

Vitamine (Biokatalysatoren) B und Co-Enzyme. II.

Von

H. v. Euler und Karl Myrbäck.

Mit 1 Figur.

(Aus dem biochemischen Laboratorium der Hochschule Stockholm.)

(Der Redaktion zugegangen am 10. April 1921.)

Der erste Teil der vorliegenden Mitteilung betrifft die im hiesigen Laboratorium versuchsweise eingeführte Methodik, wasserlösliche Vitamine B (Biokatalysatoren) durch die Gärungsbeschleunigung an Trockenhefen bzw. Dauerhefen zu bestimmen. Es handelt sich dabei zunächst um eine Charakterisierung unserer Trockenhefe und im Anschluß daran um die von uns bei vielen Vitamin- und Biokatalysator-haltigen Flüssigkeiten gefundene Tatsache, daß bei steigendem Zusatz von aktiver Substanz zur Trockenhefe die Gärwirkung ein Maximum erreicht, worauf bei weiterem Zusatz die Aktivierung in eine Hemmung übergeht.

Der zweite Teil enthält Versuche über den Vitamingehalt bzw. die Biokatalysatorwirkung tierischer Säfte und Flüssigkeiten, welche zur ersten Orientierung für die spätere Aufstellung einer Vitaminbilanz im tierischen bzw. menschlichen Körper dienen sollen.

I a.

Zur Charakterisierung unserer Trockenhefe.

Daß die Biokatalysatorkomponente der wäßrigen Auszüge aus getrockneten Weizenkeimlingen (Vitamin B aus Weizenkeimlingen) die Gärwirkung von Trockenhefe und von Alkohol-dauerhefe in ähnlicher Weise beschleunigt, wie dies vom Co-Enzym der Hefe bekannt ist (Harden und Young, Buchner)¹⁾,

¹⁾ Siehe auch Euler u. Berggren, Zeitschr. f. Gärungsphysiol. Bd. 1, S. 203 (1912). — Abderhalden u. Schanmann, Fermentforsch. Bd. 2,

ist in einer vorhergehenden Untersuchung von Euler und A. Pettersson ¹⁾ angegeben worden. Diese Methode der Vitaminbestimmung hat mehrere entschiedene Vorzüge vor der Messung der Gärungsbeschleunigung der frischen Hefe, wie sie in verschiedener Weise in den eingehenden Untersuchungen von Abderhalden und Schaumann l. c., ferner von Bachmann ²⁾, Fränkel und Schwarz ³⁾, sowie Euler, Laurin und Pettersson ⁴⁾ angewandt worden ist. Wir erwähnen hier die bei längeren Versuchsserien wertvolle vollständige Gleichmäßigkeit des Hefenpräparates, von welchem man sich in einer einzigen Darstellung leicht einige Kilogramme bereiten kann, ferner den Umstand, daß Verschiedenheiten der Permeabilität der verschiedenen Biokatalysatoren ⁵⁾ gegen getrocknete Hefenzellen nicht oder

S. 120 (1918). — Siehe auch die Arbeiten dieser Forscher in Pflügers Arch. Bd. 172, S. 1 (1918). — Ferner Abderhalden und Koehler, ebenda Bd. 176, S. 209 (1919).

¹⁾ Euler u. Pettersson, Diese Zeitschr. Bd. 113 (1921).

²⁾ Bachmann, Journ. Biol. Chem. Bd. 39, S. 235 (1919).

³⁾ Fränkel u. Schwarz, Biochem. Zeitschr. Bd. 112, S. 203 (1920).

⁴⁾ Euler, Laurin u. Pettersson, Vet. Akad. Arkiv f. Kemi Bd. 7, S. 28 (1920). — Biochem. Zeitschr. Bd. 114, S. 277 (1921).

⁵⁾ In Kürze sei hier nochmals auf unsere Bezeichnung „Biokatalysator“ eingegangen. Wir wenden dieselbe an, solange wir von unseren Substanzen aus eigener Erfahrung nichts weiter kennen, als die Wirkung auf die Hefe, solange wir also nicht die Beziehung zwischen antineuritischen Wirkung und Gärungsbeschleunigung genau festgelegt haben.

