Eisenhydroxyd + Invertin, zur Rohrzucker-Citratlösung eine Probe herauspipettiert und scharf zentrifugiert, was fast stets bis zur völligen Klärung der Lösung gelang; eine bestimmte Menge (12 ccm) wurde dann in Soda (6 ccm) eingetragen¹⁾. Während des

1) Bei einigen Versuchen 15 ccm in 6 ccm Soda.

Aufenthalts im Thermostaten wurden die Lösungen, in Flaschen mit eingeschliffenen Stopfen, auf einem Rade langsam gedreht, so dass der Niederschlag dauernd in der Flüssigkeit verteilt blieb. Die Berechnungen sind etwas ungenauere, weil insbesondere der Anfangswert der Drehung nur berechnet werden kann, da eine Extrapolation aus der ersten Bestimmung wegen des undefinierten Zustandes der Temperatur und der Niederschlagsverteilung während der Zeit der Vermischung und des Zentrifugierens einen zu unsichern Wert gibt. Als Zeiten sind stets die zwischen dem jedesmaligen Zentrifugierbeginn gelegenen gewählt, und auch die Dauer des Zentrifugierens wurde, wenn wegen der Klärung der Lösung angängig, genau gleich gemacht, so dass die Unsicherheiten sich gegenseitig meist aufheben. Unter diesen Umständen ergeben sich jedenfalls richtige Vergleichswerte, die an Fehlerbreite von den bisherigen nicht sehr wesentlich abweichen.

Vergleich des Umsatzes gelöster und teilweise adsorbierter Invertase.

Beispiele.

1. a) 9 % ige Rohrzuckerlösung mit 7,5 ccm Invertase versetzt (Thermostat 29°); nach 9 Min. erste Probe, 68 Min. später zweite Probe entnommen.

k für diese Zeit = 0,32 (Umsatz direkt gemessen: 3,17°).

b) 9 % ige Rohrzuckerlösung mit 7,5 ccm Invertase und 5,0 ccm Eisenhydroxyd versetzt. Nach 6 Min. erste Probe abzentrifugiert, 68 Min. später zweite Probe abzentrifugiert.

k für diese Zeit = 0,33 (Umsatz direkt: 3,24°). Kein Unterschied.

2. a) 9,5 % ige Rohrzuckerlösung mit 4 ccm Invertase versetzt. Eine Probe sofort, zweite nach 60 Min. entnommen.

k = 0,525 (Umsatz: 4,85°).

b) Desgleichen mit 4 ccm Eisenhydroxyd; eine Probe nach 3 Min. abzentrifugiert, zweite 60 Min. später abzentrifugiert.

k = 0,51 (Umsatz: 4,53°). 3 % Abschwächung.

3. a) 3,3 % ige Rohrzuckerlösung mit 2,1 ccm Invertase gibt für 60 Min.: k = 0,60.

b) Desgleichen mit 1,9 ccm Eisenhydroxyd für 60 Min.:

k = ca. 0,55. 10 % Abschwächung.

4. a) 3,3 % ige Rohrzuckerlösung mit 2,0 ccm Invertase gibt für 80 Min.: k = 0,34 (Umsatz: 1,99°).

b) Desgleichen mit 1,8 ccm Eisenhydroxyd für 80 Min.:

k = 0,36 (Umsatz: 1,99°). 6 % Zunahme.

Vergleich des Umsatzes gelöster Invertase und des Niederschlags aus der gleichen Invertasemenge mit kolloidalem Eisenhydroxyd.

Beispiel.

a) 3,3 %ige Rohrzuckerlösung wird mit 3 ccm gelöster Invertase versetzt. Nach 7 Min. die erste Probe, 67 Min. später die zweite Probe entnommen. k für diese Zeit = 0,470.

b) 3 ccm Invertaselösung mit 3 ccm 5 %igen kolloidalen Eisenhydroxyds versetzt. Der Niederschlag wird abzentrifugiert und zu 3,3 % Rohrzuckerlösung hinzugefügt. Nach 4 Min. erste Probe, 67 Min. später zweite Probe zentrifugiert. k für diese Zeit = 0,433.

Die Geschwindigkeitskonstante beträgt 92 % derjenigen des ersten Versuchs. Es sind also etwa 92 % der gelösten Invertase durch das kolloidale Eisenhydroxyd niedergeschlagen worden und in dem zur Rohrzuckerlösung zugefügten Niederschlag enthalten gewesen.

Verteilung der mit Eisenhydroxyd niedergeschlagenen Invertase auf den Niederschlag und die Zuckerlösung.

1. Der Niederschlag von 5,5 ccm Invertaselösung und 5,5 ccm 5 %igen kolloidalen Eisenhydroxyds zu 50 ccm 9,5 %iger Rohrzuckerlösung gefügt. Das Ganze 15 Min. bei 29° gedreht. Dann geteilt; ein Teil scharf zentrifugiert, der zweite weitergedreht. Von der ersten Portion eine Probe in Soda eingetragen, das übrige in den Thermostaten zurückgehängt. 2 Stunden 40 Min. nach dem ersten Zentrifugieren der ungeklärten Portion eine zweite Probe entnommen, zentrifugiert und in Soda eingetragen, gleichzeitig eine Probe der geklärten Portion in Soda eingetragen. (Vergleich des Umsatzes der Gesamtmenge und des in Lösung gegangenen Invertinanteils). Gesamtmenge gibt in 2 Stunden 40 Min. $k = 0,527$. Abgetrennte Lösung für sich in 2 Stunden 40 Min. $k = 0,273$. Danach findet 48 % des Umsatzes im Niederschlag statt, 52 % in der Lösung.

2. Ebensolcher Versuch. Niederschlag von 3,3 ccm Invertin und 3,0 ccm Eisenhydroxyd in 64 ccm 3,5 %iger Rohrzuckerlösung eingetragen. 7 Min. bei 29° gedreht. Dann geteilt; ein Teil scharf zentrifugiert und davon eine Probe in Soda eingetragen, das übrige in den Thermostaten zurückgehängt. 1 Stunde nach erstem Zentrifugieren zweite Probe aus der Gesamtmenge zentrifugiert und in Soda eingetragen, gleichzeitig aus der abgetrennten Lösung.

k der Gesamtmenge für 1 Stunde = 1,03

k der Lösung . . . für 1 Stunde = 0,53.

Danach 48 % des Umsatzes im Niederschlag, 52 % in der Lösung.

3. Ebensolcher Versuch. Niederschlag von 3 ccm Invertin und 2,5 ccm kolloidalen Eisenhydroxyds in 64 ccm 4 %iger Rohrzuckerlösung eingetragen. 12 Min bei 29° gedreht. Geteilt wie oben. Für 88 Min. ist k in der Gesamtmenge Invertin = 0,340, in der abgetrennten Lösung = 0,257. Danach 25 % im Niederschlag, 75 % in der Lösung.

4. Umsatz der Gesamtmenge, der Lösung und des Niederschlag einzeln: In 64 ccm 4%iger Rohrzuckerlösung 3,2 ccm Invertin und 3,2 ccm 5%igen Eisenhydroxyds einpipettiert. 7 Min. bei 29° geschüttelt. Geteilt wie oben. Ein Teil (40 ccm) wird zentrifugiert, eine Probe der geklärten Lösung in Soda eingetragen, das übrige in den Thermostaten zurückgehängt. Der abzentrifugierte Niederschlag wird mehrmals mit Wasser dekantiert und dann zu neuer 4%iger Rohrzuckerlösung in gleichem Mengenverhältnis (40 ccm) hinzugefügt.

k der Gesamtmenge (für 77 Min.) . . . = 0,33

k der abzentrifugierten Lösung (für 77 Min.) . = 0,22

k des Niederschlags (in 4 Stunden, umgerechnet) = 0,09 (ungenau).

Danach etwa 33% im Niederschlag, 67% in der Lösung.

5. Ähnlicher Versuch. a) Niederschlag von 2,5 ccm Invertin und 2,0 ccm Eisenhydroxyd zu 40 ccm 4%iger Rohrzuckerlösung. k für 71 Min. (Gesamtmenge) = 0,34 (Umsatz: 1,95%).

b) Niederschlag von 2,5 ccm Invertin und 2,0 ccm Eisenhydroxyd mit 40 ccm destillierten Wassers aufgeschüttelt, 12 Min. bei 29° gelassen, abzentrifugiert und zu 40 ccm 4%iger Rohrzuckerlösung zugefügt. k für 71 Min. = 0,34 (Umsatz: 2,01%).

Durch das Aufschütteln mit Wasser ist die Invertasemenge nicht verringert.

c) Niederschlag von 2,5 ccm Invertin und 2,0 ccm Eisenhydroxyd zu 40 ccm 4%iger Rohrzuckerlösung, 10 Min. bei 29°; dann zentrifugiert. Der überstehenden Lösung eine Probe entnommen, das übrige in den Thermostaten zurück. k derselben für 105 Min. (umgerechnet) = 0,223.

Der Niederschlag zu neuer 4%iger Rohrzuckerlösung (40 ccm) gesetzt. k für 71 Min. = 0,10.

Also wie bei Versuch 4: 33% Umsatz im Niederschlag, 67% in der abzentrifugierten Lösung.

Verteilung adsorbierter Invertase auf Niederschlag und Zuckerlösung bei Zugabe von Narkoticis.

1. a) Zu 60 ccm 3,5%iger Rohrzuckerlösung 2,5 ccm Invertin und 2,0 ccm Eisenhydroxyd; 9 Min. bei 29°; geteilt, ein Teil zentrifugiert; Probe in Soda, das übrige in den Thermostaten zurück.

k der Gesamtmenge (für 70 Min.) . . . = 0,259

k der überstehenden Lösung (für 70 Min.) = 0,160.

38% Umsatz im Niederschlag; 62% in der Lösung.

b) Ebenso, mit 4% Propylurethan (0,39 mol.). 9 Min. bei 29°; geteilt und zentrifugiert.

k der Gesamtmenge . . . = 0,193

k der überstehenden Lösung = 0,128.

34% Umsatz im Niederschlag; 66% in der Lösung.
Hemmung durch 4% Propylurethan: 25%.

2. Ebensolcher Versuch. a) 60 ccm 3,5 % ige Rohrzuckerlösung, 2,5 ccm Invertin, 2,0 ccm Eisenhydroxyd. 16 Min. bei 29°; geteilt, zentrifugiert. k der Gesamtmenge (73 Min.) = 0,270

k der Lösung (73 Min.) . . . = 0,192.

29 % Umsatz im Niederschlag, 71 % in der Lösung.

b) Ebenso, mit Phenylharnstoff gesättigt (ca. 0,025 mol.). 16 Min. bei 29°. k der Gesamtmenge (73 Min.) = 0,199

k der Lösung (73 Min.) . . . = 0,154.

23 % Umsatz im Niederschlag, 77 % in der Lösung.
Hemmung durch gesättigten Phenylharnstoff: 26 %.

Hemmung teilweise adsorbierter Invertase durch Narkotika.

Die Versuche wurden ähnlich wie die vorigen durchgeführt. Wohl wegen methodischer Schwierigkeiten oder aus anderen nicht aufgeklärten Gründen fielen einige (im folgenden fortgelassene) Messungen heraus; im übrigen aber wurden bei mehrfachen Wiederholungen sehr gut übereinstimmende Resultate gefunden.

In der Tabelle VI (S. 274) sind die Resultate zusammengestellt und mit den Hemmungen nicht adsorbierter Invertase (nach Tab. III) verglichen. Man sieht, dass nur sehr geringe Unterschiede vorhanden sind; nur in einigen Fällen deutlichere, im Sinne einer Verstärkung der Hemmung bei der niedergeschlagenen Invertase.

II. Teil.

Versuche an Eiweisslösungen.

Der auffällige Parallelismus, der von Warburg und Wiesel zwischen der Gärungshemmung und Niederschlagsbildung im Hefepresssaft gefunden wurde, hat die Autoren veranlasst, einen Zusammenhang zwischen beiden anzunehmen und damit die Theorie der Narkose von Claude-Bernard, dass es sich dabei um eine Semi-koagulation des Protoplasmas handele, wenigstens für die Hemmung der Stoffwechselvorgänge wieder in Erinnerung zu bringen. Dieser Vorstellung haben sich dann auch andere angeschlossen¹⁾.

Ein ähnlicher Zusammenhang war auch zwischen der Hemmung der Invertase durch narkotische Substanzen und ihrer Fällbarkeit durch diese anzunehmen, die wenigstens für Äthylalkohol bekannt war. Während nun aber schwach eiweisshaltige Invertaselösungen bei mittleren Hemmungen erkennbare Trübungen, wenigstens

1) Vgl. z. B. Thörner, Naturwissenschaften 1913. — Batelli u. Stern, Biochem. Zeitschr. Bd. 52 S. 226. 1913.

Tabelle VI¹⁾.

Rohrzuckerkonzentration ca. 3 %. Temperatur 29°.

| Stoffe | Molare Konzentrationen | Proz. Hemmung bei gelöster Invertase | Proz. Hemmung bei teilweise adsorbierter Invertase |
|------------------------------|------------------------|--------------------------------------|--|
| Äthylurethan | 0,90 | 38 | 36,0 |
| „ | 0,90 | — | 37,0 |
| „ | 0,90 | — | 38,0 |
| Propylurethan | 0,39 | 24 | 25,5 |
| „ | 0,39 | 25 | 26,0 |
| Propylurethan | 0,58 | 36 | 38,0 |
| „ | 0,58 | — | 39,0 |
| Propylurethan | 0,78 | 43 | 50,0 |
| „ | 0,78 | 46 | 50,0 |
| Isobutylurethan | 0,13 | 12 | 19,0 |
| Isobutylurethan | ca. 0,2 gesättigt | 16 | 23,0 |
| „ | ca. 0,2 gesättigt | — | 26,5 |
| „ | ca. 0,2 gesättigt | — | 21,0 |
| Asymm. Dimethylharnstoff . | 0,68 | 41 | 43,5 |
| Phenylharnstoff | ca. 0,025 gesätt. | 15 | 27,0 |
| „ | ca. 0,025 gesätt. | 15 | 26,0 |
| Aceton | 1,4 | 32 | 38,0 |
| Methylpropylketon | gesättigt ca. 0,4 | 29 | 37,5 |
| „ | gesättigt ca. 0,4 | 32 | — |
| Methylphenylketon | gesättigt ca. 0,02 | 15 | 18,5 |
| „ | gesättigt ca. 0,02 | 19 | 20,0 |
| Äthylalkohol | 1,4 | 31 | 32,0 |
| „ | 1,4 | — | 36,0 |
| Propylalkohol | 0,54 | 30 | 32,0 |
| Isobutylalkohol | 0,33 | 35 | 30,0 |
| „ | 0,33 | 36 | 29,0 |
| Isobutylalkohol | 0,83 | 62 | 58,0 |
| Gärungsamylalkohol | gesättigt ca. 0,25 | 36 | 43,0 |
| „ | gesättigt ca. 0,25 | — | 44,0 |

1) Protokolle siehe Anhang.

eine Zunahme des Tyndallphänomens, zeigten, blieben gut gereinigte Lösungen noch klar. In sehr konzentrierten reinen Invertinlösungen trat allerdings schon bei 6—8%iger Alkoholkonzentration und bei 8—10%iger Urethankonzentration eine erkennbare Trübung auf; aber ein Unterschied zwischen den verschiedenen Gliedern der Reihe war nicht deutlich.

