

## Mittheilungen.

396. L. Geret und M. Hahn: Weitere Mittheilungen über das im Hefepresssaft enthaltene proteolytische Enzym.

(Eingegangen am 15. August.)

Das proteolytische Enzym des Hefepresssaftes<sup>1)</sup> hat sich in weiteren Versuchen als ein sehr wirksames Ferment erwiesen. Nicht nur, dass es, wie früher dargelegt wurde, in 6–8 Tagen das coagulirbare Eiweiss des Hefepresssaftes selbst zersetzt, auch weitere Mengen zugesetzter verschiedener Eiweisskörper werden zerlegt. So wurde in einem Versuche zu 10 ccm frischem Hefepresssaft noch coagulirtes Eiweiss aus dem gleichen Presssaft gegeben und auch dieses in 12 Tagen fast vollständig zerlegt<sup>2)</sup>.

Tabelle I.

	Coagulat vor der Verdauung	Coagulat nach 12-tägiger Verdauung
10 ccm Presssaft + Coagulat aus 20 ccm Presssaft . . . . .	18 pCt.	1.45 pCt.
10 ccm Presssaft + 1 g trocknem Coagulat . . . . .	16 "	1.40

Zugesetzte Fibrinflocken werden von dem Presssaft fast völlig gelöst und ebenso Eieralbuminlösung zerlegt. Zu 20 ccm Presssaft mit 5.2 pCt. Coagulat wurden 20 ccm Eieralbuminlösung, die 3.5 pCt. coagulirbares Eiweiss enthielt, gegeben, sodass die Menge des Coagulates in der Mischung im Ganzen 4.35 pCt. betrug. Nach 3 Tagen wurden nur noch 2.2 pCt. Coagulat, nach 6 Tagen nur noch 1.38 pCt. gefunden. Da die Menge des coagulirbaren Hefeiweisses nur 2.6 pCt. betrug, aber im Ganzen 2.97 pCt. verdaut waren, muss 0.37 pCt. Eiereiweiss zerlegt worden sein, oder 21 pCt. der zugesetzten Eiweissmenge. Schon in der ersten Mittheilung war darauf hingewiesen worden, dass Albumosen während des ganzen Spaltungsprozesses nur vorübergehend auftreten und echtes Pepton garnicht nachzuweisen ist. Wenn man nach einstündiger Digestion den Presssaft coagulirt, so sind im Filtrate bereits Leucin und Tyrosin mikro-

<sup>1)</sup> Diese Berichte 31, 200ff.

<sup>2)</sup> Selbstverständlich wurden auch sämmtliche in dieser Arbeit angeführten Versuche unter aseptischen bzw. antiseptischen Cautelen ausgeführt.

skopisch nachweisbar, dagegen kein echtes Pepton und nur Spuren von Albumosen. In Uebereinstimmung mit dieser schnellen und tief greifenden Spaltung steht das Auftreten der Tryptophanreaction (mit Chlor- bzw. Brom-Wasser), die im frischen Presssaft negativ ausfällt, dagegen im digerirten Hefeplasmin schon nach 14 Stunden sehr deutlich erhalten werden kann, ebenso in 6 und 9 Wochen alten Proben. Setzte man dem Hefeplasmin Pepton (puriss. Grübler) oder Albumose (aus Fibrin dargestellt) zu, im Verhältniss von 2 pCt., so verschwand die anfangs stark vorhandene Biuretreaction nach 3 Tagen völlig.

