

Weitere Untersuchungen über das Herzglycogen.

Von

Dr. Paul Jensen.

(Breslau, physiologisches Institut.)

(Der Redaction zugegangen am 2. Juni 1902.)

Inhalt:

- I. Zur colorimetrischen Bestimmung des Glycogens.
- II. Ueber die Glycogenverhältnisse des Froschherzens unter verschiedenen Bedingungen.

I.

Zur colorimetrischen Bestimmung des Glycogens.

Die Methoden zur quantitativen Bestimmung des Glycogens von Brücke und Anderen sind bekanntlich, wenn man sie kunstgerecht ausführt, sehr zeitraubend. Als ich daher eine grössere Anzahl von Glycogenanalysen kleiner Organe, wie von Herzen, Muskeln und Leber des Frosches, zu machen hatte, bediente ich mich eines etwas einfacheren, colorimetrischen Verfahrens,*) welches ich glaube für manche Zwecke empfehlen zu können.

Schon früher einmal wurde von Goldstein²⁾ die bekannte Farbenreaction des Glycogens auf Jodlösung zur quantitativen Bestimmung der ersteren nutzbar gemacht. Doch war diese Methode mit bedeutenden Fehlern behaftet und verdiente daher den Tadel von Luchsinger⁵⁾ und E. Külz.³⁾ Hauptsächlich waren es zwei Mängel, welche man dem colorimetrischen Verfahren von Goldstein zur Last legen muss: Erstens wurde das Glycogen der Organe nur mit siedendem

*) Wohl wird man im Allgemeinen eine <subjective> Methode, wie die colorimetrische, verschmähen, wenn eine zuverlässige <objective> Bestimmung, wie etwa durch Wägung, erreichbar ist; doch gibt es, wie wir sehen werden, Fälle, wo mir die Anwendung der ersteren gestattet erscheint.

Wasser extrahirt, wobei ein Theil desselben zurückbleiben musste; und zweitens wurde nicht berücksichtigt, dass verschiedene in der glycogenhaltigen Organflüssigkeit enthaltene Salze und sonstige Körper von erheblichem Einfluss auf die Farbenreaction des Glycogens sind.*) Diese beiden Fehler galt es also thunlichst zu vermeiden.

Um möglichst alles Glycogen in Lösung zu bekommen, befolgte ich die damals als die zuverlässigste anerkannte Brücke-Külz'sche Methode**) bis zur Herstellung des Filtrates nach Ausfällung des Eiweisskörpers durch Jodquecksilberjodkalium. Das bedeutet zwar gegenüber dem Goldstein'schen Verfahren eine Complication; immerhin aber wird auch so noch ein sehr längwieriger Theil der Wägungsmethode, nämlich das Sammeln, Reinigen, Trocknen und Wägen des Glycogens bei Seite gelassen und durch einige rasch auszuführende Operationen ersetzt.

Die in der angegebenen Weise hergestellten Organflüssigkeiten des Frosches, der hier hauptsächlich in Betracht kommt, sind in der Regel hinreichend klar, was für die Ausführung der Colorimetrie selbstverständlich Erforderniss ist. Sollte nach Anwendung des Brücke'schen Reagens in dem Filtrat eine erhebliche, nur langsam niedersinkende Trübung vorhanden sein, so müsste diese nach Pflüger's⁷⁾ Vorschrift entfernt werden.***)

* E. Külz³⁾ findet auch darin ein Bedenken gegen die Zulässigkeit der colorimetrischen Methode, dass Leber- und Muskelglycogen und ferner ein schon getrocknet gewesenes und ein frisches Präparat verschiedene Jodreactionen geben können. Doch sind diese Unterschiede so gering, dass sie da, wo die Colorimetrie überhaupt erlaubt erscheint, vernachlässigt werden dürfen.

** Zwar erhält man, wie besonders Pflüger⁸⁾ feststellte, auch so nicht alles Glycogen im Filtrat. Doch lässt sich, wenn man die kleinen Organmengen in verhältnissmässig viel Flüssigkeit löst, der Fehler ziemlich gering machen. Vielleicht aber könnte man auch das neue Verfahren von Pflüger⁹⁾ entsprechend verwerthen.

*** Beiläufig sei bemerkt, dass sich in rein wässerigen glycogenhaltigen Organextracten nicht selten nach Zufügung der Jodjodkalilösung ein feinkörniger, brauner Niederschlag bildet, der auch schon von Luchsinger⁵⁾ beobachtet wurde.

