

# Die Lipase des Darmsaftes und ihre Charakteristik.

Von

**W. Boldyreff.**

---

(Aus der physiologischen Abteilung des Instituts für experimentelle Medizin zu St. Petersburg.)

(Der Redaktion zugegangen am 11. Dezember 1906.)

---

Infolge der Entdeckung neuer Fermente im Darmsaft (der Kinase Schepowalnikoffs,<sup>(1)</sup> des Erepsins Cohnheims<sup>(2)</sup>), welchen eine wichtige Rolle in der Verdauung zukommt, hat man in den letzten Jahren der physiologischen Untersuchung des Darmsaftes etwas mehr Beachtung geschenkt.

Trotzdem sind bisher in der Literatur keine zwingenden Beweise für eine fettspaltende Wirkung des Darmsaftes erbracht worden, obgleich einerseits in ihm nachweisbare Mengen von Lipase vorhanden sind und andererseits einige Autoren ihre Zeit und Mühe gerade dem Studium der Lipase der Verdauungssäfte gewidmet haben; es genügt, auf die Entdeckung der Lipase im Magensaft (Volhard<sup>(3)</sup>) hinzuweisen, der doch dieses Ferment nur in geringen Mengen enthält.

Diese Erwägungen haben mich veranlaßt, gegenwärtig die Resultate meiner Untersuchungen über die Lipase des Hundedarmsaftes zu publizieren, über die ich kurze Mitteilungen im Frühjahr 1902 in St. Petersburg in der «Gesellschaft russischer Ärzte» und im Sommer 1904 in Brüssel auf dem VI. internationalen Physiologenkongreß gemacht<sup>(44)</sup> und die ich ausführlicher in der Zeitschrift «Der russische Arzt», Jahrgang 1903, Nr. 25, beschrieben habe.

Bevor ich mit der Darlegung meiner Resultate und der daraus zu ziehenden Schlußfolgerungen beginne, halte ich es für notwendig, zur besseren Klärung der Frage einige allgemeine Erwägungen vorzuschicken.

Über die Absonderung und insbesondere über die verdauende Wirkung des Darmsaftes existieren bis heute die aller- verschiedensten sich widersprechenden Ansichten. Man kann nicht behaupten, daß man sich mit diesem Saft wenig beschäftigt hat: man hat ihn schon seit lange erforscht, und es ist nicht schwer, ganze Reihen von Forschern zu nennen, die diese Frage erörtert haben; unter ihnen befinden sich die Namen hervorragender Vertreter der Physiologie, wie Claude Bernard,<sup>(4)</sup> Schiff,<sup>(5)</sup> Hermann<sup>(6)</sup> und Heidenhain<sup>(7)</sup> u. a., und doch ist sehr vieles ganz unaufgeklärt geblieben.

Solange man den Darmsaft noch nicht in reinem Zustande zu gewinnen verstand, war es natürlich schwer, seine wirklichen Eigenschaften kennen zu lernen; im allgemeinen war man zuerst geneigt, ihm eine starke verdauende Wirkung auf die verschiedenen Nahrungsstoffe (Eiweiß, Fette und Kohlehydrate) zuzuschreiben, indem man irrtümlicherweise die energische Wirkung des Pankreassaftes, der unvermeidlich den Bedingungen der Methodik entsprechend dem Darmsaft sich beismischte, für die Wirkung des letzteren hielt.

Vor 40 Jahren ungefähr hat Thiry<sup>(8)</sup> eine geistreiche Methode zur Gewinnung reinen Darmsaftes angegeben, die in der Folge von Vella<sup>(9)</sup> modifiziert und vervollkommnet wurde. Doch hier entstand unerwartet eine neue große Schwierigkeit. Wenn man nämlich den Darmsaft sammelt, ohne die zur Fistel abgeteilte Schleimhaut zu reizen, so ist die Sekretion so schwach,<sup>1)</sup> daß einige Forscher (Thiry<sup>(10)</sup> beim hungernden Thier, Röhm ann<sup>(11)</sup> und N. P. Schepowalnikoff<sup>(12)</sup> beim verdauenden) sie überhaupt nicht bemerkten und behaupteten, daß in den oberen Abschnitten des Dünndarms ohne Reiz überhaupt kein Saft, sondern nur Schleim abgesondert wird.

Aus diesem Grunde begann man nun, um zur Untersuchung genügend große Mengen Darmsaftes zu erhalten, diesen oder jenen Reiz auf die Schleimhaut des Darmes auszuüben

---

<sup>1)</sup> «Es ist schwer von Darmsaft zu sprechen, da man ihn nur in geringen Mengen oder überhaupt nicht erhalten kann. . . . Es gelingt auch nach der Tiryschen Methode nicht immer, bemerkbare Mengen Saft zu erhalten.» Maly.<sup>(13)</sup>

(Heidenhain,<sup>(14)</sup> Maly<sup>(15)</sup>), was seinerseits ein unbefriedigendes Resultat ergab, da sogar das allerschwächste Reizmittel, z. B. ein in die Fistel eingeführtes weiches Gummiröhrchen, wohl eine starke Sekretion hervorrief, der sezernierte Saft aber sehr arm an Fermenten (z. B. Kinase) war, und je länger man nun den Reiz applizierte, um so fermentarmer wurde er<sup>1)</sup> (Sawitsch<sup>(16)</sup>).

Das mit Hilfe verschiedener Reizmittel erhaltene Darmsekret, welches je nach der Intensität und Dauer der Reizung der Darmschleimhaut bald mehr bald weniger wässerig ist und bisweilen gar keine Fermente enthält, kann man wohl kaum als echten Darmsaft bezeichnen. Über eine Methode, einen natürlichen, an Fermenten reichen und stets in der Zusammensetzung gleichmäßigen Darmsaft zu erhalten, werde ich weiterhin berichten. Wenn man der starken künstlichen Verdünnung des Darmsaftes, die man bei Reizung der Darmschleimhaut erhält, nicht die nötige Bedeutung zuschreibt, kann man zu dem Schluß kommen, daß der Darmsaft keine verdauenden Fermente enthalte. Dieser Fehler ist eben von der Mehrzahl der Forscher begangen worden.

