



Ueber

die Wirkung der Antiseptica auf ungeformte Fermente.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Grades eines
Doctors der Medicin

verfasst

und mit Genehmigung

Einer Hochverordneten Medicinischen Facultät der Kaiserlichen Universität zu Dorpat

zur öffentlichen Vertheidigung bestimmt

von

Iwan Wernitz.



Ordentliche Opponenten:

Prof. Dr. C. Koerber. Prof. Dr. F. Hoffmann. Prof. Dr. G. Dragendorff.

DORPAT.

Druck von C. Mattiesen.

1880.



Nach dem Vermischen der Diastaselösung mit dem Stärkekleister wurde das Gläschen in ein Wasserbad von 50° C. gebracht und beobachtet, wann die Verflüssigung eintrat.

War die Verflüssigung erfolgt, so wurde mit Jod geprüft, wie weit die Umwandlung der Stärke vorgeschritten war, desgl. ob mit der *Sachse'schen* Flüssigkeit Zucker nachweisbar war. Nach 1 $\frac{1}{2}$ —2 Stunden wurden die Versuche unterbrochen, denn wenn die Verflüssigung nach 1 $\frac{1}{2}$ Stunden nicht erfolgt war, so trat sie überhaupt nicht ein.

Sublimat. Mit diesem Stoffe wurden 3 Versuchsreihen angestellt. 1) Zusatz der Sublimatlösung nur zur Diastaselösung. 2) Zusatz des Sublimats sowohl zur Diastaselösung als auch zum Kleister in derselben Concentration. 3) Versuche wie bei 2, nur mit verschiedenen Diastasemengen.

1) Je 0,4 Cc. Diastaselösung von 1:100 wurde mit einer Sublimatlösung von 0,4 p. m. versetzt und nach 2 stündiger Einwirkung des Sublimats die Mischung in 10 Cc. Stärkekleister übertragen. Das Gläschen wurde dann in ein Wasserbad von 50° C. gestellt und notirt, wann und ob die Verflüssigung eintrat. Da die Flüssigkeitsmenge durch den ungleichen Zusatz von Sublimatlösung schwankte, so wurde die Concentration immer auf 1 Cc. Mischung von Sublimat- und Diastaselösung berechnet, um die Zahlen untereinander und mit den bei den andern Antiseptics erhaltenen Zahlen vergleichbar zu machen.

Bei einer Concentration von 1:8333 in 1 Cc. Flüssigkeit oder durch Zusatz von 0,3 Cc. der oben erwähnten Sublimatlösung wurde die Verflüssigung des Kleisters vollständig verhindert, so dass 0,004 gr. Diastase von 0,00012

Gedruckt mit Genehmigung der medicinischen Facultät.
Dorpat, den 2. Februar 1880. Decan: **Boelm.**
N^o 33.

Allen meinen hochverehrten Lehrern an der hiesigen Hochschule, in's Besondere Herrn Prof. Dr. *Dragendorff*, der mich während meiner Arbeit vielfach mit Rath und That unterstützte, meinen herzlichsten Dank.

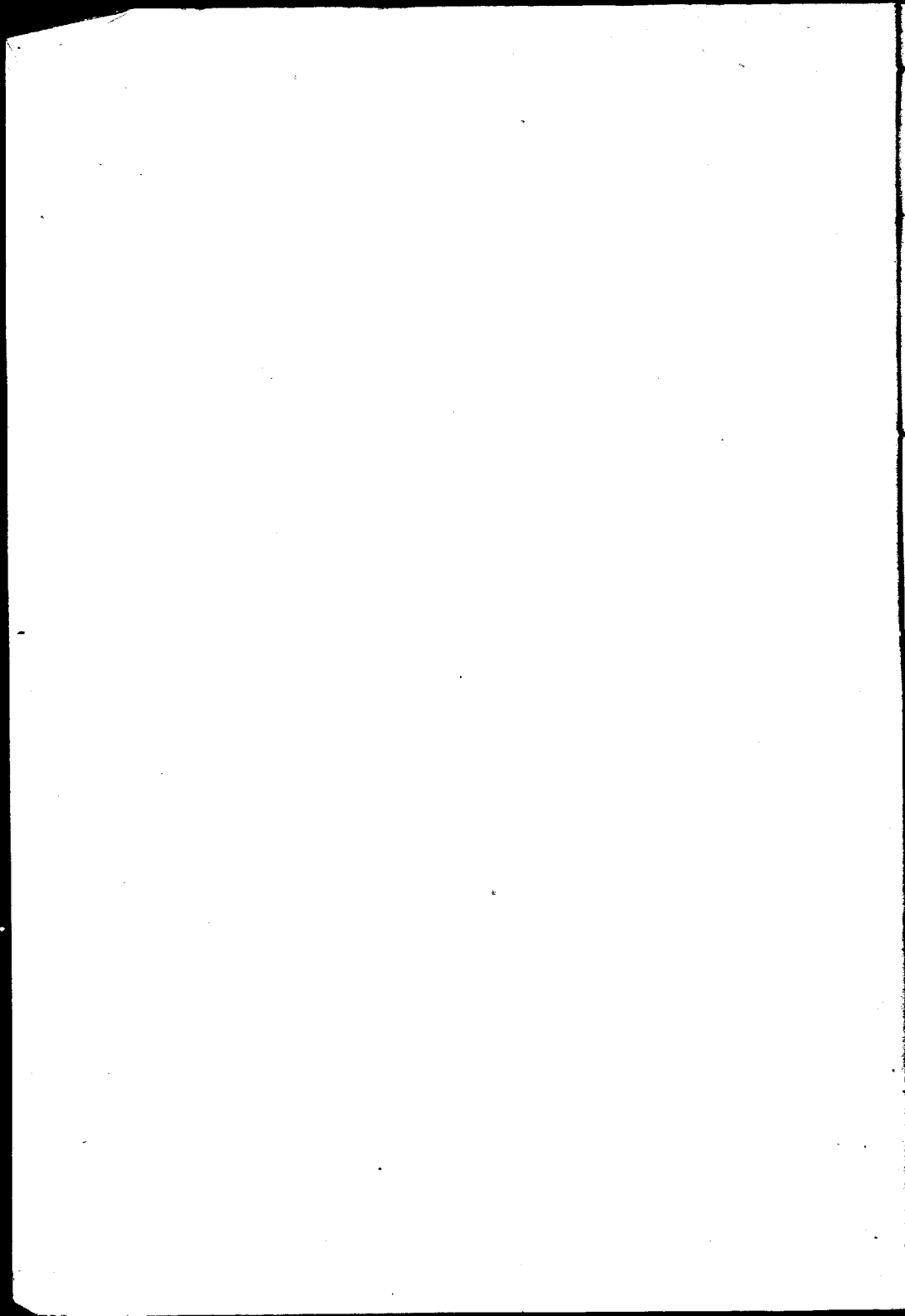
Zur feierlichen
DOCTOR-PROMOTION
des Herrn
Iwan Wernitz,

welche

Donnerstag, d. 21. Februar 1880, Mittags um 12 Uhr,
im grossen Hörsaale der Kaiserl. Universität
stattfinden wird,

Dorpat,
den 18. Februar 1880.

laden ergeben ein
Decan u. Mitglieder
der medicinischen Facultät.



Im Anschluss an die Arbeiten von *Bucholtz* ¹⁾, *Kühn* ²⁾ und *Werncke* ³⁾, die das Verhalten der Antiseptica gegen geformte Fermente geprüft haben, ist das Ziel vorliegender Arbeit, die Wirkung und den Einfluss der Antiseptica und ähnlicher Stoffe auf die ungeformten Fermente festzustellen.

Man unterscheidet bekanntlich zwei Hauptgruppen von Fermenten, die geformten und die ungeformten. Erstere charakterisiren sich dadurch, dass sie an bestimmte morphologische Formen gebunden sind, untrennbar mit ihnen zusammenhängen und beim Zerstören der Formen ebenfalls zu Grunde gehen, weshalb man vielfach die Fermentationsprocesse als Produkt der Lebensthätigkeit dieser Organismen aufgefasst und diese Fermente auch als physiologische bezeichnet hat.

1) Ueber das Verhalten von Bacterien zu einigen Antiseptis. Inaug.-Dissert. Dorpat 1876.

2) Ein Beitrag zur Biologie der Bacterien. Inaug.-Dissertat. Dorpat 1879.

3) Ueber die Wirkung einiger Antiseptica und verwandter Stoffe auf Hefe. Inaug.-Dissert. Dorpat 1879.

Diesen geformten Fermenten steht eine andere Gruppe gegenüber, die ungeformten oder chemischen Fermente. Es sind Eiweisskörper oder den Eiweisskörpern nahestehende Substanzen von sehr verschiedener Zusammensetzung und Eigenschaften, die chemisch noch sehr wenig erforscht sind. Die Wirkungsweise dieser Fermente ist eine katalytische, sie lockern den Zusammenhang einer Substanz derart, dass sich — meist unter Wasseraufnahme — die Atome zu neuen Gruppen lagern, auf die das Ferment keine Wirkung mehr ausübt. Für die rein chemische Natur dieser Körper spricht auch der Umstand, dass Wärme und verdünnte Säuren in manchen Fällen dieselben Spaltungen hervorrufen, wie die Fermente. Von den geformten Fermenten unterscheiden sich die ungeformten Fermente, abgesehen vom Mangel einer bestimmten Organisation hauptsächlich dadurch, dass sie reproductionsunfähig sind. Während Hefe, Milch und Buttersäurebakterien u. s. w. sich während ihrer Wirkung vermehren und durch ihre Vermehrung immer wieder von neuem Veranlassung zur fermentativen Wirkung geben, findet bei den ungeformten Fermenten eine Vermehrung des Fermentes während der Wirkung desselben nicht statt, sondern sie werden nur von specifischen Zellen des pflanzlichen oder thierischen Organismus erzeugt. Ausser diesem Unterscheidungsmerkmal hat man noch andere angegeben, so z. B., dass die geformten Fermente eine gewisse Incubationszeit für die Entfaltung ihrer Wirkung bedürfen, die ungeformten nicht, dass die geformten gegen höhere und

niedere Temperaturen viel empfindlicher sind, als die ungeformten, besonders im trockenen Zustande. Auf die Meinung einzelner Beobachter, dass einige antiseptische Stoffe (Carbolsäure nach *Lemaire*, Chloroform nach *Müntz*) wichtige Unterscheidungsmittel sind, um die geformten von den ungeformten Fermenten zu unterscheiden, komme ich später noch zurück.

Die Angaben von *Lemaire*⁴⁾, *Grützner*⁵⁾ u. And., dass die ungeformten Fermente durch ihre Wirkung verbraucht werden, ist nicht stichhaltig; würden sie verbraucht werden, so müsste sich ein gewisses Verhältniss zwischen der Menge des zu spaltenden Körpers und der Fermentmenge finden lassen, was nur mit grosser Beschränkung der Fall zu sein scheint. Von der Fermentmenge hängt die Zeitdauer ab, in der der zu spaltende Körper gespalten wird, aber nicht die Menge desselben. So giebt *Strecker* an, dass 1 Gewichtstheil Diastase im Stande ist, nach und nach 2000 Gewichtstheile Stärke in Zucker umzuwandeln, wobei sich auch noch nicht die absolute Grenze für die Diastasewirkung findet. Nach *Hüfner*⁶⁾ ist es nur so zu erklären, dass 1 Molekül Diastase in jedem Zeittheilchen mit einem neuen Stärkemolekül zusammentrifft, dasselbe umwandelt und dann an's folgende geht, da es nicht denkbar sei, dass ein Molekül gleichzeitig auf eine mehr als tausendfache Zahl von Stärkemolekülen umsetzend wirke, zumal da diese

4) De l'acide phenique etc. Paris 1865.

5) *Pflüger's Archiv*. XII. p. 285.

6) *Ch. Centr. Blatt*. IV. 1873. p. 440 u. ff.

nicht sämmtlich in nächster Nähe liegen können, sondern in merklich weiten Entfernungen von ihnen vertheilt sein müssen. Es könne also das Ferment während der Arbeit nicht chemisch verändert worden sein, da es sonst seine specifische Leistungsfähigkeit verloren haben müsste. Ebenso fand *Brücke* 7), dass Pepsin immer von neuem wirksam werde, wenn man nur durch passendes Nachsäuren mit verdünnter Phosphorsäure stets frische Fibrinflocken zur Quellung bringt. Auch *Kühne* 8) giebt an, dass Trypsin Fibrin in unbegrenzter Menge auflöse, wenn er sich auch nicht für eine vollständige Unveränderlichkeit des Enzyms ausspricht. Die Anhäufung der Spaltungsprodukte wirkt störend, kann schliesslich die weitere Fermentwirkung ganz aufheben.

Nicht unwahrscheinlich ist es, dass das Ferment mit dem zu spaltenden Körper eine innigere Verbindung eingeht und beim Spalten wieder frei wird; dafür sprechen wenigstens die Versuche von *Nasse* 9), der gefunden hat, dass geronnenes Eiweiss das Pancreasferment, Stärke Ptyalin fixire und dass sich das Ferment durch Auswaschen mit kaltem Wasser nicht entfernen lasse. Digerirt man dann die Stoffe bei 30—40° C., so tritt die Spaltung der betreffenden Substanzen unter Freiwerden des Fermentes ein. Das freigewordene Ferment kann nun von neuem fixirt werden und denselben Process bis in's Un-

7) Wiener Sitzungsberichte der k. Akademie d. Wissenschaften. 2. Abth. Band XLIII. 1861. p. 613.

8) *Kühne*: Separatabdruck aus den Verhandlungen des Heidelberg. naturhist.-medic. Vereins. N. S. I. 3. Heidelberg 1876.

9) Referat im Medic. Centralblatt. 1874. p. 543.

begrenzte wiederholen, so lange nicht die Spaltungsprodukte einen hemmenden Einfluss ausüben.

Woher die Antiseptica die Eigenschaft besitzen, in einem gewissen Verhältniss die katalytischen Eigenschaften der Fermente aufzuheben, ist schwer zu erklären. Bei den physiologischen Fermenten, wo die Fermentwirkung vom Leben der Zellen abhängt, ist es leichter verständlich, wie Substanzen, die das Leben der Zelle vernichten oder lähmen, auch die fermentative Wirkung der Zelle aufheben. Anders ist es aber bei den chemischen Fermenten. Von den chemisch activen Substanzen muss man annehmen, dass sie die Fermente fällen, oder dass sich Verbindungen bilden, die die Eigenschaften der Fermente nicht mehr besitzen; für die chemisch inactiven Körper aber, zu denen die meisten aromatischen Verbindungen gehören, lässt sich eine genügende Erklärung nicht finden.

Die Untersuchungen über die Wirksamkeit der Antiseptica bezogen sich bis jetzt fast nur auf die geformten Fermente, die ungeformten wurden im Ganzen wenig berücksichtigt und in der Literatur findet man nur spärliche Angaben über diesen Gegenstand. Einzelne Forscher wie *Lemaire*, *Buchholtz*, *Binz*, *Kolbe* und Andere haben in ihren Arbeiten auch die ungeformten Fermente berührt, doch alle diese Untersuchungen beziehen sich nur auf einige wenige Antiseptica und dann sind die Untersuchungen nicht methodisch vorgenommen. Man begnügte sich damit zu constatiren, dass in dem gegebenen Falle eine bestimmte Menge des Anti-

septicums genügte oder nicht genügte, die Wirkung des Fermentes aufzuheben. Bei den ungeformten Fermenten kommt es aber gerade sehr auf die Menge des Fermentes an, woher auch die widersprechenden Angaben herrühren, dass das Antisepticum in einem Falle wirksam, im andern unwirksam sich zeigte. Benutzt man ausserdem bei seinen Versuchen nicht vollkommen isolirte und möglichst reine Fermente, so liegt schon hierin eine Quelle für viele Ungenauigkeiten, besonders bei den chemisch stark wirkenden Stoffen, wie Sublimat, Kupfervitriol u. s. w., die sich mit den andern Eiweisskörpern verbinden und nicht ihre volle Wirkung auf das Ferment entfalten können. Die einzige Arbeit, in der in ähnlicher Weise, wie ich es gethan habe, die Wirkung verschiedener Stoffe auf zuckerbildende Fermente untersucht wird, ist die bei den Versuchen mit Diastase von mir häufig citirte Arbeit von *Kjeldahl*, die mir aber leider zu Gesicht kam, als ich meine Versuche mit der Diastase schon abgeschlossen hatte.

In vorliegender Arbeit wurden mit vier pflanzlichen Fermenten (Emulsin, Myrosin, Diastase, Invertin) und drei thierischen (Ptyalin, Pancreatin und Pepsin) Versuche angestellt und die Wirkung der Antiseptica auf dieselben geprüft. Ich suchte dabei möglichst reine und isolirte Fermente zu benutzen, und nur dort, wo mir diese letzteren nicht zu Gebote standen, wie beim Ptyalin und Invertin, musste ich Flüssigkeiten benutzen, die ausser dem Ferment auch noch andere Körper gelöst enthielten.

Da die Fermente mit den antiseptischen Stoffen meistens chemische Verbindungen eingehen, so kommt es nicht sowohl auf den Concentrationsgrad des Antisepticums, als vielmehr auf die absolute Menge desselben an. Wenn ich aber trotzdem das Verhältniss des Antisepticums zur Flüssigkeitsmenge angebe, so thue ich es deshalb, weil die Menge des Fermentes in meinen Versuchen eine genau bestimmte und für die ganze Reihe stets dieselbe ist, und man aus dem Verhältniss durch Vergleichung den Werth der Antiseptica als solche zum Theil erkennen kann.

Was die Literatur, namentlich den geschichtlichen Theil bei den einzelnen antiseptischen Stoffen betrifft, so verweise ich auf die Arbeiten von *Bucholtz* und *Werncke* und erwähne nur diejenigen Arbeiten, die in directem Zusammenhang mit der meinigen stehen.

bereiteter Guajakharzinctur ¹⁾ benetzt wurden, befestigte man in kurze Glasröhren, die in einen durchlöcherten Kork gesteckt waren, mit dem das Gläschen verschlossen wurde. Beim Prüfen auf Blausäure wurde das frisch befeuchtete Papier in das Gläschen getaucht. Auf diese Weise kam die Blausäure, die in dem freien Theil des Gläschens gasförmig vorhanden war, in innige Berührung mit dem Reactiv und färbte das Papier tief dunkelblau. Ein feines Reagens zum Nachweis einer Spaltung des Amygdalins ist auch das Geruchsorgan, denn das Bittermandeloel hat einen so prononcirten und charakteristischen Geruch, dass selbst die geringsten Mengen noch wahrgenommen werden können. Ueberall, wo die Reaction mit dem Reagenzpapier einigermassen deutlich war, konnte auch das Bittermandeloel durch den Geruch erkannt werden. Nur bei Anwesenheit stark riechender Substanzen war man auf das Reagenzpapier allein beschränkt.

Die Versuche mit den antiseptischen Stoffen wurden in folgender Weise ausgeführt. In kleinen Opodeldöcgläsern wurde je 1 Cc. der Emulsinlösung (1: 1000) mit 9 Cc. destill. Wassers verdünnt und dazu das Antisepticum in wässriger oder alkoholischer Lösung, je nach der Löslichkeit des zu verwendenden Stoffes, in verschiedenen Mengen zugesetzt. 2 Stunden liess man das Antisepticum bei Zimmertemperatur auf das Emulsin einwirken und übertrug dann 1 Cc. des Gemisches in 2 Cc. Amygdalinlösung (1: 200), der vorher die entsprechende Menge des Antisepticums zugesetzt war, um den Concentrationsgrad des Antisepticums durch das Uebertragen nicht zu alteriren. Da-

10) Die Kupfervitriollösung muss sehr verdünnt sein, 1: 300; eine stärkere Concentration schwächt die Zuverlässigkeit der Reaction ab. Guajakharzinctur wurde bereitet aus 1 Th. Harz auf 50 Theile Alkohol von 95°.

rauf wurde die Mischung in einem Wasserbade bei 40° C. 10 — 15 Minuten lang erwärmt, da bei dieser Temperatur die Spaltung des Amygdalins durch das Emulsin am leichtesten erfolgt. Waren die Gläser wieder abgekühlt, so prüfte man sie auf Blausäure. Fand sich keine Blausäure, so liess man die Gläser mehrere Stunden stehen und prüfte von Zeit zu Zeit den Inhalt. 3 Stunden nach dem Vermischen beider Flüssigkeiten wurden die Versuche unterbrochen und hatte sich bis dahin keine Blausäure entwickelt, so wurde angenommen, dass das Antisepticum das Ferment unwirksam gemacht habe. Nur in seltenen Fällen liess man die Mischungen 16 — 24 St. stehen.

Bei allen Versuchen wurden immer Controlversuche, ohne Zusatz von Antisepticum, gemacht.

• **Sublimat.** Je 1 Cc. Emulsinlösung, verdünnt mit destillirtem Wasser bis auf 10 Cc., wurde mit der in der Tabelle angegebenen Menge einer Sublimatlösung von 0,4 p. m. versetzt. Zwei Stunden liess man das Sublimat auf das Emulsin einwirken und übertrug dann je 1 Cc. der Mischung in 2 Cc. Amygdalinlösung, der man in demselben Verhältniss Sublimat zugesetzt hatte. Darauf wurde das Gläschen in einem Wasserbade von 40° C. 10 Minuten lang erwärmt und nach 2 St. prüfte man die Flüssigkeit auf Blausäure.

