

Ueber die labende und labhemmende Wirkung des Blutes.

Von

Dr. E. Fuld

und Dr. K. Spiro, Privat-Doc. u. I. Assist. des Instituts.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut zu Strassburg. Neue Folge Nr. 40.)

(Der Redaction zugegangen am 28. September 1900.)

I.

Gelegentlich seiner Untersuchungen über die Blutgerinnung hat Hammarsten beobachtet, dass mit Pferdeblutserum versetzte Caseinlösung oder Milch nicht mehr gelabt werden kann, ein Befund, den alsdann Rödén¹⁾ zum Gegenstand ausführlicher Untersuchungen machte. Hammarsten selbst wies nach, dass nach wiederholtem Ausfällen und Auflösen das Casein einer so behandelten Milch wieder gelabt werden kann. Rödén zeigte, dass die Labhemmung bereits von sehr geringen Mengen Pferdeserum ausgeübt wird, und dass die Quantität Serum, welche die Wirkung einer bestimmten Quantität Lab dauernd aufhebt, von Thier zu Thier und noch mehr von Species zu Species schwankt. In einem Falle wurde eine Labmenge, welche die Kontrollprobe binnen zwölf Minuten zur Gerinnung brachte, bei einem Serungehalt der Milch zu 1% vollkommen und dauernd unwirksam.

Bezüglich der Einflüsse, welchen das Serum ausgesetzt

¹⁾ Upsala Läkareförenings förhandlingar, Bd. 22, S. 546. Ein ausführliches Referat von Hammarsten siehe in Maly's Jahresbericht, Bd. 17, S. 160, 1887.

werden darf, ohne seine labhemmenden Eigenschaften einzubüßen, ist zu nennen: andauerndes Dialysiren, wobei das eingeengte Dialysat keine Spur von Wirkung zeigt, und Erhitzen bis zu Temperaturen an 70°. Erhitzen über diese Temperatur hinaus und Stehenlassen unter Alkohol hob die Wirkung auf.

Bei Versuchen, die wirksame Substanz zu isoliren, gelangte Rödén nur zu negativen Resultaten: Weder mit dem durch Essigsäure aus Pferdeblutserum dargestellten Globulin, noch dem isolirten Serumalbumin konnte eine Wirkung erzielt werden, sodass Rödén am Schluss seiner Arbeit zu der Annahme gelangt, dass der Träger der genannten Wirkung zu den noch nicht bekannten Serumbestandtheilen gehöre. Ueber die Art der Wirkung kommt er zu dem Wahrscheinlichkeitsschluss, dass der Körper auf das Labferment selbst in irgend einer Weise einwirke. Ob diese Einwirkung in der Bildung einer chemischen Verbindung des Körpers mit Lab bestehe, konnte nicht bewiesen, aber auch nicht ausgeschlossen werden. Da beim Schütteln mit Thierkohle der wirksame Bestandtheil nicht niedergedrückt wird, glaubt Rödén den Körper zu den Eiweissstoffen und nicht zu den Fermenten des Blutes rechnen zu müssen.

Eine Bestätigung und interessante Fortführung in bestimmter Richtung erfuhren die Versuche Rödén's durch Briot¹⁾ und namentlich durch J. Morgenroth.²⁾ Letzterem besonders gelang es, ähnlich wie es H. Hildebrandt³⁾ für das Emulsin gezeigt hatte, durch wiederholte subcutane Injection kleinerer Labdosen bei Ziegen eine erhebliche Menge eines labhemmenden Stoffes im Blutserum zur Anhäufung zu bringen und seinen Wirkungswerth zahlenmässig zu bestimmen.

Er fand, dass durch Gegenwart dieses Antilab's die Coagulation der Milch mittelst pflanzlicher Labfermente nicht beeinträchtigt wird, und zeigte in einer zweiten Mittheilung,

1) Compt. rend. de l'Ac. d. sc. Bd. 128, S. 1359, 1899.

2) Centralblatt f. Bacteriol., I. Abth., Bd. 26, Nr. 11/12, S. 349, 1899, und ebenda Bd. 27, Nr. 20/21, S. 721, 1900.

3) Virchow's Archiv Bd. 131, S. 26, 1893.

dass das Labferment der Artischoken, die Cynarase, ebenfalls die Erzeugung eines «Antikörpers» in analoger Weise gestattet, welcher seinerseits auf das gewöhnliche thierische Chymosin ohne Einfluss ist. Als Mass der Wirkung diente nicht, wie bei früheren Untersuchungen, die Gerinnungszeit, sondern die Grösse der kleinsten gerinnungsmachenden Labmengen für gewöhnliche Milch und solche, welcher die wirksame Flüssigkeit zugesetzt war.

Das verschiedene Verhalten des Pferdeblutserums gegenüber beiden Fermenten bringt Morgenroth in Vergleich mit dem Gehalt des Serums an specifischen Antitoxinen nach Zufuhr von Toxinen und deutet es unter Zugrundelegung von Ehrlich's «Seitenkettentheorie» als Folge einer specifischen Reaction des Organismus.¹⁾

Bei dem besonderen Interesse, welches solche Reactionsvorgänge bieten, halten wir uns für berechtigt, die nachstehenden Beobachtungen mitzuthellen, welche darthun, dass im Pferdeblut neben dem schon früher nachgewiesenen labhemmenden Agens ein nach Art des Labferments wirkender Stoff vorhanden ist, und dass eine Trennung beider Agentien durch geeignete Fractionirungsmethoden erreicht werden kann.

In Betreff der Methodik sei bemerkt, dass wir nach Rödén's Vorgang zur Prüfung der labhemmenden Wirkung des Blutserums meist von ein und derselben Lablösung ausgingen. Um längere Zeit hindurch mit derselben Milch arbeiten zu können, conservirten wir sie durch Schütteln mit Chloroform (Benjamin):²⁾ die labhemmende Wirkung des Chloroforms konnte ausser Acht gelassen werden, da es uns stets nur auf vergleichende Versuche ankam. Durch Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung wurde jedesmal für eine gleichmässige Verdünnung sämmtlicher Proben gesorgt.

Im Allgemeinen ergab sich, dass 0,1 cem. Serum zur Neutralisation von 0,1 cem. unserer Lablösung (resp. gleiche Verdünnungen) nicht ausreichte, 0,2 cem. frischen Serums aber allemal genügten, wie beifolgende Protokolle zeigen.

1) Ebenso P. Ehrlich, Proc. Royal Soc. Vol. 66, S. 438, 1900.

2) Virchow's Archiv, Bd. 145, S. 30, 1896.

