

Über die Bildung von Milchsäure und Phosphorsäure im Froschmuskel.

I. Mitteilung.

Von

Fritz Laquer.

(Aus dem städtischen chemisch-physiologischen Institut der Universität Frankfurt.)
(Der Redaktion zugegangen am 22. September 1914.)

In einer voranstehenden Arbeit von Embden, Griesbach und Schmitz konnte gezeigt werden, daß die Milchsäurebildung, die bei kurzdauerndem Stehen von Preßsaft aus Hundemuskeln auftritt, von einer Phosphorsäurebildung begleitet ist, die derjenigen der Milchsäure unter gewissen Versuchsbedingungen völlig oder annähernd äquimolekular ist.

Das Lactacidogenmolekül, dem offenbar Milchsäure und Phosphorsäure entstammen, enthält allem Anschein nach einen Kohlenhydrat-Phosphorsäurekomplex.

Aus der Bildung äquimolekularer Mengen Milchsäure und Phosphorsäure im Zusammenhalt mit der Tatsache, daß Hexosephosphorsäure die einzige bisher beobachtete Substanz ist, deren Zusatz die Milchsäurebildung und auch die Phosphorsäurebildung im Muskelpreßsaft vermehrt, leiteten die genannten Autoren bestimmte Vorstellungen über die Rolle des Lactacidogens beim Kohlenhydratabbau ab. Nach der von ihnen ausgesprochenen Hypothese beginnt der Kohlenhydratabbau im Muskel mit einer esterartigen Bindung des Kohlenhydrats an Phosphorsäure oder an einen organischen Phosphorsäurerest. Die zweite Phase des Kohlenhydratabbaus besteht in einer Spaltung des so gebildeten Lactacidogens in Milchsäure und Phosphorsäure.¹⁾

¹⁾ Unter Umständen vielleicht auch in Milchsäure und den eben erwähnten organischen Phosphorsäurerest.

Da sehr möglicherweise eben die Säurebildung aus Lactacidogen dasjenige Moment ist, das die Muskelkontraktion einleitet, ist es nach Embden, Griesbach und Schmitz vielleicht berechtigt, den Aufbau des Lactacidogens als assimilatorische, seine Spaltung unter Milchsäure- und Phosphorsäurebildung als dissimilatorische Muskelfunktion im Sinne E. Herings zu bezeichnen.

Es scheint so, als ob die intermediäre Bindung des Kohlenhydrats an Phosphorsäure in ähnlicher Weise die notwendige Voraussetzung für das Zustandekommen der Milchsäurebildung aus Kohlenhydrat ist, wie die intermediäre Hexosephosphorsäurebildung bei der alkoholischen Gärung der Hefe allem Anschein nach als ein für das Zustandekommen der letzteren notwendiger Vorgang betrachtet werden muß. In gewisser Weise kann man hiernach das Lactacidogen als eine Überträgersubstanz bezeichnen; eine kleine Phosphorsäuremenge kann, falls der eben geschilderte Mechanismus tatsächlich vorhanden ist, die Umwandlung einer großen Menge von Kohlenhydrat in Milchsäure vermitteln. Je nach dem bei irgend einem Vorgang im Muskel die dissimilatorische Phase überwiegt, oder ihr die assimilatorische die Wage hält, wird die Milchsäurebildung im Muskel mit einer gleichzeitigen Phosphorsäurebildung verbunden sein, oder nicht.

Ich habe es mir nun auf Veranlassung von Professor Embden zur Aufgabe gemacht, die Einwirkung verschiedener Zustandsänderungen des Froschmuskels auf seinen Milchsäuregehalt und gleichzeitig auch auf seinen Phosphorsäuregehalt zu untersuchen.

Daneben suchte ich noch über eine andere Frage Aufschluß zu gewinnen, die für unsere Auffassung von dem Wesen der Milchsäurebildung im Muskel von erheblicher Bedeutung ist, nämlich über die Ursache der Konstanz des Milchsäurebildungsmaximums, die seit den Untersuchungen von Fletcher und Hopkins¹⁾ als eine feststehende Tatsache betrachtet wird. Bereits in der erwähnten Arbeit von Fletcher und

¹⁾ Fletcher u. Hopkins, Journ. of Physiology 35, 247, 1906.

Hopkins¹⁾ findet sich eine Andeutung in der Richtung, daß die Konstanz der Milchsäurebildung bei der Tätigkeit dadurch bedingt sein könnte, daß nach Erreichung eines bestimmten Säuregrades durch die gebildete Säure selbst eine Hemmung der weiteren Säurebildung eintritt. Besonders aber lag in den von Embden und seinen Mitarbeitern am Preßsaft des Hundemuskels ausgeführten Untersuchungen ein Hinweis auf eine derartige Selbsthemmung der Milchsäureproduktion im Muskel.

Kura Kondo²⁾ konnte nämlich dartun, daß ein relativ geringer Säurezusatz genügt, um die Milchsäurebildung im Muskelpreßsaft vollkommen aufzuheben. Er sprach bereits die Vermutung aus,³⁾ daß die bei der Wärmestarre erfolgende Milchsäurebildung durch eine künstliche Steigerung des Alkaligehaltes des Muskels vermehrt werden könnte.

Auch die Einwirkung des Alkalizusatzes auf den Phosphorsäuregehalt des Muskels wurde von mir untersucht. Da in einem großen Teil der Versuche der Zusammenhang zwischen Milchsäure und Phosphorsäurebildung im Muskel an demselben Material untersucht wurde, wie die Einwirkung von Alkali auf das Säurebildungsmaximum, werden im folgenden beide Fragen gemeinsam behandelt werden.

Methode.

Fletcher und Hopkins bewiesen, daß Erwärmen und mechanische Schädigung schon an sich den Milchsäuregehalt des Muskels steigern; will man daher den im Augenblick des Todes bzw. den am Ende des Versuchs tatsächlich vorhandenen Wert bestimmen, so muß man schnell, in der Kälte und mit geringst möglicher mechanischer Reizung des Muskelgewebes arbeiten. Die genannten Autoren zerrieben daher die schnell und vorsichtig in der Kälte abgeschnittenen Muskel in eiskaltem Alkohol. Aus der nach Verjagung des Alkohols gewonnenen wässerigen Lösung der Alkoholauszüge extrahierten

¹⁾ l. c. S. S. 281.

²⁾ Kura Kondo, Bioch. Ztschr. 45, 63, 1912.

