

Ueber menschliches Pancreassecret.

Von
O. Schumm.

Aus dem chemischen Laboratorium des Allgemeinen Krankenhauses Hamburg-Eppendorf.
Der Redaction zugegangen am 10. August 1902.

Unsere Kenntniss von der Beschaffenheit des menschlichen Pancreassecretes gründet sich auf eine ganz geringe Zahl von Untersuchungen. Nur vereinzelt sind Angaben über ein wohl annähernd normales Secret gemacht worden. Die erste derartige Untersuchung verdanken wir Herter.¹⁾ Sie bezieht sich auf ein bei der Section entnommenes Secret aus dem Ductus Wirsungianus, der an der Einmündungsstelle durch ein Carcinom des Duodenum comprimirt gewesen war. Das Secret war fast ganz klar, schwach gelblich, ziemlich leicht beweglich, nicht fadenziehend, geruchlos und reagierte stark alkalisch. Es enthielt Pepton, aber kein coagulables Eiweiss. Die Asche war reich an phosphorsaurem Alkali. Das Secret hatte tryptische, diastatische und fettspaltende Wirkung. Die quantitative Analyse ergab folgende Zusammensetzung:

Pepton und Ferment	11,5 ⁰ / ₁₀₀
In Alkohol lösliche organische Stoffe	6,4 ⁰ / ₁₀₀
Summe der organischen Stoffe	17,9 ⁰ / ₁₀₀
Asche	6,2 ⁰ / ₁₀₀
Summe der festen Bestandtheile	24,1 ⁰ / ₁₀₀ .

Eine zweite Analyse von Pancreassecret hat Zawadsky²⁾ veröffentlicht. Sie bezieht sich auf ein Secret, das aus der nach Exstirpation eines Pancreastumors verbliebenen Fistel aus-

¹⁾ Herter, Ueber Pancreassecret von Menschen. Diese Zeitschrift, Bd. IV, S. 160.

²⁾ Wratsch Nr. 10, 1891. Referirt im Centralblatt für Physiologie 1891, Bd. 5, S. 179.

floss. Es besass die fermentativen Eigenschaften des Pancreas und war ausgezeichnet durch seinen hohen Gehalt an organischer Substanz. Es enthielt:

86.405 %	Wasser
13,251 %	organische Substanz
0.827 %	Alkoholextract
9.205 %	Proteinstoffe
0.344 %	anorganische Substanz.

Es verwandelte energisch bei 38° Stärke in Maltose, Eiweiss in Pepton und emulsionirte Olivenöl.

Weitere Untersuchungen sind, soweit mir bekannt ist, nicht veröffentlicht worden.

Etwas zahlreicher sind die Beschreibungen solcher Secrete, die nach der Operation von Pancreascysten aus den verbliebenen Fisteln entleert wurden. Sie sind aber so selten genauer analysirt worden, dass mir eine neue Untersuchung eines solchen Secretes nicht überflüssig erschien. Ehe ich meine eigenen Versuche beschreibe, möchte ich kurz auf die früheren Arbeiten eingehen und der Vollständigkeit halber auch einige Angaben über die Beschaffenheit des Inhalts von Pancreascysten machen. Eine ausführliche Besprechung des Gegenstandes an dieser Stelle erscheint überflüssig, da sich eine solche in dem bekannten Werke von Prof. Oser¹⁾ findet. Ich führe noch die Arbeiten von Lenarcic²⁾ und Zdarek³⁾ an.

Die von Lenarcic untersuchte Punktionsflüssigkeit einer Pancreascyste war dunkelbraunrot, undurchsichtig, reagierte sehr schwach alkalisch und hatte ein spezifisches Gewicht von 1,010. Sie enthielt Globulin, Albumin und Albumosen, während Pepton, Tryptophan und Harnstoff nicht gefunden wurden. Trypsinwirkung liess sich im Verdauungsversuch nicht nachweisen, wohl aber sehr starke amylolytische Wirkung.

1) «Die Erkrankungen des Pancreas.» Wien 1898 bei Nothnagel. Spec. Pathol. u. Therapie, Bd. XVIII. 1899.

2) Lenarcic, Münchener med. Wochenschrift 1898 Nr. 32, S. 1035. «Punktionsflüssigkeit einer Pancreascyste.»

3) Zdarek, Chem. Untersuchung des Inhalts einer Pancreascyste. Münchener med. Wochenschrift 1899 Nr. 31, S. 1026.

Im Sediment fanden sich rothe und weisse Blutkörperchen.
Die Analyse ergab:

98.21 %	Wasser
1.97 %	feste Stoffe
1.005 %	organische Stoffe
0.785 %	Asche.

Der von Zdarek untersuchte Cystenininhalt war farblos und geruchlos, schwach opalisirend, dünnflüssig und reagirte neutral. Es liess sich nur diastatisches Ferment nachweisen. Sein Gehalt an organischer Substanz war auffallend gering (0.2842%). Der Gesamtabdampfdruckstand betrug 1,0615%; das specifische Gewicht war 1,007. Ungewöhnlich ist der Gehalt an Oxalsäure, den Zdarek feststellte. Die Flüssigkeit enthielt 0,1085% Oxalsäure. An Eiweiss enthielt sie nur 0,0974%. Dieser Cystenininhalt zeigt also nicht nur in seinem Aussehen, sondern auch hinsichtlich seiner chemischen Zusammensetzung eine von der gewöhnlichen erheblich abweichende Beschaffenheit. Die übrigen Bestandtheile der Flüssigkeit sind von Zdarek ebenfalls genau bestimmt worden; betreffs dieser verweise ich auf die Originalarbeit.

I. Beschaffenheit des Inhalts von Pancreascysten.¹⁾

Der Cystenininhalt besteht meist aus einer mehr oder weniger trüben, alkalisch reagirenden eiweisshaltigen Flüssigkeit, die in Folge einer Beimengung von (meist zersetztem) Blut hell bis dunkelbraun gefärbt ist. Auch schleimige, syrupartige und gelatinöse colloide, eitrige Beschaffenheit ist beobachtet worden. Selten ist der Inhalt wasserklar, hell und durchsichtig. Der Gehalt an festen Stoffen und somit das specifische Gewicht unterliegen bedeutenden Schwankungen. Ausser Eiweissstoffen ist öfter Cholestearin gefunden, während Leucin und Tyrosin nur selten nachgewiesen sind. Die Gegenwart aller dreier Fermente ist bei einer Reihe von Fällen angegeben worden; dagegen fand sich wiederholt nur ein Ferment

1) Obige Angaben sind im Wesentlichen dem Werke von Professor Oser: *Die Erkrankungen des Pancreas*. Wien 1898, bei Nothnagel. *Specielle Pathologie und Therapie*, Bd. 18, 1899, entnommen.

und zwar am häufigsten Diastase. Ziemlich zahlreich sind die Fälle, in denen die Untersuchung das Fehlen jeglichen Fermentes ergab.

II. Beschaffenheit des Secrets von Fisteln, die nach der Operation von Pancreascysten verblieben.

Das von Kulenkampf¹⁾ beschriebene Secret war farblos, fast klar, dünnflüssig wie Wasser, eiweisshaltig und reagirte schwach alkalisch. Es enthielt tryptisches, diastatisches und fettspaltendes Ferment: seine Zusammensetzung war folgende:

- 1,222^o organische Substanz, davon
- 0,365^o eines durch Alkohol fällbaren Eiweissstoffes:
- 0,809^o Asche.

Ueber ein ähnliches Secret berichtet Gussenbauer.²⁾ Es war mehr wässerig-klar, reagirte alkalisch, verdaute Eiweiss, bildete Leucin und Tyrosin und verwandelte Amylum in Zucker.

Ein abweichendes Verhalten zeigte ein von Karewski³⁾ beschriebenes Secret. Es war allerdings wasserhell, reagirte alkalisch und besass diastatische und emulgirende Wirkung, doch fehlte ihm die Fähigkeit, Eiweiss zu verdauen. Ein weiteres, ebenfalls von Karewski⁴⁾ beschriebenes Fistelsecret besass exquisite tryptische und diastatische Eigenschaften. Auch wirkte es kräftig emulgirend.

Bei einem zweiten Falle von Gussenbauer⁵⁾ entleerte sich ein wasserhelles, schleimiges, dickflüssiges Secret, welches merkwürdiger Weise niemals eine verdauende Wirkung auf die Bauchwand ausübte. Dagegen fanden sich bei dem Falle von Richardson⁶⁾ wiederum alle drei Fermente im Fistelsecret.

1) Kulenkampf, «Ein Fall von Pancreasfistel». Berl. Klin. Wochenschrift 1882, Nr. 7, S. 102.

2) Gussenbauer, «Zur operativen Behandlung der Pancreascysten». Archiv f. Chirurgie von Langenbeck, Bd. 29, S. 355, 1883.

3) Karewski, Zur Diagnose und Therapie der Pancreascysten. Deutsche med. Wochenschrift 1890, S. 1035.

4) l. c. S. 1069.

5) Gussenbauer, Zur Casuistik der Pancreascysten. Prager med. Wochenschrift 1891, Nr. 32, S. 365.

6) Citirt nach Oser, l. c.

Demnach wurde unter sechs derartigen Secreten bei vieren tryptisches Ferment nachgewiesen. Nur bei einem ist ausdrücklich bemerkt, dass es dickflüssig war; in mehreren Fällen wurde es dagegen als dünnflüssig, wässerig, wasserhell bezeichnet.

III. Untersuchung des Inhalts einer Pancreascyste.

Die nachstehend beschriebene Flüssigkeit entstammte einer Pancreascyste, die auf der chirurgischen Abtheilung des Herrn Oberarztes Dr. Kümmell am 20. Mai 1902 geöffnet und in die Bauchwand eingenäht wurde.¹⁾

Die Flüssigkeit, deren Menge 120 ccm. betrug, war gelb, wässerig, durch suspendirte feine Flöckchen getrübt und reagirte alkalisch. Beim ruhigen Stehen setzten sich die Flöckchen rasch zu Boden, die überstehende Flüssigkeit war dann klar. Am Boden des Kolbens, in dem die Flüssigkeit mir übergeben war, befanden sich stecknadelkopfgrosse und kleinere schwarze Partikel in geringer Anzahl. Zwei etwas grössere, ebenso gefärbte Stückchen von 2 und 4 mm Länge, die in der Cyste gefunden waren, wurden mir gesondert übergeben, sie wogen zusammen 0,008 g. Sie liessen sich leicht zu einem schiefergrauen Pulver zerreiben. Bei Ausführung der Hämprobe gab dies reichlich Häminkrystalle. Es war schon in der Kälte in Eisessig mit brauner Farbe löslich; Entwicklung von Kohlensäure trat dabei nicht ein. Beim Erhitzen auf Platinblech schwärzte sich das Pulver und verbrannte unter Hinterlassung einer kleinen Menge gelber Asche, die nicht in Wasser, dagegen leicht in einem Tropfen Salzsäure ohne Aufbrausen mit gelber Farbe löslich war. Mit einer Spur Ferrocyankaliumlösung gab die Lösung der Asche eine stark, blau gefärbte Flüssigkeit. Die Hauptmenge des Pulvers wurde mit heissem Aether und danach mit kochendem Wasser extrahirt.

