

# Über den Einfluß des benzoesauren Natriums auf die Autolyse.

## IV. Mitteilung.<sup>1)</sup>

### Autolyse und Stoffwechsel.

Von

**Ernst Laqueur und Kurt Brünecke.**

(Aus den physiologischen Instituten in Königsberg i. P. und Halle a. S.)

(Der Redaktion zugegangen am 13. April 1912.)

Ähnlich wie die in der vorhergehenden Mitteilung behandelte Salicylsäure wirkt bekanntlich auch die Benzoensäure auf den Stoffwechsel: größere Gaben führen zu einer Steigerung der Stickstoffausscheidung.<sup>2)</sup>

Ohne hier darauf einzugehen, aus welchen Substanzen im einzelnen dieser Mehrgehalt an Stickstoff im Harn zurückzuführen ist, dürfen wir wohl annehmen, daß er durch vermehrte Zersetzung des Eiweißes bzw. von Eiweißabkömmlingen herrührt.

Entsprechend unseren früher geschilderten Anschauungen galt es auch hier zu prüfen, ob die Benzoensäure in gewissen Dosen eine Steigerung der Autolyse hervorruft.

Aus denselben Gründen, wie sie in der vorhergehenden Mitteilung für die Salicylsäure angegeben sind, benutzten wir das Natriumsalz der Benzoensäure.

Da wir auch hier die Größe der Autolyse bestimmen nach der Menge des nichtkoagulablen Stickstoffs, also des Stickstoffs, welcher nach Enteiweißung durch Kochen in das Filtrat übergeht, so war zunächst festzustellen, welchen Einfluß das benzoesaure Natrium auf die Enteiweißung durch die Koagulation hat.

Durch große Dosen, 1,0%, wird sie erheblich unvollständiger; insofern besteht Übereinstimmung mit den Erfahrungen mit dem salicylsauren Natrium. Bei diesem lag aber die unvollständigere Entfernung des Eiweißes im wesentlichen daran, daß die erste Phase, die Denaturierung des Eiweißes schlechter ist, die Ausfällung des bereits denaturierten da-

<sup>1)</sup> S. die vorhergehende Arbeit. Die Ergebnisse dieser wie der übrigen Autolyseversuche sind auf dem Physiologenkongreß 1911, München, mitgeteilt worden; s. Ztrbl. f. Physiolog., Bd. 25, Nr. 23, 1911/12.

<sup>2)</sup> S. O. Loewi in von Noordens Handbuch der Pathologie des Stoffwechsels; 2. Aufl., Bd. 2, S. 800 (1907).

gegen kaum beeinflusst wird; Zusätze von salicylsaurem Natrium zu den bereits gekochten Proben waren ziemlich bedeutungslos für den Stickstoffgehalt des Filtrats. Durch das benzoesaure Natrium scheint dagegen die Denaturierung nur wenig beeinflusst zu werden, sondern hauptsächlich die Ausfällung, die Koagulation, des bereits denaturierten Eiweißes unvollständiger zu sein.

Vergleichen wir nämlich den Einfluß des benzoesauren Natriums auf Proben, die vor dem Kochen mit solchen, die nach dem Kochen den Zusatz erhielten, so ergibt sich kein erheblicher Unterschied, d. h. also, daß der überhaupt bestehende Einfluß des Salzzusatzes sich im wesentlichen auf die 2. Phase der Enteiweißung, auf die Periode nach dem Kochen, also die Koagulation geltend macht.<sup>1)</sup>

(S. für die bisherigen Angaben die folgenden Versuche: Zusätze bis zum Gehalt von 1,0% benzoesaurem Natrium vor dem Kochen: Vs. A, Probe 19, Mehrgehalt an Stickstoff 18,4% gegenüber Proben 17/18; Vs. C, Proben 9/10 gegen 5/6, 9,5%; Proben 11/12 gegen 7/8, 9,5%; [diese 4 Proben hatten gleichzeitig einen Zusatz von Kochsalz]. Vs. D, Proben 5/6 gegen 1/2/18, 18,4%; Vs. M, Proben 1/2/16 gegen 13/14, 2,8% [hier handelt es sich um Proben, die bereits autolytisch waren]. Zusätze nach dem Kochen: Vs. B, Proben 9/10 gegen 7/8, 13,7%; Vs. C, Proben 17/18 gegen 13/14, 14,4% und Proben 20 gegen 15/16, 2,3% [diese 3 letzten Proben enthielten außerdem Kochsalz]; Vs. F, Proben 11/12 gegen 3/4, 11,4%.)

Der Zusatz von geringeren Dosen, also ein Gehalt des benzoesauren Natriums von 0,1% und darunter, ist auf die Enteiweißung von keinem erheblichen Einfluß, wenn kein anderes Salz zugegen ist. Bei der üblichen Methodik, Zusatz von Toluol als Antiseptikum, wird die Ausfällung eher etwas vollständiger, und zwar kommt hier Wirkung auf die erste Phase, eine bessere Denaturierung in Betracht, denn die Ausfällung des bereits denaturierten Eiweißes wird kaum bzw. nach der entgegengesetzten Richtung verändert, d. h. es kann mehr Stickstoff im Filtrat erscheinen.

(S. hierfür folgende Versuche. Zusätze bis zum Gehalt von 0,1% und darunter vor dem Kochen: Vs. D, Probe 3 gegen 1/2/18 — 3,5%; Vs. G, Proben a/g gegen 1/2 — 4,2%; c/i gegen 1/2 — 3,6%; e/l gegen 1/2 — 1,9%. Zusätze nach dem Kochen: Vs. F, Proben 9/10 — 1,5%, 7/8 — 1,1%, 5/6 — 1,1% alle gegen 3/4; Vs. D, Proben 13/14 gegen 11/12 — 3,8%; Vs. B, Proben 13/14 gegen 7/8 + 6,1%.)

Zu betonen ist noch folgendes Ergebnis: Der Einfluß des benzoesauren Natriums auf die Enteiweißung ist auch vorhanden, und zwar in sehr deutlicher Weise, wenn die Lösung noch ein anderes Salz in starker Konzentration enthält, z. B. 3% an Chlornatrium; es wird durch den Zusatz des benzoesauren Natriums die Normalität des Gesamtsalzgehaltes von 0,52 auf 0,59 nur wenig geändert: (s. hierzu, bei Zusatz vor dem Kochen. Vs. C Proben 11/12 gegen 7/8 + 9,5%; bei Zusatz nach dem Kochen: Vs. C Probe 20 gegen 15/16 + 2,3%.)

