

Tabelle 3.

	Abgewogen			Gewichtsverhältnis		K ₂ Cr ₂ O ₇ verbraucht		1 ccm $\frac{1}{10}$ n K ₂ Cr ₂ O ₇ entspricht		Gefunden	
	99,35 $\frac{0}{100}$ Alk. in g	100 $\frac{0}{100}$ Alk. in g	100 $\frac{0}{100}$ Äther	Alkohol	Äther	Alkohol	Äther	g Alkohol	g Äther	Alkohol in g	Äther in g
12.	0,1307	0,1299	0,1465	1	1,12	112,9	155,6	0,00115	0,0009415	0,1271	0,1440
13.	0,0383	0,038	0,132	1	3,46	33,2	141,6	0,00114	0,0009321	0,0374	0,1311
14.	0,0303	0,030	0,082	1	2,76	26,3	88,3	0,00114	0,0009289	0,0296	0,0817
15.	0,1725	0,1714	0,2623	1	1,52	152,6	288	0,001124	0,0009109	0,1718	0,2666
16.	0,0778	0,0773	0,219	1	2,81	68,1	240	0,001135	0,0009125	0,0767	0,2221
17.	0,0226	0,0224	0,1092	1	4,85	19,95	118	0,001123	0,0009255	0,0225	0,1092
18.	0,0263	0,0261	0,2349	1	8,89	23,3	263	0,00112	0,0008952	0,0262	0,2434
19.	0,2345	0,233	0,0653	1	0,28	203,2	69	0,001146	0,0009174	0,2285	0,0639
20.	0,0799	0,0793	0,0858	1	1,08	70	91,2	0,001133	0,0009407	0,0788	0,0844

Die gefundenen Zahlen sind an Genauigkeit denen der in Tabelle 1 und 2 angeführten ähnlich.

In der angeführten Weise können Alkohol- und Ätherdämpfe in der Luft mit der Abänderung bestimmt werden, daß Kolben a und der Trockenturm entfernt werden und das zu untersuchende Gasgemisch so lange durch eine vorgestellte Gasuhr oder sonstiges Meßinstrument angesaugt wird, bis sich die Flüssigkeit im Rohr II tiefbraun färbt. Sodann müssen die in Rohr I absorbierten Ätherdämpfe mittels erneuten Ansaugens (diesmal mit alkohol- und ätherfreier trockener Luft oder Kohlendioxyd) in Rohr II überführt werden.

Wie erwähnt, dauert die Austreibung des Äthers aus Rohr I drei Stunden lang. Die unangenehme Länge dieser Operation konnte trotz wiederholter Versuche nicht verkürzt werden.

Zu bemerken wäre, daß die Änderung der Flüssigkeitsvolumina infolge Absorption in Rohr I und II als unbedeutend vernachlässigt wurde. Die Ansauggeschwindigkeit wird jedesmal so eingestellt, daß die aufsteigenden Gasblasen noch leicht zählbar sind.

Zusammenfassung.

1. Es wurden die Umstände einer quantitativen Almenge kann durch eine Bichromatlösung von bestimmter Konzentration ermittelt.

2. Diese in der Schwefelsäure absorbierte Alkoholmenge kann durch eine Bichromatlösung von bestimmter Konzentration quantitativ oxydiert werden.

3. Durch ein ferner beschriebenes Gemisch von Bichromat- und Schwefelsäurelösung wurde Äther sofort vollkommen oxydiert.

4. Somit kann Alkohol und Äther — nebeneinander — auf dem angegebenen maßanalytischen Wege bestimmt werden. [A. 219.]

Ein neues Reagens zum Nachweis der Peroxydase in der Milch.

Von Dr. P. BORINSKI.

Aus dem chemischen Institut des Hauptgesundheitsamtes der Stadt Berlin.

(Eingeg. 11. Nov. 1925.)