Um von der Vertheilung des Stickstoffs auf die verschiedenen Producte der Verdauung eine Vorstellung zu gewinnen, wurde die Fällung mit Phosphorwolframsäure angewandt: Durch die Phosphorwolframsäure werden bekanntlich die stickstoffhaltigen Basen gefällt, die Amidosäuren dagegen nicht. 50 ccm Presssaft wurden, mit Wasser verdünnt, coagulirt und die Mischung zu 250 ccm aufgefüllt. Vom Filtrate wurden 50 ccm zur directen Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl verwandt, 50 ccm dagegen mit einem Ueberschuss von Phosphorwolframsäure, die mit Schwefelsäure versetzt war, gefällt. Nach 20 Stunden wurde abfiltrirt, der Niederschlag mit verdünnter Schwefelsäure gewaschen und sodann zur Stickstoffbestimmung gleichfalls nach Kjeldahl verbrannt. Der Niederschlag enthielt die stickstoffhaltigen Basen, die Differenz zwischen dem Stickstoffgehalt des Gesammtfiltrates und demjenigen des Niederschlages ist auf die Amidosäuren zu beziehen.

Tabelle II.  
Gesammt-N = 1.308 pCt. des Presssaftes.

Datum	Filtrat-N		P Wo-Fällung = Basen-N		Differenz = Säuren-N	
	pCt. des Saftes	pCt. des Gesammt-N	pCt. des Saftes	pCt. des Filtrat-N	pCt. des Saftes	pCt. des Filtrat-N
7./3.	0.434	33.3	0.141	32.4	0.293	67.6
8./3.	1.117	85.8	0.447	40.0	0.670	60.0
9./3.	1.292	99.2	0.473	36.3	0.819	63.7
10./3.	1.304	100	0.451	34.6	0.853	65.4
21./3.	1.302	100	0.433	33.2	0.869	66.8
22./4.	1.300	100	0.341	26.2	0.959	73.8

Bemerkenswerth ist in dieser Tabelle, dass anfänglich die Menge der stickstoffhaltigen Basen ansteigt, später aber wieder sinkt und schliesslich nach zwei Wochen das Verhältniss des Amidosäuren-Stickstoffs zum Basenstickstoff das gleiche ist, wie zu Beginn des Versuches. Für diese Erscheinung kann das Verhalten der Xanthinkörper nicht zur Erklärung herangezogen werden: denn ihre Menge ist zu gering, um den Gesammtwerth des in den Basen enthaltenen

Stickstoffs wesentlich zu beeinflussen, und der Xanthinwerth bleibt auch, wie die weiter unten folgenden Versuche zeigen, nach längerer Digestion constant.

Vor Kurzem hat H. Will<sup>1)</sup> auf Grund eingehender Versuche die Behauptung aufgestellt, dass die Proteolyse der lebenden Hefezellen neben dem Mangel an gelöster Nahrung überhaupt, speciell auch an stickstoffhaltiger, durch den Sauerstoffmangel begünstigt werde. Es erschien unter diesen Umständen nothwendig, auch den Einfluss der Luft auf die Proteolyse festzustellen, um zu erfahren, ob ein reichlicher Luftzutritt die Thätigkeit des Fermentes hindernd beeinflusst. Es wurden im Allgemeinen drei Proben angesetzt: die eine wurde ohne Gasdurchleitung bei 37° digerirt (Controlle); durch die zweite wurde während der Digestion bei gleicher Temperatur Luft geleitet, durch die dritte Wasserstoff. Die Menge der durchgeleiteten Gase war annähernd gleich: Bei Versuch I betrug sie 12 Liter auf 12 Stunden vertheilt, bei Versuch III wurden 20 Liter in der ersten Stunde und 20 Liter auf die folgenden 23 Stunden vertheilt, durchgeleitet.

Tabelle III.  
Versuch I (Coagulat in Procenten des Presssaftes).

Probe	frisch	nach 12-stündiger Digestion
1. Controle . . . . .	5.2	2.77
2. bei Luftdurchleitung . . . . .	5.2	2.03
3. bei Wasserstoffdurchleitung . . . . .	5.2	2.44

Versuch II.

1. mit Luftdurchleitung nach 21 Stunden 0.55 pCt. Coagulat.  
2. » Wasserstoffdurchleitung » 21 » 0.87 »

Versuch III (Coagulat in Procenten des Presssaftes).

