

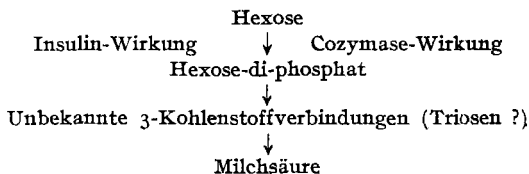
Hiernach ist deutlich, daß Amylodextrin ein Spaltungsprodukt der Amylose ist. Wenn nun dem Amylose-dextrin die Formel $[C_{12}H_{20}O_{10}]_8$, H_2O zuerteilt wird, so findet man, daß gerade ein Viertel davon oder $2 C_{12}H_{20}O_{10}$ bei der Verzuckerung zurückbleibt. Diese Tatsache spricht entschieden dafür, daß Amylodextrin die Formel $[C_{12}H_{20}O_{10}]_8, H_2O$ mit dem Mol.-Gew. 2160 hat, in welcher $2 C_{12}H_{20}O_{10}$ resistent gegen Malzamyase sind. Der systematische Name wäre somit Amylose-oktadextrin. Dies hindert nicht, daß auch in Zukunft ebenso wie früher das Wort „Erythro-dextrin“ als gemeinsamer Gruppenname für alle Dextrine benutzt wird, die von Jod rot gefärbt werden.

Man hat somit zwei Klassen von Amylodextrinen: Amylose-dextrine, die von der Amylose stammen, und Amylopektin-dextrine, die sich vom Amylopektin herleiten. Die ersteren geben bei der Verzuckerung mit Malzamyase ein Dihexosan, die letzteren ein Trihexosan. Da diese nicht gären, sind sie neben Maltose die Hauptbestandteile des Extraktes von den Malzgetränken, wenigstens von denjenigen vom Pilsener-Typus.

5. Artturi I. Virtanen und H. Karström: *Insulin und Cozymase.*

[Aus d. Laborat. d. Butter-Exportgesellschaft Valio m. b. H., Helsinki, Finnland.]
(Eingegangen am 6. November 1925.)

Der Befund des einen von uns¹⁾, daß Insulin die Cozymase bei den Milchsäure-Bakterien ersetzt und folglich als Cozymase wirksam ist, macht die Annahme wahrscheinlich, daß Insulin im Organismus dieselbe Aufgabe wie die Cozymase bei Gärungen hat, daß also „das Insulin den Zuckerabbau im Organismus fördert, indem es die Zymophosphat-Bildung aktiviert“. Diese Auffassung von der Insulin-Wirkung geht aus folgendem Schema deutlich hervor:

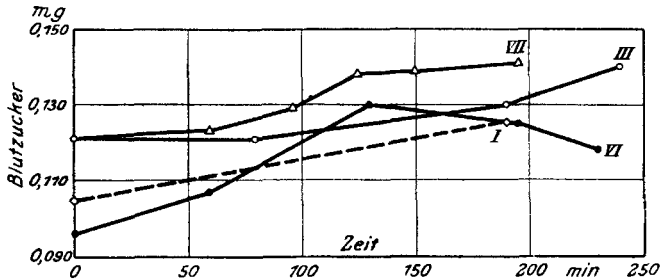


Die Resultate der Tierversuche mehrerer Forscher scheinen im Einklang mit dieser Auffassung zu stehen. Aus den nach einwandfreier Methode ausgeführten Bestimmungen von Kuhn und Baur²⁾ geht hervor, daß die Milchsäure-Bildung im Blut durch Insulin stark erhöht wird. Das ist auch zu erwarten, wenn die Gärung über das Hexose-di-phosphat geht und das Insulin als Cozymase funktioniert. Der Gehalt an freiem Phosphat sollte hierbei geringer werden, und in der Tat scheint es auch so zu sein, obwohl die Angaben darüber z. T. strittig sind. Überhaupt fehlen noch parallele, nach zuverlässigen Methoden ausgeführte Bestimmungen von Glykose, Glykogen, Zymophosphat, anorganischem Phosphat und Milchsäure im Blut, welche für die Erklärung der Insulin-Wirkung notwendig sind. Wir hoffen, an anderer Stelle bald unser einschlägiges Versuchsmaterial mit Ziegen anführen zu können.

¹⁾ Virtanen, B. 58, 696 [1925]. ²⁾ H. 141, 68 [1924].