Zum Nachweis der Oxydasen oder Peroxydasen sind eine ganze Reihe von Farbenreaktionen bekannt, die auf der Fähigkeit der genannten Fermente beruhen, Sauerstoff auf leicht oxydierbare Reagenzien zu übertragen, die sich hierbei mehr oder minder stark färben. Auf die Frage, ob zwischen Oxydasen und Peroxydasen ein grundsätzlicher oder nur ein quantitativer Unterschied besteht, soll hier nicht eingegangen werden. Es ist dies um so weniger notwendig, als für praktische Zwecke dieser Unterschied ziemlich belanglos ist, weil in den natürlichen Substraten, wie z. B. in der Milch, meist beide Fermente nebeneinander nachgewiesen

werden. Die bekanntesten der für diese Reaktionen gebrauchten Stoffe sind: Guajakol, p-Phenylendiamin, Ursool D, Dimethyl- und Tetramethyl-p-phenylendiamin, Benzidin, p-Aminophenol, Kreosot und neben diesen chemisch einheitlichen Stoffen ein nicht einheitliches, weniger gut definiertes Reagens, die Guajak tinktur. Bei dieser handelt es sich um das älteste, wahrscheinlich zufällig aufgefundene Oxydasenreagens. Nach Fleischmann¹⁾ ist es bereits seit 1843 bekannt, daß Guajak tinktur ungekochte Milch blau färbt, und der Vorschlag von Arnold²⁾, diese Eigenschaft zur Unterscheidung von gekochter und ungekochter Milch zu benutzen, stammt schon aus dem Jahre 1882. Auch heute liegt die praktische Bedeutung der Oxydasenreaktion hauptsächlich in der Möglichkeit, mit ihrer Hilfe hocherhitzte Milch von unerhitzter oder niedrigerhitzter zu unterscheiden. Die aus wirtschaftlichen und hygienischen Gründen immer größer werdende Verbreitung des Pasteurisierungsverfahrens in der Milchwirtschaft hat diese Bedeutung noch erhöht. Obwohl nun der Chemiker stets geneigt sein wird, bei Ausführung einer Reaktion möglichst mit chemisch einheitlichen Substanzen zu arbeiten, wie sie für die Prüfung der Milch auf Erhitzung in den Reagenzien von Storch³⁾ und von Rothenfusser⁴⁾ vorliegen, haben diese zum mindesten in milchwirtschaftlichen Betrieben die alte Guajak tinktur nicht verdrängen können. Der wesentlichste Grund hierfür ist zweifellos die Annehmlichkeit, mit einer Lösung zu arbeiten, statt wie bei den genannten Verfahren zwei anwenden zu müssen. Da, wo es sich um eine möglichst rasche Untersuchung zahlreicher Milchproben handelt, wie etwa bei der Prüfung einer größeren Milchsendung auf der Bahnrampe oder in der Meierei, spielt dieser Umstand natürlich eine wesentliche Rolle. Es kommt hinzu, daß die die Prüfung anstellenden Personen in den meisten Fällen Laien oder Halblaien sind, für die die einfachste Arbeitsweise auch die zweckmäßigste ist.

Als wir daher im Laufe der letzten Jahre gezwungen waren, im größten Umfange Milch daraufhin zu untersuchen, ob sie einwandfrei pasteurisiert war, haben wir für diese Zwecke die Guajakreaktion verwenden wollen, soweit es sich um hocherhitzte Milch handelte. Wir mußten aber bald die alte Erfahrung bestätigen, daß die Guajak tinktur ein sehr unzuverlässiges Reagens ist. Es besteht ja darüber eine ausgedehnte Literatur, auf die hier nicht näher eingegangen werden soll. Schon die Verschiedenheiten der vielen Vorschriften, die zur Herstellung der Tinktur angegeben worden sind, zeigen, daß hier ein Bedürfnis nach Verbesserung besteht. Die einen

¹⁾ Fleischmann, Lehrb. d. Milchwirtsch. 1920. S. 137.

²⁾ Arnold, Z. analyt. Ch. 1822, S. 285.

³⁾ Storch, Z. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel, 1899. S. 239.

⁴⁾ Rothenfusser, Z. f. Nahrungs- u. Genußmittel, 1903.