Versuch I.

Lablösung mit Wasser auf $\frac{1}{5}$ verdünnt, frisches Serum mit 0.8% iger Kochsalzlösung auf $\frac{1}{5}$ verdünnt.

Milch ccm.	Lab ccm.	Serum ccm.	Befund
2	0.1	0.0	gerinnt
2	0.1	0.1	etwas später 20% geronnen
2	0.1	0.2	nach 8 Tagen ungelabt
2	0.1	0.3	ebenso alle mit höherem Serumgehalt.

u. s. w.

Versuch II.

Verdünnungen wie in Versuch I.

Milch ccm.	Lablösung ccm.	Serum ccm.	Befund
1.0	0.1	0.0	gelabt
1.0	0.1	0.1	Gerinnsel
1.0	0.1	0.2	fast kein Gerinnsel, klebriger Niederschlag
1.0	0.1	0.3	keine Gerinnung.

u. höherer
Zusatz

Versuch III.

Lablösung und Serum (etwas gestanden) unverdünnt.

Milch ccm.	Lab ccm.	Serum ccm.	Befund
1.0	0.2	0.5	keine Gerinnung nach 2 St.
1.0	0.5	0.5	reichliches Gerinnsel, in einem Parallelversuch Gerinnsel nur angedeutet
1.0	1.0	0.5	total geronnen.

II.

Trennung des labenden und labhemmenden Stoffs.

Bei Wiederholung der Rödén'schen Versuche ergab sich, als wir, statt Serum von Pferdeblut, diffundirtes Oxalatplasma verwendeten, ein auffallendes Missverhältniss zwischen Zusatz und labhemmender Wirkung. Manchmal hatte eine geringe Menge Plasma eine deutlichere Wirkung als eine grössere: bei Betrachtung der sich nach reichlichem Zusatz ausscheidenden Gerinnsel ergab sich weiter ein Unterschied

gegenüber der typischen unter sonst gleichen Verhältnissen durch eine gleiche Menge Lab erzeugten Gerinnung; namentlich waren die Niederschläge flockig, Anfangs locker und contrahirten sich nur langsam.

Nachdem auch noch durch andere Beobachtungen eine coagulirende Wirkung des Plasma constatirt war, erhob sich naturgemäss die Frage, ob eine solche Wirkung nur dem Plasma, oder auch dem Serum innewohne und in letzterem Falle vielleicht bloss durch die stärkere labhemmende Wirkung verdeckt sei. Um diese Frage zu entscheiden, bedienten wir uns eines Chlorcalcium-zusatzes, dessen labungsfördernde Wirkung schon von Hammarsten erkannt worden ist: in der That gelang es so, und zwar nur so, durch grössere Serummengen eine, wenn auch langsame Labung zu erzielen, ähnlich wie Zufügung eines Kalksalzes auch beim Plasma die labende Wirkung deutlicher hervortreten liess.

Versuch IV.

Milch ccm.	Plasma ccm.	Lab. ccm.	B e f u n d
2	0.5	—	bleibt ungeronnen
2	1.0	—	
2	1.5	—	am nächsten Tage kleines lockeres Gerinnsel
2	2.0	—	zunehmendes locker. Gerinnsel
2	5.0	—	gut abgesetztes Gerinnsel

Grössere Mengen Pferdeblutplasma können also bisweilen eine labende Wirkung ausüben, wie auch aus folgendem Versuch ersichtlich.

Versuch V.

Milch ccm.	Plasma ccm.	Kochsalz- lösung ccm.	B e f u n d
2	3	3	am nächsten Tage kleines Gerinnsel am Boden
5	3		grosses Gerinnsel

Schneller tritt die Gerinnung ein, wenn noch Kalksalz zugesetzt wird.

Versuch VI.

Gleiches Plasma wie in Versuch IV.

Milch ccm.	Plasma ccm.	CaCl ₂ 10 ⁰ oig ccm.	B e f u n d
2	0.5	0.5	am nächsten Morgen frisch geronnen
2	1.0	0.5	nach 6 Stunden auftretendes Gerinnsel
2	1.5	0.5	Lockerer Coagulum, nach 6 Stunden vorhanden
2	2.0	0.5	Gerinnsel hat bereits nach 6 St. etw. Molke abgepresst
2	5.0	0.5	Contrahirtes Gerinnsel zu dieser Zeit

Versuch VII.

Milch ccm.	Serum ccm.	CaCl ₂ 10 ⁰ oig ccm.	B e f u n d
2	2	0.5	am nächsten Tage noch keine Gerinnung
2	3	0.5	» gleichen Tage beginnende Gerinnung
2	4	0.5	» gleichen Tage deutliches starkes Gerinnsel

Versuch VIII.

Milch ccm.	Serum ccm.	CaCl ₂ -Lösung 10 ⁰ oig ccm.	Kochsalz- lösung ccm.	B e f u n d
2.0	0.0	0.5	1.0	keine Gerinnung
2.0	0.2	0.5	0.8	gelblicher Bodensatz
2.0	0.5	0.5	0.5	einzelne Flocken
2.0	1.0	0.5	0.0	deutliche Gerinnsel

In einem Kontrollversuch, in dem Plasma statt Serum angewandt wurde, war die Gerinnung wieder viel deutlicher zu erkennen.

Dass im Plasma und Serum zwei Factoren vorhanden sind, welche die Milchgerinnung in entgegengesetztem Sinne beeinflussen, erschwert natürlich in höchstem Maasse die Analyse der antilabenden Wirkung des Gesamtserums, und eine weitere Untersuchung wäre wohl aussichtslos gewesen,

wenn es uns nicht gelungen wäre, mit Hilfe der Fractionirung mittelst Ammonsulfats die beiden Factoren getrennt in zwei verschiedenen Eiweissfractionen abzuscheiden.

Zunächst konnten wir uns überzeugen, dass die bei Halbsättigung mit Ammonsulfat nicht gefällten Bestandtheile ohne jede labhemmende resp. labbefördernde Einwirkung waren, wobei wir uns durch Kontrollversuche überzeugten, dass die durch Dialyse hervorgerufene Verdünnung nicht als Ursache für das Verschwinden der Hemmung angesehen werden konnte.

Versuch IX.

Serum. 100 ccm. wird mit dem gleichen Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt, filtrirt und das Filtrat dialysirt: dem Schlauche werden 192 ccm. entnommen; eine ebenfalls der Dialyse gleichzeitig unterworfenene Menge von 100 ccm. Serum wird ebenfalls auf 192 ccm. aufgefüllt.

A.