Als Nebenbefund sei hier noch hervorgehoben, daß der Zusatz von

<sup>1)</sup> Die Versuchsprotokolle sind im Zusammenhange am Schluß der Arbeit mitgeteilt.

Chlornatrium allein auch schon eine erhebliche Verschlechterung in der Enteiweißung (um 12%) hervorbringt (s. in Vs. C. alle Versuche mit Chlornatrium im Vergleich zu denen ohne solches).

Aus dem Versuche C ist noch weiterhin zu ersehen, daß das Chlornatrium die 2. Phase der Enteiweißung beeinflußt, denn der Kochsalzzusatz nach dem Aufkochen bewirkt auch annähernd dieselbe Vermehrung des Stickstoffs im Filtrat, wie der Zusatz vor dem Kochen nach dem Kochen: Proben 15/16 gegen 13/14 + 16,8%; vor dem Kochen: Proben 7/8 gegen 5/6 + 13,3%.

Besser wird man die Wirkung des benzoesauren Natriums auf die Autolyse nach den Versuchen beurteilen können, die zeigen, wie viel die Enteiweißung der bereits autolysierten Proben durch dieses Salz verändert wird. Es ergibt sich, daß die Menge des Filtratstickstoffs bei einem Gehalt von 1,0% um 2,7% gegen Proben ohne benzoesaures Natrium vermehrt ist (Vs. M, Proben 1/2/16 gegen 13/14). Ein erheblich größerer Einfluß auf die Enteiweißung autolysierter Proben ist dagegen auch bei geringerem benzoesauren Natriumgehalt (0,1%) zu erkennen, wenn noch ein anderes Salz, 0,3% Fluornatrium, zugesetzt ist, und wenn erst nach dem Aufkochen angesäuert wird. Die Filtrate enthalten dann 10,9% mehr Stickstoff als die Proben ohne benzoesaures Natrium. Daß die Filtrate den Mehrgehalt fast nur dem der Ausfällung entgangenen Eiweiß verdanken, zeigen die nach Sörensen angestellten Bestimmungen. Diese liefern die gleichen Zahlen, gleichgültig, ob nach der Autolyse benzoesaures Natrium zugesetzt ist oder nicht (Vs. N, Proben 13/14 gegen 1/2/16).

Es bleibt noch die Frage offen, warum die Fällung des Eiweißes durch einen Gehalt von 1,0% benzoesaurem Natrium so bedeutend bei den Proben ohne Autolyse verschlechtert wird (s. oben S. 66), durchschnittlich um 14%, und nur so wenig nach der Autolyse. Es ist daran zu denken, daß die verschiedenen bei der Autolyse entstehenden Produkte, Aminosäuren usw., dem benzoesauren Natrium, welches die Fällung verschlechtert, entgegenarbeiten. Näher auf diese Frage eingehen zu wollen, wie auf eine ganze Reihe anderer, die sich hinsichtlich der Beeinflussung der Hitzefällung durch Salze ergeben, hat keinen Wert, so lange nicht weitere Versuche angestellt sind, die aber zunächst für unser eigentliches Thema keine Bedeutung hätten (s. die vorhergehende Mitteilung S. 47).

Als methodisch wichtig sei noch auf die, auch sonst bekannte, Tatsache hingewiesen, daß die Enteiweißung am vollständigsten ist, wenn erst nach dem Kochen angesäuert wird (s. Vs. C). Hierbei enthalten alle Filtrate von den Proben (13—20), welche zuerst ohne Zusatz von saurem Kaliumphosphat aufgekocht sind, weniger Stickstoff als die Filtrate entsprechender Proben (5—12), welche nach Zusatz dieses sauren Salzes aufgekocht wurden. Dasselbe zeigt auch Vs. A, Proben 17/18 gegen 15/16; Vs. B, Proben 9/10 gegen 3/4; Vs. F, Proben 3/4 gegen 1/2; Vs. E, Proben 23/24 gegen 25/26.

Für unsere und andere Autolyseversuche mit ähnlicher Fragestellung hat aber der Zeitpunkt des Säure- bzw. sauren Salzzusatzes keine zu große Bedeutung, da es sich ja doch nur um Vergleichswerte handelt, und daher nur darauf zu sehen ist, daß stets genau die gleichen Bedingungen eingehalten werden.

Für unsere Frage ist also das Wesentliche dieser Versuche:

Benzoesaures Natrium bis zu einem Gehalt von 0,1% zu den üblichen Proben mit Toluol vor dem Aufkochen zugesetzt, ist für die Enteiweißung relativ gleichgültig. Sie wird im allgemeinen etwas vollkommener, indem sich durchschnittlich im Filtrat von je 10 g Leber 0,8 mg weniger Stickstoff befindet als in Kontrollproben, die Änderung beträgt also ca.  $-3,5\%$ . Dagegen wirkt ein Gehalt von 1,0% auf die Enteiweißung bedeutend verschlechternd und erhöht den Stickstoffgehalt der Filtrate um durchschnittlich 4,5 mg, die Änderung ist also ca.  $+14\%$ . Allerdings ist dies nicht der Fall bei Proben, welche bereits Autolyseprodukte enthalten; dann ist die Zunahme nur 1,1 mg, die Änderung also  $+2,7\%$ . —

Übersehen wir jetzt die Versuche, welchen vor der Autolyse benzoesaures Natrium zugesetzt ist, zunächst Versuche F, H, J, K, L.

Sie zeigen sämtlich eine Steigerung der Autolyse bei einem Gehalt von 0,01 und 0,1%. Die Steigerung ist bei 0,1% am stärksten, im Durchschnitt  $7,7\%$ . Die Förderung ist eher noch größer, da ja der Einfluß auf die Enteiweißung, also ca.  $3,5\%$ , hinzuzurechnen wäre.

Auch ein Gehalt von 1,0% erhöht deutlich den Stickstoffgehalt der Filtrate; die Erhöhung ist in einem Falle bedeutend größer, als daß sie allein durch die verschlechterte Enteiweißung zu erklären wäre.