³⁾ l. c. S. 79.

sie die Milchsäure durch Schütteln mit Äther und wogen sie schließlich als Zinklactat.

In allen Einzelheiten der Gewinnung der Muskulatur, der Abkühlung, der Ermittlung des Muskelgewichts usw. richtete ich mich peinlichst nach den Angaben von Fletcher und Hopkins. Dagegen wich ich in der Art der Extraktion des Muskels von ihnen ab, nachdem ich mich vorher an einigen Parallelversuchen überzeugt hatte, daß die beschriebene alkoholische Extraktion und das nachstehend geschilderte Verfahren annähernd die gleichen Werte liefern.

Da es sich nämlich in unserem Falle darum handelte, Phosphorsäure und Milchsäure nebeneinander zu bestimmen und damit gerechnet werden mußte, daß im Muskel vorhandene phosphorsaure Salze nicht in die alkoholische Extraktion eingingen, bin ich folgendermaßen verfahren:

Benutzt wurden die Hinterschenkel von männlichen und weiblichen Eskulenten; die Frösche entstammten verschiedenen Bezugsquellen. Zu zusammengehörigen Versuchen wurden immer Tiere der gleichen Sendung verarbeitet. Die Zerkleinerung der genau in der von Fletcher und Hopkins beschriebenen Weise gewonnenen Muskulatur geschah nun aber nicht in eisgekühltem Alkohol, sondern in einer durch Kältemischung auf -8° bis -12° abgekühlten salzsauren Kochsalzlösung, die so hergestellt wurde, daß eine 2%ige wässrige Salzsäurelösung in der Kälte mit reinem NaCl gesättigt wurde. Von dieser Lösung wurde in jedem Versuch etwa das doppelte Volumen der zu erwartenden Muskulatur verwandt. In die darin mit Sand zerriebenen Muskeln dringt, falls die Zerkleinerung mit dem Pistill geschickt erfolgt, die stark hypertensive Salzlösung so rasch ein, daß die Muskeln auch nicht vorübergehend gefrieren, durch die Säurewirkung aber stark aufquellen. Nachdem die saure Flüssigkeit noch etwa eine halbe Stunde in der Kältemischung stehen geblieben war, wurde ein der angewandten Salzsäuremenge gleiches Volumen 5%igen Sublimats hinzugefügt und dann mit destilliertem Wasser auf das 5—10fache der verarbeiteten Muskulatur aufgefüllt. Diese Flüssigkeit blieb nach gründlichem Rühren über Nacht im

Eisschrank stehen, wobei unter dem Einfluß der Eiweißfällung die Muskulatur entquoll.

Die auf diese Weise gewonnenen Muskelextrakte wurden abgesaugt und nach dem Entquecksilbern mit Schwefelwasserstoff, Verjagen des Schwefelwasserstoffs durch einen Luftstrom und Entfernung des Quecksilbersulfids wurden möglichst große, gemessene, aliquote, gleiche Filtratanteile zur Milchsäure- und Phosphorsäurebestimmung verwendet.

Die aus den sofort verarbeiteten Muskeln erhaltenen Filtrate zeigten regelmäßig eine deutliche Opaleszenz, die aber die weitere Milchsäure- und Phosphorsäurebestimmung nicht störte.

Die Technik dieser Bestimmungen war genau die gleiche, wie die in der voranstehenden Arbeit von Embden, Griesbach und Schmitz. Die an den Filtraten gewonnenen Analysenzahlen wurden auf das Gesamtvolumen der ursprünglichen Schenckfällung berechnet. Daraus ließ sich bei dem bekannten Gehalt dieser Schenckfällung an Muskulatur der prozentuale Milchsäure- und Phosphorsäurewert bestimmen.

Die Tätigkeit der Muskeln wurde durch direkte faradische Reizung mit einem Induktionsapparat (im Primärkreis ein Chromsäureelement von 1,8 Volt) bewirkt, so lange, bis sie auch nach Einschaltung von Erholungspausen völlig unerregbar geworden waren, was nach 1 $\frac{1}{2}$ bis 2 Stunden der Fall war.

Die Wärmestarre wurde zum Teil genau in der von Fletcher und Hopkins beschriebenen Weise an den ganzen Froschschenkeln vorgenommen. Aus verschiedenen Gründen zerkleinerte ich in einem anderen Teile der Versuche die Muskeln zunächst unter starker Eiskühlung mit einem Wiegemesser. Von dem gut gemischten Muskelbrei wurden gleiche gewogene Teile entweder sofort verarbeitet, oder zunächst in einem Wasserbade von 45° der Wärmestarre ausgesetzt unter Verwendung steriler mit Glasstopfen verschlossener Pulverflaschen. Bei der weiteren Verarbeitung wurde auch hier zunächst die Muskulatur unter der oben beschriebenen stark gekühlten salzsauren Kochsalzlösung zerkleinert und im übrigen genau in der bereits geschilderten Weise vorgegangen.

Versuchsergebnisse.

In mehreren Versuchen (Tabelle 1 Versuch 1—3) habe ich zunächst, wie es bereits von Fletcher und Hopkins geschehen ist, den Milchsäuregehalt des Muskels bei sofortiger Verarbeitung im Ruhezustand, nach Tätigkeit und unter der Einwirkung einstündiger Wärmestarre bestimmt, außerdem aber auch den Phosphorsäuregehalt unter den gleichen Bedingungen. In dieser und in allen folgenden Tabellen sind die Milchsäure- und die Phosphorsäure-(H_3PO_4)Werte in Milligramm pro 100 g Muskulatur angegeben. Die analytischen Belege finden sich am Schluß der Arbeit (Tabelle 5). Aus Kolonne 3—5 geht der Milchsäuregehalt der Muskulatur während der Ruhe, nach Tätigkeit und nach Eintritt der Wärmestarre hervor. In den Kolonnen 6—8 sind die entsprechenden Werte für Phosphorsäure angegeben. In den Kolonnen 9 und 10 ist unter Zugrundelegung der jeweils gefundenen Ruhewerte die durch Tätigkeit und durch Wärmestarre hervorgerufene Milchsäurebildung verzeichnet; aus Kolonne 11 und 12 geht die entsprechende Phosphorsäurebildung hervor.