Die Versuche in dieser Richtung wurden daher aufgegeben und der Einfluss untersucht, den Narkotika auf den Dispersitätsgrad von Eiweiss besitzen. Da die sichtbaren Fällungen im Hefepresssaft wahrscheinlich schon einer Irreversibilität der Hemmung (der Ausfällung des Enzym-Eiweissgemisches) entsprechen, lag der Gedanke nahe, dass bei den gewöhnlichen reversibeln Hemmungen eine reversible Dispersitätsverringern, also eine Abnahme der Teilchenzahl und Zunahme der Teilchengrösse der kolloidal gelösten Eiweisskörper stattfände. Es wurde daher der osmotische Druck von Eiweisslösungen mit und ohne Zugabe narkotischer Substanzen verglichen¹⁾. Das Ergebnis fiel negativ aus: Wo keine Ausfällungen stattfinden, ist ein deutlicher Einfluss der Narkotika auf den osmotischen Druck der untersuchten Eiweisslösungen nicht vorhanden, nicht einmal bei beginnenden Trübungen im Serum oder Eierklar, an denen offenbar nur ein sehr geringer Teil des vorhandenen Eiweisses beteiligt ist. Ferner gerinnt z. B. der nach der Buchner'schen Methode gewonnene Presssaft aus Leber bei Zugabe narkotischer Substanzen in Konzentrationen, die einer mittleren Gärungshemmung im Hefepresssaft entsprechen, schon bei Zimmertemperatur allmählich zu einer gallertigen Masse. Bis dahin hat sich aber der osmotische Druck nicht erkennbar verändert. Die Versuche wurden ausgeführt an Rinderserum, unverdünntem, geschlagenem Eierklar, Presssaft aus Ochsenleber. Bei Untersuchung von aus Thymus gewonnenen (unreinen) Nukleoproteiden konnten keine brauchbaren Resultate erzielt werden, weil der osmotische Druck dieser Substanzen gegen Wasser, Kochsalz- und Ringer-Lösungen nicht konstant blieb. Da Usui (unter Warburg)²⁾ festgestellt hatte, dass eine atmungshemmende Substanz (Thymol) sich in der Zelle wesentlich an den

1) Einige Vorversuche in dieser Richtung wurden schon früher einem Vorschlag von O. Warburg entsprechend im Laboratorium der medizin. Klinik in Heidelberg von mir ausgeführt.

2) Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 81 S. 175. 1912.

Pflüger's Archiv für Physiologie. Bd. 157.

(unlöslichen) Nukleoproteiden anreichert, wäre eine osmotische Druckmessung an gelösten Nukleoproteiden von Interesse gewesen.

Trotz des negativen Ergebnisses der Versuche mögen die Messungen hier kurz beschrieben werden.

Die Messung des osmotischen Drucks geschah in einer Anordnung, die der von Lillie beschriebenen nachgeahmt war¹⁾. Die Kollodiumschläuche wurden aus Schering's Celloidin hergestellt, das durch gleiche Gewichtsteile Äther und 95⁰/₁₀₀ Alkohol so verdünnt wurde, dass eine 10⁰ oige Lösung entstand. Für die Versuche mit unverdünntem Eierklar wurde noch konzentrierteres Kollodium benutzt, weil die Schläuche hier einem erheblichen Druck standzuhalten hatten. Mit der Kollodiumlösung wurden dickwandige weite, gut gereinigte Reagenzgläser (Zentrifugengläser) ausgegossen, der Überschuss unter sorgfältigem Drehen ablaufen gelassen, durch Ansaugen mit der Wasserstrahlpumpe der Äther rasch entfernt und das Kollodium oberflächlich getrocknet; dann warmes Wasser aufgegossen und nach wiederholtem Ausspülen die fertigen Schläuche aus den Gefässen herausgezogen. Bei einiger Übung gelingt es, völlig fehlerlose Schläuche, ohne Luftblasen, ganz gleichmässig dick und von den gewünschten Eigenschaften herzustellen, die für Wasser und Salze sehr leicht, für Kolloide, speziell Eiweiss, nicht durchlässig sind. Die richtigen Schläuche müssen im auffallenden Licht noch etwas grau scheinen; sie dürfen ja nicht zu lange getrocknet sein, weil sie sonst wasserundurchlässig werden²⁾ (95⁰/₁₀₀ Alkohol im Gegensatz zu Alc. abs. verhindert ein zu starkes Trocknen). Die Schläuche werden nach der Vorschrift von Lillie auf gut passende durchbohrte Gummistopfen mit Gummibändern festgebunden, wodurch ein ganz dichter Abschluss entsteht. Durch den Gummistopfen wurde entweder ein Steigrohr gesteckt und der osmotische Druck unter Berücksichtigung des spezifischen Gewichtes der Lösung und Korrektur der eingetretenen Verdünnung an der Steighöhe direkt bestimmt, oder bei den höheren osmotischen Drucken ein Quecksilbermanometer in der aus Fig. 3 ersichtlichen Weise angeschlossen. In diesem Fall war ebenfalls ein sehr bequemes Arbeiten und luftleeres Einfüllen der Schläuche und Verbindungsrohre ermöglicht. Die Einstellungszeit ist bei Benutzung von Quecksilbermanometern sehr viel kleiner als bei direkter Steighöhenmessung. Sie beträgt bei geeigneten Schläuchen, wenn die Elektrolytkonzentrationen innen und aussen annähernd gleich sind, nur ca. 2—3 Stunden. Durch Druck auf den verbindenden Gummischlauch oder leichtes Zusammendrücken des Kollodiumsackes konnte eine Art Rührung erzielt werden, die den Druckausgleich beschleunigte. Der Inhalt der Kollodiumsäcke betrug ungefähr 30 ccm. Die Menge der Aussenlösung variierte in den verschiedenen Versuchen (meist 100—160 ccm), doch wurde sie in einer Serie möglichst gleich gewählt. Gelegentlich wurde durch Erneuerung der Aussenlösung festgestellt, ob der Druck sich dann nicht mehr veränderte.

1) Americ. Journ. of Physiol. vol. 20 p. 127. 1907. Vgl. auch Zsigmondy, Kolloidchemie S. 35.

2) Herrn Prof. Zsigmondy bin ich für einen brieflichen Wink bezüglich der Herstellung zu Dank verpflichtet.

Bezüglich der Genauigkeit kann auf die vorliegenden zahlreichen Arbeiten über den osmotischen Druck von Kolloiden verwiesen werden. Die Anordnung selbst gestattet zweifellos eine hohe Genauigkeit, die Übereinstimmung in Parallelversuchen ist sehr gut, und falls sich die Kolloide selbst nicht verändern, bleibt der erreichte Druck 24 Stunden und länger fast ganz konstant. Andererseits verändern sich in der Regel die benutzten Eiweisslösungen in irgendeiner Weise; meist kommt es mit der Zeit zu geringen Ausflockungen; in den Kontrollen sind bakterielle Zersetzungen nicht zu vermeiden. Hierdurch kommt eine geringe Unsicherheit in die Messungen; doch ist der Einfluss dieser Umstände für die hier mitgeteilten Serien unbedeutend und die Genauigkeit noch als recht befriedigend anzusehen. Die beste Konstanz erzielt man mit Blutserum. Die Mehrzahl der Versuche wurde bei Zimmertemperatur angestellt (17 bis 20° C.), deren Schwankungen nicht in Betracht kamen, weil alle Versuche einer Serie gleichzeitig gemacht wurden. Einige Versuche sind im Thermostaten bei 35° C. gemacht, weil der Einfluss der Narkotika bei höherer Temperatur hätte vermehrt sein müssen. — Die narkotischen Substanzen wurden in der Aussenlösung — in entsprechend höherer Konzentration — aufgelöst, und ihr Eindringen in die Schläuche abgewartet. Dies war die vorsichtigste Art, das Eiweiss mit den verdünnten Anästheticis zusammenzubringen. Oft wurde auch erst eine Druckkonstanz mit reiner Aussenlösung abgewartet, dann dieselbe mit narkotikumhaltiger, gleich konzentrierter Lösung vertauscht und wiederum bis zur Druckkonstanz gewartet. Da die Elektrolytkonzentration und Reaktion von grossem Einfluss auf den osmotischen Druck von Eiweiss sind ¹⁾, mussten diese in den Parallelversuchen genau gleich sein. Die absoluten Werte stimmen sehr gut mit den von anderen Autoren beobachteten überein ²⁾.

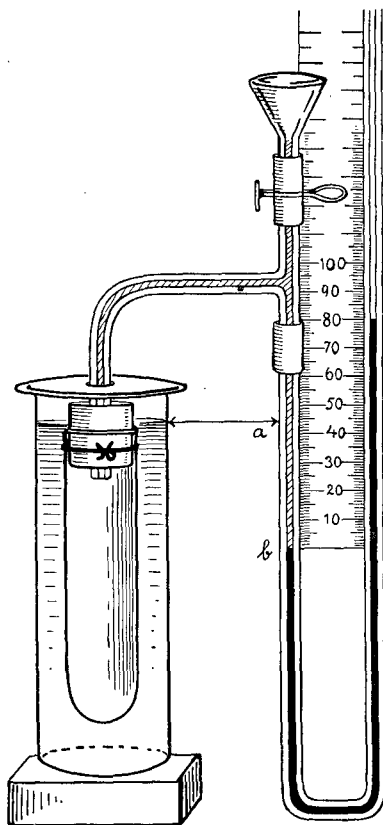


Fig. 3. Kollodiumzelle mit Quecksilbermanometer. $\frac{1}{2}$ natürl. Grösse.

1) Vgl. Lillie, Amer. Journ. of Physiol. vol. 20 p. 127. 1907. — Moore and Parker, Amer. Journ. of Physiol. vol. 7 p. 261. 1902. — Moore, Roaf and Webster, Biochem. Journ. vol. 6 p. 110. 1911.

2) Z. B. Moore and Parker.

Übrigens haben bereits Moore und Roaf¹⁾ die Feststellung gemacht, dass Benzol und Chloroform in gesättigter Lösung den osmotischen Druck von Schweineserum nicht verändern. Dies ist um so auffälliger und interessanter, als die Autoren fanden, dass Chloroform in gesättigter Lösung sich im Serum in vier- bis fünf-fach so hoher Konzentration anreichert als in physiologischer Kochsalzlösung²⁾ und demgemäss auch bei den osmotischen Druckmessungen in solcher Konzentration im Serum vorhanden ist. — Andererseits sind die Versuche zum Entscheid über die Wirkungslosigkeit der Narkotika auf den osmotischen Druck noch nicht hinreichend, weil die benutzten Stoffe, Chloroform und Benzol, zu den relativ schwerlöslichen gehören, die auch auf Hefepresssaft nur wenig einwirken.

Bei den Messungen der „Steighöhe“ ist die durch den Aufstieg im Steigrohr eingetretene Verdünnung korrigiert worden; bei den Messungen mit Quecksilbermanometer ist noch die lastende Flüssigkeitssäule (Fig. 3 a—b) in Rechnung gesetzt. Im übrigen entsprechen die im folgenden angegebenen Zahlen direkt den beobachteten.

Versuch 1.

Rinderserum. Steighöhenmessung. Temp. 19—20° C. Fast konstante Einstellung von der 16. bis ca. 40. Stunde nach Beginn beobachtet. Ablesungen 18. bis 24. Stunde, in Millimeter Serum.

a) Gegen Ringer-Lösung (9 g NaCl, 0,25 g KCl, 0,40 g CaCl auf 1 Liter). Sieben Parallelversuche ohne Zusatz ergeben:

| | |
|--------|--|
| 257 mm | Spezifisches Gewicht: 1,03. |
| 275 " | |
| 266 " | $\frac{269 \times 1,03}{13,6} = 20,4$ mm Hg. |
| 268 " | |
| 269 " | |
| 272 " | |
| 274 " | |

Mittel: 269 mm

b) Desgleichen mit 4% Äthylurethan (Äthylurethan in entsprechend höherer Konzentration aussen zugesetzt, sodass es nach Ausgleich 4% wird).

| | |
|-------------------------------|-------------|
| Zwei Parallelversuche: 266 mm | 19,7 mm Hg. |
| 255 " | |
| Mittel: 260 mm | |

c) Desgleichen mit 1,5% Isobutylurethan:

| | |
|--------|-------------|
| 277 mm | 21,0 mm Hg. |
|--------|-------------|

1) Biochem. Journ. vol. 2 p. 34. 1906.

2) Proc. Royal Soc. vol. 73 p. 382. 1904; vol. 77 p. 86. 1905.

Versuch 2.

Rinderserum. Steighöhenmessung. Temp. **35°**. Ablesungen 20. bis 28. Stunde.

a) Gegen Ringer-Lösung. Zwei Parallelversuche. Serum klar.

268 mm **20,2** mm Hg.

267 "

b) Desgleichen mit 8% Äthylurethan. Zwei Parallelversuche. Serum getrübt.

256 mm **19,7** mm Hg.

265 "

Mittel: 260 mm.

Versuch 3.

Rinderserum. Steighöhenmessung. Temp. **35°**. Ablesungen 17. bis 25. Stunde.

a) Gegen Ringer-Lösung. Zwei Parallelversuche. Serum klar.

285 mm **21,7** mm Hg.

288 "

b) Mit 8% Äthylurethan. Serum getrübt.

279 mm **21,1** mm Hg.

c) Mit 2,2% Isobutylurethan. Serum getrübt.