Der Aetherauszug hinterliess nach dem Verdunsten in einem Uhrglase einen Anflug sehr kleiner Tröpfchen; mit Hilfe

¹⁾ Ueber den Fall selbst wird Herr Dr. O. Rumpel an anderer Stelle ausführlich berichten. Der Patient ist inzwischen geheilt entlassen.

des Mikroskops liessen sich darin keine Krystalle auffinden, auch nicht, nachdem das Uhrglas längere Zeit kalt gestanden hatte. Beim Betupfen der Tröpfchen mit einem Stück glatten Papiere entstanden kleine Fettflecke. (Durch einen Controllversuch wurde festgestellt, dass die Substanz nicht aus dem Aether stammte.) Cholestearin liess sich in der Substanz nicht nachweisen. Das Wasserextract hinterliess nach dem Eindampfen in einer Glasschale nur einen minimalen Anflug, der in Wasser gelöst mit Silbernitratlösung schwache Opalescenz gab. Der von Aether und Wasser nicht gelöste Rückstand bildete lockere schwarze Flöckchen. Er wurde verascht und die geringe Menge gelber Asche, in Wasser und wenig Salzsäure gelöst, zur Prüfung auf Phosphorsäure und Eisen benutzt. Während Phosphorsäure sich nicht nachweisen liess, fiel die Eisenreaction sehr stark aus. Eine Probe des Concrementpulvers, am Platindraht in die nicht leuchtende Gasflamme gebracht, ertheilte dieser eine vorübergehende Violett- und eine anhaltende Gelbfärbung. Das in der Cystenflüssigkeit befindliche Sediment verhielt sich bei der gesondert vorgenommenen Untersuchung genau so wie die beschriebenen zwei Concremente. Ihre Beschaffenheit weist auf die Bildung aus Blut hin.

Die Cystenflüssigkeit wurde zur näheren Untersuchung filtrirt. Traubenzucker liess sich in ihr nicht nachweisen. 50 g des klaren Filtrats wurden mit verdünnter Essigsäure vorsichtig neutralisirt. Es trat keine Trübung ein, wohl aber reichliche Entwicklung von Kohlensäure. Auch nach schwachem Ansäuern mit 2 Tropfen 15%iger Essigsäure blieb die Flüssigkeit klar. Sie wurde nun unter beständigem Umrühren mit einem Thermometer sehr langsam erwärmt. Bei 46° trübte sie sich stark, es bildeten sich zunächst feine, bei 50° grössere Flocken: bei fortgesetztem Erwärmen entstand eine ziemlich erhebliche Ausscheidung grober Flocken. Die Flüssigkeit wurde aufgeköcht und filtrirt. Der Niederschlag bestand aus Eiweiss, wie sein Verhalten gegen Salpetersäure und Millon's Reagens ergab. Das Filtrat wurde stark eingedampft und ein kleiner Theil mit der Biuretprobe geprüft: es trat Purpurrothfärbung

ein. Die Hauptmenge wurde weiter eingedampft; es verblieb eine sehr kleine Menge eines dünnen Syrups, in dem nach dem Erkalten weder Tyrosin noch Leucin bei mikroskopischer Untersuchung zu entdecken war. Erst nach mehrtägigem Stehen in der Kälte bildete sich eine geringe krystallinische Ausscheidung. Bei mikroskopischer Betrachtung (Objectiv 7, Ocular I. Leitz) fanden sich nun in einem Tropfen des Syrups in grosser Zahl kleine, schön ausgebildete Tyrosingarben, die etwa 3 mm lang erschienen; ferner eine Menge kleiner Leucinkugeln.

Der Syrup wurde mit etwas Wasser verdünnt, filtrirt und mit Ammoniumsulfat gesättigt; es entstand eine flockige Ausscheidung, die abfiltrirt, mit gesättigter Ammoniumsulfatlösung gewaschen und in sehr wenig Wasser gelöst, Biuretreaction gab. Es waren also Albumosen vorhanden. Ob daneben Pepton vorhanden war, habe ich nicht untersucht.

Zur Prüfung auf Trypsin wurden folgende Proben angesetzt:

a) 2,85 g trocknes Fibrin + 30 ccm Cystenflüssigkeit + 0,25 g Chloroform.

b) 2,85 g trocknes Fibrin + 30 ccm mit Soda schwach alkalisirten Wassers + 0,25 g Chloroform.

c) 2,85 g trocknes Fibrin + 30 ccm destillirten Wassers + 0,25 g Chloroform.

Die 3 Proben wurden gut umgeschüttelt und verschlossen gleichzeitig in den Brutofen gestellt. Nach 5 Stunden war in a) ein Theil des Fibrins gelöst, in b) und c) war es nicht merklich verändert. Nach 20 Stunden war in a) der grösste Theil des Fibrins gelöst. Nach insgesamt 44 Stunden war in a) das Fibrin fast vollständig gelöst: am Boden des Glases befanden sich nur wenige feste Fibrinstückchen, ferner in grösserer Menge Fasern und andere kleine Verunreinigungen, die dem künftlichen Fibrin anhaften. In c) war das Fibrin wenig verändert, in b) etwas gequollen. Die Proben b) und c) wurden filtrirt. Das Filtrat von c) gab keine, das Filtrat von b) eine äusserst schwache Biuretreaction.

In keiner Probe war der geringste Fäulnissgeruch bemerkbar. Die Probe a) wurde mit Essigsäure neutralisirt,

wobei nur eine geringe Ausscheidung entstand. Von dieser wurde abfiltrirt, das Filtrat mit Essigsäure schwach angesäuert und aufgeköcht. Die geringe Menge coagulirten Eiweisses wurde abfiltrirt und das Filtrat mit der Biuretprobe geprüft. Es entstand intensive Purpurrothfärbung. Das Filtrat wurde dann zum Syrup eingedampft und erkalten gelassen. Am nächsten Tage enthielt der Syrup eine reichliche Menge grosser Tyrosindrüsen. Die Flüssigkeit wurde abgesogen, das Tyrosin mit Wasser gewaschen und aus heissem Wasser umkrystallisirt. Es gab die Hofmann'sche und Piria'sche Reaction. Der vom Tyrosin getrennte Syrup wurde weiter eingedampft und stehen gelassen. Am nächsten Morgen hatte sich Leucin ausgeschieden. Eine von der Oberfläche entnommene Probe des Syrups zeigte bei mikroskopischer Betrachtung eine grosse Anzahl der bekannten Leucinkugeln.

Zur Prüfung auf diastatisches Ferment wurden

a) 10 cem Stärkekleister (aus 2 g Amylum und 40 g Wasser bereitet) und 10 cem Cystenflüssigkeit gemischt:

b) 10 cem Stärkekleister und 10 cem vorher aufgeköchter Cystenflüssigkeit gemischt.

Beide Proben wurden 1 Stunde im Brutschrank stehen gelassen; Probe a) reducirte dann sehr stark Fehling'sche Lösung, Probe b) bewirkte keine Reduction.

Zur Prüfung auf fettspaltendes Ferment benutzte ich eine Mischung von 4 g Butter und 50 cem heissen Wassers, die mit etwas Rosolsäurelösung und dann mit soviel Sodalösung versetzt wurde, bis sie deutlich roth gefärbt war. Es wurden

a) 10 g der stark geschüttelten Flüssigkeit mit 10 g Cystenflüssigkeit und etwas Chloroform,

b) 10 g der stark geschüttelten Flüssigkeit mit 10 g vorher aufgeköchter Cystenflüssigkeit und etwas Chloroform gemischt.

Beide Proben wurden verschlossen in den Brutschrank gestellt. Am andern Morgen (nach 17 Stunden) reagirte die Probe a) sauer, war entfärbt und roch nach Buttersäure, während die Probe b) noch stark alkalisch reagirte, roth gefärbt war und keinen Geruch nach Buttersäure zeigte.

Die Cystenflüssigkeit enthielt demnach tryptisches, diastatisches und fettspaltendes Ferment. Ferner ergab die Untersuchung die Anwesenheit von Alkalicarbonat, Eiweiss, Albumose, Tyrosin, Leucin. Mucin und Traubenzucker liessen sich nicht nachweisen.

IV. Untersuchung des Secrets einer Pancreasfistel.

Nach der Operation der unter III. besprochenen Pancreascyste entleerte die Wunde täglich eine grössere Menge Flüssigkeit. Am zweiten Tage wurden mir davon 400 ccm und am neunten Tage 120 ccm zur Untersuchung übergeben. Ferner erhielt ich die gesammte in der Zeit vom 31. V. 02 bis zum 7. VI. 02 und vom 14. VI. 02 bis zum 16. VI. 02 entleerte Flüssigkeit. Das Secret wurde unter Anwendung einer Canüle in reinen, mit Glasstöpsel verschliessbaren Flaschen, in die etwas Chloroform gegeben war, aufgefangen und im Eisschrank aufbewahrt: nur bei der mit B. bezeichneten Portion wurde kein Chloroform angewandt. Ich habe jedesmal die innerhalb 24 Stunden gesammelte Flüssigkeit auf tryptisches und diastatisches Ferment, einige ausserdem auf fettspaltendes Ferment und eine Portion auf zuckerzerstörende und milchcoagulirende Wirkung untersucht: ferner habe ich von mehreren Portionen einige Bestandtheile quantitativ bestimmt.

Analytische Methoden.¹⁾

a) Nachweis des tryptischen Fermentes. Es wurde entweder getrocknetes Fibrin mit dem Secret und 1^o Chloroform oder eine mit 1^o Chloroform versetzte Mischung aus gleichen Volumina einer 25 bis 30^o igen, mit Soda schwach alkalisirten, aufgekochten und filtrirten Lösung von Witte-Pepton²⁾ längere Zeit im Brutschrank bei 37^o gehalten. Zur

1) Zu allen Untersuchungen wurde das Secret im Eisschrank durch aschefreies Filtrirpapier im bedeckten Trichter filtrirt. Die Bestimmung derjenigen Bestandtheile, deren Zersetzung bei längerem Stehen des Secrets zu befürchten war, wurde möglichst sogleich in Angriff genommen.

2) Diese Methode ist ausführlich im folgenden Abschnitt beschrieben.

Controlle wurden Mischungen aus Fibrin mit vorher aufgekochtem Secret und etwas Chloroform und aus Fibrin, schwach mit Soda alkalisirtem Wasser und Chloroform gleich lange bei 37° digerirt oder Mischungen aus Witte-Peptonlösung, aufgekochtem Secret und Chloroform und aus Witte-Peptonlösung, schwach mit Soda alkalisirtem Wasser und Chloroform gleich lange bei 37° digerirt.

Die Proben mit Fibrin wurden nach beendeter Digestion in üblicher Weise enteiwisst, mit der Biuretprobe geprüft, zum Syrup eingedampft und dieser mikroskopisch auf Tyrosin und Leucin untersucht. Mehrfach wurde das gebildete Tyrosin durch Auswaschen und Umkrystallisiren gereinigt und mittelst der Hofmann'schen und Piria'schen Probe identificirt. Bei den Proben mit Witte-Pepton fiel die weitere Bearbeitung fort.

Die Controllprobe mit Witte-Peptonlösung und mit Fibrin (letztere nach vorherigem Enteiwissen) wurden mit 5% Schwefelsäure versetzt, mit Phosphorwolframsäure ausgefällt, die Filtrate mit Baryhydrat schwach alkalisirt, die Filtrate hiervon mit Schwefelsäure neutralisirt, filtrirt und eingedampft.

b) Nachweis des diastatischen Fermentes.

Stärkekleister wurde mit dem Secret kurze Zeit bei 37° stehen gelassen. Zur Controlle wurde Stärkekleister mit dem vorher aufgekochten und wieder erkalteten Secret ebensolange erwärmt. Beide Proben wurden mit Fehling'scher Lösung auf reducirende Substanz geprüft.

c) Nachweis des fettspaltenden Fermentes.