Milch ccm.	verd. Lab. ccm.	Dial. verdünnt. Serum ccm.	B e f u n d
2.0	0.2	0.1	bleibt ungeronnen
2.0	0.2	0.2	}
2.0	0.2	0.3	
		0.4	
		1.0	

B.

Milch ccm.	verd. Lab. ccm.	Dial. Filtrat vom Globulin ccm.	B e f u n d
2.0	0.2	0.2	geronnen
2.0	0.2	0.4	»
2.0	0.2	0.6	»
2.0	0.2	0.8	»
2.0	0.2	1.0	»
2.0	0.2	2.0, 3.0, 4.0, 6.0	»

Durch Kochsalzlösung war gleichmässige Verdünnung erzielt.

Ebenso zeigte ein Versuch die Abwesenheit einer labähnlichen Wirkung im Globulinfiltrat.

Auch durch Sättigung mit Ammonsulfat gefälltes und mittelst Dialyse aufgelöstes Albumin übte selbst in grösseren Mengen keine Einwirkung auf die Milchgerinnung aus.

Hiermit war das Fehlen beider Agentien in der Albumin-fraction dargethan, was mit dem Befunde Rödén's übereinstimmt, welcher gereinigtes Serumalbumin ohne Wirkung auf die Labgerinnung fand. Beide wirksamen Agentien waren also in der leichter fällbaren Fraction zu suchen. Nun finden sich aber in dieser Fraction, soviel bisher ersichtlich, drei verschiedene Eiweisskörper, die meist den Globulinen beigezählt werden:

1. das Fibrinoglobulin Hammarsten's, welches sich nach W. Reye¹⁾ durch 28° ige Sättigung mit Ammonsulfat von den anderen Globulinen trennen lässt:

2. ein durch Dialyse ausfällbares Globulin (Eüglobulin):

3. ein durch Dialyse nicht fällbares Globulin (Pseudoglobulin), welches mit dem sub 2. genannten Körper zusammen das Paroglobulin (Serumglobulin nach üblichem Sprachgebrauch) darstellt.

Betreffs der an zweiter und dritter Stelle genannten Fractionen, welche bisher nicht mit Sicherheit auseinandergehalten werden konnten, muss an dieser Stelle folgendes bemerkt werden: Bekanntlich scheidet sich bei anhaltender Dialyse einer salzhaltigen Globulinlösung ein Theil als Niederschlag ab. Schon vor einer Reihe von Jahren hat A. E. Burkhardt²⁾ Versuche mitgetheilt, welche ihm eine Verschiedenheit des durch Dialyse fällbaren und des in Lösung bleibenden Antheils wahrscheinlich machten, doch gelang es Hammarsten,³⁾ die erhobenen Einwände so zu entkräften,

1) Ueber Nachweis und Bestimmung des Fibrinogens. Inaug.-Diss. Strassburg. 1898.

2) Beiträge zur Chemie und Physiologie des Blatserums. Archiv f. exper. Pathol. u. Pharmacol. Bd. 16, S. 332, 1883.

3) Ueber die Anwendbarkeit des Magnesiumsulfats. Zeitschr. für physiol. Chemie. Bd. VIII. S. 467, 1884.

dass erst in jüngster Zeit Marcus,¹⁾ zum Theil auf die Erscheinung gestützt, dass die Antitoxinwirkung des Diphtherieheilserums dem bei der Dialyse in Lösung bleibenden Antheil anhaftet, auf Burkhardt's Vorstellung zurückgriff und sie durch quantitative Versuche zu stützen suchte. Eine zuverlässige Methode zur Trennung beider Antheile fehlte jedoch.

Bei Gelegenheit von Versuchen, die in ganz anderer Richtung unternommen waren, hat der Eine von uns (S.) in Gemeinschaft mit Herrn cand. med. Bruno Haake ein Verfahren zur Trennung durch Salzfractionirung aufgefunden. Während das durch Dialyse leicht fällbare Globulin bei Halbsättigung mit Kaliumacetat ausfällt, bleibt der durch Dialyse nicht fällbare, von Marcus als *albuminähnlich* bezeichnete Stoff noch in Lösung. Ein zweites, bequemerer Verfahren gewährt uns auch hier die Fractionirung mit Ammonsulfat: die Fällungsgrenzen des ersten Körpers liegen im Allgemeinen zwischen 28 und 33%iger, die des anderen bei 34—46%iger Sättigung. Ohne uns auf die chemische Charakterisirung der so darstellbaren Eiweissstoffe einzulassen, welche Herr Haake erbringen soll, wollen wir nur erwähnen, dass der albuminähnliche Stoff in den bisherigen Präparaten stets etwas phosphorhaltig gefunden wurde. Herr Professor Hofmeister hat uns vorgeschlagen, den durch Halbsättigung mit Kaliumacetat, Essigsäure und Dialyse fällbaren Eiweisskörper wegen seiner typischen Globulineigenschaften anlehnd an die Terminologie der Botaniker als *Euglobulin*, den durch Dialyse und Halbsättigung mit Kaliumacetat nicht fällbaren, albuminähnlichen Körper als *Pseudoglobulin* zu bezeichnen.

Nach Massgabe der angeführten Zahlen werden die beiden Globulinfractionen aus Pferdeserum hergestellt, die wiederholt

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXVIII. S. 559, 1899. Vergl. auch Seng (Koch und Flügge's Zeitschr. für Hygiene und Infectionskrankh. Bd. 31, 1899) und Ide u. Lemaire, Archiv. int. de pharmacodynamie. Bd. 6, S. 477, 1899.

gefällten und gut abgepressten Niederschläge im 20fachen Gewicht 0,92%iger Kochsalzlösung aufgelöst und unter Toluol aufbewahrt:¹⁾ bemerken möchten wir hierbei, dass auch ohne Zusatz von desinficirenden Mitteln das Pseudoglobulin keine spontane Fäulniss zeigte.

In Betreff der Labwirkung verhielten sich nun die drei Fractionen verschieden: während der Fibrinoglobulinfraction keine constanten Wirkungen in der einen oder andern Richtung zukamen, erwies sich die Euglobulinfraction meist fähig, Milch ihrerseits zum Gerinnen zu bringen, die Pseudoglobulinfraction aber zeigte mehr oder weniger ausgesprochene labhemmende Wirkung.