Wenden wir uns zu dem Umstand, dass die Färbung des Jodglycogens durch Salze und andere gelöste Stoffe in merklicher Weise beeinflusst wird. Auf die bezüglichen Wirkungen von Chlornatrium, Natriumphosphat, Eiweiss, Leim u. a. hat schon E. Külz³⁾ hingewiesen. Für unseren Zweck mussten die wesentlichen Bestandtheile der zur colorimetrischen Prüfung hergerichteten Organflüssigkeit auf ihre Mitwirkung an der Farbenreaction geprüft werden. Von solchen kommen unter den natürlichen Constituenten der Organe nur das einfach phosphorsaure Kalium*) mit durchschnittlich 0,8% und das milchsaure Kalium mit etwa 0,4% des Organgewichts in Betracht: alle übrigen sind entweder verhältnissmässig gering an Menge oder ohne Einfluss auf die Glycogenfärbung. Ausserdem sind nun jedoch die Stoffe zu berücksichtigen, welche durch das analytische Verfahren den Organbestandtheilen beigemischt werden: nämlich das durch Zusammentreffen von Kalilauge und Salzsäure entstandene Chlorkalium, von welchem etwa 4 g, ferner überschüssige Salzsäure, von welcher ungefähr 100 g der üblichen verdünnten Lösung auf 100 g Organsubstanz entfallen, und endlich das Jodquecksilberjodkalium in einer der Salzsäure nahekommenden Menge.

Fast alle diese Stoffe haben die Eigenthümlichkeit, die im Allgemeinen bräunlich-rothe**) Farbe des Jodglycogens noch zu verstärken: nur das Jodquecksilberjodkalium wirkt in geringem Grade aufhellend und fügt der Färbung der Flüssigkeit eine schwache gelbe Componente hinzu. Es ist einleuchtend, dass die Gesammtheit der genannten verschiedenen Bestandtheile der Organflüssigkeit, welche die Jodglycogenfärbung der letzteren beeinflussen, sich hinsichtlich eben dieser Wirkung durch eine bestimmte Menge von Chlornatrium und Salz-

*) Dieses wird durch das Hinzutreten von überschüssiger Salzsäure in zweifach phosphorsaures Kalium verwandelt und findet sich daher nach der Ausfällung der Eiweisskörper nach Brücke in letzterer Form in der Organflüssigkeit.

**) Das violette Jodglycogen der Hühnermuskeln macht bekanntlich eine Ausnahme, wie schon Naunyn⁶⁾ fand.

säure*) ersetzen lässt. Und zwar kann man im Allgemeinen eine reine wässerige Glycogenlösung einer in der besprochenen Weise hergestellten Organflüssigkeit von gleichem Glycogengehalt colorimetrisch gleich machen, wenn man der ersteren 1,5% Chlornatrium und 2% Chlorwasserstoffsäure beifügt. Auf Grund der angegebenen Maassnahmen gestaltet sich die colorimetrische Bestimmung der nach dem Brücke'schen Verfahren gewonnenen Organflüssigkeit etwa folgendermaassen: Man stellt sich zunächst eine wässerige Lösung von Chlornatrium und Salzsäure in den oben besprochenen Mengenverhältnissen her, die Verdünnungsflüssigkeit. Einem Theile der letzteren setzt man dann 0,1% (oder nach Bedarf auch mehr) reines Glycogen**) zu und bekommt so die normale Glycogenlösung, welche sich, gegen Verdunstung geschützt, lange Zeit unverändert erhält. Misst man sich von dieser mit einer Bürette beispielsweise Mengen von 0,006 bis 0,0002 g Glycogen in möglichst gleiche Reagensgläser oder parallelwandige Glaskästchen ab, ergänzt sie mittelst der Verdünnungsflüssigkeit auf je 6 ccm. und fügt je 2 ccm. einer geeignet verdünnten Jodjodkaliumlösung hinzu, so besitzt man jetzt für Organflüssigkeiten von einem in jene Grenzen fallenden Glycogengehalt die erforderlichen Vergleichsobjecte;***) sie mögen als Normalmischungen bezeichnet werden. Um eine colorimetrische Glycogenbestimmung auszuführen, nimmt man 6 ccm. †) der zu untersuchenden Organflüssigkeit und dazu

* Selbstverständlich könnte man dasselbe Ziel auch mit anderen ähnlich wirkenden Körpern erreichen. Die Salzsäure dient zugleich zur Verhütung bacterieller Zersetzungen der Glycogenlösung.

