



ÜBER DIE
EINWIRKUNG DES KÜNSTLICHEN MAGENSAPFTES
AUF ESSIGSÄURE- UND MILCHSÄURE-GÄHRUNG.

INAUGURAL-DISSERTATION

DER

MEDICINISCHEN FACULTÄT

DER

KAISER-WILHELMS-UNIVERSITÄT STRASSBURG

ZUR ERLANGUNG DER DOCTORWÜRDE

VORGELEGT VON

FELIX O. COHN

AUS NEU-STRELITZ.



STRASSBURG

VERLAG VON KARL J. TRÜBNER

1889.

Gedruckt mit Genehmigung der medicinischen Facultät
der Universität Strassburg

Referent: **Prof. Dr. HOPPE-SEYLER.**

Ueber die Einwirkung des künstlichen Magensaftes auf Essig- säure- und Milchsäure-Gährung¹⁾.

Von

Felix O. Cohn.

Einleitung.

Während früher allgemein als einzige Function des Magensecretes die Peptonisirung der Albumine angesehen wurde, hat man neuerdings denselben eine wesentlich andere Aufgabe zugeschrieben. Da nämlich das Pankreasferment die Eiweissverdauung ebenso vollständig bewirkt, wie der Magensaft, so drängte sich den Physiologen die Frage auf, warum der Magenschleimhaut die Arbeit, eine Mineralsäure abzusondern, aufgebürdet sei, deren Gegenwart im Dünndarm die Verdauung stört. Dass der Magen nicht nöthig zur Verdauung und Ausnutzung der Eiweissnahrung sei, hat Heidenhain²⁾ an Hunden, denen er den Pylorus oder einen grossen Theil des Fundus zum Zwecke seiner Untersuchungen über Haupt- und Belegzellen resecirt hatte, bewiesen. Noch klarer zeigte dies ein Hund, dem Czerny den Magen fast vollständig extirpirt hatte und der sechs Jahre nicht nur in seinem guten Ernährungszustande erhalten wurde, sondern auch noch an Gewicht zunahm. Nachdem so die früher allgemeine Ansicht, dass der Magensaft und damit die Salzsäure zur Eiweissver-

¹⁾ Die Arbeit erhielt als Beantwortung einer von der medicinischen Facultät der Universität Strassburg gestellten Preisaufgabe den Preis für das Studienjahr 1888/89.

²⁾ Pflüger's Archiv, Bd. XVIII u. XIX.

daunung nothwendig sei, hinfällig geworden war, neigt man sich neuerdings der Annahme mehr und mehr zu, dass die Wirkung der Salzsäure hauptsächlich darin bestehe, die Nahrung vor Fäulniss und Gährung zu bewahren, die sonst durch die mit der Nahrung eingeführten Mikroorganismen im Tractus intestinalis Platz greifen würden. In seinem Lehrbuche der physiologischen und pathologischen Chemie¹⁾ kommt Bunge auf Grund der vorerwähnten Deductionen zu dem Schlusse, dass der Haupteffect der Salzsäure der sei, «die mit der Nahrung in den Magen gelangenden Mikroorganismen zu tödten, welche durch Einleitung von Zersetzungs Vorgängen im Verdauungscanal einen Theil der Nahrung schon vor der Resorption zerstören und durch die gebildeten Zersetzungsproducte lästige Symptome hervorbringen oder gar als Krankheitserreger das Leben gefährden». Wenn auch diese extreme Ansicht, dass die Salzsäure lediglich als Desinficiens im Magen diene, nicht zu acceptiren ist, da ja das Pepsin ohne HCl nicht zu verdauen vermag, so steht doch auf Grund der Untersuchungen von Cahn über Magenverdauung im Chlorhunger²⁾ fest, dass beim Fehlen der HCl im Magen dort Fäulniss- und Zersetzungs Vorgänge mit NH_3 -Vermehrung und massenhaften lebenden Bacterien auftreten und ein Symptomencomplex entsteht, der wie eine Ptomain-Vergiftung aussieht. Sobald dagegen wieder HCl im Magen erscheint, verschwinden sofort alle diese Erscheinungen.

Dass sich bei Verminderung der HCl-Secretion im Magen oder — was, wie wir später sehen werden, dasselbe ist — bei Retention von Ingestis, die die Salzsäure «binden», im Magen zahlreiche Mikroorganismen finden und lebensfähig erhalten, hat W. de Bary³⁾ gezeigt. Auf die Wichtigkeit des Nachweises vermehrter Anwesenheit von Mikroben im Magen-inhalte hat zuerst Naunyn⁴⁾ hingewiesen.

¹⁾ Leipzig, Vogel, 1887, S. 141.

²⁾ Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. X, 1886, S. 530—531.

³⁾ W. de Bary, Beiträge zur Kenntniss der niederen Organismen im Magen-inhalte. Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. XX, S. 243.

⁴⁾ Deutsch. Arch. f. klin. Med., Bd. 31, S. 225, 1882.

Dass die Salzsäure-Secretion die Milchsäure- und Essigsäure-Bildung beeinträchtigt, hat Ewald¹⁾ auseinandergesetzt, der auf Grund eingehender Untersuchung zu dem Schlusse kommt, dass die Milchsäure, die sich im Anfang der Verdauung von Kohlehydraten stets im Magen nachweisen lässt, schwindet, sobald sich die Salzsäure entwickelt. Wenn uns so auch bei Durchsicht der in den letzten Jahren so sehr angewachsenen Literatur über Magenkrankheiten auf Schritt und Tritt die Angabe entgegentritt, dass eine wesentliche Function der Salzsäure im Magen ihre fäulniss- und gährungs-hemmende Wirksamkeit ist, so ist doch bisher, so viel ich ersehen kann, nur untersucht worden, wie viel Salzsäure zur Verhinderung von Fäulnissvorgängen nöthig sei. Diese Untersuchungen wurden vorgenommen von Sieber und von Miquel. Ersterer fand, dass bei 5‰ HCl das Fleisch überhaupt vor Fäulniss bewahrt bleibt²⁾. Miquel³⁾ kam zu dem Resultate, dass 2 bis 3‰ Mineralsäure Fleischbrühe vor Fäulniss bewahre.

Die Concentration des Magensaftes, die nöthig ist, um Essigsäure- und Milchsäure-Gährung zu verhindern, sowie die Bedingungen, unter denen der Magensaft diese Aufgabe zu lösen im Stande ist, sind noch nicht festgestellt worden. Es finden sich freilich mancherlei Angaben hierüber in den neuen Arbeiten über Magenkrankheiten, doch widersprechen sich dieselben derart, dass sie nicht wohl mit einander zu vereinbaren sind. Ich führe hier nur an, dass im Gegensatz zu der vorher citirten Angabe Ewald's Th. Rosenheim⁴⁾ zu dem folgenden Schlusse kommt: «Dass die bestehende Acidität, die durch HCl bedingt war, die Mikroorganismen (sc. denen die Bildung der Milchsäure obliegt) in ihrer Function zu beeinträchtigen vermöchte,

¹⁾ Ewald, Ueber Zuckerbildung im Magen und Dyspepsia acida, Berl. Klin. Wochenschr., 1886, No. 48, und Ewald, Klinik der Verdauungskrankheiten, I, S. 73 u. 109.

²⁾ Sieber, Journ. f. prakt. Chem., Bd. XIX, S. 433, citirt nach Bunge, Lehrbuch der physiol. u. pathol. Chemie.

³⁾ Miquel, Centr.-Bl. f. allgem. Gesundh.-Pfl., Bd. II, S. 403.

⁴⁾ Th. Rosenheim, Ueber die Säuren des gesunden und kranken Magens bei Einführung von Kohlehydrat, Virchow's Arch., Bd. 111, 1888.

dafür fehlt jeder Anhalt. Ich glaube, dass die Säure hier eine noch geringere Hemmung als dem Ptyalin gegenüber zu Wege bringt, weil ich ein Ansteigen des Milchsäure-Werthes gegen Ende der Verdauung bei hohem HCl-Gehalte des Magensaftes beobachtet habe.» Diese sich scheinbar sehr widersprechenden Angaben hoffe ich wenigstens zum Theil durch folgende Untersuchungen in Einklang zu bringen. Dieselben sollen feststellen, ob und unter welchen Bedingungen der Magensaft die Essigsäure-Gährung und die Milchsäure-Gährung beeinträchtigt resp. aufhebt.

Vorversuche.

Bevor ich zur Darstellung der von mir angestellten Versuche schreite, sei es mir gestattet, in Kürze einige Vorversuche zu erwähnen, deren Resultate für meine Versuchsanordnung massgebend gewesen sind. Dieselben bezogen sich 1. auf die zu wählende Nährstofflösung, 2. auf den zu verwendenden Magensaft.

Nährstofflösung.

Was die Nährstofflösung anbetrifft, so bezeichnet Pasteur¹⁾ in seinen Untersuchungen über die Essiggährung folgende Lösung als die beste zur Essiggährung ohne Albumen: in einem Liter Wasser:

Eisessig	12,75 gr.,
Absoluter Alc.	22,50 gr.,
Ammoniumphosphat	0,2 gr.,
Magnesiumphosphat	0,1 gr.,
Calciumphosphat	0,1 gr.,
Kaliumphosphat	0,1 gr.