Um die Wirkung des benzoesauren Natriums auf die Autolyse außer jeden Zweifel zu stellen und von dem Einfluß des Salzes auf die Enteiweißung frei zu machen, stellten wir Versuche M und N an. In ihnen ist der Gehalt der einzelnen Proben an Salz, bevor enteiweißt wurde, genau der gleiche. Der einzige Unterschied besteht darin, daß bei der einen Reihe von Proben vor der Autolyse das Salz zu vollem Be-

trage bzw. zu einem Teil zugesetzt wurde, bei der anderen Reihe erst nach der Autolyse. Daraus ergab sich, daß sowohl ein Gehalt von 0,1% wie von 1,0% eine Steigerung der 19stündigen Autolyse bewirkt, und zwar läßt die Titration nach Sörensen, welche neben der Gesamtstickstoffbestimmung ausgeführt wurde, erkennen, daß Ammoniak bzw. Amino-  
gruppen in erheblichem Maße freigeworden sind.

Es wäre wohl lohnend, die Versuche mittels Titrierung nach Sörensen mit größeren Mengen des Filtrates zu wiederholen, eventuell auch die van Slykesche Methode zur Bestimmung der Aminosäuren hierauf anzuwenden.

Ob Ausdehnung der Autolyse über längere Zeiten als einen Tag wieder eine Hemmung durch benzoesaures Natrium ergibt, entsprechend unseren Erfahrungen mit salicylsaurem Natrium, wurde nicht verfolgt. Es ist dies ja auch von untergeordnetem Interesse gegenüber der erledigten Hauptfrage, daß gewisse Dosen eine Steigerung der Autolyse verursachen. —

Was die Größenordnung der sicher jedesmal fördernden Dosen anlangt — um 9 mg für 10 g Leber —, so stimmte sie, wie bei den Arsen- und Salicylsäureversuchen, mit der überein, welche die Gaben im Tiere haben müssen, um eine gesteigerte Stickstoffausscheidung hervorzubringen. So fand Salkowski<sup>1)</sup> eine Vermehrung des Stickstoffs, wenn in zwei Tagesdosen zusammen 6,3 bzw. 7,6 mg, Kumagawa,<sup>2)</sup> wenn in sechs Tagesdosen zusammen 6,7 mg auf 10 g Körpersubstanz gegeben wurde.<sup>3)</sup>

Schon in der vorhergehenden Mitteilung haben wir erwähnt, daß eine Steigerung der Autolyse durch Salicylsäure wie durch Benzoensäure nach Versuchen von Yoshimoto<sup>4)</sup> und Kikkoji,<sup>5)</sup> Schülern Salkowskis, vermutet werden konnte.

<sup>1)</sup> E. Salkowski, Diese Zeitschrift, Bd. 1, S. 1 (1877).

<sup>2)</sup> Kumagawa, Virchows Archiv, Bd. 113, S. 134 (1888).

<sup>3)</sup> Hier sei übrigens erwähnt, daß nach S. Jolin, einem Schüler Salkowskis (s. Skand. Arch., Bd. 1, S. 442 [1889]), nicht alle Hunde eine Vermehrung der Stickstoffausscheidung erfahren, sondern individuelle Unterschiede bestehen sollen.

<sup>4)</sup> S. Yoshimoto, Diese Zeitschrift, Bd. 58, S. 341 (1909).

<sup>5)</sup> T. Kikkoji, Diese Zeitschrift, Bd. 63, S. 109 (1909).

Die Autoren fanden nämlich die Autolyse erheblich stärker, wenn statt Chloroform Salicylsäure oder Benzoesäure als Desinfizienz benutzt wurde, d. h. durch diese beiden Substanzen wird das Ferment wohl weniger als durch Chloroform geschädigt. Ob aber ein spezifisch beschleunigender Einfluß vorliegt, läßt sich natürlich aus diesen Versuchen nicht entnehmen, dazu ist es nötig, dasselbe Desinfizienz für die verschiedenen Proben zu benutzen und zu einzelnen von ihnen die zu untersuchende Substanz hinzuzusetzen, wie es in allen obigen Versuchen ja geschehen ist. Wir haben auch noch einen entsprechenden Versuch mit Benzoesäure angestellt, wobei wir Proben mit Toluol bzw. Chloroform als Desinfizienz mit andern Toluol- bzw. Chloroformproben verglichen, die gleichzeitig Benzoesäure enthielten. Die Dauer der Autolyse betrug mehrere Monate. Es ergab sich eine außerordentliche Steigerung — an 140% (Vs. 0). (Probe 4 dieses Versuchs zeigt z. B., daß in einer annähernd mit Benzoesäure gesättigten Lösung an 70% des gesamten Stickstoffs in nichtkoagulierbare Form übergegangen ist, während die entsprechende Kontrollprobe nur etwa 30% in löslicher Form enthält.) Die Steigerung ist in den Proben unter Chloroform, die hierdurch stärker als durch Toluol geschädigt werden, absolut und relativ viel geringer als in den Toluolproben. Durch diesen Versuch ist freilich auch noch kein spezifischer Einfluß der Benzoesäure bewiesen, da wir nicht wissen, wieviel von der Steigerung auf die Wirkung der Säure zu setzen ist. Dies durch besondere Versuche zu ermitteln, schien nicht lohnend, nachdem wir den fördernden Einfluß des benzoesauren Salzes festgestellt hatten.

### Zusammenfassung.

Benzoesaures Natrium steigert die eintägige Autolyse. Diese Wirkung des Salzes steht in Übereinstimmung mit seinem Einfluß auf den Stoffwechsel: es erhöht die Stickstoffausscheidung.

Methodisch ist zu bemerken, daß benzoesaures Natrium in 1%iger Lösung die Enteiweißung bedeutend verschlechtert. dies gilt auch, wenn ein anderes Salz in größerer Konzentration

vorhanden ist. — Die Verschlechterung der Enteiweißung ist gering nach der Autolyse, also in Gegenwart autolytischer Produkte.

### Versuche:

Die Methode ist die gleiche wie in den vorhergehenden Mitteilungen.

Wie bei den früheren Arbeiten, so wurde auch hier die Reaktion in jedem einzelnen Falle geprüft. Sie war stets für Lackmus, so lange es feucht ist, amphoter, und zwar war die saure Seite deutlicher als die alkalische, dies um so stärker ausgesprochen, je stärker die Autolyse war. Die Resultate der Reaktionsprüfung sind in den Rohprotokollen in jedem Falle vermerkt, hier aber nur in einem Versuch (Vs. F) wiedergegeben.

Ferner ist in den meisten Versuchen auch geprüft worden, ob in den einzelnen Proben Glykogen vorhanden ist; dies war nach 20stündiger Autolyse meist verschwunden, und zwar um so vollständiger, je stärker die Autolyse war.

Endlich sind bei der Mehrzahl der Autolyseversuche die Filtrate auf ihren Eiweißgehalt mittels Salpetersäure bzw. mit Eisessig und Ferrocyankalium geprüft worden.

