

daß Margarine, die außer Palmfett auch tierisches Fett enthält, eine Refraktion zwischen 38 und 53 zeigen muß, und zwar werden sich die gefundenen Werte mehr der Zahl 38 nähern, wenn vorwiegend Pflanzenfette zur Herstellung verwendet wurden; dagegen werden die Zahlen näher beim Skalenteil 53 liegen, wenn tierische Fette in der Margarine überwiegen.

Cocosfett besitzt von allen bis jetzt untersuchten Speisefetten den niedrigsten Brechungsindex. Daher kann in einem Speisefett, bei dem die Refraktion den Wert 35,5 nicht überschreitet, ohne weiteres die Abwesenheit anderer Fette als erwiesen angenommen werden.

Bei Kakao butter wird man oft schon durch die einfache Vorprobe der Bestimmung der Refraktion einen Fingerzeig bekommen hinsichtlich der Art der etwa vorhandenen Verfälschungen.

Die refraktometrische Untersuchung von Muskat butter läßt eine Reihe von Verfälschungen erkennen; so erniedrigt ein Zusatz von Schweinefett, Kakaofett, Cocosfett, Olivenöl, Rinds- und Hammeltalg den Brechungsindex, während dieser Wert durch Lanolin, Paraffin, Vaseline und Wachs erhöht wird. Auf den Unterschied in der Refraktion des Fettes aus Bandamacia (76—82 Skalenteile = 1,4760—1,4795) und aus Bom bay macis (48—49 Skalenteile = 1,4579—1,4586) sei besonders aufmerksam gemacht.

Durch die refraktometrische Untersuchung des Schweinefettes wird man häufig in die Lage versetzt, sofort zu unterscheiden, ob ein reines oder ein verfälschtes Erzeugnis vorliegt; nur bei geringen Zusätzen von Talg (Rinds- oder Hammeltalg) versagt das Verfahren. Die Refraktionszahl von reinem Schweinefett liegt zwischen 48,5 und 51,5 Skalenteilen bei 40°. Mit größter Wahrscheinlichkeit ist anzunehmen, daß diesen Refraktionswerten Jodzahlen von 48—69 entsprechen. Ganz besondere Beachtung verdient die bekannte Tatsache, daß bei reinen, aber ranzigen Schweinefetten die Jodzahl erheblich sinkt, die Refraktion dagegen steigt. Aus diesen Gründen darf man bei stark ranzigen Schweinefetten erst die erwähnten Werte bestimmen, nachdem sie durch entsprechende Behandlung entsäuert sind.

Ein Zusatz von Mineralölen zu den vorgenannten Fetten würde sich durch die Bestimmung der Refraktion in Verbindung mit der Verseifungszahl meistens leicht zu erkennen geben.

Aus einer großen Anzahl von Untersuchungen ergibt sich, daß das Brechungsvermögen der nicht trocknenden Öle niedriger ist als dasjenige der trocknenden Öle. Ferner ist diese Kennzahl abhängig vom Alter des betreffenden Öles und von der Art seiner Gewinnung. Die Refraktion der flüssigen fetten Öle schwankt zwischen 53 und 66 Skalenteilen (= 1,4613—1,4698); nur Leinöl und Holzöl haben einen höheren Brechungsindex, nämlich Leinöl von 73—74 Skalenteilen (= 1,4742 bis 1,4748), Holzöl über 1,50. Für die Beurteilung von Leinöl ist außer der Bestimmung der Refraktion auch die Ermittlung der Verseifungszahl usw. heranzuziehen. Durch Zufuhr von Sauerstoff, ebenso durch Polymerisation erhöht sich der Brechungsindex von Leinöl; auch ein Zusatz von Harz, Harzöl, Harzpräparaten, endlich von Holzöl oder Mineralöl zum Leinöl kann die Ursache für die Steigerung der Refraktion sein. Rüböl, das öfters als Zusatz zu Leinöl festgestellt wurde, setzt die Werte für die Refraktion des letzteren herab. Daß die Bestimmung der Refraktion für die Beurteilung von Leinölfirnis von Wert ist, ergibt sich aus vorstehendem ohne weiteres.

Im Gegensatz zu Leinöl und den übrigen fetten Ölen, bei denen durch Polymerisation eine Erhöhung des Brechungsindex hervorgerufen wird, nimmt dieser beim Holzöl ab. Diese Erscheinung erfolgt jedoch nur in der ersten Phase des Erhitzens, macht aber dann einer verhältnismäßig großen Steigerung Platz.