Man erhielt dabei folgende Resultate:

N ^o des Versuches.	Sublimatlös. 1:2500 in Cc.	Erzielte Concentration.	Verhältniss des Ferments zum Antisepticum.	Erfolg.
1	0,5	1:52500	1:0,2	Keine Reaction.
2	0,45	1:58055	1:0,18	
3	0,4	1:65000	1:0,16	
4	0,35	1:73928	1:0,14	Spuren von Blausäure.
5	0,3	1:85833	1:0,12	Mässig starke Reaction; schwacher Bittermandelgeruch.
6	0,25	1:102500	1:0,1	Starke Reaction, dunkle Blaufärbung des Papiers, starker Bittermandelgeruch.
7	0,2	1:127500	1:0,08	

Das Sublimat bewirkte in der Emulsinlösung eine Trübung, deren Intensität von der Menge des Sublimats abhängt.

Beim Sublimat, wo eine sehr grosse Anzahl von Versuchen gemacht werden musste, zeigten sich recht bedeutende Schwankungen in der Wirksamkeit desselben und die oben angegebenen Zahlen sind das Mittel einer grösseren Anzahl von Versuchen.

Bei einem Gehalt von 0,001 gr. Emulsin in 10 Cc. Flüssigkeit wird dasselbe von 0,00016 Sublimat unwirksam gemacht.

Um zu sehen ob die Menge des Sublimates, die nöthig ist das Ferment unwirksam zu machen, von der Menge des Fermentes abhängig ist, oder ob es nur auf die erzielte Concentration der Sublimatlösung ankommt, wurde eine zweite Versuchsreihe mit wechselnder Emulsinmenge gemacht. Die Versuche wurden in der oben angegebenen Weise angestellt, nur dass man statt 1 Cc. Emulsinlösung 2 Cc., 3Cc. und 4 Cc. Emulsinlösung nahm und bis auf 10 Cc. mit destillirtem Wasser verdünnte, so dass bei den einzelnen Versuchen die 2-, 3- und 4fache Menge des Fermentes zur Wirkung kam. Der Ueber-

sichtigkeit halber stelle ich auch diese Versuchsreihe tabellarisch zusammen. Die mit fetter Schrift gedruckten Nummern der Versuche zeigen die Versuche an, bei denen die Emulsinwirkung aufgehoben ist. Selbstverständlich ist in den Versuchen unterhalb der bezeichneten Grenze auch keine Emulsinwirkung vorhanden.

Nummer des Versuches.				Zusatz von Sublimat-Lös. 1:2500 in Cc.	Erzielte Concentration.	E r f o l g.
1 Cc.	2 Cc.	3 Cc.	4 Cc.			
Emulsinlösung.						
1	—	—	—	0,3	1:85833	Reaction vorhanden.
2	—	—	—	0,4	1:65000	Keine Reaction.
3	3a	—	—	0,5	1:52500	In 3 keine Reaction, in 3a R. vorhanden.
—	4a	—	—	0,6	1:44166	In 4a schwache Reaction.
—	5a	—	—	0,7	1:38214	In 5a keine Reaction.
—	6a	6b	—	0,8	1:33750	In 6a keine, in 6b starke Reaction.
—	7a	7b	—	0,9	1:30277	In 7a keine, in 7b starke Reaction.
—	—	8b	8c	1,0	1:27500	In 8b schwache, in 8c starke Reaction.
—	—	9b	9c	1,25	1:22500	In 9b keine, in 9c schwache Reaction.
—	—	10b	10c	1,5	1:19166	Keine Reaction.
—	—	—	11c	2,0	1:15000	Keine Reaction.

Aus dieser Versuchsreihe muss man schliessen, dass ein gewisser % gehalt an Sublimat in einer Flüssigkeit nicht absolut die Emulsinwirkung aufhebt, sondern nur eine entsprechende Menge Emulsin unwirksam macht. Wahrscheinlich bildet sich eine unlösliche Verbindung, woher sich auch die Emulsinlösungen vom Sublimatzusatz trüben. Ist ein Ueberschuss von Emulsin vorhanden, so kommt derselbe zur Wirkung.

Berechnet man aus der Tabelle die Menge des Sublimats, die nöthig ist um 1 resp. 2, 3, 4 grm. Emulsin un-

wirksam zu machen, so findet man dass 1 grm. Emulsin von 0,16 grm. Sublimat 2 gr. Emuls. von 0,28 grm. Subl., 3 grm. Emuls. von 0,5 grm. und 4 grm. Emulsin von 0,6 grm. Sublimat unwirksam gemacht werden. Mit dem Steigen der Menge des Fermentes, wächst auch die Menge des Sublimats proportional an, welche nöthig ist um das Ferment unwirksam zu machen.

Setzte man zu der Emulsinlösung vor dem Zusatz des Sublimates etwas Hühnereiweiss hinzu, so zeigte sich, dass man viel grössere Mengen Sublimat bedurfte, um das Emulsin unwirksam zu machen, das Sublimat übte also keinen specifischen Einfluss auf das Emulsin aus, sondern verband sich damit wie mit jedem andern Eiweisskörper. Die Affinität des Sublimats zum Emulsin war auch nicht grösser, als zum Hühnereiweiss. Schliesslich machte ich einige Versuche, in denen ich zur Amygdalinlösung Sublimat nicht zusetzte; auch hier war die Sublimatmenge, die das Emulsin unwirksam machte, etwas grösser, als in den Versuchen, in denen das Sublimat auch zur Amygdalinlösung zugesetzt war.

Kupfervitriol. Die Versuche wurden in der gewöhnlichen Weise angestellt. Je 1 Cc. Emulsinlösung wird mit 9 Cc. destillirtem Wasser verdünnt und dazu eine 1% Kupfervitriollösung in verschiedener Menge zugesetzt. Nach 2 Stunden wird 1 Cc. dieser Mischung in 2 Cc. Amygdalinlösung gebracht, der man die entsprechende Menge Kupfervitriol zugesetzt hatte. Das Gemisch wurde 10 Minuten lang erwärmt und nach 2 Stunden auf Blausäure geprüft.

N ^o des Versuches.	Zusatz einer Kupfer-vitrioll. 1:1000 in Cc.	Erzielte Con- centration.	Verhältniss des Ferments zum Anti- septicum.	E r f o l g.
1	0,25	1 : 41000	1 : 0,25	Starke Reaction, starker Bitter- mandelölgeruch.
2	0,33	1 : 31303	1 : 0,33	
3	0,5	1 : 21000	1 : 0,5	Schwache Reaction
4	0,75	1 : 14333	1 : 0,75	Sehr schwache R. äusserst schwacher Geruch.
5	1,0	1 : 11000	1 : 1	Keine Reaction.

Die Emulsinlösung trübt sich vom Zusatz der Kupfer- vitriollösung, besonders im Vers. 4 und 5. In 1—3 ist die Trübung sehr gering. Beim Verhältniss des Ferments zum Antisepticum wie 1:1 oder bei einer Concentration von 1:11000 bei 0,001 gr. Emulsingehalt in 10 Cc. Flüssigkeit wird die Emulsinwirkung aufgehoben. Bei Anwendung verschiedener Emulsinmengen gestalteten sich die Resultate folgendermassen.

Nummer des Versuches				Zusatz von Kupfervitriol- lös. 1:1000 in Cc.	Erzielte Con- centration.	E r f o l g.
1 Cc.	2 Cc.	3 Cc.	4 Cc.			
Emulsinlösung.						
1	—	—	—	0,075	1:13433	Schwache Reaction
2	2a	—	—	0,1	1:10100	In 2 keine, in 2a starke Reaction.
3	3a	—	—	0,15	1:6766	In 3 keine, in 3a schwache Reaction.
—	4a	4b	4c	0,2	1:5100	In 4a keine, in 4b u. c starke Reaction.
—	5a	5b	5c	0,3	1:3433	In 5a keine, in 5b schwache, in 5c starke Reaction.
—	—	6b	6c	0,4	1:2600	In 6b keine, in 6c R. vorhanden.
—	—	7b	7c	0,5	1:2100	Keine Reaction.

Der Kupfervitriol verhält sich sehr ähnlich dem Sublimat, auch hier steht die Menge des Ferments und

die Menge des Antisepticums in direktem Verhältniss. Die Trübungen, die bei grösseren Emulsingehalt durch Kupfervitriolzusatz hervorgerufen werden, sprechen für eine chemische unlösliche Verbindung, die der Kupfervitriol mit dem Emulsin eingeht, wodurch die Unwirksamkeit des letzteren bedingt wird. Nur der Ueberschuss des letzteren gelangt zur Wirkung.

Das Verhältniss von Ferment zum Antisepticum gestaltet sich folgendermassen: 1 Theil Ferment wird von 1 Theil Kupfervitriol, 2 Theile Ferment von 2 Theilen Kupfervitriol, 3 Theil Ferment von 4 Theilen Kupfervitriol, 4 Theile Ferment von 5 Theilen Kupfervitriol unwirksam gemacht.

Zinkvitriol. Eisenvitriol. Diese beiden Salze erwiesen sich in meinen Versuchen von bedeutend geringerer Wirkung als Kupfervitriol, also übereinstimmend mit den Resultaten von *Werncke* bei der Prüfung dieser Substanzen auf Hefe.

Zinkvitriol hemmte die Emulsinwirkung erst bei einer Concentration von 1:250; eine Concentration von 1:300 schwächte die Reaction nur sehr ab. Das Verhältniss von Ferment zum Antisepticum ist also 1:40, bei dem das Ferment unwirksam gemacht wird.

Beim Eisenvitriol, dessen Lösungen vor den Versuchen frisch bereitet wurden, zeigte sich keine Wirkung des Emulsins bei einer Concentration von 1:300, oder bei einem Verhältniss von Ferment zum Antisepticum wie 1:35. Die Mischungen von Eisenvitriol mit Emulsin und Amygdalin trübten sich bei längerem Stehen, wobei sich ein geringer flockiger, gelblicher Bodensatz bildete.

Essigsäure Thonerde. Die von mir benutzte Lösung essigsaurer Thonerde enthielt 1,039% Aluminiumoxyd oder 4,12% Aluminiumacetat.

1 Cc. Emulsinlösung wurde mit 4 Cc. dest. Wassers verdünnt und dazu 5 Cc. der Lösung von Aluminiumacetat zugesetzt. Nach 2 Stunden wurde 1 Cc. dieser Mischung in 2 Cc. Amygdalinlösung übergeführt, der dieentsprechende Menge Thonerdelösung zugesetzt war. Nach einigen Minuten war das Amygdalin schon gespalten, der Bittermandeloeelgeruch sehr deutlich und dunkle Blaufärbung des Reagenzpapiers trat ein. Eine Concentration von 1:50 Aluminiumacetat bewirkte also höchstens eine geringe Abschwächung der Emulsinwirkung, während dasselbe auf Bacterien eine äusserst starke Wirkung ausübte — *Schwartz*¹¹⁾ *Kühn*¹²⁾. Auch auf Hefepilze war die Wirkung eine ziemlich starke, bei einer Concentration von 1:480 trat keine Gährung ein (*Werncke*¹³⁾).

Salpeter. Chlorsaures Kali. Diese beiden Salze erwiesen sich bei den Versuchen, die mit denselben gemacht wurden, ganz wirkungslos. Selbst in kalt gesättigten Lösungen dieser Salze erfolgte sofort die Spaltung des Amygdalins.

Natronhydrat, Natroncarbonat. Das Natronhydrat erwies sich in meinen Versuchen von bedeutend stärkerer Wirkung als bei den Versuchen mit Hefe¹⁴⁾, weil sich hier keine

11) Sitzungsberichte der Dorpater Naturforscher-Gesellschaft: Beilage zur Balt. Wochenschrift № 32. Jahrgang 1879. pag. 18.

12) Ein Beitrag zur Biologie der Bacterien. Inaug.-Dissert. Dorpat 1879. pag. 19.

13) Ueber die Wirkung einiger Antiseptica und verwandter Stoffe auf Hefe. Inaug.-Dissert. Dorpat 1879. p. 74.

14) *Werncke* l. c.

freie Säure bildete, die das Natronhydrat neutralisirte. Es war wie bei der Salz- und Schwefelsäure eine Concentration von 1:8000 genügend die Emulsinwirkung aufzuheben, bei 1:9000 war die Wirkung des Emulsins nur sehr abgeschwächt.

Das Natroncarbonat zeigte eine 4 mal schwächere Wirkung, denn erst bei einer Concentration von 1:2000 konnte die Emulsinwirkung verhindert werden. Während 0,001 gr. Ferment von 0,00125 Natronhydrat unwirksam gemacht wurden, gestaltete sich das Verhältniss beim Natroncarbonat wie 1:5. Ich benutzte zu meinen Versuchen crystallisirtes kohlen-saures Natron und 1 Cc. der bereiteten Lösung enthielt $C,1007 Na^2 CO^3 10 H^2O$.

Borsäure. Die Angaben in der Literatur über die antiseptischen Eigenschaften der Borsäure sind sehr widersprechend, denn während *Hirschberg*¹⁵⁾, *Polli*¹⁶⁾, *Dumas*¹⁷⁾ dieselbe sehr wirksam als Antisepticum und Antifermentivum gefunden haben, spricht *Béchamp*¹⁸⁾ der freien Borsäure alle gährungshemmende Eigenschaften ab. *Werncke*¹⁹⁾ konnte durch eine Concentration von 1:50 die alkoholische Gährung nicht verhindern. Auf Bacterien scheint B^2O^3 im ganzen wirksamer zu sein; nach *Bucholtz*²⁰⁾ wird die Bacterienentwicklung bei einer Concentration von 1:133, nach *Kühn*²¹⁾ bei 1:50 bis 1:200 gehemmt.

15) Archiv der Pharmacie. 3 R. 5 Bd. pag. 520.

16) Ueber die antiseptische Wirkung der Borsäure: Berichte der deutsch. chem. Gesellsch. X. 1877. S. 1382.

17) Compt. rend. t. 75. 1872. p. 295.

18) Compt. rend. t. 75. 1872. p. 837.

19) l. c.

20) Ueber das Verhalten von Bacterien zu einigen Antiseptics. Inaug.-Dissert. Dorpat 1876.

21) l. c.

Zu meinen Versuchen bereitete ich eine gesättigte Lösung durch Erkaltenlassen einer heissgesättigten, löste dann in der erhaltenen Flüssigkeit getrennt Amygdalin und Emulsin auf und mischte nach 2 Stunden beide Lösungen. Nach einigen Minuten war schon die Spaltung des Amygdalins erfolgt. Die Borsäure beeinflusst also garnicht das Ferment.

Borax. Die borsauen Salze sind bedeutend wirksamer als die freie Borsäure, so fanden *Béchamp*²²⁾, *Jacquez*²³⁾ und *Hirschberg*²⁴⁾ den Borax sehr wirksam als fäulnisswidriges Mittel und *Dumas*²⁵⁾ giebt an, dass Borax die Spaltung des Amygdalins durch Emulsin verhindert.

In meinen Versuchen verhinderte eine Concentration von 1:100 die Wirkung des Ferments so, dass 1 Theil Ferment erst von 100 Theilen Borax unwirksam gemacht wird. Bei einer Concentration von 1:125 wurde die Spaltung des Amygdalins um 20 Stunden hinausgeschoben.

Salzsäure. Schwefelsäure. Beide Säuren erwiesen sich von vollständig gleicher Wirkung. Bei beiden verhinderte eine Concentration von 1 wasserfreier Salz- oder Schwefelsäure : 8000 bei 0,001 gr Emulsin in 10 Cc. Flüssigkeit die Emulsinwirkung oder 0,001 gr Emulsin wurden von 0,00125 gr Salz- oder Schwefelsäure unwirksam gemacht. *Werncke*²⁶⁾ hatte gefunden, dass die Salzsäure 2 $\frac{1}{2}$ mal stärker als die Schwefelsäure auf Hefe wirke, während *Buchholtz*²⁷⁾ umgekehrt der Schwefelsäure eine dop-

22) l. c.

23) Compt. rend. t. 75. 1872. pag. 1040.

24) l. c.

25) l. c.

26) l. c.

27) l. c.

pelt so starke Wirkung auf Bacterien im Vergleich mit der Salzsäure zuschreibt.

Absoluter Alkohol. Beim Alkohol kommt es im Gegensatz zum Sublimat nicht auf die absolute Menge desselben an, sondern nur auf den erzielten % gehalt der Flüssigkeit an Alkohol. Bei einem Gehalt von 25% wird die Spaltung des Amygdalins durch das Emulsin noch nicht aufgehoben, 30% gehalt schwächt die Wirkung des Emulsins sehr ab, 35% hebt sie ganz auf, wahrscheinlich durch Fällen des Emulsins. Chemisch verändert wird das Emulsin dabei nicht, da man ja bei der Darstellung des Emulsins, dasselbe aus den Lösungen mit Alkohol fällt, ohne dadurch seine Wirkung zu beeinträchtigen.

Ein geringerer % gehalt als 25 übt gar keine Wirkung auf die Emulsinlösung aus, schwächt nicht einmal die Wirkung des Emulsins ab. Letzteres zu constatiren war in sofern von Wichtigkeit, als man bei den späteren Versuchen häufig alkoholische Lösungen der Antiseptica gebrauchen musste, und man die dabei erzielten Resultate ausschliesslich dem Antisepticum und nicht dem Lösungsmittel zuschreiben muss.

Carbolsäure. *Lemaire* ¹⁾ hatte gefunden, dass die Carbolsäure auf das Emulsin, wie überhaupt auf alle un-geformten Fermente, ganz ohne Wirkung war und hielt die Carbolsäure für ein Mittel um die geformten Fermente von den ungeformten zu unterscheiden, da sie auf erstere nach ihm eine sehr energische Wirkung ausübte.

28) *Lemaire* de l'acide Phenique. 2^{de} édition. Paris 1865.

*Bucholtz*²⁹⁾ wies nach, dass die Carbonsäure auch die Wirkung der ungeformten Fermente aufzuheben im Stande ist, allerdings bei einer viel stärkeren Concentration, als sie *Lemaire* bei seinen Versuchen anwandte.

0,2 gr. Carbonsäure verhinderten nach *Bucholtz* in 5 Cc Amygdalin, und 5 Cc Emulsinlösung die Spaltung des Amygdalins.

In meinen Versuchen beeinflusste eine Concentration von 1:60 das Ferment noch garnicht. 1:33 schwächte die Wirkung desselben sehr ab, 1:20 hob sie vollständig auf. Eine 5%ige Lösung genügte in meinen Versuchen erst, um die Emulsinwirkung aufzuheben, während bei *Bucholtz* eine 2%ige dieselben Dienste leistete. Die Flüssigkeit beim Verhältniss von 1:20 war trübe, aber nicht bedeutend. Nur mit Wasser erwärmte Carbonsäure färbte das Reagenzpapier nicht.

Buchenholz-Theer-Kreosot. Kresylsäure. Diese beiden Stoffe, die in ihrer Wirkung gleichkommen, übten einen merklichen Einfluss erst bei einer Concentration von 1:100 aus, wobei die Reaction bedeutend abgeschwächt war. Eine vollständige Verhinderung der Spaltung des Amygdalins durch das Emulsin trat erst bei einer Concentration von 1:60 ein, wobei die Flüssigkeiten sehr stark getrübt waren.

Salicylsäure. *Kolbe*³⁰⁾ hatte zuerst constatirt, dass Salicylsäure die Spaltung des Amygdalins durch das Emulsin verhindere oder verzögere je nach der Menge der

29) *Bucholtz*: Ueber die Einwirkung der Phenylsäure auf einige Gährungsprocesse. Inaug.-Dissert. Dorpat 1866.

30) Chemisch. C.-Bl. V. 1874. p. 617 u. 633.

Salicylsäure. *J. Müller* ³¹⁾ bestätigte *Kolbe's* Versuche und fand, dass 0,2 p. c. Salicylsäure genügt, um die Umsetzung vollständig zu verhindern. In einer späteren Arbeit kommen *Kolbe* und *E. v. Meyer* ³²⁾ zum Resultat, dass die Salicylsäure in einer 1% igen Lösung das in dem 5–7 fachen Gewichte entölter süßer Mandeln enthaltene Emulsin durch Coagulation desselben unwirksam mache. Mit Vermehrung des Mandelmehls gelange nur die die Grenzmenge überschreitende Quantität zur Wirkung.

Meine Versuche wurden in der oben beschriebenen Weise angestellt. Je 1 Cc. Emulsinlösung, bis auf 10 Cc. verdünnt, wurden mit einer 1% igen alkoholischen Lösung von Salicylsäure versetzt, die Mischung 2 Stunden stehen gelassen und darauf 1 Cc. derselben in 2 Cc. Amygdalinlösung übertragen, der vorher die entsprechende Menge Salicylsäure zugesetzt war.

N ^o des Versuches.	Zusatz von Salicyls.-lös. 1:100 in Cc.	Erzielte Concentration.	Verhältniss des Ferments zum Antiseptic.	Erfolg.
1	0,2	1:5100	1:2	} Keine Reaction. Sehr bedeutende Abschwächung. Ziemlich starke Reaction. Sehr starke Reaction.
2	0,15	1:7600	1:1,5	
3	0,1	1:10100	1:1	
4	0,075	1:13433	1:0,75	
5	0,05	1:20100	1:0,5	

Bei 0,001 gr. Emulsin in 10 Cc. Flüssigkeit wird dessen Wirkung also aufgehoben bei einem Verhältniss von 1:7600.

31) Jahrb. f. pract. Chemic. N. F. X. p. 444.

32) Ch. C.-Bl. VI. 1875. p. 554.

Eine zweite Versuchsreihe mit verschiedenen Emulsinmengen gab folgende Resultate.

