

# Beiträge zur Kenntnis der Autolyse.

Von

Dr. S. Yoshimoto aus Tokio (Japan).

---

Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 24. Dezember 1908.)

---

## I. Über den Einfluß der Kohlensäure auf die Autolyse.

Nachdem zuerst Biondi<sup>1)</sup> gezeigt hatte, daß die Autolyse (der Leber) durch leichte Ansäuerung des Chloroformwassers (auf 1 l kamen im ganzen 3 ccm Salzsäure von 1,124 D = 0,84 HCl zur Anwendung) auf mehr als das Doppelte gesteigert wird, wurde dieser Befund von Hedin und Rowland<sup>2)</sup> sowie von Hedin<sup>3)</sup> für verschiedene Organe bestätigt und dahin erweitert, daß die Steigerung auch dann eintritt, wenn die zuerst mit Säure behandelte Autolysemischung nachher alkalisiert wird. Zu demselben Resultat gelangten Levene und Stookey<sup>4)</sup> für das Nervengewebe unter Anwendung von Essigsäure. Weiterhin hat dann Arinkin<sup>5)</sup> die Wirkung verschiedener Säuren (Salzsäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure, Milchsäure und Bernsteinsäure) bei verschiedenen Konzentrationen systematisch untersucht und gefunden, daß sie alle die Autolyse befördern (am meisten dem Äquivalentgewicht nach die Milchsäure), sowie ferner, daß es für jede Säure ein bestimmtes Optimum gibt, über welches hinaus sie — offenbar durch Schädigung des proteolytischen Fermentes — nicht steigernd, sondern verzögernd

---

<sup>1)</sup> Virchows Archiv, Bd. CXLIV, S. 373 (1896).

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XXXII, S. 531 (1901).

<sup>3)</sup> Zentralblatt f. Physiologie, Bd. XIX, S. 349, u. Journal of Physiol., Bd. XXX, S. 155.

<sup>4)</sup> Biochem. Zentralblatt, Bd. II, S. 119.

<sup>5)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. LIII, S. 192.

wirkt. Auf die sonstigen Schlußfolgerungen von Arinkin soll hier nicht eingegangen werden.

Es fehlt nun noch eine Säure, welche für die Vorgänge im Organismus von besonderer Bedeutung sein könnte, nämlich die Kohlensäure.<sup>1)</sup> Wenn auch das Blut und alle Organe der allgemeinen Annahme nach auf Lackmus alkalisch reagieren, von freier Kohlensäure im Organismus im eigentlichen Wortsinne nicht die Rede sein kann, so ist doch anzunehmen, daß die Kohlensäure im Moment der Entstehung durch Oxydation der organischen Substanz in der Zelle nicht als vollkommen gebunden anzusehen ist, um so weniger, als sich auch die Eiweißkörper an der Bindung des Alkalis beteiligen.

Ich folgte daher sehr gern der Aufforderung von Prof. E. Salkowski, den Einfluß der Kohlensäure auf die Autolyse hinsichtlich des Eiweißes und Nucleoproteids zu untersuchen.

#### Allgemeine Versuchsanordnung.

Es wurden drei Mischungen angesetzt:

A. In einer 1,5 l fassenden weithalsigen Glasstöpselflasche wurden 100 g feingehackte frische Kalbsleber mit 1 l Chloroformwasser gut durchgeschüttelt.

B. Dieselbe Mischung, es wird jedoch 40 Minuten lang Kohlensäure eingeleitet, wobei die Mischung saure Reaktion annimmt.

C. Man verfährt wie bei A, jedoch unter Anwendung von destilliertem Wasser statt Chloroformwasser. Die Mischung wurde zum Sieden erhitzt, um die Fermente zu zerstören, nach völligem Erkalten 5 ccm Chloroform zugesetzt und gut durchgeschüttelt.

Die drei Mischungen wurden nun gleichzeitig in einen großen Trockenschrank gesetzt, dessen Temperatur zwischen 25—28° C. betrug. Die niedrigere Temperatur statt der sonst angewendeten 40° im Thermostaten wurde gewählt, weil bei 40° ein zu großer Teil der Kohlensäure entwichen wäre. Um den

---

<sup>1)</sup> Inzwischen ist die Arbeit von Belazzi (Diese Zeitschrift, Bd. LVII, S. 389) erschienen, welche auch die Kohlensäure berücksichtigt.

Einfluß der niedrigeren Temperatur auszugleichen, wurden die Mischungen nicht wie sonst 3 Tage, sondern 6 Tage unter öfterem Umschütteln digeriert.

Nach 6 Tagen wurden die beiden Mischungen A und B, welche sauer reagierten, zum Sieden erhitzt, alle Mischungen nach dem Erkalten auf 1 l (einschließlich der festen Substanz) mit destilliertem Wasser aufgefüllt und durch ein trockenes Filter in einen mit Marke am Halse versehenen Kolben von 800 ccm Inhalt filtriert. Das Filtrat wurde auf dem Wasserbade auf etwas weniger als 400 ccm eingedampft, nach völligem Erkalten auf 400 ccm aufgefüllt und wiederum durch ein trockenes Filter filtriert. So wurde eine konzentriertere, von koagulierbaren Substanzen freie, Lösung erhalten und zwar in A für die gewöhnliche Autolyse mit Chloroformwasser, in B für dieselbe unter dem Einfluß von Kohlensäure, in C für die ohne Fermentation in Lösung gehenden N-haltigen Substanzen. Die quantitative Bestimmung von Gesamtstickstoff, Monaminosäurestickstoff,<sup>1)</sup> Albumosenstickstoff und Purinbasenstickstoff geschah nach der von Drjewski und anderen benutzten hier üblichen Methode. Man erhielt durch die Analyse:

1. Gesamtstickstoff.
2. Sog. Monaminosäurenstickstoff.
3. Albumosenstickstoff.
4. Purinbasenstickstoff.

Die Differenz zwischen dem Gesamtstickstoff und der Summe von 2, 3 und 4 ergibt den Stickstoff der Diaminosäuren + Pepton + Ammoniak.

Im einzelnen wurde folgendermaßen verfahren:

1. Gesamtstickstoff in 20 ccm<sup>2)</sup> der Lösung unter Anwendung von Quecksilberoxyd nach Kjeldahl, doppelt ausgeführt.

2. Monaminosäurestickstoff. 50 ccm der Lösung mit 5 ccm Salzsäure von 1,124 D angesäuert, mit 10% iger Phosphorwolframsäure völlig ausgefällt, die Mischung auf 100 ccm (samt Niederschlag) aufgefüllt, durch ein trockenes Filter filtriert, vom Filtrat 20 ccm zur Bestimmung des N nach Kjeldahl.

3. Albumosenstickstoff. 50 ccm mit 1 ccm verdünnter Schwefelsäure angesäuert, mit gepulvertem Zinksulfat gesättigt nach Baumann und Bömer.<sup>3)</sup> Das Gemisch wurde nach den Angaben von E. Rosen-

---

<sup>1)</sup> Dieser Ausdruck ist hier, wie in den früheren Arbeiten in dieser Richtung nur in dem Sinne gebraucht, daß in dieser Kategorie die Monaminosäuren überwiegen, es fällt darunter auch der Harnstoff, Allantoin, wenn vorhanden, usw.

<sup>2)</sup> Alle Abmessungen zur Analyse geschahen mit Meßpipetten.

