Versuche zur Darstellung hochaktiver Saccharasepräparate.

III. Mitteilung.

Von

H. von Euler und Olof Svanberg.

Über die Reinigung unserer F-Präparate durch Dialyse.

Mit 1 Figur im Text.

(Der Redaktion zugegangen am 20. Mai 1920.)

In einer Reihe von Mitteilungen haben wir die Darstellung einiger von uns als F-Präparate bezeichneten Saccharaselösungen sowie die mit diesen Lösungen ausgeführten Versuche, welche teils die Diffusionsgeschwindigkeit (Molekulargröße) unter verschiedenen Bedingungen, teils die Vergiftungsreaktionen und die damit im Zusammenhang stehenden Erscheinungen betrafen, veröffentlicht 1) 2) 3) 4) 5) 6).

Die vorliegende Untersuchung betrifft die Frage, wie weit sich unsere F-Präparate durch Dialyse in dünnen Kollodiummembranen reinigen lassen, und in welcher Weise die chemische Zusammensetzung des Materials mit der Aktivitätsverbesserung Hand in Hand geht. Daß eine recht weitgehende Entfernung der stickstoffhaltigen Verunreinigungen der Saccharasepräparate sich durch Dialyse leicht ausführen

¹⁾ Svanberg, Diese Zeitschr. Bd. 109, S. 65 (1920).

²⁾ Euler, Hedelius und Svanberg, Diese Zeitschr. 110 (1920).

³⁾ Euler und Svanberg, Fermentforschung Bd. 3, S. 330 (1920).

⁴⁾ Euler und Svanberg, Fermentforschung Bd. 4, S. 29 (1920).

⁵⁾ Euler und Svanberg, Arkiv för Kemi Bd. 7, Nr. 27 (1920).

⁶) Euler und Svanberg, Fermentforschung Bd. 4 (1920). Hoppe-Seyler's Zeitschrift f. physiol. Chemie. CX.

läßt, ist schon früher 1) 2) 3) vielfach beobachtet worden, ohne daß jedoch ein stickstoffreies Präparat dargestellt worden ist, und ebenso wurde noch nie untersucht, in wie hohem Grade der quantitativ immer überwiegende Bestandteil der Saccharaselösungen, der Hefegummi, bei Versuchen dieser Art anwächst. Wir halten es für möglich, durch Verfolgung dieser Verhältnisse zuletzt die Entscheidung treffen zu können, ob in das Rohrzucker-spaltende Enzym Kohlehydrate bzw. höhere Kohlehydratreste wirklich zu einem beträchtlichen Grade eingehen 4), oder aber ob andere Grundsubstanzen als Träger des hohen Molekulargewichts der Saccharase vorausgesetzt werden müssen.

Experimentelle Vorbemerkungen.

Um die Unterschiede zwischen den Diffusionsgeschwindigkeiten des Enzyms und der Stickstoffsubstanzen in unseren Enzymlösungen zahlenmäßig feststellen zu können, wurden zuerst einige Versuche über die freie Diffusion der Lösung 3 F a 5 gegen reines Wasser angestellt. Die dazu verwendeten Apparate, sog. vierschichtige Plattenapparate, waren aus plangeschliffenen Messingplatten hergestellt und in einem massiven Holzsockel einmontiert. Die Schichthöhe betrug fast genau 10 mm, das Volumen war etwa 25 ccm pro Schicht. Die Figur zeigt eine Modifikation dieser Apparate im Durchschnitt. Die drei oberen Schichten waren, wie aus der Figur hervorgeht, zu einer einzigen vereinigt, die gegen die Bodenplatte nach sparsamer Schmierung sanft verschieb-Es ist also ein vereinfachtes Modell der von uns bar war. früher zur Ermittlung der Diffusionsgeschwindigkeit der Sac-

¹⁾ Euler und Kullberg, Diese Zeitschr. Bd. 73, S. 335 (1911).

