

Die mikroquantitative Bestimmung von Blausäure, pflanzlichen Blausäureverbindungen und Emulsin.

Von Dr. Hermann Brunswik (Berlin).

(Aus dem Pharmakognostischen Institut der Universität Wien.)

(Mit 3 Textabbildungen.)

Den pflanzlichen Blausäureverbindungen wird von den Anhängern der Treubschen Hypothese eine bedeutende Rolle bei der Stickstoff-assimilation zugeschrieben. Eine eindeutige Entscheidung über die Berechtigung dieser Anschauung ist noch nicht gefallen; jedenfalls ist es klar geworden, daß vor Einsetzen weiterer physiologisch-chemischer Untersuchungen und Experimente eine wesentlich verfeinerte Bestimmungsmethodik für Blausäure vorliegen müsse.

Zum rein quantitativen Nachweis von *HCN* und Emulsin in Pflanzenteilen wurde kürzlich vom Verfasser¹⁾ eine einfache, in allen Fällen anwendbare und empfindliche Methode angegeben. Auch Denigès²⁾ und Rosenthaler³⁾ machten jüngst mit zwei neuen mikrochemischen Blausäurereaktionen bekannt. — Der in physiologischer Hinsicht wertvolle, lokalisierte Nachweis von *HCN* ist noch nicht in allgemein anwendbarer Weise geglückt. Eine einwandfreie Lösung des Problems ist auch in Hinkunft kaum zu erwarten.

Das Ziel der vorliegenden Untersuchung war, in Fortsetzung der eben erwähnten Arbeit eine für physiologische Zwecke brauchbare mikroquantitative Bestimmungsmethode zu ermitteln, die folgenden drei Forderungen entspricht: 1. Vermeidung hoher Temperaturen, da die Fermente hiedurch irreversibel zerstört werden; daher Verzicht auf die bisher übliche Destillation; 2. größte Genauigkeit bei tunlichst geringem Ausgangsmaterial, damit der individuelle Fehler beim physiologischen Experiment auf ein Minimum herabgesetzt wird; 3. Analyse des von botanischer Seite bisher völlig vernachlässigten „Fermentationsmilieus“.

1) H. Brunswik, Der mikrochemische Nachweis pflanzlicher Blausäureverbindungen. Sitzber. d. Akad. d. Wiss. in Wien, math.-naturw. Kl., Abt. I., 130. Bd., 1921, S. 383—435. — Für gerichtsärztliche Zwecke modifiziert von H. Brunswik und F. Neureiter, Über den mikrochemischen Nachweis der Blausäure bei Vergiftungen. Wiener klin. Wochenschrift, Jahrg. 1922, Nr. 28, S. 1—5.

2) G. Denigès, Extension de l'emploi du réactif alloxanique etc. Extr. du Bulletin des trav. de la Soc. de Pharmacie de Bordeaux, 1921, I, S. 1—7; vgl. auch: Journ. Pharm. Chim. [7], XXIII., 1921, S. 294.

3) L. Rosenthaler, Beiträge zur Blausäurefrage, Nr. 12. Über den Nachweis der Blausäure in Pflanzen. Schweiz. Apoth.-Ztg., 60. Jahrg., 1922, Nr. 35 S. 1—4.

Zur Durchführung dieser Untersuchung wurde von der Akademie der Wissenschaften in Wien eine Subvention aus den Erträgen des Legates Scholz bewilligt. Hiefür sei auch an dieser Stelle der ergebenste Dank ausgesprochen.

A. Methodik.

Entsprechend den eben erwähnten Leitlinien wurde, unabhängig von den bereits bestehenden Bestimmungsmethoden für geringe HCN -Mengen¹⁾, ein Verfahren in Anlehnung an Pregl eingeschlagen. Die Blausäure wird bei einer Temperatur v. 30–40° C durch einen Kohlen-säurestrom in schwach salpetersaures Silber-nitrat abgeblasen. Das entstehende Silbercyanid wird, wie die Silber-halogenide v. Pregl²⁾, auf ein Asbestfilter-röhrchen gebracht und mit der Mikrowage von Kuhlmann gewogen.

Abbildung 1 zeigt den kleinen Spezial-Apparat hiezu (ausgeführt von der Firma Paul Haack, Wien IX/3, Garelligasse 4).

Der Rezipient R_1 , für ca. 5 cm³ Flüssigkeit bestimmt, kann durch zwei Hähne H_1 und H_2 abgeschlossen werden, um diesen Teil des Apparates bei Fermentationsproben für sich allein in einen Thermostat stellen zu können. Bei H_1 , dem Hahnabschluß des eingeschmolzenen, bis 1 cm über den Boden des Rezipienten reichenden Einblaseröhrchens, wird der Rezipient mit

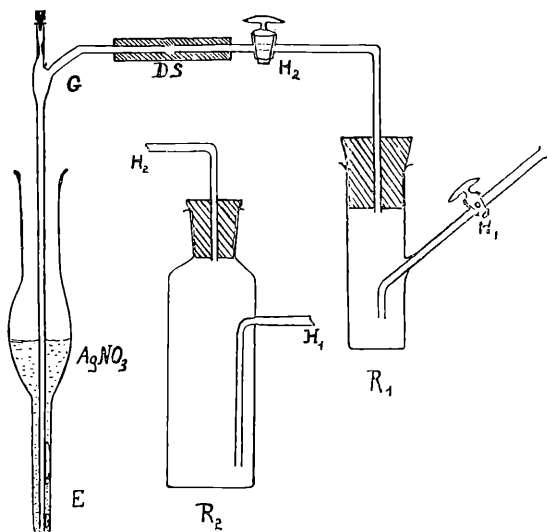


Abb. 1. Apparat zur mikroquantitativen Blausäurebestimmung ($\frac{1}{3}$ der natürl. Größe). R_1 , bzw. R_2 Rezipienten, H_1 und H_2 Glashähne des Zu- und Ableitungsrohres, DS Druckschlauchverbindung, G Gaseinleitungsrohr, E bauchige Epruvette, mit 1%igem Silbernitrat gefüllt.

¹⁾ Vgl. hiezu:

Arno Viehoveer u. C. O. Johns, On the determination of small quantities of Hydrocyanic Acid. Journ. Am. Chem. Soc., 37. Bd. (1915), S. 601–607.

J. M. Kolthoff, Über den Nachweis und die Bestimmung kleiner Mengen Cyanwasserstoff. Zeitschr. f. analyt. Chemie, Bd. 57 (1918), S. 1–15.