Die Cozymase-Wirkung des Insulins bei Milchsäure-Bakterien wirft die Frage auf, ob die Cozymase im Tier-Organismus die Insulin-Wirkung ausübt. Mit dieser Frage haben wir uns im Frühjahr und Sommer dieses Jahres beschäftigt. Das Resultat unserer Kaninchen-Versuche ist: Durch cozymasehaltiges Waschwasser von Milchsäure-Bakterien wird der Zuckergehalt des Blutes bedeutend — etwa 20 bis 30% — erhöht, wie aus den folgenden Kurven (Fig. 1) hervorgeht.

Fig. 1.



Kaninchen-Versuche mit Waschwasser von Milchsäure-Bakterien.

Diese auffällige Wirkung der Cozymase auf den Blutzucker ist bemerkenswert. Sie bildet nach unserer Ansicht eine Stütze für die Auffassung, daß die Wirkung der Cozymase und des Insulins gleichartig ist. Nach den Untersuchungen von Embden und dessen Mitarbeitern³⁾ haben verschiedene Ionen eine entscheidende Bedeutung bei der Zymophosphat-Bildung und -Spaltung im Muskel. So wirken Ca-Ionen und noch stärker F-Ionen in hohem Grade im Sinne der Synthese von Zymophosphat, Cl- und J-Ionen dagegen im Sinne der Spaltung. Die Aktivierung der Synthese und der Spaltung von Zymophosphat ist allerdings vielleicht nur scheinbar: denn aus den Untersuchungen von Euler und Myrbäck⁴⁾ geht hervor, daß die Geschwindigkeit der Synthese durch F-Ionen wahrscheinlich nicht erhöht, sondern die Spaltung von Zymophosphat dabei gehemmt wird. Das Resultat von Embden, daß die Ionen starken Einfluß auf den Phosphat-Umsatz im Muskel ausüben, ist übrigens von Euler und Myrbäck vollständig bestätigt worden. Weil die Phosphorylierung eng mit der Cozymase verbunden ist, kann man auch sagen, daß die Ionen die Cozymase-Wirkung regulieren.

Eine äußerst wichtige Tatsache ist, daß die Ionen auch von Bedeutung für die Insulin-Wirkung sind. Nach einer erst vor kurzem erschienenen Mitteilung von Zondek und Ucko⁵⁾ ergibt sich eine Steigerung des Blutzuckers, wenn Insulin zusammen mit Calciumchlorid eingespritzt wird. Nach unseren Kaninchen-Versuchen bewirkt das Insulin auch eine starke Blutzucker-Erhöhung, wenn es gleichzeitig mit Natriumfluorid angewandt wird. Aus den Kurven in Fig. 2 geht hervor, daß bei diesen Versuchen zuerst eine kleinere Blutzucker-Senkung wahrnehmbar ist, worauf eine starke, weit über den normalen Stand hinausreichende Blutzucker-

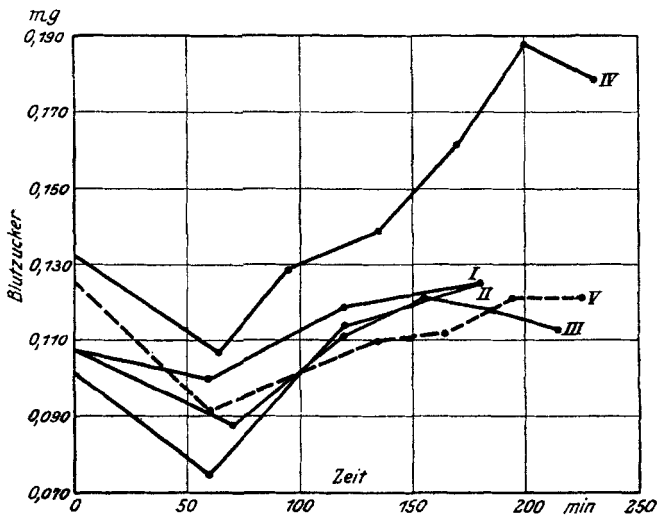
³⁾ Embden und Lehnartz, H. 134, 243 [1924].

⁴⁾ Svensk Kemisk Tidskrift 1924, 295. ⁵⁾ H. 148, 111 [1925].

Steigerung folgt. Die Wirkung des Natriumfluorids ist bei allen unseren Versuchen dieselbe.