Vermutlich enthalten die meisten Extrakte und Präparate aus tierischen und pflanzlichen Organen nicht nur einen der hier in Betracht kommenden Biokatalysatoren. Man kommt wohl zu der klarsten Nomenklatur in der Weise, daß man für die verschiedenen Wirkungen Einheiten festlegt und ein Präparat dann dadurch charakterisiert, daß man angibt, wieviel „antineuritische“ Einheiten, „gärungsbeschleunigende“ Einheiten usw. es enthält.

Die Bezeichnungen Biokatalysator B I, B II und B III haben wir im hiesigen Laboratorium zunächst für unsere eigenen Arbeiten eingeführt. Es soll dadurch der vermutliche Zusammenhang mit den Vitaminen B zum Ausdruck kommen, andererseits der Zusammenhang zwischen den Wachstums- und Gärungskatalysatoren. Unsere Nomenklatur ist eine der vielen möglichen, aber es wäre wünschenswert, daß sich die Autoren auf diesem Gebiet auf eine Nomenklatur einigen, welche, den Fortschritten der Forschung Rechnung tragend, sich leicht systematisch erweitern läßt. Besonders wäre es zur Vermeidung von weiteren Unklarheiten in diesem

nur in geringem Grade in Betracht kommen; besonders wertvoll ist schließlich, daß der Einfluß der Biokatalysatoren und ihrer Begleitstoffe auf das Wachstum der Zellen, wenigstens in den ersten sechs Gärstunden, ganz in den Hintergrund tritt.

Wendet man, wie dies Th. Tholin¹⁾ zuerst getan hat, ausgewaschene Trockenhefe an, so ist man imstande, die Wirkung des Co-Enzyms von vornherein auszuschneiden, und kann die gärungsbeschleunigenden Biokatalysatoren, welche sich nach Tholins Untersuchung als verschieden thermostabil erwiesen haben, getrennt zur Wirkung bringen.

Es ist zweifellos eine der wichtigsten und unabweislichen Aufgaben auf diesem Gebiet, die zahlreichen wasserlöslichen Biokatalysatoren, Co-Enzyme, Vitamine B, Wachstumsförderer (growth promoting factors) systematisch und präparativ zu trennen.

Zunächst ist es dazu erforderlich, die Konzentrationsfunktion der einzelnen Wirkungen quantitativ festzustellen.

Wir haben dies hinsichtlich der Gärungsbeschleunigung durch Extrakte und Präparate aus Weizenkeimlingen getan und geben im folgenden unsere Versuchszahlen an.

Gebiet zweckmäßig, wenn zunächst die Bezeichnung „Vitamin B“ für die ursprünglich von C. Funk damit belegten Stoffe reserviert würde, also für diejenigen, an welchen tatsächlich die antineuritische Wirkung gemessen ist.

Die Grundzüge der vorgeschlagenen Nomenklatur sind die folgenden:

Vitamin A (fettlös.), antirachitisch wirksam

Vitamin B (wasserlös.), antineuritisch wirksam

Biokatalysatoren B (wasserlöslich)	{	Biokatal. B I, wachstumsfördernd	} gärungs- beschleunigend
		(Einheit auf Hefewachstum bezogen)	
		Biokatal. B II	
		Biokatal. B III (Hardens Co-Enzym)	

Vitamin C, antiskorbutisch wirksam.

Der weiteren Forschung bleibt vorbehalten die Feststellung des Zusammenhangs zwischen den verschiedenen Faktoren B, nämlich dem Vitamin B und den Biokatalysatoren B I, B II und B III.

Zur Nomenklaturfrage siehe auch Drummond, Biochem. Journ. Bd. 14, S. 660 (1920).

¹⁾ Th. Tholin, Diese Zeitschr. Bd. 114 (1921).

Wir sind uns vollständig bewußt, daß wir mit diesen Messungen an nicht Co-Enzym-freigemachter Trockenhefe noch keine absoluten Größen festlegen. Da wir aber die Gärkraft und den Co-Enzymgehalt unserer Trockenhefe angeben, so können unsere Werte später umgerechnet werden.