Autoren empfehlen einen alkoholischen Auszug aus Guajakholz herzustellen, andere schreiben eine alkoholische Guajakharzlösung vor, wieder andere lassen an Stelle von Alkohol Aceton verwenden. Ebenso widerspruchsvoll lauten die Angaben über die Zeit, die eine Guajak-tinktur braucht, um wirksam zu werden. So wird einerseits frisch hergestellte Tinktur empfohlen, andererseits schwanken die Zeitangaben von drei Tagen bis zu vielen Monaten. Vorsichtige Autoren geben einfach an, die Tinktur solle wirksam sein, und enthalten sich aller näheren Angaben, wie man dieses Ziel erreicht. Und das mit Recht, denn unsere Erfahrungen haben gezeigt, daß keine der bekannten Vorschriften die unbedingte Gewähr für eine zuverlässig wirksame Tinktur bietet. Zahlreiche Versuche, die mit verschiedenen Harzsorten angestellt wurden, haben das bestätigt. Tinkturen, die durch Lösen von Guajakharz in Alkohol, wie solche, die durch Extraktion von Guajakholz mit Alkohol hergestellt worden waren, brauchten sehr verschiedene Zeiten, die zwischen wenigen Tagen und vielen Monaten schwankten, um aktiv zu werden. Auch die Haltbarkeit der einmal wirksam gewordenen Tinkturen erwies sich durchaus nicht als konstant. So hatte eine 1%ige Guajakharzlösung, die nach 8 Wochen langem Stehen aktiv geworden war, fünf Tage später ihre Wirksamkeit wieder völlig eingebüßt.

In der Praxis wirken sich diese Verhältnisse äußerst unangenehm aus, denn man kann niemals mit Sicherheit darauf rechnen, ein brauchbares Reagens zur Verfügung zu haben. Die im Laboratoriumsbetrieb sehr gut brauchbaren Reagenzien von *Rothenfusser* oder von *Storch* kommen aus den oben angeführten Gründen hier nicht in Frage. Für die vorstehenden Zwecke, d. h. für Massenuntersuchungen durch chemisch nicht durchgebildetes Personal, das überdies unter ungünstigen Bedingungen, wie schlechter Beleuchtung und sehr rasch arbeiten mußte, war nur ein Reagens brauchbar, das aus einer Lösung bestand und starke Farbumschläge gab, d. h. nicht als Ringprobe angewendet werden mußte. Wichtig war ferner eine zuverlässige Herstellungsart, die frei von allen Zufälligkeiten und unberechenbaren Faktoren war, so daß jederzeit eine genügende Menge des Reagens, dessen Verbrauch sehr schwankte, hergestellt werden konnte.

Eine große Reihe von Versuchen hat schließlich zu dem erstrebten Ziel geführt. Es wurde ein einfaches Verfahren gefunden, nach dem sich in kürzester Zeit (in ca. einer Stunde) mit vollkommener Sicherheit ein Reagens herstellen läßt, das den oben gestellten Anforderungen genügt. Die Vorschrift lautet:

0,85 g Guajakharz werden fein zerrieben und in 85 Teilen 70%igem Alkohol unter Schütteln gelöst. Die Lösung des Harzes ist in etwa $\frac{1}{2}$ —1 Stunde erfolgt. Zu dieser Lösung werden 10 ccm verflüssigte Carbonsäure (*Acid. carbol. lique fact.*) und 5 ccm 3%iges Wasserstoffsuperoxyd hinzugefügt.

Das so hergestellte Reagens, das nach der angegebenen Zusammensetzung ein Peroxydase-reagens darstellt, ist unmittelbar nach der Herstellung gebrauchsfertig. Zehn Tropfen desselben geben mit 5 ccm roher Milch beim Umschütteln eine lebhaft blaue Farbe, die sich etwa eine Viertelstunde hält, um dann allmählich zu verblasen. Das Reagens selbst ist für praktische Zwecke genügend haltbar. Eine genaue Haltbarkeitsdauer läßt sich allerdings nicht angeben, weil diese innerhalb verhältnismäßig weiter Grenzen schwankt. Meist hält sich die Lösung 3—4 Wochen, manchmal erheblich länger, mitunter aber nur kürzere Zeit. Eine kürzere Lebensdauer