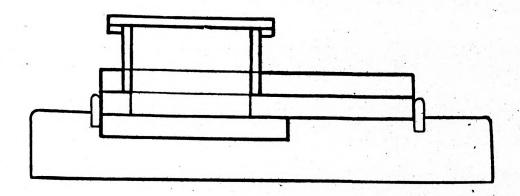
⁹⁾ Euler und Svanberg, Diese Zeitschr. Bd. 107, S. 269 (1919).

^{*)} Svanberg, Diese Zeitschr. Bd. 109, S. 65 (1920).

^{*)} Siehe hierzu Euler und Fodor, Diese Zeitschr. Bd. 72, S. 339 (1911). Die daselbst einleitungsweise geäußerte Vermutung über die chemische Verwandtschaft zwischen Saccharase und Hefegummi läßt sich immer noch aufrecht erhalten.

charase benutzten Vierschichts-Glasapparate¹). Die Diffusionsversuche wurden unter Einhaltung derselben Vorsichtsmaßregeln und in demselben Kellerraum wie in der genannten Untersuchung ausgeführt.

Die Dialyseversuche wurden mit dünnen Kollodiummembranen ausgeführt, welche aus einer Mischung von einem Teil käuflichen Kollodiums und etwa zwei Teilen Äther in Reagenzröhren von 7 cm Länge und 2 cm Diameter hergestellt worden waren. Die so erhaltenen Membranen faßten 10—16 ccm Enzymlösung. Es kamen nur frisch hergestellte Membrane zur Verwendung. Sie wurden oben mit Korkstopfen versehen, der Verschluß wurde mit einem aus einem Paragummischlauch



hergestellten Gummiring gedichtet; nach der Anbringung des Gummiringes wurden der Kork und die Membran oberhalb des Ringes mit dickem Asphaltlack gleichmäßig überzogen und die nun fertigen Dialysatoren in destilliertes Wasser eingehängt, wobei zu vermeiden war, daß der Lack mit dem Wasser in Berührung kam, ehe er ganz trocken war. Die Membranen füllten sich innerhalb weniger Stunden ganz prall mit Wasser an, und nur in zwei Fällen mußte ein Schlauch wegen Ausbleibens dieser Erscheinung als verdächtig verworfen werden. Beim Abbrechen der Dialysen wurden die Schläuche abgetrocknet und zerschnitten. Um einen Begriff von der Durchlässigkeit der verwendeten Dialysatoren für niedrigmolekulare Substanzen zu geben, wurde eine Versuchs-

¹⁾ Euler, Hedelius und Svanberg, Diese Zeitschr. 110 (1920).

reihe mit Rohrzuckerlösung ausgeführt. Es wurden fünf Membrane in der oben beschriebenen Weise mit einer 8% igen Rohrzuckerlösung beschickt und in einen mit etwa 3 Liter dest. Wasser (also einem großen Überschuß) zur Hälfte gefüllten Glaszylinder eingehängt; die Konzentrationsschlieren flossen schnell zum Boden des Zylinders. Von Zeit zu Zeit wurde ein Schlauch herausgenommen und untersucht. Die folgende Tabelle gibt die nach verschiedenen Diffusionszeiten im 1 dm-Rohr erhaltenen polarimetrischen Ablesungen (10 ccm der Proben wurden mit 10 ccm 5% iger Sodalösung gemischt). In dem letzten Stabe sind die nach der logarithmischen Formel-

$$k = \frac{1}{t} \cdot \log \frac{2,63}{\alpha}$$

berechneten Werte von k angegeben worden.