Ohne weiteres gestatten sie eine direkte Beurteilung der verschiedenen Präparate, wenn man die Mengen vergleicht, welche unter analogen Umständen dieselben Beschleunigungen hervorrufen.

Methodik.

Als Gärsubstrat kam meist Rohrzucker zur Verwendung, was geschehen konnte, da durch die nicht ausgewaschene Hefe stets eine so große Saccharasemenge in Wirksamkeit treten konnte, daß die Lösung, abgesehen von den ersten Minuten, als Invertzuckerlösung anzusehen war¹⁾.

Es wurde durch Phosphatpuffer (1% PO_4) dafür gesorgt, daß die Gärung stets bei optimaler Acidität²⁾ verlief, also bei $\text{pH} = 4,5$, was kolorimetrisch kontrolliert wurde.

Dadurch wurde gleichzeitig die Konzentration der Phosphationen auf einem solchen Betrag gehalten, daß Änderungen der PO_4 -Konzentration durch Zusatz von Biokatalysatorlösungen nicht mehr in Betracht kamen.

Das Totalvolumen der gärenden Lösungen war stets 50 ccm; die angewandte Menge Trockenhefe betrug in der Regel 1 g.

Der Gärungsverlauf wurde volumetrisch verfolgt, und zwar wurde die unter Schütteln entwickelte Kohlensäure durch Kapillarröhren in fein geteilte Büretten geleitet und dort über Quecksilber mit dem natürlichen Feuchtigkeitsgehalt bei Zimmertemperatur (17°) gemessen.

Die Gärungstemperatur betrug stets 30° und konnte auf 0,02° genau konstant gehalten werden.

Die Gärung wurde nie über das zweite Drittel der Gesamtreaktion hinaus verfolgt, in der Regel hielt man sich im ersten Drittel der Reaktion, und es wurden zur Auswertung

¹⁾ Euler u. Kullberg, Diese Zeitschr. Bd. 73, S. 85 (1911).

²⁾ Euler u. Heintze, Diese Zeitschr. Bd. 108, S. 166 (1919).

die Zeiten verglichen, welche unter den verschiedenen Bedingungen zur Vergärung eines gewissen Anteils des Zuckers erforderlich sind. Nur ein solches Verfahren ist theoretisch einwandfrei.

Unsere Trockenhefe.

Wir haben unsere Trockenhefe selbst bereitet, und zwar aus der Unterhefe H der hiesigen St. Eriksbrauerei, welche nach gründlichem Waschen und Dekantieren koliert, hydraulisch abgepreßt und schließlich in dünner Schicht ausgebreitet, bei Zimmertemperatur getrocknet wurde, was nicht mehr als 10 Stunden in Anspruch nahm. Die so dargestellte Hefe wurde trocken aufbewahrt.

Vor der Verwendung wurde sie fein gepulvert, in der Phosphatlösung aufgeschlemmt und schließlich mit der Zuckerlösung vermischt.

Die Trockenhefe ist charakterisiert durch die folgenden Versuche:

Trockenhefe (Glukose).

g als Aktivator zugesetzte Trockenhefe	Gärungszeit, Minuten						per Stunde
	60	105	155	215	255	310	
	ccm CO ₂						
0	3,0	6,25	9,0	13,5	17,5	21,5	4,8
0,1	4,5	9,0	15,0	20,7	26,3	30,8	6,3
0,2	6,0	11,0	17,0	—	—	—	7,2
0,4	8,0	15,5	23,5	35,0	42,0	50,0	9,9
0,6	5,0	10,8	—	25,0	—	—	7,2

Ausgewaschene Trockenhefe. (Glukose).

g als Aktivator zugesetzte Trockenhefe erhitzt 1 St. 70°	Gärungszeit, Minuten				per Stunde
	60	120	180	240	
	ccm CO ₂				
0,1	2,0	4,2	6	8,8	3,0
0,2	3,5	—	10,1	14,1	3,8
0,4	5,3	10,1	—	20,1	5,2
0,6	6,8	—	19,0	—	6,8
0,8	7,2	—	—	28,3	6,2

I b.