Hueppe²⁾ gibt als beste Nährstofflösung für den *Bacillus acidi lactici*, also auch als bestes Substrat für die Milchsäure-Gährung folgende Salzlösung an:

Dikaliumphosphat	0,2—0,5 ‰,
Magnesiumsulfat	0,05—0,1 ‰,
Calciumchlorid	0,015—0,025 ‰,

¹⁾ Etudes sur le vinaigre, Paris 1868, S. 81.

²⁾ Unters. über die Zersetzungen der Milch durch Mikroorganismen. Mitthlg. aus dem Kais. Gesundheitsamt, 1884, S. 309.

und fügt hinzu, dass Nitate nicht als Stickstoffquelle zu dienen im Stande seien, vielmehr stets Eiweiss, am besten Pepton, in der Lösung enthalten sein müsse. Von stickstoffhaltigen Salzen erwies sich ihm das weinsaure Ammoniak als geeignetster Stickstoff-Ueberträger.

Da es mir nun oblag, die Einwirkung des Magensaftes, also einer salzsäurehaltigen Flüssigkeit, auf die Gährungen zu untersuchen, so musste ich, soweit dies möglich, diejenigen Salze ausschliessen, die mit Salzsäure eine Umsetzung erleiden, denn bei Anwendung solcher Salze wäre in meiner Lösung nicht alle HCl , die ich zusetzte, frei geblieben, sondern ein Theil derselben hätte sich mit den Salzen der Nährstofflösung umgesetzt, ich hätte also an Stelle eines Theiles der zugesetzten HCl eine andere Säure erhalten, hätte also mit schwer bestimmbarcn Factoren arbeiten müssen. Aus diesen Gründen mussten die Phosphate möglichst vermieden werden. Es wird freilich fast allgemein angenommen, dass die Phosphate, zumal die sauren Phosphate, durch Salzsäure geringer Concentration nicht angegriffen werden. So sieht man alle Phosphorsäure des Magensaftes als an Calcium, Magnesium und Eisen gebunden an: eine Hypothese, die mir nicht mit den von Thompson bewiesenen Gesetzen der Acidität und dem Umstande, dass Salzsäure eine stärkere Säure als Phosphorsäure ist, übereinzustimmen scheint. Für mich war in dieser Beziehung massgebend, dass ich, wie ich bei Darstellung meiner Versuche erläutern werde, bei Gegenwart verschiedener Mengen von Phosphaten entsprechend verschiedene Werthe für die zur Verhinderung der Gährung notwendige HCl erhielt. Demnach erschien es mir nothwendig, in den Salzlösungen, soweit das möglich, nur salzsaure Salze zu verwenden.

Auch Pepton war als Nährstoff nicht zu benutzen. Wie schon lange bekannt und neuerdings von Cahn und v. Mering¹⁾ wieder hervorgehoben worden ist, wird HCl durch Pepton derart gebunden, dass sie durch die Methylviolettreaction nicht

¹⁾ Die Säuren des gesunden und kranken Magens. Deutsch. Arch. f. klin. Medicin, Bd. XXXIX.

mehr nachweisbar, also nicht «frei» ist. Auch die lange bekannte Thatsache, dass die Gegenwart von Pepton die Verdauung hemmt und schliesslich aufhebt und dass die Verdauung erst bei Zusatz neuer Salzsäure weitergeht, legte die Vermuthung nahe, dass die an Pepton «gebundene» HCl nicht mehr zu verdauen vermag. Dass die durch Eiweiss-substanzen gebundene, durch die Reagentien für freie Salzsäure nicht nachweisbare HCl auch nicht mehr Gährung und Fäulniss zu verhindern im Stande sei, hat neuerdings Minkowski¹⁾ als wahrscheinlich bezeichnet. Einige Versuche zeigten denn auch in der That, dass die derartig «gebundene» Salzsäure nicht mehr Gährung zu verhindern im Stande ist. Mehrere quantitative Versuchsreihen, die dies erläutern werden, folgen unten.

Magensaft.

Was nun den Magensaft anbetrifft, so verwandte ich ausschliesslich das durch Witte-Rostock hergestellte Pepsinum germanicum, welches in den angewendeten Concentrationen die Methylviolettreaction nicht beeinträchtigte, also «freie» Salzsäure nicht band. Dieses Präparat vertheilt sich leicht im Wasser und verdaut bereits gut in einer Lösung von 1:1000 Wasser, ausserdem gewährt es den Vortheil, dass man Pepsinlösungen verschiedener vergleichbarer Concentrationen anwenden kann, da man wohl annehmen darf, dass das Präparat annähernd gleichmässig ist.

Anordnung der Versuche.

Die Versuchsreihen wurden sowohl bei der Essigsäure-, wie bei der Milchsäure-Gährung in folgender Reihenfolge angestellt:

- A. Einwirkung von Pepsin,
- B. » » HCl ,
- C. » » Pepsin- HCl ,
- D. » » HCl bei Gegenwart von Pepton,
- E. Einige Versuche zur oben angedeuteten Frage der Umsetzung von Phosphaten durch Salzsäure.

¹⁾ Ueber die Gährung im Magen. Mittheilungen aus der Medic. Klinik in Königsberg, 1888, S. 154.

Materialien und Methode bei der Titrirung.

Zur Titration verwandte ich Normal-Natronlauge, die von Merck-Darmstadt hergestellt war; dieselbe wurde wöchentlich wenigstens einmal mit einer aus derselben Fabrik bezogenen Normal-Salzsäure verglichen; als sich nach 2 Monaten die Normallauge trübte, stellte ich eine neue Natronlauge auf die Merck'sche Normalsäure ein. Als Indicator diente bei den Versuchen über Essigsäure-Gährung ausschliesslich Lackmustinctur, die alle 14 Tage frisch hergestellt und auf ihre Neutralität untersucht wurde. Bei den Versuchen über Milchsäure-Gährung kam ausser der Tinctur noch blaues und zur Controle rothes Lackmuspapier zur Verwendung; schliesslich benutzte ich eine titrirte 10procentige HCl ebenfalls aus der Merck'schen Fabrik, die genau auf die Normal-Natronlauge eingestellt war. Aus dieser 10procentigen stellte ich dann noch eine 1procentige HCl her, die ebenfalls mit der Normal-Natronlauge und einer aus dieser bereiteten $\frac{1}{10}$ -Normal-Natronlauge geprüft wurde. Alle Versuchsproben wurden bei der gleichen und constant gehaltenen Temperatur im mit Thermoregulator versehenen Brutkasten der Gährung unterworfen. Für die Essigsäure-Gährung benutzte ich eine Temperatur von 32 bis 33°, für die Milchsäure-Gährung eine solche von 37 bis 38°.

Nach diesen Vorbemerkungen gehe ich zur Darstellung der Versuche über.

I. Essigsäure-Gährung.

Nährstoffe.

Für die Essigsäure-Gährung verwandte ich eine Salzlösung, die in 1000 chem. Flüssigkeit

Chlorkalium	10,0 gr.,
Chlorealcium	10,0 gr.,
Chlormagnesium	10,0 gr.,
Chlornatrium	10,0 gr.,
Chlorammonium	20,0 gr.

enthält.

Die Versuche wurden jedesmal in folgender Weise an-
gestellt: In einen einen Liter Flüssigkeit haltenden Kolben
wurden von obiger Lösung 10 ccm., Eisessig 10 ccm.,
Alkohol 25 ccm. gethan und darauf der Kolben bis zur
Marke mit destillirtem Wasser gefüllt. Diese Mischung ent-
hielt also:

Chlorkalium	0,1 $\frac{0}{100}$.
Chlorcalcium	0,1 $\frac{0}{100}$.
Chlormagnesium	0,1 $\frac{0}{100}$.
Chlornatrium	0,1 $\frac{0}{100}$.
Chlorammonium	0,2 $\frac{0}{100}$.
Essigsäure	1,0 $\frac{0}{10}$.
Alkohol	2,5 $\frac{0}{10}$.

Allgemeine Versuchsanordnung.

Von dieser Lösung wurden zweimal 50 ccm. mit Normal-
Natronlauge titirt; zu jedem Versuche wurden 150 ccm. der
Flüssigkeit in ein Becherglas gefüllt. Da die Oxydation des
Alkohols zu Essigsäure nur an der Oberfläche stattfindet und
demgemäss bei grösserer Oberfläche in gleicher Zeit mehr
Essigsäure gebildet wird, war es nothwendig, für jede Ver-
suchsreihe nur Gläser von gleicher Grösse zu verwenden. Eine
Sterilisation der Gefässe und Flüssigkeiten war nicht nöthig,
da ich auch so auf den 1% Essigsäure enthaltenden Versuchs-
flüssigkeiten trotz vielfacher mikroskopischer Untersuchungen
stets nur die durch Pasteur¹⁾ so genau beschriebene Essig-
mutter fand. Die letztere wurde stets auf Flüssigkeiten, die
neben obigen Salzen noch Pepton enthielten, vorrätzig gehalten.
Geimpft wurde in der von Pasteur angegebenen Weise: ein
Glasstab wurde schräg durch die Mykoderma-Haut durch-
gestossen, horizontal gelegt und wieder herausgehoben und
die an ihm hängende Essigmutter auf die zu impfende Flüssig-
keit übertragen. Sie löst sich beim Berühren der Flüssigkeit
vom Glasstab ab und bleibt auf der Oberfläche liegen. Diese

¹⁾ L. c., S. 63.