Probe	frisch	nach 24-stündiger Digestion
1. Controle . . . . .	7.05	1.175
2. mit Luftdurchleitung . . . . .	7.05	1.915
3. mit Wasserstoffdurchleitung . . . . .	7.05	2.435

Wie ersichtlich, hat der Sauerstoffzutritt eher fördernd auf den Ablauf der Proteolyse eingewirkt: Das Coagulat ist nach 12—24 Stunden in den mit Luft behandelten Proben immer geringer, als in den mit Wasserstoff behandelten, in einem Falle, wo allerdings die Temperatur um einige Grade höher gestiegen war, auch geringer, als

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen 21 (1898).

in der Controllprobe. Demnach ist also jedenfalls für das einmal vorhandene Ferment die Einwirkung des Sauerstoffs belanglos. Die Will'sche Hypothese bezieht sich aber auf die Hefezelle selbst, und es ist die Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen, dass die Hefe bei reichlichem Luftzutritt weniger oder gar kein verdauendes Ferment bildet. Einen Hinweis darauf gab das Resultat eines Versuches, der mit Presssaft aus Hefereincultur angestellt wurde: hier war nach 48-stündiger Digestion die Menge des Coagulats von 2.81 pCt. nur auf 1.93 pCt. gesunken, also die Proteolyse nicht so ausgesprochen, wie bei dem Presssaft aus gewöhnlicher untergähriger Hefe. Man könnte aber auch annehmen, dass bei Sauerstoffmangel einzelne, wenn auch durchaus nicht alle, Hefezellen zu Grunde gehen, welche bei ihrem Absterben das proteolytische Ferment aussondern und so die umgebende Gelatine verflüssigen. Sehr bemerkenswerth ist das Verhalten der Xanthinkörper im frischen und verdauten Presssaft. Schon Salkowski hatte die Beobachtung gemacht, dass sich die Xanthinkörper in den Filtraten solcher Hefe, die vor der Digestion sterilisirt war und nachher mit Chloroformwasser längere Zeit digerirt wurde, nicht direct mit ammoniakalischer Silberlösung fällen liessen, während in denjenigen Hefeproben, die zuerst mit Chloroformwasser längere Zeit digerirt und dann erst gekocht wurden, die Xanthinkörper manifest, d. h. direct durch Silberlösung fällbar waren. In den sofort sterilisirten Proben konnten aber die Xanthinkörper der Silberfällung zugänglich gemacht werden, wenn die Lösung mit 1 pCt. Schwefelsäure 1 Stunde lang gekocht wurde. Sie waren also, wie Salkowski sagt, in latenter Form vorhanden. Ein ähnliches Verhalten zeigten die Xanthinkörper im verdauten Presssaft. Zum Nachweise und zur Bestimmung wurden 40 ccm Presssaft coagulirt und auf 100 ccm aufgefüllt. Davon wurden 50 ccm mit Ammoniak versetzt, der Niederschlag nach 24 Stunden abfiltrirt und das Filtrat mit 3 proc. ammoniakalischer Silberlösung im Ueberschusse versetzt. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltrirt, mit verdünntem Ammoniak gewaschen, getrocknet, verascht und in Salpetersäure gelöst. Der Silbergehalt dieser Lösung wurde durch Titration mit Rhodanammoniumlösung ermittelt und auf Hypoxanthin berechnet. Verfährt man mit dem frischen Presssaft in dieser Weise, so erhält man gar keinen Silberniederschlag und auch nach dem Kochen mit Schwefelsäure treten nur Spuren eines Silberniederschlages auf. Aber auch der längere Zeit mit Chloroform digerirte, also verdaute Presssaft giebt, direct mit ammoniakalischer Silberlösung versetzt, keinen wägbaren Niederschlag, sondern erst nach dem Kochen mit Schwefelsäure. Der Niederschlag variiert in seiner Quantität und entspricht 30—60 mg Hypoxanthin pro 100 ccm. So wurden in einem 11 Tage lang digerirten Presssaft 56 mg pro 100 ccm Presssaft ermittelt, in einem

3 Wochen alten 63 mg, in einem 6 Wochen alten 40 g. Sehr auffallend war es daher, als in einer Probe des Presssaftes schon nach 1-tägiger Digestion 41 mg Hypoxanthin pro 100 ccm direct. ohne Kochen mit Schwefelsäure, fällbar waren.