** Ich habe mir das erforderliche Glycogen stets selbst sorgfältig dargestellt und zwar von derselben Thierart, deren Organe untersucht werden sollten, da es scheint, dass Glycogene verschiedener Thiere nicht selten qualitativ und quantitativ ungleiche Jodreactionen geben (vergl. auch Külz³).

*** Diese Jodglycogenlösungen bleiben, wenn man sie vor Verdunstung bewahrt, längere Zeit brauchbar.

† Reicht die Organflüssigkeit nicht aus oder enthält sie mehr als 0,1% Glycogen, so kann man derselben auch je nach Bedarf bestimmte Mengen der Verdünnungsflüssigkeit zusetzen. Es ist im Allgemeinen zweckmässig, die Glycogenlösung nicht zu concentrirt zu nehmen, da sonst die Vergleichung erschwert ist.

2 ccm. der Jodlösung und sucht für den hierbei auftretenden Farbenton des Jodglycogens den Platz in der Farbenscala der verschiedenen Normalmischungen von bekanntem Glycogengehalt. Bei der Vergleichung sind noch Farbenunterschiede wahrnehmbar, welche 0,0001 g Glycogen entsprechen.

Von der Genauigkeit der colorimetrischen Methode mag die folgende Tabelle eine Vorstellung geben. Es wurden in der angegebenen Weise von Leber, Beinmuskeln und Herz eines Hundes die Organflüssigkeiten hergerichtet, von diesen je ein kleiner Theil zur colorimetrischen Untersuchung verwendet und der Rest nach Brücke-Külz zu Ende behandelt und auf Glycogen analysirt. Dann wurde nach beiden Methoden der gesammte Glycogengehalt der drei Organe festgestellt. Das Glycogen der Normalmischungen stammte aus der Leber eines anderen Hundes.

Glycogen aus	Colorimetrische Werthe in g	Wägungswerthe in g	Differenz in %
Leber	1,577	1,613	+ 2,23
Beinmuskeln	0,0698	0,0705	+ 0,99
Herz	0,017	0,0165	- 3,03

Wie man sieht, ist die angewandte colorimetrische Methode nur mit ziemlich geringen procentischen Fehlern behaftet. Bei kleinen Glycogenmengen ist daher der absolute Fehler gering genug, um für die Bequemlichkeit der Analyse in Kauf genommen werden zu können. Handelt es sich freilich um grosse Organe und beträchtlichen Glycogengehalt, so multiplicirt sich der absolute Fehler derart, dass die Ergebnisse der colorimetrischen Bestimmung wohl kaum mehr befriedigen dürften.

II.

Ueber den Glycogengehalt des Froschherzens unter verschiedenen Bedingungen.

Schon aus dem S. 518 der vorigen Abhandlung mitgetheilten Versuche geht hervor, dass der Herzmuskel, auch ohne Glycogen zu enthalten, sich noch contrahiren kann: dass also die einmal

von Bunge¹⁾ besonders prägnant ausgedrückte Vorstellung: der Herzmuskel könne keine Secunde das Glycogen entbehren, nicht zu halten ist. Da es sich aber in dem genannten Falle um ein Herz handelte, welches in den letzten Zügen lag, so war daraus noch nicht zu schliessen, dass auch eine normale Herzarbeit längere Zeit hindurch ohne Glycogen möglich sei: für eine starke Abhängigkeit des Herzens vom Glycogen spricht zudem der Umstand, dass jenes in so hohem Grade die Fähigkeit besitzt, sich gegen ein Versiegen seines Glycogenvorraths zu schützen.*) Um daher zu entscheiden, ob ein völlig glycogenfreies Herz noch längere Zeit eine annähernd normale Arbeit zu leisten im Stande sei, versuchte ich, den Herzmuskel seines Glycogens zu berauben, ohne das Thier derart zu schädigen, dass ihm ein Weiterleben unmöglich gewesen wäre.

Für diese Untersuchung bediente ich mich des Frosches, dessen Herz unter normalen Verhältnissen einen durchschnittlichen Glycogengehalt von 0,48% des Organgewichtes besitzt.*) Die Glycogenanalysen wurden nach der oben besprochenen colorimetrischen Methode ausgeführt.