290 mm **22,0** mm Hg.

d) Mit gesättigtem Amylalkohol (ca. 2,5%). Serum getrübt.

295 mm **22,3** mm Hg.

Versuch 4.

Leberpresssaft. Mit der Buchner-Presse aus 450 g Ochsenleber (mit Kieselgur und Quarzsand zerrieben) 170 ccm Presssaft gewonnen. Steighöhenmessung. Messung gegen Ringer-Lösung (0,95%). Temp. 18—20°. Die Aussenlösung färbt sich in allen Versuchen mit Leberpresssaft gelbgrün, bleibt aber klar, ausser der ersten Lösung, wo bakterielle Trübungen auftreten. Nach 24 Stunden ist der Inhalt aller Versuche ausser den phenylurethanhaltigen geronnen.

a) Phenylurethan, halb gesättigt. Spezifisches Gewicht 1,046.

Nach 8 Stunden 530 mm **40,8** mm Hg.

" 22 " 435 " , aussen trübe.

b) Phenylurethan, gesättigt.

Nach 8 Stunden 520 mm **40,0** mm Hg.

" 22 " 520 "

c) Isobutylalkohol (4%).

Nach 8 Stunden 530 mm **40,8** mm Hg.

" 22 " 485 "

d) Gesättigter Amylalkohol (ca. 2,2%).

Nach 8 Stunden 518 mm **39,8** mm Hg.

" 22 " 455 "

e) 2,0% Isobutylurethan.

Nach 8 Stunden 435 mm **33,5** mm Hg.

" 22 " 410 "

Versuch 5.

Leberpresssaft. Aus 300 g Ochsenleber 135 ccm Presssaft mit der Buchner-Presse. Messung mit Quecksilbermanometer, gegen Ringer-Lösung (0,95 ‰). Temp. 18°. Ablesungen nach 16 Stunden; zu dieser Zeit a) und b) flüssig, mit Niederschlägen, c) und d) dickflüssig, etwas geronnen.

- a) Ohne Zusatz **44** mm Hg.
- b) Gesättigtes Phenylurethan **46** mm Hg.
- c) Gesättigtes (ca. 2,2 ‰) Amylalkohol **37,5** mm Hg.
- d) 2,0 ‰ Isobutylurethan **42** mm Hg.

Versuch 6.

Leberpresssaft. Aus 520 g Ochsenleber 170 ccm Saft mit der Buchner-Presse. Messung mit Quecksilbermanometer, gegen 1‰ NaCl. Temp. 20°. Ablesungen 15. bis 19. Stunde (konstant). Nach 19 Stunden a) und b) flüssig mit Niederschlag, c), d), e) dickflüssig, zum Teil geronnen.

- a) Ohne Zusatz **52** mm Hg.
- b) Gesättigt Phenylurethan **47** mm Hg.
- c) 2 ‰ Isobutylurethan **48** mm Hg.
- d) 4 ‰ Isobutylalkohol **52,5** mm Hg.
- e) Gesättigt Amylalkohol **46** mm Hg.

Die folgenden Versuche mit unverdünntem geschlagenem Eiereiweiss geben untereinander übereinstimmende Resultate. Die Messungen geschahen gegen 1‰ NaCl, was einen erheblichen Überdruck vorstellt¹⁾; trotzdem steigt der Druck auf der Innenseite sofort an und erreicht, falls kein Narkotikum in hoher Konzentration aussen zugesetzt ist, schon nach 2 Stunden den höchsten Stand. Im Laufe von 12 Stunden findet dann unter Ausfallen eines Teiles der Globuline in der Kontrollprobe stets eine erhebliche Drucksenkung statt, in den narkotikumhaltigen Lösungen eine geringere. Die Kontrollprobe erreicht daher vorübergehend einen etwas höheren Druck, der sich später mit den anderen ziemlich ausgleicht. Die geringen Druckvariationen bei den Zusätzen der gleichen Stoffe sind, wie man sieht, in den verschiedenen Versuchen ganz ähnlich.

Versuch 7. Temp. 20°.

- a) Ohne Zusatz: $\left\{ \begin{array}{ll} \text{nach } 1\frac{1}{2} \text{ Stunden} & \mathbf{115,5} \text{ mm} \\ \text{" } 16 & \mathbf{90,5} \text{ " } \\ \text{" } 46 & \mathbf{85,5} \text{ " } \end{array} \right.$
- b) Chloroform gesättigt: $\left\{ \begin{array}{ll} \text{nach } 16 \text{ Stunden} & \mathbf{113} \text{ mm} \\ \text{" } 46 & \mathbf{110} \text{ " } \end{array} \right.$
- c) 4 ‰ Isobutylalkohol: $\left\{ \begin{array}{ll} \text{nach } 16 \text{ Stunden} & \mathbf{93} \text{ mm} \\ \text{" } 46 & \mathbf{90} \text{ " } \end{array} \right.$
- d) 2 ‰ Isobutylurethan: $\left\{ \begin{array}{ll} \text{nach } 16 \text{ Stunden} & \mathbf{101,5} \text{ mm} \\ \text{" } 46 & \mathbf{101,5} \text{ " } \end{array} \right.$

1) Nach Bottazzi, Neuberg's „Harn“ S. 1488, beträgt Δ von Hühner-eiweiss nur 0,454°, etwa 0,65 ‰ NaCl entsprechend.

Versuch 8. Temp. 20°.

- a) Ohne Zusatz: $\left\{ \begin{array}{ll} \text{nach 4—7 Stunden} & \mathbf{117 \text{ mm}} \\ \text{„ 22—29 „} & \mathbf{98 \text{ „}} \end{array} \right.$
- b) Chloroform, gesättigt: $\left\{ \begin{array}{ll} \text{nach 4—6 Stunden} & \mathbf{114,5 \text{ mm}} \\ \text{„ 20—27 „} & \mathbf{114,0 \text{ „}} \end{array} \right.$
- c) Phenylurethan, gesättigt: $\left\{ \begin{array}{ll} \text{nach 4—7 Stunden} & \mathbf{102,0 \text{ mm}} \\ \text{„ 20—27 „} & \mathbf{101,5 \text{ „}} \end{array} \right.$
- d) 5 % Isobutylalkohol: nach 22—29 Stunden **99 mm**.
- e) Amylalkohol, gesättigt: $\left\{ \begin{array}{ll} \text{nach 6—7 Stunden} & \mathbf{100 \text{ mm}} \\ \text{„ 21—28 „} & \mathbf{102 \text{ „}} \end{array} \right.$

Versuch 9. Temp. 18—21°.

- a) Chloroform, gesättigt: $\left\{ \begin{array}{ll} \text{nach } 1\frac{1}{2}\text{—8 Stunden} & \mathbf{114,5 \text{ mm}}, \\ \text{„ 26 „} & \mathbf{99,5 \text{ „}} \\ \text{„ 50—130 „} & \mathbf{91,0 \text{ „}} \end{array} \right.$
- b) 5 % Isobutylalkohol: nach 25—100 Stunden **97 mm**.
- c) Amylalkohol, gesättigt: nach 24—75 Stunden **111 mm**.

Versuch 10. Temp. ca. 20°.

- a) Ohne Zusatz: $\left\{ \begin{array}{ll} \text{nach 3—6 Stunden} & \mathbf{121 \text{ mm}} \\ \text{„ 24 „} & \mathbf{105 \text{ „}} \end{array} \right.$
- b) Ohne Zusatz, 0,65 % NaCl: $\left\{ \begin{array}{ll} \text{nach 2—6 Stunden} & \mathbf{120 \text{ mm}} \\ \text{„ 24 „} & \mathbf{102 \text{ „}} \end{array} \right.$
- c) Chloroform, gesättigt: $\left\{ \begin{array}{ll} \text{nach 2—3 Stunden} & \mathbf{115 \text{ mm}} \\ \text{„ 17—21 „} & \mathbf{111 \text{ „}} \end{array} \right.$
- d) Amylalkohol, gesättigt: $\left\{ \begin{array}{ll} \text{nach 17 Stunden} & \mathbf{106 \text{ mm}} \\ \text{„ 42—68 Stunden} & \mathbf{115 \text{ mm}} \end{array} \right.$

Auch bei den übrigen osmotischen Druckmessungen an Milch, Kasein, verdünntem Hühnereiweiss, wässrigem Extrakt aus Thymus und unreinen Nukleoproteiden aus Thymus ergaben sich keine Unterschiede durch Narkotika; doch waren die Drucke hier nicht konstant genug, um einen völlig sicheren negativen Entscheid zu gestatten.

III. Teil.

Versuche mit intakten und mechanisch zerstörten Seeigeleiern.

In einer von mir zusammen mit O. Warburg ausgeführten Versuchsreihe¹⁾ hatte sich ergeben, dass die Sauerstoffatmung unbefruchteter Seeigeleier nach völligem Zerreiben der Zellen mit Quarzsand in ähnlicher Grössenordnung wie bei den lebenden Eiern einige Zeit fortbesteht, um im Verlauf einiger Stunden langsam abzusinken; und ebenso war bei dem aus unbefruchteten Eiern her-

1) Pflüger's Arch. Bd. 148 S. 304 ff. 1912.

gestellten Acetondauerpulver nach Anrühren mit Wasser noch ein starker Sauerstoffverbrauch festzustellen. Andererseits sank bei befruchteten Eiern die Sauerstoffatmung durch mechanisches Zerstören der Zellen sehr stark ab. Diese Befunde haben sich in der Grundlage bei der Fortsetzung der Versuche an der Zoologischen Station in Neapel bestätigt und die Bedingungen für das Zustandekommen der Sauerstoffatmung des Eierbreies weitgehend aufklären lassen¹⁾.

Diese Tatsachen sprachen für die Möglichkeit, dass im befruchteten Ei die Oxydationsgeschwindigkeit durch die Beziehung der Atmungsfermente zur gebildeten Struktur bestimmt wird, da sie mit der Zerstörung der Struktur soweit abfällt, während im unbefruchteten Ei die in Frage kommenden Fermente als gelöst betrachtet werden konnten²⁾. Es war daher anzunehmen, dass entsprechend dem im vorigen Abschnitt der Arbeit erwähnten unterschiedlichen Verhalten der „indifferenten Narkotika“ gegenüber der Zymase im Presssaft und in lebenden Zellen die hemmenden Konzentrationen dieser Stoffe bei unbefruchteten Eiern höhere wären als bei befruchteten. Dies ist nun in der Tat der Fall, kann aber gleichwohl nicht im Sinne der vorerwähnten Hypothese verwertet werden wegen einer bei unbefruchteten Eiern vorliegenden Komplikation: Die gleichen Stoffe, welche die Atmung hemmen, wirken, wie dies bereits aus Untersuchungen von Hertwig³⁾ und besonders J. Löb⁴⁾ bekannt ist, entwicklungsanregend. Auf dem Umweg über den „Entwicklungsanstoss“ kommt aber bei gewissen Konzentrationen umgekehrt eine Atmungssteigerung auf unbefruchtete Eier zustande. Dies Verhalten ist, wegen seines theoretischen Interesses, für Thymol näher untersucht worden.

1. Thymolversuche.

Atmung und Sauerstoffmessung für alle folgenden Versuche fanden in einem Wasserthermostaten von 19—20° C. statt. Benutzt wurde die kürzlich beschriebene Methode von Warburg-Siebeck⁵⁾. Der „Anschlag“, der die kegelförmigen Atmungsgefäße in Bewegung er-

1) Vgl. O. Warburg in Asher-Spiro Bd. 14 S. 253. 1914.

2) Pflüger's Arch. Bd. 148 S. 305.

3) Über den Befruchtungs- und Teilungsvorgang des tierischen Eies von O. und R. Hertwig S. 38. Jena 1887.

4) Löb, Biochem. Zeitschr. Bd. 15 S. 254. 1909. — Löb, Chemische Entwicklungserregung S. 100 ff.

5) Siehe Warburg u. Meyerhof, Pflüger's Arch. Bd. 148 S. 306 f. 1912. — R. Siebeck, Pflüger's Arch. Bd. 148 S. 443.

hält, war nach Angaben von O. Warburg verbessert. Die Gefässe hatten am Boden kurze zylinderförmige Ansätze, über die Gummischläuche gezogen wurden. An das untere Ende der zweckmässig zugeschnittenen Gummischläuche schlugen mit spiraligen Stahlfedern die vom Rührer bewegten Stäbe, die bei den früheren Versuchen an den Verbindungsschlauch von Atmungsgefäss und Manometer angeschlossen hatten. Dadurch war die Bewegung der Gefässe sehr viel regelmässiger, und leichter und genauer zu regulieren. Es wurden verschiedene Kontrollen ausgeführt: erstens bezüglich der Abwesenheit von negativen Drucken bei nicht atmenden Flüssigkeiten, zweitens bezüglich der Grösse der regulären Sauerstoffversorgung der Flüssigkeit, also des grösstmöglichen unter den Versuchsbedingungen in bestimmten Zeiten zu erhaltenden Atmungsausschlags, drittens bezüglich der Menge der in der Zeiteinheit von der im Innenrohr befindlichen Kalilauge absorbierbaren Kohlensäure (durch Entwicklung von CO_2 aus NaHCO_3 und HCl im Gefäss und nachheriger Absorption). Von grosser Wichtigkeit ist es, Flüssigkeiten, die möglicherweise gelöste Kohlensäure in grösseren Mengen enthalten können (z. B. NaHCO_3 -haltiges Seewasser, das mit sauer reagierendem Zellbrei vermischt wird), vor dem Einfüllen in die Gefässe einige Zeit gründlich zu schütteln, um die gelöste Kohlensäure möglichst vorher auszutreiben.

Die Vorbereitung der Seeigeleier für die Versuche, Ausnahme der Seeigel, Waschen der Eier, geschah wie in früheren Arbeiten¹⁾. Doch wurden dieselben, um dichtere Suspensionen zu erzielen, mit einer elektrischen Zentrifuge zusammenzentrifugiert. Für Versuche mit intakten Eiern wurden diese stets einmal mit künstlichem Seewasser gewaschen und auch für den Atmungsversuch darin aufgeschwemmt. Dies bestand aus 100 Teilen NaCl , 2,2 KCl , 2,0 CaCl_2 , 7,8 MgCl_2 , 3,8 MgSO_4 , alle $\frac{6}{10}$ mol, dazu auf 1000 ccm 5 ccm $\frac{\text{m}}{2}$ NaHCO_3 und 2 ccm $\frac{\text{n}}{10}$ NaOH . Für Versuche, wo die Atmung für längere Zeit in den Atmungsgefässen stattfinden sollte, wurde statt der zuletzt genannten Mengen auf 1000 ccm 50 ccm $\frac{\text{m}}{2}$ NaHCO_3 und 15 ccm $\frac{\text{n}}{10}$ NaOH verwandt, was bei gleicher Alkalinität eine

1) Vgl. z. B. Biochem. Zeitschr. Bd. 35 S. 272. 1911.

zehnfache Resistenz gegen Kohlensäureverschiebungen bot. Bei den dicht zentrifugierten Eiern sinkt sonst die Atmung wegen der Verschiebung der Reaktion durch die Atmungskohlensäure merklich ab, während sie bei Erhöhung der Resisterz bei unbefruchteten Eiern völlig konstant, bei befruchteten dauernd regelmässig ansteigend ist²⁾).