Impf-Methode ist leicht ausführbar; auch wird durch sie mit Sicherheit verhindert, dass die Mykoderma-Haut von Flüssigkeit bedeckt wird, ein Umstand, der nach Pasteur¹⁾ die Essigbildung aufhebt.

Nach der Impfung wurden die Gläser derart mit Glasplatten bedeckt, dass die Luft Zutritt zur Flüssigkeit hatte; darauf wurden die Gefässe vorsichtig in den Brutofen gestellt, in dem sie 4 Tage einer Temperatur von 32 bis 33° Celsius ausgesetzt blieben. Während dieser Zeit wurde jede Erschütterung der Gläser auf's Sorgsamste vermieden, um ein Untersinken der Essigmutter zu verhüten. 4 Tage schien eine genügend lange Versuchsdauer zu sein, da sich bald herausstellte, dass in den Fällen, in denen sich nach 3 Tagen noch keine gleichmässige, die ganze Oberfläche bedeckende Mykoderma-Haut gebildet hatte, auch nach 8 Tagen noch keine Gährung stattfand. Für die mit Pepton versetzten Flüssigkeiten genügten 3 Tage, da stets, wenn überhaupt Gährung eintrat, schon nach 36 Stunden eine vollständige Mykoderma-Schicht die Oberfläche bekleidete. Nach 4 resp. 3 Tagen wurden die Gläser dem Brutkasten entnommen; es waren dann schon beim ersten Anblick diejenigen Gläser zu erkennen, in denen Gährung stattgefunden hatte, indem nur ausnahmsweise sich auf denjenigen Proben, in denen keine Essigbildung eingetreten war, Mykoderma befand; meist war in diesen das Impfmateriel untergesunken; in den wenigen Fällen, in denen es noch auf der Oberfläche schwamm, war es wenigstens nie zu einer continuirlichen Schicht ausgewachsen und hatte es sich kaum vermehrt. Nachdem sodann die verdunstete Flüssigkeit durch Auffüllen der Proben mit destillirtem Wasser auf 150 ccm. ersetzt worden war, wurden zweimal 50 ccm. mit Normal-Natronlauge titirt, der Rest wurde zu Verdauungsversuchen und zu Untersuchungen auf Methylviolettreaction verwendet, die Zunahme der Acidität wurde als Essigsäure berechnet. So erhielt ich folgende Resultate.

¹⁾ L. c., S. 100—103.

A. Einwirkung von Pepsin.

Versuch I.

Es wurden 1000 cbem. wie oben angestellt. Von diesen entsprachen 50 cbem. 9,4 cbem. Normal-Natronlauge. Die Lösung enthielt also 1,3% Essigsäure; von dieser Flüssigkeit wurden 4 Proben à 150 cbem. in gleich grosse Gläser gefüllt; b, c, d mit 0,2 gr., 0,3 gr. resp. 0,4 gr. Pepsin versetzt. Nach vier Tagen ergab sich:

- a) ohne Zusatz, Zunahme der Acidität für 50 cbem. = 2,0 NaOH = 0,24% neugebildete Essigsäure;
- b) enthaltend 0,2 Pepsin, Zunahme der Acidität für 50 cbem. = 5,8 NaOH = 0,7% neugebildete Essigsäure;
- c) enthaltend 0,3 Pepsin, Zunahme der Acidität für 50 cbem. = 7,9 NaOH = 0,95% neugebildete Essigsäure;
- d) enthaltend 0,4 Pepsin, Zunahme der Acidität für 50 cbem. = 9,5 NaOH = 1,14% neugebildete Essigsäure.

b, c und d verdauten auf HCl-Zusatz Fibrin, welches in Alkohol aufbewahrt wurde, gut.

Versuch II.

Drei Proben à 150 cbem. wie oben, 50 cbem. = 9,0 NaOH, nach vier Tagen:

- a) ohne Zusatz, Zunahme der Acidität für 50 cbem. = 3,0 NaOH = 0,4% neugebildete Essigsäure;
- b) + 0,5 Pepsin, Zunahme der Acidität für 50 cbem. = 6,7 NaOH = 0,8% neugebildete Essigsäure;
- c) + 1,0 Pepsin, Zunahme der Acidität für 50 cbem. = 7,9 NaOH = 0,95% neugebildete Essigsäure.

Mit b und c auf HCl-Zusatz gute Verdauung von Fibrin. Mehr als 1 gr. Pepsin liess sich nicht gut in 150 cbem. der Versuchsflüssigkeit vertheilen.

Die höhere Acidität derjenigen Proben, die mit Pepsin versetzt waren, lässt sich nicht etwa durch den Säuregehalt des Pepsin erklären, da 50 cbem. einer concentrirten Pepsinlösung bereits durch einen Tropfen Normallauge alkalisch wurden. Aus diesen beiden Versuchsreihen ergibt sich, dass Pepsin die Essigsäure-Gährung zu verhindern nicht im Stande ist, vielmehr dieselbe beschleunigt; vielleicht beruht dies dar-

auf, dass Pepsin ebenso wie Pepton besser als Chlorammonium als Stickstoffüberträger für *Mykoderma aceti* zu dienen im Stande ist, also ein gutes Nährsubstrat ist.

B. Einwirkung von Salzsäure.

Nachdem durch einige Versuche festgestellt war, dass höherer HCl-Gehalt die Essigsäure-Gärung aufhebt, wurden 3 Liter der oben beschriebenen Nährlösung angestellt und in 5 Portionen zu 600 ccm. geteilt. Zur zweiten Portion liess ich 0,6 ccm. der 10procentigen Salzsäure aus einer Burette zufließen, so dass diese Portion $0,1\text{‰}$ HCl enthielt; — zur dritten 1,2 ccm. der 10procentigen Salzsäure, entsprechend $0,2\text{‰}$; — zur vierten 1,8 ccm., entsprechend $0,3\text{‰}$; — und zur fünften 2,4 ccm. 10procentige Salzsäure, entsprechend $0,4\text{‰}$. Von jeder Portion wurden darauf je zweimal 50 ccm. titirt und dreimal 150 ccm. in Gläser gefüllt und geimpft.

Der Versuch ergab folgende Resultate:

Versuch III.

- a) 3 Proben à 150 ccm. ohne Zusatz, 50 ccm. = 10,4 NaOH.
 1. nach zwei Tagen untersucht, Zunahme der Acidität für 50 ccm. = 1,0 NaOH = $0,12\text{‰}$ Essigsäure neugebildet;
 2. nach drei Tagen untersucht, Zunahme der Acidität für 50 ccm. = 5,4 NaOH = $0,65\text{‰}$ Essigsäure neugebildet;
 - 3.¹⁾ nach fünf Tagen untersucht, Zunahme der Acidität für 50 ccm. = 4,6 NaOH = $0,55\text{‰}$ Essigsäure neugebildet.
- b) 3 Proben à 150 ccm. enthaltend $0,1\text{‰}$ HCl, 50 ccm. = 10,5 NaOH.
 1. nach zwei Tagen, Zunahme der Acidität für 50 ccm. = 0 NaOH = keine Gärung;
 2. nach drei Tagen, Zunahme der Acidität für 50 ccm. = 0 NaOH = keine Gärung;
 3. nach fünf Tagen, Zunahme der Acidität für 50 ccm. = 0 NaOH = keine Gärung.
- c) 3 Proben à 150 ccm. enthaltend $0,2\text{‰}$ Salzsäure, 50 ccm. = 10,7 NaOH.

Ebenfalls in 2, 3 und 5 Tagen keine Zunahme der Acidität.

Ebenso hatte bei Versuch d und e, die $0,3$ resp. $0,4\text{‰}$ HCl enthielten, nach zwei, drei und fünf Tagen die Acidität

¹⁾ War am zweiten Tage erschüttelt worden.

nicht zugenommen. In allen mit HCl versetzten Proben war Mykoderma untergesunken. Bei $0,1\text{‰}$, $0,2\text{‰}$, $0,3\text{‰}$ und $0,4\text{‰}$ HCl war also keine Gärung eingetreten, während die Controlversuche ohne HCl, die genau denselben Bedingungen ausgesetzt und mit demselben Mykoderma geimpft waren, eine Zunahme der Essigsäure zeigten. Danach glaube ich zum Schlusse berechtigt zu sein, dass die Gegenwart von $0,1\text{‰}$ Salzsäure die Essigsäure-Gärung nicht mehr zulässt.

Um indessen die untere Grenze für die HCl-Concentration, die die Gärung noch aufhebt, zu bestimmen, stellte ich noch drei Versuchsreihen an, die Proben mit einem Salzsäure-Gehalte von $0,025\text{‰}$, $0,05\text{‰}$ und $0,075\text{‰}$ enthielten. Die Resultate waren folgende:

Versuch IV.