Nummer des Versuches.				Zusatz von Salicyls.-lös. 1:100 in Cc.	Erzielte Con- centration.	E r f o l g.
1 Cc.	2 Cc.	3 Cc.	4 Cc.			
Emulsinlösung.						
1	1a	1b	1c	0,2	1:5100	} Keine Reaction.
2	2a	2b	2c	0,15	1:7600	
3	3a	3b	3c	0,1	1:10100	} Schwache React. Bittermdg. Starke } deutlich.
4	4a	4b	4c	0,075	1:13433	

Bei den Versuchen 1 und 2 der ganzen Versuchsreihe tritt keine Emulsinwirkung ein, sie ist aufgehoben beim Verhältniss von Salicyls. 1 zu 7600 Flüssigkeit, trotzdem dass verschiedene Mengen Emulsin angewandt wurden. Wurde Salicylsäure nur zur Emulsinlösung zugesetzt, so bedurfte man mehr Salicylsäure, um denselben Effect zu erzielen, ein gewisses Verhältniss aber zwischen Emulsin- und Salicylsäuremenge konnte nicht gefunden werden. Dass die Salicylsäure mit den Eiweisskörpern auch eine Verbindung eingeht, konnte daraus geschlossen werden, dass bei Zusatz von Hühnereiweiss zur Emulsinlösung eine bedeutend grössere Menge Salicylsäure nöthig war, um das Emulsin unwirksam zu machen.

Salicylsaures Natron wurde in einer 10⁰/₁₀igen wässrigen Lösung angewandt. Bei einer Concentration von 1:75 war die Wirkung des Emulsins aufgehoben, 1:100 schwächte sie nur ab. Um 0,001 gr. Emulsin in 10 Cc. Flüssigkeit unwirksam zu machen, waren 0,15 gr. salicylsaures Natron nöthig.

Borsalicylsaures Natron. Entsprechend den Angaben von *Schwartz*³³⁾ und *Werncke*³⁴⁾ über die Wirkung dieses

33) l. c.

34) l. c.

Salzes auf Bacterien und Hefe erwies sich dieses bedeutend wirksamer sowohl wie salicylsaures Natron als auch wie Borax, den beiden Bestandtheilen des Salzes. Bei einer Concentration von 1:1500 schwächte es die Reaction bedeutend ab, eine Concentration von 1:1350 verhinderte vollständig die Spaltung des Amygdalins. 8 Theile borsalicylsaures Natron auf 1 Theil Ferment genühten, um letzteres unwirksam zu machen.

Benzoessäure. Mit der Benzoessäure wurden die Versuche in derselben Weise angestellt, wie mit der Salicylsäure, nur erwies sich die Benzoessäure, wie schon *Kolbe*³⁵⁾ erwähnt, in ihrer Wirkung 4—5 mal schwächer als die Salicylsäure. Die Wirkung des Emulsins wurde bei einer Concentration von 1:2100 aufgehoben, oder bei einem Verhältnisse des Ferments zum Antisepticum wie 1:5. Benutzt wurde eine 1% alkoholische Lösung der Benzoesäure. Die Versuche mit verschiedener Emulsinmenge gaben folgendes Resultat:

Nummer des Versuches.				Zusatz von Benzoessäure 1:100 in Cc.	Erzielte Concentration.	E r f o l g.
1 Cc.	2 Cc.	3 Cc.	4 Cc.			
Emulsinlösung.						
1	1a	1b	1c	0,3	1:3433	Starke Reaction.
2	2a	2b	2c	0,4	1:2600	Reaction vorhanden.
3	3a	3b	3c	0,5	1:2100	In 3 und 3a keine Reaction.
4	4a	4b	4c	0,75	1:1433	In 4 und 4c keine Reaction.
5	5a	5b	5c	1	1:1100	Keine Reaction.

Die fettgedruckten Zahlen zeigen die Versuche an, bei denen die Emulsinwirkung aufhört. Aus der Tabelle

35) *E. v. Meyer* und *H. Kolbe*: Versuche über die gährungshemmende Wirkung der Salicylsäure und anderer aromatischer Säuren. Chemisch. Centralblatt. 1875. VI., S. 554 u. ff.

ist ersichtlich, dass die Benzoesäure sich ähnlich der Salicylsäure verhält. Zwar steigt hier mit der Menge des Ferments auch die Menge des Antisepticums an, die nöthig ist, um das Ferment unwirksam zu machen, doch findet sich hier, ebenso wie bei der Salicylsäure, nicht die Regelmässigkeit, die wir beim Sublimat beobachtet haben.

Benzoesaures Natron zeigte sich nur von schwacher Wirkung. Eine Concentration von 1:100 verhinderte erst die Spaltung des Amygdalins. Bei 1:150 war die Reaction sehr abgeschwächt, der Bittermandelölgeruch nur schwach wahrnehmbar, bei 1:200 war die Abschwächung gering.

Tannin. Ein Zusatz von 0,4 Cc. einer 5%igen Lösung von Tannin verhinderte die Wirkung von 0,001 gr. Emulsin in 10 Cc. Flüssigkeit, also bei einer Concentration von 1:520. Dabei war eine leichte Trübung der Flüssigkeit bemerkbar. Ein Theil Ferment wird von 20 Theilen Tannin unwirksam gemacht.

Benzol, Xylol, Toluol, Thymol, Eucalyptol. Diese 5 Stoffe fasse ich zusammen, weil ihre Wirkung vollständig gleich war. Es wurden alkoholische Lösungen der Stoffe im Verhältniss von 1:10 benutzt. Die Versuche wurden alle in gleicher Weise angestellt und die Flüssigkeiten mit gleichen Mengen des Antisepticums versetzt.

N ^o des Versuches.	Zusatz der Antisept. in Lösung 1:10 in Cc.	Erzielte Concentration.	Verhältniss der Ferment. zum Antisept.	Erfolg.
1	1	1:10	1:100	Keine Reaction.
2	0,75	1:143	1:75	Sehr schwache Reaction.
3	0,5	1:210	1:50	Schwache Reaction.
4	0,33	1:313	1:33	Starke Reaction.
5	0,2	1:510	1:20	Sehr starke Reaction.

Im Versuch 1 sind die Flüssigkeiten milchig von ungelöstem Antisepticum, in 2 und 3 sehr trübe, in 4 und 5 leicht trübe.

Um sich zu überzeugen, dass die Bläuung des Reagenzpapiers durch die Blausäure bewirkt wurde und nicht möglicherweise durch ozonisirten Sauerstoff, der sich beim Erwärmen der aromatischen Körper mit Wasser gebildet haben könnte, wurden wässrige Lösungen der Stoffe 1 Stunde lang auf 40° erwärmt und dann mit dem Reagenzpapier geprüft. Das Resultat war dabei immer negativ. Die Aufhebung der Wirkung des Emulsins trat in diesen Versuchen erst dann ein, wenn ein ziemlich bedeutender Ueberschuss an ungelöstem Antisepticum in der Flüssigkeit vorhanden war.

Zimmitoel. Auch dieses zeigte, verglichen mit der Wirkung auf Hefe, nur geringe Leistungsfähigkeit. Eine Concentration von 1: 100 hob die Wirkung von 0,001 Emulsin in 10 Cc. Flüssigkeit auf, 1: 200—400 schwächte die Wirkung ab. Der Bittermandelgeruch war dabei vom Geruch des Zimmitoels vollständig verdeckt. Die Lösungen waren milchig von ungelöstem Zimmitoel.

Im Controllversuch (beim Erwärmen von Zimmitoel mit Wasser) zeigte sich keine Färbung des Reagenzpapiers.

Terpentinwasser. Die Versuche mit Terpentinwasser, welches durch häufiges Schütteln von französischem Terpentinoel mit destill. Wasser und Absetzenlassen des letzteren bereitet war, wurden so angestellt, dass man 1 Cc. Emulsinlösung mit 4 Cc. dest. Wasser und 5 Cc. Terpentinwasser mischte und von dieser Mischung 1 Cc. in 2 Cc. Amygdalinlösung (Amygdalin 0,02 gr., Terpentinwasser 1 Cc., dest. Wasser 1 Cc.) übertrug. Bei dieser Concentration wurde die Wirkung des Emulsins aufgehoben,

geringerer Zusatz von Terpentinerwasser schwächte die Wirkung des Emulsins nur ab, hob sie aber nicht auf.

Chinin (salzsaures). In den Versuchen, die *Binz*³⁶⁾ über die Wirkung des Chinins auf Emulsin macht, kommt er zum Schluss, dass Chinin die Wirkung des Emulsins in einem gewissen Verhältniss hemmt. Zur vollständigen Verhinderung der Amygdalinspaltung gelangt er in seinen Versuchen nicht, da von ihm nur geringe Mengen Chinin in Anwendung gezogen wurden. In meinen Versuchen fand ich eine vollständige Unterdrückung der Emulsinwirkung bei einer Concentration von 1:300, so dass 0,001 gr. Emulsin von 0,035 gr. Chinin unwirksam gemacht wurden. *Binz* hatte bei Zusatz von 0,48 gr. Chinin auf 1 gr. Emulsin und 5,0 gr. Amygdalin gelöst in 5 Cc. Wasser, schon eine bedeutende Abschwächung der Emulsinwirkung constatirt. Die Differenzen im Erfolge bei seinen und meinen Versuchen rühren wahrscheinlich vom Präparat her, denn das von mir benutzte Emulsin war von äusserst kräftiger Wirkung, wie man aus meinen Versuchen sehen kann und bedurfte daher grössere Mengen Chinin, um unwirksam gemacht zu werden.

Glycerin. *I. Munk*³⁷⁾ hatte schon gefunden, dass Glycerin die Spaltung des Amygdalins durch Emulsin verzögert, das Hinzufügen des gleichen Volums Glycerin schob die Spaltung um $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$ Stunden hinaus, auf Zusatz des zweifachen Volums an Glycerin erfolgte die Spaltung kaum vor 7 Stunden.

36) Untersuchungen über das Wesen der Chininwirkung. 1868 Berlin. pag. 21.

37) Archiv f. Physiologie von *du Bois-Reymond*. 1878. p. 665.

In meinen Versuchen zeigte sich, dass beim Verhältniss von 1 Glycerin: 4,5 Flüssigkeit eine bedeutende Abschwächung der Reaction vorhanden war, beim Verhältniss von 1: 3³⁸⁾ war in den ersten 4 Stunden gar keine Emulsinwirkung eingetreten. Die Wirkung des Glycerins beruht nur auf seiner wasserentziehenden Eigenschaft, das Ferment selbst wird nicht alterirt.

Chloroform. Die Angabe von Müntz³⁹⁾, dass Chloroform die Spaltung des Amygdalins durch Emulsin nicht verhindert, kann ich nur bestätigen. Bei einem Zusatz von 0,5 Cc. Chloroform auf 10 Cc. Flüssigkeit, wobei sich nicht alles Chloroform löste, war nur eine geringe Abschwächung der Emulsinwirkung bemerkbar.

Chloralhydrat. Auch dieser Stoff übte eine nur sehr geringe Wirkung aus. Bei einer Concentration von 1: 30 war nur eine bedeutende Abschwächung, keine Verhinderung der Emulsinwirkung zu constatiren.

Aetherisches Senfoel. Das aetherische Senfoel, das nach Haberkorn⁴⁰⁾ auf Harnbakterien und nach Werncke⁴¹⁾ auf Hefe eine äusserst starke Wirkung ausübt, so dass es dem Sublimat in der Wirkung auf Hefe am nächsten kommt, war in meinen Versuchen auf Emulsin fast von gar keinem Einfluss. Bei einem Verhältniss von 1: 100 wurde bei einem Emulsingehalt von 0,001 gr. die Wirkung des letzteren nur sehr abgeschwächt, aber nicht vollständig aufgehoben. Ein Verhältniss von 1: 200 schwächte die Reaction nur sehr

38) Bei Angabe des Verhältnisses habe ich immer die Menge der fertigen Lösung und nicht des Lösungsmittels im Auge, so dass 1:3 bedeutet 1 Theil Glycerin und 2 Theile Flüssigkeit.

39) Compt rend. 1875. Tome 80, pag. 1250 u. ff.

40) Das Verhalten von Harnbakterien gegen einige Antiseptica. Inaug.-Dissert. Dorpat 1879.

41) l. c.

wenig ab. Die Lösungen waren dabei milchig von unge-
löstem Senfoel. Der Geruch des Bittermandeloels war
vollständig verdeckt von dem Geruch des Senfoels. Senfoel,
das allein mit Wasser eine Stunde lang erwärmt
wurde, färbte nicht das Reagenzpapier.

Schwefelkohlenstoff. Xanthogensaures Kali. Diese bei-
den von *Zöller*⁴²⁾ bei der Gährung als sehr wirksame
antifermentative Stoffe bezeichnete Körper, deren ziemlich
starke Wirkung auf Hefe von *Werncke*⁴³⁾ bestätigt wurde,
zeigten bei den ungeformten Fermenten eine sehr schwache
Reaction. Schwefelkohlenstoff konnte selbst bei einem Zu-
satz von 2 Cc. einer 10^o/₁₀ alkoholischen Lösung auf 10 Cc.
Flüssigkeit, also weit mehr als sich in der Flüssigkeit löste,
die Emulsinwirkung nicht aufheben, schwächte sie nur ab.
Das xanthogensaure Kali, das sich auch in meinen Ver-
suchen wie bei *Werncke* kräftiger als Schwefelkohlenstoff
erwies, verhinderte vollständig die Emulsinwirkung bei
einem Zusatz von 1,5 Cc. einer 10^o/₁₀ igen wässerigen Lö-
sung auf 10 Cc. Flüssigkeit mit 0,001 gr. Emulsingehalt,
also bei einer Concentration von 1 : 75.

Bei den Versuchen mit den nun folgenden Stoffen
wurde zur Amygdalinlösung nicht das Antisepticum zuge-
setzt, um die Zersetzung des Amygdalins zu vermeiden.
Es wurde also wieder 1 Cc. Emulsinlösung mit 9 Cc. dest.
Wasser verdünnt, dazu das Antisepticum zugesetzt und
nach 2 Stunden 1 Cc. dieser Mischung in reine Amygda-
linlösung übertragen. Da alle hier benutzten Stoffe che-
misch stark wirkende Substanzen sind, so muss mehr
Gewicht auf das Verhältniss von Ferment zum Antisep-

42) Berichte der deutsch. chem. Gesellsch. zu Berlin. IX. 1876.
pag. 709 u. X. 1877. pag. 52.

43) l. c.

ticum als auf die erzielte Concentration, die ja auch durch das Uebertragen verändert wurde, gelegt werden. Das Verhältniss von Antisepticum zur absoluten Flüssigkeitsmenge, das ich auch angebe, bezieht sich immer auf die Concentration vor dem Vermischen der Emulsin- und Amygdalinlösung.

Schwefelige Säure. 1 Cc. einer 1,2%igen Lösung von schwefeliger Säure wurde bis auf 10 Cc. verdünnt und hiervon 1 Cc. bis 0,1 Cc. auf je 10 Cc. Flüssigkeit mit 0,001 gr. Emulsin zugesetzt. Bei einem Zusatz von 0,4 Cc. war die Emulsinwirkung verhindert, ein geringerer Zusatz schwächte sie nur ab. Bei 0,4 Cc. Zusatz war Geruch nach SO_2 nicht wahrnehmbar, wol aber bei einem Zusatz von 0,6 Cc. bis 1 Cc. Eine Concentration von 1:21666 oder ein Verhältniss von 0,48 SO_2 zu 1 Ferment, hob die Emulsinwirkung auf.

Chlor. Das Chlorwasser, unmittelbar vor den Versuchen titirt, erwies einen %gehalt von 0,19% Chlor. Auch hier war gleich nach Zusatz des Chlorwassers zur Emulsinlösung der Chlorgeruch noch wahrnehmbar, verschwand aber später vollständig, wenn nicht eine grössere Menge zugesetzt war, als gerade nothwendig, die Emulsinwirkung aufzuheben. Die Versuche lieferten folgende Resultate:

N ^o des Versuches.	Zusatz von Chlorwasser 0,19% in Cc.	Erzielte Concentration.	Verhältniss des Ferments zum Chlor.	Erfolg.
1	0,1	1:53157	1:0,19	Starke R., deutlicher Bittermandg Schwache Reaction.
2	0,125	1:42631	1:0,2375	
3	0,15	1:35814	1:0,285	Keine Reaction.
4	0,2	1:26842	1:0,38	
5	0,3	1:18070	1:0,57	

Eine Concentration von 1:35614 genügt schon, die Emulsinwirkung von 0,001 Emulsin in 10 Cc. Flüssigkeit aufzuheben.

Chlorkalk. 1 Cc. einer Lösung von Chlorkalk mit 5,72 p. Ct. unterchlorigsauren Kalks wurde mit 99 Cc. dest. Wassers verdünnt und die so erhaltene Lösung zu den weiteren Versuchen benutzt. Ein Zusatz von 0,5 Cc. dieser Lösung zu 10 Cc. Flüssigkeit mit 0,001 gr. Emulsin verhinderte die Wirkung des letzteren vollständig, ein geringerer Zusatz schwächte sie nur ab. Geruch nach Chlorkalk fand sich dabei in der Flüssigkeit nicht und erst bei einem Zusatz von 0,75 Cc. bis 1 Cc. trat er deutlich auf. Eine Concentration von 1:36713 oder das Verhältniss von Chlorkalk zu Emulsin wie 0,286:1 vermag die Wirkung des Emulsins aufzuheben.

Brom. Das von mir benutzte Bromwasser wurde durch Schütteln von überschüssigem Brom mit destillirtem Wasser bereitet und zeigte, vor den Versuchen titirt, 3,24% Bromgehalt. 1 Cc. dieses Bromwassers wurde mit 9 Cc. destillirt. Wassers noch weiter verdünnt und ein Zusatz von 0,25 Cc. dieser Mischung zu 0,001 gr. Emulsin in 10 Cc. Flüssigkeit verhinderte die Wirkung des letzteren auf Amygdalin. Bei grösserem Zusatz von Bromwasser war noch Bromgeruch wahrnehmbar, auch blieben die Flüssigkeiten leicht gelblich gefärbt, während bei 0,25 Cc. die anfangs schwach gelbliche Färbung vollständig verschwand. Beim Zusatz von Bromwasser zur Emulsinlösung trat eine leichte Trübung auf, was noch deutlicher in den unten folgenden Versuchen mit grösseren Emulsinmengen sich zeigte. Letztere Versuche wurden wie beim Sublimat angestellt.

Nummer des Versuches.				Zusatz von Br.-wasser 0,324% in Cc.	Erzielte Concentration.	Erfolg.
1 Cc.	2 Cc.	3 Cc.	4 Cc.			
Emulsinlösung.						
1	—	—	—	0,2	1:15740	R. u. Bittermger. vorhanden.
2	—	—	—	0,25	1:12654	Keine Reaction vorhanden.
3	3a	—	—	0,4	1:8410	In 3 keine R., in 3a vorhanden.
4	4a	4b	—	0,5	1:6481	In 4 u. 4a keine R., in 4b vorhanden.
—	5a	5b	5c	0,75	1:4426	In 5a keine, in 5b u. 5c R. vorhanden.
—	—	6b	6c	1,0	1:3395	In 6b keine, in 6c vorhanden.
—	—	7b	7c	1,5	1:2366	Keine Reaction.

Berechnet man das Verhältniss von Ferment zum Antisepticum, so findet man, dass 0,001 Emulsin von 0,00081 Brom, 0,002 Emulsin von 0,00162 Brom, 0,003 Emulsin von 0,00324 Brom und 0,004 Emulsin von 0,00486 Brom unwirksam gemacht werden. Man sieht also, dass wie beim Sublimat, auch hier mit dem Anwachsen der Emulsinmenge die Brommenge proportional zunimmt, die erforderlich ist, die Wirkung des Ferments zu verhindern. Reines Bromwasser färbte das Reagenzpapier ebenfalls, wenn ersteres nicht sehr verdünnt war. War es daher zweifelhaft, ob die Blaufärbung des Reagenzpapiers von Bromdämpfen oder von Cyanwasserstoff abhing, so wurde das Papier nur mit Guajaktinctur ohne Kupfervitriollösung befeuchtet und dann geprüft. Freies Brom färbte auch dieses Papier dunkelblau, während Cyanwasserstoff nur bei Anwesenheit von Kupfervitriol Guajakharz blau färbt.

Jod wurde in einer 0,2% alkoholischen Lösung angewandt. Ein Zusatz von 1 Cc. dieser Lösung auf 10 Cc. Flüssigkeit mit 0,001 Emulsin, also eine Concentration von 1:5500, verhinderte die Emulsinwirkung vollständig,

0,75 Cc. schwächte sie nur ab. Die anfängliche Braunfärbung der Flüssigkeit verliert sich vollständig, ebenso der Jodgeruch, nur bei grösserem Zusatz als 1 Cc. erhalten sich sowohl Geruch als Braunfärbung. 0,001 Ferment wird von 0,002 Jod unwirksam gemacht.

Uebermangansaures Kali. Benutzt wurde zu den Versuchen eine Lösung von 0,11257⁰/₁₀ Gehalt an übermangansaurem Kali. Beim Zusatz dieser Lösung zur Emulsinlösung trat eine Verfärbung der Flüssigkeit ein, zuerst eine mehr röthliche, dann eine bräunliche, die allmählich heller wurde, so dass bei geringerem Zusatz von übermangansaurem Kali die Flüssigkeit zuletzt ganz farblos wurde. In den concentrirteren Lösungen bildete sich ein brauner Bodensatz und an der Wand des Gläschens ein brauner Beschlag von ausgeschiedenem Mangansuperoxydhydrat. Ein Zusatz von 1 Cc. der Lösung zu 0,001 gr. Emulsin in 10 Cc. Flüssigkeit, oder eine Concentration von 1:9771 verhinderte die Emulsinwirkung, 0,001 gr. Ferment werden von 0,0011257 gr. übermangansaurem Kali unwirksam gemacht.