Tabelle IV.

Zeit der Digestion	mg Hypoxanthin pro 100 ccm
1 Tag	0.0414
3 Tage	0.0728
7 Tage	0.0675
5 Wochen	0.1092

Es hatte dieser Presssaft eine starke Selbstgährung gezeigt. Von der Annahme ausgehend, dass hier weniger der chemische Einfluss der Gährung oder der entstandenen Kohlensäure, als vielmehr die mechanische Wirkung der aufsteigenden Gasblasen in Betracht kommen könne, haben wir Luft und Wasserstoff 24 Stunden durch 2 Proben geleitet und sie dann, als die Xanthinreaction noch negativ ausfiel, 14 Tage lang bei 37° digerirt, während eine dritte Probe zunächst 14 Tage lang bei 37° digerirt und dann erst mit Luft bezw. Wasserstoff behandelt wurde; jede der Proben, auch die Controlle, wurde außerdem zur Hälfte vor der Fällung mit 1 proc. Schwefelsäure gekocht.

Der Versuch ergab pro 100 ccm Presssaft folgende Mengen in mg Hypoxanthin, wobei die Resultate unter A durch directe Fällung, die unter B nach vorausgehendem Kochen mit Schwefelsäure erhalten waren:

Tabelle V.

	frisch		nach 24 Stunden		nach 14 Tagen	
	A	B	A	B	A	B
1. mit Luftpumpe	—	—	Spuren	Spuren	99	100
2. mit Wasserstoffpumpe	—	—	Spuren	Spuren	93	89
3. Controlle	—	—	—	—	30	96
4. Controlle mit nachträglicher Luftpumpe	—	—	—	—	30	96
5. Controlle mit nachträglicher Wasserstoffpumpe	—	—	—	—	26	96

Es ergiebt sich also, dass die der Digestion vorangehende Luft- und Wasserstoff-Durchleitung nicht vollkommen wie die Gährung gewirkt hat, da nach 24 Stunden noch keine wägbaren Hypoxanthinmengen vorhanden waren, dass sie aber den Prozess der Hypoxanthinabspaltung doch begünstigt haben muss, da nach 14 Tagen direct grosse Mengen von Hypoxanthinsilber fällbar waren. Die in der Controlprobe der Digestion erst folgende Luft- bzw. Wasserstoff-Durchleitung vermehrt die Menge der Xanthinkörper nicht mehr, erst nach dem Kochen mit Schwefelsäure gelingt es auch in diesen Proben, grössere Mengen der Xanthinkörper zu fällen. Eine ähnliche Wirkung, wie die Gasdurchleitung scheint auch starkes Schütteln bezüglich der Abspaltung der Xanthinkörper zu haben. Je 40 ccm Hefepress-ast wurden in 2 Röhren gefüllt, die Röhren evaciirt, um den Einfluss der Luft beim Schütteln auszuschliessen und zugeschmolzen. Die eine Röhre wurde bei ca. 15° 12 Stunden geschüttelt, die andere ohne Schütteln als Controlle bei gleicher Temperatur aufbewahrt. Darauf wurden beide 7 Tage bei 37° digerirt.

Tabelle VI.  
mg Hypoxanthin in 100 ccm.

	A	B
Geschüttelte Probe . . . . .	40	99
Controlprobe . . . . .	—	95

Es lässt sich wohl annehmen, dass bei längerer Dauer des Schüttelns die ganze Menge der Xanthinkörper in den manifesten Zustand (A) übergegangen wäre.