Über die Berechnung des Sauerstoffverbrauchs ist in den früheren Arbeiten das Nötige gesagt. Für die hier mitgeteilten Versuche dienten Eier von *Strongylocentrotus lividus*. Für Messungen des Entwicklungsanstosses wurden zunächst unter Variation von Zeiten und Konzentrationen die Eier in Seewasserlösungen von verschiedenen Stoffen exponiert, in reines Seewasser übertragen und mikroskopisch besichtigt. Es zeigte sich, dass Veränderungen des morphologischen Bildes bei der Mehrzahl der Eier (Kernvergrößerung, Vergrößerung der Protoplasmazeichnung, angedeutete oder vollständige Membranbildung) unter geringfügigerer durchschnittlicher Schädigung verlaufen, wenn die Eier für kurze Zeit in hohe Konzentrationen, als wenn sie für längere Zeit in niedere Konzentrationen gebracht werden. Wenn nämlich auch in letzterem Fall etwa ebensoviel Eier Membranen bilden, so tritt schon eine so beträchtliche Schädigung dabei ein, dass die Resultate ganz unrein werden.

Von den verschiedenen geprüften Narkoticis — mit Säuren wurden diesmal keine Versuche gemacht — gelang es am leichtesten mit Thymol, bei allen Eiern gute Membranen hervorzurufen ohne eine unmittelbare sichtbare Schädigung. Die erforderlichen Konzentrationen schwanken etwas.

Tabelle VII.

Mikroskopisches Beispiel.

| In 0,01 % Thymol expon. | In Seewasser: Membranen |
|---------------------------|-------------------------|
| 1/2 Min. | ca. 50 % |
| 1 1/2 " | ca. 90 % |
| 3 " | 90 % (10 % cytol.) |
| In 0,0075 % Thymol expon. | |
| 4 Min. | 10 % |
| 11 " | 20 % |
| 20 " | 30—40 % (5 % cytol.) |
| 1 Stunde | 50 % (teilweise cytol.) |
| 1 1/2 " | 90 % |

1) Vgl. O. Warburg, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 57 S. 1. 1908. —
O. Meyerhof, Biochem. Zeitschr. Bd. 35 S. 251, 287. 1911.

| | |
|--------------------------|-------------------------|
| In 0,005 % Thymol expon. | In Seewasser: Membranen |
| 7 Min. | ca. 2 % |
| 40 " | — |
| 1 Stunde 10 " | — |
| 4 Stunden 30 " | ca. 50 % (cytol.) |

Spätere Versuche verliefen ähnlich; nur war die erforderliche Konzentration fast stets höher, 0,015—0,02 % Thymol, um in 1—3 Minuten 90 % Membranen zu erhalten.

Hiernach wurden grössere Mengen unbefruchteter Eier für kurze Zeit in Thymollösungen von bestimmtem Gehalt übertragen und diese dann nach verschiedenen Zeiten gewaschen. In der Mehrzahl der Versuche, wo die Eier nicht vorher mit der Thymollösung gewaschen wurden, wird die Konzentration durch die Anreicherung von Thymol in den Zellen ziemlich herabgesetzt. Nach dem Wegwaschen wird die Atmung dieser Eier mit der von Kontrolleiern verglichen, die statt in Thymolseewasser in reinem Seewasser exponiert waren. Die Atmung steigt bei Strong. liv. durch Befruchtung mindestens auf das Fünffache. Dasselbe wurde früher bei künstlicher Membranbildung durch Valeriansäure¹⁾ erzielt. Durch Thymol wurde dies nicht erreicht, weil entweder der Entwicklungsanstoss nicht so vollständig ist oder die Eier bereits geschädigt werden.

Tabelle VIII²⁾.

| Thymol | Bei Exposition | Steigerung ³⁾ in Proz. | Mikroskopisches Bild |
|------------------|----------------|--------------------------------------|---|
| I. 0,015—0,02 | 3 Min. | + 200 | ca. 80 % Membranen |
| 0,015—0,02 | 9 Min. | + 250 nachlass. | ca. 95 % Membr. (¹ / ₃ cytolys.) |
| 0,01—0,014 | 3 Min. | + 20 | wenig verändert |
| 0,01—0,014 | 10 Min. | + 50 | 10—20 % Membranen |
| 0,008—0,01 | 10 Min. | 0 | keine Veränderung |

1) O. Warburg, Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 60 S. 323. 1910. — O. Meyerhof, Biochem. Zeitschr. Bd. 35 S. 298 ff. 1911. — Neuerdings hat J. Löb den Entwicklungsanstoss und die Atmungssteigerung unbefruchteter Seeigelleier durch Alkalien näher untersucht: Journ. of Exper. Zoology vol. 13 p. 577. 1912; Journ. of Biolog. Chemistry vol. 14 p. 355. 1913.

2) Versuchsprotokolle s. Anhang.

3) Steigerung 200 % bedeutet Steigerung aufs Dreifache.

| Thymol | Bei Exposition | Steigerung in Proz. | Mikroskopisches Bild |
|-----------------------------------|----------------|---------------------------|---|
| II. 0,015—0,02 | 3 Min. | + 180 | überall Kernveränderung oder Membranen |
| 0,015—0,02 | 10 Min. | (nachlassend bis) + 60 | do. (viel cytols.) |
| 0,008—0,01 | 10 Min. | 0 | unverändert, etwas Zerfall |
| 0,008—0,01 | 1 Stunde | 0 | ca. 20 % Membr., viel Zerfall |
| 0,008—0,01 | 2 1/2 Stunden | — 30 bis 40 | do. |
| III. (2 mal gewaschen) 0,01 | 1/2 Stunde | + 90 stark abfallend | teils Membranen, teils cytols. |
| 0,01 | 1 1/2 Stunde | — 20 | überall Membr., viel cytols. |
| 0,0075 | 1 1/2 Stunde | — 10 | einzelne Membr., viel cytols. |
| 0,005 | 1 1/2 Stunde | + 10 | keine Veränderung |

Vergleicht man dagegen dieselbe Eisuspension des Versuchs III direkt in Seewasser und in den Thymollösungen, so findet man:

III a. In 0,0075 % Thymol . . + 50 % Steigerung
 „ 0,005 % „ . . + 20 % „

Man sieht daraus also, dass die ausbleibende Atmungssteigerung dieser Konzentrationen in Versuch III nur auf Rechnung der Schädigung zu setzen ist.

Dagegen findet bei befruchteten Eiern gleicher Ausbeute
 in 0,005 % Thymol 30 % Hemmung statt
 „ 0,0075 % „ 55 % „ „

Für den Fall des Thymols kann es mithin keinem Zweifel unterliegen, dass der Unterschied der Hemmung befruchteter und unbefruchteter Eier auf den Entwicklungsanstoss zu beziehen ist.

2. Hemmungen befruchteter und unbefruchteter Eier.

Bei Urethanen ist das Verhalten der Eier weniger übersichtlich. Exponiert man unbefruchtete Eier für 1—2 Stunden in Urethanlösungen, die etwa 50 % Atmungshemmung befruchteter Eier verursachen würden, und wäscht die Lösungen fort, so findet sich häufig keinerlei mikroskopische Veränderung. Trotzdem ist in allen solchen Fällen eine geringe Atmungssteigerung von 10—50 % zu verzeichnen. Daraus folgt mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit, dass die Verhältnisse nicht prinzipiell vom Thymol verschieden liegen.

Tabelle IX¹⁾.

| Stoff | Gewichts- prozente | Molare Kon- zentration | Prozentische Hemmung | |
|---------------------------|-----------------------|---------------------------|----------------------|------------------------|
| | | | befruchteter Eier | unbefruchteter Eier |
| Methylurethan | 1,5 | 0,2 | 15 | ca. 10 |
| | 3,0 | 0,4 | 40 | ca. 10 |
| | 4,5 | 0,6 | 55 | ca. 20 |
| Äthylurethan | 1 | 0,11 | 25 | 15 |
| | 2 | 0,22 | 55 | 20 |
| | 3 | 0,33 | 80 | 60 |
| Propylurethan | 0,5 | 0,05 | 30 | 20 |
| | 1,0 | 0,10 | 65 | 35 |
| | 1,5 | 0,15 | 85 | ca. 75 |
| Propylurethan | 0,5 | 0,05 | 25 | — |
| | 1,0 | 0,10 | 65 | 30 |
| | 1,5 | 0,15 | 85 | 50 |
| Propylurethan | 0,5 | 0,05 | (Blastulen) 40 | — |
| | 1,0 | 0,10 | 65 | — |
| | 1,5 | 0,15 | 85 | — |
| Isobutylurethan | 0,25 | 0,02 | 35 | 20 |
| | 0,5 | 0,04 | 65 | 55 |
| | 0,75 | 0,06 | 90 | 60 |
| Phenylurethan | 0,03 | 0,002 | 30 | 20 |
| | 0,03 | 0,002 | 40 | 0 |
| | gesättigt ca. 0,05 | 0,003 | 60 | 35 |

3. Hemmungen bei mechanisch zerstörten Eiern.

Während die angeführten Versuche hinsichtlich der eingangs erwähnten Hypothese keine rechte Entscheidung gestatten, ergeben die Versuche über die Hemmung der Sauerstoffatmung der zerstörten Eier ein klares Resultat: Die hemmenden Konzentrationen sind deutlich höher als für die intakten Eier.

Die mechanische Zerstörung der Eier geschah abweichend von dem kürzlich beschriebenen Verfahren²⁾. Die dort benötigte grosse

1) Protokolle s. Anhang.

2) Pflüger's Arch. Bd. 148 S. 306. 1912.

Menge Sand erschien für die Ausführung quantitativer Messungen sehr störend. Es wurde stets eine grössere Menge Eier zunächst mehrmals in „neutralem Seewasser“ ohne NaOH und ohne NaHCO_3 scharf zusammenzentrifugiert, wodurch erstens eine sehr dichte Suspension erzielt wird — wegen Auflösung der Gallerthüllen — und zweitens verhindert wird, dass bei Zerstörung der sauer reagierenden Eier Kohlensäure ausgetrieben wird, was sonst zu Fehlern Anlass geben kann. In einigen Versuchen wurden die Eier dann mit einem Fünftel Sand 5 Minuten zerrieben und darauf mit einem Pistill durch dichte Leinwand durchgedrückt, wobei sämtliche Eier zertrümmert werden und der Sand bis auf geringe Mengen im Tuch zurückbleibt. Das meist benutzte Verfahren jedoch vermied völlig den Sand: die Eier wurden noch kräftiger mit neutralem künstlichem Seewasserzusammenzentrifugiert, dann ein gleiches Volumen destillierten Wassers zugefügt und 10 Minuten stehengelassen. Daraufhin wurde die Suspension im Reagenzglas kräftig mit der Hand geschüttelt; die unbefruchteten Eier fliessen sofort zu einem homogenen Saft auseinander, bei befruchteten Eiern bleiben „Stromata“, cytolysierte Schatten, zurück. Unter diesen Umständen ergibt sich für die erste Stunde bei unbefruchteten zerstörten Eiern in der Regel eine grössere Sauerstoffzehrung als in den intakten Kontrollen: Vgl. Tab. X; mit befruchteten Eiern wurden in diesem Zusammenhang keine Versuche gemacht¹⁾.

1. Das Narkotikum wird nach Zerstörung der Eier zugegeben. In diesem Fall ist der Sauerstoffverbrauch, der bei den Kontrolliern nur langsam nachlässt, in den gehemmten Proben nicht nur verringert, sondern sinkt ausserdem schneller ab; die Hemmungen sind progressiv. Besonders stark progressiv sind die Hemmungen

1) Nach brieflicher Mitteilung des Herrn Otto Warburg, die dieser mir zu verwerthen gestattet, ergaben spätere Versuche, dass das für meine Experimente eingehaltene Verfahren nicht die optimalen Bedingungen zur Erzielung möglichst hoher und konstanter Sauerstoffzehrung der zerstörten Eier enthält. Sowohl das Waschen der Eier mit relativ „saurem“ Seewasser, wie die starke Änderung des osmotischen Druckes sind in dieser Richtung von ungünstigem Einfluss. Jedoch spielt dies für die folgenden Versuchsreihen keine grosse Rolle, weil es sich dabei nur um Vergleiche der Sauerstoffzehrung zerstörter Eier untereinander — mit und ohne Narkotikum — handelt, und nicht um Vergleiche zerstörter Eier mit intakten.

Tabelle X.

Unbefruchtete Eier. Temp. 20°. Sauerstoffverbrauch in Kubikzentimetern O₂ pro 1/2 Stunde.

| Zeit | Kontrolle: 2 ccm Eier unzerrieben | 1,5 ccm mit Sand zerrie- ben, mit dest. Wasser auf 3 ccm | 1,5 ccm mit Sand zerrieb., mit Seewasser verdünnt auf 3 ccm | 1,5 ccm zentr. mit destill. Wasser, zerschüttelt auf 3 ccm |
|------------|---|--|---|--|
| 1/2 Stunde | 0,018 | 0,024 | 0,020 | 0,023 |
| 1/2 „ | 0,017 | 0,013 | 0,013 | 0,013 |
| 1/2 „ | 0,017 | — | — | 0,008 |
| 1 Stunde | 0,035 (in 3/4 Menge) 0,026 | — 0,037 | — 0,033 | — 0,036 |

bei höheren Konzentrationen, so dass es hier bald zu einem gänzlichen Verschwinden der Sauerstoffzehrung kommt. Um Zahlenwerte angeben zu können, müssen deshalb bestimmte Zeiten gewählt werden. Aus Zweckmässigkeitsgründen ist bei der späteren Übersicht die Zeit von 1—1 1/2 Stunden vom Versuchsbeginn an gewählt worden; jedoch ist schon innerhalb dieser Zeit eine deutliche Zunahme zu merken, so dass z. B. für die erste halbe Stunde die Hemmung noch geringer ist¹⁾.