Die nachstehende Tabelle giebt die von mir geprüften Antiseptica ihrem Wirkungswerthe nach geordnet. In der ersten Rubrik ist die Concentration des Antisepticums angegeben, bei der 0,001 grm. Emulsin in 10 Cc. Flüssigkeit unwirksam ist, in der zweiten die absolute Menge des Antisepticums, die nöthig ist, um die Wirkung von 1 grm. Emulsin aufzuheben.

Antiseptica.	Concentration des Antisept. emuls.	Absol. Menge des Antisept. in grm. auf 1 grm. Emuls.
Sublimat	1 : 65000	0,16 ¹⁴⁾
Chlorkalk	1 : 36713	0,286
Chlor	1 : 35614	0,285
Schwefelige Säure	1 : 21666	0,48
Brom	1 : 12654	0,8
Kupfervitriol	1 : 11000	1,0
Uebermangansaures Kali	1 : 9770	1,125
Natronhydrat	1 : 8000	1,25
Salzsäure (wasserfreie)	1 : 8000	1,25
Schwefelsäurehydrat	1 : 8000	1,25
Salicylsäure	1 : 7660	1,3
Jod	1 : 5500	2,0
Picriensäure	1 : 3133	3,3
Benzoessäure	1 : 2100	5,0
Natroncarbonat (cryst.)	1 : 2000	5,0
Borsalicylsaures Natron	1 : 1350	8,0
Tannin	1 : 520	20,0
Chinin	1 : 300	35,0
Eisenvitriol	1 : 300	35,0
Zinkvitriol	1 : 250	40,0
Borax	1 : 100	100,0
Benzoesaures Natron	1 : 100	—
Benzol	1 : 100	—
Toluol	1 : 100	—
Xylol	1 : 100	—
Eucalyptol	1 : 100	—
Thymol	1 : 100	—
Zimmtöl	1 : 100	—
Salicylsaures Natron	1 : 75	—
Xanthogensaures Kali	1 : 75	—
Kreosot	1 : 60	—
Kresylsäure	1 : 60	—
Karbolsäure	1 : 20	—
Glycerin	1 : 3	—
Alkohol	1 : 2,8	—
Terpentinwasser	1 : 2	—

144) Bei der Berechnung der Menge des Sublimates, die das Ferment unwirksam machte, wurde die Sublimatmenge, die zur

Keine Wirkung des Antisepticums oder nur höchstens
Abschwächung der Emulsinwirkung wurde gefunden bei

Borsäure	}	Keine Wirkung in gesättigten Lösungen.
Salpeter		
Chlorsaurem Kali		

Schwefelkohlenstoff	}	Abschwächung der Emulsinwirkung in gesättigten Lösungen.
Aether. Senfoel		
Chloroform		

Chloralhydrat: Abschwächung bei einer Concentration
von 1 : 30;

Essigsaur. Thonerde: Abschwächung bei einer Concentration
von 1 : 50.

Myrosin.

Das Präparat, im pharmaceutischen Institut für meine
Versuche aus weissen Senfsamen⁴⁵⁾ dargestellt, stellte
ein geruchloses hellbraunes grobkörniges Pulver dar, das
sich in Wasser fast vollkommen löste, wobei die Lösung
auch bei starker Verdünnung trübe erschien. Beim Stehen
klärte sie sich nicht, sondern blieb trübe, es bildete sich
kein Bodensatz. Um bei den weiteren Versuchen zur
Prüfung der Wirksamkeit des Myrosins das Senfmehl

Amygdalinlösung zugesetzt war, nicht in Betracht gezogen. Ur-
sprünglich geschah es weil ich glaubte, es komme nur auf eine ge-
wisse Concentration des Antisepticums an, um das Ferment unwirk-
sam zu machen, wie es auch bei vielen antiseptischen Stoffen der
Fall ist. Diese eine Ungenauigkeit suchte ich dadurch gut zu ma-
chen, dass das zur Amygdalinlösung zugesetzte Antisepticum in
allen Fällen unberücksichtigt gelassen wurde. Da die von mir er-
haltenen Zahlen nur einen relativen, keinen absoluten Werth haben,
so wird im Endresultat dadurch nicht viel geändert.

45) *Gmelin's Handbuch der Chemie.* Heidelberg 1852. p. 221.

selbst nicht zu benutzen, wurde eine Lösung von myronsaurem Kali nach der von *Will u. Körner* im 1. Supplementband zu *Gmelins* Handbuch der Chemie, Heidelberg 1867, pag. 768, angegebenen Methode bereitet.

Setzte man einige Tropfen der so erhaltenen Lösung zu 10 Cc. Wasser u. fügte einige Tropfen der Myrosinlösung hinzu, so entwickelte sich nach einigen Minuten, besonders wenn man die Flüssigkeit erwärmte, ein stechender Geruch nach Senfoel.

Versuche, die ich anstellte, um die nöthige Menge Myrosin zur Erzielung einer deutlichen Reaction zu finden, zeigten mir, dass bei einem Gehalt von 0,002 grm. Myrosin u. 0,1 Cc. der Lösung des myronsauren Kalis in 10 Cc. Wasser die Reaction sehr deutlich auftrat, es entwickelte sich ein recht starker, die Augen zum Thränen reizender Geruch und dieses Verhältniss benutzte ich bei meinen Versuchen mit den antiseptischen Stoffen.

Je 0,002 grm. Myrosin wurden in 10 Cc. Wasser gelöst und dazu die Lösung des Antisepticums in verschiedener Menge zugesetzt. Nach 2ständiger Einwirkung des letzteren wurde zur Mischung je 0,1 Cc. der Lösung des myronsauren Kalis zugesetzt, und das Gläschen im Wasserbade bei 40° Cc. $\frac{1}{2}$ Stunde lang erwärmt. Darauf wurde geprüft, ob die Spaltung des myronsauren Kalis erfolgt war.

Die Resultate fasse ich in der unten folgenden Tabelle zusammen, wobei die Antiseptica ihrem Wirkungswerthe noch geordnet sind.

In der ersten Rubrik ist die Concentration des Antisepticums angegeben, bei der 0,002 grm. Myrosin in 10 Cc. Flüssigkeit unwirksam sind, in der zweiten die Menge des Antisepticums, die 1 grm. Myrosin unwirksam macht.

Antiseptica.	Concentra- tion des Antisepti- cums.	1 grm. Myrosin un- wirksam ge- macht von
Chlor	1 : 38888	0,135
Chlorkalk	1 : 34333	0,15
Brom	1 : 28490	0,186
Jod	1 : 24070	0,229
Schwefelige Säure	1 : 20485	0,25
Ueermangansaures Kali	1 : 15069	0,34
Sublimat	1 : 13000	0,4
Kupfervitriol	1 : 8100	0,625
Natronhydrat	1 : 6766	0,75
Salzsäure	1 : 3433	1,5
Schwefelsäure	1 : 3433	1,5
Salicylsäure	1 : 2600	2,0
Picrinsäure	1 : 2100	2,5
Benzoesäure	1 : 1100	5,0
Natroncarbonat	1 : 1028	5,0
Eisenvitriol	1 : 1010	5,0
Borsalicyls. Natron	1 : 600	8,5
Tannin	1 : 260	20,0
Borax	1 : 110	50,0
Xanthogensaures Kali	1 : 60	75,0
Carbolsäure	1 : 33	—
Zinkvitriol	1 : 20	—
Alkohol	1 : 3,5	—
Glycerin	1 : 2	—

Eine Abschwächung, keine vollständige Aufhebung der Reaction bewirkten

Kresylsäure	} in gesättigten Lösungen oder bei überschüssigem Antisepticum,
Kreosot	
Benzol	
Toluol	
Xylol	
Eucalyptol	
Thymol	
Zimmtol	

Salicylsaur. Natron }
 Benzoesaures Natron } bei einer Concentration von 1 : 20.
 Chloralhydrat }

Keine Abschwächung der Reaction trat ein bei
 Salpeter

Chlorsaurem Kali }
 Borsäure } in gesättigten Lösungen.
 Schwefelkohlenstoff }

Essigs. Thonerde bei einer Concentration von 1 : 50.

Mit Sublimat, Kupfervitriol, Brom, Salicylsäure und Benzoesäure stellte ich ferner Versuche an, wobei ich die doppelte und dreifache Menge Myrosin anwandte. Auch hier zeigte sich wie beim Emulsin, dass mit dem Wachsen der Menge des Fermentes auch die Menge des Antisepticums anstieg, die nothig war, um das Ferment unwirksam zu machen. Während 0.002 gr. Myrosin 0.008 grm. Sublimat bedurften, um unwirksam gemacht zu werden, waren bei 0.004 grm. Myrosin 0.0012 grm. Sublimat und bei 0.006 grm. Myrosin 0.0016 grm. Sublimat nöthig, um denselben Effect zu erzielen. Bei der Salicylsäure waren 0.004 grm. genügend um die Wirkung von 0.002 grm. Myrosin aufzuheben, während man bei 0.004 grm. Myrosin 0.007 grm. Salicylsäure und bei 0.006 grm. Myrosin 0.0125 grm. Salicylsäure bedurfte. Beim Brom wurden 0.002 resp. 0.004 und 0.006 grm. Myrosin unwirksam gemacht von 0.0003 resp. 0.00046 und 0.00062 grm. Brom. Dasselbe zeigte sich bei der Benzoesäure und beim Kupfervitriol.

Diastase.

Die Diastase, gleichfalls aus der Präparatensammlung des pharmaceutischen Instituts in Dorpat stammend, stellte ein gelbes in Wasser vollständig lösliches

Pulver dar und enthielt 8,42% Feuchtigkeit und 29% Dextrin, so dass in 100 Theilen 62,6 reines Ferment enthalten waren. Die Eigenschaft der Diastase, Stärke in Zucker überzuführen, wurde als Kriterium der Wirksamkeit derselben angenommen. Um die nöthige Menge der Diastase zu finden, die im Stande ist in einer gegebenen Zeiteinheit eine gewisse Menge von Stärke in Zucker überzuführen, wurden folgende Versuche gemacht.

Aus Amyl. marant. wurde ein ziemlich dicker Kleister gekocht und zwar so, dass 20 Cc. dest. Wasser zum Kochen gebracht wurden und zur kochenden Flüssigkeit 5 Cc. Wasser, in dem 1 gr. Stärke vertheilt waren, zugesetzt wurde. Unmittelbar nach Zusatz der Stärke wurde das Kochfläschchen vom Feuer entfernt. Man erhielt auf diese Weise einen dickflüssigen opalescirenden Kleister von der Consistenz ungefähr des frischen Honigs. Beim Erkalten wurde der Kleister noch dicker, war aber nicht gallertartig, so dass er sich noch bequem aus einem Gefäss ins andere übergiessen liess.

Zu je 10 Cc. dieses Stärkekleysters wurde Diastaselösung von 1:100 in verschiedenen Mengen zugesetzt, das Gläschen in ein Wasserbad von 50° C. gebracht und beobachtet, wann die vollständige Verflüssigung des Kleisters erfolgte. Um die mehr oder weniger vollständige Ueberführung der Stärke in Zucker zu constatiren, wurden alle $\frac{1}{4}$ Stunden Tüpfelproben gemacht. Auf einer Porzellanplatte wurde ein Tropfen verdünnter Jodjodkalilösung (von Cheresfarbe) mit einem Tropfen der zu untersuchenden Flüssigkeit zusammengebracht. War der Kleister nur wenig verflüssigt, so mischten sich die Tropfen nicht, blieben getrennt und nur am Rande trat eine zuerst helle, dann dunkler werdende Blaufärbung ein. Bei mehr vor-

geschrittener Verflüssigung flossen die Tropfen zusammen und färbten sich dunkelblau. Bei weiterer Einwirkung der Diastase traten die von *Naegeli* ⁴⁶⁾ beschriebenen Modificationen der Stärke mehr in den Vordergrund und dem entsprechend war auch die Färbung der zusammengebrachten Tropfen. Zur Bezeichnung der Farbennüancen wählte ich die *Nägeli'sche* Terminologie, nur dass ich noch einige Zwischenstufen der Färbung annahm und demnach folgende hintereinander auftretende Färbungen mit Jod hatte: dunkelblau, blauviolett, violett, braunviolett, braunroth, hellbraun, hellgelb.

Trat die hellgelbe Reaction mit Jod ein, die sich sehr lange hält und wahrscheinlich bei längerer Einwirkung der Diastase erst verschwindet, so nahm ich an, dass alle Stärke in Zucker oder dem Zucker nahe stehende Substanzen übergeführt sei. Schliesslich wurde in den Versuchen, wo die Verflüssigung vorgeschritten war, die Flüssigkeit mit Jod aber noch die dunkelblaue Färbung zeigte, dieselbe nach der *Sachss'schen* ⁴⁷⁾ Methode auf Zucker geprüft.

Die vorher erwähnten Versuche gaben folgende Resultate:

46) Beiträge zur näheren Kenntniss der Stärkegruppe. *Liebig's Annal. der Chemie.* Bd. 173. 1874.

47) Chem. Centralblatt. N. F. VII. 1876. pag. 520.

			E r f o l g.
№ des Versuches.	Diastaselös. 1: 100 in Cc.	Verhältniss von Diast. zu Stärke.	
1	0,8	1:50	Vollständige Verflüssigung nach $\frac{1}{4}$ h ⁴⁸⁾ , Jodr. hellgelb.
2	0,6	1:66	Vollst. Verflüss. nach $\frac{1}{4}$ h., Jodr. braunroth, nach $\frac{1}{2}$ h. hellgelb.
3	0,5	1:80	Vollst. Verflüss. nach $\frac{1}{2}$ h., Jodr. nach $\frac{3}{4}$ h. hellgelb.
4	0,4	1:100	Vollst. Verflüss. nach $\frac{1}{2}$ h., Jodr. nach $\frac{3}{4}$ h. hellgelb.
5	0,3	1:133	Vollst. Verflüss. nach $\frac{3}{4}$ h., Jodr. nach 1 h. braunroth, nach 2 h. hellgelb.
6	0,2	1:200	Vollst. Verflüss. nach $\frac{3}{4}$ h., Jodr. nach 1 h. braunviolett, nach 2 h. hellgelb.
7	0,1	1:400	Vollst. Verflüss. nach 1 h., Jodr. nach 1 h. blau, nach 4 St. hellbraun.
8	0,05	1:800	Vollst. Verflüss. nach 1 h., Jodr. nach 1 h. blau, nach 4 h. braunroth.

Man sieht also, dass bei einem Verhältniss von Diastase zu Stärke wie 1:400—800 in den ersten 4 Stunden nicht alle Stärke umgesetzt wird.

Da die Versuche auf einen so langen Zeitraum nicht ausgedehnt werden konnten, so wurde ein Verhältniss gewählt, bei dem innerhalb der ersten Stunde eine ziemlich vollkommene Umwandlung der Stärke sich zeigte und das war beim Verhältniss von 1 Diastase zu 100 Stärke im Vers. 4, oder nach Abzug des Feuchtigkeits- und Dextringehaltes der Diastase beim Verhältniss von 1 Diastase zu 160 Stärke.

Die weiteren Versuche mit den antiseptischen Stoffen wurden so gemacht, dass zu je 0,4 Cc. Diastaselösung von 1:100 das Antisepticum in verschiedener Menge zugesetzt wurde und nach zweistündiger Einwirkung die

48) Die Verflüssigung trat rascher ein, wenn durch häufiges Umschütteln die Diastaselösung mit dem Kleister besser vermischt wurde.

Mischung in 10 Cc. Stärkekleister übertragen wurde, dem in demselben Verhältniss das Antisepticum zugesetzt war. Ein Uebelstand war dabei der, dass die Menge der Diastaselösung sehr klein im Verhältniss zur Menge des Stärkekleisters war und zum letzteren daher eine verhältnissmässig sehr grosse Menge von Antisepticum zugesetzt werden musste, wollte man denselben Concentrationsgrad wie bei der Diastaselösung erreichen. Versuche, die ich mit einigen Stoffen machte, zeigten übrigens, dass der Unterschied im ganzen nicht gross war, möchte man die ganze Menge des Antisepticums, die nöthig ist das Ferment unwirksam zu machen, zur Diastaselösung allein zusetzen, oder sie auf die Diastaselösung und den Kleister vertheilen, so dass in beiden die gleiche Concentration erreicht wurde.

Ein grösserer Zusatz von Antisepticum war nöthig, um denselben Effect zu erzielen, wenn man zum Kleister einen Theil des Antisepticums zusetzte, da durch die dicke Consistenz des Kleisters ein Theil des Antisepticums nicht zur Wirkung oder höchstens nach erfolgter Verflüssigung des Kleisters zur Wirkung kommen konnte. In den Fällen, wo es auf die Concentration des Antisepticums ankam, musste unbedingt zum Kleister das Antisepticum zugesetzt werden und um in allen Fällen unter denselben Bedingungen zu arbeiten, setzte ich auch von den Stoffen zum Kleister hinzu, bei denen es nicht auf die relative, sondern auf die absolute Menge ankommt. Bei Chlor, Brom, Jod, schwefeliger Säure und übermang. Kali wurde das Antisepticum nur zur Diastaselösung zugesetzt und die Mischung von Diastaselösung und Antisepticum in reinen Kleister übertragen. Zum Vergleich der Wirksamkeit dieser Stoffe wurden dann Versuche mit Sublimat, Salicylsäure u. s. w. gemacht, die auch nur zur Diastaselösung zugesetzt wurden.

Nach dem Vermischen der Diastaselösung mit dem Stärkekleister wurde das Gläschen in ein Wasserbad von 50° C. gebracht und beobachtet, wann die Verflüssigung eintrat.

War die Verflüssigung erfolgt, so wurde mit Jod geprüft, wie weit die Umwandlung der Stärke vorgeschritten war, desgl. ob mit der *Sachse'schen* Flüssigkeit Zucker nachweisbar war. Nach 1 $\frac{1}{2}$ —2 Stunden wurden die Versuche unterbrochen, denn wenn die Verflüssigung nach 1 $\frac{1}{2}$ Stunden nicht erfolgt war, so trat sie überhaupt nicht ein.

Sublimat. Mit diesem Stoffe wurden 3 Versuchsreihen angestellt. 1) Zusatz der Sublimatlösung nur zur Diastaselösung. 2) Zusatz des Sublimats sowohl zur Diastaselösung als auch zum Kleister in derselben Concentration. 3) Versuche wie bei 2, nur mit verschiedenen Diastasemengen.

1) Je 0,4 Cc. Diastaselösung von 1:100 wurde mit einer Sublimatlösung von 0,4 p. m. versetzt und nach 2 stündiger Einwirkung des Sublimats die Mischung in 10 Cc. Stärkekleister übertragen. Das Gläschen wurde dann in ein Wasserbad von 50° C. gestellt und notirt, wann und ob die Verflüssigung eintrat. Da die Flüssigkeitsmenge durch den ungleichen Zusatz von Sublimatlösung schwankte, so wurde die Concentration immer auf 1 Cc. Mischung von Sublimat- und Diastaselösung berechnet, um die Zahlen untereinander und mit den bei den andern Antiseptics erhaltenen Zahlen vergleichbar zu machen.

Bei einer Concentration von 1:8333 in 1 Cc. Flüssigkeit oder durch Zusatz von 0,3 Cc. der oben erwähnten Sublimatlösung wurde die Verflüssigung des Kleisters vollständig verhindert, so dass 0,004 gr. Diastase von 0,00012

gram. Sublimat unwirksam gemacht wurden. Bei geringem Zusatz war die Verflüssigung nur zum Theil verhindert.

2) In dieser Versuchsreihe wurde zur Diastaselösung und zum Kleister Sublimat zugesetzt und zwar so, dass in beiden Flüssigkeiten die gleiche Concentration erzielt wurde. War in beiden Flüssigkeiten eine Concentration von 1:5000 erreicht, so war die Wirkung der Diastase aufgehoben, der Kleister veränderte sich gar nicht. Die Sublimatmenge betrug 0,0002125 gram., von der 0,004 Diastase unwirksam gemacht wurden.

3) Je 0,4 Cc. Diastaselösung mit einem Gehalt von 0,004 gram. resp. 0,008 gram., 0,012 gram., 0,016 gram. Diastase mit einer Sublimatlösung versetzt und dann in Kleister mit dem entsprechenden Sublimatzusatz übergeführt, gaben folgende Resultate:

N ^o des Versuches				Subli- mat-Zusatz in gram.	Erzielte Concentra- tion.	Erfolg.
0,004 gram.	0,008 gram.	0,012 gram.	0,016 gram.			
in Diastaselös. 0,4 Cc.						
1	—	—	—	0,0001675	1:60000	Vollständige Verflüssigung.
2	—	—	—	0,0002125	1:50000	Keine Verflüssigung.
3	3a	—	—	0,00029	1:36666	In 3 keine Verfl., in 3a Klei- ster verflüssigt.
4	4a	—	—	0,00037	1:30000	Keine Diastasewirkung.
—	5a	5b	—	0,00042	1:25000	In 5a keine Verflüss., in 5b Verfl. erfolgt.
—	6a	6b	6c	0,00058	1:18600	In 6a und b keine Verfl., in 6c Verfl. vollständig.
—	—	7b	7c	0,00067	1:15500	In 7b keine Verflüss., in 7c Kleister verflüssigt.
—	—	8b	8c	0,00084	1:12750	Keine Verflüssigung.

Es findet sich wie beim Emulsin ein gewisses Verhältniss zwischen Sublimat und Fermentmenge.

Kupfervitriol. Die Versuche wurden in derselben Weise wie beim Sublimat angestellt.