Für die Untersuchung von Harzöl ist die Refraktion recht gut zu verwenden, wie aus folgenden Zahlen hervorgeht:

	Spez. Gewicht bei 15°	Refraktion bei 15°
Harzöl	0,97 — 0,98	1,535 — 1,549
Mineralöl	0,89 — 0,92	1,500 — 1,507
Rüböl	0,911 — 0,917	1,4725 — 1,4740
Baumöl	0,914 — 0,917	1,4689 — 1,4696

Behandelt man Holzöl mit konzentrierter Schwefelsäure und darauf mit rauchender Schwefelsäure und untersucht dann den nicht angegriffenen Anteil des Öles mit Hilfe des Refraktometers, so kann aus einem unter 1,5330 liegenden Brechungsindex der Schluß auf einen Zusatz der vorerwähnten anderen Öle gezogen werden.

Bekannt ist, daß man mit Hilfe des Refraktometers den Gehalt von Elain an Leinölsäuren, sowie an Wollfett säuren ermitteln kann.

Zur Unterscheidung von Neufundland-Lebertran und norwegischem Tran leistet die Bestimmung der Refraktion gute Dienste. Bemerkte sei, daß durch eine längere Aufbewahrung von Lebertran die Refraktion nicht beeinflusst wird. Angefügt mag ferner werden, daß man in Zubereitungen aus Dorschlebertran und Malzextrakt den Gehalt

an Öl rasch und sicher durch die Bestimmung der Refraktion ermitteln kann.

Bei rohem und gereinigtem Wollfett kann durch die Ermittlung des Drehungsvermögens ein etwaiger Zusatz von fetten Ölen erkannt werden; dagegen würde sich Vaseline dem Nachweise bei diesem Untersuchungsverfahren entziehen.

Für die Beurteilung von Terpeninöl eignet sich die Bestimmung der Refraktion allgemein gut als orientierende Vorprobe. Zusätze von Petroleumdestillaten, die vielfach als Streckungs- und Verfälschungsmittel in größerem oder geringerem Maßstabe Verwendung finden, geben sich meistens schon hier zu erkennen durch die Erniedrigung der Refraktion. Einwandfreie Resultate erhält man aber, wenn man das betreffende Terpeninöl nach einem der bekannten Verfahren mit Schwefelsäure behandelt und den nicht angegriffenen Anteil des Öles im Refraktometer prüft. Der Brechungsindex des nicht angegriffenen Teiles des Öles muß höher sein, als derjenige des unveränderten Öles; sonst liegt ein Zusatz von Petroleumdestillaten vor.

Da die Paraffine einen niedrigeren Brechungsindex haben, als die wasserstoffärmeren Kohlenwasserstoffe, die sog. Filtratöle, aus denen sie abgeschieden werden, kann ihre quantitative Bestimmung durch die Ermittlung der Refraktion erfolgen. Ceresin und Paraffine können durch die Bestimmung der Refraktion unterschieden werden; erstere zeigen nämlich bei 90° 10—17, technische Hartparaffine aus Erdöl- und Braunkohlenteer zwischen 2,6 und 1,5 Skalenteile. Die Paraffine besitzen mit steigendem Schmelzpunkt wachsende Brechungskoeffizienten. Löst man ein Gemisch von Ceresin und Paraffin in Chloroform und fällt mit Alkohol, saugt ab, dampft das Filtrat ein, nimmt wieder mit Chloroform auf und fällt nochmals mit Alkohol, so zeigt diese zweite Fraktion Zahlen, aus denen man auf die Menge des zugesetzten Paraffins schließen kann.

Für die Untersuchung und Beurteilung von Petroleum vermag die Bestimmung des Brechungsindex in den meisten Fällen recht wertvolle Fingerzeige zu geben, namentlich über die Herkunft eines Petroleums.

Das refraktometrische Verfahren ist ferner auch zur Untersuchung von Bienenwachs empfohlen worden. Zu beachten ist, daß die Refraktion durch die Natur- und Permanganatbleiche nicht verändert wird, daß sie aber nach der Chromatbleiche sinkt. Infolge des verhältnismäßig hohen Schmelzpunktes des Bienenwachses (über 60°) wäre Arbeiten bei höheren Wärmegraden erforderlich, die aber auf die Dauer nachteilig auf die Instrumente einwirken würden. Man benutzt daher in diesem Falle Gemische von gleichen Teilen Bienenwachs und Pfefferminzöl; aus dem Brechungsindex dieses Gemisches berechnet man dann in bekannter Weise den Brechungsindex des zu untersuchenden Bienenwachses.

