

Über Hemmung der Labwirkung.

III. Mitteilung.

Von

S. G. Hedin.

(Der Redaktion zugegangen am 4. Oktober 1909.)

In meiner zweiten Mitteilung¹⁾ habe ich unter anderem auch über die Hemmung der Labwirkung durch Kohle berichtet. Daß diese Hemmung auf einer Aufnahme von Lab seitens der Kohle beruht, geht daraus hervor, daß das Lab mit der Kohle aus der Flüssigkeit entfernt werden kann. Zur selben Zeit stellte sich heraus, daß beim Zugeben von Milch zu der mit Lab beladenen Kohle ein Teil des Labs die Kohle verläßt und dadurch wieder in wirksame Form übergeführt wird. Andererseits habe ich in derselben Mitteilung erwähnt, wie die Labwirkung auch durch neutralisiertes Eierklar gehemmt wird; das Vermögen, die Labwirkung zu hemmen, verliert das Eierklar durch Behandlung während einer Stunde bei 37° mit 0,1%iger HCl.

Das mit Säure behandelte und wieder neutralisierte Eierklar hat, wie ich nachträglich gefunden habe, die Fähigkeit, die Aufnahme von Lab seitens Kohle zum Teil zu verhindern, sowie auch das einmal durch Kohle aufgenommene Lab von der Kohle zum Teil abzulösen. Das Eierklar besitzt also in diesen Beziehungen dieselben Eigenschaften wie die Milch. Das Studium des Einflusses von mit Säure behandeltem Eierklar auf die Aufnahme von Lab durch Kohle erlaubt die Verteilung des Labs unabhängig vom Labungsprozeß zu studieren und er bietet deshalb einen gewissen Vorteil vor der Anwendung von Milch zu dem gleichen Zwecke. Im folgenden sollen einige Versuche über die berührten Verhältnisse angeführt werden.

Zunächst mag daran erinnert werden, daß mit HCl behandeltes Eierklar (im folgenden kurz Eierklar) nach meiner

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LX, S. 364, 1909.

letzten Mitteilung auf die Gerinnungszeit der Milch entweder keinen Einfluß ausübt oder die Zeit ein wenig herabsetzt. Bei wiederholten Versuchen habe ich diese Ergebnisse bestätigen können: meistens habe ich eine sehr schwache Begünstigung des Labungsprozesses durch das Eierklar beobachtet. Der Einfluß des Eierklars ist also von geringer Bedeutung; wünscht man denselben zu eliminieren, hat man nur dafür Sorge zu tragen, daß alle zu vergleichenden Proben während der Labung die gleiche Menge Eierklar enthalten.

Mit Rücksicht auf den Einfluß von Milch auf die Aufnahme von Lab durch Kohle habe ich vorher nachgewiesen, daß die Reihenfolge, in welcher die drei Agenzien vermischt werden, für die Verteilung des Enzyms von großer Bedeutung ist. Dasselbe gilt in bezug auf die Einwirkung des Eierklars auf die Aufnahme von Lab durch Kohle. Der Einfluß der Reihenfolge ist in beiden Fällen der gleiche; nur spielt im letzteren Falle das Eierklar dieselbe Rolle wie im ersteren die Milch. Folglich wird durch die Kohle die größte Labmenge aufgenommen, wenn die Kohle zunächst auf das Lab einwirkt und das Eierklar nachträglich zugegeben wird; die geringste Aufnahme geschieht, wenn das Eierklar und die Kohle zunächst vermischt werden und das Lab dann zugesetzt wird. In dem Falle von Kohle, Lab und Eierklar läßt sich außerdem nachweisen, daß die durch die Kohle aufgenommene Labmenge zwischen den oben genannten Mengen liegt für den Fall, daß das Lab zunächst mit dem Eierklar vermischt wird und die Kohle nachträglich zugefügt wird. Die folgenden zwei Versuche beleuchten die erwähnten Verhältnisse.