²⁾ F. Pregl, Die quantitative organische Mikroanalyse, Berlin (1917), S. 105 bis 122 und 130.

einem gewöhnlichen Kippschen Apparat zur CO_2 -Verbindung verbunden. Um völlig halogenfreie Kohlensäure zu erhalten, wird sie mit verdünnter $AgNO_3$ -Lösung (Waschflasche) gewaschen. — Nach Füllung mit dem Untersuchungsmaterial wird der Rezipient durch den gut dichtenden Kautschukstopfen verschlossen und das Ableitungsrohr bei H_2 mit einem paraffinierten Druckschlauch (DS) an das Gaseinleitungsrohr G angeschlossen. Dieses taucht in eine bauchige Eprouvette E ein, deren unterster Teil (5 cm) auf 7—8 mm verengt ist. Eprouvette und Gaseinleitungsrohr sind demnach gleich den von Pregl¹⁾ für die Mikro-Methoxylbestimmung empfohlenen. Das Gaseinleitungsrohr besitzt zum Reinigen und Durchspülen eine obere Öffnung, die während der Bestimmung an der verengten Stelle mit einem Tröpfchen 5%iger Salpetersäure (an Stelle von Pregls reinem „Wasserverschluß“) abgedichtet und darüber mit einem kleinen Korkstopfen verschlossen ist.

Der etwas größere Rezipient R_2 (Abb. 1) ist für 10 cm³ Flüssigkeit bestimmt. Durch seine größere Höhe wird das bei manchen Substanzen vorkommende Übersäumen in das Ableitungsrohr verhindert. — Als Vorlage in der Eprouvette dient 1%iges, mit halogenfreier Salpetersäure leicht angesäuertes Silbernitrat.

Zur Vermeidung unnützer Wiederholungen sei in Bezug auf die Behandlung des entstandenen Silbercyanid-Niederschlags auf Pregls Darstellung der völlig gleichen Verhältnisse bei den Silberhalogeniden hingewiesen. Dort wird die Herrichtung der Filterröhrchen (a. a. O., S. 109—111), das Absaugen der Niederschläge mittelst eines Heberrohres (a. a. O., S. 119—121, Fig. 24), das gründliche Nachwaschen aller Teile abwechselnd mit Wasser und 96%igem Alkohol, wenn nötig unter Zuhilfenahme des „Federchens“ (a. a. O., S. 121), das Trocknen im „Regenerierungsblock“ (5 Minuten; a. a. O., S. 111—112 und S. 121—122), das besonders genau festzuhaltende, 30 Minuten lange Verweilen der Filterröhrchen vor der Wägung in der Wage (a. a. O., S. 112 und S. 121—122), die Reinigung der Apparatur mit Chrom-Schwefelsäure usw. eingehend beschrieben und begründet. Alles dies ist auch in vorliegendem Falle genauestens einzuhalten.

Der Rezipient (R_1 oder R_2) wird während der Bestimmung mit seinem unteren Teil in ein Gefäß mit Wasser getaucht, das durch eine kleine Flamme auf 30—37° C gehalten wird. — Die Eprouvette E ihrerseits taucht, um eine langsame Erwärmung und damit Vergrößerung der Löslichkeit von $AgCN$ zu verhindern, in ein größeres Gefäß mit kaltem Wasser.

Der Zusatz von Flüssigkeiten, z. B. Äther, oder der verdünnten Säure zum Freimachen der HCN aus dem Materiale, bzw. zur Be-

¹⁾ F. Pregl, a. a. O., S. 153—157.

endigung der Fermentation, erfolgt durch den über H_1 befindlichen, erweiterten Glasansatz unter Kohlensäure-Druck, also ohne jegliche Gefahr eines Verlustes an gasförmiger HCN . — Zum quantitativen Übertreiben der Blausäure muß bei dem kleinen Rezipienten $2\frac{1}{2}$ —3 Stunden, bei dem größeren 4 Stunden abgeblasen werden.

I. Probeanalysen.

5 cm³ der Cyankaliumlösungen von gleichzeitig durch Titration nach Liebig (50 cm³) bestimmtem Gehalt werden in den Rezipienten (R_1) gefüllt. Durch H_1 wird Oxalsäure (konz. wäss.) eingepreßt und $2\frac{1}{2}$ Stunden lang abgeblasen.

Berechnet auf Grund der Makro-Titration	Gefunden in der Mikroanalyse	Δ daher
6·48 ₅ mg $AgCN$	6·52 mg $AgCN$	+ 0·03 ₅ mg $AgCN$
6·48 ₅	6·51 ₅ "	+ 0·03
0·62	0·57 "	— 0·05
1·00 ₁	1·01 ₀ "	+ 0·01
1·66 ₂	1·68	+ 0·01 ₈

II. Versuche mit Amygdalin-Emulsin.

Zu diesen Versuchen diente ein bereits längere Zeit in Gebrauch stehendes Emulsinpräparat von Kahlbaum, dessen Amygdalinzeitwert 1000¹⁾, also ein — wohl infolge des Alters — recht hoher war.

10 cm³ einer $\frac{1}{4}$ %igen Amygdalinlösung (liefert bei theoretischer Spaltung — 7·32₅ mg $AgCN$) + 12·33 mg Emulsin. Temperatur: 35° C.

Fermen- tationszeit in Stunden	Normale Fermentation (nach Ansäuern 4 Std. Abblasen)		Fermentation bei intermittierendem Blasen (2—4 Std. Intervall)		Ebenso mit $\frac{1}{2}$ Std. Intervall	
	mg $AgCN$	d. s. %	mg $AgCN$	d. s. %	mg $AgCN$	d. s. %
$\frac{1}{2}$	1·87	25·53	—	—	—	—
1	3·43	46·82	—	—	—	—
2	3·74	51·05	4·14	56·45%	—	—
4	3·85	52·55	5·44	74·26%	—	—
6	3·69	50·37	5·21	71·12%	6·37	86·94
10	4·06	55·42	—	—	—	—
12	4·06	55·42	—	—	—	—
16	4·16	56·79	5·04	68·74%	—	—
24	4·31	58·84	6·28 ₅	85·80%	—	—
24	mit 10 cm ³ einer $\frac{1}{8}$ %ig. Amygdalinlösung:		3·38 ₅	92·84%	—	—

Aus vorstehender Tabelle ergibt sich folgendes: Bei normaler, ungestörter Fermentation waren in einer Stunde bereits 46·82% Amygdalin gespalten. Bei Ausdehnung derselben auf 24 Stunden konnte nur eine Spaltung von höchstens 58·84% erzielt werden. Das Präparat

¹⁾ Näheres siehe Abschnitt C, S. 70 u. 71.

zeigte demnach, trotz mittlerer Temperatur (35°C), eine beträchtliche Zerfallsgeschwindigkeit. Bei Fermentation unter intermittierendem Blasen (meist 2 Stunden Intervall) ließ sich jedoch die Spaltung in derselben Zeit auf 70—90% bringen. Wie schon Tammann und Auld feststellen, hemmen alle drei Amygdalinspaltungsprodukte die Emulsinwirkung. Dabei erwies sich die Blausäure bedeutend wirkungsvoller als Benzaldehyd und Glukose. Durch Abblasen des Hauptteiles der jeweils gebildeten Blausäure aus dem sonst ungestörten Fermentationssystem wird die Hemmung dieses einen Spaltlings beseitigt. Der Gleichgewichtszustand zwischen Amygdalin, der hypothetischen Emulsin¹⁾ = Amygdalin-Bindung, und den Spaltprodukten (HCN) wird in der Richtung beeinflusst, daß neue Spaltprodukte gebildet werden können. — Ein andauerndes Blasen mit Kohlensäure wirkte jedoch wieder ungünstig (in 12 Stunden waren nur 37% gespalten), da hiedurch die Wasserstoffionenkonzentration dauernd auf der der Kohlensäure, also viel zu sehr im sauren Gebiete, gehalten wurde.

