

Wasserstoffhyperoxyd als hydrolysierendes Prinzip.

Von
N. Sieber.

(Chemisches Laboratorium des Kaiserl. Instituts für experim. Medizin in St. Petersburg.)
(Der Redaktion zugegangen am 9. September 1912.)

I.

Nachdem durch eine Reihe von Untersuchungen festgestellt worden war, ¹⁾ daß das H_2O_2 nicht nur ein oxydierendes, sondern zugleich auch ein hydrolysierendes Prinzip ist und zwar die Fähigkeit besitzt, auf Substanzen von verschiedenem Bau und Bestande, unter anderem auch auf hochmolekulare Verbindungen eine spaltende Wirkung auszuüben, erschien es ganz natürlich, daß die Wirkung des H_2O_2 an solchen Substanzen, die, was ihre Lösung und Spaltung anbetrifft, ganz besondere Schwierigkeiten boten, wie z. B. die Keratinstoffe, Pigmente tierischer und pflanzlicher Abstammung und deren Derivate und schließlich an den Tuberkelbazillen und ähnlichen Gebilden, angewendet und erprobt wurde. In dieser Richtung angestellte Versuche ergeben ein durchaus bestimmtes und zwar positives Resultat. Alle diese Substanzen, welche der Einwirkung bisher angewandter Agenzien Schwierigkeiten machten, resp. durchaus widerstanden, gehen unter dem Einfluß von H_2O_2 und beim Erhitzen im Autoklaven bei einem Druck von 3 oder 6 Atmosphären (143—160°) in Lösung über und Vorversuche erwiesen, daß für ein jedes, der Einwirkung von H_2O_2 ausgesetztes Objekt eine entsprechende Konzentration und eine bestimmte Menge, d. h. ein bestimmter Prozentgehalt an Wasserstoffsperoxyd in der Lösung erforderlich ist. Im allgemeinen verläuft die Reaktion bei verhältnismäßig schwacher Konzentration und entsprechender Verdünnung im Sinne einer vollständigen Lösung leichter, als wie bei starker Konzentration und geringeren

¹⁾ Zentralbl. f. Bakt., Herbst 1912. Russki Wratsch, Nr. 30, 1912.

Flüssigkeitsmengen. Andererseits wurde durch unsere Versuche dargelegt, daß wir im H_2O_2 ein Mittel besitzen, welches wir je nach Wunsch und dem zu erstrebenden Zwecke mit dem einen oder dem anderen Ergebnis anwenden können, d. h. daß wir eine mehr oder weniger tiefgreifende Spaltung und dieser entsprechende Produkte erzielen können. Der theoretische Teil der Frage und die Feststellung der Reaktionen und Produkte, welche bei Einwirkung von H_2O_2 auf verschiedene Substanzen gewonnen werden, bieten ein hervorragendes Interesse.

In unserem Laboratorium wird gegenwärtig eine Reihe von Untersuchungen in der einen und der anderen Richtung mit verschiedenen Substanzen, unter anderem auch zwecks Gewinnung von hydrolytischen Produkten durch Ätherifikation, Gewinnung von Estern und deren weiterer Zersetzung nach E. Fischer und E. Abderhalden vorgenommen, deren Ergebnisse in kurzer Zeit veröffentlicht werden sollen.

Hier jedoch will ich, um den Prozeß der Einwirkung von H_2O_2 zu demonstrieren resp. charakterisieren, in möglichst kurzer Form einige Versuche mit verschiedenen Substanzen wie: Casein, sodann Blutpigmenten, dem Hämoglobin und seinen Derivaten, nämlich Hämin (oder salzsaurem Hämatin) und schließlich die Einwirkung von H_2O_2 auf menschliche Haare hier kurz besprechen (ausführlich wird darüber später berichtet), und erst dann zu der Frage nach der Wirkung von H_2O_2 auf den Tuberkelbacillus übergehen.

Übergießen wir im Kolben 2,0 g Casein mit 70 ccm $1\frac{1}{2}\%$ igem H_2O_2 und erwärmen wir dieses Gemisch im Laufe von 2 Stunden unter einem Drucke von 6 Atmosphären auf $160^\circ C.$, so erhalten wir schließlich nach Erkalten eine dunkelgelb gefärbte Flüssigkeit mit noch dunkler gefärbtem spärlichen Bodensatz, welcher dem Gewichte nach $(0,1016 \text{ g}) = 5,08\%$ des zum Versuch verwendeten Caseins ausmacht. In der Flüssigkeit beträgt die Menge des Gesamtstickstoffes 0,378 g oder $18,9\%$ und 0,0524 g Ammoniakstickstoff, welches also $13,85\%$ des Gesamt-N ausmacht.