Betrachten wir in Versuch 1—3 zunächst die Kolonnen 3 bis 5, so sieht man, daß in Versuch 1 der Ruhewert für Milchsäure den niedrigsten von Fletcher und Hopkins beobachteten nahezu gleich kommt. (Es muß hierbei berücksichtigt werden, daß die genannten Autoren ihre Werte als wasserfreies Zinklactat angeben, während in der vorliegenden Arbeit die Berechnung auf freie Milchsäure erfolgte). In Versuch 3 ist der Milchsäuregehalt in der Ruhe ein wesentlich höherer (50 mg),¹⁾ was vielleicht auf die ziemlich hohe Außentemperatur an diesem Tage zurückzuführen sein dürfte. Sie betrug 21°, während wir sonst nur 13—18° C. im Versuchsraum hatten.

Der Milchsäuregehalt nach Muskeltätigkeit schwankte in meinen Versuchen zwischen 143 und 193 mg, was annähernd den Beobachtungen von Fletcher und Hopkins entspricht.

¹⁾ Die eingeklammerten Ergebnisse des Milchsäure- und Phosphorsäuregehalts nach Wärmestarre in Versuch 3 sind mit abweichender Technik vorgenommen und werden weiter unten besprochen.

Tabelle 1.

Nr. des Versuchs	Datum	Milchsäuregehalt			Phosphorsäuregehalt			Milchsäurebildung		Phosphorsäurebildung		Bemerkungen
		Während der Ruhe	Nach Tätigkeit	Bei Wärmestarre	Während der Ruhe	Nach Tätigkeit	Bei Wärmestarre	Durch Tätigkeit	Durch Wärmestarre	Durch Tätigkeit	Durch Wärmestarre	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	16./IV. 1913	16	143	420	257	254	346	127	404	Keine Zunahme	89	
2	22. 26./IV. 1913	—	193	370	243	241	306	—	—	Keine Zunahme	63	
3	3./VI. 1914	50	164	[287]	255	244	[387]	114	[237]	Keine Zunahme	[132]	
4	30. 31./I. 1913	27	—	545	253	—	295	—	518	—	42	
5	24./II. 1913	34	—	507	358	—	349	—	473	—	Keine Zunahme	
6	1./IV. 1913	—	—	—	299	—	320	—	—	—	21	
7	4./IV. 1913	—	—	—	239	—	285	—	—	—	46	

Die eingeklammerten Werte wurden an der zerkleinerten Muskulatur erhalten. Siehe auch Tabelle 3, Versuch 14.

Auch die Milchsäurebildung durch Wärmestarre ist in Versuch 1 und 2 von ähnlicher Größe wie sie von Fletcher und Hopkins gefunden wurde.

Der Phosphorsäuregehalt während der Ruhe und nach Tätigkeit ist aus den Kolonnen 6 und 7 ersichtlich. Übereinstimmend geht aus den Versuchen 1—3 hervor, daß durch eine Muskeltätigkeit, die mit starker Milchsäurebildung verbunden ist, eine Erhöhung des Phosphorsäuregehalts nicht hervorgerufen wird.

Ganz anders liegen die Verhältnisse bei der Wärmestarre. In Versuch 1 ist der Phosphorsäuregehalt von 257 mg Prozent in der Ruhe auf 346 nach der Wärmestarre gestiegen, in Versuch 2 von 243 auf 306 mg Prozent. Die folgenden Versuche der Tabelle 1 bestätigen durchaus dieses Ergebnis, mit Ausnahme von Versuch 5, in dem eine Phosphorsäurebildung durch Wärmestarre nicht beobachtet werden konnte. Hier ist der Phosphorsäuregehalt des Muskels von vornherein sehr viel höher, als in den übrigen Versuchen der Tabelle 1. Ich muß die Frage unbeantwortet lassen, ob es sich bei diesem einen negativen Ergebnis, dem zahlreiche positive gegenüberstehen, als in Tabelle 1 angegeben sind, um einen Versuchsfehler handelt oder nicht.

Die Milchsäurebildung durch Wärmestarre in Versuch 4 und 5 (Kolonne 5) ist merklich höher, als die in Versuch 1 und 2. Dies ist auf Grund der Feststellungen von Fletcher und Hopkins über den Einfluß der Jahreszeit auf die Höhe des Milchsäuremaximums ohne weiteres verständlich; denn Versuch 1—3 wurden in den Monaten April bis Juni, Versuch 4 und 5 im Januar und Februar angestellt, wie aus Kolonne 2 hervorgeht.

Das eben mitgeteilte Versuchsergebnis, daß Wärmestarre eine Zunahme der Phosphorsäure bedingt, wird durch die Versuche 8—10 (Tabelle 2) durchaus bestätigt und erweitert. Hier wich die Versuchstechnik insofern von der bisherigen ab, als die Muskulatur von vorneherein unter starker Kühlung zerkleinert wurde. (Siehe darüber unter Methode). Der Muskelbrei, in allen Fällen 50 g, wurde in dem zwei- bis vierfachen

Tabelle 2.

Nr. des Versuchs	Datum	Milchsäuregehalt					Phosphorsäuregehalt					Milchsäurebildung				Phosphorsäurebildung				
		So- fort	1 Stunde	2 Stund.	1 Stunde	2 Stund.	So- fort	1 Stunde	2 Stund.	1 Stunde	2 Stund.	1 Stunde	2 Stund.	1 Stunde	2 Stund.	1 Stunde	2 Stund.			
1																				
8	20. VI. 1913	92	423	446	650	662	287	423	428	456	466	331	354	558	570	136	141	169	179	
9	27. VI. 1913	117	424	412	—	616	358	415	420	—	433	307	295	—	499	57	62	—	75	
10	1. VII. 1913	76	410	369	608	565	339	421	423	437	429	384	293	532	489	82	84	98	90	

Volumen 0,62%iger Kochsalzlösung oder 2%iger frisch bereiteter Natriumbikarbonatlösung suspendiert und nunmehr ein oder zwei Stunden in hermetisch verschlossenen Pulverflaschen auf 45° erwärmt, um so den Einfluß des Alkalizusatzes auf den Umfang der Milchsäure- und Phosphorsäurebildung zu untersuchen.

