

daher ein neues, diese Metalle enthaltendes Heilmittel auf seine Unschädlichkeit gegenüber den Schleimhäuten und anderen thierischen Geweben untersuchen, so braucht man nur in der oben angegebenen Weise das Verhalten zu Milzbrandsporen zu prüfen; die an den Bakterien gewonnenen Erfahrungen lassen sich ohne Weiteres bei der Herstellung derartiger Präparate verwenden.

Schliesslich kann uns das Verhalten der Bakterien zu den Lösungen gewisser Stoffe, über deren chemische Constitution wir gut orientirt sind, Aufschluss über den Aufbau der Bakterien und die Bestandtheile und Structur ihres Protoplasmas liefern. Dass die Reaction des lebenden Protoplasmas der Bakterien mit chemischen Agentien denselben allgemeinen Gesetzen unterworfen ist, nach denen die chemischen Vorgänge in der unbelebten Natur stattfinden, hat eine schöne Untersuchung von K. Ikeda²⁵⁾ in Tokio (Japan) gelehrt. Er unterwarf die von B. Krönig und mir angestellten Versuche über das Verhalten der Milzbrandsporen zu wässrigen Quecksilberchloridlösungen (vergl. Tabelle 7 dieser Abhandlung) einer sehr interessanten Untersuchung vom theoretisch-physikalisch-chemischen Standpunkt aus. Mit Hilfe einer graphischen Anordnung der Versuche konnte er zeigen, dass zwischen der Concentration des Quecksilberchlorids, der Einwirkungszeit und der Zahl der keimfähig gebliebenen Sporen ganz bestimmte Beziehungen bestehen und dass es sogar möglich ist, auf Grund der mit einer Lösung ausgeführten Versuche die Einwirkungszeiten zu berechnen, welche bei anderen Verdünnungen zu demselben Desinfectionseffect führen.

Aus diesen Betrachtungen geht hervor, dass die oben beschriebene Methode zur Feststellung der bakterientödtenden Wirkung eines Stoffes nicht nur zur einheitlichen Werthbestimmung chemischer Desinfectionsmittel brauchbar ist, sondern, dass sie auch mit

zu tiefgreifenden entzündlichen Processen und acuten Quecksilbervergiftungen Anlass geben kann. Was ist die Ursache dieser merkwürdigen Erscheinung, welche auch bei Benutzung anderer Quecksilbersalben beobachtet worden ist? Gerade so, wie sich Quecksilberoxyd in einer wässrigen Lösung von Jod- oder Bromkalium löst, weil das Quecksilberbromid $HgBr_2$ und in noch höherem Maasse das Quecksilberjodid HgJ_2 nur sehr wenig elektrolitisch dissociirt sind, wird auch von den jod- oder bromhaltigen Körperflüssigkeiten das unter normalen Verhältnissen sehr schwer lösliche und deshalb sehr mild wirkende Quecksilberoxyd der Salbe gelöst. Diese Lösung wird resorbirt und veranlasst secundär die Vergiftungserscheinungen.

²⁵⁾ Diese Untersuchung ist ebenfalls in der Abhandlung von B. Krönig u. Th. Paul über die chemischen Grundlagen etc. Seite 95 mitgetheilt.

Vorthail bei physiologischen und pharmakologischen Untersuchungen benutzt werden kann.

Die in dieser Abhandlung beschriebenen Apparate werden von der Firma Dr. Hermann Rohrbeck, Fabrik bakteriologischer, chemischer und technischer Apparate, Berlin NW, Karlstr. 20a, angefertigt und vorrätig gehalten.

Untersuchung einiger käuflicher Diastasepräparate.

Von Dr. Georg Barth.

(Mittheilung aus dem gährungsschemischen Laboratorium der Technischen Hochschule zu München.)