Da die in natürlichem (Pflanzen-) Material vorkommenden amygdalinspaltenden Fermente ebenfalls meist nicht hochwertig und konzentriert sind, dürfte es zulässig sein, die an dem untersuchten Emulsinpräparat gewonnene Erfahrung hinsichtlich der Vorteilhaftigkeit des intermittierenden Blasens auch auf die Fermentation der Naturobjekte zu übertragen.

III. Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration.

Je nach dem Zustande, dem Alter und der Herstellungsweise eines Emulsins scheint sich, wie Willstätters²⁾ kritische Literaturzusammenstellung zeigt, sein p_{H} -Optimum etwas zu ändern.

Die jüngsten diesbezüglichen Untersuchungen Willstätters stellen das Optimum für die Amygdalinspaltung bei $p_{\text{H}} = 6$ fest. Schon vor Kenntnis dieser Arbeit hatte ich mit dem bereits erwähnten, zur Verfügung stehenden Emulsinpräparate den Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration bei längerer Fermentationszeit (12 Stunden) zu ermitteln gesucht.

Tabelle 1 und Kurve Abb. 2 zeigen die Ergebnisse dieser Versuche. Zunächst geht hervor, daß bei 12stündiger Fermentation mit einem nicht hochwertigen Emulsin eine breite optimale Zone von $p_{\text{H}} = 4.74$ (Nr. 7) bis $p_{\text{H}} = 6.56$ (Nr. 15) besteht. Da die leichte Zweigipfeligkeit der Kurve zuerst unwahrscheinlich schien, wurden die Bestimmungen an den wichtigen Punkten $p_{\text{H}} = 4.74$ (Nr. 7 und 8),

1) Amygdalase- und Prunase-Wirkung als Einheit aufgefaßt.

2) R. Willstätter und W. Csányi, Zur Kenntnis des Emulsins. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 117, 1921, S. 180—183.

Tabelle 1.

Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf die Emulsin-
wirksamkeit bei 12stündiger Fermentation.

10 cm³ der bezeichneten Pufferlösung, die 25·00 mg Amygdalin (also 1/4%) enthielt, mit 12 mg Emulsin versetzt (Evakuierung von 30 Sekunden zur guten Durchmischung). Emulsin- (Präp. Kahlbaum) -Zeitwert: 1000 (vgl. Tab. 3a). — 12 Std. Fermentation im Thermostaten bei 37° C. Nach Säurezusatz 4 Std. Abblasen mit Kohlensäurestrom.

Nr	p _H ¹⁾	verwendeter Puffer (bei 37° C)	gewogenes AgCN in mg	entspricht einer Amygdalin- spaltung von
1	2·89	1/10 n Essigsäure	0·16 ₅	2·25%
2	3·24	1/10 n Essigsäure 1/10 n Na-Azetat wie 32/1	0·30 ₀	4·10%
3	3·54	" " 16/1	1·59 ₅	21·73%
4	3·84	" " 8/1	2·15 ₀	29·35%
5	4·14	" " 4/1	3·61 ₅	49·35%
6	4·41	1/15 n KH ₂ PO ₄	3·60 ₅	49·21%
7	4·74	1/10 n Essigsäure 1/10 n Na-Azetat wie 1/1	4·02 ₀	54·88%
8			4·12 ₀	56·24%
9	5·05	" " 1/2	4·16 ₅	56·87%
10	5·35	" " 1/4	3·62 ₀	49·69%
11	5·66	1/8	3·85 ₅	52·62%
12			3·88 ₅	53·03%
13	5·96	1/16	4·00 ₅	54·66%
14			4·16	56·79%
15	6·56	4 cm ³ Na ₂ HPO ₄ + 6 cm ³ KH ₂ PO ₄	4·02 ₀	54·88%
16	7·09	7 cm ³ Na ₂ HPO ₄ + 3 cm ³ KH ₂ PO ₄	3·44 ₀	46·96%
17	7·65	9 cm ³ Na ₂ HPO ₄ + 1 cm ³ KH ₂ PO ₄	3·15 ₅	43·07%
18	7·96	9·5 cm ³ Na ₂ HPO ₄ + 0·5 cm ³ KH ₂ PO ₄	2·47	33·72%
19	8·31	9·75 cm ³ Na ₂ HPO ₄ + 0·25 cm ³ KH ₂ PO ₄	2·31 ₅	31·60%
20	8·60	9·9 cm ³ Na ₂ HPO ₄ + 0·1 cm ³ KH ₂ PO ₄	0·78 ₅	10·72%
21	9·10	1/15 n Na ₂ HPO ₄	0·21 ₅	2·96%

¹⁾ Vgl. auch die kurvenmäßige Darstellung dieser Analysenreihe in Abb. 2.

¹⁾ p_H-Werte, für 37° berechnet, nach L. Michaelis, Die Wasserstoffionen-
konzentration, Berlin (1914), S. 182—189.

$p_H = 5.66$ (Nr. 11 und 12) und $p_H = 5.96$ (Nr. 13 und 14) wiederholt, jedoch übereinstimmende Werte erhalten.