Das Secret wurde mit einem schwach mit Soda alkalisirten Gemisch aus warmem Wasser, Butter und etwas Rosolsäurelösung oder mit neutralem Olivenöl¹⁾ bei 37° digerirt. Farbe und Geruch des Gemisches nach beendeter Digestion geprüft und die gebildeten Fettsäuren in einzelnen Fällen isolirt. Letzteres geschah in üblicher Weise, indem die Probe nach

1) Dargestellt aus reinem Olivenöl nach der von Hoppe-Seyler gegebenen Anweisung. Siehe Hoppe-Seyler, Handbuch der physiologischen und pathologischen chemischen Analyse. 1893, S. 443.

Zusatz von Soda bis zur stark alkalischen Reaction durch wiederholtes Ausschütteln mit Aether vollständig von Fett befreit wurde, dann die vorhandenen Fettsäuren durch Ansäuren mit Schwefelsäure in Freiheit gesetzt, mit Aether ausgeschüttelt und dieser nach vollständiger Klärung abgegossen, filtrirt und verdunstet wurde.

d) Die Bestimmungen des specifischen Gewichtes wurden mit dem Sprengel'schen Pyknometer ausgeführt.

e) Die Stickstoffbestimmungen nach der Kjeldahl'schen Methode: als Oxydationsmittel diente ein Gemisch aus concentrirter und rauchender Schwefelsäure mit einem Tröpfchen Quecksilber.

f) Der Gehalt an Eiweiss wurde durch Aufkochen bei schwach essigsaurer Reaction, Sammeln des ausgeschiedenen Eiweisses auf gewogenem Filter, Auswaschen mit heissem Wasser, Alkohol und Aether, Trocknen bei 120° bis zum constanten Gewicht und Veraschen bestimmt.

g) Die Alkaleszenz wurde durch Titration mit $n/10$ -Schwefelsäure unter Anwendung von Dimethylamidoazobenzol als Indicator bestimmt.

h) Die Trockensubstanz durch Eindampfen auf dem Wasserbade und Trocknen bei 120° .

i) Zur Bestimmung des Aschegehalts wurde der Trockenrückstand im Platintiegel bei ganz gelinder Hitze verkohlt, die Kohle mit Wasser ausgelaugt und durch schwaches Erhitzen bis zur kaum beginnenden Dunkelrothgluth verascht, der wässerige Auszug der Kohle in demselben Tiegel auf dem Wasserbade eingedampft, getrocknet und vorsichtig erhitzt.

k) Zur Bestimmung der in Alkohol löslichen und unlöslichen Stoffe wurde die Flüssigkeit mit Essigsäure neutralisirt, mit dem vierfachen Volumen absoluten Alkohols gemischt und nach mehrtägigem Stehen durch ein gewogenes Filter filtrirt, das Filter mit Alkohol gewaschen und bei 120° bis zur Gewichtconstanz getrocknet, Filtrat und Waschflüssigkeit auf dem Wasserbade zunächst im Becherglase bis auf ein kleines Volumen, dann im Platintiegel ganz eingedampft und bei 120° getrocknet.

l) Chlor bestimmte ich gewichtsanalytisch nach der von Katz¹⁾ beschriebenen Methode Meillère's.

m) Zur Abscheidung der Alkalichloride verfuhr ich ebenfalls nach den Angaben von Katz. Bei der Bestimmung von Kalium bediente ich mich der elektrolytischen Abscheidung²⁾ des Platins aus dem gebildeten Kaliumplatinchlorid.

n) Zur Prüfung auf Leucin und Tyrosin wurde die Flüssigkeit durch Aufkochen bei schwach essigsaurer Reaction und Filtriren enteiweisst und das Filtrat zum Syrup eingedampft oder auch in der oben unter a) angegebenen Weise mit Phosphorwolframsäure und Schwefelsäure ausgefällt u. s. w.

o) Zur Prüfung auf Xanthinbasen wurde die enteiweisste Flüssigkeit mit Ammoniak alkalisch gemacht, filtrirt und das Filtrat mit ammoniakalischer Silberlösung im Ueberschuss versetzt.

p) Albumosen und Pepton wurden in üblicher Weise in der durch Aufkochen bei schwach essigsaurer Reaction und Filtriren enteiweissten Flüssigkeit nachgewiesen. Die Trennung des Peptons von den Albumosen geschah nach den Angaben Kühne's.³⁾

Ergebniss der Untersuchung.

Die am zweiten Tage nach der Operation entleerte Flüssigkeit war bräunlich, dünnflüssig, schwach getrübt, reagierte stark alkalisch, entwickelte bei Zusatz von Essigsäure Kohlensäure, reducirte Fehling'sche Lösung nicht, enthielt etwas Eiweiss, besass fettspaltende, ferner starke diastatische und tryptische Wirkung.

Das am neunten Tage nach der Operation entleerte Secret war von etwas hellerer Farbe, reagierte stark alkalisch, reducirte Fehling'sche Lösung nicht, enthielt etwas Eiweiss

1) J. Katz. Die mineralischen Bestandtheile des Muskelfleisches. Pflüger's Archiv f. d. ges. Physiologie, Bd. 63.

2) vfr. Giassen, Quantitative Analyse durch Elektrolyse. 4. Auflage. 1897. S. 201, 241, 242. — Schumm, Beitrag zur Kaliumbestimmung. Zeitschr. f. analyt. Chemie. Bd. 40. 1901. S. 385.

3) Kühne, Zeitschr. f. Biologie, Bd. 29.

und wirkte tryptisch. Es löste innerhalb 24 Stunden etwa $\frac{1}{15}$ seines Gewichts an trockenem Fibrin; aus dieser Lösung wurde reichlich Tyrosin und Leucin gewonnen. Auf fettspaltendes und diastatisches Ferment wurde das Secret nicht untersucht.

Vom 31. Mai, dem elften Tage nach der Operation, Morgens 8 Uhr bis zum 2. Juni Morgens 8 Uhr wurden 798 g Secret entleert. Das Ganze wurde gemischt und ist im Folgenden mit «Portion A» bezeichnet.

Vom 2. Juni Morgens 8 Uhr bis zum 3. Juni Morgens 8 Uhr wurden 452,5 g entleert und vom 3. Juni Morgens 8 Uhr bis zum 4. Juni Morgens 8 Uhr 530,5 g. Beide Tagesmengen wurden gemischt und das Ganze mit «Portion B» bezeichnet.

Vom 4. Juni 8 Uhr Morgens bis zum 5. Juni 8 Uhr Morgens wurden 404 g entleert = «Portion C».

Vom 5. Juni Morgens 8 Uhr bis zum 6. Juni Morgens 8 Uhr wurden 336 g entleert = «Portion D».

Vom 6. Juni Morgens 8 Uhr bis zum 7. Juni Morgens 8 Uhr betrug die Ausscheidung 374,6 g = «Portion E».

Vom 14. Juni Morgens 8 Uhr bis zum 15. Juni Morgens 8 Uhr betrug die Ausscheidung 437 g = «Portion F».

Vom 15. Juni Morgens 8 Uhr bis zum 16. Juni Morgens 8 Uhr betrug die Ausscheidung 292,5 g = «Portion G».

Während Portion A noch gelb gefärbt war, waren die übrigen Portionen farblos. Sonst waren die allgemeinen Eigenschaften des Secrets bei allen Portionen die gleichen.

Es war dünnflüssig, wenig getrübt, bildete bei starkem Abkühlen eine geringe schleimige Ausscheidung, die nach dem Abfiltrieren und Auswaschen Eiweisreactionen gab. Es reagirte stark alkalisch, entwickelte bei Zusatz einer Säure reichlich Kohlensäure und enthielt etwas coagulables Eiweiss, aber keinen Traubenzucker und kein Mucin. Dagegen besass es starke tryptische und diastatische Wirkung.¹⁾ In den Portionen.

1) Um eine Vorstellung von dem Grade der diastatischen Wirkung zu haben, wurde noch jede Portion in folgender Weise geprüft. In einem grossen Becherglase wurde Wasser auf 37 bis 40° erhalten und

die auf emulgirende und fettspaltende Wirkung untersucht wurden, fanden sich auch diese.

Die specielle Untersuchung ergab ausserdem Folgendes: 1)

Portion A = 798 g.

Das Secret löste reichlich trockenes Fibrin; aus der enteiweissten Verdauungsprobe liessen sich in erheblicher Menge Leucin und Tyrosin gewinnen. Es bewirkte Emulsionirung und Spaltung von neutralem Olivenöl: die aus dem Gemisch isolirten Fettsäuren bildeten eine mit kleinen Schuppen durchsetzte fast weisse Masse von der Consistenz des Schweineschmalzes. 2)

Verhalten beim Erhitzen: 70 ccm, sehr schwach opalisirend, wurden mit Essigsäure neutralisirt und unter beständigem Umrühren mit einem Thermometer sehr langsam erwärmt. Bei 46° entstand schwache, bei 50—52° starke Opalescenz, bei 54° starke Trübung, bei 55° feinflockige Gerinnung; beim Innehalten dieser Temperatur ballten sich die Flocken zu grösseren zusammen. Die Flüssigkeit wurde durch ein dichtes Filter filtrirt (die abfiltrirten und ausgewaschenen Flocken erwiesen sich als Eiweiss) und das schwach opalisirende Filtrat (immer unter Umrühren) weiter erwärmt: bei 60° entstand eine feinflockige Ausscheidung; nachdem die Flüssigkeit einige

in dieses Reagensgläser mit 3 g Stärkekleister gestellt. Nach einiger Zeit wurde dem Stärkekleister ein Tropfen des frischen Secrets zugesetzt; nach einer Minute reducirte das Gemisch schon mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnte Fehling'sche Lösung. Bei den Controllversuchen mit Stärkekleister und vorher aufgekochtem Secret, sowie mit Stärkekleister und 1 Tropfen mit Soda alkalisirten Chloroformwassers trat keine Reduction der Fehling'schen Lösung ein. Bei Zusatz von einem oder mehreren Cubikcentimetern Secret zu etwa 10 g des erwärmten dicken Stärkekleisters trat fast momentan Verflüssigung und Zuckerbildung ein.

1) Alle Angaben beziehen sich auf dies filtrirte Secret.

2) Nach acht Wochen langem Aufbewahren im Eisschrank besass das Secret noch tryptische und diastatische Wirkung; eine drei Minuten lang bei 37° digerirte Mischung aus 3 g warmem Stärkekleister und 3 Tropfen Secret reducirte Fehling'sche Lösung. Auf fettspaltende Wirkung habe ich es dann nicht mehr untersucht.

Minuten auf dieser Temperatur erhalten war, wurde sie durch ein dichtes Filter filtrirt und das schwach opalisirende Filtrat weiter erwärmt. Bei 62° entstand geringe, bei 65° stärkere Trübung, bei 70° flockige Ausscheidung. Die Flüssigkeit wurde einige Minuten auf dieser Temperatur erhalten und dann durch ein dichtes Filter filtrirt. (Die abfiltrirten und ausgewaschenen Flocken erwiesen sich als Eiweiss.) Das klare Filtrat wurde wieder langsam erwärmt: bei 68° entstand schwache, bei 73° stärkere Trübung, die beim Innehalten dieser Temperatur innerhalb einiger Minuten in eine geringe, höchst feinflockige, beim Steigern der Temperatur auf 80° nicht zunehmende Ausscheidung überging. Die Flüssigkeit wurde filtrirt (die abfiltrirten und ausgewaschenen Flocken erwiesen sich als Eiweiss) und das völlig klare Filtrat erhitzt. Bei 80° entstand eine geringe Opalescenz, die bei 100° bestehen blieb. Die Reaction der Flüssigkeit war neutral. Nach dem Ansäuern mit Essigsäure und nochmaligem Aufkochen ging die Opalescenz in eine geringe, höchst feinflockige Trübung über. Das Verhalten des Secrets beim Erhitzen sprach dafür, dass es mehr als einen Eiweisskörper enthielt. Eine Bestätigung fand diese Annahme durch das Verhalten der Flüssigkeit gegenüber reinem neutralen Ammoniumsulfat. Wurde sie nämlich mit Essigsäure bis zu ganz schwach alkalischer Reaction abgesättigt und dann mit dem gleichen Volumén kaltgesättigter Ammoniumsulfatlösung versetzt, so entstand eine erhebliche, flockige Ausscheidung: die abfiltrirte und mit halbgesättigter Ammoniumsulfatlösung sorgfältig ausgewaschene Substanz gab nach dem Anreiben mit Wasser und Erhitzen eine Abscheidung von Eiweissflocken, die sich nach Zusatz von etwas Salpetersäure gelb färbten und beim nochmaligen Aufkochen an Menge nicht merklich abnahmen. Das mit Wasser verdünnte klare Filtrat gab beim Erhitzen eine erhebliche, flockige Ausscheidung, die sich nach Zusatz von Salpetersäure nicht merklich verminderte: dagegen trat Gelbfärbung der Flocken ein. Die Anwesenheit zweier Eiweisskörper vom Verhalten des Globulins und Albumins war somit erwiesen.