Seitdem der Bedarf an gewissen Enzymen sowohl für analytische als auch vor Allem für diätetische Zwecke ein grösserer geworden ist, hat sich auch die chemische Technik immer mehr mit der Darstellung dieser Körper befasst. Während z. B. beim Einkauf von Pepsin die Bestimmung der Wirksamkeit des Präparates eine allgemein übliche, ja zum Theil durch gesetzliche Verordnungen vorgeschriebene ist, scheint man auf dem Gebiete der verzuckernden Enzyme eine bestimmte Forderung in dieser Beziehung noch nicht zu stellen. Um zu zeigen, dass eine bestimmte diastatische Kraft auch beim Handel mit verzuckernden Enzymen zweckmässig zu Grunde zu legen ist, wurde die Untersuchung von 8 Diastasepräparaten verschiedenster Herkunft ausgeführt und sollen die Resultate derselben hier kurz mitgetheilt werden.

Neben der Untersuchung auf Asche und Wasser wurde specieller Werth auf den Stickstoffgehalt der einzelnen Präparate gelegt, da die Diastase ja unzweifelhaft ein stickstoffhaltiger Körper ist. Freilich ausschlaggebend für die Beurtheilung der Präparate konnte nur das Fermentativvermögen sein. Von den zur Ermittlung desselben angegebenen Methoden eignet sich die von Lintner¹⁾ ausgearbeitete wohl am besten. So kam auch Fr. Söldner²⁾ bei der Untersuchung von Diastasemalzextracten zu dem Schlusse, dass diese Methode nicht nur die handlichste wäre, sondern auch sehr zuverlässige Resultate gäbe. Die Bestimmung des Fermentativvermögens erfolgt in nachstehender Weise:

In 10 Reagirylinder, welche in dem sogen. Reischauer'schen Stern befestigt worden sind, giebt man je 10 ccm einer 2-proc. Stärkelösung (hergestellt aus sogen.

¹⁾ Journal für praktische Chemie, N. F. 34, S. 382.

²⁾ Pharmazeutische Zeitung 1889, No. 65 u. 66.

löslicher Stärke) und lässt dann 0,1, 0,2, 0,3 bis 1,0 ccm der betreffenden Diastaselösung zufließen. Nachdem jedes einzelne Röhrchen gut durchgeschüttelt ist, bleiben die Röhrchen bei Zimmertemperatur eine Stunde stehen. Hierauf setzt man zu jedem derselben 5 ccm Fehling'sche Lösung, mischt den Inhalt gut durch und bringt das Gestell sammt Röhrchen während 10 Minuten in ein kochendes Wasserbad. Nach Verlauf dieser Zeit nimmt man das Gestell heraus und lässt den Niederschlag in den Röhrchen gut absetzen. Bei richtig gewählten Concentrationsverhältnissen der Diastaselösung wird dann die Flüssigkeit der mit 1 ccm Diastaselösung beschickten Röhrchen gelbbraun erscheinen, während die Lösung des mit 0,1 ccm Diastaselösung beschickten Röhrchens noch blau sein wird. Es wird also leicht sein, durch vorsichtiges Abgiessen oder Filtriren sowie durch Prüfung des Filtrates mit Essigsäure und Ferrocyankalium dasjenige Röhrchen zu ermitteln, bei dem die überstehende Lösung kein oder nur mehr sehr wenig Kupfer enthält. Bei genauen Bestimmungen kann dann der Versuch mit Diastasemengen von je 0,02 ccm, 0,04 ccm etc. innerhalb der gefundenen Grenzen wiederholt werden. Die günstigsten Concentrationsverhältnisse müssen für jedes Präparat durch einen Vorversuch ermittelt werden. Dieselbe schwankt bei guten Präparaten zwischen 0,1 und 0,3 g Diastase auf 100 ccm Wasser und ist eben abhängig vom Fermentativvermögen. Nach Lintner ist das Fermentativvermögen einer Diastase = 100, wenn von einer Lösung, enthaltend 0,1 g Diastase in 250 ccm Wasser, 0,3 ccm ausreichend sind, in 10 ccm einer 2-proc. Stärkelösung soviel Zucker zu erzeugen, um 5 ccm Fehling'sche Lösung zu reduciren. Es entsprechen dann 0,3 ccm = 0,12 mg Diastase. Die Berechnung des Fermentativvermögens gestaltet sich demnach wie folgt: Enthalten 100 ccm einer Lösung 0,1 g Diastase, wovon 0,3 ccm zur völligen Reduction der Fehling'schen Lösung erforderlich waren, so ergibt sich das Fermentativvermögen aus der Proportion

$$\begin{aligned} 0,3 : 0,12 &= 100 : F \\ F &= \frac{0,12 \cdot 100}{0,3} = 40. \end{aligned}$$