1) Bei Zusatz von Kupfervitriol nur zur Diastaselösung wurde die Wirkung der letzteren durch 0,3 Cc. einer Kupfervitriollösung von 0,4% oder bei einer Concentration von 1:833 aufgehoben. 0,004 gm. Diastase wurden also von 0,0012 Kupfervitriol unwirksam gemacht.

2) Vertheilte man das Antisepticum auf Diastase und Kleister, so dass in beiden die gleiche Concentration war, so zeigte sich eine Aufhebung der Diastasewirkung bei einer Concentration von 1:6500. Die ganze Menge des Kupfersalzes, die zugesetzt wurde, betrug 0,0017 gm. Bei einem geringeren Zusatz waren reducirende Substanzen in der Flüssigkeit nachweisbar, wenn die Verflüssigung auch nicht vollständig erfolgt war.

3) Bei den Versuchen mit verschiedenen Diastasmengen wurde die Kupfervitriollösung nur zur Diastaselösung zugesetzt, wobei sich folgende Resultate ergaben:

N ^o des Versuches.				Kupfervitriol in gm.	Erzielte Concentration.	E r f o l g.
0,004 gr.	0,008 gr.	0,012 gr.	0,016 gr.			
Diastase in 0,4 Cc.						
1	—	—	—	0,001	1:1000	Verflüssigung tritt ein.
2	—	—	—	0,0012	1:833	Keine Diastasewirkung.
3	3a	—	—	0,002	1:500	In 3 tritt Verflüss. nicht ein, in 3a tritt sie ein.
4	4a	—	—	0,003	1:333	In 4 u. 4a keine Verflüssigung.
—	5a	5b	—	0,004	1:250	In 5a keine Verflüss., in 5b tritt sie ein.
—	6a	6b	6c	0,005	1:200	In 6a u. 6b keine Verfl., in 6c vollständ. Verflüss.
—	—	7b	7c	0,006	1:166	In 7b keine Verfl., in 7c Ver- flüssigung vorhanden.
—	—	8b	8c	0,007	1:143	Keine Verflüssigung.

Zinkvitriol. *Kjeldahl*⁴⁹⁾ hatte gefunden, dass ein Zusatz von 0,1 grm. $ZnSO_4$ auf 100 Cc. Kleister (1:10) + 0,75 Cc. Malzauszug (also bei einer Concentration von 1:1000) die Zuckerbildung noch um 80%₁₀ abschwächt. In meinen Versuchen zeigte sich, dass bei einer Concentration von 1:200 (Zusatz von Zinkvitri. auch zum Kleister) die Diastasewirkung aufgehoben wird, bei geringem Zusatz wird sie nur abgeschwächt, selbst bei einer Concentration von 1:900 ist noch eine deutliche Abschwächung bemerkbar. Während beim Prüfen mit Jod im Controlversuch die hellgelbe Färbung eintritt, trat bei einer Concentration von 1:900 die dunkelviolette Färbung ein, auch war die Reduction der *Sachsse'schen* Flüssigkeit sehr schwach ausgesprochen. 0,004 Diastase werden von 0,056 Zinkvitriol unwirksam gemacht.

Eisenvitriol. *Kjeldahl* fand die Wirkung des Eisenvitriols gleich stark der des Zinkvitriols, auch hier war bei einer Concentration von 1:1000 die Zuckerbildung um 80%₁₀ abgeschwächt.

Auch ich fand bei einer Concentration von 1:1000 eine beträchtliche Abschwächung der Diastasewirkung, ganz aufgehoben wurde sie bei einer Concentration von 1:500, so dass 0,004 Diastase 0,021 Eisenvitriol bedurften, um unwirksam gemacht zu werden. Dem Zinkvitriol gegenüber zeigt also das Eisenvitriol eine mehr als doppelt so starke Wirkung.

Essigsäure Thonerde. Eine Lösung von essigsaurer Thonerde mit 5,4%₁₀ Aluminiumacetat, zeigte bei einem Zusatz von 0,5 Cc. also bei einer Concentration von

49) *Kjeldahl*: Undersøgelser over sukkerdannende Fermenter. Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet. Kjøbenhavn 1879.

1:386 noch garkeinen Einfluss auf die Diastase. Der Stärkekleister wurde im Verlauf der ersten viertel Stunde vollständig verflüssigt und mit Jod färbte sich die Flüssigkeit hellbraun, auch wurde die *Sachsse'sche* Flüssigkeit kräftig reducirt.

Salpeter. Chlorsaures Kali. Diese beiden Salze übten auch hier in concentrirten Lösungen keinen Einfluss auf das Ferment aus. Die concentrirten Lösungen wurden so bereitet, dass man zur Diastaselösung und zum heissen Kleister so lange von den Salzen in Substanz zusetzte, als sich noch etwas löste. Es war nicht einmal eine Abschwächung oder Verzögerung der Diastasewirkung bemerkbar.

Natronhydrat sowol zur Diastaselösung als auch zum Kleister zugesetzt, zeigte eine hemmende Wirkung auf die Diastase bei einer Concentration von 1:6000 in beiden Flüssigkeiten. Durch den Zusatz von Natronhydrat klärte sich der Kleister etwas, wurde durchscheinend, auch bei den Concentrationen, bei denen keine Verflüssigung erfolgte. 0,004 grm. Diastase wurden von 0,00185 grm. Natronhydrat unwirksam gemacht.

Natroncarbonat. Dieses Salz erwies sich von bedeutend geringerer Wirkung als das Natronhydrat und erst bei einer Concentration von 1:600 wurde die Diastasewirkung vollständig aufgehoben. 0,004 Diastase bedurften also 0,0185 grm. Natroncarbonat um unwirksam gemacht zu werden. Auch hier wurde der Kleister klarer, durchscheinend.

Borax. Nach *Kjellahl*⁵⁰⁾ schwächt Borax die Wirkung der Diastase bedeutend ab. Setzt man bei 100 Cc.

50) l. c.

Kleister mit 10 gr. Stärke und 0,75 Cc. Malzauszug, den Zuwachs von Zucker ohne Salze = 100, so ist der Zuwachs bei Zusatz von 0,013 grm. Borax = 60 und bei Zusatz von 0,050 grm. Borax = 5.

Eine so energische Wirkung des Borax konnte ich nicht constatiren. Bei einer Concentration von 1:125 erfolgte noch vollständige Verflüssigung des Kleisters, nur blieb die Zuckerbildung gegenüber dem Controlversuch zurück und mit Jod färbte sich die Flüssigkeit nach einer Stunde noch blau, während sie sich im Controlversuch hellgelb färbte. Bei einer Concentration von 1:100 war die Verflüssigung sehr gering, und es waren keine reducirenden Substanzen nachweisbar. 0,004 Diastase werden also von 0,11 Borax unwirksam gemacht.

Borsäure. Durch Zusatz von Borsäure in Substanz zur Diastaselösung und zum Kleister, wurden gesättigte Lösungen erhalten; beim Vermischen beider Flüssigkeiten erfolgte trotzdem bald die Verflüssigung des Kleisters, so dass nicht einmal eine abschwächende Wirkung der Borsäure bemerkt werden konnte.

Schwefelsäure. Nach *Kjeldahl*⁵¹⁾ begünstigt ein geringer Zusatz von Säure die Zuckerbildung, aber nur bis zu einer gewissen Grenze. Als Maximum giebt *K.* einen Zusatz von 0,3 Cc. einer Schwefelsäure, die in 1 Cc. 0,001 grm. Schwefelsäureanhydrid enthält, auf 100 Cc. Flüssigkeit an. Wird diese Grenze überschritten, so tritt nach *K.* rasch die hemmende Wirkung ein.

Ich fand, dass 0,21 Cc. einer Lösung von 1 Theil wasserfreier Schwefelsäure auf 200 Theile destillirten Wassers, auf Diastaselösung und Kleister so vertheilt, dass in beiden Flüssigkeiten eine Concentration von

51) l. c.

1 : 10100 erreicht war, die Wirkung der Diastase aufhob. 0,004 grm. Diastase wurden mithin von 0,00105 grm. wasserfreier Schwefelsäure unwirksam gemacht.

Salzsäure. Die mit der Salzsäure erhaltenen Resultate stimmten vollkommen mit denen bei der Schwefelsäure überein. Auch hier verhinderte eine Concentration von 1 : 10100 die Diastasewirkung.

Absoluter Alkohol. Die Versuche mit demselben gaben ähnliche Resultate wie beim Emulsin. Setzte man den Alkohol nur zur Diastaselösung bis zum Verhältniss von 3 : 1 (66^o/₁₀₀), so trübte sich die Diastaselösung, nach dem Ueberführen der letzteren in Stärkekleister trat aber doch die Diastasewirkung sehr energisch ein. Die vorher gefällte Diastase löste sich also wieder und gelangte zur Wirkung. Setzte man zum Kleister auch Alkohol hinzu, so wurde bei geringem Zusatz von Alkohol, bis zu einem Verhältniss von 1 : 5 (20^o/₁₀₀), ein Theil der Stärke gefällt, und die durch den Alkohol gefällten weissen Flocken blieben in dem übrigen dicken Kleister suspendirt. Bei einem grösseren Zusatz von Alkohol, wurde alle Stärke gefällt und schied sich als weisse Masse aus. Setzte man nun zu den verschiedenen Mischungen von Kleister und Alkohol, die Diastaselösung mit dem entsprechenden Alkoholzusatz hinzu, so konnte man beobachten, dass die grossen Flocken zum Theil gelöst wurden, in ein feines Pulver zerfielen, wodurch die Flüssigkeit ein milchiges Aussehen erhielt. War der Kleister nur theilweise gefällt, so wurde er durch Zusatz der Diastaselösung gleichmässig und verflüssigte sich allmählich vollständig. Liess man die milchigen Flüssigkeiten ruhig stehen so bildete sich ein weisser Bodensatz, der nur sehr allmählich an Menge abnahm. Dass die Diastase selbst bei einem Ge-

halt von 33% Alkohl in der Flüssigkeit nicht unwirksam gemacht wurde, sondern dass eine langsame Umwandlung der Stärke in Zucker stattfand, konnte leicht nachgewiesen werden. Die milchige Flüssigkeit wurde filtrirt und das Filtrat, das mit Jod die blaue Färbung gab, erwärmt. Sehr bald verschwand die blaue Färbung, es trat die braune und schliesslich die hellgelbe auf. Die Diastase war also nicht unwirksam gemacht, sondern ihre Wirkung war nur dadurch verlangsamt, dass sich die gefällte Stärke schwer löste. Der Rückstand auf dem Filter löste sich bei einem gewissen Zusatz von Wasser vollständig auf, war also nicht reine Stärke, sondern die lösliche Modification derselben. Die Wirkung der Diastase wird also nicht durch Einwirkung des Alkohols auf dieselbe abgeschwächt, sondern durch Veränderung des Kleisters. Ein geringer Zusatz von Alkohol, bis zum Verhältniss von 1:10 beförderte sogar die Verflüssigung des Kleisters durch die Diastase, die Verflüssigung trat rascher ein als im Controlversuch, wenn auch die Zuckerbildung etwas zurückblieb.

Carbolsäure. Setzt man den Zuckerzuwachs bei 100 Cc. Kleister (1:10) und 0,75 Cc. Malzauszug = 100, so ist nach *Kjeldahl*⁵²⁾ bei Zusatz von 0,2 gm. Carbolsäure der Zuckerzuwachs = 89, bei Zusatz von 0,4 gm. Carbolsäure der Zuckerzuwachs = 70. Es findet sich also eine im ganzen nur geringe Abschwächung der Diastasewirkung.

Ich setzte sowol zum Kleister, als auch zur Diastaselösung Carbolsäure in demselben Verhältniss zu. Der Kleister wurde zum Theil gefällt, wurde vollständig weiss und gallertartig. Nach dem Vermischen der Diastase-

52) l. c.

lösung mit dem Kleister trat bei einem Verhältniss von 1:30 keine Verflüssigung mehr ein, eine 3,3%ige Lösung von Carbolsäure verhinderte die Diastasewirkung. Bei einer 3%igen Lösung trat schon deutliche Verflüssigung des Kleisters ein, eine 2%ige schwächte die Diastasewirkung nur wenig ab. Auch nach der Verflüssigung blieb die Flüssigkeit sehr trübe, fast milchig.

Kreosot erwies sich bei den Versuchen von sehr geringer Wirkung. Bei einem Zusatz von überschüssigem Kreosot, wobei ein Theil des letzteren sich ungelöst am Boden des Gefässes ansammelte, trat nur eine Verlangsamung der Zuckerbildung ein, nach einer halben Stunde färbte sich die Flüssigkeit mit Jod noch blau, während im Controlversuch die hellgelbe Färbung mit Jod eintrat. Die Verflüssigung war aber vollständig erfolgt, auch war Zucker mit der *Sachseschen* Flüssigkeit direct nachweisbar.

Kresylsäure. Auch hier zeigten sich dieselben Resultate wie beim Kreosot. Bei einer Concentration von 1:50, wobei die Flüssigkeit trübe und röthlich gefärbt erschien, fand sich nur eine Verlangsamung der Zuckerbildung, keine Aufhebung der Diastasewirkung.

Picrinsäure erwies sich von derselben Wirkung auf Diastase wie auf Emulsin. Auch hier genügte eine Concentration von 1:3000 um die Diastasewirkung aufzuheben. Diese Concentration wurde erreicht durch Zusatz von 0,35 Cc. einer 1%igen Lösung zum Kleister und 0,2 Cc. einer 0,1%igen Lösung zur Diastaselösung. 0,004 grm. Diastase waren hiermit durch 0,0037 grm. Picrinsäure unwirksam gemacht.

Salicylsäure. *Kjeldahl*⁵³⁾ fand bei seinen Versuchen, die ebenso wie mit der Carbolsäure angestellt wurden,

53) l. c.

den Zuckerzuwachs bei Zusatz von 0,03 grm. Salicylsäure = 10, bei Zusatz von 0,1 grm Salicylsäure den Zuckerzuwachs = 0. Eine Concentration von 1 : 1000 verhinderte also vollständig die Zuckerbildung. Ich stellte wie beim Sublimat mit der Salicylsäure 3 Versuchsreihen an.

1) Setzte man die Salicylsäure nur zur Diastaselösung, so genügte ein Zusatz von 0,35 Cc. einer 0,2% tigen Lösung oder eine Concentration von 1 : 1430 (auf 1 Cc. Flüssigkeit berechnet) die Diastasewirkung aufzuheben. Geringerer Zusatz schwächte sie nur ab. 0,0007 grm. Salicylsäure machten 0,004 grm. Diastase unwirksam, also das Verhältniss von 1 Diastase: 0,175 Salicylsäure.

2) Bei Zusatz der Salicylsäure zur Diastaselösung und zum Kleister war die Diastasewirkung aufgehoben bei einer Concentration von 1 : 5100 in beiden Flüssigkeiten. Die ganze Menge der Salicylsäure, die zu beiden Flüssigkeiten zugesetzt war, betrug 0,0021 grm., das Verhältniss von Diastase zu Salicylsäure gestaltete sich also wie 1 : 0,52. Die dreifache Menge von Salicylsäure war also in diesem Falle nöthig, um denselben Effekt wie in der ersten Versuchsreihe zu erzielen, was nur so zu erklären ist, dass die im Kleister eingeschlossene Salicylsäure erst allmählich und erst nach Verflüssigung eines Theils des Kleisters zur Wirkung gelangt.

3) Die dritte Versuchsreihe wurde mit verschiedenen Diastasemengen angestellt, wobei sowol zur Diastaselösung, als auch zum Kleister Salicylsäure zugesetzt wurde. Das Resultat war folgendes:

M des Versuches.				Salicyl- säuremenge in grm.	Erzielte Concentra- tion.	E r f o l g.
0,004 gr.	0,008 gr.	0,012 gr.	0,016 gr.			
Diastase i. 0,4 Cc. Lös.						
1	—	—	—	0,001675	1 : 6350	In 1 Verflüss. des Kleisters
2	2a	—	—	0,0021	1 : 5100	In 2 keine Verfl., in 2a Diastasewirkung vorh.
3	3a	3b	—	0,002625	1 : 4200	In 3 u. 3a keine Verfl., in 3b Verfl. vorhanden.
—	4a	4b	4c	0,0034	1 : 3130	In 4a u. b keine Diastasew., in 4c Verfl. vorh.
—	—	5b	5c	0,0037	1 : 3000	In 5b u. c keine Verfl.
—	—	—	6c	0,00425	1 : 2600	In 6c keine Verflüssigung.

Je grösser die Diastasemenge ist, um so mehr Salicylsäure braucht man, um die Diastase unwirksam zu machen, ein gewisses Verhältniss zwischen beiden lässt sich aber nicht herausfinden.

Salicylsaures Natron. Eine Aufhebung der Diastasewirkung durch salicylsaures Natron konnte erst bei einer Concentration von 1 : 20 erreicht werden. Diese Concentration erhielt man durch Zusatz von 0,5 grm. salicyls. Natron zu 10 Cc. Stärkekleister und durch Zusatz von 0,4 Cc. einer 10⁰igen Lösung von salicyls. Natron zur Diastaselösung. Eine Concentration von 1 : 30 schwächte die Diastasewirkung noch bedeutend ab, 1 : 50 verzögerte die Diastasewirkung nur sehr wenig.

Borsalicylsaures Natron. Dieses Salz erwies sich, wie wir es schon beim Emulsin gesehen haben, bedeutend wirksamer. Bei einer Concentration von 1 : 580 verhin- derte es vollständig die Diastasewirkung, bei 1 : 750 war die Diastasewirkung noch bedeutend abgeschwächt. 0,004 Diastase wurden unwirksam gemacht von 0,0192 borsalicylsauren Natrons.

Benzoessäure lieferte sehr ähnliche Resultate wie die Salicylsäure, nur dass erstere auch hier wie beim Emulsin von 5 mal schwächerer Wirkung war als die letztere.

1) Nur zur Diastaselösung zugesetzt, übte die Benzoessäure eine hemmende Wirkung auf die Diastase aus bei einer Concentration von 1:333. 0,004 Diastase wurden unwirksam gemacht von 0,003 Benzoessäure.

2) Setzte man zur Diastaselösung und zum Kleister das Antisepticum hinzu, so trat eine Aufhebung der Diastasewirkung bei einer Concentration von 1:1025 ein, es wurden also 0,004 Diastase erst von 0,0105 Benzoessäure unwirksam gemacht. Auch hier war, wie bei der Salicylsäure, die dreifache Menge von Benzoessäure nöthig, um die Diastasewirkung aufzuheben, wenn man das Antisepticum auf Diastaselösung und Kleister vertheilte.

3) Die Versuche mit verschiedenen Diastasemengen gaben folgende Resultate:

M des Versuches.				Benzoesäuremenge in grm.	Erzielte Concentration.	E r f o l g.
0,004 gr.	0,008 gr.	0,012 gr.	0,016 gr.			
Diastase in 0,4 Lös.						
1	—	—	—	0,0084	1:1250	Verfl. erfolgt.
2	—	—	—	0,0105	1:1025	In 2 keine Verfl.
3	3a	—	—	0,0148	1:750	In 3 keine Verfl., in 3a tritt Verfl. ein
—	4a	4b	—	0,021	1:525	In 4a keine Verfl., in 4b tritt sie ein.
—	5a	5b	5c	0,02265	1:466	In 5a u. b keine Verfl., in 5c tritt sie ein.
—	—	6b	6c	0,027	1:420	Keine Verfl.
—	—	—	7c	0,03	1:34	Keine Verfl.

Benzoesaures Natron. Dieses Salz zeigte eine hemmende Wirkung auf die Diastase bei einer Concentration

von 1:100. Die ganze Menge von benzoesaurem Natron, die gebraucht wurde, um 0,004 grm. Diastase unwirksam zu machen, betrug 0,108 grm.

Tannin. Beim Zusatz von Tannin zum Stärkekleister, trat zum Theil Fällung des letzteren ein, der Kleister trübte sich stärker und es bildeten sich weisse Flocken, die im übrigen unveränderten Kleister suspendirt blieben. Erreichte man in der Diastaselösung und im Kleister eine Concentration von 1:1160, so wurde die Diastasewirkung vollständig verhindert, der Kleister blieb trübe und dick. Erreicht wurde diese Concentration durch Zusatz von 0,0096 grm. Tannin, vertheilt auf Diastaselösung und Kleister. Ein geringerer Zusatz verlangsamte nur die Zuckerbildung.

Benzol. Xylol. Toluol. Thymol. Eucalyptol. Zimmt-oel. Alle diese Stoffe übten auf die Diastase fast gar keine Wirkung aus. Setzte man diese Stoffe im Ueberschuss zu, so dass ein Theil ungelöst blieb, so fand man, dass die Zuckerbildung dem Controlversuch gegenüber etwas verlangsamt war. Mit Jod färbte sich die Flüssigkeit nach einer Stunde noch braun, während im Controlversuch die hellgelbe Färbung eintrat. Die Verflüssigung des Kleisters wurde aber nicht aufgehalten und erfolgte ebenso rasch wie im Controlversuch.

Chinin (salzsaures), wurde in destill. Wasser mit einem geringen Zusatz von Salzsäure gelöst. Ein Zusatz von 0,56 Cc. einer 5^o/₁₀₀igen Chininlösung auf Kleister und Diastaselösung vertheilt, also eine Concentration von 1:400, verhinderte die Wirkung der Diastase. 0,004 Diastase wurden von 0,028 grm. Chinin unwirksam gemacht.

Bis zu einer Concentration von 1:600 war noch eine sehr starke Abschwächung der Diastasewirkung vorhanden.

Der Kleister verflüssigte sich nur unvollständig, selbst bei 1: 1000 war eine Abschwächung vorhanden, wenn auch keine besonders starke.