Die eingangs erwähnte Tatsache, daß viele Vitamin- und Biokatalysator-haltige Flüssigkeiten und Extrakte die Gärung durch Trockenhefe nicht nur bis zu einem Maximum beschleunigen, sondern bei weiterem Zusatz hemmend wirken, ist für die Methodik der quantitativen Bestimmung der Faktoren B von großer Bedeutung (vgl. S. 164).

Sie zeigt, daß sich bei den Lösungen, bei welchen der genannte Effekt eintritt, über die Wirkung eines Aktivators noch diejenige eines Hemmungskörpers superponiert.

Aus dieser Tatsache ergibt sich zunächst, daß man keineswegs, wie dies in früheren Untersuchungen bei der Bestimmung der Vitamine und Gärungsaktivatoren vielfach geschehen ist, den Vitamin- oder Biokatalysatorgehalt der zu untersuchenden Lösungen mit der Gärungsbeschleunigung proportional setzen darf.

Die chemisch-präparative und kinetische Seite dieser Erscheinung wird im hiesigen Laboratorium weiter bearbeitet¹⁾. Hier wollen wir durch einige Beispiele den Verlauf der Konzentrationskurven angeben.

Zu allen folgenden Versuchen wurden verwendet:

25 ccm 2%ige Phosphatlösung, $p_H = 4,5$; darin gelöst

2 g Rohrzucker,

1 g fein pulverisierte Trockenhefe.

Dazu 25 ccm Wasser bzw. Mischung M, wie in jeder Versuchsreihe näher angegeben ist.

Versuchsreihe 1a.

Versuche mit Biokat. B II aus Weizenkeimlingen.

Die Versuchslösung wurde in folgender Weise dargestellt: 40 g getrocknete Weizenkeimlinge wurden 15 Stunden lang bei 30° mit 400 ccm Wasser extrahiert. Das Filtrat wurde unter vermindertem Druck auf 200 ccm eingedunstet. Es wurde

¹⁾ Es soll u. a. auch untersucht werden, in welchem Zusammenhang dieser Übergang von positiver in negative Aktivierung mit den Beobachtungen von Vahlen (Diese Zeitschr. Bd. 90, S. 158 [1914] und Bd. 106, S. 133 [1919]) steht.

hierauf 3mal mit einem Überschuß von Äther gründlich extrahiert; der Äther wurde zunächst im Scheidetrichter möglichst quantitativ abgeschieden; der Rest des Äthers wurde durch Luft vollkommen entfernt. Extrakt W. a.

Versuch 1 und 2: 25 ccm Wasser,

" 3 " 4: M = 15 ccm Wasser + 10 ccm Extrakt W. a.

" 5 " 6: M = 20 " " + 5 " " "

" 7 " 8: M = 23 " " + 2 " " "

ccm Extrakt W. a.	Gärungszeit, Minuten						per Stunde
	75	160	210	285	345	450	
	ccm CO ₂						
0	5,0	13,0	18,5	25,5	31,0	40,0	5,2
2	7,5	15,0	21,5	30,5	37,0	47,5	6,3
5	7,2	16,5	23,0	30,5	38,0	49,5	6,5
10	4,7	9,5	12,0	15,0	19,0	25,0	3,3

Die Aktivierung bei Zusatz von 2 und 5 ccm Extrakt ist deutlich¹⁾; schon bei Zusatz von 10 ccm macht sich die starke Hemmung der Gärung geltend.

Diese Hemmung wird u. a. durch folgenden Versuch bestätigt. Derselbe ist mit einem Extrakt ausgeführt, welcher in ähnlicher Weise, wie Seite 160 beschrieben, hergestellt worden war, nur mit dem Unterschied, daß die Extraktion der Weizenkeimlinge bei 40° geschehen war.