Um gleichzeitig den Einfluss zu constataren, welchen ein Zusatz von reduc. Zucker zu den betreffenden Präparaten auf die Bestimmung des Fermentativvermögens haben kann, wurden 3 ccm der betreffenden Diastaselösung mit 2 ccm Fehling'scher Lösung in ein Röhrchen gebracht und ebenfalls 10 Minuten im kochenden Wasserbade erhitzt. Bei keinem der untersuchten Präparate trat

hierbei eine sichtbare Reduction der Fehling'schen Lösung ein. Bezüglich der zur Bestimmung des Fermentativvermögens beobachteten Concentrationsverhältnisse sei hier auf die beigelegte Tabelle verwiesen.

Neben der Bestimmung der verzuckernden Kraft war aber auch die Ermittlung des Verflüssigungsvermögens gegenüber Stärkekleister sehr wünschenswerth. Für die hier in Betracht kommenden Vergleichszwecke war die von Lintner³⁾ angegebene Methode sehr gut brauchbar und liess dieselbe recht wohl Vergleiche zu. Nach dessen Vorschrift verfährt man bei diesen Versuchen folgendermaassen:

„10 g lufttrockene Kartoffelstärke werden in einem 100 ccm-Kölbchen mit Wasser bis zur Marke übergossen und durch Umschütteln eine möglichst gleichmässige Vertheilung der Stärke im Wasser herbeigeführt. Dann werden mit einer Pipette von weiter Öffnung rasch 10 ccm in ein Reagirröhrchen gebracht. Schüttelt man vor jeder Probenahme kräftig durch, so gelingt es leicht, in jedes Röhrchen annähernd das gleiche Stärkequantum zu bringen. Nun setze man von der zu prüfenden Diastaselösung 0,1 ccm zum Inhalte des ersten, 0,2 ccm zum Inhalte des zweiten Röhrchens und so fort bis 1 ccm und schreite dann zur Verkleisterung. Dieselbe nimmt man nacheinander am besten in einem Wasserbade von 70° C. vor, indem man vor und während der Verkleisterung durch kräftiges Umschütteln das Absitzen der Stärke verhindert. Sobald der Röhrcheninhalt erstarrt ist, was bei Kartoffelstärke bei 65° C. der Fall ist, setzt man die Proben sofort in ein bereit gehaltenes Wasserbad von der Temperatur, bei welcher der Verlauf der Verflüssigung beobachtet werden soll. Die erste Beobachtung wird dann in der Regel 10 Minuten nach dem Einsetzen des letzten Röhrchens vorgenommen und dann in Zwischenräumen von 10 Minuten wiederholt. Man kann dann folgende 6 Hauptstadien unterscheiden:

1. Der Inhalt des Röhrchens bleibt beim Umkehren desselben unbeweglich.
2. Er fliesst beim Umkehren träge ab — schwer beweglich.
3. Er fliesst leicht ab — leicht beweglich.
4. Er bildet beim Schütteln einen grossblasigen Schaum.
5. Er bildet einen feinblasigen Schaum, der lange stehen bleibt.
6. Die ganz dünne Flüssigkeit klärt sich und setzt Stärkecellulose ab.“

Wenn diese Methode zur Bestimmung der verflüssigenden Kraft zwar keinen zahlenmässigen Ausdruck liefert, so bietet sie doch ein werthvolles Hilfsmittel zur vergleichenden Beurtheilung verschiedener Präparate, vorausgesetzt, dass bei der Prüfung auf Verflüssigung die Diastaselösungen annähernd gleiche Concentrationsverhältnisse aufweisen. Dass die verflüssigende Kraft hinsichtlich ihrer Intensität der verzuckernden Wirkung parallel läuft, konnte bei den untersuchten Präparaten nicht durchweg beobachtet werden.