Auf diese Weise war man wieder ins entgegengesetzte Extrem verfallen und leugnete jede Bedeutung des Darmsaftes für die Verdauung.

Wenn sogar die Galle eine Zeitlang in den Verdacht gekommen war, keine verdauende Wirkung zu besitzen (Blondlot,<sup>(17)</sup> Baldi<sup>(18)</sup>), nur deswegen, weil sie allein an und für sich keine ausgesprochene und in die Augen fallende Verwandlung der Nahrungsstoffe hervorruft, so war der Darmsaft, wie es schien, vom Schicksal selbst dazu bestimmt, vollkommen unbeachtet zu bleiben, da er in reinem Zustande unter normalen Bedingungen mit Hilfe der gegenwärtigen Methodik nur in sehr geringen Mengen erhalten wird, da er von keinem besonderen abgetrennten Organ bereitet wird und keine stark ausgesprochenen fermentativen Eigenschaften besitzt.

---

<sup>1)</sup> Dies hat sich auch in Beziehung auf das fettspaltende Ferment, wie zu erwarten war, als richtig erwiesen.

Neben den starken und reichlichen Verdauungsreagenzien, dem Speichel, dem Magen- und Pankreassaft, schien die Anwesenheit eines Darmsaftes (und irgend einer chemischen Wirkung desselben auf die Nahrungsstoffe) vollkommen überflüssig. So sehen wir denn, daß sogar in den neuesten Lehr- und Handbüchern der Physiologie und physiologischen Chemie von den Fermenten des Darmsaftes und auch von ihm selbst nur ganz kurz gesprochen und nur seine Wirkung auf die Kohlehydrate allein anerkannt wird. Ich verweise auf Hammarsten,<sup>(19)</sup> Neumeister,<sup>(20)</sup> Tigerstedt<sup>(21)</sup> und Frédéricq und Nuel.<sup>(22)</sup> Was das fettspaltende Ferment betrifft, so leugnen alle zitierten Autoren kategorisch seine Anwesenheit im Darmsaft. In der unlängst erschienenen, speziell den Fermenten gewidmeten Monographie Oppenheimers<sup>(23)</sup> ist auch kein Hinweis auf das Vorhandensein dieses Fermentes (der Lipase) im Darmsaft der Säugetiere zu finden. Alle die zahlreichen Untersucher des Darmsaftes leugnen einstimmig in der letzten Zeit eine fettspaltende Wirkung desselben und nur Vella<sup>(24)</sup> und Schiff<sup>(25)</sup> waren mit der allgemein herrschenden Anschauung nicht einverstanden, doch schienen die Angaben beider Forscher keineswegs beweisend, da in den Untersuchungen Vellas keine Garantien gegeben sind, daß die Fettspealtung nicht durch Mikroben und auch vielleicht durch einige andere Ursachen bewirkt wurde. Bei Schiff konnte, nach seiner Versuchsanordnung zu urteilen, die fettspaltende Wirkung durch andere Verdauungssäfte bedingt sein.

Hier halte ich es für angemessen, einige Erwägungen allgemeinen Charakters einzuschalten. Wenn wir uns zur Betrachtung der Organe wenden, die Verdauungsfermente produzieren, so sehen wir, daß sowohl die eiweißverdauenden, als auch die kohlehydratspaltenden Fermente an vielen Stellen des Verdauungskanals bereitet oder richtiger sezerniert werden: erstere sind im Magensaft sowohl des Fundus- als auch des Pylorusteiles vorhanden, dann im Pankreassaft, in schwachem Zustande in der Galle (J. P. Schegaloff<sup>(26)</sup>), im Sekret der Brunnerschen Drüsen und schließlich im Darmsaft in besonderem Zustande — als Erepsin (Cohnheim,<sup>(27)</sup> S. S. Salaskin<sup>(28)</sup>).

Ein kohlehydratspaltendes Ferment ist im Speichel, im Pankreas- und im Darmsafte vorhanden. Nur das fettspaltende Ferment allein wird im Verdauungskanal, wie man annahm, nur an einer einzigen Stelle bereitet — in der Bauchspeicheldrüse. Obgleich, wie bekannt, die Galle die Verdauung der Fette durch den Pankreassaft (Claude Bernard,<sup>(29)</sup> M. W. Nencki<sup>(30)</sup>) und die Assimilation derselben (A. v. Wistinghausen,<sup>(31)</sup> Steiner<sup>(32)</sup>) bedeutend befördert, so kommt ihr doch eine selbständige Rolle in der Fettspaltung nicht zu, so daß, im Fall die Bereitung der Lipase in der Pankreasdrüse aufhört, was bei den verschiedenen Erkrankungen der letzteren leicht möglich ist — das Fett, der an Energie reichste Nahrungsstoff, für den Organismus ganz verloren gehen muß.

Es war jedoch bekannt, wenn auch unerklärt, daß von Tieren (Hunden), denen die Pankreasdrüse exstirpiert war und die gewöhnliches Fett überhaupt nicht verdauten, emulgiertes Fett, z. B. in Form von Milch, gut (bis zu 50<sup>0</sup>/o) assimiliert wird (Minkowski<sup>(33)</sup> und seine Schüler, sowie Hedon<sup>(34)</sup>). Außerdem wurde im Darm unmittelbar eine ohne Beteiligung des Pankreassaftes erfolgende Fettspaltung beobachtet (an entsprechend operierten Hunden, Abelmann<sup>(35)</sup>). Man erklärte diese Erfahrungen zwar hypothetisch, doch mit großer Bestimmtheit durch den Einfluß der Bakterien (Noorden,<sup>(36)</sup> Tigerstedt<sup>(37)</sup>). Das Mißtrauen dem Darmsaft gegenüber war so groß, daß man auch jetzt, im Widerspruch mit den Tatsachen, seine Wirkung auf Fett leugnete.