Versuch 1.

Die angewandten Mengen waren:

- 1 ccm 1%ige Kohlesuspension (Knochenkohle),
- 1 „ Lablösung.
- 10 „ Eierklarlösung.¹⁾

¹⁾ Die Lösung wurde folgendermaßen bereitet: Das Eierklar von einem Hühnerei wurde mit etwa 100 ccm Wasser angerührt, neutralisiert, mit 0,1%iger HCl 1 Stunde bei 37° behandelt, wieder neutralisiert und filtriert.

A. Kohle und Lab wurden zunächst vermischt und 1 Stunde bei 37° aufbewahrt. Dann wurde das Eierklar zugesetzt, die Mischung nach in der Tabelle angegebenen Zeiten zentrifugiert, und von der klaren Flüssigkeit 2 ccm für die Bestimmung der Gerinnungszeit von 10 ccm Milch genommen.

B. Lab und Eierklar wurden zuerst vermischt und dann die Kohle zugesetzt. Nach angegebenen Zeiten bei 37° wurde die Kohle abzentrifugiert und die Lösung wie oben geprüft.

C. Kohle und Eierklar wurden vermischt und dann das Lab zugegeben. Nach unten angegebenen Zeiten bei 37° wurde zentrifugiert und geprüft.

Die Zeiten, während welcher die fertigen Lösungen vor dem Abzentrifugieren der Kohle aufbewahrt wurden, sowie die entsprechenden Labungszeiten, sind in folgender Tabelle eingetragen:

| | | | | | |
|----|------|------------|------------------|-------------------------|---|
| A. | nach | 1 Stunde | bei 37° | $15\frac{1}{2}$ Minuten | |
| | » | 2 Stunden | » 37° | $15\frac{1}{2}$ | » |
| B. | » | 2 | » 37° | $10\frac{1}{2}$ | » |
| | » | 3 | » 37° | $10\frac{1}{2}$ | » |
| C. | » | 25 Minuten | » 37° | $8\frac{1}{2}$ | » |
| | » | 45 | » 37° | $8\frac{1}{2}$ | » |

Durch besondere Proben wurde festgestellt, daß es in den Proben B gleichgültig war, wie lange die Mischung von Lab und Eierklar vor dem Zugeben der Kohle aufbewahrt wurde: sowie daß in den Proben C die Zeit des Aufbewahrens von Kohle und Eierklar belanglos war. Wie ersichtlich, waren für jeden der drei Fälle A, B und C die Gerinnungszeiten nach verschiedenen Zeiten die gleichen; folglich war der Endzustand der Verteilung des Labs oder das Gleichgewicht erreicht. Dieses Gleichgewicht war also in den drei Fällen verschieden. Folglich sind die gebildeten Verbindungen nicht völlig reversibel.

Versuch 2.

Die angewandte Enzymmenge war geringer als in Versuch 1 und da die Mengen von Kohle und Eierklar dieselben blieben wie in Versuch 1, fiel die Hemmung prozentisch größer aus als in Versuch 1 (siehe Mitteilung II).

Die Mischungen A, B und C wurden wie in Versuch 1 hergestellt; nach einer Stunde bei 37° wurde die Kohle abzentrifugiert und die Gerinnungszeiten mit gleichen Mengen der klaren Lösungen ermittelt.

Zu einer Kontrollprobe wurde anstatt Kohlensuspension das gleiche Volumen Wasser zugesetzt.

| | |
|--------------------------|--------------------|
| Kontrollprobe ohne Kohle | 28 Minuten |
| A (Kohle-Lab-Eierklar) | 57 $\frac{1}{2}$ » |
| B (Lab-Eierklar-Kohle) | 38 » |
| C (Kohle-Eierklar-Lab) | 35 » |

Wie ersichtlich, sind die Resultate in guter Übereinstimmung mit dem oben Gesagten.