- a) ohne Zusatz, 50 chem. = 8,0 NaOH,
nach vier Tagen Zunahme der Acidität für 50 chem. = 12,0 NaOH
= $1,44\text{‰}$ neugebildete Essigsäure;
- b) enthaltend $0,025\text{‰}$ HCl, 50 chem. = 8,0 NaOH,
nach vier Tagen Zunahme der Acidität für 50 chem. = 11,8 NaOH
= $1,42\text{‰}$ neugebildete Essigsäure;
- c) enthaltend $0,05\text{‰}$ HCl, 50 chem. = 8,1 NaOH,
nach vier Tagen Zunahme der Acidität für 50 chem. = 16,1 NaOH
= $1,93\text{‰}$ neugebildete Essigsäure;
- d) enthaltend $0,075\text{‰}$ HCl, 50 chem. = 8,1 NaOH,
nach vier Tagen Zunahme der Acidität für 50 chem. = 0 NaOH
= keine Gärung.

Versuch V und VI.

In zwei weiteren Versuchsreihen erhielt ich bei $0,025\text{‰}$ HCl noch Gärung, nicht aber mehr bei $0,05\text{‰}$. Eine dieser beiden letzten Versuchsreihen enthielt den zehnfachen Gehalt von Nährsalzen. Somit scheint mir die untere Grenze für die Quantität Salzsäure, die die Essigsäure-Gärung verhindert, bei $0,05\text{‰}$ Salzsäure zu liegen und unabhängig vom Gehalt an salzsauren Nährsalzen zu sein. Während demgemäss Mykoderma aceti Essigsäure in grossen Quantitäten verträgt, wird es bereits bei Gegenwart von Spuren von freier Salzsäure entwicklungs- und functionsunfähig. Dieses zu illustrieren werden noch die unter D angeführten Versuche dienen.

C. Einwirkung von Pepsin-Salzsäure.

Nachdem mir einige Versuche gezeigt hatten, dass auch bei Gegenwart von Pepsin die Grenze des Salzsäuregehaltes, der Essigsäure-Gährung verhindert, unter $0,1\text{‰}$ liegt, versetzte ich 700 cbcm. Nährlösung mit 1,75 cbcm. 1procentiger HCl, so dass also die Lösung $0,025\text{‰}$ HCl enthielt; ich setzte davon 4 Proben zu 150 cbcm. an, zur zweiten, dritten und vierten setzte ich 0,2, 0,3 resp. 0,4 gr. Pepsin hinzu. 50 cbcm. der Lösung waren = 9,4 NaOH; ich erhielt nach vier Tagen:

Versuch VII.

- a) ohne Zusatz, Zunahme der Acidität für 50 cbcm. = 2,6 NaOH = $0,31\text{‰}$ neugebildete Essigsäure;
- b) + 0,2 Pepsin, Zunahme der Acidität für 50 cbcm. = 5,6 NaOH = $0,67\text{‰}$ neugebildete Essigsäure;
- c) + 0,3 Pepsin, Zunahme der Acidität für 50 cbcm. = 6,2 NaOH = $0,74\text{‰}$ neugebildete Essigsäure;
- d) + 0,4 Pepsin, Zunahme der Acidität für 50 cbcm. = 8,2 NaOH = $0,98\text{‰}$ neugebildete Essigsäure.

In einer weiteren Versuchsreihe versetzte ich 700 cbcm. Nährlösung ceteris paribus mit $3,5\text{ cbcm. } 1\text{‰ HCl}$, so dass also die Lösung $0,05\text{‰}$ HCl enthielt. 50 cbcm. dieser Lösung entsprachen 8,5 NaOH. Auch hiervon stellte ich viermal 150 cbcm. an, und fügte zu Probe b, c, d 0,2, 0,4 resp. 0,6 gr. Pepsin hinzu. Nach vier Tagen erhielt ich:

Versuch VIII.

- a) ohne Zusatz, Zunahme der Acidität für 50 cbcm. = 0 NaOH = keine Gährung;
- b) enthaltend 0,2 gr. Pepsin, Zunahme der Acidität für 50 cbcm. = 1,7 NaOH = $0,2\text{‰}$ neugebildete Essigsäure;
- c) enthaltend 0,4 gr. Pepsin, Zunahme der Acidität für 50 cbcm. = 0 NaOH = keine Gährung;
- d) enthaltend 0,6 gr. Pepsin, Zunahme der Acidität für 50 cbcm. = 4,9 NaOH = $0,59\text{‰}$ neugebildete Essigsäure.

Versuch IX.

In einer Versuchsreihe, die $0,075\text{‰}$ HCl enthielt, fand auch in derjenigen Probe von 150 cbcm., die 1 gr. Pepsin enthielt, keine Gährung statt. In sämtlichen Versuchen der 3 Versuchsreihen verdauten die Proben, die Pepsin enthielten, auf Salzsäurezusatz gut.



Es ergibt sich also das Resultat, dass Pepsin-Salzsäure genau in derselben Concentration wie Salzsäure ohne Pepsinzusatz die Gährung aufhebt, indem auch hier bei 0,05% HCl die Gährung bald noch eintritt, bald aufgehoben ist. Bei 0,025% HCl steigt die Menge der neugebildeten Essigsäure mit dem Pepsingehalt genau so, wie auch ohne HCl vermehrter Pepsinzusatz beschleunigte Essigsäurebildung verursacht (siehe unter A).

Die Grenze für die HCl-Concentration, die die Gährung aufhebt, ist also völlig unabhängig vom Pepsinzusatz. Wo aber noch Gährung eintritt, ist die gebildete Essigsäuremenge grösser bei Gegenwart von Pepsin.

D. Einwirkung von HCl bei Gegenwart von Pepton.

Um zu untersuchen, ob die durch Pepton, wie man zu sagen sich gewöhnt hat, «gebundene» HCl noch gährungshindernd zu wirken im Stande ist, stellte ich folgende zwei Versuche an: Bei dem ersten löste ich in 1000 cbcm. Nährlösung 10,0 gr. Witte'sches Pepton; dazu setzte ich 3 cbcm. 10% HCl, so dass die Lösung 0,3% HCl enthielt. 50 cbcm. waren = 8,8 NaOH. Davon füllte ich a) 150 cbcm. in ein Glas, zu dem übrigen 800 cbcm. liess ich 0,8 cbcm. 10% HCl zufließen entsprechend 0,4% HCl. Hiervon setzte ich b) 150 cbcm. an, 50 cbcm. waren = 9 NaOH. Zu den übrigen 600 cbcm. setzte ich 0,6 cbcm. 10% HCl entsprechend 0,5% HCl. Davon c) 150 cbcm., 50 cbcm. = 9,1 NaOH. Zu den übrigen 400 cbcm. 4 cbcm. 1% HCl entsprechend 0,6% HCl, davon d) 150 cbcm., 50 cbcm. = 9,3 NaOH; zu dem Rest von 200 cbcm. 2 cbcm. 1% HCl entsprechend 0,7% HCl, davon e) 150 cbcm., 50 cbcm. = 9,4 NaOH. Nach drei Tagen ergab sich folgendes Resultat:

Versuch X.

- a) enthaltend 0,3% HCl, Zunahme der Acidität für 50 cbcm. = 16,4 NaOH = 1,97% neugebildete Essigsäure. M⁺);

) M⁺ bedeutet, dass die Methylviolettreaction hervorgerufen wurde, d. h. dass Methylviolett blau gefärbt wurde. M⁻ bedeutet, dass diese Reaction nicht eintrat.

- b) enthaltend $0,4\text{‰}$ HCl, Zunahme der Acidität für 50 cbem. = 15,4 NaOH = 1,85‰ neugebildete Essigsäure. M—;
- c) enthaltend $0,5\text{‰}$ HCl, Zunahme der Acidität für 50 cbem. = 14,9 NaOH = 1,79‰ neugebildete Essigsäure. M—;
- d) enthaltend $0,6\text{‰}$ HCl, Zunahme der Acidität für 50 cbem. = 0 NaOH = keine Gärung. M—;
- e) enthaltend $0,7\text{‰}$ HCl, Zunahme der Acidität für 50 cbem. = 0 NaOH = keine Gärung. M?

Setzte ich zu 50 cbem. von d) 1 cbem. 1‰ HCl, so dass die Lösung $0,8\text{‰}$ HCl enthält, so trat die Methylviolett-reaction ein. Ohne Pepton gab meine Methylviolettlösung bei $0,3\text{‰}$ HCl deutliche Reaction. Wenn also in der obigen Versuchsreihe erst bei $0,8\text{‰}$ HCl die Reaction eintrat, so hatte das Pepton $0,5\text{‰}$ HCl gebunden. Dem entspricht, dass bei $0,5\text{‰}$ HCl noch Gärung eintrat, während dieselbe bei $0,6\text{‰}$ aufgehoben war.

In einer weiteren Versuchsreihe löste ich in 1000 cbem. Nährlösung 20 gr. Pepton. Indem ich nach dem Modus, den ich bei Beschreibung des vorigen Versuches auseinander-gesetzt habe, vorging, stellte ich 5 Proben an, die $0,7\text{‰}$, resp. $0,8\text{‰}$, resp. $0,9\text{‰}$, resp. $1,0\text{‰}$, resp. $1,1\text{‰}$ HCl enthielten. In drei Tagen erhielt ich folgendes Resultat:

Versuch XI.