Bei der Untersuchung der Fermente des Darmsaftes für einen Zweck, welcher zu dieser Arbeit keine Beziehung hat, stieß ich ganz zufällig auf die Anwesenheit eines fettspaltenden Fermentes im Darmsaft; vielfach wiederholte Versuche bestätigten jedesmal diese Entdeckung, so daß ich glaube, daß die eben erwähnte Resorption einer Emulsion bei Hunden ohne Pankreassekretion und die rätselhafte Fettspaltung bei denselben eine ganz einfache und natürliche Erklärung in einer Wirkung des Darmsaftes finden. Dieser seiner Wirkung kommt eine um so größere Bedeutung zu, als nach den vor kurzem publizierten Untersuchungen Cohnsteins,<sup>(38)</sup> das Fett hauptsächlich in ge-

spaltenem Zustande resorbiert wird und die alte Lehre von der Resorption des Fettes als solches, in Form einer Emulsion, an Boden verliert. Ein neuer starker Schlag ist dieser Lehre unlängst durch die sehr interessante und inhaltsreiche Arbeit Kastles und Loevenharts<sup>(39)</sup> versetzt worden, welche die Anwesenheit der kleinen Fetttröpfchen in den Zellen der Darmwand keineswegs als Folge einer Resorption derselben in fertigem Zustande ansehen, vielmehr als Resultat einer durch fermentative Wirkung bedingten Synthese des Fettes aus seinen Bestandteilen, dem Glycerin und den Fettsäuren, in welche es im Darmlumen zerfallen war, erklären.

Ich gehe jetzt zur Beschreibung meiner Untersuchungen über.

In der physiologischen Abteilung des Instituts für experimentelle Medizin habe ich hauptsächlich Versuche an 2 Hunden angestellt, welche unter anderem nach der Thiry-Vellaschen Methode an der Übergangsstelle des Duodenums in den Dünndarm angelegte Darmfisteln hatten; die Länge des zur Fistel abgeteilten Darmstückes betrug bei jedem Hunde ca. 25 cm. Die Operation war beiden Hunden im Juli gemacht worden, meine Versuche begann ich im Oktober, als sich die Hunde längst vollkommen erholt hatten. Bei einem dieser Hunde war in der Bauchwand noch die Mündung einer Pankreasfistel (und außerdem auch noch eine gewöhnliche Magenfistel) vorhanden und es könnte der Verdacht entstehen, daß sich dem von mir gesammelten Darmsaft auch Pankreassaft beigemischt hätte. Aus diesem Grunde werde ich hier die Resultate der Untersuchung des Darmsaftes dieses Hundes<sup>1)</sup> nicht anführen, sondern mich nur auf die Angabe beschränken, daß sie vollkommen mit den am anderen Hunde gewonnenen übereinstimmen. Dieser zweite Hund hatte gleichfalls noch eine gewöhnliche Magenfistel. Das Alter des Tieres war ungefähr ein Jahr, das Gewicht ca. 28,5 Kilo.

---

<sup>1)</sup> Um eine mögliche Beimengung von Pankreassaft zum Darmsaft zu verhindern, habe ich beim ersten Hunde vor dem Sammeln des Darmsaftes stets die Bauchwand sorgfältig mit warmem Wasser gewaschen, sie abgetrocknet und dann ein wenig mit Gummileim, welcher sich in Wasser nicht löst, bestrichen.

Während der ganzen Dauer der Beobachtung war der Hund vollkommen gesund.

Zunächst möchte ich einige Worte über den Charakter der Sekretion des Darmsafts sowohl bei leerem Magen, als auch während der Magenverdauung einfügen. Im ersten Falle erfolgt die Absonderung des Darmsekrets (Schleim und Saft) bei den Hunden in regelmäßigen Zeitintervallen, die ungefähr 2 Stunden betragen; die Absonderung des Sekrets selbst dauert ungefähr 15 Minuten. Solch eine periodische Arbeit erfolgt mit einer merkwürdigen Regelmäßigkeit.<sup>1)</sup> Aus der beschriebenen Darmfistel erhielt ich für gewöhnlich ca. 1—1,5 ccm Sekret, welches zur Hälfte aus Schleim, zur Hälfte aus Saft bestand. Während der Magenverdauung bei beliebiger Nahrung — Fleisch, Milch oder Brot — wird das Darmsekret auch periodisch abgesondert und zwar in jeder Periode ungefähr in der gleichen Menge, doch sind die Perioden einer derartigen Absonderung viel seltener und treten mit einer viel geringeren Regelmäßigkeit in der Zeitfolge auf, gewöhnlich annähernd alle 3, 4 bis 5 Stunden; bisweilen aber — freilich selten — wurde im Verlaufe der ganzen Magenverdauung überhaupt gar kein oder fast gar kein Darmsaft abgesondert.

Die Mehrzahl meiner Untersuchungen bezieht sich auf den Hungersaft; doch muß ich sagen, daß ich keinen großen Unterschied im Gehalt an fettspaltendem Ferment zwischen dem Hungersaft und dem im Verlaufe der Magenverdauung gewonnenen Saft bemerken konnte. Solche Vergleichsversuche habe ich übrigens nur in geringer Zahl ausgeführt.

Bei der Gewinnung des Saftes habe ich ganz besonders dafür gesorgt, daß der Darm nicht gereizt wurde, da er, wie schon erwähnt, auch auf die allerschwächste Reizung mit einer ununterbrochenen Absonderung eines reichlichen an Fermenten armen Saftes reagiert. Deshalb habe ich beim Sammeln des Saftes, in den Darm gar keine Röhren oder andere Gegenstände

---

<sup>1)</sup> Dies ist in meinem am 9. V. 1902 im Verein russischer Ärzte (St. Petersburg) gehaltenen Vortrage ausführlich dargelegt. In diesem Vortrage<sup>(40)</sup> habe ich unter anderem auch das von mir im Darmsaft der Hunde gefundene fettspaltende Ferment erwähnt.

eingeführt und ihn nicht einmal berührt. Der Saft, mit Schleim vermengt, floß selbständig aus dem Darm, sobald die Zeit seiner Absonderung gekommen war, und wurde mittels eines an die Bauchwand angelegten Trichters (so daß seine Ränder, um die Fistel nicht zu reizen, weit von den Rändern der letzteren zu liegen kamen), in einen kleinen, mit einer Graduierung in 0,1 ccm versehenen Zylinder, der auch an die Bauchwand gebunden war, gesammelt.