Die Gegenwart von Eierklar hindert also bis zu einem gewissen Grade die Aufnahme von Lab durch Kohle. In guter Übereinstimmung mit dieser Beobachtung steht das Ergebnis folgender Versuche, nach welchen Eierklar das Vermögen besitzt, Lab, das schon durch Kohle aufgenommen ist, von der Kohle zum Teil abzulösen. Dies läßt sich in der Weise nachweisen, daß mit Lab beladene Kohle einerseits mit Wasser und andererseits mit dem gleichen Volumen Eierklar in Berührung gelassen wird, worauf die Kohle entfernt und mit der klaren Flüssigkeit die Gerinnungszeit bestimmt wird. Die Probe mit Eierklar zeigt dabei eine größere Menge freien Labs an als die andere. Eine Kontrollprobe mit Wasser anstatt Kohlen-suspension gibt eine Gerinnungszeit, welche der ganzen Labmenge entspricht. In der Weise wurde folgender Versuch ausgeführt:

Versuch 3.

A. 1 ccm 1^oige Kohlesuspension + 1 ccm Lab wurden vermischt 1 Stunde bei 37^o gehalten, worauf 10 ccm Wasser zugegeben wurden. Dann wurde zentrifugiert und mit 2 ccm der klaren Flüssigkeit die Gerinnungszeit bestimmt.

B. Anstatt Wassers wurden 10 ccm Eierklar der Kohle-Labmischung zugesetzt. Nach in der Tabelle angegebenen Zeiten wurde zentrifugiert und die Gerinnungszeit wie in A bestimmt.

C. Kontrollprobe mit Wasser anstatt der Kohlesuspension.

Folgende Gerinnungszeiten wurden gefunden:

| | |
|---|-------------------------------|
| Mit A | Keine Gerinnung in 6 Stunden. |
| Mit B nach 15 Minuten bei 37 ^o | 23 Minuten |
| » » » 30 » » 37 ^o | 20 » |
| » » » 1 Stunde » 37 ^o | 17 » |
| » » » 2 Stunden » 37 ^o | 13 $\frac{1}{2}$ » |
| » » » 3 » » 37 ^o | 12 $\frac{1}{2}$ » |
| » » » 4 » » 37 ^o | 12 $\frac{1}{2}$ » |
| Mit C | 4 » |

Versuch 4.

In einem anderen Versuch über dieselbe Frage wurden mit der Probe B folgende Gerinnungszeiten gefunden:

| | | |
|--------------------|-------|------------------|
| Nach 5 Minuten bei | 37° | 30 Minuten |
| » 10 | » 37° | 24 |
| » 20 | » 37° | 16 $\frac{1}{2}$ |
| » 40 | » 37° | 16 $\frac{1}{2}$ |

Die Mischungen A und C wurden in diesem Versuch nicht hergestellt.

Wie aus den Versuchen 3 und 4 ersichtlich, beansprucht das Ablösen des Labs von der Kohle durch Eierklar eine gewisse Zeit, welche in verschiedenen Versuchen verschieden ausfallen kann.

Noch andere Versuche wurden mit dem gleichen Resultate wie die oben genannten ausgeführt.