Mit Salpetersäure ergaben sich in den Proben nach der Autolyse häufig Trübungen, die beim Erhitzen verschwanden und nachher in annähernd ursprünglicher Stärke wiederkehrten. — Mit Eisessig und Ferrocyankalium erhielten wir nach 24 Stunden Trübungen bzw. Ausfällungen, die sich meist erst im Laufe eines weiteren Tages absetzten. Es handelte sich hierbei wohl um sehr geringe Mengen nativen Eiweißes bzw. von Albumosen. In einem Versuch ist eine ungefähre relative Schätzung der Niederschlagsmengen angegeben (s. Vs. J). Man kann daraus ersehen, daß die äußerlich sehr groß erscheinenden Differenzen keine erkennbare Bedeutung für die Menge des Stickstoffgehaltes in den Filtraten haben. (S. z. B. Probe 9, deren Filtrat den größten Niederschlag hat, er ist schätzungsweise 10mal so groß als bei Probe 10; der Gesamt-N-Gehalt des Filtrats von Probe 9 ist aber erheblich niedriger als der von Probe 10 u. dgl. a.)

Die Unterschiede zwischen Proben gleicher Art liegen also wohl nicht an dem methodischen Fehler, daß die Enteiweißung unter gleichen Bedingungen erheblich verschieden ist, sondern an einem verschiedenen Gehalt an löslichem Stickstoff in den einzelnen Leberpartien.

**Versuch A.** Hund, durch Halsschnitt verblutet. Leber durch die Fleischmaschine, mit 20,2% Glaspulver zerrieben. Zu jeder Probe 100 ccm aq.-Flüssigkeit (Aq. bzw. 10%iges benzoës. Natr.) + 5 ccm Toluol. Proben 15 und 16 werden sofort verarbeitet, d. h. nach Zusatz von 8,6 ccm 15%iger  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  5 Min. im kochenden Wasserbade gehalten, dann auf 200 ccm aufgefüllt und filtriert. Vom Filtrat zweimal je 50 ccm

zur Analyse nach Kjeldahl. Proben 17—19 werden sofort aufgekocht,<sup>1)</sup> bleiben 18<sup>3</sup>/<sub>4</sub> Stunden im Brutschrank und werden dann nach Zusatz von  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  zum zweitenmal aufgekocht und entsprechend weiterbehandelt. Während des Abwiegens stand der Leberbrei und die Proben in Eis. Zu andern Versuchen waren noch 16 andere Proben aufzukochen. In diesem Zeitraum standen die Proben bei Zimmertemperatur (ca. 20°) und zwar von den beiden Kontrollproben die mit gerader Nummer ungefähr 1<sup>1</sup>/<sub>2</sub> Stunden länger als die mit ungerader. (Die ersteren zeigen daher auch etwas höheren N-Gehalt).

Nr.	Brei in g	Bemerkungen	Benzoës. Natr.		Analysen- mittel in ccm n/10-Lauge	Löslicher N in mg für 10 g Leber	Änderung in %	
			Pro- zent- gehalt	in mg für 10g Leber				
15.	15,96	} sofort verarbeitet	0,0	—	6,76	28,6	} 28,9	—
16.	15,85				6,85	29,2		
17.	16,05	} aufgekocht nach 18 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> Stunden Brutschrank zum zweitenmal aufgekocht nach $\text{KH}_2\text{PO}_4$ -Zusatz	0,0	—	6,31 <sup>1)</sup>	27,8	} 28,2	—
18.	16,05				6,80	28,6		
19.	15,99				1,0	88,6		

<sup>1)</sup> Probe 17 auf 209 ccm aufgefüllt.

Versuch B. Hund, verblutet. Leber mit 20% Glaspulver verrieben. In den Proben 100 ccm Flüssigkeit (Aq. bzw. benzoës. Natr.), ferner 5 ccm Toluol. Proben 3 und 4 unter Zusatz von 5 ccm 15%iger  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  sofort verarbeitet, die anderen sofort «aufgekocht», dann 19<sup>1</sup>/<sub>2</sub> Stunden im Brutraum, darauf erst die Zusätze von benzoës. Natr. bzw. Aq., sodaß die 100 ccm Flüssigkeit erreicht sind, und dann zum zweitenmal unter Zusatz von  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  «aufgekocht» usw. wie in Versuch A.

Nr.	Brei in g	Bemerkungen	Benzoës. Natr.		Analysen- mittel in ccm n/10-Lauge	Löslicher N in mg für 10 g Leber	Änderung in %	
			Pro- zent- gehalt	in mg für 10g Leber				
3.	14,04	} sofort ver- arbeitet	1,0	88,6	7,96	37,2	} 36,9	—
4.	13,98				7,83	36,7		
7.	14,15	} nach Aufkochen 19 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> Stunden im Brutschrank, danach erst Zusatz von benzoës. Natr. und weiter verarbeitet	0,0	—	5,75	26,6	} 26,4	—
8.	14,04				5,62	26,2		
13.	14,08				0,1	8,86		
14.	14,04	5,92	27,6					
9.	14,06	} 1,0	88,6	88,6	6,40	29,8	} 30,0	+ 13,7
10.	14,07				6,48	30,2		

Die Proben steril.

<sup>1)</sup> Unter «aufgekocht» ist hier und in den folgenden Versuchen stets zu verstehen, daß das Erlenmeyer-Kölbchen mit der Probe genau 5 Minuten im kochenden Wasserbade gehalten wurde.



Versuch C. Schwein. Leber sofort nach der Herausnahme in Chloroformwasser; ohne Glas, nur durch Fleischmaschine zerkleinert.  $\frac{3}{4}$  Stunden später abgewogen. (Alle Prozeduren unter Eiskühlung.) Zu den Proben 100 ccm Flüssigkeit (Aq. bezw. benzoës. Na-Lösung) und 5 ccm Toluol. Proben 5—12 nach allen Zusätzen (auch von 5,2 ccm 15%  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) «aufgekocht» und sofort weiter verarbeitet (s. Vers. A). Proben 13—24 sofort ohne jeden Zusatz «aufgekocht», danach Zusätze von benzoës. Natr. und 18 Stunden Aufenthalt im Brutraum, darauf unter Zusatz von Aq. bezw. gesättigtem NaCl und  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  zum zweitenmal «aufgekocht» usw. wie in Versuch A.