Überhaupt muß man der Methodik eine große Bedeutung zuschreiben; einen überzeugenden Beweis dafür bietet unter anderem auch die Geschichte des Darmsaftes und ich denke, daß es mir dank der Abwesenheit einer Reizung der Darmwand gelungen ist, sozusagen unverdünnten Darmsaft zu erhalten und in ihm ein fettspaltendes Ferment zu finden.<sup>1)</sup>

Bei allen Bestimmungen habe ich ausschließlich ausgekochtes Geschirr benutzt.

Aus dem erhaltenen Sekret goß ich den dünnflüssigen Saft apart ab und bestimmte seine Menge besonders, da es nicht gelang im Schleim die Anwesenheit eines fettspaltenden Fermentes zu beweisen.

Zur Untersuchung des Darmsaftes auf fettspaltendes Ferment habe ich folgende Fettarten benutzt:

1. Monobutylin — welches zu diesem Zweck von Hanriot und Camus<sup>(41)</sup> vorgeschlagen ist. Sein Vorzug als Reagens zur Bestimmung fettspaltender Fermente besteht darin, daß es in Wasser genügend löslich ist (es wird gewöhnlich eine 1 0/0ige,

---

<sup>1)</sup> Den nach der soeben beschriebenen Methode gewonnenen Saft kann man, wie mir scheint, als natürlichen Darmsaft ansehen; dafür bietet eine Garantie die bemerkenswerte Regelmäßigkeit und Gleichmäßigkeit seiner Absonderung sowohl was die Zeitfolge als auch die Menge betrifft, ferner auch die stets gleiche Zusammensetzung, beurteilt nach der vielfach kontrollierten Menge der Enterokinase und des fettspaltenden Fermentes. Außerdem ist er viel reicher sowohl an diesen Fermenten als auch an Diastase und Invertase, als die allerkonzentriertesten Portionen des unter Reizung des Darmes erhaltenen Sekretes. Ich nehme an, daß auch im Gehalt an den übrigen Fermenten (Erepsin, Maltase u. a.), die ich nicht bestimmt habe, zwischen diesen Säften dasselbe Verhältnis besteht.

filtrierte, frisch bereitete Lösung benutzt), was den Gang der Untersuchung bedeutend erleichtert und vereinfacht.

2. Wenn ich mit Monobutyryn ein positives Resultat erhalten und auch überzeugt hatte, daß die Wirkung vom Ferment ausgeübt wird (siehe unten), so stellte ich einige Versuche mit Olivenöl und Butter an, um festzustellen, ob das Ferment des Darmsaftes auch imstande ist, natürliche Fette zu spalten. Da es sich erwies, daß nicht emulgiertes Fett vom Darmsaft schlecht gespalten wird, vom Darmsaft selbst aber nur schwach emulgiert wird, so habe ich einige Versuche auch mit

3. Emulsionen angestellt, sowohl mit künstlichen, mit Hilfe von Gummi arabicum bereiteten, als auch mit natürlichen in Form von Milch.

In allen diesen Fällen habe ich stets im Darmsaft die Anwesenheit eines fettspaltenden Fermentes konstatieren können, freilich in viel geringeren Mengen, als es im Pankreassaft enthalten ist. (Siehe Tabelle I.) Im ganzen habe ich in der angegebenen Richtung mehr als 100 Versuche angestellt und zwar an 35 verschiedenen Saftportionen, die ich an 35 verschiedenen Tagen von meinen 2 Hunden hauptsächlich und teilweise auch noch von 8 anderen erhalten hatte.

Wie man aus den Tabellen ersehen kann, habe ich alle zu untersuchenden Portionen nach der ersten Titration, welche zum Zweck der Bestimmung der in einer bestimmten Zeiteinheit (im Thermostaten bei  $38^{\circ}$  C.) unter dem Einfluß des Fermentes vom Monobutyryn abgespaltenen Fettsäuren angestellt war, wieder in den Thermostaten zurückgebracht. Nach einer gewissen Zeit wiederholte ich die Titration, um die Menge der Buttersäure — oder sonstiger Fettsäuren — festzustellen, welche unter dem Einfluß des Fermentes freigeworden war, und stellte die Probe von neuem in den Thermostaten bis zur folgenden Titration; dieses Verfahren wiederholte ich bis zu 10 mal und mehr. Auf diese Weise habe ich im ganzen mehr als 1000 Titrationsen ausgeführt.

Zur Untersuchung benutzte ich frisch gewonnenen Saft oder solchen, der am Tage vorher erhalten war und auf Eis gestanden hatte. Die Menge wurde mittels einer sterilisierten Pipette von 1 ccm Inhalt, die in 100 Teile geteilt war, bestimmt.

Zu der genau gleichfalls mittels einer sterilisierten Pipette abgemessenen, als Reagens dienenden Substanz (gewöhnlich 10 ccm) wurde meist nur 0,5 ccm Darmsaft zugefügt, die Mischung geschüttelt und unverzüglich in einen Wasserthermostaten von 38° C. gestellt. Zur Kontrolle wurde nebenbei immer eine gleiche Portion angesetzt, zu der aber aufgekochter Darmsaft hinzugefügt war, und außerdem eine dritte Portion ganz ohne Darmsaft. Nach Ablauf einer bestimmten Zeit — von einer 1/2 Stunde bis zu einigen Tagen — wurden alle Portionen aus dem Thermostaten genommen und auf Eis gestellt, um für die Zeit der Titration die Wirkung des Ferments, die dann der Genauigkeit der Bestimmung schaden könnte, aufzuheben; dann wurde die freigewordene Buttersäure mit einer Lösung von Baryt — unter Benutzung von Phenolphthalein als Indikator — bis zur ersten kaum merkbaren Rosafärbung titriert. Aus der Menge der freigewordenen Säure und der entsprechenden zu ihrer Neutralisation verwandten Titermenge konnte man die Wirkungskraft des fettspaltenden Fermentes und folglich bis zu einem gewissen Grade auch die Menge desselben berechnen.