- a) enthaltend $0,7\text{‰}$ HCl, Zunahme der Acidität für 50 cbem. = 16,0 NaOH = 1,9‰ Essigsäure. M—;
- b) enthaltend $0,8\text{‰}$ HCl, Zunahme der Acidität für 50 cbem. = 15,7 NaOH = 1,9‰ Essigsäure. M—;
- c) enthaltend $0,9\text{‰}$ HCl, Zunahme der Acidität für 50 cbem. = 11,2 NaOH = 1,36‰ Essigsäure. M—;
- p) enthaltend $1,0\text{‰}$ HCl, Zunahme der Acidität für 50 cbem. = 0. M—;
- e) enthaltend $1,1\text{‰}$ HCl, Zunahme der Acidität für 50 cbem. = 0. M—.

Setzte ich zu 50 cbem. von d) 1,0 cbem. 1‰ HCl, so dass die Probe $1,2\text{‰}$ HCl enthielt, so war M?. Setzte ich zu 50 cbem. e) 1 cbem. 1‰ HCl, so dass die Flüssigkeit also $1,3\text{‰}$ enthielt, so wurde M+. Da bei $1,2\text{‰}$ bereits

M? und bei 1,3‰ M+ war, so war also bei 1‰ HCl schon «freie» HCl vorhanden. Darum trat auch bei 1‰ HCl keine Gärung mehr ein.

Ich glaube, dass diese beiden Versuche zur Evidenz beweisen, dass die am Peptone «gebundene», durch Farbstoffreaction nicht mehr nachweisbare HCl die Essigsäure-Gärung zu verhindern nicht mehr im Stande ist. So erklärt es sich, dass trotz Anwesenheit von HCl Gärung eintritt: 1. bei Pylorusverengung, wo sich Eiweiss im Magen anhäuft, 2. im Beginn der Verdauung, wo das eingenommene Eiweiss sich mit der frisch secernirten HCl imbibirt.

Es liegt mir durchaus ferne, behaupten zu wollen, dass die im Magen gefundene Essigsäure durch Gärung aus Alkohol entsteht. Das ist unwahrscheinlich, da *Mykoderma aceti* nur dann essigsäurebildend zu wirken vermag, wenn es auf der Oberfläche schwimmt, was bei den Bewegungen des Magens nicht wohl denkbar ist. Die Essigsäure bildet sich im Magen wie Milchsäure und Buttersäure und neben dieser letzteren aus Kohlehydraten. Ich wollte nur die Einwirkung des Magensaftes auf einige genau bekannte Fermentationsprocesse untersuchen, indem ich davon absah, ob diese im Magen vorkommen oder nicht.

E. Einige Versuche zur Frage der Umsetzung von Phosphaten durch Salzsäure.

Zunächst hielt ich es für meine Aufgabe, festzustellen, in welcher Concentration freie Phosphorsäure die Gärung verhindert. Zu diesem Behufe stellte ich eine Lösung her, die an Stelle der salzsauren Salze die entsprechenden Phosphate in derselben Concentration enthielt, um auszuschliessen, dass sich etwa die Phosphorsäure mit den Salzen der Lösung umsetzt. Ich versetzte dann in derselben Weise, wie ich es oben bei der Beschreibung der ersten Versuchsreihe von D des Näheren auseinandergesetzt habe, vier Proben mit 0,1, 0,3, 0,5 resp. 0,7‰ Phosphorsäure. Nach vier Tagen erhielt ich folgende Resultate:

Versuch XII.

- a) ohne Zusatz, Zunahme der Acidität für 50 cbcm. = 11,2 NaOH = 1,34‰ Essigsäure;
- b) enthaltend 0,1‰ H_3PO_4 , Zunahme der Acidität für 50 cbcm. = 16,2 NaOH = 1,94‰ Essigsäure;
- c) enthaltend 0,3‰ H_3PO_4 , Zunahme der Acidität für 50 cbcm. = 17,9 NaOH = 2,15‰ Essigsäure;
- d) enthaltend 0,5‰ H_3PO_4 , Zunahme der Acidität für 50 cbcm. = 19,0 NaOH = 2,28‰ Essigsäure;
- e) enthaltend 0,7‰ H_3PO_4 , Zunahme der Acidität für 50 cbcm. = 0.

Die Grenze für die Phosphorsäuremenge, die die Gährung verhindert, liegt demgemäss zwischen 0,5 und 0,7‰. — Darauf löste ich in 1000 cbcm. Nährstofflösung, die lediglich salzsaure Salze enthielt, ca. 1,0 gr. saures Calciumphosphat. Auch von dieser Lösung wurden 5 Proben angesetzt, von denen die 4 letzten 0,1, 0,2, 0,3 resp. 0,4‰ HCl enthielten.

Nach vier Tagen erhielt ich folgende Resultate:

Versuch XIII.

- a) ohne Zusatz, Zunahme der Acidität für 50 cbcm. = 17,3 NaOH = 2,1‰ Essigsäure;
- b) enthaltend 0,1‰ HCl , Zunahme der Acidität für 50 cbcm. = 14,1 NaOH = 1,7‰ Essigsäure;
- c) enthaltend 0,2‰ HCl , Zunahme der Acidität für 50 cbcm. = 2,6 NaOH = 0,312‰ Essigsäure;
- d) enthaltend 0,3‰ HCl , Zunahme der Acidität für 50 cbcm. = 0;
- e) enthaltend 0,4‰ HCl , Zunahme der Acidität für 50 cbcm. = 0.

Da nun 0,3‰ Salzsäure aus Calciumphosphat fast 0,9‰ Phosphorsäure frei machen, so scheint mir die Aufhebung der Gährung bei 0,3‰ in diesem Falle nicht durch die HCl , die schon bei einer Concentration von 0,05‰ die Gährung verhindert, sondern durch die Phosphorsäure, die erst bei einer Concentration von über 0,5‰ gährungshemmend wirkt, die Ursache für die Verhinderung der Gährung abgegeben zu haben. Bei 0,2‰ HCl trat noch eine allerdings verminderte Gährung ein; in diesem Falle konnten eben erst höchstens 0,6‰ Phosphorsäure frei geworden sein.

Versuch XIV.

Genau dieselben Resultate erhielt ich in einem weiteren Versuche, der anstatt 1,0 gr. nur ca. 0,5 gr. saures Calcium-

phosphat in 1000 chem. Lösung enthielt: auch hier war die Gährung bei $0,2\text{‰}$ HCl stark herabgesetzt (bei $0,1\text{‰}$ HCl erhielt ich noch $0,95\text{‰}$ Essigsäure, bei $0,2\text{‰}$ nur noch $0,13\text{‰}$ Essigsäure), während bei $0,3\text{‰}$ HCl die Gährung vollständig aufhörte. Diese Resultate sind wohl nur so zu erklären, dass sich das saure Calciumphosphat, entgegen der bisherigen Annahme, mit HCl umsetzt, denn, wie wir gesehen haben, schliesst $0,1\text{‰}$ freie HCl mit Sicherheit Essigsäure-Gährung aus. Es liegt mir jedoch fern, auf Grund obiger Beobachtungen behaupten zu wollen, dass auch im Magen die Phosphate durch Salzsäure umgesetzt werden, so dass sich also im Magen neben freier HCl auch freie H_3PO_4 fände; im Magen liegen offenbar andere Verhältnisse vor, die im Reagirglase nicht nachzuahmen sind.

II. Milchsäure - Gährung.

Vorbemerkungen.

Die Untersuchungen über die Beeinflussung der Milchsäure-Gährung durch Magensaft verursachten weit grössere Schwierigkeiten, als diejenigen über die Essigsäure-Gährung. Es gelang hier nicht, lediglich mit salzsauren Salzen als Nährsalzen Gährung zu erzeugen. Ich habe Lösungen von salzsauren Salzen in verschiedenen Concentrationen und Variationen mit und ohne Zusatz von Pepsin, Pepton und Phosphorsäure angewendet, ohne jemals Gährung zu erhalten, während in den Controlproben, denen phosphorsaure Salze zugesetzt waren, Gährung eintrat.

Anwendung von Phosphaten.

Die Gegenwart phosphorsaurer Salze scheint für die Entwicklung des Hüppe'schen *Bacillus acidi lactici* ein absolutes Erforderniss zu sein. Da also von denselben nicht Abstand zu nehmen war, war ich, wie wir unter B und C sehen werden, genöthigt, Nährlösungen mit verschiedenem Gehalt an phosphorsaurem Kalium zu verwenden, um eine gewisse Gesetzmässigkeit für die Menge Salzsäure, die nöthig ist, um die Milchsäure-Gährung zu verhindern, feststellen zu können.

Reinculturen.

Eine weitere Schwierigkeit ergab sich in der Anlegung von Reinculturen des genannten Baccillus und in der mir nothwendig erscheinenden Untersuchung, ob auch bei der Impfung nicht anderweitige, gährungerzeugende Mikroorganismen in die Versuchsflüssigkeiten übertragen seien. Der Bacc. ac. lact. ist in seinem mikroskopischen Bilde wie in seinen makroskopischen Wachstumsverhältnissen von Hüppe¹⁾ sehr genau beschrieben worden; doch scheint es mir einige diesem im Wachsthum sehr ähnliche Mikroorganismen zu geben, die ausser Milchsäure auch flüchtige Säure bilden. Ich glaubte darum nicht lediglich auf Grund mikroskopischer und makroskopischer Untersuchung der verimpften Cultur ein Urtheil darüber fällen zu dürfen, ob der zur Impfung verwandte Baccillus in der That der Hüppe'sche Milchsäure-Baccillus sei; vielmehr hielt ich es für durchaus nothwendig, von jeder Versuchsreihe wenigstens zwei Proben auf Anwesenheit flüchtiger Säuren zu prüfen. Es geschah dies in der Art, dass ich Portionen von 50 cbcm. auf freiem Feuer bis auf $\frac{1}{4}$ abdestillirte; nur wenn dieses Destillat neutral reagirte oder doch durch 1 bis 2 Tropfen einer $\frac{1}{10}$ -Normal-Natronlauge neutralisirt wurde, hielt ich mich zu dem Schlusse berechtigt, dass mein Impfmateriel rein gewesen sei; andernfalls verwandte ich die Versuchsreihe nicht zu den Resultaten.