Unter Berücksichtigung der Ergebnisse Willstätters läßt sich aber die Zweigipfeligkeit der Kurve in einfacher Weise deuten. Willstätter ermittelte als p_H -Optimum für die Prunase (Prunasinspaltung) 4.9, für die Amygdalinspaltung (Amygdalase- + Prunase-Wirkung) 6. Die Amygdalasespaltung liefert daher der Prunase erst ihr Material (Prunasin) in einer p_H , die für sie gar nicht mehr optimal ist. Wenn, entsprechend dem geschwächten Zustande des ganzen Emulsinapparates, die Prunase geschwächt ist, so wird sie bei ihrem Wirkungsoptimum um $p_H = 4.9$ von der ihr zur Verfügung stehenden Prunasinquantität

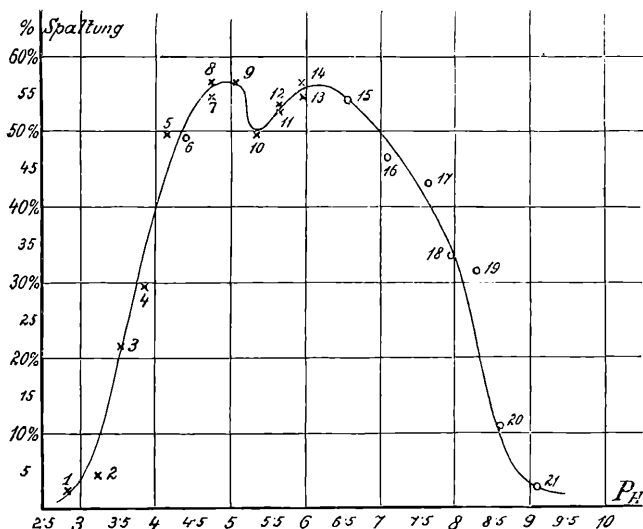


Abb. 2. Spaltungskurve einer $\frac{1}{4}\%$ igen Amygdalinlösung mit gleicher Fermentmenge bei verschiedener p_H . — Temp. 37°C . — \times Azetatpuffer, o Phosphatpuffer.

eine prozentig maximale Menge weiter spalten. Bei $p_H = 5.20$ — 5.70 aber wird trotz einer größeren zur Verfügung stehenden Prunasinmenge — da die Amygdalase erst zu ihrem Optimum aufsteigt — eine prozentig geringere Menge gespalten werden. Erst beim Amygdalase-Optimum $p_H = 6$ wird sie gewissermaßen durch die Materialüberflutung neuerdings gesamt-, wenn auch nicht partialprozentig, mehr spalten.

Der Grund, warum Willstätter eine derartige Zweigipfeligkeit der Kurve nicht erhielt, kann entweder in der zu geringen Anzahl der Bestimmungen im p_H -Gebiet von 4—5 liegen oder wahrscheinlich darin, daß in Willstätters hochwertigem Präparat das Verhältnis Amygdalase-Prunase ein solches war, daß auch bei dem für die Prunase

nicht mehr optimalen $p_{\text{H}} = 5-6$ doch noch sämtliches von der Amygdalase gelieferte Prunasin weiter gespalten werden konnte.

Immerhin spricht auch die Kurve (Abb. 2) bei dieser Deutung dafür, daß Amygdalase und Prunase im Emulsinkomplex als zwei getrennt wirkende Fermente existieren.

B. Bestimmung der Blausäure in Pflanzenteilen.

Die an dem System Amygdalin-Emulsin zur Erzielung einer möglichst vollständigen Spaltung der Blausäureglukoside gewonnenen Erfahrungen wurden nun bei der Untersuchung der natürlichen Pflanzenobjekte verwertet.

a) Die Einwage des Materials war nach Möglichkeit so gewählt, daß Mengen von 1—5 mg Silbercyanid ($Ag\text{CN}$) erhalten wurden. Dazu reichten zumeist $\frac{1}{2}$ — $1\frac{1}{2}$ g aus, also z. B. eine halbe Mandel, 2 Marillenkerne, 2—4 Mondbohnen, 7 Samen von *Vicia macrocarpa*, 1 Blatt von *Prunus laurocerasus*, 2—4 Blätter von *Prunus padus* usw. Verhältnismäßig trockenes Material, in dem keine früher als „locker“ oder „labil“ gebunden bezeichnete Blausäure vorhanden ist¹⁾, wurde in der Reibschale feinst gepulvert und sodann im Rezipienten (Abb. 1, R_2) mit 10 cm³ destilliertem Wasser versetzt. Gute, sofortige Durchmischung ließ sich durch Evakuieren mit der Luftpumpe bis zur Blasenbildung (ungefähr 30 Sekunden) erzielen. Die Fermentation erfolgte im Thermostaten bei 30—35° C. — Blätter z. B. von *Prunus laurocerasus*, *Prunus padus*, *Linum usitatissimum* usw., die beim Zerschneiden bereits beträchtliche Mengen von Blausäure in Freiheit setzen, wurden als ganze, unverletzt, nur sanft eingerollt in den Rezipienten gebracht und $\frac{1}{2}$ —1 cm³ Äther zugesetzt. Dieser ermöglichte das sofortige Aufeinanderwirken von Emulsin und dem betreffenden Blausäureglukosid innerhalb des ätherisierten Gewebes. Bereits nach einer halben Stunde wurde mit dem intermittierenden Abblasen begonnen. Erst bis das Blattmaterial auf diese Weise erschöpft war (nach ca. 6 Stunden), wurde es zerschnitten und zerrieben, der Brei mit Wasser versetzt und die Fermentation in derselben Weise wie bei den trockenen Objekten 6—30 Stunden unter intermittierendem Kohlensäure-Abblasen vorgenommen. — Nach Zusatz von $\frac{1}{2}$ cm³ verdünnter Säure erfolgte dann stets noch ein zweistündiges „Restblasen“.

¹⁾ Vgl. hiezu die beiden von einander unabhängigen Diskussionen über diese Frage bei L. Rosenthaler, Beiträge zur Blausäurefrage, Nr. 3: In welcher Form kommt Blausäure im Pflanzenreich vor? (Schweiz. Apoth.-Ztg., 57. Jahrg., 1919, Nr. 40, S. 1—6) und bei H. Brunswik, a. a. O. (S. 384—389).

b) Fermentationsdauer. Im allgemeinen lassen sich die mikroquantitativen Blausäure-Bestimmungen nach dieser Methode bei bloß orientierender Untersuchung („Schnellmethode“; z. B. bei Nahrungsmittelprüfung [*Phaseolus lunatus*!]) mit einer Fermentationszeit von 6—8 Stunden unter häufigem intermittierendem Abblasen durchführen. Die Werte bei der normalen Fermentationsdauer von 24—30 Stunden (mit etwa dreimaligem intermittierendem Abblasen von 2 Stunden) sind, wie die beiden entsprechenden Kolonnen in Tabelle 2 zeigen, nur um wenig höher.