Bei der Arbeit mit dem Monobutyryn und den Emulsionen wurden die Reagenzgläser, nachdem sie einmal in den Thermostaten gestellt waren, bis zum Moment der Herausnahme nicht angerührt, da man annehmen konnte, daß nach einmaligem energischen Durchschütteln der Darmsaft sich mit diesen wässerigen Flüssigkeiten immer mehr oder weniger gleichmäßig vermischt hatte; hatte ich es aber mit reinem Fett (gewöhnlich 5 ccm) zu tun, so wurde das nach Hinzufügen von ebensoviel Wasser und der bestimmten Portion Darmsaft erhaltene Gemisch während der Zeit, die es im Thermostaten stand, mehrmals geschüttelt, damit das Ferment die Möglichkeit habe, auf das Fett einzuwirken, welches unter diesen Bedingungen keine Emulsion bildete, sich sehr schnell über dem Wasser sammelte und auf diese Weise aus dem Wirkungsbereich des Fermentes kam.

Um die Möglichkeit eines Einflusses von Bakterien auf die Spaltung des Monobutyryns und der anderen Fette zu beseitigen, wurde zu einer größeren Zahl von Portionen entweder Calomel (ein Stückchen von der Größe eines Linsenkorns bis zu einer

halben Erbse auf 10 ccm der Flüssigkeit), oder bisweilen Thymol (Stückchen von Erbsengröße), hinzugefügt. Offenbar hat dieser Zusatz keinen Einfluß auf die Resultate, und es muß nach dieser Versuchsanordnung die Fettspaltung dem Darmsaft und nicht den Bakterien zugeschrieben werden.

Besondere Kontrollversuche bestätigten die Abwesenheit von lebenden Bakterien in den Reagenzgläschen, in die antiseptische Substanzen hinzugefügt waren.

Außerdem habe ich einige Versuche gemacht, die Bakterien mittels Filtration zu entfernen. Zu diesem Zweck kann man den Saft durch ein Filter gehen lassen, welches für Bakterien undurchgängig ist (z. B. durch eine Chamberland-Pasteurische Kerze), d. h. man kann ihn auf kaltem Wege sterilisieren und vollkommen frei von Bakterien erhalten. Es ist aber bekannt, daß eine derartige Filtration die Fermente überhaupt beeinträchtigt, besonders wenn man, wie es bei mir notgedrungen der Fall war, eine geringe Flüssigkeitsmenge dieser Filtration unterwirft (Derschgowsky).<sup>(42)</sup> Speziell wird aber die Lipase hierbei (Kastle und Loevenhart)<sup>(43)</sup> in hohem Grade geschwächt. Nach Derschgowsky enthalten die ersten Portionen des Filtrats fast gar kein Ferment, die folgenden erst werden reicher daran. Um den schädlichen Einfluß des Filtrierens zu vermindern, verfuhr ich deshalb folgendermaßen: Zunächst filtrierte ich 0,5 ccm Darmsaft mit 3 ccm Monobutyryn (1% wässrige Lösung) durch eine kleine sterilisierte Kerze in einen gleichfalls sterilisierten Aufnahmekolben; dann wurden nach beendigter Filtration nochmals 3 ccm Monobutyrynlösung, jetzt aber allein, filtriert, dann wieder 3 ccm usw., bis die Kerze auf diese Weise 7 mal mit Monobutyryn sozusagen durchgespült war. In der auf diese Weise erhaltenen Mischung, die aus 0,5 ccm Darmsaft und 20 ccm Monobutyrynlösung bestand (ca. 1 ccm verteilte sich in der Kerze), war eine fettspaltende Wirkung des Fermentes zu bemerken, freilich eine schwächere, als in den nicht filtrierten Portionen.<sup>1)</sup>

---

<sup>1)</sup> Auch hier überzeugte ich mich jedesmal mit Hilfe von ergänzenden Kontrollversuchen von der Abwesenheit von Bakterien.

Tabelle I.

Spaltung von Monobutyryn (1%ige wässrige Lösung) durch die Darmsaftlipase.

Nr. der Titration . .	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
I. Probe.												
Zeit der Einwirkung des Saftes in Stunden . . . . .	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	$3\frac{1}{2}$	$3\frac{1}{2}$	2							
10 ccm Monobutyryn- lösung . . . . .	0,3	0,05	0,05	0,05	0,05							
10 ccm Monobutyryn + 1 ccm des aufge- kochten Pankreas- saftes . . . . .	0,3	0,1	0,3	0,3	0,05							
10 ccm Monobutyryn + 1 ccm normalen Pankreassaftes (nicht aufgeköcht)	3,0	2,1	2,0	1,6	0,9							
10 ccm Monobutyryn + 1 ccm aufge- köcht. Darmsaftes	0,2	0,1	0,1	0,2	0,1							
10 ccm Monobutyryn + 1 ccm normalen Darmsaftes . . . . .	0,8	0,4	0,8	0,1	0,7							
II. Probe.												
Zeit der Einwirkung in Stunden . . . . .	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	7	$\frac{2}{3}$	$1\frac{1}{3}$	$8\frac{1}{2}$	144	24	16	33	36	36
10 ccm Monobutyryn- lösung . . . . .	0,15	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,15	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
10 ccm Monobutyryn + 1 ccm aufge- köcht. Darmsaftes	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,25	0,3	—
10 ccm Monobutyryn + 1 ccm normalen Darmsaftes (nicht aufgeköcht) . . . . .	1,4	1,4	2,5	0,6	0,9	2,0	3,3	1,4	0,9	1,8	1,1	1,0
10 ccm Monobutyryn + 1 ccm normalen Darmsaftes + 1 ccm Galle . .	1,2	0,8	1,8	—	—	—	—	—	—	—	—	—

<sup>1)</sup> Die Zahlen bedeuten die Menge der Barytlösung, welche bei der Titration der durch Spaltung frei gewordenen Säuren verbraucht war. 1 ccm der Barytlösung entspricht 1 mg HCl.