Zum Schlusse möchte ich noch erwähnen, daß das Refraktometer noch Verwendung findet zur quantitativen Bestimmung von Fetten und Ölen, so z. B. zur Bestimmung des Fettes in der Milch, in Kakao usw. Ich möchte es heute schon als möglich bezeichnen, die Fettbestimmung in allen pflanzlichen und tierischen Stoffen mit Hilfe des Refraktometers quantitativ durchzuführen.

Es war selbstverständlich nicht möglich, auf die Einzelheiten der verschiedenen Verfahren und deren Ergebnisse hier näher einzugehen; es sollte vielmehr nur eine allgemeine Übersicht über die bisherigen Ergebnisse der Forschungen auf diesem Gebiete gegeben und damit die Wichtigkeit der refraktometrischen Untersuchung von Fetten und Ölen dargelegt werden. Wissenschaftliche Arbeiten auf diesem immerhin auch heute noch stark vernachlässigten Zweige der Untersuchung von Fetten und Ölen bieten nach den gemachten Erfahrungen ein dankbares Feld der Betätigung. Hierzu anzuregen, möge der Zweck dieses Vortrages sein. [A. 176.]

Der Brechungsindex im Dienste der physiologischen Chemie.

Von Dr. PAUL HIRSCH, Privatdozent a. d. Universität Jena.

(Vortrag, gehalten auf der Hauptversammlung des Vereins deutscher Chemiker zu Hannover 1920, in der gemeinsamen Sitzung sämtlicher Fachgruppen.)

(Eingeg. 13./9. 1920.)

Eigentlich erst in den allerletzten Jahren hat die Refraktometrie in biologischer Hinsicht eine größere Anwendung gefunden. Bei biologischen Untersuchungen, wo man vielfach angewiesen ist, mit geringen Flüssigkeitsmengen oder, allgemeiner ausgedrückt, Substanzmengen zu arbeiten, stellt sie eine sehr brauchbare Untersuchungsmethode dar, deren Vielseitigkeit in der Anwendung sich immer mehr und mehr herausstellen wird.

Die meisten Untersucher, die sich bisher der Refraktometrie bedienten, verfolgten mehr praktische als theoretische Ziele und machten sie mehr klinischen Zwecken brauchbar. Es kann nicht im Rahmen dieses Referates liegen, auf alle diese Untersuchungen

einzugehen. Ich will nur einige herausgreifen, einmal solche, welche die ganze Methodik erkennen lassen, und solche, welche speziell für den Chemiker einiges Interesse beanspruchen dürften. Insofern wird ebenfalls eine Auswahl getroffen werden, als ich nur auf Untersuchungen aus dem Gebiete der Eiweißchemie eingehen werde.

Reiss¹⁾, Herlitzka²⁾ und Robertson³⁾ untersuchten den Einfluß gelösten Eiweißes auf die Brechungsexponenten verschiedener Lösungsmittel. Reiss⁴⁾ stellte zunächst Versuche darüber an, ob es mittels der Refraktometrie möglich ist, die verschiedenen durch fraktionierte Fällung trennbaren Eiweißkörper des Blutserums zu charakterisieren, und so ein neues Hilfsmittel bei der Eiweißuntersuchung zu gewinnen. Die Versuche ergaben, daß es bis zu einem gewissen Grade sehr wohl möglich ist. Sie zeigten, daß die Globuline stärker lichtbrechend sind als die Albumine. Eine Differenzierung bezüglich des Brechungsvermögens der einzelnen Globulinfraktionen konnte Reiss nicht feststellen. Die Unterschiede sind hier nicht größer, als sie durch Versuchsfehler bedingt sein könnten.

Diese grundlegenden Versuche von Reiss wurden durch Robertson⁵⁾ bestätigt und erweitert. Robertson untersuchte verschiedene Proteine (Casein, Paraneuclein, Ovomucoid, Ovovitellin, Serumglobulin usw.) und benutzte nicht nur Wasser als Lösungsmittel, sondern auch Alkohol-Wassermischungen, Säuren und Basen.

Es konnte durch diese Untersuchungen für jeden Eiweißkörper eine Konstante gefunden werden, die den Anteil für 1% des betreffenden Eiweißkörpers an dem Brechungsvermögen angibt.