Die Steigerung des Blutzuckers durch Ca- und F-Ionen bei der Insulin-Wirkung erklären wir vorläufig in folgender Weise: Die Insulin-Wirkung — Synthese des Hexose-phosphats — wird durch Natriumfluorid bzw. Calciumchlorid scheinbar stark aktiviert, weil die Spaltung des entstehenden Hexose-di-phosphats gehemmt wird. Die Menge des Hexose-di-phosphats im Blut wächst darum bedeutend. Etwa in dem Maße, wie die Glykose sich mit Phosphorsäure vereinigt, wird Glykogen hydrolysiert und der totale Blutzucker — Glykose und Hexose-di-phosphat — gesteigert. Hexose-di-phosphat wird nämlich auch als Zucker bestimmt, obwohl das Reduktionsvermögen desselben nicht so groß wie das der Glykose ist⁶⁾.

Fig. 2.



Kaninchen-Versuche mit Insulin + NaF.

- I. 25 mg NaF + 0,01 ccm Insulin; II. 25 mg NaF + 0,05 ccm Insulin;
 III. 50 mg NaF + 0,05 ccm Insulin; IV. 50 mg NaF + 0,05 ccm Insulin;
 V. 0,05 ccm Insulin (ohne NaF).

Die Beobachtung, daß die Insulin-Wirkung wesentlich von den Bedingungen des Milieus abhängig ist, erscheint für die Auffassung von der Cozymase-Natur des Insulins wichtig. Insulin und Cozymase sind beide für ihr bestimmtes Milieu geeicht und können darum im allgemeinen sich gegenseitig nicht ersetzen. Insulin ist als Cozymase des Blutes zu betrachten. Wir nehmen an, daß der aktive Teil des Insulins und der Cozymase derselbe ist, und daß die Unterschiede zwischen den beiden Stoffen auf die Begleitstoffe zurückzuführen sind.

Warum das Insulin die Cozymase bei Milchsäure-Bakterien ersetzt, ist ein Problem, das noch nicht zu erklären ist⁷⁾. Als Arbeitshypothese haben

⁶⁾ Nach Harden (Alcoholic Fermentation, Third edition, London 1923, 51) entspricht das Reduktionsvermögen der Hexose-di-phosphorsäure 33% desjenigen der Glykose.

⁷⁾ vergl. Virtanen, B. 58, 244I [1925].

wir angenommen, daß das im Blut zirkulierende, aus dem Pankreas stammende Insulin im Muskel anscheinend eine Veränderung erleidet, bei welcher es in die Cozymase übergeht, und daß dieselbe Veränderung auch durch Milchsäure-Bakterien verursacht wird. Die experimentelle Prüfung dieser Hypothese ist vorläufig allerdings negativ ausgefallen. Nach 4- und 15-stdg. Stehen des Insulins mit einem cozymase-freien Trockenpräparat von *Bacterium casei* ϵ , wobei Insulin als Cozymase funktionierte, zeigte die Gärung keine Cozymase-Wirkung mit gewaschener Trockenhefe. Die Frage wird von uns aber noch weiter behandelt.

Die Angabe von Collip⁸⁾, Best und Scott⁹⁾, Brusch und Horsters¹⁰⁾, daß aus verschiedenem Material, wie Hefe, Salat, Bohnen, Weizen, Kartoffeln und gewissen Organen des Tierkörpers, durch Extraktion mit Alkohol insulin-artige Körper zu isolieren sind, welche den Blutzucker-Gehalt erniedrigen, hat uns veranlaßt, das Trockenpräparat von *Bacterium casei* ϵ ebenfalls mit angesäuertem Alkohol zu extrahieren. Das erhaltene Extrakt hatte aber keine deutliche Wirkung auf Blutzucker. Bei einem Versuch mit demselben wurde eine kleine Blutzucker-Senkung, bei einem anderen eine unbedeutende Erhöhung beobachtet.

Im Anschluß an unsere Insulin-Versuche mit Bakterien-Trockenpräparaten haben wir auch Versuche mit lebenden Milchsäure-Bakterien ausgeführt. Im „Chemischen Zentralblatt“¹¹⁾ ist über eine Arbeit von Noyes und Estill¹²⁾ referiert, nach welcher die Milchsäure-Gärung von Traubenzucker durch den *Lactobacillus bulgaricus*¹³⁾ oder *acidophilus* um 20–25% gesteigert werden soll. Nach dem Referat ist „die Ursache noch nicht festgestellt worden“. Bei den Versuchen mit lebenden Bakterien kann nämlich sowohl das Wachstum der Bakterien als auch die Enzym-Tätigkeit aktiviert werden, und es geht darum aus den Gärversuchen nicht ohne weiteres hervor, welcher von diesen beiden Faktoren aktiviert worden ist.