Ändert man das Verhältnis zwischen Casein und Wasserstoffsperoxyd, und zwar nimmt man auf 1,0 g Casein 100 ccm

0,1%iges H_2O_2 und erwärmt unter demselben Drucke von 6 Atmosphären im Laufe von 2 Stunden im Autoklaven, so erscheint die Flüssigkeit im Kolben nach dem Erkalten nicht ganz klar, sondern schwach gelb gefärbt und mit einem spärlichen Bodensatz. Der Gehalt an Gesamtstickstoff beträgt in diesem Falle 18,2%.

Übergießt man schließlich 1,0 g Casein im Kolben mit 100 ccm 1%igem H_2O_2 und erhitzt den Kolben unter denselben Bedingungen, d. h. einem Druck von 6 Atmosphären und einer Temperatur von 160° im Laufe von 2 Stunden, so erhält man eine durchaus klare, dem Wasser ähnliche, farblose Flüssigkeit ohne irgend welchen Rückstand. Der Gehalt an Gesamtstickstoff in derselben betrug 19,6%, Ammoniakstickstoff waren 0,0814 g oder 41,5% vom Gesamtstickstoff enthalten.

Ein ähnliches Verhalten bei der Einwirkung von H_2O_2 zeigen auch die vielen anderen Verbindungen, von denen ich einige hier noch anführen will, z. B. das Hämoglobin.

1. Nahmen wir auf 1,0 g krystallinisches Hämoglobin 80 ccm einer $1\frac{1}{2}$ %igen H_2O_2 -Lösung und erhitzen wir das Gemisch unter denselben Bedingungen im Laufe des nämlichen Zeitraumes, so erhielten wir eine braungefärbte Flüssigkeit mit einem Bodensatz. Die Bestimmung des Gesamtstickstoffes ergab einen Gehalt von 0,0813 g oder 8,13%; Ammoniakstickstoff waren 0,02292 g oder 37,1% enthalten.

2. In einem anderen Versuche nahmen wir auf 0,5 g Hämoglobin 110 ccm einer 3%igen Wasserstoffhyperoxydlösung, das Gemisch wurde unter denselben Bedingungen im Autoklaven erhitzt und es resultierte eine gelbgefärbte Flüssigkeit mit spärlichem dunkelgefärbten Niederschlag. Der Gesamtstickstoff der Flüssigkeit betrug 0,0678 g oder 13,55%.

3. Nahmen wir schließlich auf dieselbe Menge von 0,5 g krystallinisches Hämoglobins H_2O_2 im Verhältnis von 1 : 300, d. h. 150 ccm einer $1\frac{1}{2}$ %igen H_2O_2 und erhitzen wir das Gemisch unter denselben Bedingungen im Autoklaven, so war das Ergebnis ein ganz anderes, und zwar erhielten wir eine kaum gelblich gefärbte, ganz klare Flüssigkeit ohne Rückstand. Der Gehalt an Gesamtstickstoff betrug 0,1071 g = 21,4%.

Bei der Einwirkung von H_2O_2 auf menschliches Haar ergab sich, daß, wie überhaupt, so auch in diesem Falle alles von dem Verhältnis zwischen H_2O_2 und dem der Einwirkung ausgesetzten Objekt, d. h. im gegebenen Falle dem Haare abhängt.

1. Nimmt man auf 4 g Haare 150 ccm einer 1%igen Wasserstoffhyperoxydlösung, so erscheint nach Erhitzen des Gemisches bei 3 Atmosphären und 143° im Laufe von einer Stunde der Kolbeninhalt als dunkle Flüssigkeit, welche einen dunklen Bodensatz enthält. Der Stickstoffgehalt beträgt 0,0044 g resp. 2,68%.

2. Nehmen wir auf dieselben 4,0 g Haare 225 ccm einer 1%igen H_2O_2 -Lösung und erhitzen wir das Gemisch gleichfalls im Laufe einer Stunde bei 143° und einem Druck von 3 Atmosphären, so erhalten wir eine bedeutend weniger gefärbte Flüssigkeit und bereits einen geringeren Niederschlag. Der Gesamtstickstoffgehalt beträgt 0,5796 g = 14,49% N.

3. 4,0 g Haar ergaben nach Erhitzen im Laufe von 2 Stunden bei 160° und unter einem Drucke von 6 Atmosphären mit 1040 ccm einer $1\frac{1}{2}$ %igen H_2O_2 -Lösung (also im Verhältnis von 1 : 260) eine durchaus klare Flüssigkeit, welche kaum gelblich gefärbt war und gar keinen Bodensatz resp. Rückstand aufwies. In der Lösung wurde der Gesamtstickstoffgehalt bestimmt, welcher 0,448 g oder 11,2% N betrug. (Weitere Angaben darüber später.)