Die Untersuchungen von Robertson ergaben auch insofern noch ein interessantes Ergebnis, als z. B. beim Casein die Abweichungen in dem Brechungsvermögen von wässrigen Lösungsmitteln, der durch einen gegebenen Prozentsatz Casein herbeigeführt wird, von der Natur der Säure oder Base, mit der das Casein verbunden ist, unabhängig ist. Es wird diese Erscheinung so erklärt, daß bei der großen Molekulargröße der Eiweißkörper es ohne Einfluß ist, wenn mehrere H-Atome durch K-Atome ersetzt, oder wenn einige H- oder Cl-Atome oder OH-Gruppen hinzutreten sind.

Die Ergebnisse der Untersuchungen von Reiss wurden von diesem⁶⁾ zur Ausarbeitung einer Methode zur Bestimmung des Gesamteiweißgehaltes von Blutserum benutzt. Es ist hier festzustellen, daß von Reiss alle etwa in Betracht kommenden Möglichkeiten, die etwa ein derartiges Verfahren unmöglich machen könnten, in Erwägung gezogen wurden. Reiss benutzte das Pulfrichsche Eintauchrefraktometer unter Anwendung eines besonderen Hilfsprismas, das das Ausmessen von kleinsten Flüssigkeitsmengen gestattet. Er hat eine Tabelle ausgerechnet, auf Grund deren man aus dem abgelesenen Refraktationswert in Skalenteilen direkt den Eiweißgehalt des untersuchten Serums in Prozenten angeben kann. Man benötigt zur Bestimmung nur einen kleinen Tropfen Serum, der durch Blutentnahme aus der Fingerbeere genommen werden kann. Durch diese nur ganz geringfügige Blutmenge erfordernde Methode, bei der nur eine einzige Refraktometerablesung erforderlich ist, erhielten die Kliniker ein äußerst fruchtbares, einfaches und recht genaues (Fehlergröße $\pm 0,2\%$ Eiweiß) Verfahren zur Verfolgung der Eiweißkonzentration des Serums bei normalen und pathologischen Zuständen.

Während man nach Reiss nur den Gesamteiweißgehalt des Blutserums bestimmen kann, hat Robertson⁷⁾ eine Methode zur Bestimmung der einzelnen Eiweißkörper des Blutserums (Gesamteiweiß, Gesamtglobuline, unlösliches Globulin und Gesamtalbumine) sowie der Nichteiweißbestandteile angegeben. Das von Robertson geübte Verfahren der Bestimmung der Gesamtglobuline und der Albumine durch Ausfällen der Globuline bei Halbsättigung mit Ammoniumsulfat, Filtration des Niederschlages (Dauer $3\frac{1}{2}$ Stunden, Verdunstungsfehler!) und refraktometrischer Ausmessung des schließlich erhaltenen Filtrates birgt jedoch enorme Fehlerquellen in sich. Nach gemeinsam mit Langenstrass⁸⁾ ausgeführten diesbezüglichen Untersuchungen ist Ergebnissen einer solchen Methode sehr kritisch zu begegnen.

Während die eben geschilderten Versuche alle mit Refraktometern ausgeführt sind, habe ich gemeinsam mit Langenstrass und Köhler⁹⁾ analoge Untersuchungen mittels des Löwe'schen

Interferometers angestellt. Wir benötigten ein Verfahren zur Zerlegung kleinster Serummengen in ihre einzelnen Komponenten zu immunochemischen Studien, um Einblicke in den chemischen Mechanismus von Immunitätsreaktionen zu erhalten. Es gelang uns, im Laufe unserer Arbeiten die Methode so auszuarbeiten, daß wir in der Lage sind, z. B. in 2 ccm einer Serumverdünnung 1:200 die Nichteiweißbestandteile, die Gesamtglobuline, das unlösliche Globulin, die Albumine und also auch die Gesamteiweißkörper zu bestimmen. Die Genauigkeit ist eine äußerst große; die Robertson'schen Fehler konnten durch geeignete Maßnahmen ausgeschaltet werden. Die Art der Messung ist durch Benutzung des Interferometers, das die Ausübung einer sogenannten Nullmethode gestattet, eine bedeutend einfachere und sichere. Dieses Verfahren hat sich uns zu den angegebenen Zwecken recht bewährt¹⁰⁾. Durch Konstruktion einer 1 mm-Kammer mit Löwe¹¹⁾ ist auch die einfachere Ausführung einer Serumgesamteiweißbestimmung in kleinen Serummengen mittels des Interferometers gestattet.