Zuerst bemühte ich mich, das Glycogen durch häufiges Tetanisiren des ganzen Frosches zum Schwund zu bringen:

Versuch 1. Eine kleine *R. temporaria****) (Winterfrosch) wurde eine Woche lang, ohne Nahrung zu erhalten, täglich mit geeigneten Unterbrechungen tetanisirt. Hierzu kam das Thier in einen Behälter, in welchem ihm durch eine Drahtnetzunterlage und einen um ein Vorderbein geschlungenen Draht die Ströme eines Schlitteninductoriums zugeleitet wurden. Der Frosch kam von der letzten Reizung ermüdet, aber völlig lebenskräftig zur Untersuchung.

*) Vergl. meine vorhergehende Abhandlung: Ueber den Glycogenstoffwechsel des Herzens.

**) Zwar ist in neuerer Zeit die summarische Bezeichnung 'Temporaria' verpönt; aber ich vermag heute nicht mehr zu entscheiden, ob ich bei meinen Versuchen (im Jahre 1895) *R. arvalis* oder *R. fusca* benutzt habe.

Gewicht des Herzens = 0,1 g,

Glycogen = 0,0003 g = 0,3%.

Gewicht der gesammten Weichtheile des Thieres ausser der Haut = 12 g,

Glycogengehalt derselben = 0,016 g = 0,13%.

Man sieht, dass auf dem angegebenen Wege das Glycogen nur langsam aus dem Körper herauszubringen ist und dass das Herz noch fast einen normalen Gehalt an dieser Substanz darbot.

Hier seien zwei Versuche angereiht, welche ich in loserem Zusammenhang mit den vorliegenden beiläufig ausführte. Der eine betraf ein isolirtes Froschherz, welches mehrere Tage überlebend gehalten wurde, ohne indes sein Glycogen einzubüssen, wie der nächste Versuch zeigt:

Versuch 2. Das Herz einer kleinen *R. temporaria* (Winterthier) wurde frisch ausgeschnitten und in einer feuchten Kammer auf ein Stückchen Filtrirpapier gebettet, welches täglich neu mit einer schwach alkalischen (0,005% NaOH) physiologischen Kochsalzlösung benetzt wurde. Nach 4 Tagen schlug das Herz noch jede viertel bis halbe Minute spontan, am 5. Tage, an dem es verarbeitet wurde, nur noch auf Reizung (leise Berührung).

Gewicht des Herzens = 0,06 g,

Glycogen » » = 0,00025 g = 0,42%.

In dem anderen beiläufigen Versuche wurde das Herz eines Frosches analysirt, dessen Blut 20 Tage zuvor durch Kochsalzlösung ersetzt worden war. Das Herz zeigte einen von der Norm nicht abweichenden Glycogengehalt:

Versuch 3. Der «Salzfrosch» (grosse *R. temporaria*, Winterthier) war in der Weise hergestellt worden, dass dem senkrecht aufgehängten Thiere einige Cubikcentimeter physiologischer Kochsalzlösung in den Rückenlymphsack eingegossen und dann eine grössere Arterie des Unterschenkels eröffnet wurde: die auslaufende Blutflüssigkeit wurde vom Lymphsystem her stets durch Kochsalzlösung ersetzt, indem von dieser solange in den Lymphsack nachgefüllt wurde, bis die ungefärbte Salz-

lösung der Arterie entströmte.*) Hiernach wurde die letztere verschlossen. Im Gefäßsysteme des nach 20 Tagen untersuchten Thieres waren nur noch mikroskopisch Blutkörperchen nachzuweisen.

Gewicht des Herzens = 0,35 g.

Glycogen = 0,0015 g = 0,43^o o.

Als die sicherste Methode, Muskeln und Leber eines Thieres glycogenfrei zu machen, wird die Strychninvergiftung angegeben (E. Külz ⁴). Daher brachte ich auch diese zur Anwendung, wobei sich herausstellte, dass in der That auf diese Weise das Herz des Frosches ganz des Glycogens beraubt werden kann, wofern die Strychnintetani genügend lange unterhalten werden. Der folgende Versuch zeigt, dass diese Krämpfe beim Frosche recht beträchtliche Zeit dauern müssen, um im ganzen Körper das Glycogen zum Schwund zu bringen:**) er lehrt zugleich, dass der Glycogengehalt des Herzens noch normal sein kann zu einer Zeit, wo derjenige anderer Organe schon sehr erheblich gesunken ist:

Versuch 4. Eine *R. temporaria* (Winterfrosch) erhielt 1 ccm. einer gesättigten Lösung von Strychninum nitricum in den Rückenlymphsack. Die erhöhte Reflexerregbarkeit, welche zahlreiche Tetani zur Folge hatte, dauerte etwa 24 Stunden. Kaum hatten die letzteren aufgehört, so wurde dieselbe Strychnindosis wie zuvor noch einmal gegeben. Nach abermals 24 Stunden, als die Krämpfe wieder ihr Ende erreichten, wurde das Thier zur Untersuchung genommen.