Von besonderem Interesse ist die Wirkung von H_2O_2 auf das Hämin (resp. salzsaures Hämatin) und zwar sowohl in bezug auf die bei dieser Einwirkung resultierenden Produkte, als auch in theoretischer Beziehung. Das Hämin gehört bekanntlich zu den resistantesten Stoffen und setzt jeglichen Agenzien überhaupt, sowie dem H_2O_2 im speziellen einen bedeutenden Widerstand entgegen.

1. Setzen wir zu 0,2 g Hämin 60 ccm einer 3%igen H_2O_2 -Lösung und erhitzen wir das Gemisch im Laufe einer halben Stunde bei 3 Atmosphären auf 143° , so merken wir fast gar keine Veränderung: Das ungelöste Hämin bleibt am Boden des Gefäßes, die kaum gelbgefärbte Flüssigkeit enthält 0,0112 g = 5,6% Gesamtstickstoff.

2. Das abfiltrierte Hämin wurde sodann mit einer neuen

Portion einer 1 1/2 0/0igen H_2O_2 -Lösung übergossen und im Laufe einer Stunde bei 3 Atmosphären auf 143° erhitzt. Das Ergebnis war folgendes. Die im Kolben befindliche Flüssigkeit besitzt eine eigenartige Färbung, sie ist ziegelrot und weist gleichsam einen Belag oder eine ölige Schicht, welche im Probierglase betrachtet sich durch schwache gelblich-grüne Fluorescenz auszeichnet, auf. Beim längeren Stehen (paar Tage) setzt sich in der Flüssigkeit ein ziegelroter Bodensatz ab, welcher an einen Urobilinniederschlag erinnert, überhaupt erinnert das ganze Bild an dasjenige, welches bei Einwirkung von Jodwasserstoffsäure auf Acethämin in Gegenwart von Eisessig zu beobachten und seinerzeit von meinem teuren Lehrer dem verstorbenen Prof. M. Nencki¹⁾ in Gemeinschaft mit J. Zaleski beschrieben worden ist. Das Studium der Einwirkung von H_2O_2 auf Hämin wird in erwähnter Richtung fortgesetzt und über desselben Ergebnisse soll seinerzeit berichtet werden. Diese an und für sich sehr interessante Beobachtung ist, soweit sie durch weitere Forschungen bestätigt werden wird, außerdem noch von hervorragender theoretischer Bedeutung zur Erklärung des Vorganges, welcher bei Einwirkung von H_2O_2 unter den von uns untersuchten Bedingungen stattfindet, weshalb sie schon hier Erwähnung gefunden hat.

Die Gesamtstickstoffmenge der Flüssigkeit betrug 0,02273 g oder 11,36 0/0. Überhaupt aber war von dem Stickstoff des Hämin bei der ersten und zweiten Einwirkung des H_2O_2 (bei Erhitzen auf 143° und unter einem Drucke von 3 Atmosphären) im Laufe von 1 1/2 Stunden 16,96 0/0 in Lösung übergegangen.

Die Wirkung des Wasserstoffsperoxyds auf den Tuberkelbacillus.

Der der Einwirkung von H_2O_2 ausgesetzte Tuberkelbacillus stammte hauptsächlich aus Bouillonkulturen, in wenigen Fällen aus Kartoffelkulturen. Zur Untersuchung wurden die Tuberkelbazillen verwandt, nachdem sie durch Dekantation und auf dem Filter mit destilliertem Wasser von der Bouillon ausgewaschen waren. Bearbeitet wurden gewaschene, jedoch nicht

¹⁾ Berichte, Bd. 34, S. 997.

bis zum konstanten Gewicht getrocknete, d. h. lufttrockene Bakterien. Die in den Tuberkelbazillen enthaltene Wassermenge wurde jedesmal in einzelnen Portionen bestimmt (weil die Berechnung der angewandten H_2O_2 -Quantität in dem einen, sowie in dem anderen Versuche auf trockene Tuberkelbazillen vorgenommen wurde). In wenigen Fällen wurden getrocknete, sowie entfettete Tuberkelbazillen angewandt, jedoch war weder in dem einen, noch in dem anderen Falle irgend welche Änderung im Verhalten gegenüber H_2O_2 zu vermerken.