Diese Methoden verdienen, als Eiweißbestimmungsverfahren in der Heilserumprüfung eingeführt zu werden. Nach den amtlichen Prüfungsvorschriften sind Sera mit mehr als 12% Eiweißgehalt zurückzuweisen¹²⁾.

Recht interessant und methodisch sehr wichtig ist das von Rohrer¹³⁾ geübte Verfahren zur Bestimmung des Mischungsverhältnisses zwischen Globulinen und Albuminen im Blutserum. Es beruht auf einem heute bereits vielfach in der Technik geübten Verfahren aus zwei physikalischen Werten (hier Refraktion und Viskosität) zwei chemische Werte zu erhalten. Diese Methode, die Messung von physikalischen Eigenschaften, welche bei jeder Komponente ein annähernd konstantes, bei den verschiedenen Komponenten ein möglichst verschiedenes Verhältnis haben und bei Mischungen sich additiv verhalten, kann auf beliebige andere Mischungen organischer Kolloide, wo die gleichen Bedingungen vorhanden sind, übertragen werden.

Im Zusammenhang mit diesen Bestimmungsverfahren sei erwähnt, daß man nach Robertson¹⁴⁾ die Refraktometrie mit Erfolg bei Messungen des elektrochemischen Äquivalentes an Caseinlaugenmischungen benutzen kann. Er bestimmte refraktometrisch den Caseingehalt in den Elektrodenflüssigkeiten.

Im Anschluß an die eben geschilderten Versuche zur Bestimmung der Eiweißkörper im Serum möchte ich mit einigen Worten auf eine Anwendung des Reiss'schen Verfahrens unter sinngemäßer Kombination mit dem Mischungsgesetz zur Bestimmung der Blutmenge beim lebenden Individuum eingehen. Man bestimmt nach de Crinis¹⁵⁾ den Eiweißgehalt des Serums vor und nach Injektion einer abgemessenen Menge physiologischer Kochsalzlösung von bekanntem Refraktationswert und berechnet aus der Verdünnung, die das Serum durch die Salzinjektion erleidet, die Blutmenge. Wie ich oben anführte, ist die Fehlergröße je Bestimmung $\pm 0,2\%$ Eiweiß. Die gemessene Differenz im Eiweißgehalt des Serums, bedingt durch die Kochsalzinfusion, beträgt nach de Crinis etwa 0,7%. Hierbei ist also mit einem Maximalfehler von $\pm 0,4\%$ zu rechnen. Ähnliche Versuche sind von Cobet und Ganter¹⁶⁾ zur Bestimmung des Volumens von Pleuraexsudaten gemacht worden.

Für derartige Versuche zur Blutmengebestimmung erscheint es mir richtiger, die Messungen an Blutplasma auszuführen, da hier der Versuchsfehler von 0,2% im Eiweißgehalt auszuschließen ist. Ebenso ist es vorteilhafter, mit Rücksicht auf die rasche Ausscheidung injizierter Salzlösungen durch die Nieren und andere Drüsen eine Dextrin- oder Akaziengummilösung — also Kolloidlösungen, wie sie auch von Mc Quarrie und Davis¹⁷⁾ angewandt wurden — von kleinen Volumen aber sehr hohem Refraktationswert zu benutzen. Ich¹⁸⁾ bin mit Hilfe einer derartigen Methode unter Verwendung des Interferometers und Bestimmung der Zunahme des Interferometerwertes des Plasmas durch die Injektion zu gut reproduzierbaren Ergebnissen gekommen. Mc Quarrie und Davis bestimmten die Refraktion des einteiweißen Serums vor und nach Einspritzung von Kolloiden und berechneten hieraus die Blutmenge.

Ein anderes Anwendungsgebiet der Refraktometrie ist die Bestimmung von Fermentwirkungen. Die ersten Versuche rühren hier von Obermayer und Pick¹⁹⁾ her. Obermayer und Pick studierten das Verhalten einiger Fermente und von Bakterien gegenüber physiologisch bedeutungsvollen Substanzen. Aus ihren

1) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **4**, 150 [1903].

2) Biologica **1** [1907]; Arch. ital. de biologie 1907; Kolloid-Z. **7**, 251 [1910]; s. auch W. Frei, Kolloid-Z. **6**, 192 [1910].

3) Die physikalische Chemie der Proteine. Steinkopff, Dresden 1912, daselbst Literatur. Ferner Arbeiten im J. of biol. Chem.

4) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **4**, 150 [1903]; Z. f. Elektrochem. **14**, 613 [1908]; Arch. exp. Pathol. u. Pharmakol. **51**, 18 [1903].

5) Siehe Nr. 3.