Tabelle II.

Spaltung des in der Milch in emulgiertem Zustande enthaltenen Fettes durch Darmsaftlipase. — Spaltung einer künstlichen Emulsion und nicht emulgierten Fettes.

Nummer der Titration. . . . .	1	2	3
I. Probe.			
Zeit der Einwirkung . . . . .	6 <sup>2</sup> / <sub>3</sub>	1/2	1
10 ccm frisch aufgekochte Milch . . .	8,1	0,1	0,1
10 ccm derselb. Milch + 1 ccm aufgekochten Darmsaftes . . . . .	8,3	0,1	0,1
10 ccm derselb. Milch + 1 ccm normalen Darmsaftes (nicht aufgekocht). .	21,0	2,1	0,9
II. Probe.			
Zeit der Einwirkung . . . . .	1/2	2 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	2 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>
10 ccm frisch aufgekochte Milch . . .	3,8	0,1	0
10 ccm derselb. Milch + 1 ccm aufgekochten Darmsaftes . . . . .	3,1	0,05	0
10 ccm derselb. Milch + 1 ccm normalen Darmsaftes (nicht aufgekocht). .	4,1	3,1	1,3
III. Probe.			
Zeit der Einwirkung . . . . .	2	6	10
5 ccm gewöhnliches Provencer-Öl . .	0,1	0	0
5 ccm desselb. Öls + 0,5 ccm normalen Darmsaftes . . . . .	0,8	0,6	0,5
5 ccm neutrales Provencer-Öl . . . .	0,05	0	0
5 ccm desselb. Öls + 0,5 ccm normalen Darmsaftes . . . . .	0,8	0,5	0,1
5 ccm neutr. Emulsion (von Provencer-Öl) . . . . .	0,05	0	0
5 ccm derselb. Emuls. + 0,5 ccm d. normalen Darmsaftes . . . . .	1,0	1,2	0,9

<sup>1)</sup> Die Zahlen bedeuten die Menge der Barytlösung, welche bei der Titration der durch Spaltung frei gewordenen Säuren verbraucht war. 1 ccm der Barytlösung entspricht 1 mg HCl.

Tabelle III.

Spaltung des Monobutyryns durch den Darmsaft nach Filtration desselben durch eine Chamberland-Pasteursche Kerze.

Nummer der Titration . . . . .	1	2	3	4	5
Zeit der Einwirkung . . . . .	2	6 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	12	34	26
20 ccm Monobutyrynlösung . . . . .	0,05	0,05	0,05	0,05	0
20 ccm Monobutyryn + 0,5 ccm Darmsaft . . . . .	0,4	0,35	0,4	0,85	—
20 ccm Monobutyryn + 0,5 ccm Darmsaft . . . . .	—	0,4	0,35	0,5	0,45

Die beiden untersuchten Portionen stammen von zwei verschiedenen Hunden.

Vor jeder Titration überzeugte ich mich durch Kontrollversuche von der Abwesenheit von Bakterien; die Flüssigkeiten zeigten, bevor sie in den Thermostaten gestellt wurden, stets neutrale Reaktion.

Die Resultate der Einwirkung des Darmsaftes auf das Monobutyryn, die Naturfette und ihre Emulsionen sind von mir in den vorstehenden Tabellen zusammengestellt.

Diese Tabellen geben einen geringen Teil aller von mir gemachten Versuche wieder. In allen anderen Versuchen hat sich ein vollkommen gleiches Resultat ergeben.

Somit bin ich zu dem Schluß berechtigt, daß der Darmsaft imstande ist, selbständig ohne Mitwirkung von Bakterien Fette zu spalten.

Es möge nun eine kurze Charakteristik der Wirkung der Darmsaftlipase im Vergleich zur Lipase des Pankreassaftes folgen. Die Darmsaftlipase wirkt langsam, dafür aber kann sie die Fette im Verlaufe vieler Stunden, sogar einiger Tage spalten, ohne in ihrer Wirkung erheblich schwächer zu werden. Die Pankreassaftlipase dagegen wirkt schnell, jedoch nur anfangs; nach einiger Zeit wird unter den gewöhnlichen Versuchsbedingungen ihre Wirkung bedeutend schwächer (siehe Tab. I).

Die Darmsaftlipase verschwindet bei Aufbewahrung des Saftes bei Zimmertemperatur im Verlaufe vieler Tage nicht, während die Pankreaslipase unter diesen Bedingungen bald zerstört wird (Hanike<sup>(44)</sup>). Noch früher wird dieser Unterschied beim Stehen der Säfte im Thermostaten offenbar.

Die Darmsaftlipase wirkt bedeutend schwächer als die Pankreaslipase und viel besser auf Emulsionen, als auf nicht emulgierte Fette. So bewirkt sie z. B. in der Milch eine sehr energische Spaltung.

Die Galle, welche die Fettspaltung durch den Pankreassaft bedeutend befördert, unterstützt das fettspaltende Ferment des Darmsaftes garnicht.

Der Zusatz von antiseptischen Mitteln schwächt die Wirkung der Lipase nicht merklich.

Der Darmsaft verstärkt die vom Pankreassaft bewirkte Fettspaltung; diese Verstärkung muß man wahrscheinlich der Lipase des Darmsaftes zuschreiben. Nach dem Aufkochen verliert der Darmsaft diese Eigenschaft.

Der Darmsaft aus dem unteren Abschnitt des Dünndarms spaltet in frischem Zustande das Monobutyrim und die anderen Fette selbst in emulgiertem Zustande fast garnicht.

Ich halte es nicht für überflüssig, hinzuzufügen, daß er auch keine Kinase enthält; Invertin und Amylase ist in ihm in beträchtlicher Menge vorhanden. In dieser Richtung werden weitere Untersuchungen unternommen werden.