Aus den Versuchen 1—4 geht also hervor, daß das Eierklar einerseits die Aufnahme von Lab durch Kohle beeinträchtigt, andererseits bereits durch Kohle aufgenommenes Lab zum Teil wieder frei und wirksam machen kann, was durch Wasser sich nicht bewerkstelligen läßt. Die nächste Erklärungsweise dieses Verhaltens wäre wohl die, daß das mit HCl behandelte Eierklar sich selbst mit dem Lab verbinde. Wenn dies der Fall wäre, würde aber das Eierklar auf die Gerinnung von Milch hemmend einwirken, was nach dem oben Gesagten nicht zutrifft. Die Erklärung muß also irgend anderswo zu suchen sein. Für dieselbe scheint das Ergebnis des folgenden Versuches von ausschlaggebender Bedeutung zu sein. Aus demselben geht nämlich hervor, daß im Eierklar eine Substanz vorhanden ist, die durch die Kohle aufgenommen wird, und nachher die Aufnahme von Lab zum Teil verhindert. Wird nämlich Kohle zunächst mit Eierklar behandelt und dann wiederholt mit Wasser gewaschen, so nimmt dieselbe nachher nur so viel Lab auf, wie eine gleiche Menge Kohle, die in der Gegenwart der ganzen für die Behandlung der Kohle angewandten Eierklarmenge mit Lab behandelt wird. Die Gegenwart des in der Lösung zurückgebliebenen Eierklars ist also für die Behinderung der Aufnahme des Labs ohne Belang; nur die an der Kohle verfestigte Menge spielt dabei eine Rolle.

Versuch 5.

A. 1 ccm 0,25^o ige Kohlesuspension wurde zentrifugiert und das Wasser abgegossen, was sich leicht ohne Verlust an Kohle bewerkstelligen läßt. Dann wurde die Kohle in der beim Zentrifugieren angewandten Röhre mit 9 ccm Eierklarlösung eine Stunde bei 37^o behandelt. Darauf wurde zentrifugiert und die klare Flüssigkeit abgegossen. Nachdem die Kohle viermal mit 10 ccm Wasser gewaschen und das Wasser jedesmal durch Zentrifugieren und Abgießen entfernt worden war, wurde die Kohle mit 9 ccm Lablösung 1 Stunde bei 37^o behandelt, die Kohle abzentrifugiert, die klare Lösung mit 1 Volumen Eierklarlösung versetzt und mit 2 ccm der Mischung die Gerinnungszeit ermittelt.

B wurde wie A bereitet. Nur wurde die Mischung von Kohle und Eierklar sofort nach der Herstellung zentrifugiert, ohne vorher 1 Stunde bei 37^o gehalten zu werden.

C wurde wie A hergestellt mit folgenden Änderungen. Das Eierklar wurde nicht entfernt, sondern blieb auch während der Behandlung mit Lab zugegen. Nach 1 stündiger Einwirkung des Labs wurde zentrifugiert und von der Flüssigkeit 2 ccm für die Ermittlung der Gerinnungszeit genommen. Wie ersichtlich, entspricht diese Flüssigkeitsmenge vollkommen 2 ccm von der schließlichen Lösung A oder B.

D. Anstatt Eierklar wurde der Kohle Wasser zugesetzt; sonst war die Herstellung dieselbe wie in A.

Wie ersichtlich wurde in A und B die Kohle mit Eierklar behandelt, worauf das in der Lösung zurückgebliebene Eierklar entfernt, die Kohle mit Lab behandelt und die durch die Kohle nicht aufgenommene Labmenge ermittelt wurde. In C war die ganze Eierklarmenge während der Aufnahme des Labs durch die Kohle zugegen. In D wurde das Lab ohne jeden Zusatz von Eierklar durch die Kohle aufgenommen.

Zwei Serien von Bestimmungen mit verschiedenen Enzymmengen wurden ausgeführt. In jeder wurde eine Probe ohne Kohle, aber mit Eierklar für die Bestimmung der ganzen Enzymmenge hergestellt. Die Gerinnungszeiten waren:

| | Serie I. | Serie II. |
|-------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| Mit der ganzen Labmenge | 18 Minuten | 22 Minuten |
| Mit A wurde erhalten | 22 ¹ / ₂ » | 28 » |
| » B » » | 23 ¹ / ₂ » | 30 ¹ / ₂ » |
| » C » » | 21 » | 26 » |
| » D » » | 30 ¹ / ₂ » | 57 » |