<sup>3)</sup> Vgl. Diese Zeitschrift, Bd. XXVII, S. 219.

berg <sup>1)</sup> 24 Stunden lang stehen gelassen, filtriert, der Niederschlag mit angesäuerter Zinksulfatlösung gut ausgewaschen, etwas trocknen gelassen, dann im Kjeldahlkolben mit Schwefelsäure erhitzt. Die Erhitzung ließ sich gut zu Ende führen.

4. Purinbasenstickstoff. 100 ccm wurden mit Ammoniak leicht alkalisiert, von den ausgeschiedenen Phosphaten abfiltriert und nachgewaschen, das Filtrat unter weiterem Zusatz von Ammoniak mit 3%iger Silbernitratlösung gefällt. Nach 10—12 stündigem Stehen im Dunkeln wurde abfiltriert, der Niederschlag gut ausgewaschen, trocknen gelassen, dann samt Filter kjeldahlisiert.

Alle Analysenzahlen wurden auf 1 kg Leber umgerechnet.

Tabelle I. — I. CO<sub>2</sub>-Versuch.

Auf 1 kg umgerechnet	A. mit Chloroform- wasser		B. mit CO <sub>2</sub>		C. mit Chloroform- wasser (ohne Ferment)	
	N in g	% des N	N in g	% des N	N in g	% des N
Gesamt-N . . . . .	6,776	—	9,760	—	2,576	—
Monoaminosäuren-N . . . .	4,872	71,80	7,112	72,86	1,568	60,87
Albumosen-N . . . . .	0,818	12,07	1,355	13,88	0,728	28,26
Purinbasen-N . . . . .	0,364	5,37	0,963	9,86	0,123	4,77
Diaminosäuren-, Pepton- und NH <sub>3</sub> -N . . . . .	0,722	10,65	0,330	3,38	0,157	6,09

Tabelle II. — II. CO<sub>2</sub>-Versuch.

Auf 1 kg umgerechnet	A. mit Chloroform- wasser		B. mit CO <sub>2</sub>		C. mit Chloroform- wasser (ohne Ferment)	
	N in g	% des N	N in g	% des N	N in g	% des N
Gesamt-N . . . . .	6,608	—	10,220	—	2,240	—
Monoaminosäuren-N . . . .	3,920	59,32	5,992	58,63	1,512	67,50
Albumosen-N . . . . .	0,784	11,86	1,120	10,96	0,616	27,50
Purinbasen-N . . . . .	0,504	7,62	0,874	8,56	0,101	4,51
Diaminosäuren-, Pepton- und NH <sub>3</sub> -N . . . . .	1,400	21,18	2,234	21,86	0,011	0,49

<sup>1)</sup> Zeitschrift für klin. Medizin, Bd. 76, S. 1.

Tabelle III. — III. CO<sub>2</sub>-Versuch.

Auf 1 kg umgerechnet	A. mit Chloroform- wasser		B. mit CO <sub>2</sub>		C. mit Chloroform- wasser (ohne Ferment)	
	N in g ‰ des N		N in g ‰ des N		N in g ‰ des N	
Gesamt-N . . . . .	6.748	—	10.024	—	3.136	—
Monoaminosäuren-N . . . .	3.920	58,09	5.288	52,77	1.512	52,87
Albumosen-N . . . . .	0.907	13,44	1.490	14,80	0.678	21,62
Purinbasen-N . . . . .	0.465	6,95	0.969	9,67	0.084	2,68
Diaminosäuren-, Pepton- und NH <sub>3</sub> -N . . . . .	1.456	21,58	2.277	22,73	0.862	27,49

Tabelle IV. — IV. CO<sub>2</sub>-Versuch.

Auf 1 kg umgerechnet	A. mit Chloroform- wasser		B. mit CO <sub>2</sub>		C. mit Chloroform- wasser (ohne Ferment)	
	N in g ‰ des N		N in g ‰ des N		N in g ‰ des N	
Gesamt-N . . . . .	7,028	—	10,080	—	2,464	—
Monoaminosäuren-N . . . .	4,256	60,56	5,600	55,55	1,624	65,92
Albumosen-N . . . . .	1,187	16,89	1,534	15,22	0,616	25,00
Purinbasen-N . . . . .	0,622	8,85	0,762	7,56	0,062	2,52
Diaminosäuren-, Pepton- und NH <sub>3</sub> -N . . . . .	0,963	13,70	2,184	21,67	0,162	6,58

Tabelle V. — V. CO<sub>2</sub>-Versuch.

Auf 1 kg umgerechnet	A. mit Chloroform- wasser		B. mit CO <sub>2</sub>		C. mit Chloroform- wasser (ohne Ferment)	
	N in g ‰ des N		N in g ‰ des N		N in g ‰ des N	
Gesamt-N . . . . .	6,664	—	10,332	—	2,548	—
Monoaminosäuren-N . . . .	3,640	54,63	5,924	58,68	1,624	63,74
Albumosen-N . . . . .	0,874	13,12	1,478	14,31	0,672	26,38
Purinbasen-N . . . . .	0,489	7,34	0,918	8,88	0,100	3,93
Diaminosäuren-, Pepton- und NH <sub>3</sub> -N . . . . .	1,661	24,93	1,912	18,51	0,152	5,97

Tabelle VI.

## I. Gesamt-N.

Nr. des Versuches	A.		B.		C.	
	mit Chloroformwasser N in g		mit CO <sub>2</sub> N in g		mit Chloroformwasser (ohne Ferment) N in g	
I	6,776		9,760		2,576	
II	6,608		10,220		2,240	
III	6,748		10,024		3,136	
IV	7,028		10,080		2,464	
V	6,664		10,332		2,548	
Mittelzahl . . .	6,765		10,083		2,593	

Tabelle VII.

## II. Monoaminosäuren-N.

Nr. des Versuches	A.		B.		C.	
	mit Chloroformwasser		mit CO <sub>2</sub>		mit Chloroformwasser (ohne Ferment)	
	N in g	% des N	N in g	% des N	N in g	% des N
I	4,872	71,80	7,112	72,86	1,568	60,87
II	3,920	59,32	5,992	58,63	1,512	67,50
III	3,920	58,09	5,288	52,77	1,512	52,87
IV	4,256	60,56	5,600	55,55	1,624	65,92
V	3,640	54,63	5,924	58,68	1,624	63,74
Mittelzahl	4,121	60,88	5,983	59,69	1,568	62,18

Tabelle VIII.

## III. Albumosen-N.

Nr. des Versuches	A.		B.		C.	
	mit Chloroformwasser		mit CO <sub>2</sub>		mit Chloroformwasser (ohne Ferment)	
	N in g	% des N	N in g	% des N	N in g	% des N
I	0,818	12,07	1,355	13,88	0,728	28,26
II	0,784	11,86	1,120	10,96	0,616	27,50
III	0,907	13,44	1,490	14,80	0,678	21,62
IV	1,187	16,89	1,534	15,22	0,616	25,00
V	0,874	13,12	1,478	14,31	0,672	26,38
Mittelzahl	0,914	13,48	1,395	13,83	0,662	25,75

Tabelle IX.  
IV. Purinbasen-N.