Doch könnte man mir erwidern, daß in Anbetracht der schwachen fettspaltenden Wirkung des Darmsaftes der Beweis erbracht werden muß, daß die Spaltung tatsächlich durch das Ferment bewirkt wird und nicht durch irgend welche andere Einflüsse. Die Bakterien habe ich bereits ausgeschlossen und kann jetzt zur Besprechung der anderen möglichen Ursachen übergehen. Es ist dies um so notwendiger, als die Unbeständigkeit des Monobutyrim und seine Fähigkeit, unter verschiedenen Bedingungen leicht unter Bildung freier Fettsäure zu verfallen, gut bekannt sind. Der selbständige Zerfall der 1%igen Lösung des zu prüfenden Monobutyrim unter dem Einfluß der hohen Temperatur im Thermostaten konnte keinen irgendwie aus-

gesprochenen Einfluß haben, wie aus den beständigen (mehr als 100) Kontrollversuchen zu ersehen ist. Im Darmsaft ist aber immer eine gewisse Menge Alkali und ziemlich viel Eiweiß vorhanden. Es ist also notwendig, den Einfluß dieser beiden Stoffe auszuschließen oder wenigstens eine entsprechende Korrektur in dem Endresultat zu machen.

Was das Eiweiß betrifft, so veranlaßte dazu besonders die hohe Autorität Heidenhains,<sup>(45)</sup> welcher behauptet hat, daß Eiweiß, z. B. Eiereiweiß, an und für sich Fett zu spalten imstande ist. Alkali bewirkt nach meinen Versuchen keine bedeutende Abspaltung von Säure aus dem Monobutyrim. Ich habe Soda ( $\text{NaHCO}_3$ ) in 1%iger wässriger Lösung untersucht. Soda habe ich deshalb gewählt, weil die Alkalien im Darmsaft an Kohlensäure gebunden und ungefähr in derselben Konzentration enthalten sind. Hierher gehören auch die Kontrollversuche, wo zum Monobutyrim aufgekochter Darmsaft zugefügt war.

In allen diesen Fällen wurde tatsächlich eine Spaltung des Monobutyrim beobachtet, doch nur in Spuren, und wie man aus Tabelle IV ersehen kann, war sie um so viel schwächer, als bei der Einwirkung nicht aufgekochten Darmsaftes, daß sie mit letzterer überhaupt nicht verglichen werden kann. Die Alkalien, in der von mir benutzten Verdünnung, üben auch nur eine ganz unbedeutende spaltende Wirkung aus, welche diejenige der Sodalösung an Stärke nicht übertrifft.

Um die Einwirkung des Eiweißes der Hühnereier kennen zu lernen, habe ich Versuche angestellt, deren Resultate ich in folgender Tabelle zusammengestellt habe.

Wie aus dieser Tabelle zu ersehen ist, übt das Eiweiß auf das Monobutyrim wohl eine spaltende Wirkung aus, doch ist sie so geringfügig, daß man sie bei Bestimmung der Intensität der Spaltung des Monobutyrim durch den Darmsaft dreist vernachlässigen kann. Ich benutzte nur 0,5—1 ccm Darmsaft und dieser enthält an sich nur wenig Eiweiß.

Es ergibt sich somit, daß das Alkali und das Eiweiß, ebenso wie die Bakterien, bei der von mir untersuchten Reaktion keine bemerkbare Rolle spielen. Aus den angeführten Resultaten ist zu ersehen, daß sowohl das Monobutyrim, als auch

Tabelle IV.

Spaltung des Monobutyryns durch eine 1%ige Sodalösung ( $\text{NaHCO}_3$ ), durch aufgekochten Darmsaft (siehe auch Tabelle I und II) und durch Hühnereiereiweiß.

Nummer der Titration . . . . .	1	2	3	4
I. Probe.				
Zeit der Einwirkung . . . . .	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	18	$3\frac{1}{2}$
10 ccm Monobutyrynlösung . . . . .	0,05	0,05	0,05	0,05
10 ccm Monobutyryn + 1 ccm Sodalösung	0,05	0,05	0,05	0,05
10 ccm Monobutyryn + 1 ccm aufgekochten Darmsaftes . . . . .	0,2	0,1	0,2	0,1
10 ccm Monobutyryn + 1 ccm normalen Darmsaftes . . . . .	1,4	1,4	2,5	1,5
II. Probe.				
Zeit der Einwirkung . . . . .	$\frac{1}{2}$	2	12	34
5 ccm Monobutyrynlösung . . . . .	0,05	0,05	0,05	0,05
5 ccm Monobutyryn + 0,1 ccm unverändertes Eiweiß . . . . .	0,05	0,05	0,05	0,05
5 ccm Monobutyryn + 0,3 ccm unverändertes Eiweiß . . . . .	0,05	0,05	0,05	0,05
5 ccm Monobutyryn + 0,5 ccm unverändertes Eiweiß . . . . .	0,05	0,05	0,05	0,25
5 ccm Monobutyryn + 0,5 ccm aufgekochtes Eiweiß . . . . .	0,2	0,15	0,15	0,4
5 ccm Monobutyryn + 1 ccm unverändertes Eiweiß . . . . .	0	0,1	0,15	0,2
5 ccm Monobutyryn + 1 ccm aufgekochtes Eiweiß . . . . .	0,3	0,3	0,25	0,7
5 ccm Monobutyryn + 2 ccm unverändertes Eiweiß . . . . .	0	0,05	0,15	0,2
5 ccm Monobutyryn + 2 ccm aufgekochtes Eiweiß . . . . .	0,6	0,4	0,5	2,5(!)

Anmerkung: Es ist bemerkenswert, daß koaguliertes Eiweiß das Monobutyryn viel energischer spaltet, als nicht koaguliertes.

die natürlichen Fette, besonders in emulgiertem Zustande, vom Darmsaft sogar in kurzer Zeit gespalten werden, und da diese Wirkung nach dem Aufkochen des Saftes verschwindet und weder durch die Anwesenheit von Alkalien, noch durch den Einfluß des Eiweißes, noch durch die Wirkung der Bakterien, noch durch andere zufällige Ursachen erklärt werden kann, so bleibt als einzige Ursache die Anwesenheit eines besonderen fettspaltenden Fermentes übrig.