³⁾ Zeitschrift für das gesammte Brauwesen 1886, S. 331.

Ferner wurden noch die Einwirkungsproducte einzelner Diastasepräparate auf 10-proc. Stärkekleister untersucht. Zu diesem Zwecke wurden 30 g Stärke mit 280 ccm kaltem Wasser und 10 ccm einer Diastaseaufschlammung, 0,25 g Diastase enthaltend, verrührt und unter Umrühren auf 70° C. zur Verflüssigung erwärmt. Nach Abkühlen auf 62° C. wurden nochmals 10 ccm Diastaselösung zugegeben, welche abermals 0,25 g der betreffenden Diastase enthielten. Das Gemisch wurde nun unter Umrühren so lange bei 60°—62° C. erhalten, bis mittels Jod die völlige Verzuckerung der Stärke nachgewiesen werden konnte. Als dann wurde das Ganze blank filtrirt, mittels Saccharometer bei 17,5° C. die Trockensubstanz bestimmt und die Drehung im 1 dm-Rohr ermittelt. Aus den dadurch erhaltenen Angaben wurde dann die specifische Drehung $[\alpha]_D$ berechnet. Die Bestimmung des Reduktionsvermögens erfolgte in der aufs 10 fache verdünnten Lösung durch Ausführung einer Maltosebestimmung nach Wein. Man erhält dadurch die Menge an reducirender Substanz in 100 Theilen des Extractes. Zur Prüfung auf Dextrose unter den Einwirkungsproducten wurden je 20 ccm der 10-proc. Lösung mit 2 g Phenylhydrazin und 2,2 g 5-proc. Essigsäure $1\frac{1}{4}$ Stunden im kochenden Wasserbade erhitzt. Bei Anwesenheit von Dextrose scheidet sich nach dieser Zeit in der Hitze das Dextrosazon in Form schöner, gelber Nadelchen ab.

handlung in Paris in Originalpackung erhielt, wurde abgesehen, da neben einem sehr geringen Stickstoffgehalt auch ein sehr niedriges Fermentativvermögen vorhanden war. Überdies waren diese Präparate stark mit Stärke resp. Dextrin und reducirendem Zucker versetzt. Die meisten derselben waren mit der Bezeichnung „titre 1:50“ versehen, was wohl so aufzufassen ist, dass 1 Theil des betreffenden Präparates 50 g Stärke zu verflüssigen und zu verzuckern vermag. Freilich konnte von einer solchen Wirkung nichts beobachtet werden.

Während die Diastase Merck augenscheinlich eine Malzdiastase ist, legt unter Anderem der hohe Proteingehalt der Diastase Witte die Vermuthung nahe, dass dieselbe thierischen Ursprunges ist. Über die Herstellung der Takadiastase liegen bereits verschiedene Mittheilungen in der Litteratur vor. Nach dem Verfahren, welches J. Takamine unter Nr. 79 763 patentirt wurde, erhält man diese Diastase aus den Sporen gewisser Schimmelpilze, vorwiegend *Eurotium oryzae*, *Aspergillus* und *Mucor*arten. Die Sporen dieser Pilze werden auf gedämpfter Kleie oder auf gedämpftem Reis bei schwacher Alkalescenzen des Nährbodens gezüchtet. Diese als „Takakoji“ bezeichneten Sporen werden dann mit Wasser ausgelaugt und die dadurch erhaltene Diastaselösung im Vakuum eingedampft.