Den größeren Einfluß der Kohle sowie des Eierklars finden wir beim Gebrauch der geringeren Enzymmenge (Serie II). Aus D verglichen mit den mit Hilfe der ganzen Labmenge erhaltenen Zahlen ergibt sich die durch die Kohle erzeugte Hemmung. Aus D und C ist der Einfluß der ganzen Eierklarmenge zu ersehen. Da C und A nahezu die gleichen

Gerinnungszeiten ergaben, übt die durch die Kohle nicht aufgenommene Eierklarmenge entweder keinen oder nur einen sehr geringen Einfluß auf die Aufnahme des Enzyms aus. Da ferner die Gerinnungszeiten in B nur um ein wenig länger ausgefallen sind als die in A, so beweist dies, daß die Substanz im Eierklar, welche die Aufnahme von Lab durch die Kohle verhindert, fast momentan an der Kohle verfestigt wird.

Bisher habe ich über Versuche berichtet, welche die hemmende Einwirkung von mit HCl behandeltem Eierklar auf die Aufnahme von Lab durch Kohle beweisen. Einen ebensolchen Einfluß läßt sich auch beim Eierklar nachweisen, das nicht mit HCl behandelt worden ist und das folglich nach meiner zweiten Mitteilung selbst das Vermögen besitzt, die Labwirkung zu hemmen, und sich also wahrscheinlich mit dem Lab verbindet. Ob das mit solchem Eierklar der Einwirkung der Kohle entzogene Lab einfach durch das Eierklar von der Kohle verdrängt wird oder ob die Bildung einer Verbindung zwischen dem Eierklar und dem Lab das Primäre des Prozesses ist, läßt sich auf Grund vorliegender Versuche nicht entscheiden. Jedenfalls ist die bei der Behandlung von mit Lab beladener Kohle angewandte Eierklarlösung außerstande, die Gerinnung von Milch herbeizuführen, bekommt aber diese Fähigkeit beim Behandeln mit Säure. Aus folgendem Versuch ist zu ersehen, daß bereits durch Kohle aufgenommenes Lab von der Kohle losgemacht werden kann durch Behandlung der Kohle mit dem nativen, neutralisierten Eierklar.

Versuch 6.

Die angewandten Mengen waren:

- 1 ccm 1%ige Kohlensuspension,
- 2 » Lablösung,
- 20 » Eierklarlösung.¹⁾

A. Kohle und Lab wurden $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° gehalten, worauf die Mischung $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° mit dem Eierklar behandelt wurde.

Dann wurde zentrifugiert und 5 ccm von der klaren Flüssigkeit mit 0,55 ccm 1%iger HCl 1 Stunde bei 37° erhitzt, mit 0,1 normaler NaOH neutralisiert und mit 2 ccm der Lösung die Gerinnungszeit bestimmt.

B wurde wie A bereitet. Nur wurde anstatt Eierklar das gleiche

¹⁾ Das Eierklar von einem Hühnerei wurde mit etwa 100 ccm Wasser angerührt, neutralisiert und filtriert.

Volumen Wasser genommen, und der zentrifugierten, klaren Lösung wurde die Säure und das Alkali vermischzt zugesetzt.

Die ganze Labmenge wurde mit Wasser anstatt Eierklar und Kohlesuspension bestimmt.

Die Gerinnungszeiten waren:

| | |
|-------------------------|------------|
| Mit der ganzen Labmenge | 13 Minuten |
| > A | 24 > |
| > B | 62 > |

In meiner letzten Mitteilung habe ich erwähnt, daß nach der Aufnahme von Lab durch Kohle eine kürzere Gerinnungszeit erhalten wird, wenn die Kohle bei der Labung zugegen ist, als wenn dieselbe zuerst entfernt wird. Diese Tatsache habe ich damals auf die Bildung einer Verbindung von Lab mit dem Casein zurückgeführt. Wie ich nunmehr zu beweisen imstande gewesen bin, ist es viel wahrscheinlicher, daß die Milch eine Substanz enthält, welche durch die Kohle aufgenommen wird und dadurch der Aufnahme von Lab eine Grenze setzt. Die Bildung einer Casein-Labverbindung ist also nicht die primäre Ursache der Scheidung des Labs von der Kohle, kann aber wohl nach dieser Scheidung stattfinden.