Nr. des Versuches	A. mit Chloroformwasser		B. mit CO <sub>2</sub>		C. mit Chloroformwasser (ohne Ferment)	
	N in g	%	N in g	%	N in g	%
I	0,364	5,37	0,963	9,86	0,123	4,77
II	0,504	7,62	0,874	8,56	0,101	4,51
III	0,465	6,95	0,969	9,67	0,084	2,68
IV	0,622	8,85	0,762	7,56	0,062	2,52
V	0,489	7,34	0,918	8,88	0,100	3,93
Mittelzahl	0,489	7,23	0,897	8,91	0,094	3,68

Tabelle X.  
V. Diaminosäure-, Pepton- und NH<sub>3</sub>-N.

Nr. des Versuches	A. mit Chloroformwasser		B. mit CO <sub>2</sub>		C. mit Chloroformwasser (ohne Ferment)	
	N in g	%	N in g	%	N in g	%
I	0,722	10,65	0,330	3,38	0,157	6,09
II	1,400	21,18	2,234	21,86	0,011	0,49
III	1,456	21,58	2,277	22,73	0,862	27,49
IV	0,963	13,70	2,184	21,67	0,162	6,58
V	1,661	24,93	1,912	18,51	0,152	5,97
Mittelzahl	1,240	18,41	1,787	17,63	0,269	9,32

Tabelle XI.  
(Mittelzahl von 5 Versuchen.)

Auf 1 kg umgerechnet	A. mit Chloroformwasser		B. mit CO <sub>2</sub> -Lösung		C. mit Chloroformwasser (ohne Ferment)	
	N in g	%	N in g	%	N in g	%
Gesamt-N . . . . .	6,765	—	10,083	—	2,593	—
Monoaminosäuren-N . . . . .	4,122	60,88	5,983	59,69	1,568	62,18
Albumosen-N . . . . .	0,914	13,48	1,395	13,83	0,662	25,75
Purinbasen-N . . . . .	0,489	7,23	0,897	8,91	0,094	3,68
Diaminosäuren-N, Peptone + NH <sub>3</sub> . . . . .	1,240	18,41	1,787	17,63	0,269	9,32

Aus den Tabellen ist ersichtlich, daß alle Zahlen in den Versuchen B größer sind als in A, mit einer Ausnahme in Tabelle I, welche die Gruppe Diaminosäure usw. betrifft. Hier finden wir in A die Zahl 0,722, in B dagegen nur 0,330; möglicherweise liegen hier Fehler vor. Es ist dadurch erwiesen, daß die Kohlensäure befördernd auf die Autolyse einwirkt, in Übereinstimmung mit dem Ergebnis der oben erwähnten Arbeit von Belazzi.

Es schien mir von Interesse, die erhaltenen Zahlen noch in anderer Weise zu gruppieren, die gleichfalls zeigt, daß die Spaltung des Eiweißes und Nucleoproteids bei Gegenwart von Kohlensäure sehr beträchtlich gesteigert ist. Aus Tabelle XI geht hervor, daß die Quantität der einzelnen Gruppen unter dem Einfluß der Kohlensäure fast genau oder doch sehr annähernd denselben Bruchteil des Gesamtstickstoffs ausmacht wie bei der Chloroformautolyse ohne Kohlensäure. Man kann daraus schließen, daß die Art des Ablaufs der Autolyse durch die Kohlensäure nur quantitativ, nicht qualitativ geändert wird.

## II. Die Autolyse unter dem Einfluß verschiedener antiseptischer Substanzen.

Bei den zahlreichen in neuerer Zeit ausgeführten Untersuchungen über die antiseptische Autolyse außerhalb des Organismus ist bisher ein Punkt kaum berücksichtigt worden, nämlich der Einfluß der angewendeten antiseptischen Substanzen auf den Umfang der Autolyse. Ganz überwiegend ist bisher das von E. Salkowski zum Nachweis der Fermente überhaupt eingeführte Chloroformwasser benutzt worden, häufig auch das von Emil Fischer zuerst bei seinen Untersuchungen über die Fermente der Hefe benutzte Toluolwasser. Manche Autoren haben auch Chloroform und Toluol gleichzeitig angewendet. Biondi hat den Verlauf der Autolyse bei Anwendung von zwei anderen antiseptischen Mitteln untersucht, nämlich von Fluornatrium und von Thymol. In einer 1%igen Fluornatriumlösung ging die Autolyse ebenso vor sich wie in Chloroformwasser, jedoch um ein Geringes schwächer. Irgendwelche Vorzüge hat das Fluornatrium nicht, im Gegenteil verursacht es Unbequem-

lichkeiten für den Fall, daß man die in Lösung gegangene anorganische Substanz bestimmen will. Thymolwasser (1 p. M.) erwies sich als unfähig, Fäulnis zu verhüten. Sehr gern folgte ich bei dieser Sachlage der Aufforderung von Prof. Salkowski, den Einfluß einer Anzahl anderer antiseptischer Substanzen auf die Autolyse zu untersuchen, und spreche demselben für seine Unterstützung und Hilfe bei dieser Arbeit meinen verbindlichsten Dank aus.

Die von mir untersuchten Substanzen sind die Borsäure, Salicylsäure, Senföl und Alkohol.

### I. Borsäure.

Es wurden folgende Lösungen angewendet:

- |                                  |                             |
|----------------------------------|-----------------------------|
| 1. Chloroformwasser.             | 6. Borsäure 2 ‰ ig.         |
| 2. Borsäure 5 ‰ ig ohne Ferment. | 7. » 1 ‰ ig.                |
| 3. » 5 ‰ ig.                     | 8. » 1/2 ‰ ig.              |
| 4. » 4 ‰ ig.                     | 9. » 1/2 ‰ ig ohne Ferment. |
| 5. » 3 ‰ ig.                     |                             |

Zu je 10 g Leberbrei wurden je 100 ccm Lösung von den obenerwähnten Konzentrationen mit einer Pipette hinzugefügt und in einer 150 ccm fassenden, weithalsigen Flasche mit Glasstöpsel je 72 Stunden lang unter zeitweiligem Umschütteln stehengelassen. Die Portionen II und IX wurden vor dem Einstellen in den Brutschrank 3 Minuten lang gekocht, um die Fermente abzutöten. Nach dem Erkalten wurden je 0,5 ccm Chloroform diesen beiden Portionen zugefügt und gut umgeschüttelt. Alle diese Flaschen wurden in einen Brutschrank von ca. 40° eingestellt.

Nach Beendigung der Autolyse reagierten alle Portionen stark sauer. Sie wurden zur Entfernung des Eiweißes nach Zusatz von 1 g Monokaliumphosphat<sup>1)</sup> 3 Minuten lang gekocht und nach dem Erkalten wieder auf 100 ccm einschließlich der festen Substanz aufgefüllt und durch trockene Filter filtriert.

Es ist hier, sowie in den Versuchen mit Salicylsäure, Senföl und Alkohol, nötig, eine bakteriologische Untersuchung

---

<sup>1)</sup> Nach Embden und Knop, Hofmeisters Beiträge, Bd. III, S. 123; außer in Versuch I, Tabelle XII.

der Autolyseflüssigkeiten vorzunehmen, um zu sehen, ob die Spaltung der Eiweißkörper allein durch Fermentwirkung oder durch die doppelte Wirkung von Ferment und Bakterien vor sich gegangen war. Deshalb machte ich mit jeder Portion eine Stichkultur auf Nährgelatine und beließ die Reagenzgläser bei Zimmertemperatur 2 bis 3 Wochen lang; näheres darüber sagen die Tabellen.