Aus Kolonne 3 geht hervor, daß der Anfangsgehalt an Milchsäure größer ist, als in den früheren Ruheversuchen, was nach den Erfahrungen von Fletcher und Hopkins ohne Frage auf die Zerkleinerung der Muskulatur zurückzuführen ist. Bei der Einwirkung der Wärmestarre in physiologischer Kochsalzlösung ist das erreichte Säuremaximum in drei Versuchen, die im Juni und Juli angestellt wurden, ein sehr ähnliches. Ein Vergleich der Kolonne 4 und 5 ergibt, daß die Säurebildung nach einer Stunde abgeschlossen ist. Setzt man die zerkleinerten Muskeln in 2%iger Natriumbikarbonatlösung einer Temperatur von 45° in genau gleicher Weise wie in den Versuchen mit Kochsalzlösung, aus, so sieht man ein ganz beträchtliches Ansteigen des Milchsäuremaximums. Dieses Maximum ist wiederum in den drei Versuchen ein sehr ähnliches und liegt fast ausnahmslos über 600 mg%. Es ist also nicht nur ganz beträchtlich höher, als das in Kochsalzlösung erreichte, sondern übertrifft sogar das normale Säuremaximum von Winterfröschen, das nach den Angaben von Fletcher und Hopkins (auf Milchsäure umgerechnet) im höchsten Falle bei etwas über 420 mg% liegt. Auch in den Versuchen mit Natriumbikarbonatzusatz ist die Milchsäurebildung in Versuch 8 u. 10, in denen sie nach 1 und 2 Stunden untersucht wurde, bereits nach 60 Minuten abgeschlossen.

Aus der bisherigen Besprechung der Tabelle 2 geht hervor, daß die bei der Wärmestarre gebildete Milchsäuremenge durch Natriumbikarbonatzusatz ganz gewaltig gesteigert wird. Dieser Befund stimmt durchaus mit der Vorstellung überein, daß bei der Wärmestarre in der gewöhnlichen Versuchsordnung, das heißt am ganzen Muskel und ohne Zusatz einer alkalischen Flüssigkeit die Säurebildung bei Erreichen eines bestimmten H-Ionengehalts sich selber hemmt.

Weitere Versuche, die das eben geschilderte Verhalten noch deutlicher zeigen, sollen gleich besprochen werden.

Ich will noch erwähnen, daß ich mich in einer Reihe übereinstimmender Kontrollversuche überzeugt habe, daß eine 2%ige Natriumbikarbonatlösung innerhalb 2 Stunden bei 45° aus Traubenzucker keine Spur Milchsäure bildet, so daß die unter Einwirkung von Natriumbikarbonatlösung auftretende Steigerung der Milchsäurebildung keineswegs als Laborationsprodukt anzusehen ist.

Übrigens ist auch in jenen Versuchen, in denen die Wärmerstarre unter Kochsalzlösung eingeleitet wurde, die gebildete Milchsäuremenge dafür, daß die Versuche im Juni und Juli vorgenommen wurden, recht hoch. Vielleicht ist das auf die Verdünnung durch Kochsalzlösung und die damit verbundene Herabsetzung der Wasserstoffionen-Konzentration zurückzuführen. Freilich sind anscheinend die von uns gefundenen Milchsäuremaxima höher als die von Fletcher und Hopkins festgestellten, was möglicherweise auf verschiedene Beschaffenheit der angewandten Frösche zurückzuführen sein dürfte, zum Teil wohl auch auf die vollständigere Milchsäureextraktion im Lindschen Apparat.

Wir besprechen nunmehr die Einwirkung der Wärmerstarre auf den Phosphorsäuregehalt. Zu Kolonne 8 (Tabelle 2) ist der unmittelbar nach Zerkleinerung der Muskulatur bestimmte Phosphorsäuregehalt wiedergegeben. Er schwankt zwischen 287 mg% und 358 mg%, ist also höher als die in Tabelle 1 verzeichneten Ruhewerte mit Ausnahme von Versuch 5 und 6.

Es kann sich hier nicht etwa darum handeln, daß aus den zerkleinerten Muskeln die Phosphorsäure vollständiger extrahiert wurde, denn das bei jeder Fällung vorgenommene Zerreiben mit Sand führt zu sehr viel feinerer Zerteilung der Muskulatur als das einfache Zerhacken mit dem Wiegemesser. Ich möchte bei der immerhin geringen Versuchszahl keine bestimmten Schlüsse aus dem eben geschilderten Verhalten ziehen, es liegt aber nahe, daran zu denken, daß die Zerkleinerung der Muskulatur an sich nicht nur Milchsäure-, sondern auch Phosphorsäurebildung hervorrief.

Ein Vergleich der sofort erhaltenen Phosphorsäurewerte in Kolonne 8 mit den nach Wärmestarre gewonnenen zeigt, daß überall eine beträchtliche Phosphorsäurebildung stattfand. Der Umfang der Phosphorsäurebildung ist anscheinend nach einer Stunde völlig, oder nahezu völlig abgeschlossen (vergleiche Kolonne 9 mit Kolonne 10, Kol. 11 mit Kol. 12) und es scheint darnach, daß die Phosphorsäurebildung bei der Wärmestarre des Froschmuskels ein ähnlich rasch verlaufender Vorgang wie die Milchsäurebildung ist.

Eine Einwirkung des Bikarbonatzusatzes auf den Umfang der Phosphorsäurebildung scheint vorhanden zu sein. Wenigstens ist der Phosphorsäuregehalt in allen drei Versuchen mit Natriumbikarbonatzusatz ein wenig höher, als in den Versuchen mit physiologischer Kochsalzlösung; allerdings liegen die gefundenen Unterschiede den Fehlergrenzen der Bestimmung ziemlich nahe.

Die niedrigste beobachtete Phosphorsäurebildung betrug 57 mg $\%$. (Versuch 9: Kolonne 17), die höchste 179 mg $\%$ (Versuch 8: Kolonne 20). Man sieht ohne weiteres, daß diese Unterschiede weniger durch die bei der Wärmestarre gefundenen Endwerte, die sehr dicht beieinander liegen, als durch die schwankenden Anfangswerte bedingt sind.

In einer weiteren Versuchsreihe (Tab. 3), die vor der eben besprochenen zwischen Ende April und Anfang Juni angestellt wurde, haben wir Bestimmungen unmittelbar nach der Zerkleinerung nicht ausgeführt, sondern nur den Einfluß des Bikarbonats auf die Höhe des Milchsäuremaximums untersucht. Diese Versuche führen im Prinzip zu ganz dem gleichen Ergebnis, wie die in der vorigen Tabelle zusammengestellten. In zwei Versuchen (Versuch 13 und 14) wurde die Einwirkung von 1 und 2%iger Natriumbikarbonatlösung miteinander verglichen. In beiden Versuchen war das Milchsäuremaximum bei der stärkeren Konzentration größer, sodaß wir in den folgenden Versuchen nur die 2%ige Lösung verwandten.