Insgesamt haben wir, abgesehen von den bei Zimmertemperatur angestellten, über 100 Versuche mit dem Tuberkelbacillus und H_2O_2 vorgenommen, wobei sowohl die Menge der einen, wie des anderen, als auch die Dauer der Einwirkung, die Temperatur und anderes variierten. Der Gang der Untersuchung war im allgemeinen folgender:

Zu diesen Versuchen dienten möglichst dicht mit Wattestopfen geschlossene Kolben, in welchen eine bestimmte Quantität Tuberkelbazillen abgewogen wurde; letztere wurden sodann mit bis zu einem bestimmten Prozentgehalte verdünntem Wasserstoffhyperoxyd übergossen. Nach Ablauf eines verschiedenen Zeitraumes, während dessen Erhitzen des Gemisches bis auf einem bestimmten Temperaturgrad stattfand, wurde der Kolben aus dem Autoklaven entfernt, und sein Inhalt genau gemessen; war ein Rückstand vorhanden, d. h. war die Zersetzung keine vollständige, so wurde derselbe auf einem vorher gewonnenen Filter abfiltriert, gewogen und für sich untersucht.

Von dem Filtrate diente eine gewisse Portion zu verschiedenen Proben, wie z. B. der Biuretreaktion, der Reaktion von Molisch, d. h. mit α -Naphthol und Schwefelsäure der Millonschen Reaktion, um den Grad und die Grenze der stattgefundenen Zersetzung zu bestimmen. Weiter dienten dem Filtrate entnommene bestimmte Mengen, gewöhnlich 10—20 ccm zur Gewichtsbestimmung der in der Lösung enthaltenen Substanzen, d. h. der Menge des Trockenrückstandes, in welchem sodann die Menge organischer und anorganischer Stoffe festgestellt wurde. Schließlich bestimmten wir noch in 2 parallelen Portionen (zu je 5 ccm) den Gehalt an Gesamtstickstoff

nach Kjeldahl. Schon die auf diese Weise gewonnenen Befunde gestatten, bis zu einem gewissen Grade, ein Urteil über das, was in den verschiedenen Versuchen vor sich geht, sowie darüber, wie sich ihr Ergebnis in Abhängigkeit von den verschiedenen Beziehungen zwischen H_2O_2 und Tuberkelbazillen, verschiedenen Konzentrationen und Flüssigkeitsmengen, verschiedener Einwirkungsdauer und der verschiedenen Temperatur verändert.

Da mich weiter besonders die Frage von der Stickstoffmetamorphose, d. h. der Stickstoffverteilung im Tuberkelbacillus, resp. in den nach Einwirkung von H_2O_2 entstehenden Produkten interessierte und außerdem auch den Grad der Desamidierung resp. Abspaltung des NH_2 und NH_3 unter gegebenen Versuchsbedingungen, d. h. bei verschiedenen H_2O_2 -Mengen im Verhältnis zu den TBC.-Bazillen, verschiedener Konzentration der Lösung, verschiedener Temperatur und Wirkungsdauer festzustellen, so wurde außer dem Gesamtstickstoff auch die Menge des Ammoniakstickstoffs, sowie der N der Aminosäuren bestimmt, falls die Quantität der Flüssigkeit dieses gestattete. Zu der detaillierten Untersuchung der Zersetzungsprodukte wurden die Versuche mit größeren Mengen Material verwendet, welche später mitgeteilt werden sollen, hier aber werden nur in Kürze einige Daten davon angeführt. Die Untersuchung auf Aminosäuren wurde nach Sörensen sowie nach van Slyke ausgeführt und zwar sowohl der Monoaminosäuren entsprechenden N, wie der der Diaminosäuren, d. h. mittels Fällung mit Phosphorwolframsäure in dem mit Schwefelsäure angesäuerten Material erhaltenen Niederschlag resp. Filtrate bestimmt wurde. Um den Prozeß der H_2O_2 -Einwirkung auf den TBC.-bacillus im allgemeinen zu charakterisieren, will ich einige anschauliche Versuche wiedergeben und auch über die in oben erwähneter Richtung erzielten Resultate mitteilen.

Versuch 1.

9,217 g Tuberkelbazillen, welche 48,53% Wasser enthalten und also 6,177 g trockener Tuberkelbazillen entsprechen, wurden im Kolben abgewogen und mit etwa der