Titration.

Da es sich, wie wir sehen werden, stets nur um sehr geringe Mengen Milchsäure handelte, war ich genöthigt, mit $\frac{1}{10}$ -Normal-Natronlauge zu titriren und 50 cbcm. Versuchsflüssigkeit zu jeder Titration zu verwenden. Lackmus-Tinctur allein war als Indicator nicht ausreichend, da das saure Phosphat, das sich stets in der Lösung befand, keinen scharfen Umschlag in der Färbung der Tinctur zuließ. Ich verwandte deshalb neben der letzteren blaues und zur Controle auch

¹⁾ Hüppe, Ueber Zersetzung der Milch u. s. w., Berl. Med. Wochenschrift, 1884, S. 777.

rothes Lackmus-Papier. So war es mir möglich, die Fehlergrenze unter 0.5 cem. $\frac{1}{10}$ -Normallauge zu halten.

Versuchsanordnung.

Im Gegensatz zur Essigsäure-Gährung war ich hier genöthigt, Gläser wie Flüssigkeiten zu sterilisiren. Dies geschah auf folgende Weise: Es wurden Erlenmeyer'sche Kölbchen, die ca. 200 cem. Flüssigkeit fassten, gut gesäubert, mit destillirtem Wasser ausgespült und mit einem Wattepfropfen verschlossen $1\frac{1}{2}$ bis 2 Stunden im Trockenkasten einer Temperatur von $140-160^{\circ}$ ausgesetzt. Die so sterilisirten Kolben wurden mit den Versuchsflüssigkeiten gefüllt und dann eine halbe Stunde im Koch'schen Dampf-Sterilisirungs-Apparat Wasserdämpfen von 100° ausgesetzt.

Nachdem die Flüssigkeiten abgekühlt waren, wurde ev. Pepsin zugesetzt und dann mittels eines ausgeglühten Platindrahtes, der an seinem Ende zu einer Oese umgebogen war, unter allen vorgeschriebenen Cautelen geimpft; dann wurden die Proben in dem Brutkasten zwei Tage lang einer Temperatur von $37-38^{\circ}$ Cels. ausgesetzt. Zwei Tage genügten, denn, wie ich mich überzeugt habe, trat in den Proben, in denen sich nach zwei Tagen noch keine Milchsäure gebildet hatte, auch bei wiederholter Impfung selbst nach sieben Tagen keine Gährung ein. Ein Auffüllen der Versuchsflüssigkeit war nicht nöthig, da höchstens 2 cem. von 150 verdunstet waren. Die Zunahme der Acidität während der Versuchsdauer wurde als Milchsäure berechnet, nachdem flüchtige Säure durch die oben beschriebene Untersuchungsmethode ausgeschlossen war.

Nährlösung.

Was die Nährlösung anbetraf, so musste ich natürlich aus den in der Einleitung des Weiteren auseinandergesetzten Gründen von Pepton absehen, auch weinsaures Ammoniak, welches von Hüppe als N-Ueberträger empfohlen ist, konnte nicht benutzt werden, weil es sich mit Salzsäure umsetzt. Ich verwandte deshalb Chlorammonium als Stickstoffüberträger. Die von mir erhaltenen Milchsäure-Quantitäten waren

in Folge dessen sehr gering, doch kam es ja nicht darauf an, viel Milchsäure zu erhalten. Ich stellte vier verschiedene Salzlösungen an:

1. Eine 5procentige Lösung von Chlorammonium,
2. Eine 2procentige Lösung von Calciumchlorid,
3. Eine 4procentige Lösung von Magnesiumsulfat,
4. Eine Lösung von saurem Kaliumphosphat, von der 50 ccm. durch 27 ccm. Normal-Natronlauge neutralisirt wurden, die also ca. 3,67% KH_2PO_4 enthielt. Diese Bestimmungsmethode ist freilich nicht genau, doch liefert sie wenigstens vergleichbare Werthe.

Ausserdem wurde vor jedem Versuch eine ca. 12procentige Milchzuckerlösung hergestellt, deren Gehalt im Soleil-Ventzke'schen Saccharimeter bestimmt und die dann durch entsprechenden Wasserzusatz zu einer 10procentigen Lösung verdünnt nochmals im Saccharimeter controlirt wurde. Zu jedem Versuche wurden von Lösung 1. 20 ccm., von Lösung 2. 10 ccm., von Lösung 3. 20 ccm., von Lösung 4. verschiedene Mengen, und von der Milchzuckerlösung 500 ccm. in einen Literkolben gethan und derselbe darauf bis zur Marke mit destillirtem Wasser gefüllt. Die Lösung enthielt also:

0,1% Chlorammonium,
 0,02% Calciumchlorid,
 0,08% Magnesiumsulfat,
 Dikaliumphosphat in verschiedenen Mengen,
 5% Milchzucker.

Nach diesen Vorbemerkungen gehe ich zur Darstellung der Versuche über.

A. Einwirkung von Pepsin.

Versuch XV.

Ich stellte auf die soeben genau aus einandergesetzte Art und Weise 1000 ccm. Nährlösung her. 50 ccm. der Lösung wurden durch 16,0 ccm. $\frac{1}{10}$ -Normal-Natronlauge neutralisirt. Diese Lösung theilte ich in 6 Portionen zu je

150 ccm. Nach dem Sterilisiren fügte ich zu den Proben b, c, d und e 0,2, 0,4, 0,6 resp. 1,0 gr. Pepsin hinzu.

Nach zwei Tagen erhielt ich folgende Resultate:

- a) ohne Zusatz, Zunahme der Acidität für 50 ccm. $= 5 \frac{\text{NaOH}}{10} = 0,9 \text{‰ Milchsäure}$;
- b) enthaltend 0,2 gr. Pepsin, Zunahme der Acidität für 50 ccm. $= 7 \frac{\text{NaOH}}{10} = 1,26 \text{‰ Milchsäure}$;
- c) enthaltend 0,4 gr. Pepsin, Zunahme der Acidität für 50 ccm. $= 6,5 \frac{\text{NaOH}}{10} = 1,17 \text{‰ Milchsäure}$;
- d) enthaltend 0,6 gr. Pepsin, Zunahme der Acidität für 50 ccm. $= 7,5 \frac{\text{NaOH}}{10} = 1,35 \text{‰ Milchsäure}$;
- e) enthaltend 1,0 gr. Pepsin, Zunahme der Acidität für 50 ccm. $= 8,0 \frac{\text{NaOH}}{10} = 1,44 \text{‰ Milchsäure}$.

Eine zweite Versuchsreihe, die auf dieselbe Art hergestellt war, ergab folgende Resultate. Vor der Gährung entsprachen 50 ccm. der Lösung $4,0 \frac{\text{NaOH}}{10}$. Nach zwei Tagen ergaben sich folgende Werthe:

Versuch XVI.

- a) ohne Zusatz, Zunahme der Acidität für 50 ccm. $= 4 \frac{\text{NaOH}}{10} = 0,72 \text{‰ Milchsäure}$;
- b) enthaltend 0,2 gr. Pepsin, Zunahme der Acidität für 50 ccm. $= 7,0 \frac{\text{NaOH}}{10} = 1,26 \text{‰ Milchsäure}$;
- c) enthaltend 0,3 gr. Pepsin, Zunahme der Acidität für 50 ccm. $= 7,8 \frac{\text{NaOH}}{10} = 1,4 \text{‰ Milchsäure}$;
- d) enthaltend 0,4 gr. Pepsin, Zunahme der Acidität für 50 ccm. $= 8,0 \frac{\text{NaOH}}{10} = 1,44 \text{‰ Milchsäure}$.

Sämmtliche mit Pepsin versetzte Proben verdauten auf HCl-Zusatz in Alkohol aufbewahrtes Fibrin gut. Flüchtige Säure wurde nie gefunden.

Aus diesen Versuchen ergibt sich, dass wie bei der Essigsäure-, so auch bei der Milchsäure-Gährung Pepsin nicht

hemmend wirkt, vielmehr die Gährung beschleunigt, was, wie ich oben bereits bemerkte, wohl darauf beruht, dass Pepsin ein guter Stickstoffüberträger ist.

B. Einwirkung von HCl.

Da mir einige Versuche gezeigt hatten, dass der Gehalt der Nährlösung an Dikaliumphosphat bestimmend ist für den Grenzwert der HCl-Concentration, bei der Milchsäure-Gährung noch eintritt, stellte ich folgende 4 Versuchsreihen an. Dieselben unterscheiden sich von einander durch den verschiedenen Gehalt der Nährlösung an Dikaliumphosphat, welcher sich in der jedesmal angegebenen Acidität ausspricht.

Versuch XVII.