Die in Wehmers „Pflanzenstoffe“ angegebenen makrochemisch gewonnenen Analysenzahlen der untersuchten Pflanzenobjekte (vgl. vorletzte Kolonne in Tabelle 2), stimmen mit den gefundenen Werten gut überein. — Im allgemeinen konnte aber durch die sorgfältige individuelle Behandlung des Materials, wie sie nur die Mikroanalyse ermöglicht und durch das intermittierende Abblasen mit CO_2 stets ein einigermaßen höherer Gehalt an Blausäure, bzw. dem betreffenden Blausäureglukosid, gefunden werden, als bisher angegeben worden war.

c) Zur Berechnung des Glukosidgehaltes ist freilich noch die Frage zu entscheiden, ob unter den angegebenen Bedingungen eine vollständige Spaltung der Blausäure-Glukoside erfolgt oder nicht. Soweit mir bekannt ist, wird diese Frage stets — stillschweigend — bejaht. Trotzdem glaube ich nicht, daß bei den vorliegenden, wie auch bei den früheren makrochemischen Analysen, jemals durch die Fermente eine wirklich quantitative Aufspaltung der pflanzlichen HCN -Verbindungen in ihrem natürlichen Substrat erfolgte. Falsche Gleichgewichtszustände (Tammann), Hemmungen durch die Reaktionsprodukte (Zucker, Benzaldehyd), Fermentzerfall trotz der relativ niederen Temperatur von $35^\circ C$, nicht optimales p_H usw. stehen dem hindernd im Wege. Selbst im reinen System Amygdalin—Emulsin kann nur bei hochwertigen Emulsinpräparaten und verhältnismäßig langer Fermentation unter den günstigsten Bedingungen eine Spaltung über 90% erzielt werden (S. M. Auld¹), E. Fischer²), R. Willstätter³); vgl. auch S. 5). Daß aber auch natives, im Pflanzenmaterial vorkommendes Emulsin keineswegs irgendwie wirksamer ist als die sorgfältig hergestellten Emulsinpräparate, sei durch folgenden Versuch gezeigt:

¹) S. Manson Auld, Journ. Chem. Soc., Bd. 93, S. 1151—1277 (1908).

²) E. Fischer, Einfluß der Struktur der β -Glukoside auf die Wirkung des Emulsins. Ztsch. f. physiol. Chem., Bd. 107 (1919), S. 176—202.

³) R. Willstätter u. W. Czányi, Zur Kenntnis des Emulsins. Ztsch. f. physiol. Chem., Bd. 117 (1921), S. 172—200.

8. September.

a) Süße Mandel 0.62 g lufttrocken, 2 Jahre alt.
(Hätte, wenn eine bittere von derselben Sorte [3.1%;
vgl. Tab. 2] — 19.22 mg Amygdalin).
+ 10 cm³ 1/4% Amygdalinlösung (= 25 mg Amygd.).

Mazeration von 10 h 50' vm. bis 4 h 50' nm. (6 Std.)

Blaszeiten: 3 h —' nm. bis 4 h 30' nm. 4 h 50' + Säure,
Restblasen bis 9 h —' nm.

Gewogen: 5.07 mg *AgCN*, d. s. 1.024 mg *HCN*.

Demnach gespalten: 69.21% des Amygdalins.

b) Kahlbaum-Emulsin
Zeitwert 1000 (1 Jahr offen).
— 12 mg.

+ 10 cm³ 1/4% Amygdalinlösg.
(= 25 mg Amygd.).

Mazeration von 8 h 35' vm. bis
2 h 35' nm. (6 Std.).

Blaszeiten: 10 h 35' vm. bis
12 h 35' vm. 2 h 35' + Säure,
2 1/2 Std. Restblasen.

Gewogen: 5.21 mg *AgCN*,
d. s. 1.052 mg *HCN*.

Demn. gespalten: 71.12%
des Amygdalins.

Aus diesem Grunde wurde in Tabelle 2 der Prozentgehalt an den betreffenden *HCN*-Glukosiden bei 90% Spaltung neben dem absolut gefundenen errechnet, da diese Werte wohl dem wahren Sachverhalt näherkommen.

d) Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration. Auch bei natürlichem Material wurde untersucht, ob die Blausäure-Ausbeute durch Verwendung eines Puffers von p_H 4.7—6 (z. B. Acetatpuffer 1/16, $p_H = 5.96$ bei 37° C) an Stelle von dest. H_2O (von $p_H = 6.8$ bei 37° C) als Mazervationsflüssigkeit gesteigert werden könnte. Als Beispiel sei folgendes Analysenpaar gewählt:

11. September.

2 bittere Mandeln — 0.96 g

feinst zerrieben; Pulver gründlich durchmischt.

a) 0.46 g davon

+ 10 cm³ Acetat-Puffer 1/1 ($p_H = 4.74$).

Mazeration: 11 h 06' bis 12 h 06' vm. (1 Std.)

+ Säure; Blasen bis 4 h 06' nm.

Gewogen: 4.32₅ mg *AgCN*

(d. s. 0.8732 mg *HCN*),

d. s. also % = 0.1898% *HCN*

= 3.21₆ % Amygdalin.

b) 0.46 g davon

+ 10 cm³ dest. H_2O ($p_H = 6.8$).

Mazeration: 11 h 16' bis 12 h 16' vm. (1 Std.)

+ Säure; Blasen bis 4 h 16' nm.

Gewogen: 4.21₅ mg *AgCN*

(d. s. 0.8510 mg *HCN*),

d. s. also % = 0.1850% *HCN*

= 3.12₈ % Amygdalin.

$\Delta = 0.08_8$ % Amygdalin

(bzw. 0.0048₃ % *HCN*).

Die Mehrausbeute an Blausäure *HCN* ist demnach eine recht kleine; der Unterschied (Δ) liegt bereits nahe der Fehlergrenze dieser Methode bei fermentativen Systemen überhaupt. Da durch das intermittierende Abblasen mit Kohlensäure während der Fermentation die p_H zeitweilig von 7 gegen 4 gedrückt wird, so wurde auf die Verwendung eines Puffers von optimaler Emulsin- p_H vollständig verzichtet, auch aus dem Grunde, weil dann das Abblasen mittelst eines neutralen Gases (*N* oder H_2) erfolgen müßte.

Tabelle 2a.
Blausäure-Mikroanalysen an Pflanzenobjekten.