5fachen Quantität, d. h. 30 ccm einer frisch präparierten 1%igen H_2O_2 -Lösung übergossen, was einem Verhältnis zwischen Tuberkelbazillen und $H_2O_2 = 1 : 4,8$ entspricht. Der mit einem Wattestopfen festgeschlossene Kolben wurde im Autoklaven bei einem Drucke von 6 Atmosphären und einer Temperatur von 160° im Laufe von 2 Stunden erhitzt. Nachdem der Kolben im Autoklaven abgekühlt und diesem entnommen war, enthielt er eine dunkelbraune Flüssigkeit mit einem dunklen, braunschwarzen Bodensatz, welcher abfiltriert und so lange gewaschen wurde, bis das abfließende Waschwasser ganz farblos wurde. Der im Exsikkator über Schwefelsäure getrocknete Niederschlag wog 0,68 g. Von ihm soll weiter später die Rede sein. Ich will hier nur bemerken, daß er amorph war. Dem Filtrat und Waschwasser wurde nach genauer Abmessung ein gewisser Teil zu folgenden Reaktionen entnommen: der Biuretreaktion, der Probe von Molisch, Millon und anderen. Die Biuretreaktion fiel schwach positiv aus; die Reaktion von Molisch war scharf ausgeprägt. Zusatz von Millonschem Reaktiv rief die Bildung eines weißen Bodensatzes hervor, welcher sich beim Erhitzen rot färbte. — Absoluter Alkohol, in 10facher Dosis zu 10 ccm hinzugefügt, rief einen Bodensatz hervor, welcher dem Gewichte nach 0,0383 g oder 1,34% ausmachte. Bis zu vollkommener Sättigung hinzugefügtes Ammoniumsulfat ruft gleichfalls Niederschlagbildung hervor. Sodann wurde in 2 Portionen der Gehalt an Gesamtstickstoff bestimmt; derselbe betrug 0,183 g oder 2,806%.

Die Menge des festen Trockenrückstandes, welche in 10 ccm festgestellt wurde, betrug 1,0839 g = 17,54%, von diesen kommen 0,9765 g oder 90,0% auf organische Substanz und 0,1074 g oder 9,98% auf anorganische.

In 2 Portionen zu je 20 ccm fand die Bestimmung des Ammoniakstickstoffs statt, welche im Vakuumapparat (von M. Nencki und J. Zaleski¹⁾) mit Hilfe einer gesättigten Barytlösung²⁾ vorgenommen wurde. Der Ammoniakstickstoff wog

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 33, S. 193; Archiv des Sciences Biolog., Bd. 9, S. 32.

²⁾ Berichte der Deutsch. chem. Ges., Bd. 43, S. 3176.

0,0179 g oder, auf den Gesamtstickstoff berechnet, machte er 10,39% aus.

Die nach van Slyke bestimmte Menge des Aminosäurenstickstoffs war 0,0136 g oder 7,4% des Gesamtstickstoffs.

Der folgende Versuch, in welchem unter sonst gleichen Bedingungen statt der 1%igen $1\frac{1}{2}$ %ige Lösung zur Anwendung kam, soll erwähnt werden.

Versuch 2.

8,912 g feuchte oder 6,0 g trockene Tuberkelbazillen wurden mit 35,0 ccm einer $1\frac{1}{2}$ %igen H_2O_2 -Lösung (also im Verhältnis von 1 : 5) übergossen und gleichfalls im Laufe von 2 Stunden unter einem Drucke von 6 Atmosphären und bei einer Temperatur von 160° erhitzt. Nach dem Erkalten unterschied sich der Kolbeninhalt seinem Aussehen nach fast gar nicht von demjenigen des 1. Versuches, d. h. die Flüssigkeit war dunkelbraun gefärbt und enthielt ebenfalls einen dunklen Bodensatz, dessen Menge dem Gewicht nach 0,785 g betrug. Filtrat und Washwasser gaben, mittels der nämlichen Reaktionen (Biuretreaktion, Reaktion von Molisch und Millon) untersucht, dasselbe Resultat; auch Alkohol rief Niederschlagsbildung hervor. Die Bestimmung der Gesamtstickstoffmenge ergab 0,175 g oder 2,91%, die des Trockenrückstandes 1,399 g oder 23,31% auf TBC.-Trockensubstanz berechnet; im Trockenrückstande fand man 1,238 g oder 88,6% organische und 0,1579 g oder 1,2% anorganische Substanz; der Ammoniakstickstoff betrug, nach erwähnter Methode bestimmt, 0,0179 g oder 10,24%, der Aminosäuren-N 0,0175 g oder 10% des Gesamt-N.

In dem nun folgenden Versuche wurde die Menge des H_2O_2 , d. h. sein Prozentgehalt vermindert, während alle übrigen Bedingungen die nämlichen blieben.

Versuch 3.

10,0 g feuchter, resp. 5,147 g trockener Tuberkelbazillen wurden im Autoklaven unter einem Drucke von 6 Atmosphären und bei einer Temperatur von 160° im Laufe von

2 Stunden mit 50 ccm einer 0,6%igen H_2O_2 -Lösung, d. h. im Verhältnis von 1 : 10 erhitzt. Nach Ablauf dieses Zeitraumes und nach dem Erkalten des Autoklaven enthält der demselben entnommene Kolben ein Gemisch, das von dem in dem vorhergehenden Versuch beschriebenen sich wenig unterscheidet. Die Flüssigkeit war ebenfalls braun gefärbt und enthielt gleichfalls einen ungelösten Bodensatz, dessen Menge 0,83 g betrug.