In je 80 ccm des Filtrates bestimmte ich den Stickstoff nach Kjeldahl unter Anwendung von Quecksilberoxyd und  $\frac{1}{10}$ -Normal-Natronlauge zur Titration. Der Stickstoff wurde auf 1 kg Leber umgerechnet.

Es wurden 3 Versuchsreihen angestellt, stets von 70 bis 72 Stunden Dauer. Über die erhaltenen Resultate sowie über den Ausfall der Impfung geben die nachfolgenden Tabellen XII bis XVIII Auskunft.

Tabelle XII.

## I. Borsäureversuchsreihe.

Nr. des Versuches	Kalbsleber in g	Prozentsatz der Säure	$\frac{1}{10}$ -n- $H_2SO_4$ verbraucht in ccm	N auf 1000 Leber umgerechnet in g
I	10	Chloroformwasser 100 g	10,9	6,104
II	10	5 <sup>o</sup> / <sub>o</sub> (ohne Ferment) 100 »	4,4	2,460
III	10	5 <sup>o</sup> / <sub>o</sub> 100 »	23,1	12,936
IV	10	4 <sup>o</sup> / <sub>o</sub> 100 »	22,6	12,656
V	10	3 <sup>o</sup> / <sub>o</sub> 100 »	22,3	12,488
VI	10	2 <sup>o</sup> / <sub>o</sub> 100 »	22,8	12,768
VII	10	1 <sup>o</sup> / <sub>o</sub> 100 »	26,1	14,616
VIII	10	$\frac{1}{2}$ <sup>o</sup> / <sub>o</sub> 100 »	24,7	13,832
IX	10	$\frac{1}{2}$ <sup>o</sup> / <sub>o</sub> (ohne Ferment) 100 »	4,3	2,410

Tabelle XIII.  
Borsäureversuch I.

23./III. geimpft	24./III.	26./III.	28./III.	30./III.	1./IV.	3./IV.	5./IV.	7./IV.
Kontrolle	—	—	—	—	—	—	—	—
1. Chloroform- wasser	—	—	—	—	—	—	—	—
2. 5% Lösung (ohne Ferment)	—	—	—	—	—	—	—	—
3. 5% Lösung	—	+	+	+	+	+	+	+ <sup>1)</sup>
4. 4% »	—	—	—	—	—	—	—	—
5. 3% »	—	—	—	—	—	—	—	—
6. 2% »	—	—	—	—	—	—	—	—
7. 1% »	—	—	—	—	—	—	—	—
8. 1/2% »	+	+	+	+	+	+	+	+
9. 1/2% » (ohne Ferment)	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle XIV.  
II. Borsäureversuchsreihe.

Nr. des Ver- suches	Kalbs- leber in g	Prozentsatz der Säure	<sup>1</sup> / <sub>10</sub> -n-H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> verbraucht in ccm	N auf 1000 Leber umgerechnet in g
I	10	Chloroformwasser 100 g	8,0	4,800
II	10	5% (ohne Ferment) 100 »	4,0	2,630
III	10	5% 100 »	19,0	10,640
IV	10	4% » 100 »	18,9	10,584
V	10	3% 100 »	16,7	9,352
VI	10	2% 100 »	16,8	9,352
VII	10	1% 100 »	20,3	11,368
VIII	10	1/2% 100 »	20,3	11,368
IX	10	1/2% (ohne Ferment) 100 g	4,7	2,630

1) Augenscheinlich Versuchsfehler.

Tabelle XV.  
Borsäureversuch II.

27./III. geimpft	29. III.	30. III.	31. III.	I. IV.	2. IV.	4./IV.	6./IV.	8. IV.	10. IV.	12. IV.
Kontrolle	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1. Chloroform- wasser	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2. 5 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> Lösung (gekocht)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3. 5 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> Lösung	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3. 4 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> »	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5. 3 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> »	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6. 2 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> »	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7. 1 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> »	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8. 1/2 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> »	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9. 1/2 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> » (gekocht)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle XVI.

## III. Borsäureversuchsreihe.

Nr. des Ver- suches	Kalbs- leber in g	Prozentsatz der Säure	1/10-n-H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> verbraucht in ccm	N auf 1000 Leber umgerechnet in g
I	10	Chloroformwasser 100 g	15,2	7,713
II	10	5 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> (ohne Ferment) 100 »	3,9	2,180
III	10	5 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> 100 »	22,8	12,768
IV	10	4 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> 100 »	21,6	12,096
V	10	3 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> 100 »	20,6	11,536
VI	10	2 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> 100 »	18,9	10,584
VII	10	1 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> 100 »	21,9	12,264
VIII	10	1/2 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> 100 »	22,3	12,488
IX	10	1/2 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> (ohne Ferment) 100 »	4,0	2,240

Tabelle XVII.  
Borsäureversuch III.

15./V. geimpft	16./V.	18./V.	20./V.	23./V.	25./V.	27./V.	29./V.	1./IV.	3./VI.
Kontrolle	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1. Chloroform- wasser	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2. 5 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> Lösung (ohne Ferment)	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3. 5 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> Lösung	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4. 4 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> »	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5. 3 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> »	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6. 2 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> »	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7. 1 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> »	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8. 1/2 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> »	—	+	+	+	+	+	+	+	+
9. 1/2 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> » (ohne Ferment)	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle XVIII.  
Borsäureversuche. — Mittelzahlen.

Nr. des Ver- suches	Prozente der Säure	I. Versuchs- reihe	II. Versuchs- reihe	III. Versuchs- reihe	Mittelzahl
1	Chloroform- wasser	6,104	4,800	7,713	6,205
2	5 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> Lösung (ohne Ferment)	2,460	2,630	2,180	2,420
3	5 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> Lösung	12,936	10,640	12,768	12,115
4	4 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> »	12,656	10,584	12,096	11,779
5	3 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> »	12,488	9,352	11,536	11,125
6	2 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> »	12,768	9,352	10,584	10,901
7	1 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> »	14,616	11,368	12,264	12,749
8	1/2 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> »	13,822	11,368	12,488	12,563
9	1/2 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> » (ohne Ferment)	2,410	2,630	2,240	2,430

Ein Blick auf Tabelle XVIII zeigt, daß der numerische Unterschied in den Versuchen 3 bis 7 in der letzten Kolumne kein großer ist, daß jedoch jede Zahl dieser Reihe ungefähr doppelt so groß ist wie die Norm (6,205).

Bei dem Versuch II (Versuchsreihe in Tabelle XVIII) passierte es, daß die Flammen des Brutschrankes, in welchem meine Versuchsfläschchen eingestellt waren, eine Zeitlang nicht brannten. Die geringe Gesamtmenge Stickstoff in Kolumne II (ausgenommen 2 und 9) ist wohl hierauf zurückzuführen, doch ist zu beachten, daß die bei den verschiedenen Konzentrationen der Borsäurelösungen gefundenen Mengen Stickstoff immerhin in denselben Verhältnissen zu einander stehen, wie in den Kolumnen I und III. Wenn man die Zahlen in den beiden Kolumnen 2 und 9 betrachtet, so sieht man klar, daß der Konzentrationsunterschied der Borsäure (5% gegen 1—2%) im Kontrollversuch nicht den geringsten Einfluß hat (Nr. 2 2,420, Nr. IX 2,430).