Datum	Objekt (Pflanzenname)	Untersuchter Pflanzenteil	Einwage in g	HCN erhalten bei Fermentation		Gehalt berechnet auf ev. bekanntes HCN-Glukosid (% vom Frischgewicht)		bekannte Werte bei makrochem. Analyse (Wehmer, 1911)	An- merkung
				24-40 Std. intermittier. Blasen	6-8 Std. intermittier. Blasen	bei 100%ig. Spaltg.	bei 90%ig. Spaltg.		
8./IX.	<i>Prunus communis</i> (L.) Arc. var. phys. <i>amara</i> Tsch.	lufttrockener Same	0·52	—	0·173 ₂ %	2·93% Amygdalin	3·22% Amygdalin	} 3%—4% Amygdalin	—
22./VIII.	"	"	0·44	0·183 ₅ %	—	3·10% Amygdalin	3·41% Amygdalin		—
13./IX.	"	"	0·46	—	0·185 ₀ %	3·13% Amygdalin	3·44% Amygdalin		bloß 1 Std. fermentiert
31./VIII.	<i>Prunus persica</i> Sieb. et Zucc.	"	0·57	0·122 ₀ %	—	2·06% Amygdalin	2·27% Amygdalin	2·35% Amygdalin	—
24./VIII.	<i>Prunus armeniaca</i> L.	"	0·58	0·169 ₅ %	—	2·87% Amygdalin	3·15% Amygdalin	—	—
2./IX.	<i>Prunus domestica</i> L.	"	0·62	0·067 ₂ %	—	1·14% Amygdalin	1·25% Amygdalin	0·96% Amygdalin	—
11./IX.	<i>Prunus spinosa</i> L.	(18 Stück)	0·68	0·157 ₄ %	—	2·66% Amygdalin	2·93% Amygdalin	—	—
2./IX.	<i>Prunus laurocerasus</i> L.	einjähriges Blatt, frisch	1·76	—	0·118 ₈ %	? Prulaurasin und Laurocerasin	? Prulaurasin und Laurocerasin	} ca. 0·120% HCN	} von dem- selben Zweig
2./IX.	"	"	1·55	0·128 ₃ %	—	"	"		
2./IX.	"	zweijährig. Blatt, frisch	2·44	—	0·079 ₇ %	"	"		
1./III.	"	einjährig., überwin- tertes Blatt, frisch	0·93	0·126 ₉ %	—	"	"	} ca. 0·120% HCN	} vor dem Aus- treiben!
3./III.	"	"	1·22	0·138 ₃ %	—	"	"		
10./IX.	<i>Prunus padus</i> L.	einjährig. Blätter (4 Stück)	2·07	0·033 ₆ %	—	? Prunasin	? Prunasin	0·022% HCN	—
10./IX.		Rinde der ein- jährigen Zweige	0·26	0·096 ₇ %	—	2·06% Amygdalin (?)	2·26% Amygdalin (?)	bis 1% amorphes Amygdalin	—

Tabelle 2b.
Blausäure-Mikroanalysen an Pflanzenobjekten.

Datum	Objekt (Pflanzenname)	Untersuchter Pflanzenteil	Einwaage in g	HCN erhalten bei Fermentation		Gehalt berechnet auf ev. bekanntes HCN-Glukosid (% vom Frischgewicht)		bekannte Werte bei makrochem. Analyse (Wehmer, 1911)	An- merkung
				24—40 Std. intermittier. Blasen	6—8 Std. intermittier. Blasen	bei 100%ig. Spaltg.	bei 90%ig. Spaltg.		
13./IX.	<i>Prunus avium</i> L.	lufttrockene Samen (6 Stück)	0·43	0·127 ₀ %	—	2·12% Amygdalin	2·34% Amygdalin	0·85% Amygdalin	—
11./IX.	<i>Prunus cocomilia</i> Ten.	(4 Stück)	0·54	0·119 ₆ %	—	2·02% Amygdalin	2·24% Amygdalin	—	—
9./IX.	<i>Cydonia oblonga</i> Mill.	(30 Stück)	1·43	0·031 %	—	0·53% Amygdalin	0·58% Amygdalin	—	—
27./VIII.	<i>Malus domestica</i> Borkh.	"	1·27	0·030 %	—	0·51% Amygdalin	0·56% Amygdalin	0·6% Amygdalin	—
4./IX.	<i>Phaseolus lunatus</i> farbige Birma-Sorte	Samen (4 Stück)	1·27	0·024 ₂ %	—	0·22% Phaseolunatin	0·24% Phaseolunatin	0·010—0·020% HCN	—
10./IX.	<i>Phaseolus lunatus</i> weiße Birma-Sorte	" (10 ")	1·86	0·026 ₁ %	—	0·24% Phaseolunatin	0·26% Phaseolunatin	0·007—0·019% HCN	—
4./IX.	<i>Phaseolus lunatus</i> Java-Sorte	" (4 ")	1·39	0·178 ₅ %	—	1·63% Phaseolunatin	1·79% Phaseolunatin	0·050—0·320% HCN	—
5./IX.	<i>Vicia macrocarpa</i> Bert.	" (7 ")	1·05	—	0·010 ₄ %	0·164% Vicianin	0·18% Vicianin	—	—
6./IX.	"	" (8 ")	1·06	0·010 ₁ %	—	0·160% Vicianin	0·17 ₅ % Vicianin	—	—
21./VIII.	<i>Linum usitatissimum</i> L.	lufttrock. Samen (ca. 200 Stück)	1·00	0·016 ₀ %	—	0·15% Phaseolunatin	0·16% Phaseolunatin	} bis 1·5% Phaseolunatin	—
17./IX.	"	noch nicht er- grünte Keimlinge	0·68	0·043 ₄ %	—	0·40% Phaseolunatin	0·44% Phaseolunatin		—
28./IX.	"	ergrünte Keimlinge (3 Blattpaare)	0·69	—	0·042 %	0·39% Phaseolunatin	0·43% Phaseolunatin		—
11./IX.	<i>Sambucus nigra</i> L.	Blätter (Herbst-Frischtrieb)	3·60	0·003 ₆ %	—	0·04% Sambunigrin	0·04 ₃ % Sambunigrin	0·010—0·003% HCN	Herbst!
9./III.	<i>Arum orientale</i> Boiss.	erstes Blatt	1·31	—	0·005 ₇ %	?	?	—	—

e) Verwertung der Analysenzahlen für physiologische Schlußfolgerungen. Von Treub und den späteren Anhängern seiner Hypothese wird eine meist größere Menge von Pflanzenmaterial durch 24 Stunden fermentieren gelassen (ev. unter Zusatz eines Emulsinpräparates), dann die abgespaltene Blausäure destilliert und die so gewonnenen Zahlen für den HCN -, bzw. Glukosidgehalt zu physiologischen Schlußfolgerungen verwertet. Es scheint aber, daß man dies nicht so ohneweiters tun darf, sondern dem „Fermentationsmilieu“ eine größere Beachtung schenken muß. Die nach den Untersuchungen von G. Kraus im Tagesrhythmus stets schwankende p_H (gemessen am Gesamtpreßsaft), die größere Anhäufung von hemmenden Reaktionsprodukten (Zucker) zu gewissen Tageszeiten und bei Witterungseinflüssen können in diesem — fermentationsbeeinflussenden — Sinne zur Erklärung der von Treub beobachteten Abhängigkeit des HCN -Gehaltes von der Besonnung am vorangegangenen Tage (*Phaseolus lunatus*), der bei gewissen Pflanzen feststellbaren Schwankungen im Blausäuregehalt der Morgen-, Mittags- und Abendblätter, sowie der oftmals behaupteten Abnahme des Cyanwasserstoffes bei Verdunkelung herangezogen werden. Nicht der Blausäuregehalt wäre demnach schwankend, sondern nur der Spaltungsgrad einer konstanten Blausäureglukosidmenge, eben infolge des wechselnden Fermentationsmilieus. Damit aber wäre die untergeordnete Bedeutung der Blausäure-Verbindungen für den Stickstoffhaushalt der betreffenden Pflanzen erwiesen. Eine Analyse und Nachprüfung in diesem Sinne steht noch aus.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß die beschriebene Methode, unter Berücksichtigung des Fermentationsmilieus, auch für physiologische Untersuchungen brauchbar sein dürfte¹⁾. Sie übertrifft die bisher geübte jedenfalls an Feinheit. Schneller, unter Ausschaltung aller der eben angeführten Fehlerquellen, würde freilich eine Methode der Mikro-Hydrolyse zum Ziele führen.