Die größte Mehrbildung von Milchsäure durch Natriumbicarbonatzusatz wurde in Versuch 11 erzielt, wo sie 300 mg $\%$ betrug. (Kol. 7), während sie in den übrigen, unter Anwendung

Tabelle 3.

1 Nr. des Ver- suchs	2 Datum	3 Milchsäuregehalt mit			6 Milchsäure- mehrbildung durch		8 Bemerkungen
		3 Physi- ol. Koch- salz- lösung	4 1 %	5 2 %	6 1 %	7 2 %	
			4 Bicar- bonat- lösung	5 Bicar- bonat- lösung	6 Bicar- bonat- lösung	7 Bicar- bonat- lösung	
11	29./IV. 13	336	—	636	—	300	
12	6./V. 13	310	517	—	207	—	
13	14./V. 13	331	470	549	139	218	
14	20./V. 13	290	529	547	239	257	
15	27./V. 13	295	—	502	—	207	
16	7./VI. 13	346	—	524	—	178	Wärmestarre 2 Stunden
17	3./VI. 14	287	—	444	—	157	

2%iger Bikarbonatlösung angestellten Versuchen zwischen 157 mg⁰/₀ (Versuch 17) und 257 mg⁰/₀ (Versuch 14) schwankte.

Die in Tabelle 4 zusammengestellten Versuche (Versuch 18—21) wurden im September und Oktober ebenfalls am Muskelbrei angestellt. Milchsäure- und Phosphorsäuregehalt wurden unmittelbar nach der Zerkleinerung sowie nach einstündiger Wärmestarre mit Kochsalzlösung von 0,62% und Natriumbikarbonatlösung von 2% bestimmt. Außerdem wurde auch der Glykogengehalt unter den gleichen Umständen nach der abgekürzten Pfügerschen Methode ermittelt.

Die Steigerung der Milchsäurebildung durch Zusatz von Natriumbikarbonatlösung wurde in diesen Versuchen durchaus bestätigt, nur daß zu dieser Jahreszeit die Unterschiede zum Teil noch weit größer sind, als bei den von April bis Juli vorgenommenen Versuchen.

Das in physiologischer Kochsalzlösung erreichte Milchsäuremaximum schwankt zwischen 338 mg⁰/₀ in Versuch 18 und 428 mg⁰/₀ in Versuch 19. Das Milchsäuremaximum in der zerkleinerten Mukulatur bei Zusatz von Kochsalzlösung ist dem-

nach im Herbst nicht größer als im Juni, was im Hinblick auf die von Fletcher und Hopkins am intakten Schenkel festgestellten und auch in meinen Versuchen am ganzen Schenkel durchaus bestätigten Unterschiede im Milchsäurebildungsmaximum zu verschiedenen Jahreszeiten sehr auffällig ist. Das Milchsäuremaximum in Bikarbonatlösung beträgt in dem am 8. September angestellten Versuch, wo die Einwirkung des Bikarbonatzusatzes am geringsten ist, 659 mg⁰/₀, in Versuch 21 (24. Oktober) erreicht es den hohen Wert von 904 mg⁰/₀. Es scheint so, als ob die durch Bikarbonatzusatz erreichbare Milchsäurebildung von Anfang September bis Ende Oktober dauernd ansteigt.

In Kolonne 14 ist die durch Bikarbonatzusatz verursachte Mehrbildung berechnet. Sie erreicht in dem oben besprochenen Versuch 21 504 mg⁰/₀, die Milchsäurebildung unter Bicarbonatansatz beträgt also in diesem und auch im vorhergehenden Versuch mehr als das Doppelte des unter Zusatz von Kochsalzlösung erreichten Maximums.

Die unmittelbar nach der Zerkleinerung gefundenen Phosphorsäurewerte schwankten zwischen 220 mg⁰/₀ (Versuch 19) und 231 mg⁰/₀ (Versuch 21).

Die Wärmestarre in Kochsalzlösung ruft in allen untersuchten Fällen auch hier eine sehr deutliche Phosphorsäurebildung hervor. Ihr höchster Wert beträgt 0,18⁰/₀ in Versuch 19, ihr niedrigster 0,153⁰/₀ in Versuch 21. Der Phosphorsäuregehalt nach der Wärmestarre liegt in den eben besprochenen Versuchen übrigens keineswegs höher, sondern eher etwas niedriger, als bei den entsprechenden im Sommer vorgenommenen Versuchen. (Tab. II, Kol. 9). Diese im Juni und Juli angestellten Versuche ließen die Vermutung, die durchaus noch der experimentellen Bestätigung bedarf, aufkommen, daß bereits die Zerkleinerung der Muskulatur eine gewisse Phosphorsäurebildung hervorruft. In den Oktoberversuchen liegen jedenfalls die unmittelbar nach der Zerkleinerung erhaltenen Werte sehr niedrig.

Auffällig ist bei allen drei Versuchen die Einwirkung der Bicarbonatlösung auf die Phosphorsäurebildung. Die letztere ist überall gegenüber der in physiologischer Kochsalzlösung

erhaltenen deutlich herabgesetzt, wie es im einzelnen aus einem Vergleich der Kolonnen 7 und 8 und unmittelbar noch aus den Stäben 15 und 16 ersichtlich ist. Bei Sommerfröschen war eine derartige Einwirkung nicht zu erkennen und der Vorgang der Milchsäure- und Phosphorsäurebildung bereits nach einer Stunde abgeschlossen. An Winterfröschen habe ich nur einstündige Wärmestarreversuche vorgenommen, so daß die Frage, ob in den Versuchen mit Zusatz von Natriumbicarbonatlösung im Winter bei den großen vorhandenen Kohlenhydratvorräten nach einer Stunde Milchsäure- und Phosphorsäurebildung noch nicht zum Abschluß gelangt waren, einstweilen unentschieden bleiben muß.