Gewicht des Herzens = 0,08 g,

Glycogen = 0,0004 g = 0,5^o o,

Gewicht der Beinnuskeln = 1,5 g,

Glycogen = 0,002 g = 0,13^o o,

* Diese Methode, Salzfrösche herzurichten, ist eine sehr schonende und dürfte sich für manche Zwecke empfehlen. Sie gründet sich auf die Erfahrungen von Goltz (Pflüger's Archiv, Bd. 5, S. 53, 1872) über die rasche Ergänzung der Blutflüssigkeit aus geeigneten in die Lymphsäcke eingefüllten wässrigen Salzlösungen.

** Nach Untersuchungen von E. Külz ⁴ sind beim Kaninchen schon nach 6stündiger Strychninwirkung Muskeln und Leber glycogenfrei.

Gewicht der Leber	= 0,25 g.
Glycogen »	= 0.

Wurde die Strychninvergiftung über etwas längere Zeit ausgedehnt, so verschwand das Glycogen aus dem Herzen des Frosches:

Versuch 5. Das Versuchsthier (*R. temporaria*, Winterthier) bekam 5 Mal je 1 ccm. Strychnin, und zwar am 4., 8., 17., 18. und 19. Mai. Einige Stunden nach der letzten Vergiftung wurde der Frosch verarbeitet.

Gewicht des Herzens	= 0,14 g.
Glycogen »	= 0
Gewicht der Beinmuskeln	= 3,0 »
Glycogen »	= 0
Gewicht der Leber	= 0,5
Glycogen »	= 0

Der letzte Versuch wurde mit geringen Modificationen noch 6 Mal wiederholt, vorwiegend an frisch eingefangenen Esculenten (Sommerfröschen), stets mit demselben Erfolg. Obgleich nicht daran zu zweifeln war, dass die Frösche in dem glycogenlosen Zustande, in welchem sie behufs der Analyse getödtet wurden, noch längere Zeit hätten weiterleben können, so machte ich doch noch folgenden Versuch:

Versuch 6. Eine *R. temporaria* (Winterthier), welche 1 ccm. Strychnin erhalten hatte, zeigte 3 Tage hindurch Krämpfe. Am 4. Tage wurden 0,5 ccm. Strychnin gegeben, dessen Wirkung sich 2 Tage hindurch kräftig äusserte. Da das Thier hiernach ziemlich schwach war, wurde ihm kein Strychnin mehr beigebracht. Nach einer Ruhezeit von 8 Tagen, in der sich der Frosch, ohne Nahrung zu bekommen, gut erholt hatte, wurde er getödtet und untersucht.

Gewicht des Herzens	= 0,08 g.
Glycogen »	= 0,0004 g = 0,5 ^o „
Gewicht der Beinmuskeln	= 1,5 g.
Glycogen »	= 0
Gewicht der Leber	= 0,25
Glycogen »	= 0

Aus diesem Versuche geht hervor, dass selbst ein durch Strychninkrämpfe sehr erschöpftes Thier sich ohne Nahrungszufuhr wieder erholen und längere Zeit eine jedenfalls annähernd normale Herzarbeit zu leisten vermag. Ueberraschend ist aber der hohe Glycogengehalt des Herzens: denn man sollte in Anbetracht der langen Dauer der Tetani erwarten, dass das Herz am Schlusse derselben glycogenfrei geworden sei. Der abweichende Befund berechtigt uns daher, die Möglichkeit in Erwägung zu ziehen, dass der Herzmuskel, nachdem er schon glycogenfrei gewesen, sich während der Ruhezeit in einem völlig glycogenlosen und hungernden Körper wieder seinen normalen Glycogengehalt zubereitet habe. Weitere Erfahrungen über diese Möglichkeit stehen mir leider nicht zur Verfügung, da ich an diesem Punkte meine Versuche unterbrechen musste. Wie ich nachträglich sehe, sind schon früher ähnliche Beobachtungen gemacht worden*)

In Bezug auf die Anfangs aufgeworfene Frage ergibt sich aus den mitgetheilten Versuchen, dass der Herzmuskel, auch ohne Glycogen zu enthalten, längere Zeit jedenfalls annähernd normal thätig sein kann: und zwar ist dies offenbar während und dicht nach der Schlussperiode einer mehrtägigen Strychnintetanie der Fall.