Glycerin verlangsamte nur die Zuckerbildung, hob sie nicht auf. Bei Zusatz eines gleichen Volumens Glycerin erfolgte die Verflüssigung recht bald, mit Jod färbte sich die Flüssigkeit nach einer Stunde dunkelviolett, während im Controlversuch die hellgelbe Färbung eintrat.

Chloroform rief eine Fällung des Kleisters hervor, derselbe wurde glasig, gallertartig, wobei sich weisse Flocken ausschieden. Setze man die Diastaselösung, der auch Chloroform zugesetzt war, hinzu so verflüssigte sich der Kleister vollständig, nur blieb die Flüssigkeit trübe, bei grösserem Zusatz von Chloroform milchig. Die Flocken lösten sich zum Theil, zerfielen in feinere und bedingten dadurch das milchige Aussehen. Beim Stehen bildete sich ein Bodensatz, die drüberstehende Flüssigkeit war vollständig klar und flüssig. Zucker war selbst bei einer Concentration von 1: 20 nach einer viertel Stunde nachweisbar, so dass nicht einmal eine Abschwächung der Diastasewirkung durch Chloroform bemerkbar war.

Chloralhydrat rief auch eine theilweise Fällung des Kleisters hervor, was aber die Verflüssigung nicht aufhielt. Bei einer Concentration von 1: 15 bis 1: 30, die durch Zusatz von Chloralhydrat in Substanz zum warmen Kleister erreicht wurde, war in einer halben Stunde die Verflüssigung vollkommen, nur war auch hier die Trübung sehr stark. Die Zuckerbildung selbst blieb trotz der Verflüssigung zurück und bei einer Concentration von 1: 30 konnte nach einer Stunde noch kein Zucker nachgewiesen werden.

Aether. Senfoel zeigte sich ganz ohne Einfluss auf die Diastase, wenn die Flüssigkeit mit äther. Senfoel

gesättigt war. Im Ueberschuss zugesetzt, verlangsamte es etwas die Zuckerbildung.

Schwefelkohlenstoff erwies sich selbst in gesättigten Lösungen von gar keiner Wirkung auf die Diastase, verlangsamte nicht einmal deren Wirkung.

Xanthogens. Kali zeigte bis zu einer Concentration von 1:100 eine Abschwächung der Diastasewirkung, der Kleister verflüssigte sich nur zum Theil. Eine vollständige Aufhebung der Diastasewirkung trat auch bei stärkeren Concentrationen nicht ein.

Schwefelige Säure wurde nur zur Diastaselösung zugesetzt. Ein Zusatz von 0,5 Cc. einer Lösung von 0,02324⁰/₁₀ schwefeliger Säure verhinderte vollständig die Diastasewirkung, der Kleister blieb dick und veränderte sich nicht. Eine Concentration von 1:8600 (auf 1 Cc. Flüssigkeit berechnet) oder 0,0001162 grm. SO₂ genügte, um 0,004 grm. Diastase unwirksam zu machen.

Chlor. Das von mir benutzte Chlorwasser, kurz vor den Versuchen titirt, zeigte einen Gehalt von 0,3855⁰/₁₀ Chlor. 1 Theil dieses Chlorwassers wurde noch mit weiteren 9 Theilen destill. Wassers verdünnt, so dass 1 Cc. Chlorwasser 0,0003855 Chlor enthielt. Ein Zusatz von 0,35 Cc. dieses verdünnten Chlorwassers zu 0,4 Cc. Diastaselösung verhinderte die Wirkung der Diastase, wobei der Chlorgeruch verschwand. Auf 1 Cc. Flüssigkeit berechnet, zeigte sich, dass die Diastasewirkung bei einer Concentration von 1:7411 aufgehoben war, oder 0,004 Diastase waren von 0,0001349 Chlor unwirksam gemacht.

Chlorkalk. Die vor den Versuchen titirte Chlorkalklösung enthielt in 1 Cc. Lösung 0,0504 grm. unter chlorig-

sauren Kalk. 1 Cc. der Lösung wurde bis auf 100 Cc. mit destill. Wasser verdünnt, und diese verdünnte Lösung zu den weiteren Versuchen benutzt. Ein Zusatz von 0,3 Cc. dieser Lösung zu 0,4 Diastaselösung, hob die Wirkung der Diastase auf. Bei einer Concentration von 1:6613 war die Diastase unwirksam, oder 0,004 grm. Diastase wurden von 0,0001512 Chlorkalk unwirksam gemacht.

Brom. Frisch bereitetes Bromwasser mit einem Gehalt von 3,28% Brom wurde mit dest. Wasser in einem Verhältniss von 1:100 verdünnt. Bei einem Zusatz von 0,6 Cc., also bei einer Concentration von 1:5070 war die Diastasewirkung aufgehoben. 0,004 Diastase waren von 0,0001968 grm. Brom unwirksam gemacht worden. Die Mischung hatte zuerst schwachen Bromgeruch, der sich aber später verlor.

Jod hob die Wirkung der Diastase auf, bei einer Concentration von 1:4125, die durch Zusatz von 0,6 Cc. einer Jodlösung von 0,04% Jod erreicht wurde. Die Mischung von Diastaselösung und Jod entfärbte sich und beim Uebertragen derselben in den Stärkekleister trat keine Färbung der Stärke ein. Bei einem grösseren Zusatz von Jod färbte sich der Kleister blau. 0,004 grm. Diastase wurden von 0,00024 grm. Jod unwirksam gemacht.

Uebermangansaures Kali. 0,3 Cc. einer Lösung mit einem Gehalt von 0,0003377 übermangansaurem Kali verhinderte die Wirkung der Diastase, oder eine Concentration von 1:2966 in 1 Cc. Flüssigkeit. Die hellröthlich gefärbte Flüssigkeit verfärbte sich und nahm eine gelbliche Färbung an.

Beifolgende Tabelle zeigt die von mir geprüften Antiseptica ihrem Wirkungswerthe nach geordnet. An-

gabe 1) der Concentration des Antisepticums, bei der 0,004 gr. Diastase in 10 Cc. Flüssigkeit unwirksam sind, 2) der absoluten Menge des Antisepticums, die nöthig ist, um 1 grm. Diastase unwirksam zu machen, wobei nur reines Ferment in Betracht kommt, und die 40%₁₀ Dextrin und Feuchtigkeitsgehalt abgezogen wurden.

Zusatz des Antisepticums zur Diastaselösung u. zum Stärkekleister.	Concentration des Antisepticums.	Menge des Antisepticums Ferment = 1
Sublimat	1 : 50000	0,0885
Salzsäure	1 : 10100	0,437
Schwefelsäure	1 : 10100	0,437
Kupfervitriol	1 : 6500	0,708
Natronhydrat	1 : 6000	0,77
Salicylsäure	1 : 5100	0,875
Pierinsäure	1 : 3000	1,54
Tannin	1 : 1160	4,0
Benzoesäure	1 : 1025	4,37
Natroncarbonat	1 : 600	7,7
Borsalicylsaures Natron	1 : 580	8,0
Eisenvitriol	1 : 500	8,75
Chinin	1 : 400	11,66
Zinkvitriol	1 : 200	23,3
Benzoesaures Natron	1 : 100	45,0
Borax	1 : 100	45,0
Carbolsäure	1 : 30	154,1
Salicylsaures Natron	1 : 20	225,0

Zusatz des Antisepticums nur zur Diastaselösung, die Concentration berechnet auf 1 Cc. der Mischung des Antisepticums und der Diastaselösung.

Zusatz des Antisepticums nur zur Diastaselösung.	Concentration des Antisepticums.	Menge des Antisepticums Ferment = 1
Schwefelige Säure	1 : 8600	0,0484
Sublimat.	1 : 8333	0,05
Chlor	1 : 7411	0,0562
Chlorkalk	1 : 6613	0,063
Brom	1 : 5070	0,082
Jod	1 : 4125	0,1
Uebermangansaures Kali	1 : 2960	0,1407
Salicylsäure	1 : 1430	0,291
Kupfervitriol	1 : 833	0,5
Benzoessäure	1 : 333	1,25

Abschwächung der Diastasewirkung, keine Aufhebung derselben bewirkten:

Xanthogensaur. Kali bis zu einer Concentration v. 1 : 75,
 Chloralhydrat " " " " 1 : 15,
 Glycerin " " " " 1 : 2,
 Alkohol " " " " 1 : 3,

Kreosot	} in gesättigten Lösungen oder bei überschüssigem ungelösten Antisepticum.
Kresylsäure	
Benzol	
Toluol	
Xylol	
Eucalyptol	
Thymol	
Zimmtöl	
Senfoel	

Garkeine Wirkung auf die Diastase übten aus:

Essigsäure Thonerde bei einer Concentration von 1 : 380,

Borsäure	}	in gesättigten Lösungen.
Salpeter		
Chlorsaures Kali		
Chloroform		
Schwefelkohlenstoff		

Invertin.

Da mir kein reines Invertin in genügender Menge zu Gebote stand, so bereitete ich mir zu meinen Versuchen Hefewasser. Presshefe aus der Revaler Presshefefabrik wurde im Trockenschrank bei einer Temperatur von 30–40° C. vollständig ausgetrocknet, darauf mit feinem Glaspulver zerrieben und durchgeseibt. 1 grm. des auf diese Weise erhaltenen grauen Pulvers, mehrere Stunden bei 110° C. erwärmt, verlor noch 0,0325 grm. Feuchtigkeit. Der Rückstand wurde dann in einem Porcellantiegel geglüht, bis die Hefe vollständig verbrannte, wobei 0,5047 grm. Glaspulver und Aschenbestandtheile der Hefe zurückblieben. Brachte man die Aschenbestandtheile der Hefe in Rechnung, so konnte man ohne einen grossen Fehler zu begehen, annehmen, dass in 1 grm Hefepulver 0,5 grm. Glaspulver vorhanden waren. Um die Menge der löslichen Substanzen zu finden, wurde 1 grm. des Hefepulvers mit destill. Wasser mehrere Stunden digerirt, dann filtrirt und der Rückstand gewogen. Der Rückstand betrug 0,8310 grm., davon 0,5 grm. Glaspulver abgezogen, gab 0,331 grm. unlösliche Substanzen. 100 Theile reiner getrockneter Hefe enthielten hiermit

Feuchtigkeitsgehalt	6,5 pCt
in Wasser lösliche Substanzen . .	27,3 pCt
in Wasser unlösliche Substanzen	66,2 pCt.

Von den in Wasser löslichen Substanzen war nur ein kleiner Theil Ferment, denn nach *Naegeli*⁵⁴⁾ betragen in 100 Theilen Hefe, Ferment und Extractivstoffe zusammen nur 4^o/₁₀.

Um das Hefewasser zu bereiten, wurden 4 grm. Hefepulver in einem Mörser zuerst mit wenig Wasser möglichst fein zerrieben und darauf so viel destill. Wassers zugesetzt, dass man im ganzen 50 Cc. Flüssigkeit erhielt. Die Mischung wurde unter häufigen Durchschütteln mehrere Stunden stehen gelassen und dann filtrirt. Das Filtrat war leicht trübe, enthielt noch Hefezellen aber nur in geringer Zahl. Bei längerem Stehen setzten sich die Zellen zu Boden, und die drüber stehende Flüssigkeit war fast vollständig klar.

Um die Wirksamkeit dieses Hefewassers zu prüfen, wurden 0,5 Cc. des Filtrats zu 10 Cc. reiner Candiszuckerlösung von 1:100 zugesetzt, das Gemisch eine Stunde lang bei 40° C. erwärmt und darauf die Flüssigkeit mit *Fehling'scher* Lösung geprüft. Candiszuckerlösung allein reducirte nicht die *Fehling'sche* Lösung, erst nach langem Kochen trat eine schwache Verfärbung derselben ein, während die Zuckerlösung nach Einwirkung des Hefewassers eine sehr starke Reduction der alkalischen Kupferlösung hervorrief, auch trat die Reduction noch vor dem Aufkochen der Flüssigkeit ein. Es war also durch das Hefewasser Inversion des Rohrzuckers erfolgt. Beim Erwärmen des Hefewassers allein mit der *Fehling'schen* Flüssigkeit trat keine Reduction des Kupfersalzes ein, es bildete sich nur eine schwach violette Färbung, hervorgerufen durch das im Hefewasser enthaltene Eiweiss.

54) *Naegeli* und *Loew*: Ueber die chemische Zusammensetzung der Hefe. *Annalen der Chemie u. Pharm.*, Bd. 193. 1878. p. 322 und folg.

Die Versuche mit den antiseptischen Stoffen wurden derart angestellt, dass man je 0,5 Cc. Hefewasser mit dem Antisepticum vermischte, die Mischung 2 Stunden stehen liess und dann dieselbe in 10 Cc. Candiszuckerlösung (1:100) übertrug, der man vorher das Antisepticum in derselben Concentration zugesetzt hatte, so dass die Concentration beim Uebertragen nicht verändert wurde. Bei Chlor, Brom, Jod, Schwefel, Säure und übermang. Kali wurden diese Stoffe nur zum Hefewasser zugesetzt, wobei die Angabe der Concentration auf 1 Cc. Mischung von Hefewasser und Antisepticum berechnet wurde. Zum Vergleich wurde ausserdem eine zweite Versuchsreihe mit Natronhydrat, Sublimat, Salicyl- und Benzoesäure gemacht und diese Stoffe auch nur zum Hefewasser zugesetzt. Nach dem Vermischen des Hefewassers mit der Zuckerlösung, erwärmte man die Flüssigkeit in einem Wasserbade von 40° C. eine Stunde lang und prüfte sie dann mit der *Fehling'schen* Lösung auf Invertzucker. Da die Intensität der Reduction von der Menge der zugesetzten Flüssigkeit abhängt, so wurde zu jeder Reaction 0,5 Cc. der zu untersuchenden Flüssigkeit benutzt, und aus der Stärke der Reaction auf die vollkommene oder unvollkommene Inversion des Rohrzuckers schliessen zu können.

Das Resultat meiner Versuche, die ebenso wie mit den beiden vorhergehenden Fermenten angestellt wurden, fasse ich tabellarisch zusammen und will nur einige Stoffe speciell erwähnen.

Hervorzuheben ist, dass die Alkalien und alkalisch reagirenden Salze sich von sehr starker Wirkung auf das Invertin erwiesen. Die alkoholische Gährung findet ebenfalls nicht statt, so lange die Flüssigkeit alkalisch

ist, das Alkali wird aber von der von den Hefezellen producirtcn Säure neutralisirt und unwirksam gemacht, worauf dann die Gährung beginnt. Hier dagegen fand keine Bildung von Säure statt und es genügte daher ein äusserst geringer Zusatz eines Alkalis um die Inversion zu verhindern. Auch die verhältnissmässig starke Wirkung des Borax kann nur seiner Alkaleszenz zugeschrieben werden, da es sonst auf die anderen ungeformten Fermente von keiner besonders starken Wirkung war. Ein den Alkalien entgegengesetztes Verhalten zeigten die Säuren. Da durch Erwärmen mit verdünnten Säuren der Rohrzucker schon allein invertirt wird, so konnte nicht festgestellt werden, ob bei einer gewissen Concentration die Inversion durch Einfluss des Invertins oder durch die Säure stattfand. Bei einer Concentration von 1 : 1000 erfolgte die Inversion am schwächsten und wurde stärker sowohl bei grösserem als auch bei geringerem Zusatz von Säure. Man musste daher annehmen, dass bei dieser Concentration die Wirkung des Invertins von der Säure aufgehoben wurde und die Inversion anfang durch die Säure stattzufinden. Aehnlich den Säuren verhielt sich Kupfervitriol, auch bei diesem Salze lieferten die Versuche keine Resultate und beim Erwärmen der Rohrzuckerlösung nur mit Zusatz von Kupfervitriollösung ohne Hefewasser, fand ebenfalls Inversion des Zuckers statt. —

In den Fällen wo die *Fehling'sche* Probe nicht ausführbar war, suchte man durch Erwärmen mit Kalilauge den Invertzucker nachzuweisen, oder entfernte erst den die Reduction beeinflussenden Stoff. So wurde bei den Versuchen mit Tannin derselbe mit Bleiessig gefällt, aus dem Filtrat das überschüssige Blei mit verdünnter Schwefelsäure entfernt, die filtrirte Flüssigkeit mit Natronhydrat

neutralisirt und darauf die *Fehling'sche* Reaction gemacht. Bei den Versuchen mit übermangansaurem Kali wurde die Flüssigkeit mit dem möglichst geringen Zusatz von schwefeliger Säure entfärbt, und die Flüssigkeit darauf mit Kalilauge erwärmt, wobei sich die Flüssigkeit bei Anwesenheit von Invertzucker gelb färbte. Bei den Versuchen mit Schwefelkohlenstoff und aether. Senfoel wurden diese durch mehrmaliges Ausschütteln mit Petroleumäther entfernt und hierauf die Flüssigkeit mit der *Fehling'schen* Lösung geprüft.

In der nachstehenden Tabelle sind die antiseptischen Stoffe ihrem Wirkungswerthe nach geordnet. In der ersten Rubrik ist die Concentration angegeben, bei der 0,5 Cc. Hefewasser in 10 Cc. Rohrzuckerlösung unwirksam waren, in der zweiten Rubrik ist die Menge des Antisepticums angegeben, die das in 0,5 Cc. Hefewasser enthaltene Invertin unwirksam machte, in der dritten schliesslich, ist die Menge des Antisepticums angegeben, die nöthig ist, um das in 100 gm. frischer Presshefe enthaltene Invertin unwirksam zu machen. Die dritte Rubrik ist in Bezug auf die Arbeit von *Wernicke*⁵⁵⁾ gemacht worden, der die Menge des Antisepticums angegeben hat, die 100 gm. Presshefe unfähig macht Gährung hervorzurufen.

55) l. c. pag 98.

Zusatz des Antisepticums zum Hefewasser u. zur Rohr- zuckerlösung.	Con- centration.	0,5 Cc. Hefe- wasser un- wirksam ge- macht von	100 grm. Presshefe un- wirksam ge- macht von
Natronhydrat	1 : 26000	0,00043	0,565
Sublimat	1 : 17500	0,00064	0,812
Natroncarbonat.	1 : 4100	0,00266	3,498
Borax	1 : 3580	0,00315	4,14
Salicylsäure	1 : 1200	0,01	13,15
Picrinsäure	1 : 1000	0,0105	13,8
Benzoessäure	1 : 400	0,0275	36,16
Borsalicyls. Natron	1 : 170	0,064	84,16
Tannin	1 : 150	0,074	97,31
Eisenvitriol	1 : 100	0,105	138,075
Benzoesaures Natron	1 : 65	0,16	210,40
Zinkvitriol	1 : 50	0,2125	279,4
Chinin	1 : 50	0,2125	279,4
Borsäure	1 : 30	0,355	466,8
Carbolsäure	1 : 34	0,32	420,8
Alkohol	1 : 10	—	—
Glycerin	1 : 2	—	—

Zusatz des Antisepticums nur zum Hefewasser.	Concentra- tion auf 1 Cc. Flüssigkeit berechnet.	0,5 Hefe- wasser un- wirksam ge- macht,	100 grm. Presshefe werden un- wirsm. gem.
Chlor	1 : 5950	0,0001672	0,219
Chlorkalk	1 : 4950	0,000202	0,266
Natronhydrat	1 : 3333	0,0003	0,394
Brom	1 : 2840	0,000352	0,463
Sublimat	1 : 2500	0,0004	0,526
Schwefelige Säure	1 : 1940	0,000463	0,611
Jod	1 : 1700	0,001	1,315
Uebermangansaures Kali	1 : 889	0,001126	1,48
Salicylsäure	1 : 166	0,006	7,89
Benzoessäure	1 : 50	0,02	26,3

Auch hier bedurfte man vom Natronhydrat, Sublimat, Salicylsäure und Benzoessäure weniger, um denselben Effect zu erzielen, wenn man diese Stoffe nur zum Hefewasser

zusetzte, doch sind hier die Unterschiede geringer, als bei den Versuchen mit der Diastase.

Nur eine Abschwächung, keine Aufhebung der Invertinwirkung zeigten:

Salzsäure	}	bei einer Concentration von 1 : 1000,
Schwefelsäure		
Kreosot	}	in gesättigten Lösungen, od. bei überschüssigem Antisepticum.
Kresylsäure		
Thymol		
Eucalyptol		
Zimmtöl		
Benzol		
Toluol		
Nylol		
Aeth. Senföl		

Keine Abschwächung der Invertinwirkung fand sich bei			
Essigsaur. Thonerde	bei einer Concentration von	1 : 100,	
Chloralhydrat	" " "	1 : 20,	
Salicylsaur. Natron .	" " "	1 : 20,	
Chloroform	}	in gesättigten Lösungen.	
Schwefelkohlenstoff			
Chlorsaurem Kali			
Salpeter			

Vergleicht man die Zahlen der dritten Rubrik mit den von *Werncke* erhaltenen, so findet man, dass von den meisten Stoffen eine grössere Menge nöthig war, um das in 100 grm. Hefe enthaltene Invertin unwirksam zu machen, als um 100 grm. Hefe so zu verändern, dass sie die gährungs-erregende Eigenschaft einbüsst. Da man kein isolirtes Invertin benutzte, sondern Hefewasser, in dem überhaupt alle löslichen Hefebestandtheile enthalten waren, so muss man annehmen, dass diese fremden Substanzen einen Theil

des Antisepticums banden und daher grössere Quantitäten sich als nöthig erwiesen, denn nach den anderen Fermenten zu urtheilen, hätte man gerade umgekehrt, geringere Quantitäten bedurft. Möglicherweise sind auch die geformten Fermente, als lebende Zellen, empfindlicher gegen schädliche Einflüsse, als die ungeformten Fermente, die sich mehr wie einfache chemische Körper verhalten. Der Unterschied in der Wirkung einiger Antiseptica auf geformte und ungeformte Fermente, zeigt sich in dieser Versuchsreihe sehr deutlich. Das ätherische Senfoel und das Thymol, das bei *Werncke* in seiner, der Wirkungsstärke nach geordneten Reihe, den 2. resp. 3. Platz einnimmt, übte auf Invertin so gut wie gar keine Wirkung aus, schwächte in gesättigten Lösungen die Wirkung des Invertins nur etwas ab. Dasselbe Verhalten zeigten überhaupt alle zur aromatischen Gruppe gehörenden Stoffe, ausser der Benzoe-, Salicyl- und Carbonsäure, während die chemisch differenten Stoffe wie Chlor, Brom, Jod u. s. w. sich wiederum beim Invertin wirksamer erwiesen als bei den Hefepilzen. Der chemischen Affinität zu Wasserstoff entsprechend, übte die stärkste Wirkung in meinen Versuchen das Chlor aus, dann kam Brom und schliesslich Jod, während bei *Werncke* Jod an der Spitze stand, dem Brom und dann Chlor folgte.