Bei unseren Versuchen mit Insulin und lebenden Milchsäure-Bakterien wurde die Zellenzahl gleichzeitig mit der Säure-Zunahme bestimmt, wodurch das Wachstum der Bakterien und die Milchsäure-Gärung voneinander zu trennen sind. Die Gärung per Zelle, die vom Wachstum der Zelle ziemlich unabhängig ist, wurde etwa in derselben Weise ermittelt, wie der eine von uns schon früher verfahren ist¹⁴⁾. Das Gärungsvermögen pro Zelle wurde durch den Quotienten:

$$Gv = \frac{k \cdot \text{Zucker-Konzentration}}{\text{Zellenzahl}}$$

ausgedrückt; k ist hierbei der Reaktionskoeffizient erster Ordnung. Die durchschnittliche Bakterienzahl, welche während der Versuchszeit zwischen zwei Säure-Bestimmungen eingewirkt hat, wurde einer Kurve entnommen, welche mit der Bakterienzahl als Ordinate und der Versuchszeit als Abszisse gezeichnet war. Der der halbierten Versuchszeit entsprechende Punkt zeigt die durchschnittliche Zellenzahl.

⁸⁾ Journ. biol. Chem. 56, 513 [1923].

⁹⁾ Journ. Amer. Assoc. 81, 382 [1923]; Journ. metabol. research 3, 177 [1923].

¹⁰⁾ Bio. Z. 147, 150 [1924]. ¹¹⁾ C. 1925, I 683.

¹²⁾ Die Originalarbeit (Proc. National Acad. Sc. Washington 10, 415 [1924]) ist uns nicht zugänglich.

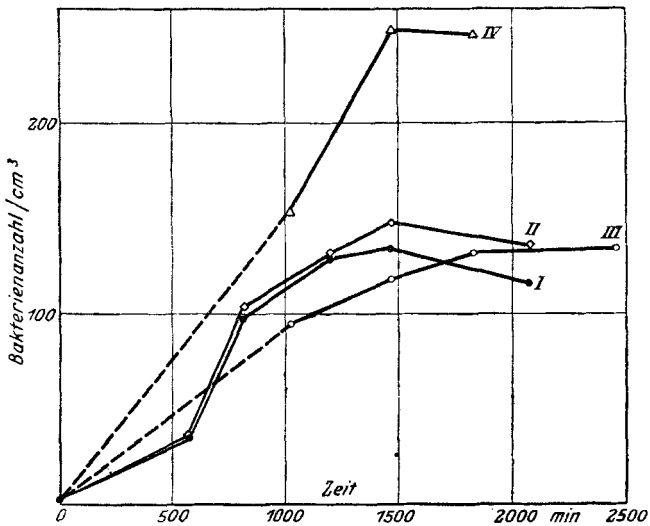
¹³⁾ Der *Lactobacillus bulgaricus* gehört zu der Gruppe von Casei-Bakterien und ist ganz nahe verwandt mit dem *Bacterium casei* ϵ .

¹⁴⁾ Virtanen, H. 134, 300 [1924].

Das Gärungsvermögen per Zelle ist für *Bacterium casei* ϵ nach unseren Versuchen dasselbe mit und ohne Insulin-Zusatz. Durch Insulin wird die Gärung der lebenden Milchsäure-Bakterien also nicht aktiviert. Auf das Wachstum der Bakterien hat das Insulin ebenfalls keinen nennenswerten Einfluß.

Auch bei den Versuchen, bei welchen an Stelle des Insulins das cozymasehaltige Hefe-Waschwasser in Anwendung kam, wurde das Gv nicht erhöht, woraus man schließen darf, daß *Bacterium casei* ϵ schon die optimale Menge Cozymase enthält. Aus diesem Versuch ergibt sich klar, warum das Insulin die lebenden Milchsäure-Bakterien nicht aktiviert. Durch Hefe-Waschwasser wurde das Wachstum der Bakterien und darum auch die totale Milchsäure-Bildung, nicht aber die Milchsäure-Bildung per Zelle, aktiviert. Die Wachstums-Aktivierung ist vielleicht zum Teil auf das Puffervermögen des Waschwassers, zum Teil aber auf die in Hefe vorkommenden Wachstumsfaktoren zurückzuführen.