Eine Erklärung dieser Erscheinungen zu geben, ist schwierig. Mit Salkowski könnte man annehmen, dass die Latenz der Xanthinkörper auf der Gegenwart störender Substanzen beruht, die vielleicht unter dem mechanischen Einfluss der Gasdurchleitung den Angriffen des Fermentes eher zugänglich gemacht werden. Auch die andere Annahme von Salkowski, dass zunächst ein Zwischenproduct des Hypoxanthins auftritt, aus welchem erst durch die Säuren das Hypoxanthin abgespalten wird, ist zulässig, wenn sie auch nicht mit allen hier zu Tage tretenden Erscheinungen vereinbar ist.

Schon in der ersten Mittheilung wurde darauf hingewiesen, dass der grösste Theil des organisch gebundenen Phosphors bei der Digestion des Hefepresssaftes schon nach wenigen Stunden in Form von Phosphorsäure abgespalten wird. Bei den folgenden Versuchen wurde die Phosphorsäure nach einem Verfahren bestimmt, das sich

bezüglich der Enteiweissung an die Zuckerbestimmungsmethode anschloss, welche F. Schenck für das Blut angegeben hat:

Das einfache Kochen des Presssaftes oder die Fällung mit Alkohol gaben ungenaue Resultate für die Phosphorsäure. Das Schenck'sche Verfahren hat den Vorzug, dass die Entfernung des Eiweisses auf kaltem Wege, d. h. durch Fällung mit Quecksilberchlorid und Salzsäure geschieht und somit eine beim Erhitzen leicht mögliche Abspaltung von Phosphor aus Hefenuclein vermieden wird. 30 ccm Presssaft wurden auf 50 ccm mit Wasser verdünnt, dazu 50 ccm 2-prozentige Salzsäure und 50 ccm 5-prozentige Quecksilberchloridlösung gegeben. Das Filtrat wird durch Schwefelwasserstoff vom Quecksilber, durch Lufteinleiten vom Schwefelwasserstoff befreit. 100 ccm des Filtrates wurden mit Ammoniak übersättigt, mit Magnesiamischung die Phosphorsäure gefällt, der Niederschlag in Essigsäure gelöst und mit Uranylösung titriert.

Tabelle VII.  
 $P_2O_5$  in Procenten des Presssaftes.

Dauer	$P_2O_5$ in Procenten des Presssaftes	Dauer	Gesammt-P als $P_2O_5$ 0.600 <sup>2)</sup>
frisch	0.040	frisch	0.020
nach 12 Stunden	0.380	nach 1 Std. 10 Min	0.384
nach 4 Tagen	0.392	bei 39°	
nach 9 Tagen	0.400	nach 9 Tagen	0.506

  

Dauer	Gesammt-P als $P_2O_5$ 0.528 <sup>2)</sup>
frisch	0.024
nach 6 Stunden	0.360
nach 20 Stunden	0.416
nach 2 Tagen	0.412

Schon nach einer Stunde ist also  $\frac{2}{3}$  der gesammten Phosphormenge in der Lösung als Phosphorsäure vorhanden. Vollständig wird der organisch gebundene Phosphor, wie es scheint, überhaupt nicht in Phosphorsäure umgewandelt, sondern  $\frac{1}{5}$ — $\frac{1}{6}$  bleibt in organischer Bindung.

Mit demselben Verfahren der Enteiweissung wurde auch die Schwefelsäure bestimmt.

<sup>1)</sup> Pflüger's Archiv, Bd. 56 und 57.

<sup>2)</sup> Gesammt-Phosphor durch Veraschen mit  $Na_2CO_3$  und  $KNO_3$  bestimmt.

Tabelle VIII.  
SO<sub>3</sub> in Procenten des Presssaftes.

Versuch I.

Versuch II.

Digestion bei 37°	SO <sub>3</sub> in Procenten des Presssaftes	Digestion bei 37°	Gesammt-S 0.077 SO <sub>3</sub> <sup>1)</sup>
frisch	0.033	frisch	0.0225
nach 12 Stunden	0.050	nach 24 Stunden	0.0237
nach 2 Tagen	0.056	nach 3 Tagen	0.0267
nach 4 Tagen	0.060	nach 6 Wochen	0.0266
nach 9 Tagen	0.059		

Hiernach steigt die Menge der Schwefelsäure nur un wesentlich an und der organisch gebundene Schwefel geht jedenfalls nur zum kleinen Theil in Schwefelsäure über.