Das frische Secret enthielt ferner Albumosen, Pepton.

Tyrosin und Leucin (letztere beiden aber nur in sehr geringer Menge) und Spuren von Fettsäuren. In der Asche wurden Alkalicarbonat und -Chlorid in reichlicher Menge, Eisen, Calcium, Schwefelsäure und Phosphorsäure in geringer Menge nachgewiesen.

Die quantitative Analyse ergab folgende Zusammensetzung: ¹⁾

In 100 g Secret:

Wasser	98,7611 g ²⁾
Trockensubstanz	1,2389
Asche	0,8555
Stickstoff	0,0689
Cl	0,1710

Die Alkalesceuz. in Na_2CO_3 ausgedrückt. war = 0,5965^o s.

Das spec. Gew. war = 1,0108 (Wasser von 17^o = 1).

Portion B³⁾ = 983 g.

Betreffs der tryptischen und fettspaltenden Wirkung gilt das bei Portion A Angegebene.

Verhalten beim Erhitzen: 60 g Filtrat. sehr schwach opalisirend, wurden mit Essigsäure angesäuert und unter beständigem Umrühren mit einem Thermometer ganz langsam erwärmt. Bei 50^o entstand schwache, bei 55^o starke Trübung, allmählich flockige Ausscheidung. Als das Thermometer 57^o zeigte, wurde die Flüssigkeit durch ein dichtes Filter filtrirt und das sehr schwach opalisirende Filtrat wieder erwärmt. Es trübte sich bei 57—58^o: bei 60^o entstand flockige Ausscheidung, reichlicher als die bei 57^o erhaltene und abfiltrirte. Die Flüssigkeit wurde einige Minuten auf 60^o erhalten, filtrirt

1) Die analytischen Belege sind im letzten Abschnitt verzeichnet.

2) Bei Beurtheilung obiger Zahlen ist zu berücksichtigen, dass die quantitativen Bestimmungen bei dieser Portion erst nach längerem Stehen ausgeführt wurden. Da durch das Chloroform eine theilweise Ausfällung der Eiweisskörper eintritt: die Flüssigkeit vor der Verarbeitung aber filtrirt wurde, so musste der Gehalt an Trockensubstanz und Stickstoff etwas zu gering gefunden werden.

3) Diese Portion erhielt keinen Chloroformzusatz: die Flüssigkeit wurde in kleinen trockenen Flaschen gesammelt, diese auf Eis gestellt und ihr Inhalt nachher gemischt.

Eiweisses) wurden zur Prüfung auf Albumosen und Pepton einerseits, Leucin und Tyrosin andererseits verwandt. Unter Anwendung der Kühne'schen Trennungsmethode liessen sich sowohl Albumosen wie auch Pepton nachweisen. Ebenso gelang bei Anwendung der unter Analytische Methode beschriebenen Verfahrens (Ausfällen mit Phosphorwolframsäure etc.) der Nachweis einer sehr geringen Menge von Leucin und Tyrosin. Durch Extraction mit Aether¹⁾ einerseits bei schwach alkalischer, andererseits bei saurer Reaction liess sich eine Spur einer Substanz gewinnen, die eine sehr schwache Cholesterin-Reaction gab, und Spuren von Fettsäuren.

Die quantitative Analyse ergab folgende Zusammensetzung:

In 100 g Secret :	
Wasser	98,6536 g
Trockensubstanz	1,3464 "
Asche	0,8567
Stickstoff	0,0939 "
Coagulable Eiweissstoffe .	0,075 "

Das specifische Gewicht war = 1,0107 (Wasser von 17° = 1).

Portion D = 336 g.

Die tryptische und fettspaltende Wirkung zeigten folgende Versuche :

- a) 20 g einer Lösung von Witte-Pepton,²⁾ 7 g Secret und 0,25 g Chloroform wurden in einem gut verschlossenen Glase 24 Stunden bei 37° digerirt. Die Flüssigkeit enthielt dann eine reichliche Ausscheidung von Tyrosin in weissen Drusen: aus dem Filtrat wurde (durch Behandeln mit Phosphorwolframsäure u. s. w.) auch Leucin erhalten.
- b) 15 g derselben Witte-Peptonlösung, 0,03 g Natr. carb. sicc., 0,02 g Quecksilberchlorid (in 1 cem

1) Der angewandte Aether war von mir durch Destillation unter Vermeidung von Korkstopfen gereinigt; da sich zeigte, dass selbst der käufliche «reine» Aether, in grösserer Menge verdunstet, einen Anflug einer fettartigen Substanz hinterliess.

2) 22 g Witte-Pepton in heissem Wasser gelöst, aufgeköcht, nach dem Erkalten mit Salzsäure neutralisirt, mit 0,5 g Natr. carb. sicc. versetzt, auf 88 g verdünnt und im bedeckten Trichter filtrirt.

heissen Wassers gelöst¹⁾) und 5 g Secret wurden in einem gut verschlossenen Glase bei 37° digerirt. Nach 17 Stunden enthielt die Flüssigkeit eine geringe Menge makroskopischer, weisser Tyrosindrüsen; nach weiteren 2 Stunden war sie mit einer Unmenge von Tyrosindrüsen durchsetzt. In den Controllproben trat keine Ausscheidung von Tyrosin ein. Dieser Versuch beweist gleichzeitig, dass durch den Zusatz von 1^o 00 Quecksilberchlorid das tryptische Ferment nicht zerstört wurde.

2. 5 g neutrales Olivenöl, 40 g Secret und 0,45 g Chloroform wurden in einem gut verschlossenen Glase durchgeschüttelt und Abends in den Brutschrank (bei 37°) gestellt. Am nächsten Morgen wurde das Gemisch in üblicher Weise (s. unter „Analytische Methoden“) auf Fettsäuren untersucht. Es wurden 0,3920 g Fettsäuren (getrocknet) erhalten. Sie bildeten eine mit kleinen Schuppen durchsetzte fast weisse Masse von der Consistenz des Schweineschmalzes. Der Schmelzpunkt, nach 24-stündigem Liegen der Röhren in der Kälte bestimmt, war = 31°.

Bei Verarbeitung von 150 g Secret konnte ich unter Anwendung der schon mehrfach erwähnten Methode Tyrosin und Leucin, allerdings nur in winziger Menge, nachweisen. Ferner liessen sich in 50 ccm des Secrets secundäre Albumosen und Pepton nachweisen.

Portion E = 374,6 g.

Die tryptische Wirkung zeigten folgende Versuche:

1. 1 g trockenes Fibrin, 15 g Secret und 0,15 g Chloroform wurden in einem gut verschlossenen Glase 4 Stunden bei 37° digerirt und dann sofort enteiweisst. Die Flüssigkeit gab starke Biuretreaction: nach dem Eindampfen bildete sich sogleich eine höchst feine Ausscheidung und bei mikroskopischer Untersuchung eines Tröpfchens des Rückstandes fanden sich zahllose, sehr kleine Tyrosindrüsen.

1) Der beim Zusatz der Quecksilberchloridlösung entstehende Niederschlag löste sich beim Bewegen der Flüssigkeit sofort wieder.

2. 2,5 g trockenes Fibrin, 30 g Secret und 0,03 g Quecksilberchlorid (in 2 ccm heissen Wassers gelöst) wurden 19 Stunden in gut verschlossenem Glase bei 37° digerirt. Das Fibrin war dann zum grössten Theile gelöst; aus der enteissigten Flüssigkeit wurde Tyrosin isolirt. Dieser Versuch beweist gleichzeitig, dass durch den Zusatz von 1^o,₀₀ Quecksilberchlorid das tryptische Ferment nicht zerstört wurde.

3. 3,5 g einer 25^o iger, mit 0,6^o Natr. carb. sicc. versetzten klaren Lösung von Witte-Pepton, 1,6 g Secret und 0,05 g Chloroform wurden in einem gut verschlossenen Gläschen 18 Stunden bei 37° digerirt. Die Flüssigkeit enthielt dann einige makroskopische Tyrosindrüsen, nach weiterer 2 Stunden langer Digestion bei 37° enthielt sie eine reichliche Ausscheidung weisser Tyrosindrüsen, die sich beim Erkalten noch vermehrte.

4. 15 g derselben Witte-Peptonlösung, 0,02 g Quecksilberchlorid (in 1 ccm heissen Wassers gelöst) und 5 g Secret ergaben nach 19stündiger Digestion bei 37° eine ebenso reichliche Tyrosinausscheidung, wie im Versuch 1 b) bei Portion D erhalten wurde.

Der Gehalt des frischen Secrets an Tyrosin und Lencin war so gering, dass ich bei Verarbeitung von 40 ccm des Secrets diese Stoffe nicht nachweisen konnte.

Portion F = 137 g.

Die tryptische und fettspaltende Wirkung dieser Portion, die acht Tage später als Portion E entleert wurde, war von der der früheren Portionen anscheinend nicht verschieden: neutrales Olivenöl wurde gespalten und aus Witte-Pepton Tyrosin gebildet. (Aus 2 g 25^o iger Witte-Peptonlösung, 2 g Secret und 0,05 g Chloroform; ebenso aus 10 g derselben Witte-Peptonlösung, 3 g Secret und 0,15 g Chloroform wurde nach je 22stündiger Digestion bei 37° eine erhebliche Ausscheidung von Tyrosin erhalten.) Von dem auf das Zehnfache verdünnten Secret wurde reines Ovalbumin gelöst, wie folgender Versuch zeigt. Einige Gramme zweimal umkrystallisirten, coagulirten und mit heissem Wasser gut ausgewaschenen

Ovalbumins wurde mit 90 g Wasser aufgeschwemmt, mit 10 ccm des schon 2 Wochen lang im Eisschrank aufgehobenen Pancreassecrets, 0,2 g Natr. carb. sicc. und 1 g Chloroform versetzt und in verschlossener Flasche einige Tage bei 37° digerirt. Ein erheblicher Theil des Ovalbumins war dann noch ungelöst. Die Flüssigkeit wurde filtrirt und das Filtrat durch Aufkochen bei schwach essigsaurer Reaction und Filtriren von Eiweiss befreit. Das klare, gelbliche Filtrat gab mit wenig Kupfersulfat purpurrothe Biuretreaction. Nach dem Einengen auf 10 ccm gab die Flüssigkeit auf Zusatz des gleichen Volumens gesättigter Ammoniumsulfatlösung¹⁾ eine auch nach längerem Stehen nur mässige Trübung, das Filtrat hiervon bei ² 3-Sättigung mit Ammoniumsulfat eine starke Trübung. In der nach längerem Stehen filtrirten Flüssigkeit entstand bei Sättigung mit Ammoniumsulfat bei gewöhnlicher Temperatur eine erhebliche flockige Ausscheidung: nach einigem Stehen setzten sich zähe bräunliche Massen an die Wand des Gefässes an, die, durch Waschen mit gesättigter Ammoniumsulfatlösung, Auflösen und nochmaliges Ausfällen gereinigt, Albumosereaction gaben. Die filtrirte Flüssigkeit wurde etwas verdünnt und nach dem Verfahren Kühne's vollständig von Albumosen befreit. Sie gab dann schön rothe Biuretreaction, ferner mit ammoniumsulfatgesättigter Jodjodkaliumlösung einen starken Niederschlag. Die verdaute und enteweisste Flüssigkeit enthielt also neben echtem Pepton nur eine durch Ganzsättigung mit Ammoniumsulfat fällbare Albumose in reichlicher Menge. Die in den benutzten 10 ccm Pancreassecret enthaltene geringe Menge von Albumosen kommt hierbei nicht in Betracht.