## II. Salicylsäure.

Salicylsäure ist bekanntlich in Wasser sehr schwer löslich, deshalb bereitete ich die Autolyseflüssigkeit in folgender Weise: Das chemisch reine Präparat von Kahlbaum wurde in Überschuß in ca. 500 ccm destilliertem Wasser gebracht, ein paar Minuten lang gekocht und dann bis zum nächsten Morgen stehen gelassen und geschüttelt. Die Säurelösung wurde von dem ausgeschiedenen Überschuß abfiltriert und diese kaltgesättigte Lösung als Autolyseflüssigkeit gebraucht, außerdem eine Mischung mit überschüssiger Salicylsäure 1 : 100 angesetzt.

Ich setzte folgende Mischungen an:

I. Chloroformwasser	100 ccm
II. Lösung mit Überschuß (1 : 100)	100 »
III. Gesättigte Lösung	100 »
IV. » » (ohne Ferment)	100 »
V. $\frac{1}{2}$ gesättigte Lösung	100 »
VI. $\frac{1}{4}$ » »	100 »
VII. $\frac{1}{4}$ » » (ohne Ferment)	100 »

Immer wurden 10 g frische Kalbsleber abgewogen und in jede Autolyseflüssigkeit gebracht. Nr. IV und VII wurden vor dem Einbringen in den Brutschrank 3 Minuten lang gekocht. Die Dauer der Autolyse, Temperatur des Brutschranks, Impfversuch auf Gelatinenährboden waren ganz wie bei den vorherigen Versuchen, ebenso die Stickstoffbestimmung.

Es wurden 3 Versuchsreihen angestellt, deren Ergebnisse in den Tabellen XIX, XXI, XXIII, sowie in der Übersichtstabelle XXV enthalten sind. In allen Fällen wirkt der Überschuß von Salicylsäure störend, während ebenso ohne Ausnahme in den Salicylsäurelösungen die Autolyse mehr als doppelt so stark ist, wie in den Mischungen mit Chloroformwasser. Das Optimum für die Salicylsäure liegt bei der halbgesättigten Lösung, jedoch erwies sich die Mischung in 2 Fällen nicht steril, nur die Entwicklung verzögert.

Tabelle XIX.

## I. Salicylsäureversuchsreihe.

Nr. des Versuches	Kalbsleber in g	Konzentration der Säure	$\frac{1}{10}$ -n-H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> verbraucht in ccm	N auf 1000 Leber umgerechnet in g
I	10	Chloroformwasser 100 ccm	14,3	8,048
II	10	Überschüss. Lösg. d. Säure 100 »	7,9	4,424
III	10	Gesättigte Lösung 100 »	32,1	17,776
IV	10	Gesätt. Lösg. (ohne Ferm.) 100 »	5,8	3,248
V	10	$\frac{1}{2}$ gesättigte Lösung 100 »	34,7	19,408
VI	10	$\frac{1}{4}$ » » 100 »	27,8	14,768
VII	10	$\frac{1}{4}$ » » 100 » (ohne Ferment)	5,9	3,304

## Tabelle XX.

## Salicylsäureversuch I.

4./V. geimpft	5./V.	6./V.	8./V.	10./V.	12./V.	14./V.	16. V.	18./V.	19./V.	21./V.
Kontrolle	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1. Chloroform- wasser	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2. Überschüss. Lösung	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3. Gesättigte Lösung	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4. Gesätt. Lösg. (gekocht)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5. $\frac{1}{2}$ gesättigte Lösung	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6. $\frac{1}{4}$ gesättigte Lösung	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7. $\frac{1}{4}$ gesätt. Lös. (gekocht)	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+

## Tabelle XXI.

## II. Salicylsäureversuchsreihe.

Nr. des Ver- suches	Kalbs- leber in g	Konzentration der Säure	$\frac{1}{10}$ -n-H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> verbraucht in ccm	N auf 100 Leber um- gerechnet in g
I	10	Chloroformwasser	100 ccm	5,600
II	10	Überschüssige Lösung	100 »	3,696
III	10	Gesättigte Lösung	100 »	16,088
IV	10	Gesätt. Lösg. (ohne Ferm.)	100 »	3,248
V	10	$\frac{1}{2}$ gesättigte Lösung	100 »	17,640
VI	10	$\frac{1}{4}$ »	100 »	16,744
VII	10	$\frac{1}{4}$ » (ohne Ferment)	100 »	3,304

Tabelle XXII.  
Salicylsäureversuch II.

8./V. geimpft	9./V.	11./V.	13./V.	15./V.	16./V.	18./V.	20./V.	22./V.	24./V.	26./V.	27./V.
Kontrolle	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1. Chloroform- wasser	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2. Überschüss. Lösung	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3. Gesättigte Lösung	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4. Gesätt. Lösg. (gekocht)	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+
5. $\frac{1}{2}$ gesättigte Lösung	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+
6. $\frac{1}{4}$ gesättigte Lösung	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7. $\frac{1}{4}$ gesätt. Lös. (gekocht)	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tabelle XXIII.

## III. Salicylsäureversuchsreihe.

Nr. des Ver- suches	Kalbs- leber in g	Konzentration der Säure	$\frac{1}{10}$ -n-H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> verbraucht in ccm	N auf 100 Leber um- gerechnet in g	
I	10	Chloroformwasser	100 ccm	11,8	6,608
II	10	Überschüssige Lösung	100 »	5,4	3,024
III	10	Gesättigte »	100 »	22,8	12,768
IV	10	Gesätt. Lösg. (ohne Ferm.)	100 »	4,8	2,688
V	10	$\frac{1}{2}$ gesättigte Lösung	100 »	26,4	14,784
VI	10	$\frac{1}{4}$ » »	100 »	25,8	14,448
VII	10	$\frac{1}{4}$ » » (ohne Ferment)	100 »	4,7	2,632

Tabelle XXIV.  
Salicylsäureversuch III.

	11./V. geimpft	12./V.	13./V.	15./V.	18./V.	20./V.	22./V.	24./V.	26./V.	28./V.
	Kontrolle	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1.	Chloroform- wasser	—	+	+	+	+	+	+	+	+
2.	Überschüss. Lösung	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3.	Gesättigte Lösung	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4.	Gesätt. Lösg. (gekocht)	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5.	$\frac{1}{2}$ gesättigte Lösung	—	—	—	—	—	—	+	+	+
6.	$\frac{1}{4}$ gesättigte Lösung	—	+	+	+	+	+	+	+	+
7.	$\frac{1}{4}$ gesätt. Lös. (gekocht)	—	—	+	+	+	+	+	+	+

Tabelle XXV.  
Salicylsäureversuchsreihe.