Als diagnostisches Hülfsmittel zur Erkennung von Fermenten war von Schär<sup>2)</sup> in Bestätigung früherer Versuche Schönbein's angegeben worden, dass Blausäure in Meugen von 1—2% eine hemmende Wirkung auf das katalytische Vermögen einiger Fermente ausübt. Dass die proteolytische Wirksamkeit der Fermente einer so starken Beeinflussung durch Blausäure nicht unterliegt, geht schon u. A. aus den Mitteilungen von Vines<sup>3)</sup> über das proteolytische Enzym von Nepenthes, einer insectenfressenden Pflanze, hervor, das noch in Gegenwart von 1 pCt. Blausäure verdaut. Auch das proteolytische Enzym des Hefepresssaftes wird durch 1 pCt. Blausäure in seiner Wirksamkeit nur geschwächt, aber nicht völlig gehemmt, und selbst diese Schwächung kann auf die Wirkung der Säure zurückgeführt werden. Während in einer Controlprobe ohne Blausäure nach 24-stündiger Digestion von 6.4 pCt. Coagulat nur noch 1.3 pCt. vorhanden waren, sank in einer zweiten Probe mit 1 pCt. Blausäure die Menge des Coagulates immerhin noch auf 2.44 pCt. und in einer dritten Probe, aus welcher die Blausäure durch Erwärmen und Luftdurchleiten völlig entfernt war, auf 1.23 pCt.

Das proteolytische Enzym des Hefepresssaftes kann durch die 8-fache Menge absoluten Alkohols mit dem Eiweiss zusammen aus gefällt werden. Der Alkoholniederschlag löst sich nur zum kleineren Theile wieder in Wasser. Ueberlässt man diese Lösung, die das proteolytische Enzym vollständig enthält, der Selbstverdauung für kürzere Zeit, so liegt die Möglichkeit vor, aus dieser verdauten Lösung noch kleinere Mengen des Fermentes in relativ reinem Zustande

<sup>1)</sup> Gesammt-Schwefel durch Veraschen mit Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> und KNO<sub>3</sub> bestimmt.

<sup>2)</sup> s. u. A. Festschrift, Zürich, Alb. Müller 1891.

<sup>3)</sup> Annales of botany 1897.

zu isoliren, da sich auch in digerirten Lösungen das Ferment noch 1—2 Wochen erhält.

Die schon in einer früheren Publication von dem Eiuen von uns<sup>1)</sup> angeführte Thatsache, dass auch die Plasmine anderer Mikroorganismen ein proteolytisches Enzym enthalten, konnte durch quantitative Versuche bestätigt werden. Es wurden drei Bacterienarten gewählt, von denen durch ihr Verhalten in der Cultur die Gegenwart eines proteolytischen Enzyms bisher nicht nachgewiesen werden konnte, und aus Massenculturen derselben ein Presssaft nach der für die Hefe benutzten Methode darstellt.

Coagulat in Procenten des Presssaftes.

1. Plasmin aus Tuberkelbacillen.

frisch	nach 2 Wochen	Digestion bei 37°	
		nach 4 Wochen	nach 7 Wochen
I. 0.86 pCt.	0.39 pCt.	—	—
II. 0.54 "	—	0.43 pCt.	—
III. 0.95 "	—	—	0.75 pCt.

Bei Versuch III wurde auch der Stickstoff des Filtrates nach dem Coaguliren bestimmt, und vor der Digestion 0.297 pCt. Stickstoff, nach derselben 0.455 pCt. Stickstoff gefunden. Die grössere Abnahme des Coagulats im Versuch I erklärt sich wohl dadurch, dass hier der Presssaft nur durch Papier, nicht durch Kieselguhrkerze filtrirt wurde, während in Versuch II und III die Kieselguhrfiltration die Menge des Enzyms oder derjenigen Stoffe, welche der Enzymwirkung zugänglich sind, verminderte.