2. Das Narkotikum wird vor oder bei Zerstörung der Eier zugegeben. Werden die Eier mit dem hemmenden Stoff gewaschen und dann unter Zufügung der entsprechenden Mengen Urethan in destilliertem Wasser zerschüttelt oder werden die Eiersuspensionen getrennt zentrifugiert und je mit der entsprechenden Urethanlösung in destilliertem Wasser übergossen und nach Verlauf von 10 Minuten zerschüttelt, so sind die Hemmungen von vornherein stärker, dagegen ist der Verlauf weniger progressiv.

Im folgenden ist ein Vergleich beider Verfahren für die erste 1—1 1/2 Stunden gegeben, wobei die auf einer Zeile stehenden Versuche zumeist mit denselben Eiesuspensionen, mit der angegebenen verschiedenen Herstellung, ausgeführt sind. Für die Versuche 2, 5, 6, 7

1) Für Einzelheiten vergleiche die Kurven und Protokolle im Anhang.

und 4 B finden sich im Anhang die Atmungsgrößen in Form von Kurven aufgezeichnet (Sauerstoffverbrauch : Zeit).

Tabelle XI.

Hemmungen des Eiersaftes.

| Stoff | Gewichts- procente | Molare Konzentra- tion | Hemmungen in Prozenten | | |
|-----------------------------------|-----------------------|------------------------------|---|---|--|
| | | | A. nachheriger Zusatz des Narkoti- kums | B. gleichzeitig. Zusatz des Narkoti- kums | C. vorheriger Zusatz des Narkoti- kums |
| 1. Äthylurethan . . { | 2 | 0,22 | 33 | 30 | — |
| | 4 | 0,45 | 35 | 60 | — |
| | 8 | 0,9 | 60 | 80 | — |
| 2. Äthylurethan . . { | 2 | 0,22 | 20 | 45 | — |
| | 4 | 0,45 | 50 | 65 | — |
| 3. Äthylurethan ¹⁾ . . | 8 | 0,9 | 50 | — | — |
| 4. Propylurethan. . { | 1,2 | 0,12 | — | 80 | — |
| | 1,7 | 0,17 | 20 | — | — |
| | 2,5 | 0,25 | 35 | 90 | — |
| | 5,0 | 0,5 | — | — | 100 |
| 5. Propylurethan. . { | 1 | 0,1 | 20 | 60 | 55 |
| | 2 | 0,2 | 35 | 85 | 80 |
| 6. Propylurethan. . { | 1 | 0,1 | 20 | 40 | — |
| | 2 | 0,2 | 50 | 70 | — |
| 7. Isobutylurethan. . | 0,75 | 0,06 | 45 | 50 | — |
| 8. Phenylurethan . . | gesättigt | ca. 0,05 | — | — | 0—10 |

Für die Oxydationshemmung des Acetonpulvers sind noch erheblich höhere Konzentrationen erforderlich, und zwar sowohl für die Sauerstoffatmung in destilliertem Wasser wie in $\frac{n}{20}$ NH_3 ; In beiden Fällen ergab sich etwa

| | | |
|----------------------|------------|---------|
| bei 3 % Äthylurethan | keine | Hemmung |
| „ 6 % | „ ca. 10 % | „ |
| „ 8 % | „ 25 % | „ |
| „ 10 % | „ 30 % | „ |

1) Sandzerreibung. Versuchszeit 2½ Stunden.

Die Oxydation des Acetonpulvers ist also gegen Urethan noch unempfindlicher als Invertase. Dagegen lässt sich die Oxydation durch Blausäure beeinflussen. $\frac{n}{100}$ KCN in neutraler Lösung gibt eine fast komplette Hemmung.

Zusammenfassung.

Die vorliegende Arbeit geht von den Hemmungen der Atmung und Gärung durch indifferente Narkotika aus und untersucht die Frage, ob dieser Erscheinung eine Hemmung von Fermenten im allgemeinen zugrunde liegen kann.

Im ersten Teil wird gezeigt:

1. Die Rohrzuckerinversion durch Invertase wird von den indifferenten Narkoticis nach dem gleichen „Gesetz der homologen Reihe“ reversibel gehemmt wie die Atmung; doch bestehen grosse quantitative Unterschiede.

2. Hinsichtlich der Progressivität besteht eine gewisse Analogie zu der Gärungshemmung im Hefepresssaft.

3. Die Säureinversion des Rohrzuckers wird durch Narkotika in dem benutzten Konzentrationsbereich nicht gehemmt, die Hemmungen betreffen also das Ferment selbst.

4. Die Hemmungen bei kleinen Rohrzuckerkonzentrationen sind bei der Mehrzahl der Stoffe grösser als bei den höheren.

5. Durch Zusatz von Eiweiss oder durch weitere Reinigung der Invertase wird die Hemmungsgrösse nicht verändert.

6. Invertase, die durch kolloidales Eisenhydroxyd ausgefällt ist, setzt bei Verteilung des Niederschlags in der Flüssigkeit Rohrzucker mit derselben Geschwindigkeit um wie die kolloid gelöste, wobei die Hälfte bis ein Viertel der Invertase in adsorbierter Form wirksam ist und der übrige Teil durch den Rohrzucker wieder in Lösung gedrängt wird.

7. Die Verteilung der ausgefällten Invertase zwischen Lösung und Niederschlag wird durch Narkotika nicht verschoben.

8. Die Hemmungen teilweise adsorbierter Invertase entsprechen im allgemeinen denen der kolloid gelösten; bei einigen Stoffen, besonders den höchststehenden Gliedern der Reihe findet eine wenig ausgesprochene Zunahme statt.

9. Als Hauptabweichungen gegen die Atmungshemmungen ergeben sich die bedeutend höheren absoluten Konzentrationen, die kleineren relativen Unterschiede der einzelnen Stoffe der Reihe, die an eine Adsorptionskurve erinnernde Hemmungskurve verschiedener Konzentrationen (während die Atmung durch diese Stoffe proportional der Konzentration gehemmt wird).

Im zweiten Teil wird untersucht, ob der Dispersitätsgrad von Eiweisslösungen durch Zusatz von Narkoticis in atmungshemmenden Dosen beeinflusst wird. Es zeigt sich:

10. Der osmotische Druck von genuinem, unverdünntem Eierklar, von Rinderserum und Leberpresssaft wird durch Zusatz von atmungshemmenden Substanzen nicht erniedrigt, wenn keine sichtbaren Ausfällungen eingetreten sind.

Im dritten Teil, der sich mit der Hemmung der Atmung lebender und mechanisch zerstörter Seeigeleier beschäftigt, wird gezeigt:

11. Gleiche Konzentrationen von Urethanen hemmen die Atmung lebender unbefruchteter Eier weniger als die befruchteter.

12. Da die Stoffe zugleich entwicklungsanregend wirken, ist dies kein Beweis für eine durch die Befruchtung veränderte Abhängigkeit der Atmungsfermente von den Strukturen, sondern erklärt sich wahrscheinlich durch den Entwicklungsanstoss, was beim Thymol näher untersucht und als sicher hingestellt werden kann.

13. Dagegen wird die Sauerstoffatmung des Saftes der mit Sand zerriebenen oder in destilliertem Wasser durch Schütteln aufgelösten unbefruchteten Eier im Anfang erst von höheren Konzentrationen der Stoffe gehemmt; diese Hemmung ist dann aber stark progressiv. Setzt man die narkotische Substanz zu den lebenden Eiern vor dem Zerschütteln, so sind die Hemmungen von Anfang an stärker, aber weniger progressiv.

15. Auf der anderen Seite wird die Sauerstoffatmung des Acetompulvers erst durch noch erheblich höhere Konzentrationen gehemmt.

Anhang.

Auszug aus den Versuchsprotokollen.

Im folgenden sind nur die in Tabellen aufgeführten Versuche berücksichtigt.

I. Teil. Versuche an Invertase.

Wenn k die Konstante der Reaktionsgeschwindigkeit für den Kontrollversuch, k_1 für den „Hemmungsversuch“ bedeutet, so berechnet sich die Hemmung in Prozenten gleich $\frac{k - k_1}{k} \cdot 100$. k und k_1 werden berechnet aus der Formel: $k = \frac{1}{t_2 - t_1} \ln \frac{A - x_1}{A - x_2}$. Hier bedeuten t_1 und t_2 die Zeit der ersten und zweiten Entnahme des Rohrzuckers für die Ablesung, A die Rohrzuckeranfangskonzentration, x_1 die zur Zeit t_1 , x_2 die zur Zeit t_2 umgesetzte Menge. $(A - x_1)$ und $(A - x_2)$ sind die noch nicht invertierten Rohrzuckermengen. Die Berechnung derselben aus dem abgelesenen Drehungswinkel ist im Text S. 256 angegeben. Für die Gesamtdrehung (g) ergibt sich auf Grund der Anfangsdrehung (a) die Formel $g = a (1 + 0,427 - 0,005 T)$, wo T die Temperatur in Grad Celsius bedeutet.

Ist der zur Zeit t_1 abgelesene Drehungswinkel (nach links) α_1 , so ist $A - x_1$ gleich $\alpha_1 + a (0,427 - 0,005 T)$, ausgedrückt in Winkelgraden. Eine Umrechnung in Gewichtsprozenten ist für die Berechnung unnötig, weil es nur auf das Verhältnis $(A - x_1) : (A - x_2)$ ankommt.

In der folgenden Übersicht ist angegeben: die Substanz in Gewichtsprozenten; die Rohrzuckeranfangskonzentration in Gewichtsprozenten; die Werte $\alpha_1 + a (0,427 - 0,005 T)$ und $\alpha_2 + a (0,427 - 0,005 T)$ für Ablesung 1, zur Zeit t_1 und 2, zur Zeit t_2 , je in zwei Gliedern, entsprechend dem abgelesenen Winkel und dem berechneten additiven Glied; die Zeit $t_2 - t_1$ in Minuten; die Werte für $0,4343 k$, wie sie sich aus der Rechnung ergeben; die Hemmungen in Prozenten; endlich die Verdünnung mit Soda, die für die wahre Grösse der Rohrzuckerkonzentration des Versuchs, wenn sie aus den Versuchsdaten gefunden werden soll, bekannt sein muss.

Die durch Striche abgeteilten Versuche gehören zu einer Serie.

Jeder angegebene Winkel ist das Mittel aus vier bis acht Ablesungen.

Die Korrekturen für die spezifische Drehungsänderung des Invertzuckers durch Alkohole und Ketone sind unter den Werten für die berechnete Invertzuckerndrehung aufgeführt.

Zu Tabelle III (S. 264) und Fig. 2.

| Stoff | Ge- wichts- proz. | Rohr- zucker in Proz | $\alpha_1 + a ()$ | $\alpha_2 + a ()$ | $t_2 - t_1$ Min. | 0,4343 $k \cdot 10^{-5}$ | Hem- mung in Proz. | Soda- ver- dünnung R : S |
|--------------------|-------------------------|-------------------------------|--------------------|------------------------|---------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------------|
| — | — | 9,8 | 6,94 + 2,38 | 2,40 + 2,38 | 80 | 362 | — | 10 : 8 |
| Methylalkohol . . | 6,4 | 9,8 | 6,95 + 2,38 | 3,27 + 2,38 — 0,03 | 80 | 276 | 24,0 | 10 : 8 |
| „ . . | 12,8 | 9,8 | 6,79 + 2,34 | 3,76 + 2,34 — 0,055 | 80 | 224 | 38,0 | 10 : 8 |
| — | — | 7,8 | 7,34 + 2,36 | 4,30 + 2,36 | 65 | 252 | — | 15 : 6 |
| Äthylalkohol . . . | 3,2 | 7,8 | 7,44 + 2,39 | 4,70 + 2,39 — 0,015 | 65 | 220 | 12,5 | 15 : 6 |
| „ . . . | 6,4 | 7,8 | 7,38 + 2,37 | 4,97 + 2,38 — 0,03 | 65 | 191 | 24,0 | 15 : 6 |
| „ . . . | 9,5 | 7,8 | 7,39 + 2,37 | 5,33 + 2,37 — 0,035 | 65 | 162 | 36,0 | 15 : 6 |
| — | — | 7,8 | 7,29 + 2,35 | 4,25 + 2,35 | 65 | 252 | — | 15 : 6 |
| Äthylalkohol . . . | 12,8 | 7,8 | 7,38 + 2,37 | 5,57 + 2,37 — 0,04 | 65 | 140 | 44,5 | 15 : 6 |
| — | — | 7,8 | 7,23 + 2,36 | 4,15 + 2,36 | 65 | 260 | — | 15 : 6 |
| Äthylalkohol . . . | 19,0 | 7,8 | 7,19 + 2,34 | 5,77 + 2,34 — 0,05 | 65 | 112 | 57,0 | 15 : 6 |
| „ . . . | 28,5 | 7,8 | 7,17 + 2,33 | 6,25 + 2,33 — 0,045 | 65 | 72 | 71,5 | 15 : 6 |
| — | — | 7,8 | 5,44 + 1,79 | 3,045 + 1,79 | 65 | 269 | — | 10 : 8 |
| Äthylalkohol . . . | 3,2 | 7,8 | 5,45 + 1,79 | 3,40 + 1,79 — 0,01 | 65 | 226 | 16,0 | 10 : 8 |
| „ . . . | 6,4 | 7,8 | 5,47 + 1,80 | 3,68 + 1,80 — 0,015 | 65 | 189 | 29,5 | 10 : 8 |
| — | — | 9,6 | 6,65 + 2,25 | 2,35 + 2,25 | 80 | 359 | — | 10 : 8 |
| Propylalkohol . . | 3,2 | 9,6 | 6,66 + 2,25 | 3,57 + 2,25 — 0,01 | 80 | 233 | 35,0 | 10 : 8 |
| „ . . | 6,4 | 9,6 | 6,64 + 2,25 | 3,99 + 2,25 — 0,02 | 80 | 194 | 46,0 | 10 : 8 |
| — | — | 9,6 | 6,59 + 2,20 | 1,23 + 2,20 | 90 | 446 | — | 10 : 8 |
| Isobutylalkohol . | 3,0 | 9,6 | 6,73 + 2,24 | 2,93 + 2,24 — 0,015 | 90 | 264 | 41,0 | 10 : 8 |
| „ . . | 6,0 | 9,6 | 6,65 + 2,21 | 4,28 + 2,21 — 0,02 | 90 | 152 | 66,0 | 10 : 8 |
| — | — | 9,8 | 6,90 + 2,34 | 2,36 + 2,34 | 80 | 368 | — | 10 : 8 |
| Isobutylalkohol . | 1,2 | 9,8 | 6,82 + 2,30 | 3,13 + 2,30 | 80 | 281 | 23,5 | 10 : 8 |
| „ | 2,4 | 9,8 | 7,04 + 2,38 | 3,52 + 2,38 | 80 | 254 | 31,0 | 10 : 8 |
| — | — | 9,6 | 6,54 + 2,17 | 2,62 + 2,17 | 60 | 433 | — | 10 : 8 |
| Gärungsamylalkoh. | 1,2 | 9,6 | 6,62 + 2,19 | 3,32 + 2,19 | 60 | 340 | 22,0 | 10 : 8 |
| „ gesätt. | 9,6 | 9,6 | 6,71 + 2,21 | 3,62 + 2,21 | 60 | 308 | 29,0 | 10 : 8 |