Bei der Verarbeitung von 200 g des frischen Secrets in der schon früher beschriebenen Weise wurde eine sehr geringe Menge von Tyrosin und Leucin gefunden. Ferner wurden Globulin, Albumin, Albumosen und Pepton nachgewiesen.

Portion G = 292,5 g.

Betreffs der tryptischen Wirkung gilt das bei Portion F

¹ Cfr. Pick, Untersuchungen über die Proteinstoffe, II. Ein neues Verfahren zur Trennung von Albumosen und Peptonen. Diese Zeitschr. Bd. XXIV, S. 246 u. f.

Gesagte. — Ich habe diese Portion des Secrets auch auf milchcoagulirende und zuckerzerstörende Wirkung untersucht; leider war ich nicht in der Lage, die Versuche mit dem ganz frischen Secrete auszuführen, sondern konnte sie erst vornehmen, als das Secret schon 2 Tage im Eisschrank gestanden hatte.

1. Prüfung auf milchcoagulirende Wirkung:

Frische Kuhmilch wurde in gut verschliessbaren Gläsern mit kleinern und grössern Mengen (bis zu 20^o.) Secret gemischt, das Gemisch mit 1^o.) Chloroform versetzt und bei 37° digerirt. Zur Controlle wurden Mischungen aus Milch, mit 0,5^o.) Natrium carbonicum siccum alkalisirtem Wasser und Chloroform, ferner aus Milch mit 1^o.) Chloroform ohne Zusatz alkalisirten Wassers gleichzeitig in den Brutofen gestellt. Eine typische Coagulation innerhalb kurzer Zeit habe ich dabei nicht beobachtet. Es trat zwar in einigen der Mischungen aus Milch und dem Pancreassecret im Laufe eines halben Tages eine Coagulation ein (am Boden des Glases haftete ein fester zäher Eiweissklumpen), doch zeigte sich, dass diese Proben dann theilweise schwach sauer reagirten. Jedenfalls war das Ergebniss nicht eindeutig, sodass ich die Anwesenheit eines milchcoagulirenden Fermentes im vorliegenden Pancreassecrete nicht für erwiesen halte.

2. Prüfung auf zuckerzerstörende Wirkung:

a) Das mit Chloroform gesättigte Secret wurde mit 1^o.) Traubenzucker versetzt und im Gährungs-röhrchen bei 37° digerirt. Weder nach 10, noch nach 24 noch nach 48 Stunden wurde Gasentwicklung beobachtet:

b) 2 g Traubenzucker wurden in 100 cem Wasser gelöst. In zwei gewöhnlichen enghalsigen 30 g-Gläsern wurden gemischt:

α) 20 cem obiger Traubenzuckerlösung, 5 cem. des Pancreassecrets und 0,15 g Chloroform;

β) 20 cem obiger Traubenzuckerlösung, 5 cem des zuvor aufgekochten und erkalteten Pancreassecrets und 0,15 g Chloroform.

Beide Proben wurden gut verschlossen in den Brutschrank bei 37° gestellt und nach 23 Stunden herausgenommen. Jede Probe wurde sogleich in ein 50 g-Glas umgegossen, mit Wasser nachgespült, auf 40 g aufgefüllt und darin in folgender Weise unter sorgfältigem Innehalten gleicher Versuchsbedingungen nach Allihn¹⁾ der Zuckergehalt bestimmt:

30 ccm Allihn'sche Lösung I + 30 ccm Lösung II wurden in einer Porzellanhenkelschale zum Sieden erhitzt, 20 ccm der zu prüfenden Flüssigkeit zugesetzt, nochmals aufgeköcht und sofort durch ein bereitgehaltenes Asbestfilter unter Benutzung der Wasserstrahlluftpumpe filtrirt²⁾ und sorgfältig ausgewaschen. Das Filter liess keine Spur Kupferoxydul hindurch. Das Asbestfilter wurde in eine Klemme eingespannt, ein Becherglas darunter gestellt und 10 ccm siedender Salpetersäure allmählich in das Asbestfilter gegossen. Um hierbei jeglichen Verlust durch Herausspritzen zu vermeiden, wurde dabei ein Platindeckel über das Filtrirrohr gehalten und der Deckel nachher abgespritzt. Nachdem der Filterinhalt ganz von der Säure durchdrungen war, wurde er mit einem dicken Platindraht aufgelockert, nochmals mit 10 ccm siedender verdünnter Salpetersäure übergossen und nach dem Abfließen der Lösung unter häufigem Auflockern mit einem Platindraht mit heissem Wasser völlig ausgewaschen. Die Flüssigkeit wurde durch ein kleines aschefreies Filter filtrirt, das Filter ausgewaschen und das gesammte Filtrat, dessen Menge etwa 230 ccm betrug, in einer Platinschale auf etwa 180 ccm eingedampft und darin bei aufgelegtem Uhrglase unter Anwendung eines Stromes von etwa 2,7 Volt Spannung mit 0,5 Ampère 20 Stunden lang bei 20—30° elektrolysiert.³⁾

Das Kupfer war dann quantitativ ausgefällt. Die Schale

1) Cfr. E. Schmidt, Lehrbuch der Pharmac. Chemie. II. Organ. Chemie.

2) Ich verwende zu diesen Bestimmungen seit längerer Zeit mit bestem Erfolge die Lohse'schen Filtrirröhren mit siebartig durchlöcherter Boden.

3) Betreffs Ausführung der Elektrolyse siehe auch Classen, Analyse durch Elektrolyse.

wurde ohne Stromunterbrechung ausgewaschen, mit Alkohol ausgespült, bei 70–80° getrocknet und nach völligem Erkalten gewogen, nochmals getrocknet und nochmals gewogen. Es wurden erhalten aus:

20 ccm der Probe mit nicht aufgekochtem Secret 0,3957 g Cu, entsprechend 0,2106 g Dextrose;

20 ccm der Probe mit zuvor aufgekochtem Secret 0,3891 g Cu, entsprechend 0,2007 g Dextrose.

Eine Abnahme des Zuckergehalts unter der Einwirkung des Pancreassecrets ist also nicht eingetreten. Das vorliegende Pancreassecret besass demnach keine traubenzuckerzerstörende Wirkung.

Die quantitative Analyse des Secrets ergab folgende Zusammensetzung:

In 100 g Secret:

Wasser	98,4734 g
Trockensubstanz	1,5266 „
Asche	0,8486 „
Stickstoff	0,0685 „
In Alkohol lösliche organische Stoffe	0,5738 „
„ „ „ Asche	0,8446 „
„ „ unlösliche organische Stoffe	0,1042 „
„ „ „ Asche	0,0040 „
Cl	0,1594 „

Die Alkalescenzenz, in Na_2CO_3 ausgedrückt, war = 0,607 %.

Das spec. Gewicht war = 1,0096 (Wasser von 17° = 1).

Um die quantitative Zusammensetzung der einzelnen Portionen des Secrets leichter vergleichen zu können, habe ich die betreffenden Zahlen in folgender Tabelle I zusammengestellt. Sie beziehen sich auf 100 g des filtrirten Secrets. Bei der Beurtheilung der Zahlen ist zu berücksichtigen, dass die Portionen A, C, G mit Chloroform gesättigt waren. Dadurch ist eine geringe Aenderung der ursprünglichen Zusammensetzung des Secrets bedingt. Besonders werden davon die Eiweissstoffe betroffen, die leicht eine theilweise Ausfällung durch Chloroform erleiden. Die durch den Chloroformgehalt bewirkte Verdünnung des Secrets ist eine unbedeutende, da 100 g Wasser bei 17,5° nur 0,712 g Chloroform lösen. (E. Schmidt, Lehrbuch der Pharm. Chemie, 1896. II. S. 142.) — Portion B dagegen hat keinen Chloroformzusatz erhalten.

Tabelle I.

	Spec. Gewicht (Wasser von 17° = 1)	Wasser- richtiger bei 120° flüchtige Stoffe	Trocken- substanz (bei 120° nicht flüchtige Stoffe)	Asche	Stickstoff	Coagula
						Eiw. Stoffe
Portion A	1.0108	98.7611	1.2389	0.8555	0.0689	—
Portion B	1.0098	98.4551	1.5449	0.8547	0.0804	0.099
Portion C	1.0107	98.6536	1.3464	0.8567	0.0939	0.075
Portion G	1.0096	98.4734	1.5266	0.8486	0.0685	—

Es finden sich nur geringe Abweichungen bei den verschiedenen Portionen. Die Uebereinstimmung im Gehalt an Asche ist eine nahezu vollständige; ebenso unterliegt die Alkaleszenz nur minimalen Schwankungen. Füge ich noch hinzu, dass die fermentativen Wirkungen, wenigstens die tryptische und diastatische¹⁾ (soweit der bei den zahlreichen von mir angestellten Verdauungsversuchen beobachtete Verlauf eine Beurtheilung ermöglicht) bei den verschiedenen Portionen des Secrets annähernd gleich war, so erscheint die Annahme gerechtfertigt, dass 15 Tage lang ein Secret von nahezu gleicher Beschaffenheit entleert wurde. (Portion A wurde am 11. und 12., Portion G am 26. Tage nach der Operation der Pancreascyste entleert.) Leider war es mir nicht möglich, zu untersuchen, ob die zu verschiedenen Tageszeiten entleerten Portionen des Secrets nach Menge und Beschaffenheit verschieden waren. Ich behalte mir vor, diese Frage zu prüfen, sobald ich wieder in den Besitz des erforderlichen Materials gelange.

In der nachstehenden Tabelle II habe ich die von früheren Untersuchern bei der Analyse des Pancreassecrets erhaltenen Zahlen mit denen zusammengestellt, die ich bei der Analyse der Portion B erhielt.

¹⁾ Ob die fettspaltende Kraft der verschiedenen Portionen gleich stark war, kann ich nicht sagen, da ich die Proben auf fettspaltendes Ferment in geringerer Zahl ausgeführt habe.

Tabelle I.