6) Siehe besonders Ergebnisse d. inn. Mediz. u. Kinderheilkunde **10**, 531 [1913], daselbst Literatur.

7) J. biol. Chem. **11**, 179 [1912].

8) Fermentforschung **3**, 1 [1919].

9) Fermentforschung **3**, 1 [1919] und unveröffentl. Versuche.

10) Außer Nr. 9 Fermentforschung **2**, 269 [1918]; **2**, 290 [1918].

11) Fermentforschung **3**, 311 [1920].

12) Siehe hier Annie Homer, J. Soc. Chem. Ind. **38**, 145 [1919].

13) Deutsches Arch. klin. Med. **121**, 221 [1917]; siehe auch E. Heyder, Inaug.-Diss. Tübingen 1915.

14) Literatur in: Die physikalische Chemie der Proteine (Nr. 3).

15) Z. physiol. Chem. **99**, 131 [1917].

16) Deutsches Arch. klin. Med. **132**, 35 [1920].

17) Amer. J. of Physiol. **51**, 257 [1920].

18) Unveröffentl. Versuche aus dem Jahre 1915.

19) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **7**, 331 [1906].

vielseitigen Untersuchungen folgt, daß Fermente wie Emulsin, Diastase und Pepsin das Refraktationsvermögen für Natriumlicht unbeeinflusst lassen. Andere, wie Trypsin erhöhen den Brechungsindex, Bakterien vermindern ihn. Ich²⁰⁾ habe diese Befunde von Obermayer und Pick bestätigen können. Ließ ich z. B. Pepsin auf Serumweiß einwirken, so fand ich ebenfalls, daß sich das Brechungsvermögen für Natriumlicht in keiner Weise ändert. Ich habe nun die Bestimmungen auch für das rote und blaue Licht des Wasserstoffspektrums ausgeführt und gefunden, daß sich für Licht dieser Wellenlängen das Brechungsvermögen ändert. Ich glaube, diese Erscheinung so erklären zu dürfen, daß durch die Wirkung des Pepsins im Eiweißmolekül vorhandene Anhydridringe aufgespalten werden, eine Annahme, zu der auch Plimmer²¹⁾ neigt. Diese Aufspaltung verursacht wohl eine konstitutive Änderung des Eiweißmoleküls, die auch eine völlige Änderung seiner Eigenschaften (Koagulationsvermögen) bewirkt. Aber diese Änderung ist bei einer so bedeutenden Größe zu geringfügig, um eine solche Änderung des Brechungsvermögens für Natriumlicht hervorzuheben, daß wir sie mit unseren Apparaten messen können. Dagegen ist die Änderung der Dispersion so groß, daß wir sie feststellen können.

Untersuchungen zur Bestimmung der Verdauungskraft von Pepsin mittels des Eintauchrefraktometers liegen von Schorer²²⁾ vor. Eine Methode zur Bestimmung der Verdauungskraft von Trypsin gibt Robertson²³⁾ an.

Zu Untersuchungen über den Einfluß von modernen Desinfektionsmitteln auf die Pepsinwirkung habe ich gemeinsam mit Hecker²⁴⁾ eine Methode unter Benutzung des Interferometers ausgearbeitet. Hier sind einige wichtige Punkte zu berücksichtigen: Nach unseren heutigen Kenntnissen²⁵⁾ entfaltet jedes Ferment seine Optimalwirkung bei einer bestimmten Wasserstoffionenkonzentration. Es muß also die Versuchsanordnung so getroffen werden, daß diese Wasserstoffzahl während des ganzen Versuches erhalten bleibt; dies können wir durch Anwendung von sogenannten Reaktionsregulatoren (Puffer), z. B. Mischungen von Citrat-Salzsäure in bestimmtem Verhältnis, erreichen. Häufig führen wir Fermentversuche in der Art aus, daß aus der Menge der gebildeten Abbauprodukte auf die Fermentwirkung geschlossen wird. Beispielsweise nimmt man eine bestimmte Menge Casein — als Caseinnatrium in Lösung — und flockt nach einer bestimmten Zeit der Fermenteinwirkung das unverdaute Casein durch Säurezusatz aus. Zur vollkommenen Ausflockung des Caseins ist wiederum eine ganz bestimmte Wasserstoffionenkonzentration erforderlich. Wir sehen also, daß wir bei genauen diesbezüglichen Versuchen zwei Forderungen erfüllen müssen: Einmal muß die Wirkung des Fermentes bei einer für das betreffende Ferment bestimmten und konstanten Wasserstoffionenkonzentration vor sich gehen, und dann muß die Ausflockung des unverdauten Eiweißes wiederum bei der Wasserstoffionenkonzentration vorgenommen werden, bei der als Substrat benutzte Eiweißkörper sein Flockungsoptimum hat. Diese Punkte erfüllt unsere Methode zur Bestimmung der Pepsinwirkung.