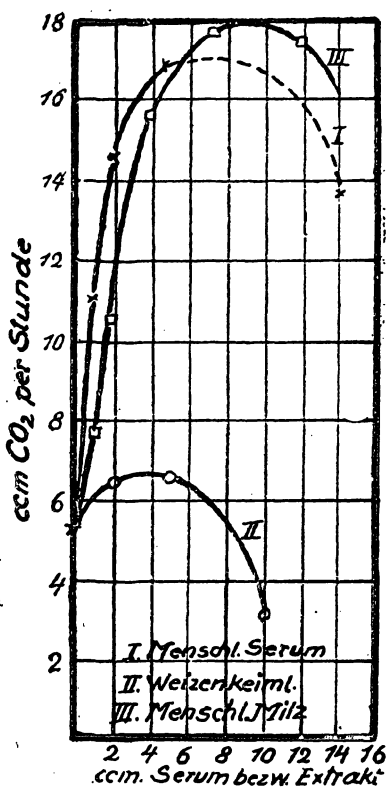
Versuch 1 b.

ccm Extrakt W. a.	Gärungszeit, Minuten					per Stunde
	60	165	255	285	390	
	ccm CO ₂					
0	4,2	13,0	21,0	23,5	31,0	5,0
10	3,0	4,7	6,5	7,5	10,0	1,5
10 Fällung	5,7	19,2	34,0	39,0	52,5	8,1

Die letzte Zeile dieser Tabelle bezieht sich auf einen Versuch, bei welchem 160 ccm des Extraktes W. a. mit dem

¹⁾ Auf die Aschenwirkung kommen wir demnächst zurück.

dreifachen Volumen 96%igen Alkohols gefällt worden war. Die dabei entstehende faserige, fibrinartige Fällung wurde in 160 ccm Wasser wieder aufgelöst; 10 ccm davon wurden zur Untersuchung der Gärungskatalyse verwendet. Der Versuch zeigt, daß durch die erwähnte Behandlung eine hemmende Substanz aus dem Extrakt entfernt worden ist. (Wie frühere



Versuche gezeigt haben, besitzt der in der alkoholischen Lösung befindliche Anteil nur eine ganz geringe gärungsbeschleunigende Wirksamkeit.)

In der Figur sind die beiden erwähnten Wirkungsmaxima durch die Kurven I und II veranschaulicht. Kurve III bezieht sich auf einen später mitzuteilenden Versuch mit Extrakt aus menschlicher Milz. (Dieselbe war einem 37jährigen, an einer Magenverletzung gestorbenen Manne unmittelbar nach dessen Tod entnommen.) Der Extrakt war hergestellt durch Maceration der roten Milzpulpa mit der doppelten Menge Ringerlösung und Abzentrifugieren der festen Bestandteile.

Versuch 2.

Bedeutend stärker als beim Extrakt der Weizenkeimlinge tritt das Maximum der Gärungsbeschleunigung bei Seren zu Tage. Es sei hier beispielsweise ein Versuch mit Serum angegeben, welches dem einen von uns gelegentlich einer später mitzuteilenden Untersuchung entnommen wurde. Das frisch entnommene Blut war sofort durch Rühren defibriniert und

hierauf unmittelbar durch Zentrifugieren von den Erythrocyten befreit worden.

ccm Serum	Gärungszeit, Minuten				per Stunde
	65	135	190	240	
	ccm CO ₂				
0	6,0	12,0	17,5	22,0	5,3
1	12,7	23,0	34,0	44,0	11,0
2	17,2	33,0	46,0	59,0	14,8
5	17,7	36,0	52,0	67,5	16,9
14	15	28,3	40,0	55,0	13,7

Abgesehen von der Konzentrationsfunktion hat dieser Versuch zum erstenmal gezeigt, wie sehr viel stärker menschliches Serum hinsichtlich der Wirkung von Biokatalysator B II (einschl. Salzen) ist, als das Serum eines Kaninchens.