In Alkohol von etwa 79 Vol.-Proc.				Cl	K	Na	Durch directe Titration bestimmt Alkaleszenz ausgedrückt in Na CO ₃
lösliche		unlösliche					
organische Stoffe	Asche	organische Stoffe	Asche				
—	—	—	—	0.1710	—	—	0.5965
0.5611	0.8494	0.1291	0.0053	0.1801	0.0249	0.3301	0.6029
—	—	—	—	—	—	—	—
0.5738	0.8446	0.1042	0.0040	0.1594	—	—	0.6070

Tabelle II.
100 Theile Secret enthalten:

	Wasser	Trocken- substanz	Asche	In Alkohol			
				lösliche		unlösliche	
				orga- nische Stoffe	Asche	orga- nische Stoffe	Asche
Durch Stauung im Ductus Wirsungianus angesam- meltes Secret, der Leiche entnommen (Herter) .	97.59	2.41	0.62	0.64	0.51	1.15	0.11
Fistelsecret, nach Operation eines Pancreastumors entleert (Zawadsky) .	86.405	13.595	0.344	0.827	—	—	—
Fistelsecret, nach Operation einer Pancreascyste ent- leert (Kulenkampff) .	97.969	2.031	0.809	0.857	—	0.365	—
Fistelsecret, nach Operation einer Pancreascyste ent- leert (Schumm)	98.4734	1.5266	0.8486	0.5611	0.8494	0.1291	0.0053

Eine ähnliche Zusammensetzung wie das vorliegende hatte das Secret demnach nur in dem Falle Kulenkampff's.

Die von Herter und Zawadsky untersuchten Secrete enthielten bedeutend weniger Asche; dagegen war der Gehalt an organischer Substanz bei dem Falle Zawadsky's viel

grösser, als bei den übrigen. Herter erwähnt ferner, dass in seinem Falle die Asche reich an phosphorsaurem Alkali war. Das von mir untersuchte Secret enthielt nur wenig Phosphorsäure: Alkaliphosphat konnte ich in der Asche von 30 cem Secret überhaupt nicht nachweisen, sondern nur Spuren von Calciumphosphat.

Von C. Schmidt¹⁾ sind genaue Analysen des Secrets temporärer und permanenter Pancreasfisteln vom Hunde ausgeführt worden. Ich führe in der nachstehenden Tabelle III die von ihm bei derartigen Secreten ermittelte Zusammensetzung neben der von mir für die Portion B des vorliegenden Secretes gefundenen an:

Tabelle III.

100 Theile Pancreassecret enthalten:

		Wasser	Feste Stoffe	Organische Substanz	Asche
Secret aus temporären Fisteln vom Hunde	a:	90,08	9,92	9,04	0,88
	b:	88,44	11,56	—	—
Secret aus permanenten Fisteln vom Hunde	a:	97,68	2,32	1,64	0,68
	b:	97,99	2,01	1,24	0,75
	c:	98,46	1,54	0,92	0,61
Secret aus der menschlichen Pancreasfistel		98,4551	1,5449	0,6902	0,8547

Das Secret aus der menschlichen Pancreasfistel hat demnach denselben Gehalt an Trockensubstanz, wie das in vorstehender Tabelle mit «c» bezeichnete Secret aus einer permanenten Fistel vom Hunde, unterscheidet sich dagegen von ihm durch seinen grösseren Gehalt an Asche. Von dem Secret aus einer temporären Fistel vom Hunde unterscheidet es sich durch seinen geringen Gehalt an Trockensubstanz.

Bei drei Analysen des Secrets aus permanenten Fisteln vom Hunde fand C. Schmidt im Mittel:

¹⁾ cit. nach Maly, Chemie der Verdauungssäfte, in Hermann's Handbuch, Bd. V.

0,331% Natron, 0,25% Chlornatrium, 0,001% phosphorsaures Natrium und 0,093% Chlorkalium. Ich habe daraus die Werthe für K, Na und Cl berechnet und in der folgenden Tabelle IV mit den von mir bei Untersuchung der Portion B erhaltenen zusammengestellt.

Tabelle IV.

100 Theile Pancreassecret enthalten:

	Na	K	Cl
Mittel aus 3 Analysen des Secrets permanenter Fisteln vom Hunde . . .	0,344	0,049	0,196
Analyse des Secrets einer menschlichen Pancreasfistel	0,3301	0,0249	0,1801

Während demnach der Gehalt an Na und Cl bei den beiden Secreten annähernd gleich ist, zeigt sich im Gehalt an K ein bedeutender Unterschied. Das menschliche Secret enthält nur etwa halb soviel wie das vom Hunde.

V. Nachweis des tryptischen Fermentes in pancreatischen Secreten.

In ihrer bekannten Arbeit über die nächsten Spaltungsproducte der Eiweisskörper erwähnen Kühne und Chittenden,¹⁾ dass eine unter Zusatz von 0,5% Soda hergestellte Lösung von Antialbumid zu einer Gallerte erstarrte, als sie zwei Stunden lang mit einer durch Dialyse gereinigten sehr wirksamen Trypsinlösung auf 37° erwärmt wurde. Diese Erscheinung blieb aus, wenn die Trypsinlösung vorher aufgeköcht wurde.

Im Jahre 1895 berichtete Okunew²⁾ über eine Entdeckung Danilewsky's: «Die Auffindung desjenigen chemischen Agens, das den Uebergang der Peptone in Eiweiss bewirkt. Dieses Agens ist ein zweites Ferment des Magensaftes, ein sogenanntes Chymosin oder Labferment. Okunew berichtet,

1) Zeitschr. f. Biologie, Bd. 19, S. 167 u. 168. 1883.

2) cit. nach Sawjalow, Zur Theorie der Eiweissverdauung. Pflüger's Archiv für die ges. Physiologie, Bd. 85, S. 171 u. 172. 1901.

dass eine vollständig klare Peptonlösung, mit einem wässerigen Auszug des Labmagens in etwas anderem Verhältniss, als dieses zur Gerinnung der Milch gebraucht wurde, gemischt und bis 40° erwärmt, sich bei dieser Temperatur langsam zu trüben beginnt und nach einiger Zeit Flöckchen gibt, die sich in ganzen Wolken ansammeln und am Boden des Reagensglases absetzen; dass sich schon nach 24 Stunden der ganze flockige Niederschlag soweit verdichtet, dass man das Reagensglas umstülpen kann, ohne einen Tropfen der Masse zu verlieren u. s. w. Sawjalow¹⁾ hat den dabei ausgeschiedenen Stoff genauer studirt und ihm grosse Bedeutung für die gewebebildenden Functionen des Organismus zugesprochen.²⁾ Er nennt ihn Plastein.

Schon vor Jahresfrist habe ich die Versuche Sawjalow's wiederholt, in der Absicht, das Plastein durch das Studium seiner Spaltungsproducte noch genauer zu charakterisiren. Diese Versuche sind indes noch nicht durchgeführt, da die Beschaffung der erforderlichen Mengen reiner Eiweisskörper sehr zeitraubend ist. Das Gleiche gilt für die Darstellung des Plastein aus den verschiedenen reinen Albumosen.

Ich habe nun, im Anschluss an diese Versuche, geprüft, ob etwa bei der Einwirkung von Pancreassecret auf concentrirte, klare, schwach alkalische Lösungen von Witte-Pepton eine ähnliche, mit Gallertbildung einhergehende Ausscheidung eintritt. In der That konnte ich eine Gallertbildung beobachten: da die Versuche in gut verschlossenen Gefässen ausgeführt wurden, war der Einfluss der Verdunstung ausgeschaltet. Die Gallertbildung war zwar schwächer, aber ebenso typisch, wie man sie bei der Einwirkung künstlichen Magensaftes auf Lösungen von Witte-Pepton erhält. Die Gallerte war wiederholt so consistent, dass ich die sie enthaltenden Reagensgläser stundenlang umgekehrt stehen lassen konnte, ohne dass grössere Stücke der Gallerte herabglitten. Leider habe ich, da das Pancreassecret aufgebraucht war, nicht entscheiden können, in welchem Maasse die Gallertbildung mit auf die Anwesenheit

1) l. c.

2) l. c. S. 222.

des zur Verhütung der Fäulniss zugesetzten Chloroforms zurückzuführen ist. Ich konnte nämlich in Controllversuchen feststellen, dass eine concentrirte klare Lösung von Witte-Pepton und ebenso eine concentrirte, eiweissfreie Lösung von Producten der peptischen Verdauung globulinfreien Albumins nach Zusatz von 2% Chloroform bei längerem Verweilen im Brutschrank starke Trübung und eine Andeutung von Gallertbildung zeigt. (Das benutzte Gefäss war dicht verschlossen.)

Gelegentlich der besprochenen Versuche wurde ich nun darauf aufmerksam, dass eine solche concentrirte Lösung von Witte-Pepton in vielen Fällen ein sehr geeignetes Material zum Nachweis sowohl wie zur Demonstration der tryptischen Wirkung pancreatischer Secrete darstellt. Bekanntlich bedient man sich dazu gewöhnlich des frisch gewonnenen Fibrins. Dieses an sich sehr geeignete Material ist aber nicht immer zur Hand. Zudem ist es bei Verwendung von Fibrin für den wenig Geübten nicht so leicht, eine schwache tryptische Wirkung exact nachzuweisen, wie bei Anwendung einer concentrirten Lösung von Witte-Pepton, die wohlfeil und leicht erhältlich ist.

Der Nachweis der tryptischen Wirkung bei der von mir angewandten Versuchsanordnung gründet sich auf die Bildung von Tyrosin aus Witte-Pepton. Die Bildung dieser Amidosäure bei der fermentativen, bei alkalischer Reaction verlaufenden Eiweisspaltung gilt bekanntlich seit langem als Beweis für das Vorhandensein tryptischen Fermentes. Dass das Tyrosin bei der Spaltung albumosefreien Amphopeptons entsteht, haben Kühne und Chittenden¹⁾ gezeigt. Sie digerirten 1 g Pepton mit 10 ccm Sodalösung von 0,25% und etwas Trypsin unter Zusatz von Thymol 4 Stunden lang und konnten durch Adampfen der neutralisirten Lösung und Auskochen des Rückstandes mit Alkohol einen Brei erhalten, in dem mikroskopisch Tyrosin und Leucin zu entdecken war. — In reichlicher Menge erhielt neuerdings Pick²⁾ das Tyrosin bei der

1) Cfr. Zeitschr. f. Biologie, Bd. 22, S. 455, 1886.

2) Pick. Zur Kenntniss der peptischen Spaltungsproducte des Fibrins. I. Theil. Diese Zeitschr., Bd. XXVIII, S. 275 u. f.

tryptischen Spaltung der nach seiner Methode dargestellten Protoalbumose.¹⁾

Ich habe nun versucht, die für den angegebenen Zweck geeignetste Concentration einer Witte-Peptonlösung zu ermitteln, und gefunden, dass man am leichtesten bei Anwendung einer 25- bis 33%igen Lösung von Witte-Pepton eine Ausscheidung von Tyrosin erhält. Die Lösung darf nicht zu stark alkalisch sein, um nicht die Ausscheidung geringer Mengen von Tyrosin zu erschweren. Bei der Untersuchung stark tryptisch wirkender Flüssigkeiten ist die Menge des gebildeten Tyrosins freilich so gross, dass es sich selbst bei einem Gehalt der Witte-Peptonlösung von 0,5% Natr. carb. sicc. noch leicht ausscheidet.

Zu meinen Versuchen diente das im Vorhergehenden beschriebene Pancreassecret. Digerirte ich eine 25—33%ige, schwach mit Soda alkalisirte, filtrirte Lösung von Witte-Pepton mit seinem halben bis ganzen Volumen des frischen Pancreassecretes unter Zusatz von 1% Chloroform²⁾ in einer verschlossenen Flasche etwa 24 Stunden bei 37°, so enthielt die Flüssigkeit schon vor Ablauf dieser Zeit regelmässig eine reichliche Ausscheidung von Tyrosindrüsen. Makroskopisch bildeten sie meist etwas abgeflachte, rein weisse Kugeln oder Doppelkugeln von etwa 0,5 bis 1 mm Durchmesser. Mikroskopisch bildeten sie garben-, stern- oder büschelförmige Aggregate der bekannten feinen Nadeln. Sie liessen sich durch Filtriren der vorher mit Wasser verdünnten Flüssigkeit und Auswaschen auf dem Filter leicht isoliren und zur Anstellung der Piria'schen und Hoffmann'schen Probe verwenden. (Aus dem Filtrat wurde wiederholt Leucin dargestellt.) Ich habe anfänglich zur Verhütung der Fäulniss 1‰ Quecksilberchlorid zugesetzt; da sich aber diese Proben leicht dunkel färbten und andererseits ein Zusatz von Chloroform den Zweck

¹⁾ Dieser Körper würde vermuthlich noch ein besseres, weil einheitliches, Material zum Nachweis des tryptischen Fermentes darstellen, als das Witte-Pepton, ist aber weniger leicht zugänglich.