Minuten t	Drehung α	k · 10°
0	2,63	(79, extrapoliert)
30	1,60	72
60	1,05	67
90	0,68	65
120	0,58	55
240	0,18	49

Die Stickstoffbestimmungen in dieser Arbeit wurden sämtlich nach der Mikro-Kjeldahlmethode Bangs ausgeführt, wobei dieselben Reagenzkonzentrationen und Proportionen angewendet wurden, wie von Hedelius in einer früheren Mitteilung aus dem hiesigen Laboratorium angegeben worden ist.¹) Die Lösungen wurden aufs neue mit Kahlbaums reinstem Ammoniumsulfat mit den in Betracht kommenden Stickstoffmengen (zwischen 0,5 und 2,4 mg N) genau kalibriert. In den besonders stickstoffarmen Proben, wo etwa 100 mg Trocken-

¹⁾ Svanberg, Diese Zeitschr. Bd. 109, S. 89 (1920).

substanz verbrannt werden mußte, wurde die Verbrennung mit $1^1/_2$ ccm Schwefelsäure unter Zusatz von 1 ccm Kupfersulfatlösung ausgeführt. In den übrigen Fällen wie früher 1 ccm $H_2SO_4+0.5$ ccm Bertrand-Lösung I. Die Verbrennung nahm etwa 2-4 Stunden in Anspruch.

Die Zuckeranalysen wurden nach Bertrand ausgeführt. Neben der Titerstellung des Permanganats gegen Oxalat wurde die Methode noch gegen reine Glukose (20, 30, 40 und 50 mg Glukose) genau eingestellt.

Die höheren Kohlehydrate (der Hefegummi) der Saccharaselösungen wurden durch Hydrolyse mit 5% iger Schwefelsäure in Hexosen übergeführt. 5 ccm der Proben wurden in einem 50 ccm Meßkolben mit 15 ccm dest. Wasser und 1 ccm konz. Schwefelsäure gemischt, nach 5-stündiger Hydrolyse in siedendem Wasserbad zur Marke verdünnt und 15 ccm der so erhaltenen Lösung in drei Proben nach Bertrand analysiert.

Die Inversionsversuche wurden in der von uns schon früher beschriebenen Weise ausgeführt. Die Lösungen wurden so bereitet, daß bei der Inversion außer dem Enzym in 60 ccm der Lösung 4,8 g Rohrzucker und 0,4 g prim. Kaliumphosphat vorhanden waren. Von Zeit zu Zeit wurden Proben von 10 ccm mit 10 ccm 5% iger Sodalösung vermischt und polarisiert. Die Inversionsversuche wurden bei 18—18,5% ausgeführt. Die Drehungen sowie die daraus nach der Formel

$$k = 10^4 \cdot \frac{1}{t} \log \frac{R + L}{\alpha + L}$$

berechneten Werte der Inversionskonstanten sind in den Beilagen zusammengefaßt worden.

Versuchsergebnisse.

Zuerst sollen diejenigen Lösungen, welche in dieser Arbeit zur weiteren Untersuchung kamen, hier definiert werden. Es werden in der folgenden Tabelle die in Betracht kommenden Analysenresultate und Konstanten zusammengefaßt.

Lösung	1 ccm gibt bei 4,8 g Zucker die	oei 4,8 g ncker die versions- onstante	If.	± 0° Min.	Gehalt des Tro gewichts s	
·	konstante k · 104		Min.	Hexosen (nach Hydro- lyse)	N	
3 F a 3	655	4,35	7,2	6,4	74,8	4,05
3 F a 4	730	4,95	7,1	6,5		_
3Fa5	1440	10,65	6,5	7,1		3,55
3 F a 6	1410	10,9	6,2	7,45		_
(3 F 5)	_		_	_	69	4,53
(3 F a 2)	_	_	_	_	73	4,15

Diffusionsversuche.

Versuch 1.

Ursprüngliche Lösung: 3 F 5.

Diffusionszeit: 6,84 Tage. Temperatur: 11,9-12,0°.

Höhe der Bodenschicht: 10 mm.

Saccharase:

1 ccm der Bodenschicht gibt die Inversionskonstante: 935 (Beil. 1), 10 ccm der oberen Schicht geben die : 1364 (Beil. 2).

Dies entspricht

in der unteren Schicht: 69,6% der Gesamtsaccharase,

in den drei oberen Schichten

zusammen: 30,4%

Trockengewicht:

in der unteren Schicht:

7,2 %.

in der oberen Schicht:

1,35%...