als 8 Tage haben wir bisher nie feststellen können. Versuche, die Haltbarkeit des fertigen Reagens zu erhöhen, sind noch im Gange. Bis diese zu einem Erfolg geführt haben, kann man zweckmäßig so verfahren, daß man eine Guajaklösung vorrätig hält und sich das für etwa eine Woche benötigte Reagensquantum jedesmal frisch mischt. Doch braucht man zur vollständigen Fertigstellung des Reagens einschließlich Herstellung der Guajaklösung, wie bereits gesagt, auch nicht mehr als eine Stunde. Es sei übrigens noch erwähnt, daß das einmal unbrauchbar gewordene Reagens sich weder durch erneuten Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd noch von Phenol wieder regenerieren läßt. Wahrscheinlich ist die Haltbarkeit von zufälligen Verunreinigungen abhängig, die zersetzend auf das Wasserstoffsuperoxyd einwirken. Im Laufe einer etwa $1\frac{1}{2}$ jährigen Praxis, in welcher einige 50 l des neuen Reagens verbraucht wurden, hat sich dasselbe sehr gut bewährt.

Es sei noch kurz über Versuche berichtet, durch welche die Temperaturgrenze festgestellt werden sollte, bei welcher die mittels des neuen Reagens nachgewiesenen Enzyme zerstört werden.

Zu diesem Zwecke wurden mit je 5 ccm roher Milch beschickte Reagensröhrchen in ein Wasserbad von bestimmter Temperatur gebracht. Nachdem die Milch die Temperatur des Wasserbades erreicht hatte, blieben die Röhrchen 1, 2, 3, 5, 10, 15, 20 und 30 Minuten in diesem stehen, wurden nach Ablauf der Zeit rasch abgekühlt und mit zehn Tropfen des Reagens versetzt. Die Ergebnisse der Versuche, die einigemal wiederholt wurden, finden sich in nachstehender Tabelle.

Dauer der Erhitzung in Minuten:

Temperatur	1	2	3	5	10	15	20	30
63°	+	+	+	+	+	+	+	+
70°	+	+	+	+	+	+	+	—
75°	—	—	—	—	—	—	—	—
85°	—	—	—	—	—	—	—	—

+ bedeutet gefärbt, — bedeutet farblos.

Diese Versuche bestätigen im wesentlichen das bereits bisher über die Hitzebeständigkeit der Peroxydase bekannte. Das Ausbleiben der Färbung bei Milch, die einen sogenannten Momenterhitzer passiert hat, bei dem die Durchlaufzeit in der Regel zwei Minuten beträgt, zeigt an, daß mindestens eine Erhitzung auf 75° stattgefunden hat. Das Auftreten der Blaufärbung ist ein absolut sicheres Zeichen, daß diese Temperatur nicht durchweg erreicht worden ist. Es ist selbstverständlich, daß eine positive Reaktion auch dann eintritt, wenn genügend erhitzte Milch mit ungenügend oder nicht erhitzter Milch gemischt wird, doch muß die Menge der letzteren immerhin schon ziemlich erheblich sein. So zeigte eine Mischung von 96 Teilen erhitzter Milch und 4 Teilen roher Milch eine negative Reaktion. Diese wurde erst positiv, wenn 10 Teile roher Milch mit 90 Teilen erhitzter Milch gemischt wurden. *Rothenfusser* (l. c.) gibt an, daß mit Hilfe seines Reagens bereits ein Zusatz von 2 Teilen ungekochter Milch zu 98 Teilen gekochter Milch nachzuweisen wäre. Hiernach wäre sein Reagens in dieser Hinsicht empfindlicher als das von mir gefundene. Vergleichende Untersuchungen mit dem neuen Reagens von *Rothenfusser* ergaben sonst völlig gleichsinnige Ergebnisse.

Es sei schließlich noch erwähnt, daß auch schon früher Versuche gemacht worden sind, das Guajakreagens zu verbessern. So haben *Schern* und *Schellhase*⁵⁾ vorgeschlagen, der Guajak-tinktur Guajakol zu-

⁵⁾ *Schern u. Schellhase*, Berl. Tierärztl. Wochenschr. 1908, 732; 1912, 211.