Es ist nun festzustellen:

1. die Anzahl g unserer Trockenhefe, deren sämtliche Aktivatoren (nach Zerstörung der „Zymase“) erforderlich sind, um (bei gegebenen Gärungsbedingungen) 1 g unserer Trockenhefe auf das halbe Maximum der Gärkraft (CO₂ per Stunde) zu bringen;
2. die Anzahl g unserer Trockenhefe, deren sämtliche Aktivatoren (nach Zerstörung der „Zymase“) erforderlich sind, um 1 g unserer ausgewaschenen Trockenhefe auf das halbe Maximum der Gärkraft zu bringen;
3. die Anzahl g unserer Trockenhefe, deren Biokatalysatoren B II (= sämtliche hierhergehörenden Gärungsaktivatoren minus Co-Enzym) erforderlich sind, um 1 g unserer Trockenhefe auf das halbe Maximum der Gärkraft zu bringen.

Die Versuche, welche zur Erreichung einer größeren Sicherheit und Genauigkeit noch mehrfach wiederholt und variiert werden müssen, haben einstweilen folgendes ergeben:

	1.	2.	3.
g Trockenhefe	1,8	2,7	3,6

Einheiten für die vorläufige Gehaltsbestimmungen

von Lösungen hinsichtlich der Biokatalysatoren B II und B III¹⁾).

Wir gehen von den S. 160 u. ff. angegebenen Messungen 1 und 2 aus und stellen fest, wie viele g Trockensubstanz der verschiedenen tierischen oder pflanzlichen Flüssigkeiten bzw. Extrakte erforderlich sind, um eine gewisse Menge von Hefe in ihrer Wirkung als Gärungsaktivator zu ersetzen.

Dadurch messen wir gleichzeitig Biokatalysator II + III.

Wir bezeichnen die Wirksamkeit mit entsprechenden kleinen Buchstaben; demgemäß ist die Wirksamkeit biokatal. b II + III die Wirksamkeit derjenigen Substanz, welche per g derjenigen von 1 g unserer Trockenhefe gleichkommt.

Wenn also (unter gegebenen Umständen) das halbe Gärungsmaximum

einerseits durch die Biokatalysatoren von 1 g Hefe, anderseits durch die Biokatalysatoren von 2 g Weizenkeimlingen erreicht wird, so bezeichnen wir die biokatalytische Wirksamkeit der Weizenkeimlinge mit dem Ausdruck: biokatal. b II + III = 0,5. Entsprechend finden wir für die biokatalytische Wirksamkeit eines (normalen) menschlichen Serums den Wert 2—3.

Obige Definition ist noch in zwei Punkten der Ergänzung bedürftig:

- a) unsere Trockenhefe, welche einstweilen unsere Einheit bildet, ist durch genauen Vergleich mit anderen verbreiteteren Hefen an diese anzuschließen, so daß auch diese als Einheit benutzt werden können;
- b) es muß die Wirksamkeit des Biokatalysators B II von derjenigen des Co-Enzyms (Biokatalysator III) geschieden werden, was nach den Ergebnissen von Th. Tholin ohne prinzipielle Schwierigkeiten geschehen kann.

¹⁾ Hier ist einstweilen von den gärungshemmenden Stoffen in der Hefe und von den Aschenbestandteilen abgesehen.

II.

Orientierende Versuche über die Bilanz des Biokatalysators B II im menschlichen und tierischen Körper.

Die im vorhergehenden Teil mitgeteilten Erfahrungen sind in den folgenden Versuchen angewandt worden, welche den Biokatalysator B II betreffen, also den Stoff oder das Stoffgemisch, welcher in der Literatur häufig mit Vitamin B identifiziert wurde und dessen Wirkung auf Hefe möglicherweise mit derjenigen des Vitamins B identisch ist.

Unser Ziel ist, für den in der angegebenen Weise charakterisierten Faktor B II (Biokatalysator B II) die Bilanz im menschlichen Körper aufzuklären. Daß die Feststellung der Bilanz dieser und der übrigen Faktoren früher noch nicht in Angriff genommen worden ist, beruht vermutlich darauf, daß das Eindringen in die quantitative Seite dieses Gebietes wegen der vielen noch herrschenden Unsicherheiten erschwert und die Arbeit zweifellos außerordentlich zeitraubend ist. Indessen ist die Beantwortung der Frage, wieviel von jedem der mit der Nahrung eingeführten Faktoren im tierischen Organismus zerstört bzw. resorbiert wird und wieviel wieder abgegeben wird, unserer Ansicht nach unabweislich.