Nr.	Leber in g	Bemerkungen	Benzoës. Na		Gesättigte NaCl-Lösg. in ccm	Aq.-Zusatz in ccm	Analysenmittel in ccm $\frac{1}{10}$ Lauge	Lösl. N in mg für 10 g Leber		Änderung in % durch Zusatz v.		
			Prozent-gehalt	in mg f. 10 g Leber				benzoës. Natr.	gesättigtem NaCl			
5.	10,01	sofort nach allen Zusätzen verarbeitet	0,0	—	—	10	7,69	40,9	39,9	—	—	
6.	10,00						7,31	38,9				
9.	10,01						8,25	43,8				
10.	9,99		1,0	90,9	—	—	8,20	43,7	43,7	+ 9,5	—	
7.	10,00		0,0	—	10	—	8,53	45,4	45,2	—	+13,3	
8.	10,15						8,59	45,0				
11.	10,07						9,65	51,0				
12.	10,05		1,0	90,9	—	—	9,06	48,0	49,5	+ 9,5	+13,5	
13.	10,08		nach Aufkochen und nachträglich. Zusatz von benzoës. Natr. 18 Stund. im Brutraum, dann weiter verarbeitet	0,0	—	—	10	6,40	33,8	33,4	—	—
14.	10,16							6,32	33,1			
21.	10,00							6,76	36,0			
22.	10,16			0,1	9,09	—	—	6,05	31,6	33,8	+ 1,2	—
17.	9,98	1,0		90,9	—	—	7,12	37,9	38,2	+14,4	—	
18.	10,13						7,32	38,5				
15.	10,00						7,35	39,1				
16.	10,01	0,0		—	—	—	7,32	38,9	39,0	—	+16,8	
23.	10,12	0,1		9,09	10	—	7,56	39,8	37,9	— 2,8	+12,1	
24.	10,00						6,76	36,0				
[19.]	10,01						7,85	41,7				
20.	10,10	1,0		90,9	—	—	7,57	39,9	—	+ 2,3	+ 4,5	

Die Proben bis auf 19 steril.

Versuch D. Kalb. Die Leber sofort nach der Herausnahme in Chloroformwasser und darin 18 Stunden auf Eis; dann  $\frac{1}{2}$  Minute in kochendes Wasser; durch die Fleischmaschine geschickt und mit 20% Glaspulver zerrieben. In den Proben 100 ccm Flüssigkeit (Aq. bezw. 10% benzoës. Natr.), ferner 5 ccm Toluol. Proben 1—6 und 18 unter Zusatz von 8,5 ccm 15%  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  sofort verarbeitet. Proben 11—14 werden vor

jedem Zusatz (von benzoës. Natr. und  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) «aufgekocht», dann 20 Stunden im Brutschrank, darauf nach Zusatz des benzoës. Natr. und  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  zum zweitenmal «aufgekocht» usw., wie Versuch A.

Nr.	Brei in g	Bemerkungen	Benzoës. Natr.		Analysen- mittel in ccm n/10-Lauge	Löslicher N in mg für 10 g Leber	Änderung in %
			Pro- zent- gehalt	in mg für 10g Leber			
1.	15,96	sofort ver- arbeitet	—	—	6,30	25,6	—
2.	16,02		—	—	6,22	25,2	
18.	16,13	Zusatz des benzoës. Natr.	—	—	6,34	25,5	— 3,5
3.	16,12		} 0,1	8,8	6,06	24,5	
4.	16,00	} 1,0			88,0	8,32(?)	33,8(?)
5.	16,11		} 1,0	88,0		7,63	30,8
6.	16,14	} 1,0			88,0	7,32	29,5
11.	15,94		ohne Zusatz aufgekocht nach 20 Stunden Brutschrank	—		—	5,88
12.	16,10	—		—	5,85	23,65	
13.	16,04	Zusätze und zum zweitenmale aufgekocht	} 0,1	8,8	5,67	22,9	— 3,8
14.	16,00				5,65	22,9	

Proben 11—14 steril.

<sup>1)</sup> Probe 4 ist nicht berücksichtigt, da augenscheinlich fehlerhaft.

Versuch E. Hund, verblutet. Leber mit 20,4% Glaspulver. 100 ccm Aq., 5 ccm Toluol. Näheres s. Tabelle. Verarbeitung wie in Versuch A.

Nr.	Brei in g	Bemerkungen	Bestimmung nach Kjeldahl		Bestimm. nach Sörensen Analyse in ccm 0,1035-n-Lauge f. 20ccm Filtrat
			Analysenmittel in ccm 0,1035-n-Lauge für 5ccm Filtrat	Löslicher N in mg für 10 g Leber	
23.	10,19	vor Zusatz von 5,2 ccm 15% $\text{KH}_2\text{PO}_4$ «aufgekocht» und sofort verarbeitet	3,73	26,2	25,4
24.	10,04		3,55	24,6	
25.	10,13	nach Zusatz von $\text{KH}_2\text{PO}_4$ «aufgekocht» und sofort verarbeitet	4,72	32,4	31,5
26.	10,03		4,42	30,7	
27.	10,03	«aufgekocht», dann 18 St. im Brutraum, nach Zusatz	verloren	—	—
28.	10,00	von $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ohne noch- maliges Kochen verarb.	4,15	28,9	28,9
29.	10,04	«aufgekocht», dann 18 St. im Brutraum, nach Zusatz von $\text{KH}_2\text{PO}_4$ nochmals	4,00	27,7	27,8
30.	10,01		«aufgekocht» und verarb.	4,02	

Versuch F. Hund, verblutet. Leber. 20% Glaspulver. 100 ccm Flüssigkeit (Aq. bezw. benzoës. Natr.), ferner 5 ccm Toluol. Proben 3—12 vor allen Zusätzen (benzoës. Natr. und  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) «aufgekocht»; sie kommen dann nach Zusatz des benzoës. Natr. mit den Proben 13—22 20 1/2 Std. in den Brutraum. — Danach alle Proben nach Zusatz von 8,5 ccm 15%  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  «aufgekocht» usw., wie in Versuch A.