Dies entspricht

in der unteren Schicht:

64% der Gesamttrockensubstanz,

in den drei oberen Schichten

zusammen: 36%

Stickstoff:

0,5 ccm der Bodenschicht enthält: 0,928 mg N, 1 ccm der oberen Schicht : 0,616 mg N.

Dies entspricht

in der unteren Schicht:

50,1% des Totalstickstoffes,

in den drei oberen Schichten

zusammen: 49,9%

Stickstoffgehalt des Trockengewichtes:

Vor der Diffusion: 3,55%.

Nach der Diffusion

in der Bodenschicht: 2,50%, in der oberen Schicht: 4,50%.

Versuch 2.

Ursprüngliche Lösung: 3 F 5. Diffusionszeit: 6,79 Tage.

Temperatur: 11,6—12,2°.

Höhe der Bodenschicht: 10 mm.

Saccharase:

1 ccm der Bodenschicht gibt die Inversionskonstante: 919 (Beil. 3), 10 ccm der oberen Schicht geben die : 1368 (Beil. 4).

Dies entspricht

in der unteren Schicht: 69,1% der Gesamtsaccharase,

in den drei oberen Schichten

zusammen: 30,9°/0,

Trockengewicht:

in der unteren Schicht: 7,20%, in der oberen Schicht: 1,36%.

Dies entspricht

in der unteren Schicht: 63,8% der Gesamttrockensubstanz,

in den drei oberen Schichten

zusammen: 36,2%,

Stickstoff:

0,5 ccm der Bodenschicht enthält: 0,94 mg N, 1 ccm der oberen Schicht . : 0,66 mg N.

Dies entspricht

in der unteren Schicht: 48,7% des Totalstickstoffes,

in den drei oberen Schichten

zusammen: 51,3%

Stickstoffgehalt des Trockengewichtes

anfangs: 3,55%, in der Bodenschicht: 2,61%, in der oberen Schicht: 4,85%.

Durch die Diffusionsversuche ist also eine gewisse Scheidung des Materiales in mehr und in weniger saccharasehaltige

Fraktionen erreicht worden, die Aktivitätsverbesserung pro g Trockengewicht ist indessen, wie durch den Vergleich der Diffusionsgeschwindigkeiten der Saccharase und der Trockensubstanz hervorgeht, recht unbedeutend. Eine schärfere Trennung sowohl hinsichtlich der Aktivitätsverbesserung als der Entfernung der Stickstoffsubstanzen erweist sich mittels der Dialyse durchführbar.

Dialyseversuche.

Die erste Dialysefraktion.

Dia- lysezeit in Stun- den	Anzahl Schläu- che	Anfangs- Volume	End-	k·104 pro ccm	Nr. der Bei- lage	Trocken- gewicht ⁰ / ₀	If.	± 0° Min.	°/ ₀ N des Trocken- gewichts	% He- xosen
		3 F a 3								
19	4	40	58	376	5	2,25	8,0	5,8	1,78	
18	4	40	59	379	6	2,26	8,05			
18	4	40	60	296	7	1,92	7,4	6,25		
22	3	30	46	844	8	2,22	7,43		1,88	
26	4	40	63	317	9					
19	4	40	61							l
	23	230	347							
		3 F a 4 u. 5								
25	8	80	138							
		3FaD1	485	424	10	2,61	7,80	5,92	1,93	85,3

(Die Farbe der ursprünglich gelb gefärbten Saccharaselösungen verschwand bei der Dialyse beinahe vollständig.)