Somit muß das allgemeine Gesetz von der Vielheit der Produktions- oder richtiger der Sekretionsorte der Verdauungsfermente auch auf das fettspaltende Ferment ausgedehnt werden, da seine Anwesenheit im Magensaft [Volhard<sup>(46)</sup>] im Pankreassaft und im Darmsaft bewiesen ist.

Meinem hochverehrten Lehrer Professor J. P. Pawlow spreche ich meinen herzlichsten Dank aus; ihm bin ich sowohl für meine physiologische Bildung als auch für die Möglichkeit überhaupt auf wissenschaftlichem Gebiet zu arbeiten verpflichtet. Großen Dank sage ich ihm auch für seine Anleitung bei Ausführung dieser Arbeit.

### Literatur.

1, 12 und 44. Schepowalnikoff, Physiologie des Darmsaftes, Dissert. St. Petersburg 1899.

2 und 27. Cohnheim, Diese Zeitschrift, 1901, Bd. XXXIII, S. 451, und 1902, Bd. XXXV, S. 134.

3 und 46. Volhard, Über das fettspaltende Ferment des Magens, Zeitschrift für klinische Medizin, 1901, Bd. XLII und XLIII, auch Münchener medizin. Wochenschrift, 1900.

4 und 29. Claude Bernard, Leçons sur les propriétés physiologiques et des différents liquides de l'organisme, Paris 1859, Bd. II, S. 373.

5 und 25. Schiff, Le sac intestinal des mammifères comme agent de la digestion, Archiv de physiologie normale et pathologique, 1892, Bd. IV, 4, S. 699.

6. Hermann, Ein Versuch zur Physiologie des Darmkanals, Pflügers Archiv, Bd. LXVI, 1890, S. 91—101.

7, 14 und 45. Heidenhain, Handbuch der Physiologie, herausgegeben von Hermann, 1886, Bd. V, T. 1.

8 und 10. Tiry, Über eine neue Methode, den Dünndarm zu isolieren, Wiener Sitzungsberichte, Bd. L, 1864, S. 77—96.

9 und 24. Vella, Neues Verfahren zur Gewinnung reinen Darm-

saftes und Feststellung seiner physiologischen Eigenschaften. Untersuchungen zur Naturlehre, herausgegeben von Moleschhoff, 1882.

13 und 15. Maly, Handbuch der Physiologie, herausgegeben von Hermann, Bd. V, T. II, H. 1.

11. Rhömann, Über Sekretion und Resorption im Dünndarm, Pflügers Archiv, Bd. XLI.

16. W. W. Sawitsch, Absonderung des Darmsaftes, Dissertation St. Petersburg, 1904.

17. Blondlot, Inutilité de la bile dans la digestion proprement dite, Comptes rendus de l'Académie des sciences, Paris 1851.

18. Baldi, Recherches experimentales sur la marche de la sécrétion biliaire. Archiv Ital. de Biologie 1883.

19. Hammarsten, Lehrbuch der physiologischen Chemie, 1899, S. 284—285.

20. Neumeister, Lehrbuch der physiol. Chemie, 1900, Bd. I.

21 und 37. Tigerstedt, Lehrbuch der Physiologie des Menschen, 1902, Bd. I, S. 269 und 321—326.

22. Frédéricq et Nuel, Lehrbuch der Physiologie des Menschen (in russischer Sprache), 1899, S. 307—308.

23. Oppenheimer, Die Fermente und ihre Wirkungen, 1900.

26. Schegaloff, Die Sekretionsarbeit des Magens bei Unterbindung der Pankreasgänge und über das proteolytische Ferment der Galle, Dissertation St. Petersburg, 1900.

28. S. S. Salaskin, Über die Anwesenheit im reinen Darmsaft des Hundes eines Albumosen resp. Pepton spaltenden Fermentes (des Erepsins Cohnheim), Russ. Archiv für Pathologie, der klin. Medizin und Bakteriologie, 1902.

30. Nencki, Über die Spaltung des Säureesters der Fettreihe und der aromatischen Verbindungen im Organismus und durch das Pankreas, Archiv für experim. Pathologie und Pharmakologie, Bd. XX.

31. Wistinghausen, Experimenta quaedam endosmotica de bilis in absorptione adipum neutralium partibus, Diss. Dorpat 1851.

32. Steiter, Archiv für Anatomie und Physiologie, 1874, S. 286.

33. Minkowski und 34. Hedon (siehe Landois, Lehrbuch der Physiologie des Menschen 1898, S. 375 (russ. Ausgabe).

35. Abelmann, Über die Ausnutzung der Nahrungsstoffe nach Pankreasexstirpation, Diss. Dorpat 1890.

36. Noorden, Lehrbuch der Pathologie des Stoffwechsels, 1897, S. 9 (russ. Ausgabe).

38. Constein, Pflügers Archiv, Bd. LXV, LXIX u. LXXVI, auch mediz. Woche, 1900.

39 und 43. Kastle und Loewenhardt, Concerning lipase, the fatt-splitting enzyme, and the reversibility of its action, American Chemical Journal, 1900, Bd. XXIV, S. 491.

40. W. Boldyreff, Periodische Erscheinungen im unteren Abschnitt des Verdauungskanals, Hospit. Gazett. von Botkin, 1902, Nr. 34.

41. Hanriot et Camus, Comptes rendus de l'Académie des sciences, 1897, Bd. CXXIV, S. 235.

44. Hanike, Über die physiologischen Bedingungen der Zerstörung und Konservierung der Fermente im Pankreassaft, Hospit. Gazett. von Botkin, 1901.

42. Dschergowski, Über die Filtration physiologisch aktiver Eiweißstoffe, Archives des Sciences de Biolog., 1895, Bd. IV, T. 3.

43. W. Boldyreff, Le travail périodique de l'appareil digestif en dehors de la digestion. Archives des Sciences Biologiques., J. XI, N. 1 und 2, 1905.

44. W. Boldyreff, Das fettspaltende Ferment des Darmsaftes. Zentralblatt für Physiologie, Bd. XVIII, N. 15, 1904.