Versuch 7.

Dieser Versuch wurde mit Kohle, Milch und Lab ausgeführt, in der gleichen Weise wie Versuch 5 mit Kohle, Eierklar und Lab.

Die Mengen und Volumina waren die gleichen wie in Versuch 5. Nur die Lösungen A und D wurden hergestellt. Die beim Zentrifugieren erhaltenen Lösungen wurden in gleichen Volumina (1 ccm) für die Bestimmung der Gerinnungszeiten angewandt.

| | |
|--|------------|
| Die ganze Labmenge entsprach | 22 Minuten |
| A (mit Milch behandelte, gewaschene Kohle) | 23 > |
| D (Kohle, nicht behandelt mit Milch) | 42 > |

Die mit Milch behandelte und darauf gewaschene Kohle hat somit praktisch kein Lab aufnehmen können.

In der gleichen Weise wie das Eierklar und die Milch verhält sich mit HCl behandeltes und nachher neutralisiertes Blutserum vom Pferd. Mit der Säurebehandlung wurde eine Zerstörung der hemmenden Eigenschaften des Serums der Labwirkung gegenüber beabsichtigt.¹⁾

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LX, S. 85, 1909.

Versuch 8.

Wie im vorigen Versuch wurden nur die Lösungen A und D hergestellt.

| | |
|--|------------|
| Die ganze Labmenge entsprach | 22 Minuten |
| A (mit Serum behandelte, gewaschene Kohle) | 23 1/2 „ |
| D (Kohle, nicht behandelt mit Serum) | 106 „ |

Die mit Serum behandelte und danach gewaschene Kohle hat also das Vermögen, Lab aufzunehmen, fast vollständig eingeüßt.

Es dürfte wohl keinem Zweifel unterliegen, daß es sich in den erwähnten Fällen um die Adsorption durch Kohle von gewissen Substanzen aus dem Eierklar, der Milch und dem Serum handelt, wodurch eine nachträgliche Aufnahme von Lab beeinträchtigt resp. verhindert wird, und daß auch bereits aufgenommenes Lab durch eine solche Adsorption aus der Verbindung mit der Kohle zum Teil verdrängt werden kann. Wie aus dem Versuch 1 ersichtlich, wird der Endzustand der Verteilung des Enzyms ein verschiedener, je nach der Reihenfolge, in welcher die drei reagierenden Substanzen miteinander vermischt werden. Wenn die adsorbierten Substanzen reversibel aufgenommen werden, muß offenbar der Endzustand, unabhängig von der Reihenfolge, derselbe bleiben. Daß dies nicht der Fall ist, bedeutet, daß die Adsorption nicht völlig reversibel verläuft. In diesem Falle hat die Kohle das Vermögen, das Eierklar sowie das Lab an sich zum Teil zu verfestigen.

Wenn also wie in Versuch 1 A Kohle und Lab zunächst vermischt werden, wird die Hemmung der Labwirkung durch die Kohle kräftiger als wenn wie in 1 C Kohle und Eierklar zunächst vermischt werden. Mit der Annahme einer zum Teil irreversiblen Adsorption stimmt auch die Tatsache überein, daß die mit den adsorbierbaren Stoffen aus Eierklar, Milch und Serum beladene Kohle mit Wasser gewaschen werden kann, ohne das Vermögen, Lab aufzunehmen, wiederzugewinnen. Auch das Lab wird der Kohle durch Wasser nicht entzogen.¹⁾

Mit Rücksicht auf das Gesagte war es von erheblichem

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LX, S. 370, 1909.