Das Schwinden des Herzglycogens in Folge der Strychninvergiftung können wir uns folgendermaassen veranschaulichen: Während der Tetani verbrauchen die Skelettmuskeln sehr rasch ihr Reserveglycogen und entziehen dann fortwährend dem Blute soviel Nährmaterial, dass in diesem schliesslich auch für das Herz nicht mehr genug Ersatzstoffe übrig bleiben,**) zumal da jetzt höhere Anforderungen an seine Leistungsfähigkeit gestellt werden.***) Das Herz zehrt daher allmählich sein Reserveglycogen auf. Folgt hierauf eine längere Erholungszeit, ohne dass Nahrung zugeführt wird, so könnte die bei Versuch 6

*) Siehe hierüber Zusatz 10).

** Vergl. die vorhergehende Abhandlung, S. 520 ff.

*** Es ist jetzt mehr Sauerstoff etc. zuzuführen und sind mehr Dissimilierungsprodukte zu entfernen.

angedeutete Möglichkeit in dieser Weise verwirklicht werden: Das Herz braucht jetzt nicht mehr so viel Stoff wie zuvor, da seine Arbeit wieder zur oder unter die Norm zurückgeht, und ebenso beanspruchen die Skeletmuskeln jetzt weniger Ersatzsubstanzen vom Blute, ja sie könnten sogar zusammen mit den anderen weniger lebenswichtigen Organen unter Einschränkung ihres Stoffwechsels aus sich selbst Nahrungsmaterialien an das Blut abgeben:*) wenn unter solchen Umständen der Herzmuskel von seiner Fähigkeit, auch aus einem stoffarmen Blute mit grosser Kraft Nährsubstanzen an sich zu reissen,**) Gebrauch macht, so mag es ihm wohl gelingen, nicht nur seinen Stoff- und Energiebestand zu erhalten, sondern sogar wieder Reserveglycogen anzuhäufen.

Litteratur.

- 1) Bunge, Lehrbuch der physiologischen und pathologischen Chemie, Leipzig, 1887.
- 2) Goldstein, Beiträge zur Lehre von der Glycogenbildung in der Leber, Verhandl. d. phys.-med. Ges. in Würzburg, N. F., Bd. 7, S. 1, 1874.
- 3) E. Külz, Ueber eine neue Methode, das Glycogen quantitativ zu bestimmen, Pflüger's Archiv, Bd. 24, S. 90, 1881.
- 4) Derselbe, Beiträge zur Kenntniss des Glycogenes, Festschrift f. C. Ludwig z. 50jähr. Doct.-Jubelfeier, S. 110, 1890.
- 5) Luchsinger, Experimentelle und kritische Beiträge zur Physiologie und Pathologie des Glycogenes, Dissertation, Zürich, 1875.
- 6) Naunyn, Beiträge zur Lehre vom Diabetes mellitus, Archiv f. experim. Pathol. u. Pharmakol., Bd. 3, S. 97, 1875.
- 7) Pflüger, Ueber die quantitative Analyse des Glycogenes, Pflüger's Archiv, Bd. 53, S. 491, 1893.
- 8) Derselbe, Eine neue Methode zur quantitativen Bestimmung des Zuckers, als Fortsetzung meiner Untersuchungen über die Quelle der Muskelkraft, Pflüger's Archiv, Bd. 66, S. 635, 1897.
- 9) Pflüger und Nerking, Eine neue Methode zur Bestimmung des Glycogenes, Pflüger's Archiv, Bd. 76, S. 531, 1899.
- 10) Zuntz, Ueber den Werth der wichtigsten Nährstoffe nach Versuchen am Menschen, Archiv f. Physiologie, 1897, S. 535.

* Vergl. die vorhergehende Abhandlung, S. 522.

** Vergl. die vorhergehende Abhandlung, S. 520 ff.