Fig. 3.

Das Wachstum von *Bacterium casei* ϵ in Molke

- I. ohne Zusatz (42°); II. mit 2 ccm Insulin in 110 ccm Molke (42°);
 III. ohne Zusatz (37°); IV. mit 6 ccm Waschwasser von 5 g Trockenhefe (37°).

Die Größe des Gärungsvermögens ist für *Bacterium casei* ϵ bei 42° (optimale Temperatur) 37×10^{-15} bei 37° 25×10^{-15} . Für den *Streptococcus lactis* hat der eine von uns¹⁵⁾ früher bei 30° (optimale Temperatur) das Gärungsvermögen zu 31×10^{-16} , bei 19° zu 11×10^{-16} gefunden. Die Zellen von *Bacterium casei* ϵ sind also etwa zehnmal stärkere Milchsäure-Bildner als die von *Streptococcus lactis*. Die Gärversuche mit dem *Bacterium casei* ϵ wurden zwar nicht wie mit dem *Streptococcus lactis* bei konstanter Wasserstoff-ionen-Konzentration ausgeführt, das p_H -Optimum für das *Bacterium casei* ist aber sehr breit. Bei unseren Versuchen war darum kein starkes Sinken der Konstante zu beobachten.

¹⁵⁾ Virtanen, H. 134, 300 [1924].

Beschreibung der Versuche.

Kaninchen-Versuche.

Bezüglich der Methodik sei Folgendes erwähnt: Die Kaninchen wurden etwa 20 Stdn. vor Beginn des Versuchs nüchtern gehalten. Die Blutzucker-Konzentration wurde vor der Insulin- bzw. Cozymase-Einspritzung und dann stündlich oder öfter nach der Injektion bestimmt. Es wurden stets zwei oder drei parallele Zucker-Bestimmungen ausgeführt. Bei den Bestimmungen kam die ausgezeichnete Mikromethode von Hagedorn und Jensen¹⁶⁾ in Anwendung. Die Blutentnahme erfolgte aus der Ohrvene. Die Injektion war stets intravenös.

Versuche mit Waschwasser von Milchsäure-Bakterien.

Die Aktivität der angewandten Trockenpräparate von *Bacterium casei* s geht aus folgenden Bestimmungen hervor:

Versuchslösung: 20 ccm 0.5-n. Phosphat-Lösung von $pH = 6.2$, 1 g Glykose, 1 g Trockenpräparat, 1 ccm Toluol.

Zeit in Stdn.	Präparat 1	Präparat 2	Präparat 3
	Glykose in 1 ccm g	Glykose in 1 ccm g	Glykose in 1 ccm g
0	0.0489	0.0495	0.0482
12	0.0312	0.0350	*0.0321

Die Herstellung des cozymase-haltigen Waschwassers geschah gewöhnlich in folgender Weise: 5 g Trockenpräparat wurden mit etwa 20 ccm destilliertem Wasser im Mörser verrieben und dann zentrifugiert. Die Operation wurde wiederholt, worauf die vereinigten, wasserklaren, gelblichen Extrakte bei 40° im Vakuum bis auf 2 ccm eingeengt wurden. Die erhaltene Lösung wurde in die Ohrvenen injiziert.

Bei einigen Versuchen wurde das Trockenpräparat mit Wasser von 90° gewaschen und der Extrakt ohne einzuzengen injiziert (Versuch III). Auch kam ein durch Pukall-Filter filtrierter Extrakt in Anwendung (Versuch I).

In der folgenden Tabelle sind die Resultate von einigen Versuchen zusammengestellt.

I		III		VI		VII	
Zeit in Minuten	Blutzucker in mg	Zeit in Minuten	Blutzucker in mg	Zeit in Minuten	Blutzucker in mg	Zeit in Minuten	Blutzucker in mg
Vorher	0.105	Vorher	0.121	Vorher	0.096	Vorher	0.121
190	0.125	80	0.121	60	0.107	60	0.123
		190	0.130	130	0.130	95	0.129
		240	0.140	195	0.125	125	0.138
				230	0.118	150	0.138
						195	0.141

¹⁶⁾ Bio. Z. 135, 46 [1923].