Nr. des Ver- suches		I.	II.	III.	Mittel- zahl
1.	Chloroformwasser	8,048	5,600	6,608	6,752
2.	Überschüssige Lösung	4,424	3,696	3,024	3,715
3.	Gesättigte Lösung	17,776	16,088	12,768	15,544
4.	Gesätt. Lösg. (ohne Ferment)	3,248	3,248	2,688	3,061
5.	$\frac{1}{2}$ gesättigte Lösung	19,408	17,640	14,784	17,277
6.	$\frac{1}{4}$ » »	14,768	16,744	14,448	15,320
7.	$\frac{1}{4}$ gesätt. Lösg. (ohne Ferm.)	3,304	3,304	2,632	3,080

### III. Senföl.

Das Senföl löst sich bekanntlich ziemlich schwer im Wasser. 5 g Senföl werden mit 1 l destilliertem Wasser in einer Schüttelmaschine eine Stunde lang geschüttelt. Nach dem Absetzen

des überschüssigen Senföles wurde durch ein trockenes Filter filtriert und das klare Filtrat als solches und in Verdünnungen von  $\frac{1}{2}$ ,  $\frac{1}{4}$  und  $\frac{1}{8}$  als Autolyseflüssigkeit gebraucht. Es wurden folgende Versuche angestellt:

I.	Chloroformwasser	100 ccm
II.	» (ohne Ferment)	100 »
III.	Lösung mit Überschuß von Senföl <sup>1)</sup>	100 »
IV.	Gesättigte Lösung, filtriert	100 »
V.	$\frac{1}{2}$ » » »	100 »
VI.	$\frac{1}{4}$ » » »	100 »
VII.	$\frac{1}{8}$ » » »	100 »

Wieder wurden genau 10 g Leberbrei in jede Autolyseflüssigkeit gebracht. Portion 2 wurde zur Vernichtung der Fermente 3 Minuten lang gekocht, im übrigen wurden alle Portionen wie in den früheren Versuchen behandelt.

Dauer der Autolyse 70—72 Stunden. Nr. VII ( $\frac{1}{8}$  Lösung) wurde in der ersten Versuchsreihe nicht untersucht.

Tabelle XXVI.

## I. Senfölersuchsreihe.

Nr. des Versuches	Kalbshaler in g	Konzentration des Öls	$\frac{1}{10}$ -n-H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> verbraucht in ccm	N auf 1000 Leber umgerechnet in g
I	10	Chloroformwasser 100 ccm	15,1	8,456
II	10	» (ohne Ferm.) 100 »	3,8	2,128
III	10	Überschüssige Öllösung 100 »	10,4	5,824
IV	10	Filtrierte klare Lösung 100 »	8,9	4,984
V	10	$\frac{1}{2}$ filtrierte Lösung 100 »	15,2	8,512
VI	10	$\frac{1}{4}$ » » 100 »	16,4	9,184

Im Vergleich zur Norm wurde die Autolyse in Nr. III und IV gehemmt, in Nr. VI etwas beschleunigt (9,184 gegen 8,456), doch scheint mir der Unterschied zwischen den beiden N-Mengen als relativ zu klein, um die Erscheinung ganz sicher als Wirkung des zugesetzten Senföls ansehen zu können, deshalb stellte ich

<sup>1)</sup> Es kam die Mischung, die durch die Maschine geschüttelt worden war, vor der Filtration in Anwendung.

in der folgenden Versuchsreihe einen Versuch an, wobei die Konzentration der Öllösung eine noch weit geringere war.

Die mit den Autolysemischungen geimpften Gelatineröhrchen wurden 3 Wochen lang bei Zimmertemperatur auf Gelatine-nährboden belassen und zeigten in allen Mischungen von I bis VI ein negatives Ergebnis.

Tabelle XXVII.  
II. Senfölvorsuchsreihe.

Nr. des Versuches	Kalbs-leber in g	Konzentration des Öls	$\frac{1}{10}$ -n-H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> -verbraucht in ccm	N auf 1000 Leber umgerechnet in g
I	10	Chloroformwasser 100 ccm	15,5	8,540
II	10	» (ohne Ferm.) 100 »	3,6	2,016
III	10	Überschüssige Öllösung 100 »	10,0	5,600
IV	10	Filtrierte klare Lösung 100 »	9,9	5,544
V	10	$\frac{1}{2}$ filtrierte Lösung 100 »	13,6	7,616
VI	10	$\frac{1}{4}$ » » 100 »	16,2	9,072
VII	10	$\frac{1}{8}$ » » 100 »	19,7	11,032

Kontrollimpfversuche, wie vorher ausgeführt und in allen Fällen negativ. Das Optimum befindet sich in Nr. III, die Autolyse ist in III, IV und V gehemmt.

Tabelle XXVIII.  
III. Senfölvorsuchsreihe.

Nr. des Versuches	Kalbs-leber in g	Konzentration des Öls	$\frac{1}{10}$ -n-H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> verbraucht in ccm	N auf 1000 Leber umgerechnet in g
I	10	Chloroformwasser 100 ccm	14,6	8,176
II	10	» (ohne Ferm.) 100 »	4,1	2,296
III	10	Überschüssige Ölsäure 100 »	10,6	5,896
IV	10	Filtrierte klare Lösung 100 »	10,9	6,104
V	10	$\frac{1}{2}$ filtrierte Lösung 100 »	15,4	8,624
VI	10	$\frac{1}{4}$ » » 100 »	17,5	9,800
VII	10	$\frac{1}{8}$ » » 100 »	21,1	11,816

In Nr. VII wurde das Optimum gefunden, in III und VI ist die Autolyse gehemmt, Kontrollimpfversuche sämtlich negativ.

Tabelle XXIX.  
Senfölversuchsreihe.

Nr. des Versuches	Konzentration des Öls		I. Versuchsreihe	II. Versuchsreihe	III. Versuchsreihe	Mittelzahl
I	Chloroformwasser	100 ccm	8,456	8,540	8,176	8,391
II	» (ohne Ferm.)	100 »	2,128	2,016	2,296	2,146
III	Überschüssige Lösung	100 »	5,824	5,600	5,896	5,773
IV	Filtrierte klare Lösung	100 »	4,984	5,544	6,104	5,544
V	1/2 filtrierte Lösung	100 »	8,512	7,616	8,624	8,251
VI	1/4 » »	100 »	9,184	9,072	9,800	9,352
VII	1/8 » »	100 »	—	11,032	11,816	11,424

Die Zahlen der Tabelle XXIX zeigen, daß die proteolytische Fermentwirkung der Leber in Senföllösung bei einer Konzentration 1/8 gesättigte Lösung am stärksten positiv beeinflusst wurde (11,424), daß sie dagegen sowohl durch eine überschüssige als auch durch eine gesättigte Senföllösung im Vergleich mit der Norm in beträchtlichem Maße gehemmt wurde (5,773 und 5,545 gegen 8,391), während bei einer Konzentration 1/2 gesättigte Lösung der autolytische Prozeß fast in gleichem Grade wie in der Norm vor sich geht. (8,251 gegen 8,391.)

#### IV. Alkohol.

Zu den Versuchen wurden Lösungen von 20%, 10%, 5% und 2,5% Alkohol absolutus benutzt. Es wurden folgende Versuche angestellt:

I.	Chloroformwasser	100 ccm
II.	» (ohne Ferment)	100 »
III.	20 % alkoholische Lösung	100 »
IV.	10 % » »	100 »
V.	5 % » »	100 »
VI.	2,5 % » »	100 »

Die Ausführung der Versuche geschah genau wie vorher.