Die Untersuchung der einzelnen Präparate ergab nun folgende Zahlen:

	1	2	3	4	5	6	7	8
	Taka	Witte	Merck	Remy	Defresne	Jeune	Billault	Chaix
Wasser	10,35	10,47	7,75	11,64	10,21	5,17	—	—
Trockensubstanz	89,65	89,53	92,25	88,36	89,79	94,83	—	—
Asche	33,51	5,64	17,37	2,11	7,30	1,49	—	—
Stickstoff (nach Kjeldahl)	2,65	13,09	6,77	0,84	5,05	1,02	0,83	0,31
Protein ($N \times 6,25$)	16,56	81,81	42,31	5,25	31,56	6,38	5,19	1,93
Fermentativvermögen nach Lintner	8,63	27,4	11,5	—	sehr gering	sehr gering	—	—
Dabei in 100 ccm g Diastase verwendet	0,2550	0,0832	0,1737	—	0,2040	0,5088	—	—
Spec. Drehung $[\alpha]_D$	146,7	156,1	151,7	—	—	—	—	—
Reduktionsvermögen	72,19	68,39	72,19	—	—	—	—	—
Dextrose in den Einwirkungsproducten	reichliche Mengen	keine	keine	—	—	—	—	—
Jodreaction der Diastaselösungen	keine	sehr geringe Blaufärbung	sehr geringe Blaufärbung	Blaufärbung	Blaufärbung	Rothfärbung	Blaufärbung	Blaufärbung
Verflüssigungsvermögen bei 65°	kräftig	kräftig	sehr kräftig	—	—	—	—	—
Dabei in 100 ccm g Diastase verwendet	0,2000	0,2000	0,1993	—	—	—	—	—

Erwähnt soll ferner werden, dass sehr viele der untersuchten Diastasepräparate mit Jod starke Blaufärbung gaben, was auf eine Vermischung mit Stärke hinweist. Von einer näheren Untersuchung der Präparate 4—8, die ich durch Vermittlung einer Chemikalien-

Abgesehen von den Präparaten 4—8, welche in Bezug auf ihr Fermentativvermögen überhaupt nicht in Betracht kommen, ersieht man aus diesen Zahlen, dass die Diastasen Witte, Merck und Taka eine kräftige verzuckernde Wirkung besitzen. Bei der

Takadiastase kommt dabei aber in Betracht, dass die Einwirkungsproducte auf Stärkekleister zum grossen Theil aus Dextrose bestehen, wie dies nicht nur aus der Herstellung des Dextrosazons, sondern auch aus der geringeren specifischen Drehung ersichtlich ist. Das Vorhandensein von Dextrose ($[\alpha]_D = +52,8$) drückt das Drehungsvermögen der anderen Producte eben doch wesentlich herunter. Hinsichtlich der verzuckernden Wirkung ist das Präparat von Witte mit $F = 27,4$ entschieden das wirksamste; was die Verflüssigung von Stärkekleister anlangt, so steht dasselbe gegen das Präparat von Merck ($F = 11,5$) zurück. Bei dem Witte'schen Präparate zeigt sich somit, dass Fermentativvermögen und Verflüssigungsvermögen nicht immer proportional sind.

Grosse Schwankungen treten ferner noch

im Aschengehalte auf, welcher sich von 1,49—33,51 Proc. bewegt.

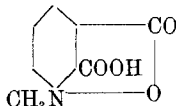
Aus dem hier angeführten Beobachtungsmaterial kann man ersehen, dass die Wirksamkeit der käuflichen Diastasepräparate ausserordentlich verschieden ist. Es wäre daher nur zu wünschen, dass sich diejenigen Fabriken, welche sich mit der Gewinnung dieses Enzyms im Grossen befassen, dazu entschliessen würden, ihre Präparate nur nach Wirksamkeit, d. h. nach ihrem Fermentativvermögen zu verkaufen. Die oben angegebene Methode zur Bestimmung derselben ist so einfach auszuführen, dass die Angabe des Fermentativvermögens gewiss leicht ermöglicht werden kann. Jedenfalls würden sich dann solche Unterschiede, wie sie durch diese Untersuchung festgestellt wurden, nicht mehr ergeben.

Sitzungsberichte.

Sitzung der Akademie der Wissenschaften in Wien. Mathem.-naturw. Klasse. Vom 21. März 1901.