Derartige Bestimmungsmethoden, die zu genau reproduzierbaren Werten führen, haben nicht nur ein wissenschaftliches Interesse, sondern sie haben auch eine gewisse praktische Bedeutung heute, wo die biologischen Arbeitsverfahren sich immer mehr in der Technik einbürgern.

Von den Fermenten interessieren heute die Mediziner am meisten die sogenannten Abwehrfermente, die als Schutzreaktion des tierischen Organismus unter den verschiedensten Bedingungen gegenüber blutfremden Stoffen auftreten. Sie wurden von Abderalden entdeckt und genauer untersucht. Zum Nachweis und zur quantitativen Bestimmung der auf Eiweißkörper gerichteten Abwehrfermente habe ich²⁶⁾ mit Hilfe des Interferometers eine sehr einfache und genaue Methode ausgearbeitet, die sich bei vielen Untersuchungen sehr gut bewährt hat, und bei deren Ausarbeitung alle Fehlermöglichkeiten, unter denen solche Untersuchungen leiden, berücksichtigt und ausgeschaltet sind. Sie beruht im allgemeinen darauf, daß durch den Abbau des betreffenden Organsubstrates zu löslichen Peptonen und Auflösen derselben in dem Serum eine Zunahme der Konzentration desselben gegenüber einer ohne Substratzusatz aufbewahrten Kontrolle eintritt, die mit Hilfe des Interferometers quantitativ bestimmt werden kann. Ein Hauptfordernis zu solchen Untersuchungen sind die Organsubstrate, die nach

bestimmten Vorschriften hergestellt und gebrauchsfertig durch das Pharmazeutische Institut L. W. Gans in Oberursel a. T. in den Handel gebracht werden.

Derartige quantitative Untersuchungen auf Abwehrfermente sind nicht nur für den Arzt wichtig, z. B. wenn es sich um Feststellung des Erfolges einer eingeschlagenen Therapie handelt. Sie werden auch für den Chemiker von Bedeutung werden. Wir wissen, daß durch bestimmte Gruppen einer chemischen Verbindung in bezug auf ihre pharmakologischen Eigenschaften ein bestimmtes Gepräge gegeben werden kann. Gerade in den letzten Jahren konnte Ehrlich zeigen, daß durch systematische Untersuchungen Heilmittel ausfindig gemacht werden können, die sich als spezifisch gegen die Krankheitserreger gerichtet erweisen. Der Chemiker muß in der Art chemisch zielen lernen, daß das Arzneimittel nur die krankheitserregenden Schädlinge trifft, nicht aber Körperorgane schädigt. Untersuchungen zeigten nun, daß sich etwaige Organschädigungen durch Medikamente durch auf die betreffenden Organe eingestellte Abwehrfermente erkennen lassen. Es geben nun quantitative Methoden zum Studium der Abwehrfermente dem Chemiker ein weiteres Mittel, zu prüfen, ob der von ihm dargestellte chemische Körper auch wirklich eine Zauberkugel im Sinne Ehrlichs darstellt, die eine Organschädigung nicht verursacht oder wenigstens nicht allzu groß erscheinen läßt. Auch bei der Prüfung nicht speziell chemotherapeutischer Präparate, ich denke hier an Schlafmittel, wird eine genaue quantitative Untersuchung auf etwaige beim Gebrauch auftretende Abwehrfermente für den Chemiker von Wichtigkeit sein. Man wird durch vergleichende Untersuchungen im Tierexperiment vielleicht organschädigende Gruppen erkennen und derartige Gruppen bei den Synthesen vermeiden. Die oben angeführten Versuche zur genauen Bestimmung der Fermentwirkung und ihrer etwaigen Beeinflussung durch Desinfektionsmittel haben vielleicht auch eine gewisse Bedeutung, insofern als sie unter Umständen als Prüfungsmethode für die Unschädlichkeit von therapeutisch zur Anwendung gelangenden Desinfektionsmitteln dem Gewebe gegenüber in Frage kommen.