Nr.	Brei in g	Bemer- kungen	Benzoës. Natr.		Analyse- mittel in ccm n/10-Lauge	Lösl. N		Änderung in %
			Pro- zent- gehalt	in mg für 10g Leber		in mg für 10g Leber		
1.	16,12	} sofort ver- arbeitet	} 0,0	} —	7,10	28,6	} 29,0	} —
2.	16,05				7,25	29,4		
3.	16,10	} nach «Auf- kochen»	} 0,0	} —	6,50	26,2	} 26,3	} —
4.	16,00				6,48	26,4		
5.	16,04	} Zusatz des benzoë- saur. Natr.	} 0,001	} 0,089	6,39	25,9	} 26,0	} —
6.	16,21				6,50	26,1		
7.	16,20	} u. 20 1/2 St. im Brut- raum.	} 0,01	} 0,89	6,47	26,0	} 26,0	} —
8.	16,19				6,50	26,1		
9.	16,07	} dann weiter ver- arbeitet	} 0,1	} 8,86	6,31	25,6	} 25,9	} —
10.	16,02				6,45	26,2		
11.	16,22	} 1,0	} 88,6	7,07	28,4	} 29,3	} —	
12.	16,10			7,50	30,2			+ 11,4
13.	16,05	} 20 1/2 Std.	} 0,0	} —	15,00	60,8	} 58,1	} 29,1
14.	16,11				13,62	55,0		
24.	16,25	} Autolyse	} 0,001	} 0,089	14,60	58,4	} 58,3	} 29,3
15.	16,16				14,67	59,1		
16.	15,89	} 0,01	} 0,89	14,10	57,6	} 59,0	} 30,0	
17.	15,97			14,23	58,0			
18.	16,08	} 0,1	} 8,86	14,87	60,1	} 60,1	} 31,1	
19.	16,09			15,05	60,8			
20.	16,01	} 1,0	} 88,6	14,66	59,5	} 67,9	} 38,9	
21.	16,05			16,60	67,3			
22.	16,09	16,22	68,5	+ 34,7				

Alle Autolyseproben steril.

Die Reaktion bei sämtlichen Proben amphoter; bei den Autolyseproben 13—24 ist die Änderung des Lackmuspapiers nach der sauren Seite deutlicher als die nach der alkalischen, und zwar ist dies um so mehr ausgesprochen, je größer der Gehalt an benzoës. Natr. ist. Bei den Proben 1—12 ist zwischen den Reaktionen kein deutlicher Unterschied.

Glykogenprobe in allen Proben positiv, in 1—12 recht stark, in 13—24 schwach, besonders gering in 22.

Versuch G. Kalb. Leber<sup>3</sup> 4 Stunden nach der Herausnahme verarbeitet. 17% Glaspulver. In jeder Probe 100 ccm Flüssigkeit (Aq. + 0,01% bzw. 1,0% benzoës. Natr.), ferner 10 ccm Toluol. Darauf «aufgekocht». Hinterher 6,4 ccm 15% KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> usw., wie in Vers. A.

Nr.	Brei in g	Benzoës. Natr.		Analysemittel in ccm einer 0,1035-n-Lauge	Löslicher N in mg für 10 g Leber	Änderung in %	
		Prozent- gehalt	in mg für 10 g Leber				
1.	12,51	—	—	4,50	23,75	23,67	—
2.	12,59	—	—	4,50	23,60		
e.	12,55	0,001	0,09	4,32	22,78	23,21	— 1,9
l.	12,54			4,52	23,65		
e.	12,49	0,01	0,91	4,45	23,43	22,82	— 3,6
i.	12,53			4,22	22,22		
a.	12,50	0,1	9,1	4,21 <sup>1)</sup>	22,40	22,67	— 4,2
g.	12,50			4,35	22,95		

<sup>1)</sup> Probe a auf 202,0 ccm aufgefüllt.

Versuch H. Hund (zu einer Speichelisteloperation benutzt und hierbei Morphium und Curare erhalten) durch Halsschnitt verblutet. Kein Glaspulver. Zu den Proben 120 ccm Flüssigkeit (Aq. bzw. benzoësaures Natr.), ferner 5 ccm Toluol. Dauer der Autolyse 19 Std. Danach unter Zusatz von 8 ccm 15% KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> «aufgekocht» usw., wie in Vers. A.

Nr.	Brei in g	Bemer- kungen	Benzoës. Natr.		Analyse- mittel in ccm n/4-Lauge	Löslicher N in mg für 10 g Leber	Auto- lyse	Änderung in % (der Autolyse)
			Pro- zent- gehalt	in mg für 10g Leber				
14.	10,05	} sofort ver- arbeitet	0,0	—	2,73	36,0	34,6	—
15.	9,98				2,50	33,3		
1.	10,00	} 19 Stund. Autolyse	0,0	—	6,15	81,9	81,5	46,9
2.	10,07				6,36	84,1		
13.	10,07		0,0001	0,0092	5,93	78,4	76,2	41,6
3.	10,00				5,73 <sup>1)</sup>	76,9		
4.	10,08		0,001	0,092	5,44 <sup>2)</sup>	75,6	76,2	41,6
5.	9,97				5,75 <sup>1)</sup>	77,0		
6.	9,94		0,01	0,92	6,03	80,6	91,3	56,7
7.	10,04				7,22	95,5		
8.	9,97		0,1	9,2	6,54	87,1	91,3	56,7
9.	10,00				6,46	86,0		
10.	10,00	5,98	79,5	44,9	—	+ 9,6		

<sup>1)</sup> Proben 3 und 5 auf 201,5 ccm aufgefüllt.

<sup>2)</sup> Bei Probe 4 nur eine Analyse.

Die Proben bis auf 6 und 10 steril.

Versuch J. Hund, erschossen. 20% Glaspulver. In den Proben 100 ccm Flüssigkeit (Aq. bezw. benzoës. Natr.), ferner 10 ccm Toluol. Dauer der Autolyse 19 1/2 Std.; nach Zusatz von 6,6 ccm 15% KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> «aufgekocht» usw., wie in Versuch H.

Nr.	Brei in g	Bemer- kungen	Benzoës. Natr.		Analysen- mittel in ccm n/10-Lauge	Löslicher N in mg für 10 g Leber	Auto- lyse	Ände- rung in %
			Pro- zent- gehalt	in mg für 10g Leber				
15.	20,13	} sofort ver- arbeitet	} 0,0	} —	8,86	23,6	} 24,0	} —
16.	15,02				6,71	24,5		
1.	15,06	} 19 1/2 Std. Autolyse verloren]	} 0,0	} —	15,65	57,0	} 58,1	} 34,1
2.	15,10				15,87	57,5		
14.	15,23				16,64	59,9		
3.	14,95		} 0,0001	} 0,0089	15,57	57,0	} 58,5	} 34,5
4.	14,98				16,36	60,1		
5.	14,90		} 0,001	} 0,089	15,71	57,6	} 57,9	} 33,9
6.	14,91				15,85	58,3		
[7.	15,05		} 0,01	} 0,89	—	—	} 34,8	} + 2,0
8.	15,00							
9.	14,93		} 0,1	} 8,94	15,80	57,9	} 60,0	} 36,0
10.	15,02				17,01	62,1		
11.	14,96		} 1,0	} 89,4	15,86	58,0	} 58,3	} 34,3
12.	15,12	16,15			58,6			

Alle Proben steril.