Prof. Skraup in Graz legt eine in Gemeinschaft mit Kremann verfasste Untersuchung vor: Über Acetochlorglucose, Acetochlorgalaktose und Acetochlormilchzucker. Die krystallisirte Acetochlorhydrose wird näher beschrieben und gezeigt, dass auf ganz analogem Wege aus Galaktose die Acetochlorgalaktose $C_6H_7O_5(C_2H_3O)_4Cl$ entsteht, die gleichfalls krystallisirt. Der Acetochlormilchzucker, über den s. Z. berichtet werden wird, bildet sich schon bei gewöhnlicher Temperatur aus Milchzucker und mit Salzsäuregas gesättigtem Essigsäureanhydrid. Er krystallisirt sehr gut, während die analog dargestellte Acetochlorsaccharose amorph ist. Sowohl Acetochlorglucose als Acetochlorgalaktose gehen mit überschüssigem Phenylhydrazin beim Erwärmen in Verbindungen $C_{24}H_{30}O_3N_6$ über, welche optisch inactiv sind und einander so ähnlich sind, dass sie identisch sein dürften.

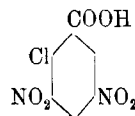
Prof. Goldschmiedt legt eine im chemischen Laboratorium der deutschen Universität in Prag ausgeführte Arbeit von Kirpal vor: Das Betain der Chinolinsäure, in welcher für diesen Körper die Constitution



nachgewiesen wird.

Prof. Lieben legt zwei am Technologischen Gewerbemuseum in Wien ausgeführte Arbeiten von Cohn¹⁾ vor. 1. Über neue Diphenylamin-derivate. (In Gemeinschaft mit Schifferes.) Behandelt man o-Chlorbenzoesäure in schwefelsaurer Lösung mit 2 Mol. Salpetersäure, so entsteht nach D.R.P. 106 510 eine Dinitrochlor-

benzoesäure, für welche nach den Umsetzungen mit Alkali und Ammoniak, bei welchen die bereits beschriebene 3.5-Dinitrosalicylsäure, beziehungsweise die 3.5-Dinitro 2 Aminobenzoësäure entsteht, sowie nach der Esterifizirbarkeit mit Alkohol und Salzsäure die Constitution



erwiesen wird. Dieselbe besitzt ein sehr bewegliches Chloratom und reagirt daher mit primären aromatischen Aminen und deren Substitutionsproducten (Amidophenolen, Carbonsäuren etc.) unter Bildung neuer Diphenylamin-derivate. Die Condensationsproducte sind grösstentheils durch gute Krystallisationsfähigkeit ausgezeichnete, gelb bis roth gefärbte Verbindungen. Sie haben in Folge der zwei Nitrogruppen stark saure Eigenschaften, so dass sie Essigsäure aus den Salzen freizumachen im Stande sind. Beschrieben werden die Condensationen mit Anilin, p-Amidophenol, α -Naphthylamin, β -Naphthylamin und mit Anthranilsäure. Die Körper führen beim Erhitzen mit Schwefel und Schwefelalkali zu neuen Baumwollfarbstoffen.

2. Über die Chlorirung von o-Nitrotoluol. (Mit J. Pollak). Bei der Einwirkung von Chlor auf o-Nitrotoluol in Gegenwart eines Chlorüberträgers entsteht ein Gemisch von p- und o-Nitrotoluol; durch Reduction des Gemisches entstehen zwei Chlortoluidine, deren Siedepunkte fast identisch sind und welche durch die Acetylverbindungen getrennt wurden; bei der Oxydation der Acetyl-derivate entstehen zwei neue Chloraminobenzoësäuren, deren Stellung durch Diazotirung und Überführung in bekannte Dichlorbenzoesäuren ermittelt wurde. Bei der Oxydation des Chlorirungsgemisches mit Salpetersäure werden zwei verschiedene Chlornitrobenzoesäuren erhalten. Das

¹⁾ Zeitschr. angew. Chemie 1901, 311.