## Tabelle XXX.

## I. Alkoholversuchsreihe.

Nr. des Versuches	Kalbsleber in g	Prozentsatz des Alkohols		$\frac{1}{10}$ -n-H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> verbraucht in ccm	N auf 1000 Leber umgerechnet in g
I	10	Chloroformwasser	100 ccm	12,0	6,720
II	10	» (ohne Ferm.)	100 »	3,6	2,016
III	10	20 % Alkohol	100 »	6,8	3,808
IV	10	10 % »	100 »	10,0	5,600
V	10	5 % »	100 »	nicht bestimmt, wegen des Zerbrechens der Flasche	
VI	10	2,5 % »	100 »	26,0	15,120

In III und IV ist die Autolyse gehemmt, in VI dagegen ziemlich stark beschleunigt, doch ist die Menge des Gesamtstickstoffs (15,120) hier so groß, daß mir fraglich erscheint, ob diese Vermehrung des Stickstoffs sich nicht auf Fäulniswirkungen zurückführen läßt, obwohl die Impfversuche für die betreffenden Proben in allen Fällen negativ ausfielen.

## Tabelle XXXI.

## II. Alkoholversuchsreihe.

Nr. des Versuches	Kalbsleber in g	Prozentsatz des Alkohols		$\frac{1}{10}$ -n-H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> verbraucht in ccm	N auf 1000 Leber umgerechnet in g
I	10	Chloroformwasser	100 ccm	13,4	7,504
II	10	» (ohne Ferm.)	100 »	4,5	2,526
III	10	20 % Alkohol	100 »	6,7	3,752
IV	10	10 % »	100 »	8,1	4,536
V	10	5 % »	100 »	23,5	13,160
VI	10	2,5 % »	100 »	22,2	12,432
VII	10	Destilliertes Wasser	100 »	23,3	13,048

Die Impfversuche zeigten in den Fällen I bis V ein negatives, in VI und VII ein positives Ergebnis. Die Tabelle zeigt, daß das Optimum (13,160) sich bei einer Konzentration von 5% befindet und daß in III und IV die Autolyse stark gehemmt wurde.

Tabelle XXXII.  
III. Alkoholversuchsreihe.

Nr. des Versuches	Kalbsleber in g	Prozentsatz des Alkohols	$\frac{1}{10}$ -n-H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> verbraucht in ccm	N auf 1000 Leber umgerechnet in g
I	10	Chloroformwasser 100 ccm	9,6	5,376
II	10	» (ohne Ferm.) 100 »	3,9	2,184
III	10	20% Alkohol 100 »	6,2	3,472
IV	10	10% » 100 »	6,9	3,864
V	10	5% » 100 »	16,4	9,184
VI	10	2,5% » 100 »	17,8	9,968
VII	10	Destilliertes Wasser 100 »	19,9	11,144

Die Impfversuche sind in I bis V negativ, in VI und VII positiv. Das Optimum (9,184) ist bei Nr. V gefunden worden.

Tabelle XXXIII.  
Alkoholversuchsreihe.

Nr. des Versuches	Prozentsatz des Alkohols	I. Versuchsreihe	II. Versuchsreihe	III. Versuchsreihe	Mittelzahl
I	Chloroformwasser 100 ccm	6,720	7,504	5,376	6,533
II	» (ohne Ferm.) 100 »	2,016	2,526	2,184	2,242
III	20% Alkohol 100 »	3,808	3,752	3,472	3,677
IV	10% » 100 »	5,600	4,536	3,864	4,666
V	5% » 100 »	—	13,160	9,184	11,172
VI	2,5% » 100 »	15,120	12,432	9,968	12,306
VII	Destilliertes Wasser 100 »	—	13,048	11,144	12,096

Die Tabelle XXXIII zeigt, daß die proteolytische Fermentwirkung der Leber ebenso wie bei der Senfölvorsuchsreihe von dem Konzentrationsgrad des Alkohols in verschiedener Weise beeinflußt wird, und zwar wirkt eine Konzentration von 5% Alkohol am günstigsten (11,172 N), während bei noch stärkerer Konzentration, also bei 10% und 20%, die Wirkung des Ferments stark gehemmt wurde. Wie die Mittelzahl 3,677 bei III zeigt, steht die Gesamtmenge Stickstoff bei 20% derjenigen von II (Chloroformwasser ohne Ferment 2,242) nahe. Mit anderen Worten, es wurde die Fermentwirkung der Leber bei der Einwirkung von 20%igem Alkohol sehr stark gehemmt. Die Zunahme der N-Menge bei den letzten beiden Versuchen VI und VII ist wohl verständlich durch die in den betreffenden Autolyseflüssigkeiten sich abspielenden Fäulniserscheinungen.

Die Wirkung von Borsäure, Salicylsäure, Senföl und Alkohol auf die proteolytische Fermentwirkung der Leber habe ich schließlich in der folgenden Übersichtstabelle zusammengefaßt.

Tabelle XXXIV.

Gelöster Stickstoff aus 1 Kilo Leber	A. in Chloroform- wasser	B. unter Wirkung von Versuchsmitteln	C. Kontroll- versuch (ohne Ferment)
1% Borsäure	6,205	12,749	2,430
1/2 gesättigte Salicylsäure	6,752	17,277	3,080
1/8 gesättigtes Senföl	8,391	11,424	2,146
5% Alkohol	6,533	11,172	2,242

Die Zahlen bezeichnen Stickstoff in Grammen auf 1 kg Leber umgerechnet im Mittel von je 3 Versuchsreihen. Jede Zahl in Kolumne B bezeichnet das Optimum der Versuchsreihe.

Die Optima lassen einen Vergleich über die Stärke des Einflusses der gebrauchten Mittel auf die Autolyse der Leber zu. Da die Optima in ganz verschiedenen Lebern gefunden wurden, diese aber in gewissen Grenzen ihre ihnen eigene Fermentwirkung haben, blieb noch der Versuch übrig, die verschiedenen konservierenden (antiseptischen) Substanzen in der

Konzentration der Optima an ein und derselben Leber anzuwenden.

Die angewendeten Lösungen waren also:

- I. Chloroformwasser
- II. » (ohne Ferment)
- III. Borsäure, 1 0/0 ig
- IV. Salicylsäure 1/2 gesättigte Lösung
- V. Senföl 1/8 gesättigte Lösung
- VI. Alkohol 5 0/0 ig.

Die Versuchsanordnung war wie bisher. Die Impfungen auf Nährgelatine hatten in allen Fällen ein negatives Resultat. Der Versuch wurde zweimal angestellt, die Resultate sind in Tabelle XXXV und XXXVI enthalten.

Tabelle XXXV.

Nr. des Versuches	Kalbsleber in g			$\frac{1}{10}$ -n-H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> verbraucht in ccm	N auf 1000 Leber umgerechnet in g
I	10	Chloroformwasser	100 ccm	9,3	5,208
II	10	» (ohne Ferm.)	100 »	4,3	2,408
III	10	1 0/0 Borsäure	100 »	18,2	10,172
IV	10	1/2 gesättigte Salicylsäure	100 »	23,0	12,880
V	10	1/8 gesättigtes Senföl	100 »	17,1	9,576
VI	10	5 0/0 Alkohol	100 »	16,5	9,240

Tabelle XXXVI.

Nr. des Versuches	Kalbsleber in g			$\frac{1}{10}$ -n-H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> verbraucht in ccm	N auf 1000 Leber umgerechnet in g
I	10	Chloroformwasser	100 ccm	11,8	6,608
II	10	» (ohne Ferm.)	100 »	4,5	2,520
III	10	1 0/0 Borsäure	100 »	22,3	12,488
IV	10	1/2 gesättigte Salicylsäure	100 »	25,9	14,504
V	10	1/8 gesättigtes Senföl	100 »	21,2	11,872
VI	10	5 0/0 Alkohol	100 »	17,5	9,800

Tabelle XXXVII enthält die Mittelzahlen der beiden Versuchsreihe 36 und 37.