1. 1000 ccm. einer Nährlösung, von der 50 ccm. durch $6,8 \frac{\text{NaOH}}{10}$ neutralisirt werden. Davon 5 Proben zu 150 ccm., von denen Probe b, c, d und e $0,1\%$, $0,2\%$, $0,3\%$ resp. $0,4\%$ HCl enthalten.

Nach zwei Tagen:

- a) ohne Zusatz, Zunahme der Acidität für 50 ccm. $= 3,2 \frac{\text{NaOH}}{10} = 0,58\%$ Milchsäure;
- b) enthaltend $0,1\%$ Salzsäure, Zunahme der Acidität für 50 ccm. $= 4,2 \frac{\text{NaOH}}{10} = 0,72\%$ Milchsäure;
- c) enthaltend $0,2\%$ Salzsäure, Zunahme der Acidität für 50 ccm. $= 2,1 \frac{\text{NaOH}}{10} = 0,37\%$ Milchsäure;
- d) enthaltend $0,3\%$ Salzsäure, Zunahme der Acidität für 50 ccm. $= 0,9 \frac{\text{NaOH}}{10} = 0,16\%$ Milchsäure;
- e) enthaltend $0,4\%$ Salzsäure, Zunahme der Acidität für 50 ccm. $= 0$.

Es wurden hier, wie bei allen folgenden Versuchsreihen, von jeder Probe 200 ccm. angestellt. 50 ccm. wurden titirt; die übrigen 150 in sterilisirten Kolben sterilisirt und geimpft; von diesen 150 ccm. wurden nach Beendigung des Versuches 2×50 ccm. titirt, die übrigen 50 ccm. zu Verdauungsversuchen und Versuchen auf Methylviolettreaction verwendet.

Diese bedürfen zu ihrer Umsetzung $0,54\frac{\text{g}}{100}$ HCl. Damit stimmt überein, dass bei $0,6\frac{\text{g}}{100}$ die Gährung nicht mehr eintrat.

Von Lösung 4 endlich entsprachen 50 chem. 28 $\frac{\text{NaOH}}{10}$.

Die Lösung enthielt also $3,8\frac{\text{g}}{100}$ KH_2PO_4 , die durch ca. $1\frac{\text{g}}{100}$ HCl umgesetzt werden. Hier lag die Grenze für den zur Aufhebung der Gährung nothwendigen HCl-Gehalt zwischen $0,7$ und $0,9\frac{\text{g}}{100}$.

Wenn wir zunächst von Versuch 4 absehen, so kommen wir zu dem Resultate, dass gerade so viel Salzsäure nöthig ist, um die Gährung zu verhindern, als im Stande ist, das in der Lösung enthaltene Dikaliumphosphat in Chlormalcium und Phosphorsäure umzusetzen. Mit anderen Worten: die Salzsäure verändert die Nährlösung derart, dass sie für Unterhaltung der Milchsäure-Gährung nicht mehr geeignet ist, denn wie ich in der Einleitung zu den Versuchen über die Milchsäure-Gährung gesagt habe, ist mit salzsauren Salzen allein keine Gährung möglich.

In Versuch 4 hatte ich allerdings bereits bei einem niedrigeren als dem berechneten Salzsäuregehalt keine Gährung mehr erhalten. Doch glaube ich, dass sich dies zwanglos dadurch erklärt, dass bei diesem Versuch die Menge der freigesetzten Phosphorsäure so gross war, dass sie ihrerseits gährungshindernd wirkte.

Ich hatte ursprünglich die Absicht, zu untersuchen, wieviel Phosphorsäure nöthig sei, um die Milchsäure-Gährung zu verhindern, doch habe ich leider nur eine derartige Versuchsreihe angestellt, in der der höchste Phosphorsäuregehalt $1\frac{\text{g}}{100}$ betrug. Dieser Gehalt an H_3PO_4 aber genügt noch nicht, um die Gährung zu hindern. Den Versuch weiter fortzusetzen, war ich durch eine plötzliche Erkrankung, die mich an's Zimmer fesselte, verhindert. Auch glaube ich nicht, dass ich den Grenzwert für Phosphorsäure, bei dem Gährung noch zu Stande kommt, hätte bestimmen können, da Phosphorsäure in grösseren Mengen hinwiederum nach dem Gesetz der Avidität die salzsauren Salze umsetzen muss.

C. Einwirkung von Pepsin-HCl.

Es wurden zwei Versuchsreihen genau entsprechend den Versuchsreihen 3 und 4 von B angestellt.

Versuch XXI.

1. 1000 chem. Nährlösung. 50 chem. = $15 \frac{\text{NaOH}}{10}$; zu jeder Probe wurden nach der Sterilisation 0,5 gr. Pepsin hinzugesetzt.

Nach zwei Tagen:

- a) enthaltend 0,5 gr. Pepsin, Zunahme der Acidität für 50 chem. = $7,0 \frac{\text{NaOH}}{10} = 1,26\%_{100}$ Milchsäure;
- b) enthaltend 0,5 gr. Pepsin und $0,3\%_{100}$ HCl, Zunahme der Acidität für 50 chem. = $7,0 \frac{\text{NaOH}}{10} = 1,26\%_{100}$ Milchsäure. M—;
- c) enthaltend 0,5 gr. Pepsin und $0,4\%_{100}$ HCl, Zunahme der Acidität für 50 chem. = $6,0 \frac{\text{NaOH}}{10} = 1,08\%_{100}$ Milchsäure. M+;
- d) enthaltend 0,5 gr. Pepsin und $0,5\%_{100}$ HCl, Zunahme der Acidität für 50 chem. = $6,0 \frac{\text{NaOH}}{10} = 1,08\%_{100}$ Milchsäure. M+;
- e) enthaltend 0,5 gr. Pepsin und $0,6\%_{100}$ HCl, Zunahme der Acidität für 50 chem. = $0 \frac{\text{NaOH}}{10} = 0\%_{100}$ Milchsäure. M+.

Bei Pepsinzusatz erhielt ich also genau denselben Grenzwert für die Salzsäurequantität, die die Gährung zulässt, den ich ohne Pepsinzusatz gefunden hatte, nur die erhaltenen Milchsäurewerthe sind bei Pepsinzusatz grösser. Dieser Vergleich mit der entsprechenden Versuchsreihe unter B ist erlaubt, da ich beide zugleich angestellt und geimpft habe und beide genau denselben Einflüssen ausgesetzt gewesen sind.

Versuch XXII.

2. 1000 chem. Lösung entsprechend Versuchsreihe 4 von B genau denselben Einflüssen ausgesetzt wie diese, zu derselben Zeit mit demselben Material geimpft. 50 chem. = $28 \frac{\text{NaOH}}{10}$.

Nach zwei Tagen:

- a) enthaltend 0,5 gr. Pepsin, Zunahme der Acidität für 50 chem. = $9 \frac{\text{NaOH}}{10} = 1,62\%_{100}$ Milchsäure;
- b) enthaltend 0,5 gr. Pepsin und $0,5\%_{100}$ HCl, Zunahme der Acidität für 50 chem. = $5 \frac{\text{NaOH}}{10} = 0,9\%_{100}$ Milchsäure;

- c) enthaltend 0,5 gr. Pepsin und 0,7 $\frac{0}{100}$ HCl, Zunahme der Acidität für 50 cbem. = $5,5 \frac{\text{NaOH}}{10} = 1,08\frac{0}{100}$ Milchsäure;
- d) enthaltend 0,5 gr. Pepsin und 0,9 $\frac{0}{100}$ HCl, Zunahme der Acidität für 50 cbem. = $0 \frac{\text{NaOH}}{10} = 0\frac{0}{100}$ Milchsäure;
- e) enthaltend 0,5 gr. Pepsin und 1,1 $\frac{0}{100}$ HCl, Zunahme der Acidität für 50 cbem. = $0 \frac{\text{NaOH}}{10} = 0\frac{0}{100}$ Milchsäure.

Also auch hier lediglich der Unterschied von der entsprechenden Versuchsreihe, die kein Pepsin enthält, dass die Mengen der gebildeten Milchsäure grösser sind als dort. Der Grenzwert von HCl dagegen, bei der die Gährung verhindert wird, ist nicht verschoben. Sämmtliche Proben verdauten Fibrin gut; keine flüchtigen Säuren.

D. Einwirkung von HCl bei Gegenwart von Pepton.

Versuch XXIII.

Ich stellte 2000 cbem. einer Nährlösung her, von der 50 cbem. durch $16 \frac{\text{NaOH}}{10}$ neutralisirt wurden, die also ungefähr der Nährlösung von B3 entsprach. In derselben löste ich 20 gr. Witte'sches Pepton. Diese Lösung theilte ich in 10 Portionen à 200 cbem. und versetzte die einzelnen Portionen mit entsprechenden Quantitäten 1procentiger oder 10procentiger HCl. 50 cbem. jeder Portion wurden titirt, die übrigen 150 cbem. sterilisirt und geimpft.