So ist es auch vielleicht verständlich, dass Rödén die labhemmende Wirkung beim Globulin vermisste, denn er hatte es durch Säurefällung dargestellt, wobei vorwiegend Euglobulin ausfällt, während die labhemmende Pseudoglobulinfraction in Lösung bleibt: in der That fand er im Filtrat von seiner Essigsäurefällung die Wirksamkeit unbeeinträchtigt. Sein Albumin, welches sich unwirksam erwies, hatte er nach Ausfällung des Gesamtglobulins mit Magnesiumsulfat durch Essigsäure niedergeschlagen. Die Eigenschaften, welche man nach diesen Versuchen der wirksamen Substanz zuschreiben muss, Fällbarkeit durch Magnesiumsulfat und Löslichkeit in stark verdünnter Essigsäure, finden sich in der That bei dem von uns nachgewiesenen Pseudoglobulin wieder.

III. Ueber die labähnliche Substanz des Blutserums.

Wenn grössere Mengen der in physiologischer Kochsalzlösung gelösten Euglobulinfraction zu Milch gesetzt wurden, z. B. 5 ccm. auf 2 ccm. Milch, so trat fast regelmässig — bisweilen erhielten wir eine unwirksame Euglobulinfraction aus dem wirksamen Plasma — nach einigen Stunden bis Tagen Gerinnung ein. z. B.

1) Dass die geringen anhaftenden Ammonsulfatmengen für unsere Beobachtungen ausser Acht gelassen werden können, geht aus dem Verlauf der mitzutheilenden Untersuchungen sowie aus eigens angestellten Kontrollversuchen hervor.

Versuch X.

Milch ccm.	Kochsalz- lösung ccm.	Fibrino- globulin ccm.	Euglobulin ccm.	Pseudo- globulin ccm.	Befund (nach 20 Stunden)
2.0	3.0	—	—	—	flüssig
2.0	—	3.0	—	—	»
2.0	—	—	3.0	—	geballtes Gerinnsel
2.0	—	—	—	3.0	flüssig

Beschleunigt wurde auch hier dieser Erfolg durch Zusatz von Chlorecalcium.

Versuch XI.

Alle Proben mit 0.5 ccm. einer 10%igen Chlorecalciumlösung versetzt.

Milch ccm.	Kochsalz- lösung ccm.	Fibrino- globulin ccm.	Euglobulin ccm.	Pseudo- globulin ccm.	Befund
2.0	3.0	—	—	—	flüssig
2.0	—	3.0	—	—	»
2.0	—	—	3.0	—	nach 6 Stunden voluminöser Niederschl.
2.0	—	—	—	3.0	flüssig

Wir haben behufs Charakterisirung des wirksamen Körpers die Euglobulinfraktion verschiedenen üblichen Eingriffen unterworfen und dabei gefunden, dass die Wirkung durch Erhitzen auf 65—70° verloren geht, durch vorübergehendes Ansäuern geschwächt wird, dagegen auffälliger Weise durch entsprechende Alkalibehandlung stark zunimmt.

Versuch XII.

Je 20 ccm. 5%iger Euglobulinlösung werden 4 Stunden mit 10 ccm. $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure resp. Natronlauge stehen gelassen und alsdann mit dem gleichen Volumen $\frac{1}{10}$ Normal-lauge resp. -Säure neutralisirt.

A.

Mit Säure behandeltes Euglobulin.

Milch ccm.	Euglobulin- lösung ccm.	10%ige Chlor- calcium- lösung ccm.	Befund
1.0	5.0	0.0	Nach 2 Stunden wenige feine Flocken » 12 » reichliche Coagulation
1.0	5.0	0.5	» 2 » nichts » 12 » reichliche Coagulation

B.

Mit Alkali behandeltes Euglobulin.

Milch ccm.	Euglobulin- lösung ccm.	10%ige Chlor- calcium- lösung ccm.	Befund
1.0	5.0	0.0	Nach 2 Stunden feinflockiger reichlicher Niederschlag
1.0	5.0	0.5	Nach 2 Stunden abgesetzter, grobflockiger reichlicher Niederschlag

C.

Die Euglobulinlösung wird $\frac{1}{2}$ Stunde auf 70° erhitzt, das Filtrat zum folgenden Versuch verwandt.

Milch ccm.	Euglobulin- lösung ccm.	10%ige Chlor- calcium- lösung ccm.	Befund
1.0	5.0	0.0	Nach 12 Stunden nichts
1.0	5.0	0.5	» 12 » keine Veränderung

Um jedes Versehen bei der Neutralisation ausschliessen zu können, wurde der Versuch B mehrfach in der Art wiederholt, dass nur 9,9 ccm. $\frac{1}{10}$ Normalsäure zu der mit 10 ccm. $\frac{1}{10}$ Normalkalilauge versetzten Euglobulinlösung gesetzt wurden, der Erfolg war unverändert: in der chlorcalciumhaltigen Milch-Euglobulinmischung traten nach 20 Minuten bereits Flocken

auf, in der chlorcalciumfreien zur selben Zeit geringe Trübung, nach einigen Stunden ein massiger Niederschlag.

Mehr beiläufig sei hier bemerkt, dass bei der Neutralisation einer der Säurewirkung ausgesetzten salzhaltigen Euglobulinlösung sich ein reichlicher feinflockiger Niederschlag nach einiger Zeit ausschied, während das Pseudoglobulin bei gleichem Verfahren nur wenig opalescent wurde.

Dass auch Serum, welches der Alkalibehandlung unterworfen war, hierdurch ebenfalls in seiner labenden Wirkung verstärkt wurde, konnten wir uns durch besondere Versuche überzeugen.

Versuch XIII.

20 ccm. Serum in derselben Weise behandelt wie Euglobulin in Versuch XII.

Milch ccm.	Serum ccm.	Chlor- calcium- lösung ccm.	Befund
2.0	1.0	0.0	In allen Proben, etwa gleichzeitig nach einigen Stunden, feinflockige Aus- scheidung.
2.0	2.0	0.0	
2.0	3.0	0.0	
2.0	4.0	0.0	
2.0	1.0	0.5	
2.0	2.0	0.5	
2.0	3.0	0.5	

Sprechen schon die angeführten Thatsachen dafür, dass wir es bei dem labähnlich wirkenden Körper mit einem Ferment zu thun haben, so wird dies durch nachstehende Versuche noch wahrscheinlicher gemacht.

Wurde von dem entstandenen Niederschlag abfiltrirt, so führte das Filtrat, zu einer neuen Milchprobe gesetzt, neuerdings in ganz gleicher Weise Gerinnung herbei. Das wirksame Agens wird sonach bei seiner Wirkung anscheinend nicht verbraucht, der entstandene Niederschlag stellt auch nicht eine Verbindung von Casein mit dem wirksamen Agens dar. Dementsprechend haben uns auch anderweitige Versuche ergeben.

dass die Quantität des ausfallenden Niederschlags, vorausgesetzt natürlich, dass man mit ausreichenden Serummengen arbeitete, direkt und allein in Proportion steht zur Quantität der verwendeten Milch.