Alle mit dem Filtrate vorgenommenen Reaktionen ergaben ein eindeutiges positives Resultat. Der Gesamtstickstoff der Flüssigkeit war = 0,1225 g oder 2,32%. Der Trockenrückstand betrug 0,759 g, eine Quantität, welche 14,76% entspricht, die Menge der organischen Substanz dieses letzteren 88,28%, der anorganischen 11,7%.

In dem nun folgenden Versuche wurde die Flüssigkeitsmenge bedeutend vergrößert, der Prozentgehalt an H_2O_2 und sämtliche übrige Bedingungen blieben die nämlichen wie im 2. Versuch.

Versuch 4.

5,166 g feuchter Tuberkelbazillen, welche 2,507 g trockener Bazillen entsprechen, wurden im Laufe einer Stunde bei demselben Drucke von 6 Atmosphären und 160° im Autoklaven mit 1250 ccm einer $1\frac{1}{2}$ %igen H_2O_2 -Lösung, d. h. im Verhältnis beinahe von 1 : 500 erhitzt. Nach Ablauf des erwähnten Zeitraumes und Erkalten der Flüssigkeit erwies sich dieselbe als ganz farblos mit einer geringen Menge erstarrten Fettes in Form von 2 Tropfen, welche abfiltriert und gewogen wurden, nachdem sie im Exsikkator über SO_4H_2 getrocknet worden waren; ihr Gewicht betrug 0,308 g oder 12,2% auf die Bakterientrockensubstanz berechnet. Die vom Fett abfiltrierte Flüssigkeit ergab bei der Reaktion von Molisch ein positives Resultat, bei den übrigen ein negatives. Gesamtstickstoff fand man 0,280 g = 11,56%. Die Trockensubstanz betrug 0,34 g = 13,5%, wovon 47,0% auf organische und 52,7% auf anorganische Substanzen entfielen. Im folgenden Versuche war im Vergleich zum eben beschriebenen die Gesamtmenge der

Flüssigkeit eine geringere und zwar stand sie zur Bakterientrockensubstanz im Verhältnis von 1 : 300. Das Prozentverhältnis des H_2O_2 und die übrigen Versuchsbedingungen waren die nämlichen.

Versuch 5.

5,286 g feuchter Tuberkelbazillen, welche 2,721 g trockener entsprechen, werden mit 900 ccm einer 1½%igen H_2O_2 -Lösung übergossen und im Laufe von 2 Stunden unter einem Drucke von 6 Atmosphären (160°) erhitzt. Die im Kolben enthaltene Flüssigkeit ist nach dem Erkalten vollkommen klar und farblos und weist nur einige Tropfen erstarrten Fettes, welches abfiltriert und gewogen wurde, auf; das Gewicht dieses letzteren beträgt 0,4332 g = 15,92%. Die abfiltrierte Flüssigkeit reagierte nur nach Molisch positiv, so wie mit absol. Alkohol erhielt man einen Niederschlag, die übrigen Reaktionen fielen negativ aus. Die Gesamtstickstoffmenge betrug 0,2233 g oder 8,2060%. Der Trockenrückstand wog 0,464 g, was 17,47% entspricht, hiervon entfallen 53,12% auf die organische und 46,76% auf die anorganische Substanz.

Die Menge des NH_3 -Stickstoffes betrug 0,1138 g, also 50,96% des Gesamtstickstoffes, der Aminosäuren entsprechender N wog 0,0789 g oder 35,3% auf Gesamt-N berechnet.

In folgenden Versuchen wurden Temperatur, Druck und Erhitzungsdauer verändert.

Versuch 6.

5,896 g feuchter oder 3,035 g trockener TBC-Bazillen wurden im Laufe einer halben Stunde im Verhältnis von 1 : 250, d. h. mit 758 ccm einer 1½%igen H_2O_2 -Lösung unter einem Druck von 3 Atmosphären und bei einer Temperatur von 143° erhitzt. Der nach dem Erkalten dem Autoklaven entnommene Kolben enthält eine schwach gelblich gefärbte Flüssigkeit, auf deren Oberfläche Tropfen erstarrten Fettes schwimmen; das Gewicht dieses letzteren beträgt 0,4021 g = 13,25%.

Molische Reaktion positiv. Die Biuretreaktion negativ.

Die Gesamtstickstoffmenge betrug 0,322 g oder 10,60%,

der Trockenrückstand wog $1,0755 \text{ g} = 35,4\%$, wovon $41,2\%$ auf organische und $58,6\%$ auf anorganische Substanz entfallen.

In dem nun folgenden Versuche beträgt unter sonst gleichen Verhältnissen von Erhitzungsdauer, Temperatur usw. das Verhältnis zwischen Bakterien und Flüssigkeit = $1 : 280$.