Nach zwei Tagen erhielt ich folgende Resultate:

- a) ohne Zusatz, Zunahme der Acidität für 50 cbem. = $8,0 \frac{\text{NaOH}}{10} = 1,44\frac{0}{100}$ Milchsäure;
- b) enthaltend 0,2 $\frac{0}{100}$ HCl, Zunahme der Acidität für 50 cbem. = $6,0 \frac{\text{NaOH}}{10} = 1,08\frac{0}{100}$ Milchsäure. M—;
- c) enthaltend 0,4 $\frac{0}{100}$ HCl, Zunahme der Acidität für 50 cbem. = $4,0 \frac{\text{NaOH}}{10} = 0,72\frac{0}{100}$ Milchsäure. M—;
- d) enthaltend 0,6 $\frac{0}{100}$ HCl, Zunahme der Acidität für 50 cbem. = $5,0 \frac{\text{NaOH}}{10} = 0,9\frac{0}{100}$ Milchsäure. M—;
- e) enthaltend 0,8 $\frac{0}{100}$ HCl, Zunahme der Acidität für 50 cbem. = $4,0 \frac{\text{NaOH}}{10} = 0,72\frac{0}{100}$ Milchsäure. M—

- f) enthaltend $1,0 \frac{0}{100}$ HCl, Zunahme der Acidität für 50 cbcm. = $3,0 \frac{\text{NaOH}}{10} = 0,54 \frac{0}{100}$ Milchsäure. M+;
- g) enthaltend $1,1 \frac{0}{100}$ HCl, Zunahme der Acidität für 50 cbcm. = $2,0 \frac{\text{NaOH}}{10} = 0,36 \frac{0}{100}$ Milchsäure. M+;
- h) enthaltend $1,2 \frac{0}{100}$ HCl, Zunahme der Acidität für 50 cbcm. = $0 \frac{\text{NaOH}}{10} = 0 \frac{0}{100}$ Milchsäure. M+;
- i) enthaltend $1,3 \frac{0}{100}$ HCl, Zunahme der Acidität für 50 cbcm. = $0 \frac{\text{NaOH}}{10} = 0 \frac{0}{100}$ Milchsäure. M+;
- k) enthaltend $1,4 \frac{0}{100}$ HCl, Zunahme der Acidität für 50 cbcm. = $0 \frac{\text{NaOH}}{10} = 0 \frac{0}{100}$ Milchsäure. M+.

Wenn wir hiermit den Versuch B 3 vergleichen, so kommen wir zu folgendem Resultate: Bei B 3 wurde M+ bei einem Gehalte von $0,4 \frac{0}{100}$ Säure, bei dem letzten wurde M+ erst bei $1,0 \frac{0}{100}$ Säure; es war also $0,6 \frac{0}{100}$ Säure durch das Pepton «gebunden». Demgemäss war bei $1,1 \frac{0}{100}$ $0,5 \frac{0}{100}$ Säure «frei». Also auch hier lag zwischen $0,5 \frac{0}{100}$ und $0,6 \frac{0}{100}$ freie Säure die Grenze für die Verhinderung der Gährung. Wenn wir hiermit die Schlussbemerkung von B in Einklang bringen wollen, so müssen wir annehmen, dass sich das Pepton der HCl gegenüber wie eine Base verhält und dass die HCl erst, nachdem sie alles Pepton, um mich so auszudrücken, gesättigt hat, die Phosphate umsetzt.

Versuch XXIV.

Eine zweite Versuchsreihe stellte ich in folgender Weise an: In 2000 cbcm. Nährlösung, von der 50 cbcm. $13,5 \frac{\text{NaOH}}{10}$ entsprachen, löste ich 40 gr. Pepton; auch diese Lösung theilte ich in 10 Proben, die ich mit entsprechenden Mengen von 1 procentiger oder 10 procentiger Salzsäure versetzte. 50 cbcm. jeder Probe titrirte ich, die übrigen 150 cbcm. wurden sterilisirt und geimpft.

Nach einem Tage ergab sich:

- a) enthaltend $0,7 \frac{0}{100}$ Salzsäure, Zunahme der Acidität für 50 cbcm. = $5,5 \frac{\text{NaOH}}{10} = 0,99 \frac{0}{100}$ Milchsäure. M-;
- b) enthaltend $0,8 \frac{0}{100}$ Salzsäure, Zunahme der Acidität für 50 cbcm. = $4,5 \frac{\text{NaOH}}{10} = 0,81 \frac{0}{100}$ Milchsäure. M-;

- c) enthaltend 0,9‰ Salzsäure, Zunahme der Acidität für 50 chem. =
 $3,5 \frac{\text{NaOH}}{10} = 0,63\text{‰}$ Milchsäure. M—;
- d) enthaltend 1,0‰ Salzsäure, Zunahme der Acidität für 50 chem. =
 $4,0 \frac{\text{NaOH}}{10} = 0,72\text{‰}$ Milchsäure. M—;
- e) enthaltend 1,1‰ Salzsäure, Zunahme der Acidität für 50 chem. =
 $4,5 \frac{\text{NaOH}}{10} = 0,81\text{‰}$ Milchsäure. M—;
- f) enthaltend 1,2‰ Salzsäure, Zunahme der Acidität für 50 chem. =
 $4,0 \frac{\text{NaOH}}{10} = 0,72\text{‰}$ Milchsäure. M—;
- g) enthaltend 1,3‰ Salzsäure, Zunahme der Acidität für 50 chem. =
 $3,5 \frac{\text{NaOH}}{10} = 0,63\text{‰}$ Milchsäure. M—;
- h) enthaltend 1,4‰ Salzsäure, Zunahme der Acidität für 50 chem. =
 $4,5 \frac{\text{NaOH}}{10} = 0,81\text{‰}$ Milchsäure. M—;
- i) enthaltend 1,5‰ Salzsäure, Zunahme der Acidität für 50 chem. =
 $4,0 \frac{\text{NaOH}}{10} = 0,72\text{‰}$ Milchsäure. M—;
- k) enthaltend 1,6‰ Salzsäure, Zunahme der Acidität für 50 chem. =
 $3,5 \frac{\text{NaOH}}{10} = 0,63\text{‰}$ Milchsäure. M—.

Diesen Versuch derart zu vollenden, dass ich auch hier den Grenzwert für die die Gärung noch zulassende Salzsäurequantität feststellte, war ich leider durch Krankheit verhindert. Ich glaube indessen, dass auch so aus den beiden Versuchsreihen hervorgeht, dass die an Pepton «gebundene» HCl nicht gährungshemmend wirkt.

Fassen wir noch einmal kurz die Resultate zusammen:

A. Pepsin wirkt weder auf die Essigsäure-, noch auf die Milchsäure-Gärung hemmend ein, scheint vielmehr ein guter Stickstoff-Ueberträger für die Gärungen zu sein.

B. Bereits durch Spuren Salzsäure wird die Essigsäure-Gärung verhindert. Die Milchsäure-Gärung wird durch so viel Salzsäure unmöglich gemacht, als nöthig ist, um die in der Lösung enthaltenen, für die Entwicklung des *Bacillus acidi lactici* nothwendigen Phosphate in salzsaure Salze umzusetzen; durch mehr als 0,7‰ HCl wird indessen die Milchsäure-Gärung, auch wenn noch KH_2PO_4 vorhanden ist, verhindert, vermuthlich durch die freigewordene H_3PO_4 ¹⁾.

¹⁾ Bei einfach sauren und neutralen Phosphaten wird sich dieser Grenzwert vermuthlich entsprechend verschieben.

C. Pepsin-Salzsäure liefert dieselben Grenzwerte für die zur Verhinderung der Gährungen nothwendige Salzsäurequantität, wie Salzsäure ohne Pepsinzusatz. Nur ist entsprechend A die jeweils gebildete Säurequantität grösser als ohne Pepsinzusatz.

D. Die an Pepton gebundene Salzsäure ist nicht mehr im Stande, Gährung zu verhindern. Sie ist also nicht nur, wie bereits lange bekannt ist, unfähig, Eiweiss zu verdauen, sondern auch, diese zweite ihr im Magen zukommende Wirkung auszuüben.

E. Bei Gegenwart von Phosphaten wird die Essigsäure-Gährung erst dann verhindert, wenn so viel HCl zugegen ist, als hinreicht, um die zur Verhinderung der Gährung nöthige H_3PO_4 frei zu machen. Die Grenze für H_3PO_4 liegt zwischen 0,5‰ und 0,7‰.

Die Widersprüche, die sich in Bezug auf Milchsäure-Gährung im Magen in der Literatur finden und die ich in der Einleitung erwähnt habe, sind wohl darauf zurückzuführen, dass bisher weder der Gehalt an unverdaulichem Eiweiss und Pepton, noch derjenige an Phosphaten Berücksichtigung gefunden hat. Die Bemerkung von Ewald¹⁾: «Die HCl-Ausscheidung in den Magen beginnt wahrscheinlich mit dem Momente des Eintritts der Speisen in den Magen, wird aber so lange mit Beschlag belegt und ist deshalb nicht im freien Zustande vorhanden, als sich einmal Eiweisskörper finden, in die sie sich imbibirt und mit denen sie eine lockere Verbindung bildet, zum andern Male Salze oder Basen da sind, deren Affinitäten gesättigt werden müssen», ist also dahin zu ergänzen, dass auch ebenso lange für alle Gährungen Raum ist.

Strassburg, abgeschlossen im Februar 1889.

Physiologisch-chemisches Institut.

¹⁾ Ewald, Klinik der Verdauungskrankheiten, I, S. 73.

Strassburg, Buchdruckerei H. L. Kayser.



14917