Es konnte ferner gezeigt werden, dass die Gerinnungswirkung im vorliegenden Fall, wie beim Chymosin, von der Mitwirkung der Kalksalze abhängig ist.

Versuch XIV.

100 ccm. Milch wurden nach den Angaben von Arthus und Pagès¹⁾ mit einer kleinen Menge Kaliumoxalat entkalkt und gegen destillirtes Wasser dialysirt, die so erhaltene salzfreie Milch mit Lab und wechselnden Mengen Euglobulin versetzt. Nach 12 stündigem Stehen wurde zu jeder Probe 0.5 ccm. 10% ige Chlorecalciumlösung hinzugegeben, wonach sich innerhalb von wenigen Minuten, etwa im Verhältniss zum Globulingehalt der Lösung, feine Flocken ausschieden, wenn auch weder so reichlich, noch so fest wie in der Kontrollprobe mit Chymosin.

Milch (dialysirt) ccm.	Lablösung ccm.	Kochsalz- lösung ccm.	Euglobulin ccm.	Befund nach 12 Stunden. Zusatz von 0.5 ccm. 10% iger Chlorecalciumlösung.
2.0	0.2	ad 6.0	0.0	sofortige Ausscheidung
2.0	0.0	6.0	2.0	feine Flockchen
2.0	0.0	6.0	4.0	mehr
2.0	0.0	6.0	6.0	reichliche
2.0	0.0	6.0	—	nichts

Einen noch besseren Erfolg erzielten wir bei der folgenden Versuchsanordnung: durch anhaltendes Kochen soll nach den verschiedensten Autoren die Milch ihre Fähigkeit verlieren, durch Lab coagulirt zu werden.²⁾ Dies beruht nach Eugling und Söldner³⁾ auf dem Unlöslichwerden des Kalkphosphats (Bildung von Tricalciumphosphat). Kontrollproben gleicher Zusammensetzung (mit ungekochter Milch) zeigten nach wenigen Stunden mit und ohne Chlorecalciumzusatz schöne Labung,

¹⁾ Arch. de physiol. norm. et path., Bd. 22, S. 331, 1890.

²⁾ Eugling, Landwirthschaftliche Versuchsstationen, Bd. 31, S. 391, 1885.

³⁾ Ebenda, Bd. 35, S. 351, 1888.

während die Proben mit gekochter Milch und dem Euglobulin unverändert waren. Nach Zusatz von 0,5 ccm. Chlorcalciumlösung schied sich alsbald der Käse aus ihnen feinflockig ab.¹⁾

Aus diesen und später mitzutheilenden Versuchen geht hervor, dass man sich den Verlauf der Milchlabung durch Euglobulin im Wesen nicht anders vorzustellen haben wird, als denjenigen bei der Labung durch die bisher beschriebenen Fermente. Ob dieses labende Agens im natürlichen Serum als Zymogen vorgebildet ist und, wie es den Anschein hat, erst, z. B. durch Alkaliwirkung, in das Enzym übergeführt wird, möchten wir nicht entscheiden. Dass man jedoch das im Blute gefundene Lab vorläufig nicht mit dem echten Chymosin identificiren darf, geht sowohl aus der etwas anderen Beschaffenheit des Gerinnsels hervor, als auch aus der von uns ermittelten Thatsache, dass das Chymosin sich gegen Salzfällung ganz anders verhält, da es sich erst bei 80—100° Sättigung mit Ammonsulfat ausscheidet.

Das Vorkommen von labähnlichen Fermenten im Harn ist von Holovotscheiner und Helves²⁾, in den Organen des Thierkörpers von Halliburton und Brodie³⁾ und namentlich von A. Edmunds⁴⁾ studirt worden; dass dem Papayotin und dem Pankreassaft Labwirkung zukommt, ist wesentlich durch Kühne⁵⁾ und Wittmack⁶⁾ bekannt. Zur Ergänzung sei bemerkt, dass wir im Presssaft und im Toluolkochsalzauszug von Schweinsnebennieren eine deutliche, durch Chlorcalcium verstärkbare Labwirkung nachweisen konnten. Der labende Stoff liess sich auch hier durch $\frac{1}{3}$ -Sättigung mit Ammonsulfat concentriren. Es muss dahingestellt bleiben, ob es sich um ein

¹⁾ Bemerkt muss werden, dass eine Probe gekochter Milch mit reichlichem Papayotinzusatz schnell und typisch gelabt wurde.

²⁾ Pflüger's Archiv, Bd. 43, S. 384, 1888.

³⁾ Journ. of Physiology, Bd. 20, S. 97, 1896.

⁴⁾ Ebenda, Bd. 19, S. 466, 1896.

⁵⁾ Verhandl. d. naturhist.-med. Vereins z. Heidelberg, N. F., Bd. 3, S. 3, 1878.

⁶⁾ Milchgerinnungsmittel, Hannoversch. Land- und Forstwirthschaftl. Vereinsblatt, 1878, Nr. 33. Citirt nach Maly, Bd. 8, S. 137.

ganz constantes Vorkommniß handelt. Herr Dr. Conradi, welcher analoge Versuche mit digerirten Rindernebennieren, nicht wie wir mit Schweinsnebennieren angestellt hat, fand einen deutlich labhemmenden Factor in ihnen: falls es sich um einen constanten Befund handelt, ein merkwürdiger Gegensatz zu der Wirksamkeit der betreffenden Blutsera (Rödén).

Eine milchcoagulirende Wirkung von Serum, der Angabe Morgenroth's¹⁾ nach von specifischer Natur, hat Bordet²⁾ durch subcutane Injection von Milch bei Thieren erzielt: eine Discussion der Beziehungen dieses Coagulins zu normalem Serumlab wird man bis zum Erscheinen einer angekündigten ausführlichen Mittheilung verschieben müssen.

IV.

Die labhemmende Wirkung der Pseudoglobulinfraction.

Wie oben erwähnt, gelang es, durch Salzfractionirung die labhemmende Wirkung an eine einzige Fraction, diejenige des Pseudoglobulins zu binden. Doch war die Wirkung der so erhaltenen Lösungen stets eine schwächere, als erwartet werden konnte, zumal im Hinblick auf die Wegschaffung des antagonistisch wirkenden labähnlichen Fermentes.