Ptyalin.

Zu den Versuchen mit Ptyalin wurde Speichel benutzt, der im Laufe des Tages gesammelt worden war, ohne besondere Reizung der Mundschleimhaut. Er stellte eine dickliche schwach trübe, leicht schäumende Flüssigkeit dar, die sich bei längerem Stehen schwach gelblich färbte.

Um die für die Versuche geeignete Menge zu finden, wurde 1 Cc. Speichel mit 4 Cc. dest. Wassers vermischt, filtrirt und vom vollständig klaren Filtrat von 1 Cc. bis 0,1 Cc. zu je 10 Cc. Stärkekleister (1 : 25) zugesetzt, und die Mischung bei 40° C. im Wasserbade erwärmt. In der ersten viertel Stunde trat vollständige Verflüssigung des Kleisters ein, auch ging die Zuckerbildung rasch vor sich, so dass nach einer viertel St. in allen Gläsern Zucker nachweisbar war. Die Versuche wurden fortgesetzt, indem 1 Cc. Speichel mit 9 Cc. Wasser verdünnt und hiervon von 1 Cc. bis 0,1 Cc. zum Stärkekleister zugesetzt wurden. Nach einer halben St. war auch hier die Verflüssigung des Kleisters vollständig erfolgt, nur in den Gläsern mit einem Zusatz von 0,3 bis 0,1 Cc. Speichellösung, war die Flüssigkeit noch etwas dicklich und nicht ganz klar. Zucker war nach einer halben St. bei einem Zusatz von 1 Cc. bis 0,4 Cc. Speichellösung nachweisbar, nach 2 Stunden war in allen Gläsern Zucker vorhanden. Mit Jod geprüft, zeigte sich nach 2 Stunden in den Gläsern mit einem Zusatz von 1 Cc. bis 0,5 Cc. Speichellösung die hellgelbe Färbung bei geringem Zusatz war die Färbung braun bis blauviolett, je nach der Menge des zugesetzten Speichels.

0,5 Cc. des bis aufs 10 fache verdünnten Speichels genügten also, um in 2 Stunden 10 Cc. Stärkekleister fast vollständig in Zucker überzuführen.

Bei den Versuchen mit den Antiseptics wurden je 0,5 Cc. Speichellösung (1 : 10) mit dem Antisepticum versetzt, 2 Stunden stehen gelassen und dann die Mischung in 10 Cc. Stärkekleister übergeführt, dem das Antisepticum auch zugesetzt war. Bei den Versuchen mit Chlor, Brom u. s. w. wurde auch hier das Antisepticum nur zur Speichellösung gebracht, und zum Vergleiche der Wir-

kung dieser Stoffe wurden Versuche mit Sublimat, Salicylsäure und noch mehreren anderen Stoffen gemacht, die auch nur zur Speichellösung zugesetzt worden waren. Im übrigen war der Gang der Versuche ganz derselbe wie bei der Diastase, so dass ich die Beschreibung der einzelnen Versuche übergehe und nur die Resultate zusammenfasse.

In der ersten Rubrik der Tabelle ist die Concentration angegeben bei der 0,5 Cc. Speichellösung (1 : 10) in 10 Cc. Stärkekleister unwirksam waren, in der zweiten ist die Menge des Antisepticums angegeben, die das in 1 Cc. Speichel enthaltene Ptyalin unwirksam macht.

Zusatz des Antisepticums zur Speichellösung und zum Kleister.	Concentration des Antisepticums.	1 Cc. Speichel werden un- wirksam ge- macht von
Sublimat	1 : 52060	0,00432
Salzsäure (wasserfreie)	1 : 13500	0,0159
Schwefelsäure	1 : 13500	0,0159
Kupfervitriol	1 : 7500	0,03
Natronhydrat	1 : 6866	0,032
Salicylsäure	1 : 6500	0,0314
Picrinsäure	1 : 3000	0,066
Benzoessäure	1 : 2600	0,086
Tannin	1 : 2050	0,106
Natroncarbonat (crystall.)	1 : 1275	0,1696
Borsalicylsaures Natron	1 : 820	0,266
Chinin	1 : 686	0,32
Eisenvitriol	1 : 510	0,424
Zinkvitriol	1 : 110	2,0
Borax	1 : 100	2,1
Benzoesaures Natron	1 : 80	2,4
Salicylsaures Natron	1 : 35	6,4
Carbolsäure	1 : 25	8,0

Zusatz des Antisepticums nur zur Speichellösung.	Concentration des Antisepticums.	1 Cc. Speichel werden un- wirksam gemacht von
Schwefelige Säure	1 : 8603	0,00232
Chlor	1 : 8510	0,0024
Chlorkalk	1 : 6613	0,003
Sublimat	1 : 6250	0,0032
Brom	1 : 5580	0,0036
Jod	1 : 4166	0,0048
Salzsäure	1 : 4000	0,005
Schwefelsäure	1 : 4000	0,005
Ueermangansaures Kali	1 : 2087	0,009
Natronhydrat	1 : 1333	0,015
Kalicylsäure	1 : 1250	0,016
Kupfervitriol	1 : 833	0,024
Benzoessäure	1 : 285	0,07

Nur Abschwächung der Ptyalinwirkung, keine Aufhebung derselben bewirkten:

Xanthogensaures Kali bei einer Concentration von 1 : 50,
 Chloralhydrat " " " 1 : 20,
 Borsäure " " " 1 : 20,
 Glycerin " " " 1 : 3,
 Alkohol " " " 1 : 2,

Kreosot

Kresylsäure

Benzol

Toluol

Xylol

Eucalyptol

Thymol

Zimmtöl

Senfoel

in gesättigten Lösungen od. bei überschüssigem Antisepticum.

Ganz ohne Wirkung auf das Ptyalin waren:

Essigsäure Thonerde bei einer Concentration von 1 : 120,

Chloroform	}	in gesättigten Lösungen.
Schwefelkohlenstoff		
Salpeter		
Chlorsaures Kali		

Die Resultate stimmen mit den bei der Diastase erhaltenen überein, nur einzelne Stoffe zeigen eine stärkere Wirkung, so z. B. die Schwefel- und Salzsäure, was aber leicht zu erklären ist, da Ptyalin am wirksamsten in schwach alkalischen Lösungen ist und daher ein nur sehr geringer Zusatz von Säure nöthig ist, um die Wirkung des Ptyalin aufzuheben. Die Abschwächung der Ptyalinwirkung bei den Versuchen mit Alkohol ist nur auf die Fällung und daher schwerere Löslichkeit des Stärkekleisters durch den Alkohol zu beziehen, das Ptyalin selbst wird wenig beeinflusst, und in den Versuchen, wo man das 1–4fache Volumen Alkohol nur zur Speichellösung hinzusetzte und diese Mischung in reinen Stärkekleister übertrug, erfolgte die Verflüssigung des Kleisters ebenso rasch wie im Controlversuch ohne Alkoholzusatz.

Pancreatin.

Das von mir benutzte Präparat stammt aus der chemischen Fabrik von Witte in Rostock. Es stellte ein gelbliches Pulver dar, das sich im Wasser nur zum Theil löste. 1 gm. Pancreatin mit dest. Wasser digerirt, dann filtrirt, den Rückstand bei 110° C. getrocknet und gewogen, gab 0,5807 gm. unlösliche Substanzen und nach Abzug des Feuchtigkeitsgehaltes von 0,069 gm. auf 1 gm. 0,3503 gm. lösliche Substanz. Der Rückstand unterm Microscop untersucht, bestand hauptsächlich aus Stärke-

körnchen und dann aus einer mit Jod sich gelb färbenden wahrscheinlich thierischen Substanz. Diese gelben Partikel waren zum Theil frei, zum Theil hafteten sie an den Stärkekörnchen und schieden sich durch ihre Färbung scharf von den durch Jod dunkelblau gefärbten Stärkekörnchen. Das Pancreatin mit verdünnter Salzsäure längere Zeit gekocht, lieferte 46,2% Trauben-Zucker. Berücksichtigt man den Feuchtigkeitsgehalt der zugesetzten Stärke, so ist es wahrscheinlich, dass bei Bereitung des Präparates das Ferment mit gleichen Theilen Amylon versetzt worden ist. Durch das nachherige Trocknen des Präparates, wurde ein Theil des Pancreatins unlöslich. — Die Vorversuche, die ich mit dem Präparat anstellte, zeigten, dass dasselbe von nur geringer Wirkung war, die Umwandlung der Stärke in Zucker fand langsam und nur bei grösserem Zusatz von Pancreatin statt. Da mir auch nur eine geringe Menge vom Präparat zur Verfügung stand, so blieben die Versuche auf einige Antiseptica beschränkt.

Die Versuche wurden in derselben Weise wie bei der Diastase und beim Ptyalin ausgeführt. 1 grm. Pancreatin wurde mit 12,5 Cc. dest. Wassers 2 Stunden digerirt, darauf filtrirt und vom Filtrat 0,5 Cc. zu jedem Versuch auf 10 Cc. Stärkekleister (1 : 25) zugesetzt, so dass das Verhältniss von Pancreatin zur Stärke wie 1 : 10 war, oder nach Abzug der unlöslichen Substanz wie 1 : 30. Auch bei diesem Verhältniss erfolgte die Verflüssigung des Kleisters langsamer, war nicht so vollständig wie bei den Versuchen mit der Diastase. Auf jeden Versuch kamen 0,04 Pancreatin oder 0,014 lösliche Substanzen.

Sublimat zur Pancreatinlösung und zum Stärkekleister zugesetzt, hob die Pancreatinwirkung bei einer Concen-

tration von 1: 21600 auf, die durch einen Zusatz von 0,00049 grm. Sublimat erreicht wurde. 0,014 grm. Ferment bedurften 0,00049 Sublimat, 1 grm. Ferment mithin 0,035 grm. Sublimat um unwirksam gemacht zu werden. Bei einer doppelt so grossen Menge von Pancreatin wurde die Wirkung des Fermentes bei einer Concentration von 1: 13300 gehemmt. 0,028 Pancreatin wurden von 0,00086 grm. Sublimat oder 1 grm. Ferment von 0,0307 gr. Sublimat unwirksam gemacht.

Kupfervitriol zeigte eine hemmende Wirkung auf das Pancreatin bei einer Concentration von 1: 6600, so dass 1 grm. Ferment von 0,125 Kupfervitriol unwirksam gemacht wurden.

Essigsäure Thonerde übte bei stärkeren Concentrationen nur eine abschwächende Wirkung auf das Pancreatin aus, die Verflüssigung des Kleisters erfolgte langsamer und war unvollständiger als im Controlversuch.

Salicylsäure verhinderte die Pancreatinwirkung bei einer Concentration von 1: 9000, die man durch Zusatz von 0,00116 Salicylsäure erhielt. 1 grm. Ferment wurde also von 0,084 grm. Salicylsäure unwirksam gemacht.

Benzoësäure wirkte hemmend auf das Pancreatin bei einer Concentration von 1: 2600, wobei 0,0043 Benzoësäure verbraucht wurden, so dass 1 grm. Ferment von 0,3 grm. Benzoësäure unwirksam gemacht wurden.

Thymol übte auf das Pancreatin eine stärkere Wirkung aus, als auf die andern Fermente. War die Flüssigkeit mit Thymol gesättigt, so wurde der Kleister nicht verflüssigt.

Schwefelkohlenstoff im Ueberschuss zugesetzt, schwächte die Wirkung des Pancreatins ab, hob sie aber nicht auf.

Alkohol bewirkte bei einem Zusatz von 1 Theil auf 3 Theile Flüssigkeit, eine Fällung der Stärke und die gefällte Stärke löste sich nach Zusatz der Pancreatinlösung nicht mehr auf.

Zusatz des Antisepticums zur Pancreatinlösung u. zum Kleister.	Concentration des Antisepticums.	1 gr. Ferment wurde unwirksam gemacht von
Sublimat	1 : 21600	0,035
Salicylsäure	1 : 9000	0,084
Kupfervitriol	1 : 6600	0,125
Benzoesäure	1 : 2600	0,3
Alkohol	1 : 3	—
Thymol	in gesättigter Lösung.	
Schwefelkohlenstoff	Abschwächung der Fermentwirkung.	
Essigsäure Thonerde		

Pepsin.

Pepsin aus der chemischen Fabrik von Witte in Rostok, mit der Signatur plane soluble, sine saccharo, stellte ein braunes in Wasser zum grössten Theil lösliches Pulver dar. Die Lösung war schwach trübe, opalescirend, klärte sich aber vollständig von Zusatz von Salzsäure. Feuchtigkeit enthielt das Pulver 7,3₀, der unlösliche Rückstand betrug 0,04%.

Zu meinen Versuchen bereitete ich mir Blutfibrin durch Ausschlagen von frischem Blut und Entfernen des Blutfarbstoffs durch Auswaschen mit Wasser. Um das so erhaltene Blutfibrin vor Fäulniss zu schützen, wurde es gesalzen und an einem kühlen Orte aufbewahrt. Jeden Tag wurde dann die nöthige Menge mit Wasser ausgewaschen, bis alles Salz entfernt war und das Fibrin zwi-

schen Fließpapier so lange getrocknet, bis letzteres keine Feuchtigkeit mehr aufnahm. Dieses feuchte Fibrin enthielt noch 72,2% Feuchtigkeit und 27,8% trockenen Rückstand.

Um die möglichst kleinste Menge Pepsin zu finden, die in einer gewissen Zeit (2—3 Stunden) eine gewisse Menge Fibrin auflöst, stellte ich Versuche mit verschiedenen Pepsinmengen an. Es wurde von 0,001—0,005 gm. Pepsin in je 10 Cc. dest. Wasser aufgelöst, und dazu 0,1 Cc. Salzsäure von 33% und 0,5 gm. Fibrin zugesetzt und die Mischung in einem Wasserbade bei 40° C. erwärmt. Die Fibrinflocken quollen zuerst auf und lösten sich dann allmählich auf, so dass nach zwei Stunden fast alles Fibrin gelöst war, wobei die Flüssigkeit trübe, schwach gelblich und etwas dickflüssiger wurde. Bei einem Gehalt von 0,001 gm. Pepsin erfolgte die Auflösung des Fibrins etwas langsamer als bei grösserem Zusatz von Pepsin, nach 2 Stunden war aber auch hier bis auf einzelne kleine Flocken das Fibrin gelöst. Die Trübung konnte man als das beste Zeichen der beginnenden Auflösung ansehen, auch konnte das Pepton durch Tannin oder nach vorhergehendem Neutralisiren durch Fällen mit Alkohol direct nachgewiesen werden. Zur Controlle wurde Fibrin nur mit verdünnter Salzsäure bei 40° C. mehrere Stunden erwärmt und in dieser Flüssigkeit konnte durch Tannin keine Fällung hervorgerufen werden.

Zu den Versuchen mit den antiseptischen Stoffen, wurde das Verhältniss von 0,001 gm. Pepsin auf 0,5 gm. Fibrin gewählt, also 1 Pepsin zu 500 Fibrin, oder nach Abzug des Feuchtigkeitsgehaltes des Fibrin wie 1:140.

Zu einer Lösung von 0,001 gm. Pepsin in 10 Cc. Wasser wurde das Antisepticum in verschiedenen Mengen zugesetzt, die Mischung 2 Stunden stehen gelassen, darauf

zu jedem Fläschchen 0,1 Cc. Salzsäure von 33% und 0,5 grm. Fibrin zugesetzt, das Gläschen in ein Wasserbad von 40° C. gebracht und beobachtet, bei welcher Concentration das Antisepticum die Auflösung des Fibrins verhinderte. Da man Salzsäure zusetzen musste, so mussten die Versuche mit den Alkalien und manchen Salzen fortbleiben.

Die beim Pepsin erhaltenen Resultate wichen in manchen Stücken von den mit den andern Fermenten erhaltenen Resultaten ab, daher beschreibe ich die einzelnen Stoffe ausführlicher.

Sublimat. Auffallend war die verhältnissmässig schwache Wirksamkeit des Sublimats auf Pepsin. Beim Zusatz des Sublimats zur Pepsinlösung trübte sie sich stärker, doch verschwand diese Trübung wieder auf Zusatz der Salzsäure. Bei einem Verhältniss von 1 Cc. — 0,6 Cc. einer 1%igen Lösung von Sublimat auf 0,001 grm. Pepsin in 10 Cc. Flüssigkeit war die Auflösung des Fibrins verhindert, die Flüssigkeit blieb klar oder trübte sich höchstens sehr schwach. Bei einem Zusatz von 0,5 — 0,4 Cc. war die Trübung deutlich, aber der grössere Theil des Fibrins war noch ungelöst, bei einem noch geringeren Zusatz war die Flüssigkeit trübe und der grösste Theil der Fibrins hatte sich gelöst.

Eine Concentration von 1 : 1766 verhinderte die Wirkung des Pepsins, oder 0,001 grm. Pepsin brauchten 0,006 grm. Sublimat, um unwirksam gemacht zu werden. Während bei den anderen Fermenten die Menge des Sublimats viel geringer ist, als die des Ferments, brauchte man bei diesen Versuchen die 6fache Menge Sublimat, um das Ferment unwirksam zu machen.

Bei Versuchen die mit der 5fachen Pepsinmenge, also mit 0,005 grm. Pepsin in jedem Versuch gemacht wurden,

erhielt man dasselbe Resultat. Um 0,005 grm. Pepsin unwirksam zu machen, brauchte man 0,8 Cc. einer 4%igen Sublimatlösung, das Verhältniss von Pepsin zu Sublimat also wieder wie 1 : 6.

Kupfervitriol verhielt sich ähnlich dem Sublimat, auch hier war eine verhältnissmässig grosse Menge von Kupfervitriol erst im Stande das Ferment unwirksam zu machen, 1 Cc einer 10%igen Kupfervitriollösung also eine Concentration von 1 : 110 erreichte diesen Zweck. Um einen Theil Ferment zu binden, bedurfte man mithin 110 Theile Kupfervitriol. Da man nicht annehmen kann, dass das Aequivalentgewicht des Pepsins 100 mal kleiner ist, als das des Kupfervitriols, so muss man schliessen, dass das Pepsin vom Kupfervitriol nicht weiter verändert wird, dass er vielleicht bei Anwesenheit grösserer Mengen das Fibrin imprägnirt und dadurch schliesslich die Auflösung verhindert. Dafür spricht wenigstens der Umstand, dass bei Anwendung der 5fachen Menge von Pepsin, die Pepsinwirkung bei derselben Concentration aufgehoben wurde.

Eisenvitriol zeigte eine noch schwächere Wirkung und erst ein Zusatz von 0,2 grm. Eisenvitriol auf 10 Cc. Flüssigkeit war im Stande die Pepsinwirkung aufzuheben, also eine Concentration von 1 : 50, oder das Verhältniss von Pepsin zu Eisenvitriol wie 1 : 200. Dieselbe Concentration genügte um die Wirkung von 0,005 grm. Pepsin zu verhindern.

Zinkvitriol. Eine Concentration von 1 : 50 schwächte die Wirkung des Pepsins nur ab und erst eine Concentration von 1 : 33, erreicht durch Zusatz von 0,3 grm. Zinkvitriol auf 10 Cc. Flüssigkeit, hob sie auf. Ein sehr kleiner Theil des Fibrins hatte sich auch bei dieser Concentration gelöst, so dass die Flüssigkeit sehr schwach

trübe erschien. Bei Anwendung der 5fachen Menge Pepsins war die Trübung stärker, es hatte sich mithin mehr Fibrin aufgelöst.

Borsäure lieferte beim Pepsin dieselben Resultate wie bei den andern Fermenten. Ein Zusatz von überschüssiger Borsäure wirkte nicht einmal abschwächend auf das Pepsin, die Auflösung des Fibrins erfolgte ebenso rasch, wie im Controlversuch.

Alkohol. Ein Zusatz von 1 Cc. absoluten Alkohols auf 10 Cc. Flüssigkeit mit 0,001 grm. Pepsin, beeinflusste garnicht die Wirkung des letzteren, 1,5 Cc. Alkohol schwächte sie ab, 2 Cc. hob sie ganz auf, die Flüssigkeit blieb klar, das Fibrin ungelöst. Da die Pepsinmenge eine sehr geringe war, so konnte nicht beobachtet werden, ob eine Fällung des Pepsins durch Alkohol hervorgerufen wird, doch ist die aufgehobene Wirkung desselben nicht anders zu erklären.

Carbolsäure übte auf Pepsin eine etwas stärkere Wirkung als auf die andern Fermente aus, bei einer Concentration von 1:70 war nur ein kleiner Theil Fibrin gelöst, bei 1:50 war die Flüssigkeit vollkommen klar, das Fibrin unverändert, während bei den andern Fermenten erst eine 4—5% ige Lösung die Fermentwirkung aufhob.