Die Steigerung des Blutzuckers ist bei allen Versuchen deutlich.

Die Alkohol-Extraktion des Trockenpräparates wurde folgendermaßen ausgeführt: 4 g Trockenpräparat wurden mit 12 ccm 60-proz. Alkohol, der 0.08 % Schwefelsäure enthielt, verrieben, etwa 40 Min. extrahiert und dann mittels einer Nutsche filtriert. Nach Wiederholung der Operation mit dem Rückstand wurde das vereinigte Filtrat im Vakuum unter 40° eingengt und dann mit 0.1-n. NaOH bis zur Lackmus-Neutralität versetzt. Die klare Lösung wurde in die Ohrvenen injiziert.

I		II	
Zeit in Min.	Blutzucker in mg	Zeit in Min.	Blutzucker in mg
Vorher	0.131	Vorher	0.108
70	0.130	60	0.108
95	0.131	95	0.120
125	0.120	155	0.122
170	0.122	205	0.110
200	0.122		
235	0.122		

Bei diesen Versuchen ist keine deutliche Ab- oder Zunahme des Blutzuckers zu beobachten.

Versuche mit Insulin.

I 25 mg NaF + 0.01 ccm Insulin		II 25 mg NaF + 0.05 ccm Insulin		III 50 mg NaF + 0.05 ccm Insulin	
Zeit in Min.	Blutzucker in mg	Zeit in Min.	Blutzucker in mg	Zeit in Min.	Blutzucker in mg
Vorher	0.107	Vorher	0.101	Vorher	0.132
60	0.100	60	0.075	65	0.107
120	0.119	120	0.114	95	0.129
180	0.125	180	0.125	135	0.139
				170	0.161
				200	0.188
				230	0.179

IV 50 mg NaF + 0.05 ccm Insulin		V 0.05 ccm Insulin (ohne NaF)	
Zeit in Min.	Blutzucker in mg	Zeit in Min.	Blutzucker in mg
Vorher	0.107	Vorher	0.125
70	0.088	60	0.091
120	0.111	90	0.109
155	0.121	135	0.110
185	0.118	165	0.112
215	0.113	195	0.121
		225	0.121

Das angewandte Insulin war ein Welcome-Präparat, welches nach der Angabe in 5 ccm 100 Einheiten enthielt; es wurde in 4-proz. Natriumfluorid-Lösung eingespritzt. Die Resultate gehen aus obiger Tabelle hervor.

Versuche zur Verwandlung des Insulins in Cozymase.

Sowohl das Trockenpräparat als auch die lebenden Milchsäure-Bakterien kamen bei diesen Versuchen zur Anwendung.

4 g Trockenpräparat, dessen Aktivität sehr gut war, wurde durch Waschen von Cozymase befreit, wonach das gewaschene Präparat in 0.5-n. Phosphat-Lösung ($p_H = 6.2$) mit 2 ccm Welcome-Insulin bei 42° aufbewahrt wurde. Nach 4 und 15 Stdn. wurden Proben aus der Lösung entnommen und zentrifugiert. Die Proben wurden auf ihren Cozymase-Gehalt mit gewaschener Hefe geprüft. Auch nach 15 Stdn. war keine Gasbildung mit Hefe zu beobachten, woraus man schließen darf, daß Insulin von Milchsäure-Bakterien nicht in Cozymase übergeführt wird. Durch einen Kontrollversuch konstatierte man, daß das Insulin bei dem Trockenpräparat als Cozymase funktionierte. Nach Insulin-Zusatz wurde mit 1 g gewaschenem Trockenpräparat, das vollständig inaktiv war, innerhalb von 20 Stdn. eine Glykose-Verminderung um 20.6% konstatiert.

Die Versuche mit lebenden Bakterien, bei denen durch Zentrifugieren isolierte Bakterienmassen angewandt wurden, ergaben dasselbe Resultat.

Insulin und Cozymase mit lebenden Milchsäure-Bakterien.

Die Versuchsanordnung war folgende: Sterile, geklärte Molke wurde mit einer Molken-Kultur von *Bacterium casei* s geimpft. Dann und wann wurden mit einer sterilen Pipette aus der Gärlösung 5 ccm für die Säure-Bestimmung und die Bakterien-Zählung herausgenommen. Die Bakterien-Zählung geschah direkt unter dem Mikroskop¹⁷⁾. Es wurden jedesmal 50 Gesichtsfelder gezählt. Die Versuchstemperatur war 42° und 37°. Die Molke enthielt im Anfang 5.00% Milchzucker. Da sich das Wachstum der Bakterien in Molken verschiedener Herstellung stark ändert, wurde bei den vergleichenden Versuchen stets dieselbe Molke angewandt.