Interesse, zu prüfen, ob auch irgend welche, durch Kohle adsorbierbare krystalloide Substanz die Aufnahme von Lab seitens der Kohle zu beeinträchtigen vermag. Deshalb habe ich in dieser Beziehung den Traubenzucker untersucht.

Versuch 9.

Angewandte Mengen:

- 1 ccm 0,25 %ige Kohlesuspension,
- 4 » Lablösung,
- 5 » 20 %ige Traubenzuckerlösung.

Folgende Mischungen wurden hergestellt:

A. Kohle und Lab wurden vermischt und $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° gehalten. Dann wurde der Zucker zugesetzt und das Ganze 1 Stunde bei 37° aufbewahrt. Nach Zentrifugieren wurde die klare Lösung mit 1 Volumen Wasser versetzt und von der Mischung 2 ccm für die Bestimmung der Gerinnungszeit genommen.

B. Kohle und Zucker wurden zunächst vermischt und $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° gehalten, worauf das Lab zugesetzt wurde. Nach 1 Stunde bei 37° wurde zentrifugiert und wie oben verfahren.

C. Lab und Zucker wurden vermischt, $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° gehalten. Dann wurde die Kohle zugegeben und 1 Stunde bei 37° aufbewahrt, worauf wie oben zentrifugiert und geprüft wurde.

D. Kohle und Lab wurden zusammen $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° erwärmt, wie in A. Dann wurde anstatt Zucker 20 ccm Wasser zugegossen und nach 1 Stunde bei 37° zentrifugiert. Zu der klaren Flüssigkeit wurde 1 Volumen Zuckerlösung zugegeben und mit 2 ccm von der Mischung die Gerinnungszeit ermittelt.

| | |
|---|--------------------|
| Die ganze Labmenge entsprach | 11 Minuten. |
| Mit A (Kohle—Lab—Zucker) wurde erhalten | 101 » |
| » B (Kohle—Zucker—Lab) » » | 53 » |
| » C (Lab—Zucker—Kohle) » » | 52 $\frac{1}{2}$ » |
| » D (Kohle—Lab—Wasser) » » | 130 » |

Aus D und A ist zu ersehen, daß der Zucker, auch wenn er nach der Bindung des Labs zugesetzt wird, etwas Enzym von der Kohle losmacht. Noch mehr Enzym bleibt aber frei, wenn der Zucker von Anfang an zugegen ist (B und C). Aus dem Versuch geht zugleich hervor, daß der Zucker durch die Kohle nicht fest gebunden wird. Wäre das der Fall, müßte nämlich mehr Lab frei bleiben in B als in C, während der Versuch die gleiche Menge freien Labs in beiden Proben anzeigt. Daß der Zucker sowie andere Krystalloide durch Kohle

reversibel adsorbiert wird, ist übrigens schon vorher bekannt (Freundlich,¹⁾ Rona und Michaelis²⁾).

Die Adsorption durch Kohle von Krystalloiden ist besonders durch die Untersuchungen von Freundlich bekannt. Wie oben erwähnt, ist dieselbe reversibel, indem die adsorbierten Substanzen wieder durch Wasser ausgelöst werden können. Ferner ist die Konzentration der zu adsorbierenden Substanz von Bedeutung, indem die Kohle aus einer verdünnten Lösung verhältnismäßig mehr Substanz aufnimmt, als aus einer konzentrierten, was durch die Formel $\frac{c_1^n}{c_2} = k$ zum Ausdruck

kommt, wo c_1 die Konzentration der adsorbierten Substanz auf der Kohle und c_2 die in der Lösung nach erfolgter Adsorption bedeutet; n und k sind konstante Zahlen. In bezug auf gleichzeitige Adsorption durch Kohle von verschiedenen Krystalloiden haben Michaelis und Rona Versuche ausgeführt, welche zeigen, daß Essigsäure und Aceton, welche beide durch Kohle adsorbiert werden, sich auf der Kohle gegenseitig verdrängen können.³⁾ Auch dieser Prozeß verläuft reversibel.