Buchenholz-Theerkreosot verhinderte die Pepsinwirkung bei einer Concentration von 1:65; bei 1:85 war sie noch bedeutend abgeschwächt. Bei einer Concentration von 1:65 war die Flüssigkeit trübe, aber vom ungelösten Kreosot, denn vom Fibrin hatte sich nichts gelöst.

Kresylsäure zeigte dasselbe Verhalten wie Kreosot, auch hier war die Pepsinwirkung bei einer Concentra-

tion von 1 : 65 aufgehoben, wobei die Flüssigkeit schwach röthlich gefärbt und trübe von ungelöster Kresylsäure war.

Picrinsäure erwies sich dem Pepsin gegenüber recht wirksam. Bei Zusatz von 1,5—1,25 Cc. einer 1%igen Lösung auf 10 Cc. Flüssigkeit, oder bei einer Concentration von 1:900, war die Pepsinwirkung noch vollständig aufgehoben, die Flüssigkeit blieb klar, das Fibrin ungelöst. Bei Zusatz von 1 Cc. Picrinsäurelösung zeigte sich eine theilweise Auflösung der Fibrinflocken, wobei die Flüssigkeit sich trübte. 0,001 grm. Pepsin waren von 0,0125 grm. Picrinsäure unwirksam gemacht.

Salicylsäure. Bei den Versuchen mit dieser Säure wandte ich verschiedene Mengen von Pepsin an, von 0,001—0,005 grm. auf je 10 Cc. Flüssigkeit. In allen Versuchen war nur dann die Pepsinwirkung aufgehoben, wenn die Flüssigkeit mit Salicylsäure gesättigt war und zwar bei 40° C. gesättigt, bei welcher Temperatur die Versuche angestellt wurden. Es war also eine Concentration von 1:200—250 nöthig, um die Wirkung des Pepsins zu verhindern. Bei einer geringeren Concentration war die Pepsinwirkung nur abgeschwächt, oder verlangsamt, nicht aufgehoben. Diese Resultate stimmen überein mit denen von *Jul. Müller*⁵⁶⁾, der ebenfalls gefunden hatte, dass die Pepsinwirkung durch Sal. bei einer Concentration von 1:250 so gut wie aufgehoben wird.

Benzoessäure gab ganz dasselbe Resultat wie die Salicylsäure. Auch hier musste die Flüssigkeit mit Benzoessäure gesättigt sein, wollte man die Pepsinwirkung aufheben. Die in der Kälte trübe Flüssigkeit wurde beim Erwärmen klar und das Fibrin veränderte sich

56) Jahrb. f. pract. Chem. N. F. X., pag. 414.

nicht weiter. Gesättigt war die Lösung bei 40° C., bei einer Concentration von ungefähr 1:200.

Tannin. Obgleich vom Tannin angegeben wird, dass es Pepsin fälle, so zeigte es in meinen Versuchen doch eine nur sehr schwache Wirkung. Durch Zusatz der Tanninlösung zur Pepsinlösung konnte man keine Trübung bemerken, vielleicht wegen der sehr geringen Menge von Pepsin. Setzte man darauf nach 2 St. die Salzsäure und das Fibrin hinzu, so löste sich der grössere Theil des Fibrins allmählich auf, wobei das im Ueberschuss vorhandene Tannin eine Fällung des Peptons bewirkte. Bei einem Gehalt von 0,1—0,2 grm. Tannin in 10 Cc. Flüssigkeit mit 0,001 grm. Pepsin war die Wirkung des letzteren nur abgeschwächt.

Benzol, Toluol, Xylol, Thymol, Eucalyptol, Zimmtöl
Alle diese Stoffe verhielten sich der Wirkung nach gegen das Pepsin ganz gleich, wie ich es auch schon bei den andern von mir untersuchten Fermenten gefunden hatte. Die gesättigten oder das Antisepticum im Ueberschuss enthaltenden Lösungen trübten sich beim Erwärmen mit Fibrin und Salzsäure bedeutend stärker, wahrscheinlich durch Fällen der Peptone, so dass die Flüssigkeiten fast milchig wurden. Die Fibrinflocken lösten sich dabei zum grössten Theil auf, nur eine geringe Abschwächung der Pepsinwirkung war vorhanden.

Chinin übte in der Concentration, in der ich es anwandte, bis 1:60 fast gar keinen Einfluss aus, das Fibrin löste sich nur etwas langsamer, als im Controlversuch auf.

Glycerin schwächte bei einem Verhältniss von 1:3 die Pepsinwirkung etwas ab, hob sie aber nicht auf.

Chloroform. Im Gegensatz zu den andern Fermenten zeigte das Chloroform bei den Versuchen mit Pepsin eine

bedeutend stärkere Wirkung, während es auf Emulsin, Diastase u. s. w. gar keine Reaction ausübte, hemmte es in einer gesättigten Lösung bei 1 : 60 die Pepsinwirkung vollständig. Die Flüssigkeit blieb klar, das Fibrin ungelöst. Bei 1 : 70 war schon deutliche Trübung vorhanden, bei 1 : 100 hatte sich der grössere Theil des Fibrins gelöst.

Chloralhydrat hemmte die Wirkung des Pepsins erst vollständig bei Zusatz von 1 gm. Chloralhydrat auf 10 Cc. Flüssigkeit, also bei einer Concentration von 1 : 10. Bei einer Concentration von 1 : 20 hatte sich der grössere Theil des Fibrins gelöst.

Aetherisches Senfoel verhinderte in gesättigter Lösung oder bei Anwendung des Antisepticums im Ueberschuss nicht die Auflösung des Fibrins, die Auflösung erfolgte nur etwas langsamer und unvollständiger.

Schwefelkohlenstoff verhinderte ebenfalls nicht die Pepsinwirkung. Die Mischung trübte sich beim Erwärmen sehr stark, wurde milchig, wobei sich ein weisser Bodensatz bildete. Das Fibrin wurde zum grössten Theil gelöst.

Schwefelige Säure. Benutzt wurde eine Lösung mit 1,025 % Gehalt. 0,8 Cc. dieser Lösung zu 10 Cc. Flüssigkeit mit 0,001 gm. Pepsin zugesetzt, hob die Wirkung des letzteren auf, das Fibrin veränderte sich nicht, die Flüssigkeit blieb klar. Eine Concentration von 1 : 1317 genügte, um das Ferment unwirksam zu machen.

Chlor erwies sich von derselben Wirksamkeit auf das Pepsin, wie auf die andern Fermente, so dass bei einer Concentration von 1 : 27167 die Wirkung des Fermentes aufgehoben war. Diese Concentration war erreicht durch

Zusatz von 1 Cc. Chlorwasser mit 0,04049 ‰ Chlor. 1 Theil Ferment wurde mithin unwirksam gemacht von 0,4 Theilen Chlor.

Brom wirkte etwas schwächer als Chlor, so dass eine Concentration von 1 : 16777, erreicht durch Zusatz von 0,2 Cc. Bromwasser mit 0,304 ‰ Brom, die Wirkung des Pepsins aufhob. 1 Theil Ferment war von 0,6 Theilen Brom unwirksam gemacht.

Jod wirkte noch schwächer und hob die Pepsinwirkung erst bei einer Concentration von 1 : 7817 auf, so dass ein Theil Ferment von 1,35 Jod unwirksam gemacht wurden. Benutzt wurde eine alkoholische Jodlösung mit 0,226 ‰ Jod, von der man 0,6 Cc. zur Erreichung der oben genannten Concentration bedurfte.

Uebersmangansäures Kali. Die Mischung von Pepsinlösung und übermangansäurem Kali verfärbte sich, wurde mehr röthlich und nach Zusatz des Fibrins und der Salzsäure vollständig farblos. Bei einer Concentration von 1 : 15690 war die Flüssigkeit klar, das Fibrin unverändert, bei geringerer Concentration löste sich ein Theil des Fibrins. 1 Theil Ferment wurde mithin von 0,67 Theilen übermangansäuren Kalis unwirksam gemacht.

Beifolgende Tabelle zeigt die ihrem Wirkungswerthe nach geordneten Antiseptica. 1) Concentration des Antisepticums bei der 0,001 grm. Pepsin in 10 Cc. Flüssigkeit unwirksam waren. 2) Menge des Antisepticums in Grammen, die 1 grm. Pepsin unwirksam macht.

Antiseptica.	Concentration.	1 grm. Ferment un-wirksam gemacht.
Chlor	1 : 27167	0,4
Brom	1 : 16777	0,6
Uebermangansaures Kali	1 : 15690	0,67
Jod	1 : 7817	1,35
Sublimat	1 : 1766	6,0
Schwefelige Säure	1 : 1317	8,2
Picrinsäure	1 : 900	12,5
Salicylsäure	1 : 250	—
Benzoessäure	1 : 200	—
Kupfervitriol	1 : 110	—
Kreosot	1 : 65	—
Kresylsäure	1 : 65	—
Chloroform	1 : 60	—
Eisenvitriol	1 : 50	—
Carbolsäure	1 : 50	—
Zinkvitriol	1 : 33	—
Chloralhydrat	1 : 10	—
Alkohol	1 : 6	—

Eine Abschwächung, keine Aufhebung der Pepsinwirkung bewirkten:

Tannin bei einer Concentration von 1 : 50,

Benzol

Toluol

Xylol

Thymol

Eucalyptol

Zimmtöl

} in gesättigten Lösungen oder bei überschüssigem Antisepticum.

Chinin bei einer Concentration von 1 : 50,

Glycerin " " " 1 : 3,

Senfoel

Schwefelkohlenstoff

Borsäure

} in gesättigten Lösungen od. bei überschüssigem Antisepticum.

Labferment.

Anhangsweise erwähne ich hier einige Versuche, die ich mit dem Labferment anstellte. Ich benutzte Labpulver aus der chemischen Fabrik von Witte in Rostock, von dem nach Angabe des Fabrikanten ein Pulver, das 0,6 grm. wog, genügt, um 100 Kilogramm Milch zu coaguliren. Das Pulver war von hellgrauer Farbe, löste sich zum grössten Theil in Wasser, die Reaction der Lösung war deutlich sauer. Setzte man von dem Pulver in dem oben angegebenen Verhältniss (ungefähr 1 : 80000) zur frischen Milch, so trat beim Erwärmen auf 30 — 40° C. in 5 — 10 Minuten vollständige Gerinnung der Milch ein. Das geronnene Casein schied sich in einem festen Klumpen aus, der allmählich schrumpfte und sich vom schwachtrüben Milchserum schied.

Bei den Versuchen mit den antiseptischen Stoffen löste ich 0,001 grm. Labferment in 1 Cc. Wasser, setzte verschiedene Mengen vom Antisepticum hinzu, übertrug nach 2 Stunden die Mischung in 10 Cc. frischer Milch und beobachtete, ob bei einer Temperatur von 40° C. die Gerinnung der Milch eintrat. Bei allen Versuchen wurden Controlversuche gemacht, in denen die Milch nur mit dem Antisepticum erwärmt wurde. Bewirkte das Antisepticum an und für sich Gerinnung der Milch, so wurden die Versuche mit dem betreffenden Stoffe nicht weiter verwertbet. Ausdrücklich hebe ich hervor, dass diese Versuche bei einer Temperatur von 40° C. gemacht wurden und nur für diese Temperatur Giltigkeit haben, da nach den Untersuchungen von Prof. *Alex. Schmidt*⁵⁷⁾

57) Ein Beitrag zur Kenntniss der Milch. Dorpat 1874. pag. 18 und folg.

des Labferment bei verschiedenen Temperaturen zur Wirkung kommt, je nach der sauren oder alkalischen Reaction der Flüssigkeit. Ich kann daher nicht von einer Aufhebung der Wirksamkeit des Fermentes sprechen, sondern nur von einer Verhinderung der Gerinnung bei der oben angegebenen Temperatur.

In der beifolgenden Tabelle ist die Concentration des Antisepticums angegeben, bei der die Gerinnung der Milch verhindert wurde, bei 0,001 grm. Ferment und 10 Cc. Milch.

Brom verhinderte bei einer Concentration von 1 : 31100				
Chlorkalk	"	"	"	1 : 28400
Natronhydrat	"	"	"	1 : 22000
Natroncarbonat	"	"	"	1 : 4100
Borax	"	"	"	1 : 1000
Sublimat	"	"	"	1 : 720
Carbolsäure	"	"	"	1 : 100
Tannin	"	"	"	1 : 100
Borsalicyls. Natron	"	"	"	1 : 75
Salicyls. Natron	"	"	"	1 : 50
Benzoosaur. Natron	"	"	"	1 : 50
Zinkvitriol	"	"	"	1 : 20

Die Gerinnung der Milch wurde nicht verhindert von

Salicylsäure	bis zu einer Concentration von 1 : 333,
Benzoessäure	" " " " 1 : 300,
Kupfervitriol	" " " " 1 : 200,
Eisenvitriol	" " " " 1 : 100,
Picrinsäure	" " " " 1 : 500,
Chloroform	} in gesättigten Lösungen od. bei überschüssigem Antisepticum.
Benzol	
Toluol	

Thymol } in gesättigten Lösungen oder bei überschüssi-
 Borsäure } gem Antisepticum.

Aus dieser Versuchsreihe sieht man, dass alle Säuren und sauer reagirenden Salze gar keine oder nur eine sehr schwache Wirkung auf das Ferment ausübten, während bei den Alkalien und alkalisch reagirenden Salzen die Grenze für die Wirksamkeit sehr weit lag. Dass aber von den Alkalien das Ferment selbst wenig alterirt wurde, sondern die Bedingungen nur, unter denen die Gerinnung erfolgt, ungünstig gestaltet wurden, konnte man daraus sehen, dass bei geringem Zusatz eines Alkalis die Gerinnung bei einer höheren Temperatur erfolgte. Beim Brom und Chlorkalk war das Ferment selbst unwirksam gemacht, denn obgleich die Flüssigkeit sauer reagirte, trat die Gerinnung auch beim Erwärmen bis auf 80° nicht ein.

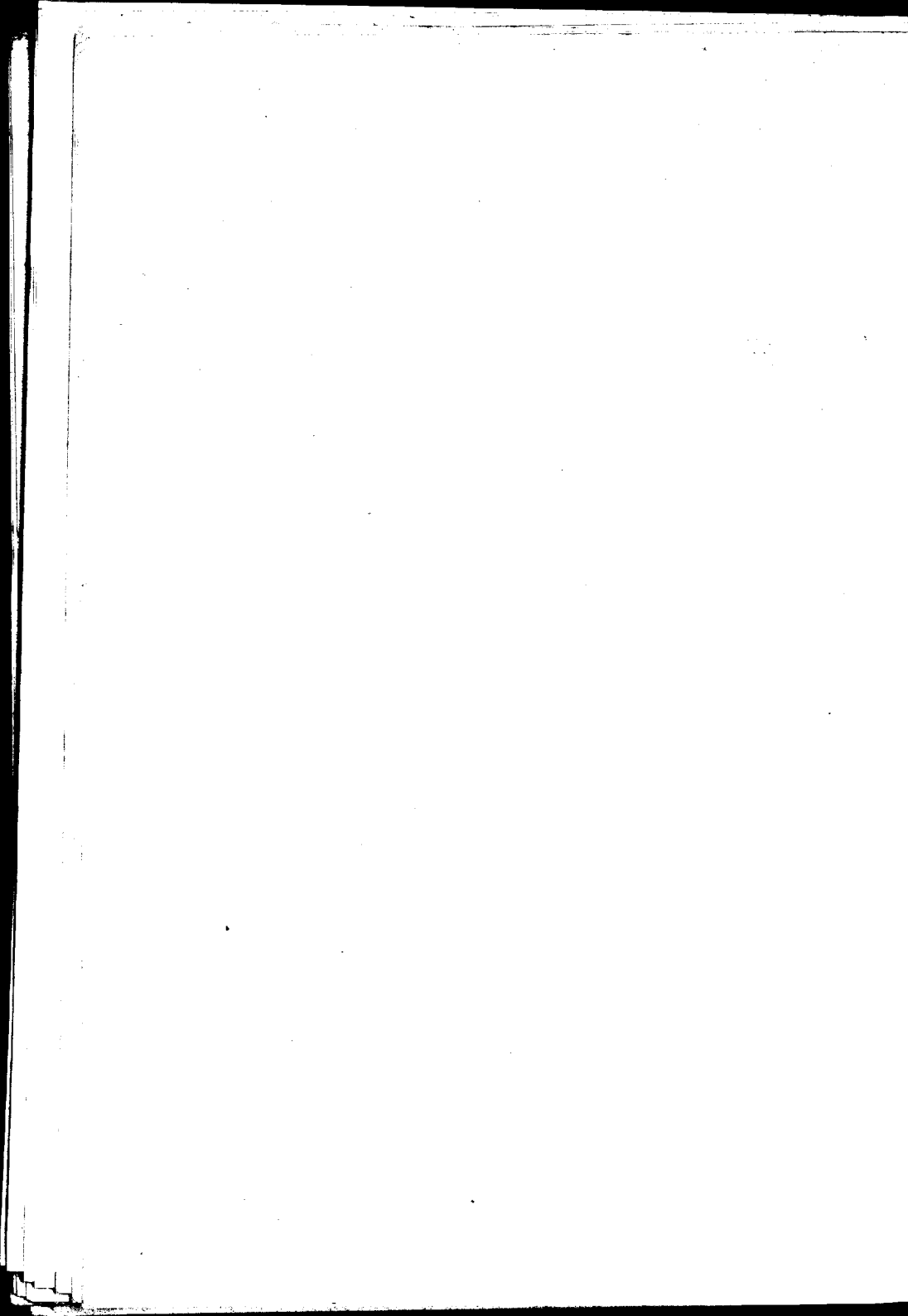
Fasst man die Ergebnisse meiner Untersuchungen zusammen und vergleicht sie mit den von *Buchholtz*, *Kühn* und *Werncke* erzielten Resultaten, so zeigen sich manche Verschiedenheiten im Verhalten der Antiseptica gegen geformte und ungeformte Fermente. Vor allem scheint die Bezeichnung chemische Fermente für ungeformte eine wohlbegründete zu sein, die Wirkung der ungeformten Fermente ist ein rein chemischer Process und dieser Process wird daher äusserst leicht von chemisch activen Stoffen alterirt. Man findet hier nicht eine Wirkung von Stoffen, die man nur als sogen. spezifische Wirkung bezeichnen könnte, wie z. B. die essigsäure Thonerde, das Thymol, das äther. Senfoel specifisch auf Bacterien resp. Hefepilze wirken. Einen antiseptischen Stoff, der auf die ungeformten Fermente ganz wirkungslos, und zugleich auf die geformten sehr wirksam wäre, habe

ich nicht finden können, so dass sich die Angabe von *Müntz*, dass das Chloroform ein Unterscheidungsmittel für geformte und ungeformte Fermente ist, nicht durchführen lässt. Dennoch ist man aus dem allgemeinen Verhalten eines Fermentes gegen Antiseptica berechtigt zu entscheiden, ob das Ferment zu den geformten oder zu den ungeformten gehört. So glaube ich verliert die von einigen Autoren gemachte Angabe, dass es möglich sei aus den Hefezellen ein chemisches Ferment zu gewinnen, das in Zuckerlösung die alkoholische Gärung erzeugt, nach dem Verhalten der Hefe gegen Antiseptica an Wahrscheinlichkeit. Wäre ein solches ungeformtes Ferment der Grund der alkoholischen Gärung, so müsste es sich doch wohl gegen die antiseptischen Stoffe, dem Invertin gleich, verhalten, während die gährungserregenden Eigenschaften der Hefe von Stoffen alterirt werden, die auf das Invertin, wie auch auf die andern ungeformten Fermente, keinen Einfluss ausüben.

Sehr wirksam gegen alle Arten von Fermenten erwiesen sich Chlor, Brom, Jod, schwefelige Säure und Sublimat und minimale Mengen dieser Substanzen sind schon im Stande die Wirkung des Fermentes aufzuheben. Auch die Salicylsäure, wenn auch von schwächerer Wirkung als die genannten Stoffe, übt doch noch einen recht starken Einfluss auf alle Fermente aus. Das Thymol, äthersch. Senfoel, Kreosot und viele andere Stoffe wirken sehr stark nur auf die geformten Fermente, auf die ungeformten fast garnicht, während benzoesaures Natron und essigsäure Thonerde nur auf die Bacterien eine stärkere Wirkung ausübten, auf Hefepelze und ungeformte Fermente fast wirkungslos waren. Bei der Wahl eines Antisepticums muss man theoretisch demjenigen den Vorzug

geben, das auf alle Arten von Fermenten sich von kräftiger Wirkung zeigt und diese Bedingung erfüllt am vollkommensten die Salicylsäure, wenn sie auch in der Praxis hauptsächlich ihrer Schwerlöslichkeit wegen nicht die anderen Antiseptica verdrängt hat. Die Salze der Salicylsäure dagegen, die leicht löslich sind, besitzen als Antiseptica nur sehr geringen Werth.





THESEN.

1. Das beste Unterscheidungsmittel für geformte und ungeformte Fermente sind die Antiseptica.
 2. Die innere Anwendung von Mitteln, die zu den antiseptischen gehören, ist zu vermeiden.
 3. Beim Typhus exanthem. ist die Beobachtung des Pulses wichtiger, als die der Temperatur.
 4. Zur Diagnose Typhus recurrens genügt der Symptomencomplex des einzelnen Anfalls; auch wenn kein Rückfall erfolgt.
 5. Die Wirkung des Argent. nitric. bei Magenkrankheiten ist keine örtliche.
 6. Eine Desinfection der Luft ist nicht möglich.
-



14821