| Stoff | Ge- wichts- proz. | Rohr- zucker in Proz. | $\alpha_1 + a ()$ | $\alpha_2 + a ()$ | $t_2 - t_1$ Min. | 0,4343 $k \cdot 10^{-6}$ | Hem- mung in Proz. | Soda- ver- dünnung R : S |
|-------------------------------------|-------------------------|--------------------------------|--------------------|----------------------|---------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------------|
| — | — | 6,6 | 4,71+1,50 | 2,15+1,50 | 40 | 580 | — | — |
| G.-Amylalkohol . | gesätt. | 6,6 | 4,61+1,47 | 2,88+1,47 | 39 | 375 | 35,0 | 10 : 8 |
| — | — | 9,6 | 6,70+2,27 | 2,83+2,27 | 60 | 410 | — | 10 : 8 |
| Methylurethan . . | 7,6 | 9,6 | 6,70+2,27 | 3,54+2,27 | 60 | 314 | 23,0 | 10 : 8 |
| „ . . . | 15,2 | 9,6 | 6,55+2,21 | 4,00+2,21 | 60 | 250 | 39,0 | 10 : 8 |
| — | — | 9,6 | 6,75+2,28 | 3,14+2,28 | 70 | 317 | — | 10 : 8 |
| Äthylurethan . . | 8,0 | 9,6 | 6,68+2,26 | 3,92+2,26 | 70 | 229 | 28,0 | 10 : 8 |
| „ . . . | 16,0 | 9,6 | 6,45+2,18 | 4,38+2,18 | 70 | 173 | 45,5 | 10 : 8 |
| — | — | 9,6 | 6,84+2,27 | 2,36+2,27 | 77 | 381 | — | 10 : 8 |
| Propylurethan . . | 4,0 | 9,6 | 6,41+2,12 | 2,84+2,12 | 77 | 306 | 20,0 | 10 : 8 |
| „ . . . | 8,0 | 9,6 | 6,44+2,13 | 3,52+2,13 | 77 | 235 | 38,5 | 10 : 8 |
| — | — | 9,6 | 6,84+2,27 | 2,36+2,27 | 77 | 381 | — | 10 : 8 |
| Isobutylurethan . | 1,5 | 9,6 | 6,82+2,27 | 2,61+2,27 | 77 | 351 | 8,0 | 10 : 8 |
| „ . . . | gesätt. | 9,6 | 6,63+2,19 | 2,84+2,19 | 77 | 319 | 16,0 | 10 : 8 |
| — | — | 9,6 | 6,92+2,37 | 3,13+2,37 | 60 | 379 | — | 10 : 8 |
| Aceton | 8,0 | 9,6 | 7,06+2,41 | 3,99+2,41 | 60 | 287 | 24,0 | 10 : 8 |
| „ | 16,0 | 9,6 | 7,11+2,42 | 4,62+2,42 — 0,055 | 60 | 225 | 40,5 | 10 : 8 |
| — | — | 7,8 | 5,48+1,86 | 2,12+1,86 | 60 | 443 | — | 10 : 8 |
| Methylpropylketon | <3,0 | 7,8 | 5,54+1,88 | 2,65+1,88 | 60 | 357 | 19,0 | 10 : 8 |
| „ . . . | gesätt. | 7,8 | 5,60+1,90 | 2,82+1,90 — 0,015 | 60 | 337 | 24,0 | 10 : 8 |
| — | — | 9,6 | 6,83+2,34 | 3,26+2,34 | 60 | 358 | — | 10 : 8 |
| Methylphenylketon | gesätt. | 9,6 | 6,72+2,30 | 3,40+2,30 | 60 | 333 | 7,0 | 10 : 8 |
| — | — | 6,8 | 5,01+1,65 | 1,89+1,65 | 65 | 433 | — | 10 : 8 |
| Asymm. Diäthyl- harnstoff . . . | 6,0 | 6,8 | 5,01+1,64 | 2,76+1,64 | 65 | 277 | 36,0 | 10 : 8 |
| — | — | 6,8 | 4,99+1,65 | 2,11+1,65 | 60 | 429 | — | 10 : 8 |
| Asymm. Dimethyl- harnstoff . . . | 6,0 | 6,8 | 5,02+1,66 | 2,93+1,66 | 60 | 273 | 36,0 | 10 : 8 |
| — | — | 3,1 | 2,96+0,96 | 1,15+0,96 | 60 | 448 | — | 15 : 6 |
| Methylalkohol . . | 6,4 | 3,1 | 2,97+0,96 | 1,48+0,96 — 0,02 | 60 | 352 | 21,5 | 15 : 6 |
| Isobutylalkohol . | 2,4 | 3,1 | 2,95+0,95 | 1,68+0,95 | 60 | 285 | 36,0 | 15 : 6 |
| — | — | 3,2 | 3,08+1,02 | 1,01+1,02 | 53,0 | 575 | — | 15 : 6 |
| Äthylalkohol . . | 6,4 | 3,2 | 3,13+1,03 | 1,57+1,03 — 0,02 | 52,5 | 395 | 31,0 | 15 : 6 |
| Isobutylalkohol . | 2,4 | 3,2 | 3,10+1,02 | 1,60+1,02 | 53,0 | 372 | 35,5 | 15 : 6 |
| — | — | 3,1 | 2,93+0,95 | 1,13+0,95 | 60 | 453 | — | 15 : 6 |
| Propylalkohol . . | 3,2 | 3,1 | 2,97+0,96 | 1,59+0,96 — 0,01 | 60 | 317 | 30,0 | 15 : 6 |
| G.-Amylalkohol . | gesätt. | 3,1 | 2,88+0,93 | 1,62+0,93 | 60 | 290 | 36,0 | 15 : 6 |

| Stoff | Ge- wichts- proz. | Rohr- zucker in Proz. | $\alpha_1 - a$ () | $\alpha_2 - a$ () | $t_2 - t_1$ | $0,4343$ $k \cdot 10^{-5}$ | Hem- mung in Proz. | Soda- ver- dünnung R : S |
|---------------------------------------|-------------------------|--------------------------------|--------------------|----------------------|-------------|-------------------------------|-----------------------------|-----------------------------------|
| — | — | 3,2 | 3,10+1,02 | 1,10+1,02 | 51,0 | 567 | — | 15 : 6 |
| Isobutylalkohol . | 6,1 | 3,2 | 3,07+1,01 | 2,16+1,01 — 0,01 | 51,5 | 217 | 62,0 | 15 : 6 |
| — | — | 3,5 | 3,30+1,07 | 1,00+1,07 | 70 | 465 | — | 15 : 6 |
| Methylurethan . . | 8,0 | 3,5 | 3,39+1,10 | 1,68+1,10 | 70 | 299 | 36,0 | 15 : 6 |
| Propylurethan . . | 8,0 | 3,5 | 3,35+1,08 | 1,88+1,08 | 70 | 250 | 46,0 | 15 : 6 |
| — | — | 3,3 | 2,28+0,74 | 1,46+0,74 | 35 | 395 | — | 10 : 8 |
| Methylurethan . . | 8,0 | 3,3 | 2,32+0,75 | 1,73+0,75 | 35 | 269 | 32,0 | 10 : 8 |
| Äthylurethan . . | 8,0 | 3,3 | 2,32+0,75 | 1,75+0,75 | 35 | 254 | 36,0 | 10 : 8 |
| — | — | 3,3 | 2,28+0,74 | 0,75+0,74 | 71 | 432 | — | 10 : 8 |
| Äthylurethan . . | 8,0 | 3,3 | 2,32+0,75 | 1,26+0,75 | 71 | 259 | 40,0 | 10 : 8 |
| — | — | 3,1 | 2,96+0,96 | 0,89+0,96 | 70 | 465 | — | 15 : 6 |
| Methylurethan . . | 15,0 | 3,1 | 3,07+0,99 | 1,80+0,99 | 70 | 233 | 50,0 | 15 : 6 |
| Propylurethan . . | 4,0 | 3,1 | 2,94+0,95 | 1,32+0,95 | 70 | 350 | 25,0 | 15 : 6 |
| — | — | 3,3 | 3,16+1,02 | 1,36+1,02 | 61 | 400 | — | 15 : 6 |
| Äthylurethan . . | 8,0 | 3,3 | 3,21+1,03 | 1,94+1,03 | 61 | 254 | 36,5 | 15 : 6 |
| Aceton | 8,0 | 3,3 | 3,26+1,05 | 1,91+1,05 — 0,02 | 61 | 272 | 32,0 | 15 : 6 |
| Methylphenyl- keton | gesätt. | 3,2 | 3,08+0,99 | 1,59+0,99 | 61 | 325 | 18,5 | 15 : 6 |
| — | — | 3,2 | 3,09+1,02 | 0,42+1,02 | 70 | 650 | — | 15 : 6 |
| Methylpropylketon | gesätt. | 3,2 | 3,13+1,03 | 1,03+1,03 — 0,015 | 70 | 440 | 32,0 | 15 : 6 |
| Asymm. Dimethyl- harnstoff | 6,0 | 3,2 | 3,11+1,02 | 1,24+1,02 | 70 | 380 | 41,5 | 15 : 6 |
| Asymm. Diäthyl- harnstoff | 5,4 | 3,2 | 3,09+1,02 | 1,03+1,02 | 70 | 430 | 34,0 | 15 : 6 |
| — | — | 3,1 | 2,94+0,94 | 0,62+0,94 | 59,5 | 665 | — | 15 : 6 |
| Phenylharnstoff . | gesätt. | 3,1 | 2,95+0,94 | 0,84+0,94 | 60,0 | 567 | 15,0 | 15 : 6 |
| Methylphenyl- keton | gesätt. | 3,1 | 2,95+0,94 | 0,85+0,94 | 59,5 | 568 | 15,0 | 15 : 6 |
| — | — | 3,3 | 3,15+1,05 | 0,54+1,05 | 70 | 602 | — | 15 : 6 |
| Isobutylurethan . | 1,5 | 3,3 | 3,16+1,05 | 0,74+1,05 | 70 | 530 | 12,0 | 15 : 6 |
| — | — | 3,5 | 3,20+1,07 | 1,21+1,07 | 80 | 341 | — | 15 : 6 |
| Propylurethan . . | 6,0 | 3,5 | 3,22+1,07 | 1,80+1,07 | 80 | 219 | 36,0 | 15 : 6 |
| — | — | 3,5 | 3,23+1,04 | 1,54+1,04 | 70 | 313 | — | 15 : 6 |
| Propylurethan . . | 4,0 | 3,5 | 3,20+1,04 | 1,85+1,04 | 70 | 239 | 24,0 | 15 : 6 |
| Phenylharnstoff . | gesätt. | 3,5 | 3,15+1,02 | 1,70+1,02 | 70 | 266 | 15,0 | 15 : 6 |
| — | — | 3,5 | 3,21+1,07 | 1,30+1,07 | 70 | 369 | — | 15 : 6 |
| Propylurethan . . | 8,0 | 3,5 | 3,26+1,09 | 2,01+1,09 | 70 | 210 | 43,0 | 15 : 6 |
| Isobutylurethan . | gesätt. | 3,5 | 3,10+1,04 | 1,49+1,04 | 70 | 306 | 16,0 | 15 : 6 |
| Methylpropylketon | gesätt. | 3,5 | 3,19+1,06 | 1,72+1,06 | 70 | 264 | 28,5 | 15 : 6 |

Zu Tabelle IV (S. 265).

Bertrand'sche Zuckerbestimmungen.

Es wurden jedesmal 20 ccm der Lösungen analysiert.

44,8 ccm Kaliumpermanganat entsprachen 0,25 g Ammonium-oxalat; also entsprachen 2,0 ccm Kaliumpermanganat 0,010 g Cu. Im folgenden sind der Einfachheit halber gleich die entsprechenden (korrigierten) Invertzuckermengen in Milligrammen angegeben. Ist die nach völligem Umsatz zu erreichende (berechnete) Invertzuckermenge = a , die zur Zeit t nach Versuchsbeginn gefundene = x , so ist $k = \frac{1}{t} \ln \frac{a}{a-x}$. Es sind a , x , t angegeben, daraus $0,4343 k \cdot 10^{-5}$ und die Hemmung in Prozenten (H) berechnet worden.

| Stoff | Ge- wichts- proz. | Rohr- zucker in Proz. | a | x | t | k | H % |
|---------------------|-------------------------|--------------------------------|-----|-------|------|-----|----------|
| — | — | 0,3 | 60 | 32,3 | 61,5 | 545 | — |
| Äthylalkohol . . . | 6,4 | 0,3 | 60 | 22,8 | 61,5 | 338 | 38 |
| Methylurethan. . . | 8,0 | 0,3 | 60 | 20,9 | 61,5 | 302 | 44 |
| — | — | 0,3 | 60 | 29,0 | 61 | 472 | — |
| Isobutylurethan . . | 2,5 | 0,3 | 60 | 22,2 | 61 | 329 | 30 |
| — | — | 0,3 | 60 | 34,6 | 60 | 622 | — |
| Propylurethan. . . | 4,0 | 0,3 | 60 | 23,6 | 60 | 362 | 42 |
| — | — | 0,2 | 40 | 21,5 | 120 | 279 | — |
| Äthylurethan . . . | 8,0 | 0,2 | 40 | 13,6 | 120 | 151 | 46 |
| — | — | 0,2 | 40 | 12,75 | 130 | 129 | — |
| G.-Amylalkohol . . | < 2,4 | 0,2 | 40 | 7,9 | 130 | 74 | 43 |

Zu Tabelle V (S. 267).