Ia: 110 ccm sterile Molke wurden mit 0.1 ccm Molken-Kultur von *Bacterium casei* geimpft. Die Impfkultur enthielt 150 Millionen Zellen in je 1 ccm. Versuchstemperatur 42°.

Zeit in Min.	Bakterienzahl pro ccm in Millionen	ccm 2.1-n. NaOH pro 5 ccm	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$	$Gv = \frac{k \cdot g \text{ Zucker}}{\text{Zellenzahl}}$
0	0.14	0.8	—	—
585	35.4	0.9	2.75×10^{-6}	—
825	98.0	1.4	11.84×10^{-6}	—
1035	—	1.8	15.85×10^{-6}	43.1×10^{-15}
1210	130.0	2.15	18.4×10^{-6}	36.1×10^{-15}
1470	135.0	2.55	19.8×10^{-6}	36.5×10^{-15}
2070	117.0	2.95	17.4×10^{-6}	36.3×10^{-15}
2730	—	3.10	14.0×10^{-6}	33.5×10^{-15}

Gv (im Mittel) = 37.1×10^{-15} .

¹⁷⁾ Virtanen und Karström, *Bio. Z.* **161**, 13 [1925].

Ib: Wie bei dem Parallelversuch. Zusatz von 2 ccm Insulin.

Zeit in Min.	Bakterienzahl pro ccm in Millionen	ccm 0.1-n. NaOH pro 5 ccm	k	Gv
0	0.14	0.8	—	—
585	36.8	0.9	2.75×10^{-6}	—
825	103.6	1.4	11.84×10^{-6}	40.9×10^{-15}
1035	—	1.9	17.4×10^{-6}	37.6×10^{-15}
1210	136.0	2.25	19.8×10^{-6}	37.4×10^{-15}
1470	149.0	2.65	21.0×10^{-6}	35.8×10^{-15}
2070	137.0	3.1	18.7×10^{-6}	—
2730	—	3.3	15.5×10^{-6}	—

Gv (im Mittel) = 37.9×10^{-15} .

Weder das Wachstum, noch das Gärungsvermögen der Bakterien ist durch Insulin-Zusatz beeinflusst worden.

IIa: 150 ccm sterile Molke wurden mit 0.5 ccm Molken-Kultur von *Bacterium casei* ε geimpft. Die Impfkultur enthielt 270 Millionen Zellen in je 1 ccm. Versuchstemperatur 37°.

Zeit in Min.	Bakterienzahl pro ccm in Millionen	0.1-n. NaOH ccm pro 5 ccm	PH	k	Gv
0	0.9	0.8	6.40	—	—
1020	95.0	1.3	5.32	8.0×10^{-6}	—
1470	119.0	1.8	4.98	11.1×10^{-6}	25.2×10^{-15}
1830	132.0	2.2	4.60	12.6×10^{-6}	24.4×10^{-15}
2460	135.0	2.7	4.42	12.9×10^{-6}	23.5×10^{-15}

Gv (im Mittel) = 24.4×10^{-15} .

IIb: Wie bei dem Parallelversuch. Zusatz von 6 ccm Waschwasser von 5 g Trockenhefe.

Zeit in Min.	Bakterienzahl pro ccm in Millionen	0.1-n. NaOH ccm pro 5 ccm	PH	k	Gv
0	0.9	1.0	6.63	—	—
1020	153.0	2.0	5.32	16.2×10^{-6}	—
1470	249.0	3.2	—	25.3×10^{-6}	(30.3×10^{-15})
1830	247.0	3.9	4.84	27.2×10^{-6}	26.4×10^{-15}
2460	—	5.0	4.80	28.5×10^{-6}	24.8×10^{-15}

Gv (im Mittel) = 25.6×10^{-15} .

Das Wachstum der Bakterien nimmt also durch Hefe-Extrakt stark zu, das Gärungsvermögen dagegen nicht oder höchstens unbedeutend.

Eine zweite Versuchsserie mit Insulin und Hefe-Cozymase gab das gleiche Resultat.