Im Laufe der geringen mir zu diesem Referat zur Verfügung stehenden Zeit ist es mir natürlich unmöglich gewesen, auf alle refraktometrischen Untersuchungen aus dem Gebiete der physiologischen Chemie einzugehen. Es gibt wohl kaum eine Körperflüssigkeit, die nicht refraktometrisch untersucht ist²⁷⁾. Ebenso liegen einige diesbezügliche Untersuchungen an Kohlenhydraten und Fetten und sie abbauende Fermente vor²⁸⁾. Die Anwendung der Refraktometrie in der physiologischen Chemie ist, wie gesagt, eine verhältnismäßig kurze. Die bisherigen Ergebnisse haben aber schon gezeigt, welch wertvolles Hilfsmittel hier zur Verfügung steht. Die Resultate der Spektrochemie der organischen Chemie, die wir Brühl, v. Auwers, Roth, Eisenlohr u. a. verdanken, lassen sich ohne weiteres nicht auf physiologisch-chemische Probleme anwenden, wenn auch hier schon diesbezügliche Arbeiten von Pregl u. a.²⁹⁾ wertvolle Ergebnisse gezeigt haben. Der physiologische Chemiker muß leider häufig wegen der „Menge“ und Natur der ihn interessierenden Stoffe mit ganz anderen Methoden als der gewöhnliche Organiker arbeiten. Hier dürfte noch ein weites fruchtbares Anwendungsgebiet der Refraktometrie, speziell der Interferometrie vorliegen. Viele mehr theoretische und methodologische Vorarbeiten sind noch anzustellen. Solche Arbeiten müssen wir jetzt ausführen, da uns viele Hilfsmittel zu rein chemischen Arbeiten heute in unserem armen Vaterlande nicht mehr zur Verfügung stehen. Wir können sie ausführen und werden Erfolge haben, weil unsere deutsche optische Industrie uns hier die notwendigen Apparate geschaffen hat.

Durch ein Referat in Nr. 12 des Chem. Zentralblattes (Techn. Teil) vom 22./9. 1920 erhielt ich Kenntnis von einer Arbeit von Z. Carrière, „Die Interferometer und die Interferenzapparate von Barus“ (Rev. gén. des Sciences pures et appl. **31**, 401—409 [1920]). Nach dem Referat meint Verf., daß die Interferometrie als Methode so schwierig zu handhaben sei, daß sie nur auf das wissenschaftliche Laboratorium beschränkt bleibe. Höchstens im Kriege habe sie in die Fabriken Eingang gefunden, wo diese einen ungewöhnlichen Stab wissenschaftlicher Mitarbeiter besaßen. Wer sich, wie ich, viel mit der Interferometrie beschäftigt hat, weiß, wie leicht und genau diese „als Meßmethode an sich“ ist. Die von unserer optischen Industrie gebauten Interferometer, besonders das Grubengasinterferometer nach Haber-Loewe, sind so einfach zu handhaben, daß ein Arbeiter, der auf der Bildungsstufe eines deutschen Arbeiters steht, damit umzugehen lernt. [A. 173.]

²⁰⁾ Fermentstudien. Fischer, Jena 1917.

²¹⁾ Chemische Konstitution der Eiweißkörper. Steinkopff, Dresden 1914.

²²⁾ Inaug.-Diss. Bern 1908.

²³⁾ J. biolog. Chem. **12**, 23 [1912].

²⁴⁾ Unveröffentlichte Versuche.

²⁵⁾ Siehe L. Michaelis: Die Wasserstoffionenkonzentration. Springer, Berlin 1914.

²⁶⁾ Außer Nr. 19 siehe Z. physiol. Chem. **91**, 440 [1915]; Deutsche med. Wochenschr. **1914**, Nr. 31; Fermentforschung **1**, 33 [1914]; **2**, 251 [1918]; **3**, 311 [1920]; **4**, 64 [1920]. Ferner Voigt: Inaug.-Diss. Jena 1920.

²⁷⁾ Siehe u. a. Grober, Zentralbl. f. inn. Med. **21**, 201 [1900]; Strubell, Deutsches Arch. klin. Med. **69**, 521 [1901]; Utz, Pharmazent. Post **40**, 455 [1907]; weitere Angaben bei Reiss Nr. 6.

²⁸⁾ Siehe u. a. O. Wolff, Chem.-Ztg. **1915**, 105, 197. Ferner Obermayer und Pick, Nr. 18.

²⁹⁾ Siehe u. a. Pregl, Z. physiol. Chem. **45**, 166 [1905]; Krause, Z. exp. Pathol. u. Therap. **1**, 680 [1905].