Versuche mit adsorbierter Invertase¹⁾.

| Stoff | Ge- wichts- proz. | Rohr- zucker in Proz. | $\alpha_1 - a$ () | $\alpha_2 - a$ () | $t_2 - t_1$ | $0,4343$ $k \cdot 10^{-5}$ | Hem- mung in Proz. | Soda- ver- dünnung R : S |
|-------------------|-------------------------|--------------------------------|--------------------|------------------------|-------------|-------------------------------|-----------------------------|-----------------------------------|
| — | — | 3,3 | 2,88 + 1,05 | 1,33 + 1,05 | 65 | 336 | — | 15 : 6 |
| G.-Amylalkohol . | gesätt. | 3,3 | 2,94 + 1,04 | 1,95 + 1,04 | — | 191 | 43 | 15 : 6 |
| — | — | 3,3 | 2,85 + 1,06 | 1,17 + 1,06 | 74 | 330 | — | 15 : 6 |
| Äthylalkohol . . | 6,4 | 3,3 | 2,91 + 1,05 | 1,73 + 1,05 — 0,015 | 74 | 211 | 36 | 15 : 6 |
| Methylphenylketon | gesätt. | 3,3 | 2,83 + 1,05 | 1,42 + 1,05 | 74 | 263 | 20 | 15 : 6 |

1) Der Wert für α_0 ($= a$) ist nicht durch Extrapolation gewonnen, sondern aus der Rohrzuckerkonzentration berechnet.

| Stoff | Ge- wichts- proz. | Rohr- zucker in Proz. | $\alpha_1 - a ()$ | $\alpha_2 - a ()$ | $t_2 - t_1$ | $0,4343$ $k \cdot 10^{-5}$ | Hem- mung in Proz. | Soda- ver- l nnung R : S |
|---------------------------------------|-------------------------|--------------------------------|--------------------|----------------------|-------------|-------------------------------|-----------------------------|-----------------------------------|
| — | — | 3,3 | 2,75+1,03 | 1,00+1,03 | 73 | 370 | — | 15 : 6 |
| Propylalkohol . . | 3,2 | 3,3 | 2,87+1,03 | 1,53+1,03 — 0,01 | 73 | 252 | 32,0 | 15 : 6 |
| Isobutylalkohol . | 2,4 | 3,3 | 2,86+1,03 | 1,48+1,03 | 73 | 260 | 29,0 | 15 : 6 |
| — | — | 3,3 | 2,89+1,06 | 1,03+1,06 | 72 | 371 | — | 15 : 6 |
| Isobutylalkohol . | 6,1 | 3,3 | 2,99+1,06 | 2,08+1,06 — 0,01 | 72 | 156 | 58,0 | 15 : 6 |
| — | — | 3,5 | 2,64+1,02 | 1,15+1,02 | 62 | 366 | — | 12 : 6 |
| Isobutylurethan . | gesätt. | 3,5 | 2,82+1,02 | 1,59+1,02 | 62 | 269 | 26,5 | 12 : 6 |
| — | — | 3,3 | 2,89+1,05 | 0,70+1,05 | 69 | 512 | — | 15 : 6 |
| Isobutylurethan . | 1,5 | 3,3 | 3,00+1,05 | 1,04+1,05 | 69 | 417 | 19,0 | 15 : 6 |
| — | — | 3,1 | 2,33+0,89 | 0,76+0,89 | 60 | 485 | — | 12 : 6 |
| Aceton | 8,0 | 3,1 | 2,54+0,89 | 1,39+0,89 — 0,015 | 60 | 300 | 38,0 | 12 : 6 |
| Methylphenyl- keton | gesätt. | 3,1 | 2,45+0,90 | 1,03+0,90 | 60 | 399 | 18,0 | 12 : 6 |
| — | — | 3,1 | 2,16+0,86 | 0,40+0,86 | 68 | 560 | — | 12 : 6 |
| Phenylharnstoff . | gesätt. | 3,1 | 2,41+0,86 | 0,86+0,86 | 68 | 410 | 27,0 | 12 : 6 |
| — | — | 3,3 | 2,54+0,94 | 0,92+0,94 | 80 | 395 | — | 12 : 6 |
| Asymm. Dimethyl- harnstoff | 6,0 | 3,3 | 2,67+0,94 | 1,45+0,94 | 80 | 224 | 43,5 | 12 : 6 |
| — | — | 3,3 | 2,82+1,05 | 1,20+1,05 | 71 | 331 | — | 15 : 6 |
| Propylurethan . . | 6,4 | 3,3 | 3,07+1,05 | 1,90+1,05 | 71 | 204 | 38,5 | 15 : 6 |
| Isobutylurethan . | gesätt. | 3,3 | 2,94+1,05 | 1,59+1,05 | 71 | 253 | 23,5 | 15 : 6 |
| — | — | 3,3 | 2,56+1,05 | 0,48+1,05 | 95 | 392 | — | 15 : 6 |
|  thylurethan . . | 8,0 | 3,3 | 2,76+1,05 | 1,17+1,05 | 95 | 247 | 37,0 | 15 : 6 |
| Propylurethan . . | 6,0 | 3,3 | 2,76+1,05 | 1,21+1,05 | 95 | 239 | 39,0 | 15 : 6 |
| — | — | 3,3 | 2,78+1,03 | 0,96+1,03 | 77,5 | 364 | — | 15 : 6 |
| Propylurethan . . | < 8,0 | 3,3 | 2,825+1,03 | 1,75+1,03 | 77,5 | 183 | 50,0 | 15 : 6 |
| — | — | 3,3 | 2,69+1,05 | 0,59+1,05 | 67,5 | 533 | — | 15 : 6 |
|  thylurethan . . | 8,0 | 3,3 | 2,75+1,05 | 1,23+1,05 | 67,5 | 329 | 38,0 | 15 : 6 |
| Propylurethan . . | 4,0 | 3,3 | 2,70+1,05 | 0,98+1,05 | 67,5 | 393 | 26,0 | 15 : 6 |
| — | — | 3,3 | 2,82+1,05 | 0,98+1,05 | 82,5 | 340 | — | 15 : 6 |
| Methylpropylketon | gesätt. | 3,3 | 2,92+1,05 | 1,60+1,05 | 82,5 | 212 | 37,5 | 15 : 6 |
| G.-Amylalkohol . | gesätt. | 3,3 | 2,885+1,05 | 1,69+1,05 | 82,5 | 190 | 44,0 | 15 : 6 |
| — | — | 3,3 | 2,495+1,05 | 0,865+1,05 | 81,5 | 329 | — | 15 : 6 |
|  thylurethan . . | 8,0 | 3,3 | 2,665+1,05 | 1,465+1,05 | 81,5 | 211 | 36,0 | 15 : 6 |
| Isobutylurethan . | gesätt | 3,3 | 2,68 +1,05 | 1,22 +1,05 | 81,5 | 260 | 21,0 | 15 : 6 |

Zum III. Teil: Versuche an Seeigeleiern.

Der Sauerstoffverbrauch berechnet sich, wie häufig beschrieben, nach der Formel $v_0 = \frac{p v}{p_0 \left(1 + \frac{1}{273} t\right)}$, in Kubikzentimeter Sauerstoff

unter Normalbedingungen von Temperatur und Atmosphärendruck (0°, 760 mm). Hier bedeutet v das Volumen des Gasraumes der Atmungsgefäße, p abgelesener Druck in Millimeter Manometerflüssigkeit. $p_0 = 10\,000$. t = Temperatur in Grad Celsius. Die Temperatur war in allen Versuchen 19–20° C.

Im folgenden sind nicht die gesamten Ablesungen, sondern nur die angegeben, die für die Berechnungen im Text zur Unterlage dienen.

Für jeden Versuch ist v , p und O₂-Verbrauch in Kubikzentimetern innerhalb der angegebenen Zeiten aufgeführt. (Also p bedeutet nicht den negativen Gesamtdruck zur angegebenen Zeit, sondern die Druckabnahme innerhalb derselben).

Zu Tabelle VIII (S. 285).

Thymolversuche.**I.**

| Zeit | Kontrolle: unbefruchtete Eier $v = 10,5$ $p =$ | 3 Min. in 0,015–2 Thymol $v = 11,5$ $p =$ | 9 Min. in 0,015–2 Thymol $v = 10,5$ $p =$ | 3 Min. in 0,01–14 Thymol $v = 12,5$ $p =$ | 10 Min. in 0,01–14 Thymol $v = 11,0$ $p =$ | 10 Min. in 0,008–0,01 Thymol $v = 11,5$ $p =$ |
|---------------------------------------|---|---|---|---|--|---|
| 20' | — 7 | — 21 | — 24 | } — 29 | — 51 | — 29 |
| 60' | — 22 | — 61 | — 53 | | | |
| Kubikzentimeter O ₂ in 80' | } 0,029 | 0,090 | 0,077 | 0,034 | 0,053 | 0,032 |

II.

| Zeit | Kontrolle: unbefruchtete Eier $v = 10,5$ $p =$ | 3 Min. in 0,015 bis 0,02 Th. $v = 11,5$ $p =$ | 10 Min. in 0,015 bis 0,02 Th. $v = 10,5$ $p =$ | 10 Min. in 0,008 bis 0,01 Th. $v = 12,5$ $p =$ | 1 Stunde in 0,009 Th. $v = 11,0$ $p =$ | 2 1/2 Stunde in 0,009 Thymol $v = 11,5$ $p =$ |
|--|---|---|--|--|---|---|
| 2 h 10' | — 58 | — 143 | — 89 | — 50 | — 58 | — 36 |
| 30' | — 12 | — 33 | — 16 | — 9 | — 11 | — |
| Kubikzentimeter O ₂ in 2 h 40' | } 0,070 | 0,195 | 0,105 | 0,070 | 0,072 | — |

III. Eier zweimal vorher in Thymol gewaschen.

| Zeit | Kontrolle $v = 10,5$ $p =$ | $\frac{1}{2}$ Stunde in 0,01 Th. $v = 11,5$ $p =$ | $1\frac{1}{2}$ Stunde in 0,01 Th. $v = 10,5$ $p =$ | $1\frac{1}{2}$ Stunde in 0,0075 Th. $v = 12,5$ $p =$ | $1\frac{1}{2}$ Stunde in 0,005 Th. $v = 11,0$ $p =$ |
|-------------------------------------|----------------------------------|--|---|---|--|
| 30' | — 15 | — 26 | — | — | — |
| 30' | — 14 | — 19 | — | — | — |
| 2 h 30' | — 64 | — 62 | — 51 | — 54 | — 71 |
| Kubikzentimeter O_2 in 3 h 30' | } 0,093 | 1 h 0,117 | — 22 | — 18 | — 28 |
| | | | 0,073 | 0,081 | 0,103 |

III a. Eier während der Atmung in Thymol (vorher zweimal in Th. gewaschen).

| Zeit | Kontrolle: un- befruchtete Eier $v = 10,5$ $p =$ | In 0,005 Thymol $v = 11,5$ $p =$ | In 0,0075 Thymol $v = 10,5$ $p =$ |
|---------------------------------|---|--|---|
| 1 h | — 29 | — 33 | — 45 |
| 1 h | — 26 | — 33 | — 39 |
| Kubikzentimeter O_2 in 2 h | } 0,055 | 0,072 | 0,084 |

| Zeit | Kontrolle: befruchtete Eier $v = 10,5$ $p =$ | In 0,005 Thymol $v = 12,5$ $p =$ | In 0,0075 Thymol $v = 11,0$ $p =$ |
|-----------------------|--|--|---|
| 1 h | — 97 | — 59 | — 42 |
| Kubikzentimeter O_2 | 0,097 | 0,070 | 0,044 |

Zu Tabelle IX (S. 287).

Hemmung befruchteter und unbefruchteter Eier.

Methylurethan.

Unbefruchtete Eier.

| Zeit | Kontrolle $v = 12,5$ $p =$ | 1,5 % M. $v = 11,5$ $p =$ | 3 % M. $v = 11,5$ $p =$ | 4,5 % M. $v = 11,0$ $p =$ | Atmung nachher, aus | | |
|------------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|
| | | | | | 1,5 % M. $v = 13,0$ $p =$ | 3 % M. $v = 12,0$ $p =$ | 4,5 % M. $v = 12,0$ $p =$ |
| 1 h 30' | — 35 | — 34 | — 34 | — 30 | — 73 | — 68 | — 58 |
| 2 h 20' | — 51 | — 52 | — 52 | — 49 | — | — | — |
| Kubikzentimet. O_2 in 3 h 50' | } 0,102 | 0,094 | 0,094 | 0,083 | — | — | — |

Befruchtete Eier.

| Zeit | Kontrolle $v = 11,0$ $p =$ | 1,5 % M. $v = 11,0$ $p =$ | 3 % M. $v = 12,0$ $p =$ | 4,5 % M. $v = 12,5$ $p =$ |
|--------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|
| 1 h | — 73 | — 64 | — 41 | — 28 |
| Kubikzentimeter O ₂ | 0,077 | 0,067 | 0,047 | 0,033 |

Äthylurethan.

Unbefruchtete Eier.

| Zeit | Kontrolle $v = 12,5$ $p =$ | 1 % Äth. $v = 11,0$ $p =$ | 2 % Äth. $v = 11,5$ $p =$ | 3 % Äth. $v = 10,0$ $p =$ |
|--------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| 2 h 50' | — 44 | — 42 | — 37 | — 20 |
| Kubikzentimeter O ₂ | 0,052 | 0,044 | 0,0405 | 0,019 |

Befruchtete Eier.

| Zeit | Kontrolle $v = 12,5$ $p =$ | 1 % Äth. $v = 11,0$ $p =$ | 2 % Äth. $v = 11,5$ $p =$ | 3 % Äth. $v = 10,0$ $p =$ |
|--------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| 1 h 30' | — 55 | — 46 | — 28 | — 14 |
| Kubikzentimeter O ₂ | 0,065 | 0,048 | 0,0295 | 0,013 |

Propylurethan (nur der erste Versuch angegeben).