Für die Frage nach der Herkunft der bei der Wärmestarre gebildeten Milchsäure sind vielleicht die Glykogenwerte, die unter denselben Bedingungen wie die Milchsäure- und Phosphorsäurewerte gewonnen wurden, von Interesse. Man sieht zunächst, daß dort, wo unmittelbar nach der Zerkleinerung die geringste Glykogenmenge vorhanden war (Versuch 18 vom 8. Sept.), das geringste Milchsäuremaximum in Kochsalz- und Natriumbicarbonatlösung gefunden wurde. In Versuch 21 (24. Okt.), wo die Muskeln einen Glykogengehalt von über 1,3% hatten, wurden bei der Wärmestarre unter Bicarbonatzusatz 904 mg% Milchsäure gebildet. Die Versuche 19 und 20 liegen in bezug auf ihren Anfangsglykogengehalt und ihr unter Bicarbonatlösung erreichtes Milchsäuremaximum in der Mitte zwischen den beiden eben genannten Versuchen. (Versuch 20 zeigt bei etwas geringerem Glykogengehalt eine etwas stärkere Milchsäurebildung als Versuch 19.)

Ebenso wie durch Bicarbonatzusatz eine stärkere Milchsäurebildung bei der Wärmestarre erzielt wird, tritt in der Bicarbonatlösung ein weit stärkeres Verschwinden von Glykogen als in der Kochsalzlösung auf (Kolonnen 10 u. 11).

Vergleicht man die Milchsäurebildung in Kolonne 12 und 13 mit dem Glykogenverlust in Kolonne 17 und 18, so sieht man, daß der Glykogenverlust zum Teil größer, zum Teil geringer ist, als die Milchsäurebildung. Auch für die Mehrbildung von Milchsäure (Kolonnen 14) und den Mehrverlust von Glykogen

(Kolonne 19) durch den Natriumbicarbonatzusatz gilt das gleiche. Wenn sich hier streng gesetzmäßige Beziehungen zwischen Milchsäurebildung und Glykogenschwund nicht feststellen lassen, so beruht das möglicherweise darauf, daß der jeweilige Glykogengehalt keineswegs ein vollständiges Bild von dem Kohlenhydratbestand des Muskels gibt.

Hier ist den Ausführungen von Parnas und Wagner¹⁾ in einer Arbeit, die seit der Vornahme meiner Versuche erschienen ist, unbedingt zuzustimmen.

Bei der Besprechung der Gesamtergebnisse dieser Arbeit möchte ich zunächst auf das Verhalten der Phosphorsäure eingehen.

Es zeigte sich, daß die am ruhenden Muskel gefundenen Phosphorsäurewerte mit einer Ausnahme einander außerordentlich ähnlich waren, trotzdem die Versuche zu sehr verschiedenen Jahreszeiten angestellt wurden. Sie schwankten, wenn man das Ergebnis dieses einen Versuches nicht berücksichtigt, zwischen 239 und 299 mg^{0/0} (Tab. I). Durch direkte elektrische Reizung bis zur Erschöpfung geleistete Muskeltätigkeit rief keinerlei Veränderung im Phosphorsäurebestand des Muskels hervor. Wärmestarre im morphologisch intakten Muskel führte bei 6 untersuchten Fällen fünfmal zu einer deutlichen Phosphorsäurebildung, die zwischen 89 und 21 mg^{0/0} schwankte. (Versuche 1, 2, 4, 6, 7 (Tab. I.)

Erheblich größer war die Phosphorsäurebildung nach vorangehender Zerkleinerung des Muskels; in drei Versuchen, die im Juni angestellt wurden, schwankte sie zwischen 57 und 179 mg^{0/0} (Tabelle II, Versuche 8—10), während drei im Oktober unter den gleichen Bedingungen vorgenommene Versuche eine Phosphorsäurebildung von 153—180 mg^{0/0} aufwiesen (bezw. unter Berücksichtigung der niedrigeren unter Bicarbonatzusatz erhaltenen Werte von 72—180 mg^{0/0}).

Die Phosphorsäurebildung verläuft sehr rasch. In drei darauf untersuchten Fällen war sie nach einstündiger Wärmestarre völlig oder fast völlig abgeschlossen.

¹⁾ Parnas u. Wagner, Bioch. Zeitschr., Bd. 61, S. 387, 1914.

Zu dem von mir gewonnenen Ergebnis, daß die Menge der anorganischen Phosphorsäure bei der Wärmestarre zunimmt, stehen die Angaben von Parnas und Wagner¹⁾ im Widerspruch, die auf Grund der Mitteilung Embdens²⁾ über die Bildung äquimolekularer Milchsäure- und Phosphorsäuremengen im Warmblütermuskelpresssaft die Phosphorsäure in ruhenden, tätigen und wärmestarren Froschmuskeln bestimmten. Sie fanden weder bei der Tätigkeit noch bei der Wärmestarre eine Zunahme der Phosphorsäure.

Wodurch diese Abweichung bedingt ist, ist einstweilen schwer zu beurteilen. Zum Teil ist sie wohl dadurch hervorgerufen, daß Parnas und Wagner ihre Wärmestarreversuche nur am ganzen Schenkel vornahmen, wo die Phosphorsäurebildung durch Wärmestarre merklich geringer als im Muskelbrei ist. Auch die von Parnas und Wagner und von mir angewandte Methode der Phosphorsäurebestimmung war in einigen Punkten verschieden. Namentlich haben die eben genannten Autoren die Froschmuskeln nach ihrer Abtötung durch Zerdrücken unter eiskaltem Alkohol kurze Zeit (etwa 1 Minute) mit siedendem Wasser behandelt, und den wässrigen Muskelextrakt, in dem schließlich die Phosphorsäurebestimmung vorgenommen wurde, auf dem Wasserbade eingedampft.

Ob dieses Erwärmen schon zu einer Abspaltung anorganischer Phosphorsäure aus organischen Phosphorverbindungen führt, entzieht sich einstweilen der Beurteilung. Hier sei nur erwähnt, daß in einem aus Muskelpresssaft vom Hunde gewonnenen, entquecksilberten und neutralisierten Schenckfiltrat durch Kochen während einer Minute und Einengen der mit etwas Essigsäure angesäuerten Lösung auf dem Wasserbade eine geringe aber deutliche Vermehrung der Phosphorsäure auftrat. Rechnet man die von Parnas und Wagner an frischen und die damit praktisch übereinstimmenden Werte für anorganische Phosphorsäure an wärmestarren Muskeln auf H_3PO_4 um, so sieht man, daß die niedrigste am frischen Muskel gewonnene Analysenzahl³⁾ (l. c. S. 415, Tab. 14, Versuch 70) = 0,354 % H_3PO_4 , die höchste = 0,392 % H_3PO_4 ist. In meinen Versuchen an ruhenden, ohne vorheriges Zerhacken in der eingangs geschilderten Weise verarbeiteten Muskel schwankt der Gehalt an anorganischer H_3PO_4 in 6 von 7 Versuchen nur zwischen 0,239 und 0,299 %. (Tab. I.) Nur der mehrfach erwähnte Versuch 5, der einzige

¹⁾ l. c.