C. Bestimmung des Emulsin-Zeitwertes in Pflanzenmaterial.

In jüngster Zeit begannen R. Willstätter und W. Csányi²⁾ mit der quantitativen Bestimmung des Emulsins; sie benützten hiezu als Maßstab seine spaltende Wirkung auf Amygdalin. Sie definieren³⁾: „Als Zeitwerte der Emulsinwirkung werden die Beträge von Minuten

¹⁾ Die geplante Durchführung diesbezüglicher physiologischer Versuche mit *Phaseolus lunatus* L. mußte aus äußeren Gründen für die nächste Zeit zurückgestellt werden.

²⁾ R. Willstätter und W. Csányi, Zur Kenntnis des Emulsins. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 117 (1921), S. 172—200.

³⁾ R. Willstätter und W. Csányi, a. a. O., S. 173.

bestimmt, welche 1 mg Emulsin oder emulsinhaltiges Pflanzenmaterial brauchen würde, um 50% der theoretischen Monosenmenge aus äquivalenten Mengen (hier aus Amygdalin) unter gleichen Bedingungen, jedoch bei optimalem p_H (für Amygdalinspaltung = 6), abzuspalten“. Wie bereits aus dieser Definition des Emulsinzeitwertes hervorgeht, wird von Willstätter der Grad der eingetretenen Amygdalinspaltung durch Bestimmung der gebildeten Glukose — u. zw. nach der Methode von Sonntag und Bertrand — festgestellt. Da aber die dargestellten Emulsinpräparate und um so mehr natürliches Pflanzenmaterial ein beträchtliches Eigenreduktionsvermögen besitzen, mußte dieses in Parallelbestimmungen ermittelt und bei der Berechnung in Abzug gebracht werden ¹⁾.

Gerade für die Zeitwertbestimmung des gesamten Emulsinkomplexes in nativem (Pflanzen-) Material erscheint daher die zweite Möglichkeit, nämlich die direkte Bestimmung der aus zugesetztem Amygdalin abgespaltenen Blausäure mittelst der beschriebenen Mikromethode, als die handlichere und genauere von Wert zu sein.

Tabelle 3 enthält die auf diese Weise bei einer Reihe von Pflanzen- und Tierobjekten bestimmten Emulsinzeitwerte. Als Grundlage zur Berechnung wurde die Standardkurve von Willstätter und Csányi benutzt, die diese Autoren mit ihrem nach einer neuen Darstellungsmethode gewonnenen, hochwertigen Emulsinpräparat ermittelten. Der für die Berechnung nötige Teil ist in Abb. 3 vergrößert wiedergegeben. Um vergleichbare Werte zu erhalten, wurden auch sonst Willstätters Versuchsbedingungen tunlichst eingehalten: $p_H = 5.96$ (als Puffer $\frac{1}{10}$ n Essigsäure $\frac{1}{10}$ n Na-Azetat wie $\frac{1}{16}$), Temp. 30° C, Mazeration des trocken feingepulverten Objektes in 10 cm³ Flüssigkeit, die 25 mg Amygdalin enthielt (= $\frac{1}{4}$ %). Bei steigenden Emulsinmengen bestehen die strengen

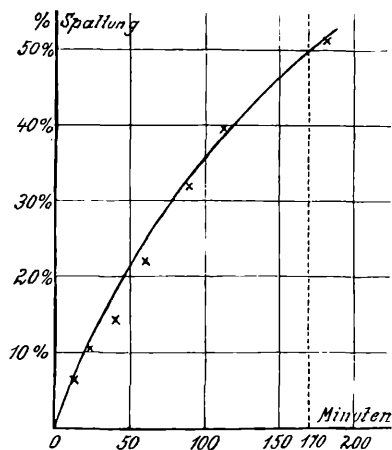


Abb. 3. Emulsin-Standardkurve zur Berechnung der Zeitwerte (nach Willstätter und Csányi)
 $p_H = 6$, Temp.: 30° C,
 × experimentell ermittelte Punkte (Willst. u. Csányi).

¹⁾ Dazu kommt noch, daß Bertrands Glukosebestimmung erst nach völligem Ausblasen der Blausäure mit Wasserdampf (eine halbe Stunde) zufriedenstellende Werte liefert.

Tabelle 3a.
Emulsinzeitwertbestimmungen.
A. Eigene Analysen.

Nr.	Objekt (Präparat)	Untersuchter Teil; Zustand; Anmerkung	Einwage in mg	Mazerations- zeit in Minuten	erhaltenes <i>AgCN</i> in mg	Zeitwert des Objektes	Zeitwert- exponent
1	<i>Claviceps purpurea</i> (Mutterkorn)	Sklerotien, lufttrocken, 1 Jahr alt	210·—	222	1·14 ₅	198.250 (1·98 · 10 ⁵)	5·30
2	"	"	28·16	240	0·13	229.800 (2·30 · 10 ⁵)	5·36
3	<i>Aspergillus niger</i>	5 Monate altes, fruchtendes Myzelium	500·—	90	2·17	101.320 (1·01 · 10 ⁵)	5·01
4	"	"	205·—	80	0·62	159.300 (1·59 · 10 ⁵)	5·20
5	<i>Arum maculatum</i> L.	reife Samen, lufttrocken	350·—	218	—	∞	— ¹⁾
6	<i>Cannabis sativa</i> L.	" " "	485·—	224	—	∞	— ¹⁾
7	<i>Sinapis alba</i> L.	" " "	365·—	220	0·18	2,275.000 (2·28 · 10 ⁶)	6·35
8	<i>Brassica Napus</i> L. var. <i>oleifera</i>	" " "	220·—	224	0·28 ₅	1,225.000 (1·22 · 10 ⁶)	6·09
9	<i>Papaver somniferum</i> L.	" " "	400·—	200	0·53	850.000 (8·50 · 10 ⁵)	5·93
10	<i>Pirus communis</i> L.	" " "	150·—	120	—	∞	— ¹⁾
11	<i>Prunus communis</i> var. <i>dulcis</i>	" (Süße Mandeln)	50·—	90	2·92	6.510 (6·50 · 10 ³)	3·81
12	Mandelemulsin	Präparat von Kahlbaum, 1 Jahr offen	12·33	30	1·87	968 (9·70 · 10 ²)	2·99
13	"	" " "	5·—	60	1·50	1.020 (1·00 · 10 ³)	3·01
14	<i>Anthyllis vulneraria</i> L.	reife Samen, lufttrocken	140·—	280	0·53	416.500 (4·17 · 10 ⁵)	5·62
15	<i>Lotus corniculatus</i> L.	" " "	520·—	260	0·73	1,045.000 (1·04 · 10 ⁶)	6·02
16	<i>Lens culinaris</i>	" " "	400·—	185	1·44	267.200 (2·67 · 10 ⁵)	5·44

¹⁾ Diese negativen Befunde (Nr. 5, 6, 10) werden als Prüfstein für die Exaktheit und Eindeutigkeit der Methode angeführt (Leerproben); Nr. 18—20 zeigen die Grenzen der quantitativen Mikromethode an.