zusetzen. Dieser Zusatz hat sich insofern bewährt, als sehr schwach reagierende Tinkturen aktiviert werden und kräftige Blaufärbungen geben. Dagegen gelingt es durch den Guajakolzusatz nicht, eine Tinktur unmittelbar nach ihrer Herstellung gebrauchsfähig zu machen. Sie bedarf hierzu erst einer gewissen unbestimmten Zeit, ein Umstand, der wiederum ein unsicheres Moment darstellt. Setzt man dagegen Wasserstoffsuperoxyd zu der Guajak-Guajakollösung zu, so gelangt man auf diesem Wege gleichfalls zu einer sofort brauchbaren Tinktur. An Stelle von Phenol und Guajakol kann schließlich auch Kresol (Cresol. crudum oder Tricresol Schering) verwendet werden. Doch war bei Anwendung des letzteren die Haltbarkeit der Lösung manchmal sehr kurz. Versuche mit anderen Phenolabkömmlingen wie Resorcin, Phloroglucin, Naphthol, Pyrogallol, Salicylsäure usw. führten zu negativen Ergebnissen, so daß man annehmen muß, daß es sich bei der Aktivierung der Guajaklösung durch die oben angegebenen Stoffe nicht um Gruppeneigenschaften, sondern um spezifische Wirkung handelt.

Das neue Reagens ist, abgesehen von seiner Verwendbarkeit in der Milchuntersuchung, auch für andere Zwecke, für die bisher Guajak-tinktur benutzt wurde, brauchbar. So hat es sich zum Nachweis von Blut gut bewährt. Der Zusatz von altem Terpentinöl, der meist empfohlen wird, erübrigt sich sodann.

Zusammenfassung.

Es wird ein neues Peroxydasenreagens angegeben, das unter Verwendung von Guajakharz hergestellt wird. Es besitzt den Vorzug, daß es nur aus einer Lösung besteht, einfach und rasch herstellbar und unmittelbar nach der Herstellung sicher wirksam ist [A. 216.]

Neue Apparate.

Über ein bewährtes, mit Dampf von etwa 120° beheiztes Wasserbad.

Von G. Giemsa.

Chemische Abteilung des tropenhygienischen Instituts Hamburg.
(Eingeg. 20. Dez. 1925.)

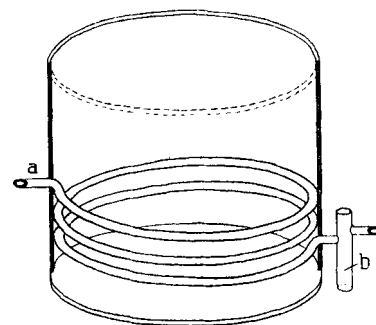
Im Abderhaldenschen „Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden“ ist kürzlich (1925, Lief. 178) eine Abhandlung von Flury über „Verhütung von Laboratoriumsunfällen“ erschienen, in der unter anderem auch auf die Feuergefahr hingewiesen wird, die beim Erhitzen von flüchtigen leichtentzündlichen Substanzen auf mit offenen Flammen beheizten Wasser- oder Dampfbädern vorhanden ist. Um ihr zu begegnen, werden dort entweder elektrische Heizvorrichtungen empfohlen oder Flammen, die nach dem Prinzip der Davyschen Sicherheitslampen mit einem engmaschigen Drahtmantel umgeben sind.

Ganz beseitigt ist indessen die Feuergefahr auch bei diesen Vorrichtungen nicht. Mit Recht weist Flury darauf hin, daß bei den elektrischen Apparaten eine Funkenbildung nicht ganz ausgeschlossen sein dürfte. Auch bei den Davy-Brennern ist¹⁾ sorgsam auf verschiedene Punkte zu achten, wenn sie einen einigermaßen sicheren Schutz bieten sollen. Die vielfach angewandte Methode, den Dampf abseits der Verwendungsstelle in den bekannten kleineren Dampfentwicklungsapparaten zu erzeugen, erfüllt diesen Zweck gleichfalls nur unvollkommen, denn dieser Dampf besitzt nur eine Temperatur von 100°, kondensiert leicht in den Röhren und macht es daher notwendig, daß die Entfernung von Erzeugungs- und Verwendungsstelle eine gewisse Grenze nicht überschreitet.