Durch Vergleich dieser Zahlen (Dialyse 1—6) mit dem Saccharasegehalt der undiffundierten Lösung $3 \, \mathrm{F} \, \alpha \, 3$ finden wir, daß bei der Diffusion zwischen $10 \, \mathrm{und} \, 20 \, \mathrm{^0/_0}$ der Saccharase verloren geht (vgl. S. 180). Das gleiche Ergebnis wurde schon früher gefunden und dahin gedeutet, daß die dünnen Kollodiummembranen bei dieser Anordnung des Versuchs für das Enzym durchlässig sind 1). Wir können diese Deutung

¹⁾ Svanberg, loc. cit.

nunmehr berichtigen infolge des Ausgangs des folgenden Versuchs:

1 Schlauch, Dialyse gegen konstantes äußeres Volumen. Innenflüssigkeit vor der Dialyse: 10 ccm 3 F a 3,

n nach , ; 14 ccm.

Äußere Flüssigkeit , , : 61 ccm.

	k · Vo- lumen	Nr. der Beil.
Vor der Dialyse: 1 ccm der Innenflüssigkeit gibt k·104=655	0,655	11
Nach, , :1 ccm, , k·104=371	0,520	12
Verlust:	20,5%	
Nach der Dialyse: 25 ccm d. Außenflüssigkeit gibt k·10 ⁴ =. 9 , , : 1 ccm der Innenflüssigkeit		13
+ 25 ccm der Außenflüssigkeit gibt k · 10 · = 364		14

Aus diesen Zahlen ersehen wir

- daß der Enzymverlust nicht eine Durchlässigkeit der Membran für das Enzym voraussetzt, denn in der Außenschicht wird nur sehr geringe Saccharasewirkung wiedergefunden,
- 2. daß er auch nicht auf der Dialysierbarkeit eines Co-Enzyms beruht, denn die äußere Flüssigkeit aktiviert die innere Enzymlösung nicht.

Durch die erste Dialyse ist also der Stickstoffgehalt der Trockensubstanz von 4 bis 1,9% gesunken, während der Kohlehydratgehalt gleichzeitig von 74,8 bis 85,3% (nach der Hydrolyse, als Glukose berechnet) angestiegen ist. Die Wirksamkeit pro g Trockengewicht ist gleichzeitig von 6,5 bis 5,9 Minuten verbessert.

Wie weit die niedrigmolekularen Substanzen aus der Enzymlösung schon entfernt worden sind, zeigt die folgende

Gefrierpunktsbestimmung

an der Lösung 3 F a D 1: Die Gefrierpunktserniedrigung betrug 0,03°.

Hieraus berechnet sich aus der Konzentration der Lösung $(2,61\,^{\circ}/_{\circ})$ ein mittleres Molekulargewicht der in der Enzym-

lösung vorhandenen Stoffe von M = 1600; oder wenn wir annehmen, daß die Gefrierpunktserniedrigung durch eine Spur Salze des Molgewichts 50 bewirkt wird, würden diese nur etwa 0,08% der Trockensubstanz der Lösung ausmachen.

Dia- lyse- zeit in Tagen	An- zahl Schläu- che	Anfangs- Volu	End-	k·10 ⁴ pro 2 ccm.	Nr. der Bei- lage	Trocken- gewicht %-		± 0° Min.		xosen
3	8	8F α D 1 96,5	*FaD2,1 121	587	15	1,71	8,24	5,6	1,75	92,3
4	15	196	*FaD2,2 246	661	16	1,84	8 ,6 0	5,87		91,7

Die zweite Dialysefraktion.

Durch die zweite Dialyse hat sich das Verhältnis Stickstoff/Kohlehydrate also noch weiter verschoben. Der Stickstoffgehalt ist nämlich von 1,9 bis 1,7 % gesunken, die Hexosen von 85 bis 92 % gestiegen.

In den Hydrolyseprodukten des Präparats 3F a D 2,1 wurde mit der Resorcin- bzw. der Phloroglucinsalzsäureprobe nach Fruktose und Pentosen gesucht. Hierbei wurde festgestellt:

- 1. daß nur etwa 1/2-1 % des Totalzuckers aus Fruktose bestehen kann,
- 2. wegen einer beim Sieden entstehenden Gelbfärbung konnten Pentosen auch nicht mit Sicherheit völlig ausgeschlossen werden. Jedenfalls machen sie keinen erheblichen Bestandteil der Hydrolyseprodukte unserer Enzymlösung aus.