²⁾ Embden, G. Verhandlgg. d. dtsh. Kongr. f. inn. Med., Wiesbaden, 1913.

³⁾ Ob Parnas und Wagner, die nach einer Vorschrift von Macleod arbeiteten (Macleod, Z. f. physiol. Chem. Bd. 28, S. 538, 1899), die Molybdatfällung der Phosphorsäure in der Wärme oder in der Kälte vornahmen, geht aus ihren Angaben und aus denen Macleods nicht hervor. Es scheint fast, als ob wenigstens Macleod diese Fällung in der Wärme ausführte (l. c., S. 539).

der ganzen Arbeit, in dem keine Zunahme der Phosphorsäure beobachtet werden konnte, zeigte frisch untersucht 0,358 % Phosphorsäure, was den niedrigeren von Parnas und Wagner ermittelten Werten etwa entspricht.

Die nach vorangehender Wärmestarre von mir am ganzen Muskel gewonnenen Phosphorsäurezahlen sind nicht höher, sondern größtenteils deutlich niedriger, als die Wärmestarrewerte von Parnas und Wagner, wobei allerdings zu bemerken ist, daß die genannten Autoren die Muskeln vorher abpräparierten, also bis zu einem gewissen Grade mechanisch schädigten.

Die während des Sommers an Muskeln sofort nach der Zerkleinerung erhaltenen Phosphorsäurewerte (Tab. II, Versuch 8—10) sind, wie bereits erwähnt, merklich höher, als die am nicht mechanisch geschädigten Muskel. Der höchste dieser Werte (Versuch 9) beträgt 0,358 %. Der Phosphorsäuregehalt des zerkleinerten Muskels nach einstündiger Wärmestarre in physiologischer Kochsalzlösung beträgt im Juni wie im Oktober etwa 0,4 % (0,384 % in Versuch 21 bis 0,423 % in Versuch 8); also auch der Phosphorsäuregehalt nach Wärmestarre am zerkleinerten Muskel geht nicht oder nur wenig über die von Parnas und Wagner an frischen Muskeln gefundenen Werte hinaus.

Die Phosphorsäurebildung bei der Wärmestarre möchte ich auf Grund der vorstehenden Versuche für eine gesicherte Tatsache halten. Sie ist offenbar stärker, wenn die Wärmestarre auf vorher zerhackte Muskeln einwirkt, als wenn man die morphologisch intakten Muskeln wärmestarr werden läßt. Hingegen kann bei direkter faradischer Reizung der Muskulatur bis zur Erschöpfung keinerlei Phosphorsäurebildung erzielt werden.

Die Phosphorsäurebildung im wärmestarren Muskel ist ein sehr rasch verlaufender Vorgang, der meist schon nach einer Stunde abgeschlossen ist.

An sich ist natürlich das Auftreten von Phosphorsäure neben Milchsäure bei der Wärmestarre kein Beweis dafür, daß beide derselben Quelle entstammen. Im Zusammenhalt mit den Untersuchungen von Embden, Griesbach und Schmitz muß aber sehr an diese Möglichkeit gedacht werden.

In der Arbeit der eben erwähnten Autoren wurde ausgeführt, daß das Lactacidogen in gewisser Weise als Überträgersubstanz betrachtet werden kann, in dem Sinne, daß kleine Mengen von Phosphorsäure große Mengen von Kohlen-

hydrat unter intermediärer Bindung an das letztere in Milchsäure überführen könnten. Ob bei dieser Umwandlung von Kohlenhydrat in Milchsäure unter intermediärer Bildung kohlenhydratphosphorsäureartiger Verbindungen Phosphorsäure frei wird oder nicht, hängt davon ab, ob die Geschwindigkeit des «dissimilatorischen» Zerfalls in Milchsäure und Phosphorsäure jene der «assimilatorischen» Kohlenhydratphosphorsäurebildung übertrifft oder nicht.

Gerade mit dieser Vorstellung sind nun die Ergebnisse meiner Versuche sehr gut vereinbar. Am isolierten, tätigen Froschschenkel kommt es trotz starker Milchsäurebildung vielleicht deswegen nicht zur Phosphorsäurebildung, weil hier am relativ intakten Muskel die synthetische Funktion der Kohlenhydratphosphorsäurebildung noch sehr vollkommen erhalten ist.

Wird die Wärmestarre am ganzen Muskel vorgenommen, so kommt es unter deutlich erkennbarer struktureller Schädigung des Muskelgewebes zu einer Phosphorsäurebildung von meist nicht sehr beträchtlichem Umfang.

Werden schon vor Einleitung der Wärmestarre schwerere Schädigungen der Struktur durch Zerhacken des Muskels hervorgerufen, so wird die Phosphorsäurebildung merklich stärker. Es scheint also, als ob wirklich die Phosphorsäurebildung durch Wärmestarre umso stärker wird, je schwerer der Muskel geschädigt und je mehr deswegen der Verlauf der assimilatorischen Funktionen verlangsamt ist.

Ganz eindeutig sind die Ergebnisse, die bezüglich der Milchsäurebildung durch Wärmestrarre gewonnen wurden. Zusatz von Natriumbikarbonatlösung zum Muskelbrei steigert den Umfang der Milchsäurebildung beim Erwärmen auf 45° immer sehr deutlich.

Das Milchsäurebildungsmaximum kommt offenbar dadurch zustande, daß bei einer gewissen Säuberung eine Selbsthemmung der Milchsäureproduktion eintritt.

Nach den Versuchen von Fletcher und Hopkins ist das Milchsäuremaximum an Herbstfröschen größer als bei Frühjahrsfröschen. Aus den vorstehenden Versuchen geht hervor, daß auch der die Milchsäure steigernde Einfluß von

Tabelle 5. Protokollauszug.