Bezüglich der Eigenschaften des „Antilabs“ haben wir, wie zum Theil schon Rödén und Morgenroth, gefunden, dass das Serum, zumal beim Stehen in der Wärme, seine labungshemmenden Eigenschaften nach und nach verliert. Die reine Pseudoglobulinlösung allerdings lässt sich wochenlang ohne Veränderung aufbewahren, was von dem Lab der Euglobulinfraction nicht gesagt werden kann. Durch vorübergehendes Verweilen unter Alkali oder Säure büsst sie zum Theil ihre Wirksamkeit ein. Sie verträgt Erhitzen unterhalb 70°, sowie Dialyse und passirt das Chamberland-Filter.

Durch Zusatz geringer Mengen Chlorcalcium wird die Wirksamkeit des „Antilabs“ aufgehoben, ein auffallendes Ver-

1) cf. Ehrlich l. c. S. 439.

2) Arch. de l'Inst. Pasteur, Bd. 13, S. 224, 1898.

halten, welches die Vermuthung berechtigt erscheinen liess, dass die labhemmende Wirkung möglicher Weise auf einer Calciumentziehung beruht.

Versuch XV.

Milch ccm.	Pseudoglobulinlösung ccm.	Lab.	Befund
1.0	erhitzt auf 70°.	5.0	0.1 nach 12 St. keine Gerinnung.
1.0	diffundirt	5.0	0.1 » 12 » » »
1.0	durch Chamberland- Kerze filtrirt	5.0	0.1 » 12 » » »
1.0	nach Alkalieinwirkung.	5.0	0.1 » 12 » » »
1.0	nach Säureeinwirkung	5.0	0.1 » 12 » » »

Wie wir durch Hammarsten wissen, verläuft der Process der Käsegerinnung in zwei Phasen, nämlich der Paracaseinbildung und der Paracaseincalciumfällung. Sehr scharf haben auch Arthus und Pagès¹⁾ diesen Unterschied gefasst.

Bei niederer Temperatur (Kühlung in Eiswasser) fällt eine Paracaseinlösung nicht mehr durch CaCl_2 . Die Wichtigkeit dieser Beobachtung für jede Aufstellung eines gesetzmässigen Einflusses der Temperatur auf die Wirkungsgeschwindigkeit des Ferments ist augenscheinlich.

Auch dürfte sie geeignet sein, in ungezwungener Weise die interessante Angabe Morgenroth's²⁾ über ein eigenthümliches Verhalten des Labenzym's zur Milch zu erklären, wonach Milch, welche bei 0° mit Lab gestanden hat und äusserlich keine Veränderung erkennen lässt, beim Erwärmen augenblicklich coagulirt.

Es ergab sich mithin die Frage, ob das Antilab schon der ersten Phase entgegenwirke oder erst der zweiten. Man hat zur Entscheidung nur nöthig, eine und dieselbe Milch-Lab-Pseudoglobulinmischung einmal mit und daneben ohne

1) Arthus und Pagès, Archives de Physiologie, 5^e série, T. II, p. 330, 1890.

2) J. Morgenroth, Archives internationales de Pharmacodynamie, Vol. VII, p. 265, 1900.

Chlorcalcium anzusetzen und gleichzeitig oder kurz nach der Abscheidung des Käses in der ersten Probe, der zweiten Chlorcalcium zuzufügen; eine unmittelbar folgende Käseabscheidung musste die durch Lab erfolgte Bildung von Paracasein auch bei Anwesenheit von Antilab anzeigen. Bei wiederholten Versuchen konnte Letzteres in der That immer wieder constatirt werden.

Versuch XVI.

A.

Milch ccm.	Cynarase-1) lösung ccm.	Serum ccm.	Chlorcalciumlösung (10%) ccm.	Befund
2.0	0.1	0.1	0.5	Nach 20 Minuten Labung.
2.0	0.1	(0.2 resp. 0.3) (— 0.5)	0.5	» 20
2.0	0.1	0.1 resp. 0.2 — 0.5	—	B. nach einer Stunde ungeronnen, dann auf Zusatz von 0.5 ccm. Chlorcalciumlösung fast momentane Käsebildung.

C.

Milch ccm.	Cynarase- lösung ccm.	Pseudo- globulin- lösung ccm.	Chlorcalciumlösung (10%) ccm.	Befund
2.0	0.1	3.0	0.5	Nach 20 Minuten lockeres Gerinnsel.
2.0	0.1	3.0	—	Keine Gerinnung, nach einer Stunde Chlorcalciumzusatz, fast momentane Käsebildung.

Die andere Paracaseinreaction, Fällbarkeit durch Kochen, fiel ebenfalls positiv aus. In genau der beschriebenen Weise verliefen zahlreiche Versuche, die mit Chymosin, resp. Papayotin oder Euglobulin an Stelle der Cynarase angesetzt wurden. Wir

¹ Für die freundliche Ueberlassung einer Quantität Cynarase sagen wir den Herren Geh.-Rath Prof. Dr. P. Ehrlich und Dr. J. Morgenroth unsern besten Dank.

verzichten auf die Beifügung besonderer Protokolle: stets zeigte, wenn in diesen Fällen auf Zusatz von Antilab die Gerinnung ausgeblieben war, die auf nachträglichen Chlorcalciumzusatz eintretende Fällung, dass trotz Anwesenheit des Antilabs Bildung von Paracasein erfolgt war.

Mit dieser Auffassung steht anscheinend der Befund Rödén's in Widerspruch, dass Lab und Serum sich (wenigstens annähernd) nach bestimmten Proportionen neutralisiren, sodass weiterer Labzusatz zu einem nicht mehr labenden Gemenge Gerinnungen hervorruft. Durch besondere Versuche überzeugten wir uns, und zwar unter Zusatz einer erheblichen Menge Serums, von der vollkommenen Richtigkeit dieser Angaben sowohl für das Chymosin wie für das Papayotin. Wir geben das Protokoll des letzteren Versuchs:

Versuch XVII.

Milch ccm.	Serum ccm.	Papayo- tinpflösung ccm.	Befund
1.0	1.0	0.2	nach 2 Stunden geringe Ausscheidung.
1.0	1.0	0.3	» 2 » etwas mehr
1.0	1.0	0.5	» 2 » stärkere , aber noch unvollständig.

Für unsere Versuche können wir freilich eine Erklärung dieser Ausnahme geben, es erwiesen sich nämlich die verwendeten Lösungen von käuflichen Labpulvern als kalkhaltig.