Zu je 5 ccm der Filtrate der einzelnen Proben 6 Tropfen Eisessig, wonach alle Proben bis auf 10—12 unverändert bleiben, und zwar tritt in 10 schwache, in 11 und 12 starke Trübung auf (? Ausfällung der Benzoësäure). Es werden dann zu den essigsäuren Filtraten 4 Tropfen einer FeCy<sub>6</sub>K<sub>4</sub>-Lösung hinzugesetzt, wobei außer der Farbänderung bei allen Proben bis auf 10—12 zunächst keine Änderung eintritt; bei diesen, namentlich 11 und 12, tritt Fällung ein. 24 Stunden später ist überall eine Fällung zu sehen, die aber keine relative Schätzung gestattet, weil sich der Niederschlag noch nicht abgesetzt hat, dies ist nach weiteren 24 Stunden der Fall, und würde, wenn der geringste Niederschlag, der gerade die äußerste Kuppe des Reagenzglases anfüllt, mit (1) bezeichnet wird, folgende Reihe ergeben: 14 (1); 8, 16, 11, 9, 10, 2 (2); 7 (4); 6 (6); 5 (8); 1, 12 (10); 3, 4 (14); 9 (20).

Versuch K. Hund, verblutet. Leber mit 20,1% Glaspulver. Zu den Proben 100 ccm Flüssigkeit (Aq. bezw. benzoës. Natr.), ferner 5 ccm Toluol. Dauer der Autolyse 20 Stunden. Nach Zusatz von 5 ccm 15% KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> «aufgekocht» usw., wie in Versuch H.

Nr.	Brei in g	Bemer- kungen	Benzoës. Natr.		Analysen- mittel in ccm $n_{10}$ -Lauge	Löslicher N in mg für 10 g Leber	Auto- lyse	Ände- rung in %
			Pro- zent- gehalt	in mg für 10g Leber				
14.	9,12	} sofort ver- arbeitet	} 0,0	—	3,81	28,2	} 31,5	—
15.	9,10				4,70	34,8		
[1.	9,00	} 20 Stund. Autolyse	} 0,0	—	8,09	60,5	} 60,7	29,0]
2.	9,12				8,03	59,4		
11.	9,00		} 0,001	0,093	8,28	62,0	} 59,8	28,3
3.	9,11				8,10	59,9		
4.	9,07		} 0,01	0,93	8,03	59,7	} 63,2	31,7
5.	9,18				8,54 <sup>1)</sup>	64,1		
6.	9,10		} 0,1	9,3	8,41	62,4	} 63,3	31,8
7.	9,19				8,68	63,6		
8.	9,00		} 1,0	93,0	8,42	63,0	} 65,1	33,6
9.	9,09				8,84	65,5		
10.	9,08	8,73	64,7	+ 8,6				
								+ 8,9
								+ 15,1

<sup>1)</sup> Probe 5 auf 202,6 ccm aufgefüllt.

Alle Proben bis auf 1 steril.

Versuch L. Hund, verblutet. Leber mit 20% Glaspulver. Zu den Proben 100 ccm Flüssigkeit (Aq. bzw. benzoës. Natr.), ferner 5 ccm Toluol. Dauer der Autolyse 20 Stunden. Hierbei war aber die Temperatur nicht für alle Proben gleichmäßig, die mit geraden Zahlen waren bei höherer Temperatur. Ferner blieben von ihnen nur zwei Proben steril, während von den anderen mit ungeraden Zahlen alle bis auf Probe 1 steril waren. — Nach der Autolyse nach Zusatz von 6,5 ccm 15%  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  «aufgekocht» usw., wie in Versuch H.

Nr.	Brei in g	Bemer- kungen	Benzoës. Natr.		Analysen- mittel in ccm $n_{10}$ -Lauge	Lösl. N in mg für 10 g Leber	Auto- lyse	Ände- rung
			Pro- zent- gehalt	in mg für 10 g Leber				
13.	16,05	somit ver- arbeitet	0,0	—	11,35	46,1	—	
[1.	16,05	} 20 Stund. Autolyse	} 0,0	—	16,75	67,9	} 21,8]	
3.	16,28				0,0001	0,0089		16,63
5.	15,95		} 0,001	0,089	16,48	67,3	} 21,2	+
7.	15,99				16,92	69,0		22,9
9.	16,01		} 0,1	8,9	17,67	71,8	} 25,7	+++
11.	15,99				1,0	89,0		17,21

Versuch M. Hund. 20% Glaspulver. Zu den Proben vor der Autolyse 60 ccm Flüssigkeit (Aq. dest. + 10% benzoos. Natr.), ferner 5 ccm Toluol. — Dauer der Autolyse 19 1/2 Stunden. — Danach 10 ccm Flüssigkeit (Aq. bezw. Aq. und 10% benzoos. Natr.), ferner 3,4 ccm 15% KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 5 Min. im kochenden Wasser auf 200 ccm aufgefüllt. Vom Filtrat zweimal je 50 ccm bezw. einmal 20 ccm zu den Analysen nach Kjeldahl bezw. Sörensen.