Versuch 7.

$4,535 \text{ g} = 2,335 \text{ g}$ trockener Tuberkelbazillen werden unter einem Drucke von 3 Atmosphären und bei 143° im Laufe einer halben Stunde mit 650 ccm einer $1\frac{1}{2}\%$ igen H_2O_2 -Lösung erhitzt, wonach die Flüssigkeit eine gelbliche Färbung und eine geringe Quantität Fett = $0,218 \text{ g}$ oder $7,5\%$ aufweist. Der Gesamt-N-Gehalt ist = $0,266 \text{ g}$ oder $11,39\%$, die Menge des Trockenrückstandes $0,760 \text{ g}$ oder $32,5\%$, wobei derselbe organische und anorganische Substanz zu gleichen Teilen, je 50% , enthält.

In dem unten folgenden Versuche ist die Erhitzungsdauer vermindert und die Verdünnung erhöht.

Versuch 8.

$5,75 \text{ g}$ feuchter oder $2,87 \text{ g}$ trockener Tuberkelbazillen werden mit 1670 ccm einer $1\frac{1}{2}\%$ igen H_2O_2 -Lösung (im Verhältnis von $1 : 581$) im Autoklaven unter einem Drucke von 3 Atmosphären und bei einer Temperatur von 143° nur im Laufe von einer Viertelstunde erhitzt. Nach dem Erkalten war die Flüssigkeit im Kolben durchaus farblos, wies jedoch fettige weiße Massen an ihrer Oberfläche und den Gefäßwandungen, deren Gewicht $0,466 \text{ g}$ oder $16,2\%$ betrug, auf. Die Gesamtstickstoffmenge betrug $0,434 \text{ g}$, was $15,12\%$ entspricht. Die trockene Substanz $0,551 \text{ g}$ oder $19,3\%$, wovon $75,7\%$ auf organische und 24% auf anorganische Substanz entfallen. Die Reaktion von Molisch fällt mit dem Filtrate positiv aus.

In dem nächsten Versuche wurde die Quantität der Flüssigkeit bis zu einem Verhältnis von $1 : 600$ gewählt, um die Wirkung der entsprechenden Verdünnung auf die Fettspaltung zu eruieren.

Versuch 9.

$0,968 \text{ g} = 0,5 \text{ g}$ trockener Tuberkelbazillen werden mit 300 ccm einer $1\frac{1}{2}\%$ igen H_2O_2 -Lösung ($1 : 600$) unter einem

Drucke von 3 Atmosphären und bei einer Temperatur von 143° im Laufe von einer Viertelstunde erhitzt. In dem nach dem Erkalten aus dem Autoklaven entfernten Kolben war die Flüssigkeit vollkommen farblos und wies an der Oberfläche ebenfalls weißes erstarrtes Fett auf. Dasselbe wurde abfiltriert und wog 0,16 g oder 32,0%. Der Gesamtstickstoffgehalt der Flüssigkeit betrug 0,092 g oder 18,4%. Der Trockenrückstand der Flüssigkeit wog 0,180 g = 36,0%, wovon 51,66% auf organische Substanz entfallen. Wie in sämtlichen vorhergehenden Versuchen fiel auch hier die Reaktion von Molisch positiv aus.

Um die Frage von der minimalen Erhitzungsdauer aufzuklären, wurde Versuch 10 vorgenommen, in welchem eine geringe Quantität Tuberkelbazillen und zwar 0,2892 g (auf Trockensubstanz berechnet) und H_2O_2 im Verhältnis von 1:300, d. h. 86 ccm einer $1\frac{1}{2}\%$ igen Lösung zur Anwendung kommen; die Erhitzung dauerte 5 Minuten unter einem Druck von 3 Atmosphären und bei einer Temperatur von 143° . Nach dem Erkalten war die Flüssigkeit trübe und enthielt Flocken. Der Kolben wurde hierauf wieder in den Autoklaven gesetzt und nochmals im Laufe von 5 Minuten, also im ganzen 10 Minuten erhitzt. Die Flüssigkeit im Kolben war fast ganz klar und kaum gefärbt. An Gesamtstickstoff enthielt sie 0,02223 g = 7,7%. Erhitzen im Wasser oder Sandbade bei Luftzutritt im Laufe eines geraumen Zeitraumes von einigen Tagen ergibt kein positives Resultat, d. h. die Bazillen quellen auf, jedoch findet keine Lösung statt.

Vollkommene Zersetzung der Tuberkelbazillen konnte unter anderen in folgenden Bedingungen erzielt werden, über welche aus vielen anderen nur in den zwei untenfolgenden Versuchen berichtet wird.

Versuch 11.