Wenn unsere Vermuthung über das Zustandekommen der Antilabwirkung richtig ist, so muss ein bestimmtes Volumen ausreichen, das Calcium eines bestimmten Volumens Milch zu binden und so die Käsebildung zu verhindern, während bei weiterem Milchzusatz die von diesem mitgebrachte Calciummenge die Paracaseinausscheidung ermöglichen müsste. In der That ergab der Versuch, dass durch ein und dieselbe Serum-Labmischung kleinere Milchmengen nur zu dürftiger Flockenausscheidung gebracht wurden (die nach Chlorcalciumzusatz viel reichlicher wurden), während vielmals grössere Milchmengen, für die man eher an eine Insufficienz der Labmengen

hätte denken können, vollständig geronnen. In ganz derselben Weise liess sich auch das vom Serum in Lösung gehaltene Paracasein durch Zusatz eines weiteren Milchquantums abscheiden.

Versuch XVIII.

Milch cem.	Serum cem.	Lab cem.	Befund
1.0	0.5	0.5	nach 2 Stunden Gerinnung angedeutet.
2.0	0.5	0.5	2 keine Veränderung.
3.0	0.5	0.5	2 Flocken.
4.0	0.5	0.5	2 Flocken.
10.0	0.5	0.5	2 klumpiges Gerinnsel.

Es bleibt naturgemäss die Frage zu erledigen, ob die labhemmende Wirkung dem Pseudoglobulin selbst oder einem beigemengten, vielleicht fermentartigen Stoffe zukommt.

Trotz der Zerstörbarkeit des wirksamen Stoffes durch hohe Temperatur scheint uns die Annahme eines Fermentes nicht geboten, da eine ähnliche Hemmung der Labgerinnung durch calciumentziehende, nicht fermentartige Stoffe hinreichend bekannt ist, Veränderlichkeit durch Hitze aber auch bei nicht fermentartigen Stoffen vorkommt.

Für die Annahme, dass es das Pseudoglobulin selbst ist, welches kalkentziehend und damit labhemmend wirkt, lässt sich Einiges anführen:

Das Pseudoglobulin coagulirt bei 68—72°. Nun ist das gerade jene Temperatur, bei welcher nach Rödén das Serum seine labhemmende Wirkung verliert: ferner besitzt das Pseudoglobulin die Fähigkeit, Kalk zu binden und zähe festzuhalten. Bei der Darstellung aus Plasma mit Kaliumacetat wird es mit einem merklichen Calciumgehalt gewonnen: dabei scheint das Calcium an Phosphorsäure im Moleküle gebunden zu sein, wenigstens gelang es, durch verdünnte Alkalien aus den Pseudoglobulinlösungen Calciumphosphat abzuscheiden. (Es ist somit möglich gewesen, zu zeigen, dass das gelöste Calciumphosphat

des Blutes, wie Kühne¹⁾ und Fokker²⁾ angenommen resp. wahrscheinlich gemacht haben, an einen bestimmten Eiweisskörper geknüpft ist.) Bei der Ammonsulfatfractionirung wurde der Körper kalkarm resp. kalkfrei erhalten.

Indessen begegnet der Versuch, die Pseudoglobulinwirkung in Analogie mit derjenigen des Oxalats zu setzen, einer gewissen Schwierigkeit, insofern als dieses und, wie man annimmt, auch die anderen kalkanziehenden Stoffe, wie Fluornatrium, Seifen und dgl., das Calcium als unlösliche Verbindung aus der Flüssigkeit entfernen, während die vermuthete Pseudoglobulinkalkverbindung in Lösung bleibt. Doch scheint sich auch hierfür eine Analogie darzubieten in dem Verhalten des Peptons und der Citrate.

Die labhemmende Wirkung des Peptons wurde zuerst beschrieben von Gley³⁾ und von Edmunds⁴⁾ und in der Folge mehrfach bestätigt.

Diese Wirkung findet nicht statt, wenn von vornherein ein Ueberschuss an löslichen Kalksalzen vorhanden ist. Trotzdem glaubt Locke⁵⁾ nicht an eine Betheiligung des Kalks bei der Peptonwirkung aus dem Grunde, weil dieses mit Kalksalzen nicht ausfällt.

In ähnlicher Weise glaubte A. Edmunds⁶⁾ den Gedanken an eine Kalkbindung durch Pepton widerlegen zu können, mit dem Hinweise auf die Unlöslichkeit des Käsegerinnsels in Peptonlösungen und die Löslichkeit desselben in Oxalat.

Doch lassen sich gegen beide Gründe einige Bedenken anführen: Auch das Kalkeitrat bleibt lange Zeit (selbst wochenlang) in Lösung und kann trotzdem zur Käsebildung nicht dienen. Andererseits kann offenbar aus der Löslichkeit des Käses in einem Stoffe nichts über den Einfluss desselben auf die Käsebildung ohne Weiteres geschlossen werden.

Indessen gelangten auch wir zu der Annahme, dass die

1) Lehrbuch der physiologischen Chemie, Berlin 1868, S. 184.

2) Pflüger's Archiv., Bd. 7, S. 274, 1873.

3) Compt. rend. d. l. soc. d. biol., 1896, S. 591.

4) Journ. of Physiol., Bd. XIX, S. 474, 1896.

5) Journ. of exp. Medicine, Bd. 2, Nr. 5, S. 493, 1897.

6) Journ. of Physiology, Bd. 19, S. 460, 1896.

Wirkung des Peptons nicht das Calcium betrifft und zwar auf Grund folgender Beobachtung: In der nicht gerinnenden, mit Lab versetzten Milchpeptonmischung kann durch Calciumchlorid kein Paracasein nachgewiesen werden.

Dagegen lässt sich zwischen Pseudoglobulin und Citrat eine Analogie erkennen; wie man allgemein die Existenz eines Calciumcitrats in der Lösung zugibt, dessen Calcium-Jonen für die Paracaseinfällung nicht mehr herangezogen werden, so möchten wir eine Pseudoglobulincalciumverbindung von ähnlichem Charakter annehmen. Wir konnten dies näher belegen, indem wir phosphorsaures oder kohlensaures Natron zu Pseudoglobulincalcium setzten. Dabei trat kein Niederschlag von Kalksalz auf. Dass nicht, wie wir Anfangs vermutheten, die colloidale Natur des gelösten Stoffes an der Behinderung der Reaction schuld ist, lässt sich, ausser durch die unten folgenden Oxalatversuche, in der Art zeigen, dass in entsprechenden und sogar concentrirteren Lösungen des Euglobulins die Ausfällung des Kalks als Carbonat u. s. w. mit Leichtigkeit stattfindet.