Diese Befunde stehen damit im Einklang, daß nach den Polarisationsversuchen (siehe unten) die optische Drehung der Saccharaselösungen völlig mit den aus den Zuckeranalysen berechneten Hefegummigehalten übereinstimmen. In dem Hefegummi sind nämlich keine Pentosen- und Fruktosegruppen nachgewiesen worden.

Die dritte Dialysefraktion.

	Anzahl Sehläu- che	Anfangs- Volu	Eng-	k·10 ⁴ pro 2 ccm	Nr. der Bei- lage	Trocken- gewicht %	Ir.			% He- 2000n
5	8	8FaD2,1	8FaD 8,1 105	474	17	1,43	8,55	5,4	1,58	91,2

Wie aus diesen Zahlen hervorgeht, sind wir nun praktisch zu einer Grenze der Reinigung unserer F-Präparate durch Dialyse gekommen. Die Zusammensetzung der Lösung hat sich durch die dritte, 5-tägige Dialyse nur ganz unbedeutend geändert.

Polarisationsmessungen.

Der Hefegummi besitzt ein recht beträchtliches Drehungsvermögen¹)²), so daß es möglich ist, auch in den verdünnten Saccharaselösungen den Hefegummigehalt ziemlich genau in dieser Weise zu ermitteln.

Lösung	Trocken- gewicht	gewicht Hexose der Lösung im			Hefegummi- gehalt der Lösung ber. nach [\alpha]_D^{20} = 0.89
3F a 2	4,6	73	3,02	1,45	3,26
3F a D1	2,61	85,3	2,00	0,97	2,18
3F a D 2,2	1,84	91,7	1,52	0,685	1,54
3 F a D 3,1	1,43	91,2	1,17	0,50	1,12

Ein weiterer Versuch wurde ausgeführt um festzustellen, ob mit der Hitzeinaktivierung des Enzyms eine merkbare Veränderung des Drehungsvermögens der Saccharaselösungen ver-

¹⁾ Meigen und Spreng, Diese Zeitschr. Bd. 55, S. 48 (1908). — Daselbst ältere Literatur.

²) Euler und Fodor, Diese Zeitschr. Bd. 72, S. 339 (1911).

knüpft sei. Es wurde die Lösung $3 F \alpha 2$ untersucht und es wurden folgende Drehungen beobachtet:

vor der Hitzeinaktivierung 1,45° (5-cm-Rohr) nach " (1 Stunde im Wasserbad bei 65°)1) 1,43°

Es ist also der wirklich beobachtete Polarisationsrückgang sehr klein.

Zusammenfassung.

Es wurden einige unserer F-Lösungen der fraktionierten Dialyse (Kollodiummembran) unterworfen. Die Zusammensetzung der Lösungen hat sich in folgender Weise verändert:

	% Hexosen	% N.	If.	± 0° Min.
Vor der Dialyse	74,8	4	7,2	6,4
Dialyse I	85,3	1,9	7,8	5,9
Dialyse II	92	1,7	8,4	5,5
Dialyse III	91	1,6	8,55	5,4

Der Kohlehydratgehalt der Trockensubstanz steigt also bis zu einer gewissen Grenze stark an, bleibt aber stehen, ehe ein solcher Wert erreicht worden ist, daß hiermit ein Beweis für die Annahme erbracht werden konnte, daß das Enzym wirklich zu einem wesentlichen Grade aus Kohlehydratgruppen besteht.

Das Kohlehydrat der Enzymlösung besteht zum wesentlichsten aus dem seit Schützenberger und Béchamp von zahlreichen Forschern beschriebenen Hefegummi²). In welchem Verhältnis dieser Hefegummi zur Saccharase steht, ist noch nicht aufgeklärt.

In einer früheren Arbeit war es dem einen von uns ge-

¹⁾ Die Saccharasewirkung wird dabei vollständig aufgehoben. Vgl. Euler und Laurin, Diese Zeitschr. Bd. 108, S. 64 (1919).