Daß Enzyme in zum Teil anderer Weise als die Krystalloide durch Kohle aufgenommen werden, habe ich schon vorher hervorgehoben, indem bei der Aufnahme von Trypsin nur die absolute Menge von Trypsin von Bedeutung ist, nicht aber die Menge des Wassers oder die Konzentration, und folglich, daß das einmal aufgenommene Enzym nicht durch Wasser von der Kohle geschieden werden kann.⁴⁾ In der gleichen Weise verhält sich das durch Kohle aufgenommene Lab.⁵⁾ Wie ich nunmehr habe zeigen können, ist es aber möglich, beide Enzyme durch Zugabe von anderen, wahrscheinlich kolloiden Stoffen aus der Verbindung mit Kohle loszumachen. Dies kommt dadurch zustande, daß das Enzym durch den zugesetzten Stoff von der Verbindung mit der Kohle ver-

¹⁾ Über Adsorption in Lösungen, Leipzig 1906.

²⁾ Biochem. Zeitschrift, Bd. XVI, S. 489, 1909.

³⁾ Biochem. Zeitschrift, Bd. XV, S. 196, 1908.

⁴⁾ Biochem. Journal, Bd. I, S. 474, 1906, sowie Diese Zeitschrift, Bd. LII, S. 412, 1907.

⁵⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LX, S. 370, 1909.

drängt wird. Zugleich deutet dies darauf hin, daß auch Kolloide bei der Aufnahme durch Kohle sich gegenseitig beeinflussen können. Sogar Krystalloide (Traubenzucker) können in konzentrierten Lösungen die Aufnahme von Enzym durch Kohle beeinträchtigen, was besonders hervorzuheben ist, da Michaelis und Rona keinen solchen Einfluß in dem Falle von Pepton und Aceton beobachten konnten. Daß bei der Adsorption von Kolloiden die adsorbierte Menge von der Menge des anwesenden Wassers unabhängig ist, wurde auch von anderen Forschern gefunden (Freundlich und Losev für basische Farbstoffe,¹⁾ Michaelis und Rona für Albumosen²⁾). Obwohl wichtige Unterschiede existieren zwischen der Art und Weise, in welcher Kolloide und Krystalloide durch Kohle und andere feste Stoffe aufgenommen werden, bezeichnet man den Prozeß allgemein in beiden Fällen als Adsorption.

Zusammenfassung.

Die Hemmung der Labwirkung durch Kohle, welche durch die Bindung des Labs an der Kohle bedingt ist, kann durch verschiedene Stoffe verhindert werden und zwar aus dem Grunde, daß die fraglichen Substanzen Stoffe enthalten, welche selbst durch die Kohle aufgenommen werden. Aus dem gleichen Grunde können diese Stoffe auch das bereits an der Kohle verfestigte Enzym zum Teil von der Verbindung mit der Kohle verdrängen und in aktive Form überführen. Diejenigen Substanzen, welche nach meinen Versuchen in angegebener Weise der Hemmung der Labwirkung durch Kohle entgegenwirken, sind mit HCl behandeltes und neutralisiertes Eierklar, Serum, in der gleichen Weise behandelt, sowie Milch. Wahrscheinlich wird sich herausstellen, daß die meisten durch Kohle adsorbierbaren Substanzen dieses Vermögen besitzen. So habe ich diese Fähigkeit beim Traubenzucker nachweisen können. Da aber Traubenzucker durch Kohle in reversibler Weise adsorbiert wird, ist die Behinderung der Aufnahme von Lab durch Kohle weniger ausgesprochen beim Traubenzucker als bei den oben genannten Stoffen.

¹⁾ Zeitschrift f. physik. Chemie, Bd. LIX, S. 284, 1907.

²⁾ Biochem. Zeitschrift, Bd. XV, S. 213, 1909.