²⁾ Cfr. Salkowski, Deutsche med. Wochenschrift 1888, Nr. 16.

bequemer und besser¹⁾ erreichen lässt, so ist bei den späteren Proben stets Chloroform angewandt.

Mischungen aus concentrirter Witte-Peptonlösung mit sehr wenig oder sehr viel Pancreassecret, ferner aus schwächerer Witte-Peptonlösung und gleichviel Pancreassecret oder endlich solche aus concentrirter Witte-Peptonlösung und verdünntem Pancreassecret gaben erst nach längerem Digeriren eine Ausscheidung von Tyrosin. Bisweilen ist es sogar erforderlich, solche Proben, eventuell nach vorheriger Neutralisation mit Essigsäure, zum Syrup einzudampfen. Selbst wenn sehr verdünntes Pancreassecret angewandt wurde, findet man dann nach einigem Stehen im Rückstande bei mikroskopischer Untersuchung Tyrosin. Selbstverständlich kann man in solchen Fällen auch in der bekannten umständlicheren Weise durch Behandeln mit Phosphorwolframsäure u. s. w. die Isolirung winziger Mengen von Tyrosin bewerkstelligen; ich habe das auch mehrfach gethan. Man kommt aber mit dem einfachen Eindampfen und Stehenlassen auch aus.

Unter Berücksichtigung neuerer Ergebnisse der wissenschaftlichen Forschung²⁾ kann man den positiven Ausfall obiger Probe natürlich nur dann als Beweis für die Anwesenheit des tryptischen **Pancreasfermentes** ansehen, wenn man sicher ist, dass in dem zu prüfenden Material nicht ein tryptisches Ferment anderer Herkunft enthalten ist. Das Gleiche gilt indes auch für die Anwendung des Fibrins, denn die neuesten Versuche³⁾ von Kutscher und Seemann lehren, dass auch das Dünndarmsecret nicht nur auf Albumosen, resp. Pepton, sondern ebenfalls auf Fibrin spaltend wirkte. Ich empfehle daher folgende Versuchsanordnung:

1) Trotz eines Zusatzes von 1^o/₁₀₀ Quecksilberchlorid trat in diesen Proben nach mehrwöchentlichem Stehen im Zimmer Schimmelbildung ein, während keine Spur Fäulnissgeruch bemerkbar war. Die Flüssigkeit war, vermuthlich in Folge von Reduction des Quecksilberchlorids, ganz schwarz geworden.

2) Siehe die Arbeiten von Cohnheim über das «Erepsin», von Kutscher und Seemann über die Verdauungsvorgänge im Dünndarm. (Diese Zeitschr.)

3) Diese Zeitschr., Bd. XXXV. S. 342 u. f.

In starkwandigen Reagensgläsern oder anderen gut verschliessbaren Gläsern setzt man an:

a) Etwa gleiche Mengen einer 25- bis 33%igen, mit Soda ganz schwach alkalisirten klaren Lösung von Witte-Pepton und der zu prüfenden filtrirten Flüssigkeit unter Zusatz von 1% Chloroform.

b) Als Controllprobe etwa die gleichen Mengen der unter a) bezeichneten Witte-Peptonlösung und ebensoviel von der zu prüfenden vorher aufgekochten Flüssigkeit nebst 1% Chloroform. An Stelle dieser Probe kann man, um Material zu sparen, auch eine Mischung aus obiger Witte-Peptonlösung und gleichviel Wasser unter Zusatz von 1% Chloroform ansetzen.

c) Eine kleine Menge reinen trockenen Fibrins mit der zu prüfenden Flüssigkeit und 1% Chloroform.

d) Dieselbe Menge trockenen Fibrins und der zu prüfenden vorher aufgekochten Flüssigkeit.

e) Dieselbe Menge trockenen Fibrins und soviel Wasser, wie bei c) und d) von der zu prüfenden Flüssigkeit genommen wurde, nebst 1% Chloroform.

Sämmtliche Proben lässt man etwa 24 bis 48 Stunden bei 37° im Brutschrank stehen. Besitzt die zu prüfende Flüssigkeit kräftige tryptische Wirkung, so findet innerhalb 24 Stunden in Probe a) eine reichliche Ausscheidung von Tyrosin statt; bei schwach tryptisch wirkenden Secreten erfolgt erst später und in geringerer Menge Ausscheidung von Tyrosin. In letzterem Falle lässt man die Probe zunächst erkalten. Lassen sich jetzt (eventuell mit Hülfe des Mikroskops) keine Tyrosindrüsen auffinden, so dampft man die Probe auf dem Wasserbade zum dünnen Syrup ein und lässt erkalten. (In gleicher Weise behandelt man die Controllprobe (b).) Findet man darin auch nach längerem Stehen mit Hülfe des Mikroskops keine Tyrosinkristalle, so kann die tryptische Wirkung der zu prüfenden Flüssigkeit nur eine sehr schwache sein. Man versucht dann, durch gleichmässige Ausföhrung der Biuretprobe in den enteweissten Proben (c), (d) und (e) die etwaige Anwesenheit tryptischen Fermentes festzustellen.

Zur Erläuterung vorstehender Angaben führe ich von meinen zahlreichen Versuchen einige an:

I. 13 g einer filtrirten 25%igen, mit 0,5% Natr. carb. sicc. versetzten Lösung von Witte-Pepton, 4,80 g filtrirtes Pancreassecret (etwa 24 Stunden auf Eis aufbewahrt) und 0,15 g Chloroform wurden in einem mit Glasstöpsel verschlossenen 30 g-Glase am 8. VI. 02 1¹/₂ Uhr Nachmittags in den Brutofen gestellt: am 9. VI. 02 Morgens 8 Uhr ist die Flüssigkeit etwas getrübt und um 1 Uhr enthält sie zahllose weisse Partikel: ein Tropfen der Flüssigkeit zeigte bei mikroskopischer Betrachtung die bekannten Formen des Tyrosins. Die Flüssigkeit wurde nach mehrtägigem Stehen im Zimmer filtrirt, der aus Tyrosin bestehende Rückstand mit kaltem Wasser ausgewaschen, in einen gewogenen Platintiegel hineingespült und der Tiegel nach dem Verdampfen des Wassers im Wasserbade und dem Trocknen bei 120° gewogen. Das rein weisse Tyrosin wog 0,1054 g. Da die Flüssigkeit 3,25 g Witte-Pepton enthalten hatte, betrug die Menge des ausgeschiedenen rohen Tyrosins 3,24% vom angewandten Witte-Pepton. Eine geringe Menge Tyrosin war aber jedenfalls noch in dem alkalisch reagirenden Filtrate in Lösung geblieben.

II. 5 g einer 33%igen Witte-Peptonlösung, 5 g Pancreassecret und 5 Tropfen Chloroform wurden in einem gut verschlossenen Glase 21¹/₂ Stunden bei 37° digerirt. Die Flüssigkeit enthielt dann viele makroskopisch als Doppelkugeln erscheinende weisse Tyrosindrüsen. Im Controllversuch mit vorher aufgekochtem Secret wurde kein Tyrosin erhalten.

III. a) 7,5 g einer ebensolchen Witte-Peptonlösung und 2,5 g filtrirtes Pancreassecret;

b) 5,0 g einer ebensolchen Witte-Peptonlösung und 5,0 g filtrirtes Pancreassecret:

c) 2,5 g einer ebensolchen Witte-Peptonlösung und 7,5 g filtrirtes Pancreassecret:

d) 1,0 g einer ebensolchen Witte-Peptonlösung und 9,0 g filtrirtes Pancreassecret

werden in 4 gleichen Reagensgläsern je mit 0,01 g Quecksilberchlorid (in 1 ccm heissen Wassers gelöst) versetzt und verschlossen am 10. VI. um 10¹/₄ Uhr Morgens in den Brutschrank gestellt. Am 11. VI. Morgens 9 Uhr haben sich in den Proben a) und b) grosse Tyrosindrüsen gebildet, während in c) erst nach 2tägigem Stehen im Zimmer eine Ausscheidung kleiner Tyrosindrüsen eintrat und in d) überhaupt kein Tyrosin ausgeschieden wurde. Dieser Versuch wurde unter Ersatz des Quecksilberchlorids durch Chloroform mit dem gleichen Resultat wiederholt.

IV. a) 5,0 g Witte-Pepton, in 42 g Wasser gelöst,¹⁾ mit 4,0 g filtrirtem Pancreassecret und 0,4 g Chloroform versetzt:

b) 10,0 g Witte-Pepton in 37 g Wasser gelöst, mit 3,95 g desselben Pancreassecrets und 0,4 g Chloroform versetzt.

Beide Proben wurden in mit Glasstöpsel gut verschlossenen 50 g-Gläsern in den Brutschrank gestellt. Nach 3 Tagen enthielt die Probe b) zwei und nach weiteren 2 Tagen eine grosse Anzahl kleinerer und grösserer (bis 2 mm Durchmesser) weisser Tyrosindrüsen. Nach mehrstündigem Stehen bei Zimmer-temperatur vermehrte sich die Tyrosinausscheidung noch erheblich. Dagegen hatte sich in der Probe a) nach acht-tägigem Stehen im Brutschrank noch kein Tyrosin ausgeschieden. Als Probe a) dann eingedampft wurde, schied sich nach dem Erkalten eine erhebliche Menge von Tyrosin aus. Im Controllversuch mit vorher aufgekochtem Pancreassecret wurde keine Spur Tyrosin nachgewiesen.

V. 2 ccm einer 33^o igen Witte-Peptonlösung, 2 Tropfen Pancreassecret, 0,02 g Natr. carb. sicc., 2 Tropfen Chloroform und 3 ccm Wasser wurden im gut verschlossenen Reagensglas 19 Stunden bei 37^o digerirt. Einige Tropfen der Flüssigkeit wurden auf einem Objectträger im Brutschrank eingedunstet und enthielten dann in grosser Zahl mikroskopische Tyrosingarben.

1) Die wässrige Lösung des Witte-Peptons reagirte alkalisch.

2) Das Secret hatte schon 3 Wochen im Eisschrank gestanden und eine merkliche Abnahme der tryptischen Wirkung erlitten.

Der Rest der Flüssigkeit blieb in verschlossenem Reagensglase noch einige Tage bei gewöhnlicher Temperatur stehen und enthielt dann in grosser Zahl makroskopisch als kleine weisse Partikel erscheinende Tyrosindrüsen. Im Controllversuche mit vorher aufgekochtem Pancreassecret wurde keine Spur Tyrosin erhalten.

VI. 10 Tropfen einer 33%igen Witte-Peptonlösung, 3 Tropfen Pancreassecret, 2 Tropfen Chloroform, 0,02 g Natr. carb. sicc., 4,5 ccm Wasser wurden im gut verschlossenen Reagensglas 19 Stunden bei 37° digerirt und dann sogleich in einem Uhrglase auf dem Wasserbad zum Syrup eingedampft.