²⁾ Literatur bei Meigen und Spreng, Diese Zeitschr. Bd. 55, S. 48 (1908) und Euler und Fodor l. c.

lungen, eine Saccharaselösung darzustellen, die noch ärmer an Stickstoff war als das beste in der vorliegenden Untersuchung erhaltene Präparat $(1,0-1,2\,^{\circ}/_{\circ}$ N bei einer Aktivität von 5 Minuten)¹). Daß der Stickstoffgehalt hier ein wenig höher stehen blieb, erklärt sich damit, daß es sich hier um die Verarbeitung der letzten Saccharasefraktionen des Materiales handelt, die offenbar etwas reicher an höher molekularen Verunreinigungen sind.

Es wurde eine Stütze dafür geliefert, daß die Saccharasewirkung nicht an die Gegenwart irgend eines Co-Enzymes gebunden ist.

Beilagen.

Nr. der Beilage	Minuten	Drehung	k	Bemerkungen.
				Diffusionsversuche
				Versuch 1.
1	0	2.65		
	0 3 4 5	0,98	910	1 ccm der Bodenschicht
	4	0,59	930	
	5	0,25	964	Mittel: 935
2	3	0,46	1370	10 ccm der oberen Schicht
	3 4 5	0,09	1363	20 com der obeien Schicht
	5	-0,19	135 8	Mittel: 1364
				Versuch 2.
3	9	0,99	900	1 ccm der Bodenschicht
	3 4 5	0,61	915	1 cem der bodenschicht
	5	0,28	942	Mittel: 919
4	3	0,50	1327	10 ccm der oberen Schicht
	3 4	0,07	1385	10 com act obeten bentent
	5	-0,21	1392	Mittel: 1368
				Dialyseversuche
				Erste Fraktion.
5	4	1,62	870	
•	6	1,02	373	1 ccm 3 F a 3, D 1,1
	8	0,83	385	Mittel: 376

¹⁾ Svanberg, Diese Zeitschr. Bd. 109, S. 65 (1920).

H. v. Euler und Olof Svanberg,

lr. der Beil age	Minuten	Drehung	k	Bemerkungen.
6	4	1,61	373	1 ccm 3Fa3, D1,2
	6 8	1,21 0,81	373 392	Mittel: 379
7	4	1,83	283	1 ccm 8Fa3, D1,3
	6 8	1,44 1,11	300 306	Mittel: 296
8	4 6	1,70 1,29	335	1 ccm 3Fa3, D1,4
	8	0,95	84 7 350	Mittel: 344
9	4	1,78 1,38	303 317	1 ccm 3Fa3, D1,5
	8	1,01	332	Mittel: 317
10	4 6 8	1,54 1,09	403 415	1 ccm 3Fα, D1
	8 10	0, 6 8 0, 3 6	484 444	Mittel: 424
11	4	1,08	625	1 ccm 3Fa3
	5 6	0,74 0,475	662 677	Mittel: 655
12	4	1,62 1,24	370	
	4 6 8	1,24 0,85	363 380	Mittel: 371
13	4	2,63	8	
	4 6 8	2,60 2,60	8 10 8	Mittel: 9
14	4	1,65	355	
	6 8	1,23 0,88	367 370	Mittel: 364

Nr. der Beilage	Minuten	Drehung	k	Bemerkungen.
				Zweite Fraktion.
15	4	1,20	565	2 ccm 8Fa, D2,1
	5 6	0,89	588	
	6	0,62	607	Mittel: 587
16	4	1,03	655	2 ccm 3Fa, D2,2
	5 6	0,73	668	- com C t u, D 2,2
	6	0,52	655	Mittel: 661
				Dritte Fraktion.
17	4	1,37	480	2 ccm 3Fa, D3, 1
	- 5 6	1,15	472	2 com 07 c, Do, 1
	6	0,94	470	Mittel: 474