Wir sind dem Problem zunächst mit dem Biokatalysator B II nach unserer oben beschriebenen Methodik näher getreten und haben zunächst nur in großen Zügen feststellen wollen, wie sich die Einnahme und Abgabe dieses Faktors im tierischen Körper decken.

Zur Methodik der Feststellung der Bilanz des Biokatalysators B II.

Man kann hier zwei verschiedene Arbeitswege beschreiten. Entweder man sucht aus den zu untersuchenden Körperflüssigkeiten und Organextrakten den gärungsbeschleunigenden Stoff zu isolieren und verwendet die wäßrige Lösung des ausgefällten Stoffes.

Oder aber man versucht aus den Körperflüssigkeiten und Extrakten unwirksame Bestandteile zu entfernen und verwendet darnach diese Flüssigkeiten direkt.

Jeder dieser beiden Wege hat einen wesentlichen Nachteil. Die Abscheidung (Ausfällung) des Biokatalysators B II, welche an sich keine Schwierigkeiten macht, läßt sich quantitativ in der Regel nur schwierig, oft überhaupt nicht ausführen; die entstehenden Verluste lassen sich — da es sich um sehr verschiedene Flüssigkeiten handelt — auch schwer schätzen. Die direkte Verwendung der zu untersuchenden Flüssigkeiten leidet an einer nicht zu unterschätzenden Unsicherheit, welche bei ähnlichen Untersuchungen nicht selten übersehen wurde: nämlich der Möglichkeit, daß neben den zu studierenden Stoffen noch beschleunigende und hemmende Stoffe vorhanden sind. Die Gegenwart der letzteren verursacht dann, daß wir über die Konzentration der ersteren eine falsche Vorstellung erhalten. Immerhin läßt sich dieser Übelstand bei genügender Vorsicht umgehen, wenn wir nämlich Konzentrationsfunktionen der betreffenden Flüssigkeiten bestimmen und wenn es gelingt, einen der beiden einander entgegenwirkenden Stoffe durch Erhitzen, die Salze nach Einaschen auszuschalten.

Wir haben deswegen den zweiten der beiden erwähnten Wege gewählt, indem wir in der Regel die Flüssigkeiten selbst nach geeigneter Reinigung zur Untersuchung brachten.

Wir gehen jetzt zu unseren Messungen über, nachdem wir auf S. 163 und 164 unsere Bezeichnungsweise und die Wahl unserer Einheiten dargelegt haben. Wir unterlassen die Angabe der direkt abgelesenen CO_2 -Volumina und geben die Resultate in ccm CO_2 per Stunde an, wobei sich sämtliche Versuche auf die S. 158 erwähnten Bedingungen, und zwar auf alle Katalysatoren, einschließlich Salzen, beziehen.

1. Menschlicher Harn.

ccm Harn in 50 ccm Gärungsgemisch	ccm CO_2 per Stunde	
	Unvorbehandelt	Erhitzt 1 Stunde
0	5,5	5,5
1	7,3	6,0
2	9,3	6,2
3	11,3	6,3
5	7,0	6,3

2. Menschlicher Harn (vitaminarme Kost¹⁾).

ccm Harn in 50 ccm Gärungsgemisch	ccm CO ₂ per Stunde	
	Unvorbehandelt	Erhitzt 1 St. 100°
0	5,1	5,1
1	6,0	6,0
2	6,8	6,2
3	7,2	—
5	7,9	6,8

3. Menschliches Serum (nach normaler Kost).

ccm Serum in 50 ccm Gärungsgemisch	ccm CO ₂ per Stunde	
	Unvorbehandelt	Erhitzt 1 St. 100°
0	5,3	
1	11,0	
2	14,8	6,0
5	16,9	
10	16,5	