In nachstehendem soll auf ein nach meinen Angaben von F. u. M. Lautenschläger, Berlin N 39, Chausseestraße 92, erbautes und in dem Prospekt der Firma abgebildetes Wasserbad hingewiesen werden, das seit 11 Jahren in nahezu sämt-

lichen Laboratorien unseres Institutes eingeführt ist, sich dort bestens bewährt hat und die oben erwähnten Gefahrenmomente ganz ausschaltet. Beheizt werden die Bäder durch einen Dampf, der an der Verwendungsstelle einen Überdruck von etwa einer Atmosphäre besitzt und von einem im Kellergeschoß aufgestellten mit Koks geheizten Kessel geliefert wird. Um letzteren nicht zu groß zu gestalten, trotzdem aber auch bei größter Inanspruchnahme einen ungestörten Betrieb zu sichern, wird der Dampf dort auf 3–4 Atmosphären gehalten und erst im Hauptableitungsrohr durch ein Reduzierventil auf einen Druck von etwa 1,2 Atmosphären gebracht. Mit Hilfe kleiner Manometer, die an den Zuleitungsröhren der einzelnen Laboratorien angebracht sind, läßt sich der Dampfdruck auch dort leicht kontrollieren.

Das Wasserbad selbst (s. Abb.) enthält eine an der vertikalen Innenwand liegende Heizschlange, deren oberes Ende (a) an das mit einem Ventil versehene Dampfzuleitungsrohr mittels Gummischlauches (mit Stoffeinslage) und Metallklammern angeschlossen wird. An dem Ableitungsrohr befindet sich ein kleiner metallener Kondensstopf (b), durch welchen vermieden wird, daß der Dampf ungehindert in die Abflusleitung entweicht und zu schnell entspannt wird.



Das Kondenswasser wird mittels eines Gummischlauches dem Abflußrohr und durch dieses wieder dem Heizraum bzw. dem Kessel zugeführt. Eine am Wasserbade angebrachte mit Überlauf versehene Reguliervorrichtung sorgt für ein konstantes Niveau des Wassers. Wasserbad, Heizspirale, Zu- und Abflusleitungen sind aus Kupfer gefertigt.

Nach Anstellen des Apparates wird ein Wasser von Zimmertemperatur in wenigen Minuten zum Sieden gebracht, und mit Hilfe des Ventils läßt sich die Intensität der Dampfentwicklung leicht regulieren. Die einzelnen Dampfzuleitungsrohre münden oberhalb der Wasserbäder. Hierdurch läßt sich ein zu tiefes Lagern der Schläuche leicht vermeiden, wodurch erzielt wird, daß das Kondenswasser, das sich dort während des Arbeitens bildet, frei ablaufen kann und kein „Stoßen“ verursacht. Wählt man längere Zu- und Abflusleitungen, so kann man den Standort der Bäder beliebig wechseln.

Wird das Wasser aus dem Topf entfernt, und sodann Dampf durch die Heizschlange geschickt, so läßt sich der Apparat auch als Heißluftbad verwenden. Nach Umschaltung des Zuleitungsschlauches kann man den Dampf ferner vorzüglich zur gefahrlosen Beheizung von Dampftrichtern und zur Dampfdestillation benutzen.

Die hier vorhandenen Wasserbäder besitzen einen Durchmesser von 24 cm und eine Höhe von 15 cm. Nach demselben Prinzip lassen sich aber auch Bäder beliebiger anderer Dimensionen, dergleichen solche mit mehreren Abdampfstellen anfertigen.

Die überaus große Sicherheit und Bequemlichkeit, die solche zentral angelegte Dampfentwicklungsanlagen in Verbindung mit den erwähnten Laboratoriumsapparaten beim Arbeiten mit leichtflüchtigen und leichtentzündlichen Substanzen bieten, läßt es angezeigt erscheinen, die Aufmerksamkeit der Fachgenossen auf diese bewährten Einrichtungen zu lenken.

Richtigstellung.

In dem Aufsatz: Über das chemische Laboratorium der ehemaligen Nürnbergischen Universität in Altdorf, von F. Heinrich, Erlangen, ist auf S. 93 linke Spalte der Name Stromeyer fälschlich mit h geschrieben; er lautet richtig: Stromeyer. — Ferner lautet der 2. Satz im 2. Abschnitt linke Spalte richtig: So wurde an der 1806 aufgehobenen Universität in Altdorf bei Nürnberg 1863 ein chemisches Universitätslaboratorium eröffnet, das überaus reich ausgestattet war und praktischen Unterricht in einer Art vermittelte, die durchaus auf der Höhe der Zeit stand.

¹⁾ Siehe Steinkopf in Houben-Weil, 2. Aufl. 1. Bd., S. 305.