Vers. Nr.	Datum	Behandlung	Muskelgewicht g	Volumen der Schenckfällung ccm	Benutztes Filtrat je ccm	Gewogenes $Mg_2P_2O_7$ mg	Verbrauchte $n/10$ -Jodlösung ccm
1	16./IV. 13	Ruhe	95	500	140	77,9	0,95
		Tätigkeit	89	400	110	70,7	7,7
		Wärmestarre	81	500	140	89,1	21,15
		Ruhe	97	500	130	69,8	—
2	22. u. 26./IV. 13	Tätigkeit	100	500	140	76,8	12,0
		Wärmestarre	93	500	130	84,1	19,9
		Ruhe	95	500	200	110,2	4,0
3	3./VI. 14	Tätigkeit	81	500	200	102,0	11,45
		Wärmestarre	50	500	200	87,8	12,75
4	30. u. 31./I. 13	Ruhe	52	600	250	62,3	1,3
		Wärmestarre	42 1/2	400	160	57,0	20,6
5	24./II. 13	Ruhe	59	400	160	95,9	1,8
		Wärmestarre	49	400	160	77,7	22,1
6	1./IV. 13	Ruhe	50	400	150	63,8	—
		Wärmestarre	61	400	150	83,2	—
7	4./IV. 13	Ruhe	49	400	160	53,2	—
		Wärmestarre	47	400	160	61,0	—
8	20./VI. 13	Sofort	50	500	200	65,3	4,1
		1 Std. Wärmestarre in Kochsalz	50	500	200	96,2	18,8
		2 Std. Wärmestarre in Kochsalz	50	500	200	97,2	19,8
		1 Std. Wärmestarre in Bicarbonat	50	500	200	103,6	28,9
		2 Std. Wärmestarre in Bicarbonat	50	500	200	105,8	29,4
		Sofort	50	500	200	81,3	5,2
		1 Std. Wärmestarre in Kochsalz	50	550	230	98,5	19,7
		2 Std. Wärmestarre in Kochsalz	50	500	200	95,4	18,3

Tabelle 5. Protokollauszug (Fortsetzung).

Vers. Nr.	Datum	Behandlung	Muskelgewicht g	Volumen der Schenckfällung g	Benutztes Filtrat je ccm	Gewogenes $Mg_2P_2O_7$ mg	Verbrauchte $n/10$ -Jodlösung ccm
9	27./VI. 13	2 Std. Wärmestarre in Bicarbonat	50	500	200	98,3	27,4
		Sofort	50	300	120	77,0	3,4
		1 Std. Wärmestarre in Kochsalz	50	500	200	95,5	18,2
		2 Std. Wärmestarre in Kochsalz	50	500	200	95,9	16,4
		1 Std. Wärmestarre in Bicarbonat	50	500	200	99,1	27,0
10	1./VII. 13	2 Std. Wärmestarre in Bicarbonat	50	500	200	97,3	25,1
		1 Std. Wärmestarre in Kochsalz	50	400	150	—	14,0
11	29./IV. 13	1 Std. Wärmestarre in 2% Bicarbonat	50	400	160	—	28,3
		1 Std. Wärmestarre in Kochsalz	50	500	200	—	13,8
12	6./V. 13	1 Std. Wärmestarre in 1% Bicarbonat	50	500	200	—	23,0
		1 Std. Wärmestarre in Kochsalz	50	500	200	—	14,7
		1 Std. Wärmestarre in 1% Bicarbonat	50	500	200	—	20,9
13	14./V. 13	1 Std. Wärmestarre in 2% Bicarbonat	50	400	160	—	24,4
		1 Std. Wärmestarre in Kochsalz	50	500	200	—	12,9
		1 Std. Wärmestarre in 1% Bicarbonat	50	500	200	—	23,5
14	20./V. 13	1 Std. Wärmestarre in 2% Bicarbonat	50	500	200	—	24,3
		1 Std. Wärmestarre in Kochsalz	50	500	200	—	13,1
15	27./V. 13	1 Std. Wärmestarre in 2% Bicarbonat	50	500	200	—	22,3

Tabelle 5. Protokollauszug (Fortsetzung).

Vers. Nr.	Datum	Behandlung	Muskelgewicht g	Volumen der Schenckfällung ccm	Benutztes Filtrat je ccm	Gewogenes $Mg_2P_2O_7$ mg	Verbrauchte $n/10$ -Jodlösung ccm
16	7./VI. 13	2 Std. Wärmestarre in Kochsalz	50	500	200	—	15,4
		2 Std. Wärmestarre in 2% Bicarbonat	50	500	200	—	23,3
17	3./VI. 14	1 Std. Wärmestarre in Kochsalz	50	500	200	—	12,75
		1 Std. Wärmestarre in 2% Bicarbonat	50	500	200	—	19,75
		Sofort	25	150	110	—	5,1
18	8./IX. 13	Wärmestarre in Kochsalz	25	225	180	—	15,0
		Wärmestarre in Bicarbonat	25	225	190	—	30,9
		Sofort	50	500	200	50,0	2,7
19	10./X. 13	Wärmestarre in Kochsalz	50	500	200	90,8	20,05
		Wärmestarre in Bicarbonat	50	500	200	84,6	33,0
		Sofort	50	500	200	52,0	3,0
20	17./X. 13	Wärmestarre in Kochsalz	50	500	200	87,4	17,2
		Wärmestarre in Bicarbonat	50	520	200	72,7	34,3
		Sofort	50	500	200	52,4	2,9
21	24./X. 13	Wärmestarre in Kochsalz	50	500	200	87,2	17,8
		Wärmestarre in Bicarbonat	50	500	200	68,7	40,2

Alkali am ausgesprochensten im Herbst ist, wo der Glykogenvorrat der Froschmuskulatur am größten ist. Es konnte auch festgestellt werden, daß mit der Mehrbildung von Milchsäure durch Bicarbonatzusatz ein Mehrverlust von Glykogen verbunden ist. Wenn sich hier zwischen Milchsäurebildung und Glykogenverlust keine streng gesetzmäßigen Beziehungen ergeben, so liegt das wohl in erster Linie daran, daß der Glykogengehalt kein zuverlässiger Maßstab für den Gesamtkohlenhydratbestand des Muskels ist. (Siehe hierüber namentlich Parnas und Wagner l. c.)

Im ganzen sind die Versuche der vorliegenden Arbeit jedenfalls mit der Vorstellung vereinbar, daß auch im quergestreiften Muskel des Frosches der Abbau der Kohlenhydrate unter intermediärer Bindung an Phosphorsäure erfolgt. Streng beweisend sind meine Versuche in dieser Richtung nicht.

Ganz sicher ließe sich dieser Beweis wohl nur durch die Isolierung einer lactacidogenartigen Substanz aus den Froschmuskeln erbringen.