Unbefruchtete Eier.

| Zeit | Kontrolle $v = 12,5$ $p =$ | 0,5 % Pr. $v = 11,0$ $p =$ | 1,0 % Pr. $v = 11,5$ $p =$ | 1,5 % Pr. $v = 10,5$ $p =$ |
|--------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| 1 h 30' | — 31 | — 29 | — 22 | — 9 |
| Kubikzentimeter O ₂ | 0,037 | 0,030 | 0,024 | 0,09 |

Befruchtete Eier.

| Zeit | Kontrolle $v = 12,5$ $p =$ | 0,5 % Pr. $v = 11,0$ $p =$ | 1,0 % Pr. $v = 11,5$ $p =$ | 1,5 % Pr. $v = 10,5$ $p =$ |
|--------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| 1 h 30' | — 105 | — 83 | — 40 | — 21 |
| Kubikzentimeter O ₂ | 0,125 | 0,087 | 0,045 | 0,021 |

Isobutylurethan.

Unbefruchtete Eier.

| Zeit | Kontrolle 2 ccm Eier $v = 11,5$ $p =$ | 0,25 % Is. 2 ccm Eier $v = 10,0$ $p =$ | 0,5 % Is. 2,4 ccm Eier $v = 12,0$ $p =$ | 0,75 % Is. 1,5 ccm Eier $v = 11,0$ $p =$ |
|--|--|---|--|---|
| 2 h | — 36 | — 34 | — 19 | — 12 |
| Kubikzentimeter O ₂ auf gleiche Mengen | } 0,039 | 0,032 | 0,018 | 0,017 |

Befruchtete Eier.

| Zeit | Kontrolle $v = 11,5$ $p =$ | 0,25 % Is. $v = 11,0$ $p =$ | 0,5 % Is. $v = 12,5$ $p =$ | 0,75 % Is. $v = 10,0$ $p =$ |
|--|----------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|
| 0 h 50' | — 54 | — 34 | — 17 | — 7 |
| 2 h 00' | — 161 | — 100 | — 52 | — 36 |
| Kubikzentimeter O ₂ in 50' | } 0,059 | 0,140 | 0,070 | 0,041 |

Phenylurethan.

| Unbefruchtete Eier | | | | Befruchtete Eier | | | |
|---------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------|------------------------------------|-------|
| Zeit | Kontrolle $v = 12,0$ $p =$ | 0,03% Ph. $v = 12,0$ $p =$ | gesätt. Ph. $v = 13,0$ $p =$ | Kontrolle $v = 11,5$ $p =$ | 0,03% Ph. $v = 12,0$ $p =$ | gesätt. Ph. $v = 12,0$ $p =$ | |
| 1 h | — 34 | — 39 | — 28 | — 90 | — 51 | — 33 | |
| 1 h | — 35 | — 35 | — 17 | — | — | — | |
| Kubikzentim. O ₂ in 2 h | } 0,079 | 0,084 | 0,053 | Kubikzentim. O ₂ in 1 h | } 0,098 | 0,058 | 0,038 |

Zu Tabelle XI (S. 290).

Hemmungen im Eiersaft.

Äthylurethan.

Versuch 1A. Zusatz nach Zerschüttelung.

| Zeit | Kontrolle, Eier zerschütt. $v = 11,0$ $p =$ | 2 % Äth. $v = 12,0$ $p =$ | 4 % Äth. $v = 11,5$ $p =$ | 8 % Äth. $v = 12,0$ $p =$ |
|--|--|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| 1 h 10' | — 40 | — 25 | — 25 | — 15 |
| Kubikzentimeter O ₂ in 1 h 10' | } 0,042 | 0,028 | 0,027 | 0,017 |

Versuch 1 B. Zusatz bei Zerschüttelung.

| Zeit | Kontrolle $v = 11,0$ $p =$ | 2 % Äth. $v = 11,5$ $p =$ | 4 % Äth. $v = 13,0$ $p =$ | 8 % Äth. $v = 12,0$ $p =$ |
|--|----------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| 40' | — 18 | — 12 | — 8 | — 5 |
| 50' | — 15 | — 10 | — 4 | — 1 |
| Kubikzentimeter O ₂ in 1 h 30' | 0,0345 | 0,024 | 0,015 | 0,007 |

Propylurethan
Isobutylurethan
Äthylurethan

Zusatz nach Zerschüttelung. Versuche 2 A, 5 A, 7 A;
 Fig. 4.

| Zeit | Kontrolle $v = 11,0$ $p =$ | 2 % Äth. $v = 12,5$ $p =$ | 4 % Äth. $v = 10,5$ $p =$ | 1 % Prop. $v = 11,5$ $p =$ | 2 % Prop. $v = 10,5$ $p =$ | 0,75 % Is. $v = 11,5$ $p =$ |
|--|----------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|
| 30' | — 21 | — 15 | — 14 | — 18 | — 17 | — 15 |
| 50' | — 22 | — 14 | — 8 | — 14 | — 12 | — 7 |
| Kubikzentimeter O ₂ in 1 h 20' | 0,045 | 0,035 | 0,022 | 0,035 | 0,029 | 0,024 |

Propylurethan bei und vor Zerschüttelung zugesetzt (gewaschen).
 Versuche 5 B und 5 C; Fig. 6 und 7 (s. S. 304).

| Zeit | Kontrolle $v = 11,5$ $p =$ | 1 % Pr. | 2 % Pr. | Kontrolle 1 % Pr. 2 % Pr. | | |
|--|----------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------------|---------------------|---------------------|
| | | bei Zerschüttelung | | vor Zerschüttelung | | |
| | | $v = 13,0$ $p =$ | $v = 11,0$ $p =$ | $v = 12,0$ $p =$ | $v = 11,0$ $p =$ | $v = 12,0$ $p =$ |
| 0 h 30' | — 20 | — 9 | — 7 | — 21 | — 11 | — 6 |
| 1 h 05' | — 32 | — 10 | — 2 | — 28 | — 13 | — 5 |
| Kubikzentimeter O ₂ in 1 h 35' | 0,057 | 0,023 | 0,0085 | 0,056 | 0,025 | 0,0125 |

Äthylurethan, Isobutylurethan bei Zerschütteln zugesetzt. Ver-
 suche 2 B, 7 B; Fig. 5 (s. S. 304).

| Zeit | Kontrolle $v = 11,0$ $p =$ | 2 % Äth. $v = 12,5$ $p =$ | 4 % Äth. $v = 10,5$ $p =$ | 0,75 % Isob. $v = 11,5$ $p =$ |
|--|----------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-------------------------------------|
| 1 h 5' | — 46 | — 22 | — 18 | — 22 |
| 1 h 5' | — 30 | — 21 | — 13 | — 15 |
| Kubikzentimeter O ₂ in der ersten 1 h 5' | 0,048 | 0,026 | 0,018 | 0,024 |

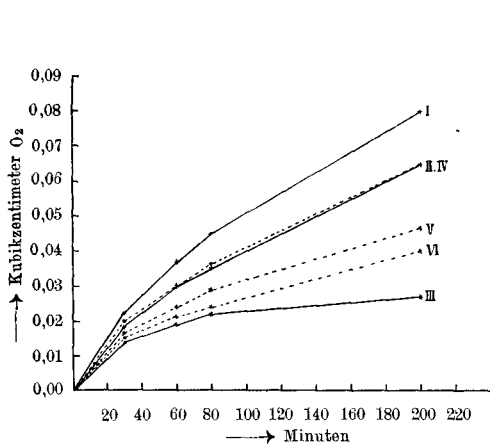


Fig. 4. Tabelle XI: 2 A, 5 A, 7 A.
I Kontrolle. II 2% Äthylurethan. III 4% Äthylurethan. IV 1% Propylurethan. V 2% Propylurethan. VI 0,75% Isobutylurethan.

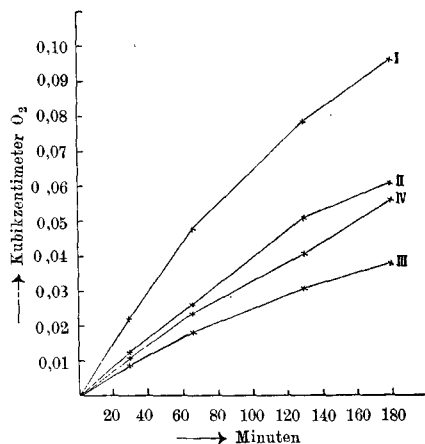


Fig. 5. Tab. XI: 2 B, 7 B.
I Kontrolle. II 2% Äthylurethan. III 4% Äthylurethan. IV 0,75% Isobutylurethan.

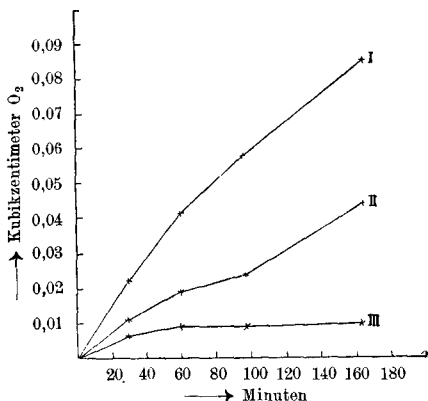


Fig. 6. Tab. XI: 5 B. I Kontrolle. II 1% Propylurethan. III 2% Propylurethan.

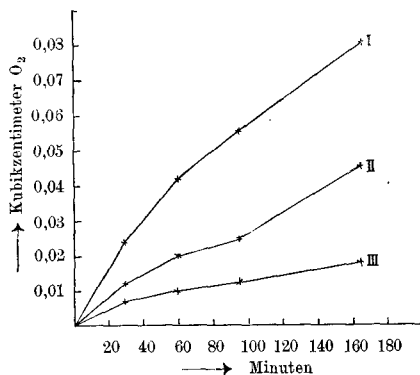


Fig. 7. Tab. XI: 5 C. I Kontrolle. II 1% Propylurethan. III 2% Propylurethan.

Propylurethan. Versuch 4 A.

| Zeit | Zusatz nach Zerschüttelung | | |
|-----------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| | Kontrolle $v = 11,0$ $p =$ | 1,7% Prop. $v = 13,0$ $p =$ | 2,5% Prop. $v = 11,5$ $p =$ |
| 1 h 30' | — 26 | — 18 | — 15 |
| Kubikzentimeter O_2 | } 0,027 | 0,022 | 0,0175 |
| | | | |

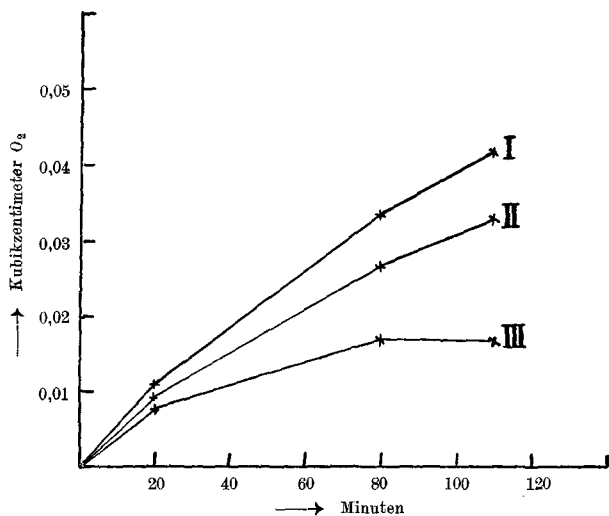


Fig. 8. Tab. XI: 6 A. *I* Kontrolle. *II* 1% Propylurethan.
III 2% Propylurethan.

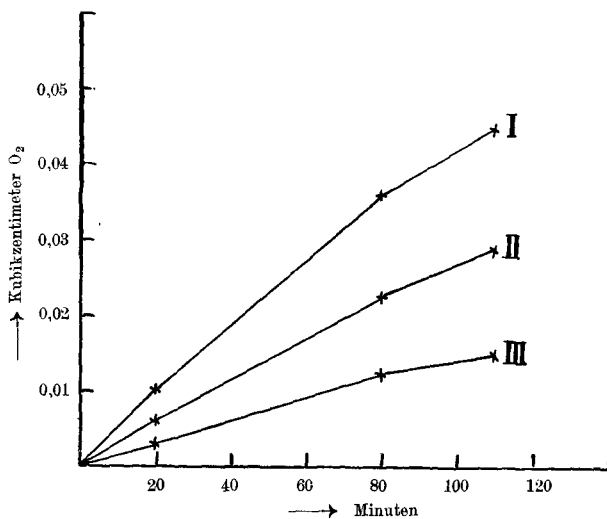


Fig. 9. Tab. XI: 6 B. *I* Kontrolle. *II* 1% Propylurethan.
III 2% Propylurethan.

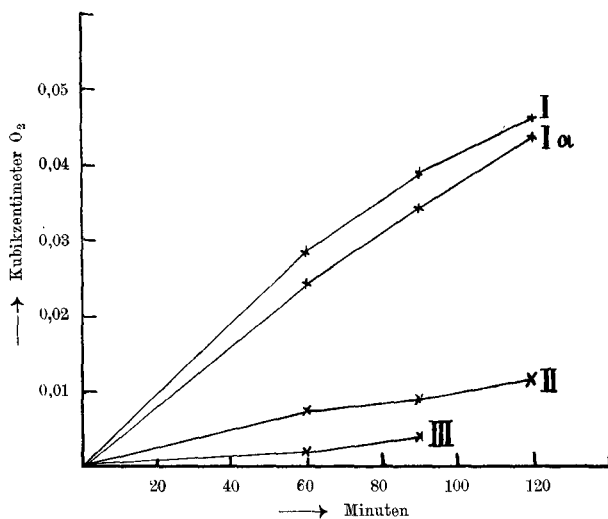


Fig. 10. Tab. XI: 4 B. Ia Eier unzerschüttelt. I Kontrolle (zerschüttelt). II 1,2% Propylurethan. III 2,5% Propylurethan.

Propylurethan.

Versuch 4 B. Fig. 10.

| Zeit | Zusatz bei Zerschüttelung | | | Zusatz vor Zerschüttelg. | Kontrolle, Eier unzerschüttelt |
|-------------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| | Kontrolle $v = 12,0$ $p =$ | 1,2% Pr. $v = 13,0$ $p =$ | 2,5% Pr. $v = 12,0$ $p =$ | 5% Pr. $v = 14,0$ $p =$ | |
| 60' | — 25 | — 6 | — 2 | — 1 | — 22 |
| 30' | — 9 | — 1 | — 2 | — 0 | — 9 |
| Kubikzentimeter O_2 in 1 h 30' | } 0,039 | 0,009 | 0,0045 | 0,001 | 0,034 |
| | | | | | |