Nach etwa 1stündigem Stehen bei Zimmertemperatur enthielt der Rückstand einen sehr feinen krystallinischen Niederschlag, in dem sich mit Hülfe des Mikroskops feine Tyrosin-gerben in grosser Zahl erkennen liessen. Im Controllversuch mit vorher aufgekochtem Secret wurde keine Spur Tyrosin erhalten.

VII. 1 ccm einer 33%igen Witte-Peptonlösung, 4 Tropfen Pancreassecret, 2 Tropfen Chloroform, 0,02 g Nat. carb. sicc. und 4 ccm Wasser wurden in einem gut verschlossenen Reagensglase 19 Stunden bei 37° digerirt und dann 2 Tage bei gewöhnlicher Temperatur verschlossen im Zimmer stehen gelassen.

Die Flüssigkeit enthielt dann Tyrosindrüsen in grosser Zahl. Im Controllversuch mit vorher aufgekochtem Pancreassecret wurde kein Tyrosin erhalten.

VIII. Ein Tropfen einer 33%igen Witte-Peptonlösung, ein Tropfen Pancreassecret und eine Spur Chloroform wurden in einem hohlgeschliffenen Objectträger gemischt, etwa die Hälfte der Flüssigkeit mit Fliesspapier abgesogen, ein Deckglas aufgelegt und das Ganze 19 Stunden bei 37° digerirt. Das Präparat enthielt in der eingedickten Masse etwa 30 verschieden grosse weisse makroskopische Tyrosindrüsen. Bei mehrfacher Wiederholung dieses Versuches wurde stets ein positives Resultat erhalten, im Controllversuch mit vorher aufgekochtem Secret dagegen kein Tyrosin.

Das zu den Versuchen benutzte Witte-Pepton erwies sich als genügend rein: denn es gelang mir nicht, in 6 g der trocknen Substanz unter Anwendung des schon mehrfach erwähnten Verfahrens (Ausfällung mit Phosphorwolframsäure u. s. w.) Tyrosin nachzuweisen.

Ebenso kam der minimale Tyrosingehalt des Pancreas-secrets nicht in Betracht, da er sich in diesem überhaupt erst beim Verarbeiten grösserer Portionen nachweisen liess.

Erhebliche Mengen Tyrosin wird man überhaupt wohl nur in sehr stark tryptisch wirkenden Secreten finden. Diese aber bilden bei Ausführung der beschriebenen Probe aus Witte-Pepton eine so reichliche Menge Tyrosin, dass die im Secret selbst ursprünglich vorhandene Menge nicht in Betracht kommt.

Der Nachweis des tryptischen Ferments in dieser Form empfiehlt sich durch die bequeme Ausführbarkeit und dadurch, dass er sich auf die Ausscheidung des Tyrosins, eines leicht kenntlichen Productes, gründet.

Ich will nicht unerwähnt lassen, dass sich Cohnheim¹⁾ der Lösungen von Albumosen und Peptonen zum Studium des Erepsins bedient hat, freilich von der Annahme ausgehend, dass echte Eiweisskörper von Erepsin nicht gespalten würden.

Nachdem ich die Mehrzahl meiner Versuche über die Einwirkung von Pancreassecret auf Lösungen von Witte-Pepton schon ausgeführt hatte, erschien eine Arbeit von Kutscher und Seemann²⁾ Zur Kenntniss der Verdauungsvorgänge im Dünndarm. II., an deren Schluss die Autoren betonen, dass Cohnheim in der von ihm angewandten Methode ein Mittel, gewissermaassen ein physiologisches Vergrösserungsglas, an die Hand gegeben hat, um auch schwach wirkende Enzyme, die deswegen bisher unserem Nachweis entgangen sind, sicher zu erkennen.

¹⁾ l. c.

²⁾ Diese Zeitschr., Bd. XXXV, Heft 4 u. 5.

VI. Analytische Belege.

Zu Portion A.

Spec. Gew.

Pyknometer + Wasser von 17°	=	13,4019	g
Pyknometer leer	=	8,4281	„
Das Pyknometer enthält	=	4,9738	„ Wasser von 17°
Pyknometer und Secret von 17°	=	13,4554	„
Spec. Gew.	=	1,0108	„

Trockensubstanz. 1)

a) 10,2723 g Secret gaben	0,1280 g	Trockensubstanz	=	1,2461 %
b) 12,3327 „ „ „	0,1519 „	„	=	1,2317 %
Mittel			=	1,2389 %

Asche.

a) 10,2723 g Secret gaben	0,0878 g	Asche	=	0,8547 %
b) 12,3327 „ „ „	0,1056 „	„	=	0,8563 %
Mittel			=	0,8555 %

Stickstoff.

a) 20,00 g Secret erforderten	9,85 ccm	n ₁₀ Schwefelsäure	=	0,01379 g N
b) 20,05 „ „ „	9,85 „	„	=	0,0690 %
			=	0,01379 g
			=	0,0688 %
Mittel			=	0,0689 % N

Cl.

40,00 g Secret gaben	0,2767 g	Chlorsilber	=	0,0684 g Cl
			=	0,1710 %

Alkaleszenz.

a) 10,05 g Secret erforderten zur Neutralisation	11,30 ccm	n ₁₀ Schwefelsäure, entsprechend	0,5959 %	Na ₂ CO ₃ .
b) 10,03 g Secret erfordern	11,30 ccm	n ₁₀ Schwefelsäure entsprechend	0,5971 %	Na ₂ CO ₃ .
Mittel			=	0,5965 %

1) Vollständige Gewichtskonstanz war selbst nach 20 Stunden langem Trocknen des Abdampfrückstandes bei 120° nicht zu erzielen; es erfolgte dauernd eine geringe Gewichtsabnahme; der sehr hygroskopische Rückstand roch brenzlich, erlitt also schon eine theilweise Zersetzung, was ja für Pepton bekannt ist. Der Abdampfrückstand wurde daher bei allen Bestimmungen 10 Stunden bei 120° getrocknet, gut verschlossen erkalten gelassen und rasch gewogen.

Zu Portion B.

Spec. Gew.

Pyknometer + Wasser von 17°	=	13,4019 g
Pyknometer leer	=	8,4281 »
Das Pyknometer enthält	=	4,9738 » Wasser von 17°
Pyknometer + Secret von 17°	=	13,4504 »
Spec. Gew.	=	1,0098 »

Trockensubstanz und Asche.

100 g Secret gaben 0,1344 g durch Alkohol fällbare Stoffe, darin 0,0053 g Asche
1,4105 g alkohollösliche Stoffe, darin 0,8494 g Asche.

Stickstoff.

a 20,90 g Secret erforderten 12,00 cem n/10 Schwefelsäure	=	0,0168 g N
	=	0,0804 % »
b 21,00 » » 12,05 » » »	=	0,01687 g »
	=	0,0803 % »

Mittel = 0,0804% N.

Coagulable Eiweissstoffe.

a) 70,55 g Secret gaben 0,0599 g Eiweiss, darin 0,0006 g Asche:
= 0,0841% aschefreies Eiweiss. 1)

b) 70,20 g Secret gaben 0,0808 g Eiweiss, darin 0,0009 g Asche:
0,1138% aschefreies Eiweiss. 1)

Mittel = 0,099% coagulable Eiweissstoffe.

Cl.

a 40,07 g Secret gaben 0,2884 g Chlorsilber = 0,0713 g Cl
0,1779% Cl.

b) 40,00 g Secret gaben 0,2950 g Chlorsilber = 0,0729 g Cl
0,1823% Cl.

Mittel = 0,1801% Cl.

K, Na.

a) 50,00 g Secret gaben 0,4436 g Alkalichloride.

0,2218 g Alkalichloride gaben 0,0162 g Platin = 0,0124 g KCl.

In 0,4436 g Alkalichloriden daher 0,4188 g NaCl = 0,165 g Na
= 0,3300% »

0,0248 g KCl = 0,0130 g K

= 0,026 % »

b) 50,00 g Secret gaben 0,4416 g Alkalichloride.

0,2208 g Alkalichloride gaben 0,0148 g Platin = 0,0113 g KCl.

1) Die starke Abweichung der beiden Zahlen erklärt sich durch die Eigenart der untersuchten Flüssigkeit.

In 0.4416 g Alkalichloriden daher 0.4190 g NaCl = 0.1651 g Na
 = 0.3302%
 0.0226 g KCl = 0.0119 g K
 = 0.0238%

Mittel = 0.3301% Na
 0.0249% K.

Alkaleszenz.

a) 10.20 g Secret erforderten zur Neutralisation 11.65 ccm n/10 Schwefelsäure, entsprechend 0.6053% Na₂CO₃.

b) 10.15 g Secret erforderten zur Neutralisation 11.50 ccm n/10 Schwefelsäure, entsprechend 0.6005% Na₂CO₃.

Mittel = 0.6029%.

Zu Portion C.

Spec. Gew.

Pyknometer + Wasser von 17° = 13.4019 g
 Pyknometer leer = 8.4281
 Das Pyknometer enthält = 4.9738 Wasser von 17°
 Pyknometer + Secret von 17° = 13.4552
 Spec. Gew. = 1.0107

Trockensubstanz.

a) 7.6130 g Secret gaben 0.1031 g Trockensubstanz = 1.3543%
 b) 8.6443 » » » 0.1157 » » = 1.3385%
 Mittel = 1.3464%

Asche.

a) 7.6130 g Secret gaben 0.0652 g Asche = 0.8564%
 b) 8.6443 » » » 0.0741 » » = 0.8570%
 Mittel = 0.8567%

Stickstoff.

a) 20.05 g Secret erforderten 13.38 ccm n/10 Schwefelsäure = 0.01873 g N.
 = 0.0934%
 b) 20.02 » » » 13.48 » » » = 0.0189 g »
 = 0.0943%
 Mittel = 0.0939% N.

Coagulable Eiweissstoffe.

a) 100 g Secret gaben 0.0838 g Eiweiss, darin 0.0004 g Asche;
 = 0.0834 g aschefreies Eiweiss.

b) 100 g Secret gaben 0.0669 g Eiweiss, darin 0.0004 g Asche;
 = 0.0665 g aschefreies Eiweiss.

Mittel = 0.075% coagulable Eiweissstoffe.

Zu Portion G.

Spec. Gew.

Pyknometer -- Wasser von 17°	=	13.4019 g
Pyknometer leer	=	8.4281 "
Das Pyknometer enthält	=	4.9738 " Wasser von 17°
Pyknometer -- Secret von 17°	=	13.4497
Spec. Gew.	=	1.0096.

Trockensubstanz und Asche.

50.00 g Secret gaben 0.0541 g durch Alkohol fällbare Stoffe, darin 0.0020 g Asche.

0.7092 g alkohollösliche Stoffe, darin 0.4223 g Asche = 1.5266% Trockensubstanz, 0.8486% Asche.

Stickstoff.

a) 20.10 g Secret erforderten 9.8 ccm n₁₆ Schwefelsäure = 0.01372 g N = 0.0683% N.

b) 20.10 g Secret erforderten 9.85 ccm n₁₆ Schwefelsäure = 0.01379 g N = 0.0686% N.

Mittel = 0.0685% N.

Cl.

20.45 g Secret gaben 0.1318 g Chlorsilber = 0.0326 g Cl
= 0.1594%

Alkaleszenz.

a) 10.20 g Secret erforderten zur Neutralisation 11.70 ccm n₁₆ Schwefelsäure entsprechend 0.608% Na₂CO₃.

b) 10.25 g Secret erforderten zur Neutralisation 11.70 ccm n₁₆ Schwefelsäure entsprechend 0.605% Na₂CO₃.

Mittel = 0.607%