1,355 g resp. 0,390 g trockene Tuberkelbazillen werden mit 677 ccm einer 1%igen H_2O_2 -Lösung (im Verhältnis von 1:500) im Laufe von 2 Stunden unter einem Drucke von 6 Atmosphären und bei 160° erhitzt. Nach Verlauf dieses Zeitraumes und Erkalten der Flüssigkeit ist der Kolbeninhalt

schwach gelblich gefärbt, enthält jedoch keinen Bodensatz und kein ausgeschiedenes Fett.

Biuretreaktion und Millonsche Reaktion in der Flüssigkeit negativ, die von Molisch positiv. Der Gesamtstickstoffgehalt der Flüssigkeit beträgt 0,308 g oder 22,74%. Sonstige quantitative Bestimmungen wurden mit der Flüssigkeit nicht vorgenommen, weil sie zu anderen Zwecken diente, worüber an anderer Stelle die Rede sein soll.

Versuch 12

mit 2,2 g resp. 0,633 g trockener Tuberkelbazillen, welche im Laufe von 2 Stunden bei einem Drucke von 6 Atmosphären und 160° mit 400 ccm einer 1¹/₂%igen H₂O₂-Lösung (also im Verhältnis von 1 : 630) erhitzt wurden, ergab ein in sämtlichen Beziehungen positives Resultat, und zwar war die Flüssigkeit klar, ganz farblos, enthielt keine Spuren von Rückstand und Fett. Ihrem Aussehen nach unterschied sie sich durch nichts von Wasser. Der Gesamtstickstoffgehalt derselben betrug 0,224 g oder 35,39%. Die Reaktion von Molisch gab die Flüssigkeit positiv, alle übrigen negativ ab.

Ich will hier nicht weitere Versuche anführen, um kein Zahlenmaterial anzuhäufen, um so mehr als viele von ihnen im 2. Teil in kürzester Zeit beschrieben werden, und ich glaube, daß die angeführten Versuche vollauf genügen, um bis zu einem gewissen Grade die Wirkung des Wasserstoffsperoxyds überhaupt und auch speziell auf Tuberkelbazillen unter den erwähnten Bedingungen kennen zu lernen.

Indem ich fürs erste auf die Bewertung und detaillierte Besprechung der Frage vorläufig verzichte, halte ich es für angebracht, schon jetzt den Einfluß der Verdünnung auf die Ausscheidung von Fett, fast ohne dessen Zersetzung bei kurzer Versuchsdauer, d. h. bei kurzdauernder Erhitzung mit H₂O₂, hervorzuheben. In dieser Beziehung sind die Versuche 4, 7 und 9 von besonderem Interesse.

Außerdem verdient auf Grund der hier angeführten und anderer, hier nicht besprochener Versuche das Verhalten von organischer Substanz einerseits und dem N andererseits zu dem H₂O, und der Verdünnung erwähnt zu werden.

So sehen wir, daß in konzentrierten Lösungen der Gehalt an organischer Substanz ein hoher, bis zu 90% reichender, der Stickstoffgehalt dagegen ein geringer, nur 2,3—2,9% ist. Mit ansteigender Verdünnung nimmt der Gehalt an organischer Substanz fast um das Doppelte, bis auf 47%, ab und wächst zugleich parallel hierzu der N-Gehalt von 2,3—2,9% auf 15—22%. Die Temperatur und die Erhitzungsdauer ist im gegebenen Falle nicht von wesentlicher Bedeutung.

Die Konzentration der Lösung förderte also unter den obwaltenden Verhältnissen die Desamidierung und hemmte resp. verzögerte die Zersetzung von organischen Stoffen, und umgekehrt hemmen bedeutendere Verdünnungen den Prozeß der Desamidierung und fördern bis zu einem gewissen Grade die Zersetzung organischer Stoffe.

Das Wasserstoffsuperoxyd stellt, ganz abgesehen von seiner Desinfektionskraft und sonstigen Eigenschaften, zweifellos ein in sämtlichen Beziehungen überaus wertvolles Mittel sowohl zur Spaltung als auch zur Lösung verschiedener Substanzen, und zwar in bezug auf die konstantesten und kompliziertesten, sowie auch weniger komplizierte und einfachere dar, wobei wir nach Belieben die Bedingungen seiner Einwirkung in den Grenzen, welche zur Erstrebung verschiedener Ziele für uns von Belang sind, ändern können.

Ein hervorragender Vorzug der Anwendung von Wasserstoffsuperoxyd zu Spaltungszwecken besteht noch darin, daß diese Substanz hierbei selbst zersetzt wird und daß wir also keine Zeit und Mühe darauf zu verwenden brauchen, um es zu eliminieren, wie das bei Anwendung anderer Mittel erforderlich ist.