Tabelle XXXVII.

Nr.	Aus 1 kg Leber in Lösung gegangen	Versuch 35	Versuch 36	Mittel	Chloro- form- wasser = 100
I	Chloroformwasser	5,208	6,608	5,908	100
II	» ohne Ferment	2,408	2,520	2,464	—
III	Borsäure, 1 <sup>o</sup> / <sub>10</sub> ig	10,172	12,488	11,33	192
IV	Salicylsäure, halbgesättigt	12,880	14,804	13,842	234
V	Senföhlwasser, <sup>1</sup> / <sub>8</sub> gesättigt	9,576	11,872	10,724	181
VI	Alkohol, 5 <sup>o</sup> / <sub>10</sub> ig	9,240	9,801	10,52	178

Es ist nunmehr ein Vergleich der Intensität der Autolyse unter der Einwirkung verschiedener antiseptischer Substanzen im Verhältnis zum Chloroformwasser möglich, indem man überall nur die Optima der Wirkung berücksichtigt. Setzt man die Autolyse mit Chloroformwasser = 100, so ist die

mit Borsäure	= 192
» Salicylsäure	= 234
» Senföhlwasser	= 181
» Alkohol	= 178

Von Interesse war es nun noch, zu sehen, wie viel von dem Stickstoffgehalt der Leber bei den verschiedenen Substanzen in Lösung geht.

Zu diesem Zweck benutzte ich einerseits die Resultate der zweiten Versuchsreihe in Tabelle XXXVI und andererseits machte ich eine Stickstoffbestimmung in derselben Leber, die zu der oben erwähnten Versuchsreihe gebraucht worden war.

Die quantitative N-Bestimmung der Leber wurde folgendermaßen ausgeführt: Ich wog 1,9577 Leberbrei in einer Platinschale, wobei die Ausführung der Abwägung möglichst schnell vor sich gehen mußte, um eine Verdunstung von Wasser zu vermeiden. Alsdann wurde der Inhalt der Platinschale mit 11 ccm konzentrierter Schwefelsäure (1,84 spez. Gew.) vorsichtig in den Oxydationskolben hineingespült, in genau gleicher Weise wurden zwei andere Portionen (2,1502 und 2,5450) behandelt, nur daß

hier zur Vermeidung der Verdunstung des Gewebswassers das Abwägen in Stanniolpapier ausgeführt wurde. Alle drei Portionen wurden unter Zusatz von Quecksilberoxyd völlig verbrannt, die Stickstoffmenge nach Kjeldahl bestimmt und auf 1 kg Leber umgerechnet. In den 3 Versuchen ergab sich der N-Gehalt der Leber für 1 kg zu 30,82, 30,48, 30,53, im Mittel 30.61 g.

Tabelle XXXVIII.

Nr. des Versuches	Kalbsleber in g	Konzentration der Versuchsmittel	$\frac{1}{10}$ -n- H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> verbraucht in ccm	N auf 1000 Leber umgerechnet in g	Prozent auf die absolute Menge von N derselben Leber in g
I	10	Chloroformwasser 100 ccm	11,8	6,608	21,59
II	10	» (ohne Ferm.) 100 »	4,5	2,520	8,23
III	10	1%ige Borsäure 100 »	22,3	12,488	40,80
IV	10	$\frac{1}{2}$ gesättigte Salicylsäure 100 »	25,9	14,504	47,37
V	10	$\frac{1}{8}$ gesättigtes Senföl 100 »	21,2	11,870	38,78
VI	10	5%iger Alkohol 100 »	17,5	9,800	32,01

In der Versuchsreihe wurde dieselbe Leber, die zur Bestimmung der absoluten Stickstoffmenge benutzt worden war, gebraucht. Die Tabelle zeigt, daß die Gegenwart der erwähnten Mittel in den bestimmten Konzentrationen im Vergleich zur Norm (21,59 %) beschleunigend wirkt und daß die Beschleunigung am größten bei Gegenwart von Salicylsäure (47,37 %) ist. Von dem Gesamtstickstoff der Leber gehen ohne Ferment nur 8,23 % N in Lösung.

Auf Grund meiner Arbeit komme ich zur folgenden Zusammenfassung:

1. Die gebrauchten konservierenden Säuren, Borsäure und Salicylsäure, wirken innerhalb gewisser Konzentrationen im Vergleich zur Norm, d. h. zu Chloroformwasser beschleunigend auf die Fermentwirkung der Leber, und jede Säure hat bei einer bestimmten Konzentration ihre Optimumwirkung und zwar Borsäure bei 1 %, Salicylsäure bei  $\frac{1}{2}$  gesättigter Lösung. Bei

zunehmender Konzentration der Säuren wird die Fermentwirkung der Leber immer mehr gehemmt, ja, bei einer gewissen Konzentration der Salicylsäure (Überschuß) sogar fast vernichtet (siehe Tabelle XXV).

2. Ein ganz ähnliches Verhalten ist bei Senföl und Alkohol beobachtet worden. Die Konzentration ihrer Optimumwirkungen auf die Fermentwirkung der Leber ist bei Senföl  $\frac{1}{8}$  gesättigte, wässrige Lösung und bei Alkohol 5<sup>0/0</sup>. Durch zu starke Konzentration, nämlich durch gesättigte Lösung von Senföl, sowie durch 20<sup>0/0</sup>ige Alkohollösung wurde die Fermentwirkung der Leber bedeutend herabgesetzt, wie folgende Zahlen zeigen.

	<u>Normal</u> 8,391 = 1,513
ges. Senföl	5,545
	<u>Normal</u> 6,533 = 1,776
20 <sup>0/0</sup> Alkohol	3,677

(siehe Tabellen XXIX und XXXIX.)

3. Die Spaltungsweise des Eiweißmoleküls der Leber unter Wirkung der Kohlensäure in Chloroformwasser verhält sich genau wie bei der Normalautolyse (siehe Tabelle XI).

Hierin weicht die Wirkung der Kohlensäure von den andern Säuren ab. Während ich bei der Spaltung des Eiweißmoleküls unter dem Einfluß der Kohlensäure keine Verminderung von Purinbasen fand, fanden andere Autoren<sup>1)</sup> die Menge von Purinbasen bei Einwirkung einer Säure im Vergleich zur Norm immer vermindert.

4. Unter Voraussetzung einer Konzentration von Borsäure 1<sup>0/0</sup>, Salicylsäure  $\frac{1}{2}$  gesättigte Lösung, Senföl  $\frac{1}{8}$  gesättigte Lösung, Alkohol 5<sup>0/0</sup>, gehen bei der Autolyse der Leber von dem Gesamtstickstoff der Leber in Lösung:

bei Chloroform	21,59 <sup>0/0</sup>
» Alkohol	32,01 <sup>0/0</sup>
» Senföl	38,78 <sup>0/0</sup>
» Borsäure	40,80 <sup>0/0</sup>
» Salicylsäure	47,37 <sup>0/0</sup> .

---

<sup>1)</sup> Arinkin, Diese Zeitschrift, Bd. LIII, S. 192, 1907.

---