Nr.	Brem- in g	Benzoesaures Natr.			Bestimmung nach Kjeldahl			Bestimmung nach Sörensen				
		Pro- zent- gehalt wäh- rend der Autolyse	in mg für 10 g Leber	Pro- zent- gehalt nach der Autolyse	Analysen- mittel in ccm n/10-Lauge für 50 ccm Filtrat	Löslich. N in mg für 10 g Leber	Auto- lyse in %	Änderung in %	ccm n/10-Lauge für 20 ccm Filtrat	Auto- lyse	Auto- lyse auf 6,50 g Brei bezogen	Autolyse in mg für das ganze Filtrat von 10 g Leber
15.	6,51	—	—	—	2,76	28,8	—	4,28	—	—	—	—
17.	6,50	—	—	—	2,58	27,0	—	—	—	—	—	—
20.	6,63	0,1	9,2	—	2,58	26,4	-5,4	—	—	—	—	—
13.	6,48	—	—	0,0	6,58	69,0	—	5,50	1,22	1,22	31,6	—
14.	6,55	—	—	—	6,52	68,2	—	5,50	1,22	1,21	—	—
1.	6,56	—	—	—	6,60	68,4	—	5,50	1,22	1,21	—	—
2.	6,51	—	—	—	6,77	70,7	[+ 2,7]	5,50	1,22	1,22	32,2	[+ 1,9]
16.	6,53	—	—	—	6,74	70,1	—	5,55	1,27	1,26	—	—
5.	6,49	—	—	1,0	6,95	72,8	[+ 8,1]	5,78	1,50	1,50	36,4	[+ 15,2]
6.	6,55	—	—	—	6,85	71,0	[+ 5,3]	5,58	1,30	1,29	—	[+ 13,0]
7.	6,48	—	—	—	6,95	72,9	[+ 11,0]	5,55	1,27	1,27	33,8	[+ 7,0]
8.	6,48	—	—	1,0	7,00	73,4	[+ 8,1]	5,60	1,32	1,32	—	[+ 5,0]

Die in eckiger Klammer stehenden Prozentzahlen geben die Änderung gegen die Proben ohne benzoos. Natr. an. die anderen die wirkliche Änderung der Autolyse durch den benzoos. Natr.-Zusatz.  
Alle Proben steril.

Versuch N. Hund. 20% Glaspulver. Zu den Proben 100 ccm 0,3% Fluornatrium-Lösung; zu 3 und 4 1,0 ccm 10% benzoës. Natr. nach der Autolyse, zu 5 und 6 dasselbe vor der Autolyse. Dauer 19 Stunden. 5 Min. im kochenden Wasser, hinterher 5,3 ccm 15%  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ; hiervon, auf 200 ccm aufgefüllt, je 2 Proben à 50 bzw. 20 ccm zu den Analysen.

Nr.	Brei in g	Bemerkungen	Benzoësaures Natr.			Bestimmung nach Kjeldahl				Bestimmung nach Sörensen				
			Prozent-gehalt während der Autolyse	in mg für 10g Leber	Prozent-gehalt nach	Analysenmittel in ccm 0,1035-n-Lauge für 50 ccm Filtrat	Löslich. N in mg für 10 g Leber	Autolyse in %	Änderung in %	Mittel in ccm 0,1035-n-Lauge für 20 ccm Filtrat	Autolyse	Autolyse auf 10,00 g bezogen	Autolyse in mg für das ganze Filtrat von 10 g Leber	Änderung in %
15.	10,00	} sofort ver- arbeitet	—	—	—	4,07	28,22	—	—	7,07	—	—	—	—
20.	10,00		—	—	—	3,94	27,35	—	—	7,27	—	—	—	—
1.	10,00	}	0,0	—	0,0	11,66	81,0	81,7	53,9	9,03	1,86	1,86	32,2	—
2.	10,21					12,22	82,4				9,08	1,91		
[16.	10,12	}	0,0	—	0,1	12,01	82,3	87,6	54,5	8,89	1,72	1,70	32,2	—
3.	10,04					12,68	87,6				9,07	1,90		
4.	10,19	}	0,1	—	0,1	12,90	87,6	87,6	59,8	9,05	1,88	1,84	32,2	[+ 0,0]
5.	10,12					13,28	91,0				9,07	1,90		
6.	9,99	}	0,1	9	0,1	13,20 <sup>1)</sup>	93,0	92,0	64,2	9,03 <sup>1)</sup>	2,00	2,00	33,6	[+ 4,4] [+ 4,4]

<sup>1)</sup> Probe 6 auf 203,0 ccm aufgefüllt; der in Klammern stehende Wert ist der gefundene, daraus ist die danebenstehende Zahl unter der Annahme, daß auf 200,0 ccm aufgefüllt wäre, berechnet.

Die in eckiger Klammer stehenden Prozentzahlen geben die Änderung gegen die Proben ohne benzoës. Natr. an, die anderen die wirkliche Änderung der Autolyse durch den benzoës. Natr.-Zusatz.

Die Proben bis auf 16 steril.



Versuch O. Katze, entblutet. Leber. 18% Glaspulver. Zusätze an dest. Wasser, Toluol, Chloroform, Wasser, das durch Schütteln mit Chloroform bzw. Benzoesäure daran gesättigt ist, s. Tabelle. Dauer der Autolyse 5 3/4 Monate; während der ersten 3 Monate wurden die Proben täglich 3—4 mal geschüttelt und standen bei 37°, den Rest der Zeit bei ca. 18°. — Die Mehrzahl der Proben reagiert amphoter, und zwar 2 und 7 etwas mehr nach der alkalischen, 3 und 8 mehr nach der sauren Seite neigend, 5 und 10 reagieren schwach alkalisch, 4 schwach sauer. — Durch Zusatz weniger Kubikzentimeter 2% KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> werden alle Proben auf die gleiche Reaktion gegenüber Lackmus gebracht; nach Zusatz von 10 ccm 20% NaCl 5 Min. im kochenden Wasserbade; auf 250 ccm aufgefüllt; vom Filtrat je eine Analyse von 100 ccm und je eine von 50 ccm.

Nr.	Brem in g	Bemerkungen	in ccm				Analysenmittel für 100 ccm Filtrat in n/4-Lauge	Löslicher N in mg für 10 g Leber	Auto- lyse	Änderung in % durch Benzo- säure	
			Aq. dest.	Toluol	gesättigtes Chloroform- wasser	Chloro- form					gesättigtes Benzoessäure- wasser
1.	15,00	sofort verarbeitet	150	10	—	—	3,42 <sup>1)</sup>	23,0	—	—	
2.	15,00	5 3/4 Monate	150	10	—	—	16,39	110,2	90,1	—	
7.	14,00						16,07	116,1			
3.	15,00		75	10	—	—	33,51	216,2	190,8	+ 111,8	
8.	13,97						29,19	211,5			
4.	13,85	Autolyse	20	—	—	—	32,57	238,5	215,5	+ 139,3	
5.	14,06	Autolyse	75	—	—	—	14,92 <sup>2)</sup>	108,9	85,6	—	
10.	14,07						15,08	108,4			
6.	14,07		—	—	75	—	—	18,79 <sup>2)</sup>	136,1	116,3	+ 35,8
11.	14,25							20,11	142,5		

<sup>1)</sup> Bei Probe 1 nur eine Analyse.  
<sup>2)</sup> Probe 5 auf 253 ccm, 6 auf 251 ccm aufgefüllt.