4. Menschliches Serum (nach vitaminarmer Kost¹⁾).

ccm Serum in 50 ccm Gärungsgemisch	ccm CO ₂ per Stunde	
	Unvorbehandelt	Erhitzt 1 St. 100°
0	4,9	
1	6,8	
2	8,8	6,1
3	10,3	
5	10,1	

5. Menschliche Fäces.

Die Untersuchung der Fäces konnte nicht in der gleichen Weise wie diejenige von Flüssigkeiten bzw. Emulsionen vor-

¹⁾ Eine endgültige Beurteilung dieser orientierenden Versuche wird erst möglich, wenn die aufgenommene Nahrung vollständiger, d. h. hinsichtlich aller wichtigen Komponenten, besonders hinsichtlich Ca, PO₄ und N, definiert ist.

genommen werden, da die Bakterienflora zu sehr gestört hätte. Wir haben deshalb zu diesen Versuchen zunächst Trockenhefe in Gegenwart von Toluol zu benutzen. Indessen waren die Resultate noch nicht befriedigend.

Der eine von uns hat früher darauf aufmerksam gemacht, daß Toluol die Gärwirkung von Trockenhefe bedeutend erniedrigt, während bekanntlich die Gärung durch Hefepreßsaft von Toluol fast gar nicht beeinträchtigt wird. Wir kommen demnächst in einer besonderen Mitteilung auf diese Verhältnisse zurück.

Hier seien nur die mit Emulsionen von 10 g Fäces in 100 g Wasser erhaltenen Resultate mitgeteilt. Wie gleich erwähnt werden soll, haben diese Messungen, welche wir hier nur mitteilen, da wir sie zu der folgenden Überschlagsrechnung benutzt haben, bei weitem nicht den gleichen Grad der Sicherheit wie die übrigen.

ccm Fäces-Emulsion in 50 ccm Gärungsgemisch	ccm CO ₂ per Stunde	
	Unvorbehandelt	Erhitzt 1 St. 120°
0	5,3	5,4
1	6,1	
2	6,8	
3	7,2	

Auf Grund der angegebenen Zahlen haben wir nun eine vorläufige Überschlagsrechnung versucht hinsichtlich der Bilanz der Biokatalysatoren (Vitamine) B II + III im menschlichen Körper. Wir haben also nach der S. 164 angegebenen Weise ausgerechnet, wieviel Hefeeinheiten rund mit der Nahrung aufgenommen und wie viele abgegeben werden.

Besonders hinsichtlich der Anzahl der aufgenommenen Einheiten fällt die Berechnung noch so aproximativ aus, daß wir einstweilen auf die ausführlichere Wiedergabe der Berechnung verzichten und nur unser Endresultat anführen.

Nach demselben würde das Versuchsobjekt (v. El.) im Durchschnitt per Tag 30 – 60 Hefeeinheiten aufgenommen haben. Die Abgabe durch den Harn würde etwa 25 und die Abgabe

durch die Fäces etwa 3 Einheiten betragen. Hieraus würde sich ein täglicher Verbrauch von etwa 15 Einheiten im Körper ergeben.

Analoge Versuche sind an Säuglingen in Aussicht genommen, wo sich die Aufstellung der Bilanz in vieler Hinsicht leichter gestaltet.

Zusammenfassung.

Es wird eine Methode zur quantitativen Bestimmung der bis jetzt als Vitamine bezeichneten gärungsbeschleunigenden Biokatalysatoren besprochen.

Auf den Einfluß hemmender Stoffe wird besonders aufmerksam gemacht.

Nach Festlegung vorläufiger Einheiten für die Bestimmung dieser Stoffe werden einige Versuche zur Aufstellung einer Bilanz der genannten Stoffe im menschlichen Körper angegeben. Aus den orientierenden Messungen scheint hervorzugehen, daß per Tag ein erheblicher Anteil dieser im Körper vorhandenen Stoffe verbraucht wird.

Herr Dr. G. Blohm, Assistent am pharmakologischen Institut des hiesigen Karolinischen Institutes, hatte die Freundlichkeit, uns durch die Entnahme der Blutproben zu unterstützen, wofür ihm auch hier bestens gedankt sei.