2. Plasmin aus Typhusbacillen.

Vor der Digestion bei 37° . . . . . 0.26 pCt. Coagulat  
nach 8 Wochen . . . . . 0.145 " "

3. Plasmin aus Sarcina rosea.

Vor der Digestion bei 37° . . . . . 1.41 pCt. Coagulat  
nach 6 Tagen . . . . . 1.28 " "  
16 " . . . . . 1.25 " "

Auch in aus Lupinenkeimlingen hergestellten Pressäften konnte ein eiweisslösendes Enzym nachgewiesen werden und ebenso, in Uebereinstimmung mit früheren Versuchen Salkowski's, in einem Presssaft aus Leberzellen. Es scheint also in der That die Verbreitung der proteolytischen Enzyme in thierischen und pflanzlichen

<sup>1)</sup> M. Hahn, das proteolytische Enzym des Hefepresssaftes (diese Beiträge 31, 200).

Zellen eine bedeutend weitere zu sein, als man bisher angenommen hat, und es bleibt vor allem noch die Frage offen, wie es zu erklären ist, dass von einzelnen Zellen die Enzyme abgesondert werden, während sie von anderen im Innern zurückgehalten und erst nach Zertrümmerung der Zelle dem Nachweise zugänglich werden.

Hygienisches Institut der Universität München.

**397. Ossian Aschan: Zur Darstellung der Säureamide<sup>1)</sup>.**

(Eingegangen am 7. October 1898).

Amide organischer Säuren werden bekanntlich 1. entweder durch Destillation der Ammoniumsalze nach Dumas, 2. durch Behandlung der Ester mit Ammoniak (Methode von Liebig), oder 3. durch Einwirkung von Ammoniak oder Ammoniumcarbonat auf die Säurechloride (Methode von Liebig und Wöhler) dargestellt. Diese Methoden sind indess entweder zeitraubend, oder man erhält nach ihnen schlechte Ausbeuten, wie schon vor geraumer Zeit von competenter Seite<sup>2)</sup> hervorgehoben worden ist. Erfahrungen dieser Art führten Hofmann zur Ausarbeitung seines bekannten Verfahrens zur Darstellung von Fettsäureamiden, welches auf dem Erhitzen der Ammoniumsalze der betreffenden Säuren in zugeschmolzenen Röhren auf 230° beruht. Es giebt allerdings gute Ausbeuten, ist aber für Beschaffung grösserer Mengen recht unbequem.

Vor einiger Zeit mit Versuchen beschäftigt, zu welchen Säureamide als Ausgangsmaterial benutzt würden, war ich bemüht, ein Verfahren zu ihrer Darstellung von allgemeiner Anwendbarkeit auszuarbeiten, welches bessere Ausbeuten liefern und auch für die Bearbeitung grösserer Mengen geeignet sein würde. Da die Amide öfters gut krystallisierte Verbindungen sind, welche mit Vortheil zur Charakterisirung von flüssigen Säuren angewandt werden können, und ausserdem ein werthvolles Ausgangsmaterial für die Darstellung anderer Körperklassen, wie primärer Amine und Nitrile, liefern, hat eine ergiebige Darstellungsmethode allgemeineres Interesse. Ich erlaube mir deshalb, meine diesbezüglichen Erfahrungen mitztheilen.

Das Verfahren ist eine Modification der Methode von Liebig und Wöhler, die oben mit 3. bezeichnet wurde. Von derselben sagt Hofmann in der citirten Arbeit: »Handelt es sich darum, eine Säure-

<sup>1)</sup> Mitgetheilt auf der 15. nordischen Naturforscherversammlung in Stockholm den 11. Juli 1898.

<sup>2)</sup> A. W. Hofmann, diese Berichte 15, 1978.