Genau die gleichen Verhältnisse wie beim Pseudoglobulin fanden wir bei der Citronensäure vor, so dass in dieser Hinsicht eine vollkommene Aehnlichkeit zwischen beiden Stoffen besteht. Dagegen scheint die Anwesenheit von Pepton im Lösungsmittel für die Kalkfällung ganz gleichgültig zu sein, sodass die Einwirkung des Peptons auf die Labgerinnung, wie auch schon oben nachgewiesen wurde, derjenigen des Pseudoglobulins und der Citrate sich nicht anschliesst. Ferner wurde gefunden, dass Milch nach Beimischung eines gleichen Volumens gesättigter, neutralisirter Wittepeptonlösung beim Kochen gerinnt. Ein solches Gemenge wird durch CaCl_2 nicht gefällt; auch Paracasein verliert durch das Stehen mit Peptonlösung seine Fällbarkeit durch Kalksalz. Aus all diesem geht hervor, dass durch das Verweilen unter Pepton mit dem Casein der Milch eine leichte Veränderung vorgeht, welche mit der gewöhnlichen Paracaseinbildung nicht identisch ist.

Weiter sind wir auf diese Frage nicht eingegangen, nur liess sich zeigen, dass reine Heteroalbumose auch in gesättigter Lösung die Labgerinnung nicht beeinflusst.

Ganz in Uebereinstimmung mit dem bisher Ausgeführten lässt sich aus einer Paracaseinlösung der Käse vermittelt einer Lösung von CaCl_2 z. B. in Pepton sehr leicht niederschlagen. Dagegen fällt das Kalksalz bei Gegenwart eines Ueberschusses von Pseudoglobulin kein Paracasein aus.

Die oben angedeutete Analogie mit der Citratwirkung legte einen Versuch über die Wirkung des Pseudoglobulins auf die Blutgerinnung nahe.

Einem Kaninchen wurde Blut aus der Carotis entnommen. Sechs Proben zu je 1 ccm. wurden aufgestellt und drei davon mit 3 ccm. physiologischer Kochsalzlösung versetzt, die drei andern mit 3 ccm. 5%iger Pseudoglobulinlösung.

Die Kontrollproben gerannen nach 29, 33 und 34 Minuten zu einem typischen, festen Fibringerinnsel. Von den Proben mit Pseudoglobulin zeigten zwei eine deutliche Verzögerung in dem Auftreten der Gerinnung; die eine war nach 1 Stunde, die zweite nach $3\frac{1}{2}$ Stunden noch ungeronnen.

In beiden Proben, welche ein Gerinnsel enthielten, war dieses nicht von der gewöhnlichen Beschaffenheit, sondern stellte eine verschiebliche, gelatinös-sulzige Masse dar.

In einer ungeronnenen Probe gelang es uns, durch Zusatz einer Spur von CaCl_2 (ähnlich wie nach Oxalatbehandlung des Fibrinogens) eine typische feste Gerinnung einzuleiten. Wiederholung beider Versuche lieferte ganz gleiche Resultate.

Hiernach ist anzunehmen, dass das Pseudoglobulin entsprechend seiner Fähigkeit, Kalk gelöst zu halten, auch eine hemmende Wirkung auf die Blutgerinnung ausübt. Dem Serum wohnt also nicht nur eine antilabende Wirkung inne, sondern auch eine antithrombische.

Letztere hat bereits Pekkariang¹⁾ gesehen und zwar ebenfalls, wie wir es ausdrücken würden, in der Pseudoglobulinfraktion. Auch er fand, dass Fibrinogen, in eine anhaltend dialysirte Serumglobulinlösung gebracht, nicht zu Fibrin wird, ausser wenn das Globulin mit einem Kalksalz digerirt war. Doch können wir seiner Deutung, dass aus Globulin und Kalk Fibrinferment werde, nicht beitreten.

Auch hier verhält sich das Casein wie das Pseudoglobulin und erhält frisch aus der Ader gelassenes Blut flüssig. Das zur Verwendung kommende Casein wurde ohne Säurezusatz durch Aussalzung mit Ammonsulfat aus Milch gewonnen, durch Umfällen gereinigt, abgepresst und in viel Wasser gelöst.

¹⁾ Mededeel. d. Kon. Akad. van Wetenskap. Afd. Natuurk. Derde Reeks. 9de Deel 1 Stuk 1891. S. 73.

Vielleicht darf man im Zusammenhang hiermit an die von Arthus und Pagès gefundene Thatsache erinnern, dass Anwesenheit oder Hinzufügung von Casein das Ausfallen des gebildeten Paracaseins hintanhält.

Wie also das Blut eine labhemmende Wirkung ausübt, so kann ein Bestandtheil der Milch die Blutgerinnung aufheben.

Die eigenthümliche Einwirkung des Pseudoglobulins auf die Labgerinnung, seine Function als *normales* Antilab, möchten wir demnach zurückführen auf das specifische Verhalten des Eiweisskörpers zu Calciumsalzen, mit denen derselbe eine Verbindung eingeht, welche zwar in Wasser löslich, aber relativ wenig dissociirt ist. Dass sie immerhin dissociirt sein muss, geht aus ihrer Reactionsfähigkeit gegen Oxalat hervor: denn aus solchen Lösungen von Pseudoglobulincalcium resp. citronensaurem Calcium, die mit Phosphaten und Carbonaten nicht reagiren, lässt sich das Calcium-Ion (Ca^{+}) mit oxalsaurem Salz abscheiden.

Aehnliches gilt auch für das Caseincalcium.

Ohne die vorhandenen physikalisch-chemischen Analogien anführen zu wollen, in denen eine ähnliche Scala der Affinitäten zu Tage tritt (als eine von der Acidität, wie es scheint, unabhängige steigende Selection bestimmter Säuren für die Bindung des Calciums oder einer anderen Base) möchten wir nur auf eine physiologisch-chemische Analogie hinweisen, welche wir wiederum O. Hammarsten und seinem Schüler Lundberg¹⁾ verdanken. Dieselben haben nämlich gezeigt, dass bei Neutralisation einer kalkhaltigen Caseinlösung mit Phosphorsäure oder Kohlensäure eine mit Lab gerinnende Flüssigkeit erhalten werden kann. Wurde jedoch zur Neutralisation Oxalsäure verwendet, so blieb die Gerinnung aus. Es ist also nicht die Wasserlöslichkeit des mit Casein zusammengebrachten Calciumsalzes, sondern die Natur der Bindung der für die Käsebildung wesentliche Factor.

¹⁾ Upsala Läkare förenings förhandlingar, Bd. 11, S. 343. Ein Referat von Hammarsten siehe Maly's Jahresbericht, Bd. VI, S. 11, 1876.