Tabelle 3b.
Emulsinzeitwertbestimmungen.
A. Eigene Analysen.

Nr.	Objekt (Präparat)	Untersuchter Teil; Zustand; Anmerkung	Einwage in mg	Mazerations- zeit in Minuten	erhaltenes <i>AgCN</i> in mg	Zeitwert des Objektes	Zeitwert- exponent
17	<i>Anthriscus silvestris</i>	reife Samen, lufttrocken	360·—	200	0·18	2,040.000 (2·04 · 10 ⁶)	6·31
18	<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	"	195·—	243	Spuren weniger als 0·1 mg	—	} größer als 7·0 ¹)
19	<i>Ligustrum vulgare</i> L.	frische Blätter	445·—	285	"	—	
20	<i>Sambucus nigra</i> L.	reife Samen, lufttrocken	200·—	225	"	—	
21	<i>Plantago media</i> L.	" " "	70·—	200	0·08	952.000 (9·52 · 10 ⁵)	5·98
22	<i>Melolontha vulgaris</i> (Maikäfer)	2 Jahre lufttrocken aufbewahrte Tiere; Eingeweide (ohne Chitinpanzer) gepulvert	502·—	200	0·46	1,484.000 (1·48 · 10 ⁶)	6·17
23		Verdauungssaft 20 hungernder Tiere; Trockenrückstand; 4 Monate alt ²⁾	136·10	245	2 66	55.350 (5 50 · 10 ⁴)	4·74

B. Vergleichsweise Zusammenstellung früher angegebener Emulsinzeitwerte.

Nr.	Objekt (Präparat)	Untersuchter Teil, Zustand	Autor	Zeitwert gegen Amygdalin	Zeitwert- exponent	Anmerkung
1	<i>Prunus communis</i> var. <i>amara</i> und <i>dulcis</i>	entölte Samen; je nach Alter	Wilstätter und Csányi (a. a. O.)	425—528	2·63—2·72	H. Burkhardt ⁴⁾ jüngst angege- bene Zeitwerte f. ein Emulsinpräp. aus Pflaumen (roh u. eiweißfrei) be- ziehen sich auf Salicin, sind da- her nicht ver- gleichbar.
2	<i>Prunus communis</i> var. <i>dulcis</i>	entölte Samen, 1 Jahr alt	"	1237	3·09	
3	<i>Prunus armeniaca</i> L.	entölte Samen	"	1200—1250	3·08—3·10	
4	Mandelemulsin	durch Umscheiden hochwertig, frisch	"	10—18	1·00—1·25	
5		durch Pankreasverdauung eiweißfrei	K. Ohta ³⁾	37.000 (3·7 · 10 ⁴)	4·57	

²⁾ Eine eingehende mikrochemische Untersuchung (qualitativ) der einzelnen Organe und Körpersäfte des Maikäfers ergab, daß das Emulsin reichlich nur im Verdauungssaft des „Vorderdarmes“ vorhanden, im Hinterdarminhalt und im Kot auch noch nachweisbar ist, sonst aber fehlt. Die Präparation des Vorderdarmes samt Inhalt gelingt leicht.

³⁾ K. Ohta, Darstellung von eiweißfreiem Emulsin. Biochem. Ztschft., Bd. 58 (1914), S. 329.

⁴⁾ H. Burkhardt, Über Emulsin. Ztschft. für phys. Chemie, Bd. 117 (1921), S. 159—171.

Proportionalitätsbeziehungen zwischen diesen und ihrer spaltenden Wirkung nicht mehr, wie auch Willstätter hervorhebt. Die Einwage des — meist nur wenig Emulsin enthaltenden — Materiales wurde daher stets unter 500 mg gehalten (vgl. die gut übereinstimmenden Emulsinzeitwerte von *Claviceps purpurea* und *Aspergillus niger* bei verschiedenen Einwagen [28·16—210·0 mg, bzw. 205·0—500 mg] unterhalb dieser Grenze in Tabelle 3). Ebenso wurde die Mazerationszeit zur Vermeidung eines falschen Gleichgewichtszustandes und sonstiger Hemmungen tunlichst kurz gewählt. Sie war gerade nur so lange, um Mengen von AgCN (über 1 mg!) zu erzielen, die der Genauigkeit der ganzen Methode noch entsprechen.

Die berechneten¹⁾ Zeitwerte sind, wie ersichtlich, für natürliches Pflanzenmaterial sehr groß. Brauchbarere, besser zu überblickende Zahlen bieten die Briggschen Logarithmen der betreffenden Zeitwerte, die man „Zeitwertexponenten“ nennen könnte. Sie sind in der letzten Kolonne der Tabelle 3 angeführt. Willstätters hochwertiges Emulsinpräparat hat demnach in frischem Zustande einen Zeitwertexponenten von 1·00—1·25, Kahlbaum-Emulsin, je nach seinem Alter, 2·53—3·00, Süße Mandeln 3·81, der Verdauungssaft des Maikäfers (Trockenrückstand) 4·74, verschiedene Pilze 5·0—5·36, Leguminosen-, Cruciferen-, Umbelliferensamen u. a. 5·62—6·35. Emulsinhaltiges Material mit einem Zeitwertexponenten, der größer als 7 ist, läßt sich auch durch diese Mikromethode nicht mehr mit genügender Genauigkeit bestimmen (vgl. Tab. 3, Nr. 18—20, 5).

Für die praktische Darstellung von hochwertigen Emulsinpräparaten kämen daher neben den altbewährten *Prunus*-Samen (Mandel, Pflaumen etc.) nur Pilze und der Verdauungssaft des Maikäfers in Betracht. Die Untersuchung, inwieweit letzterer reinigungsfähig ist und mit dem Mandel-emulsin übereinstimmt, erscheint aussichtsreicher.

* *

Zusammenfassung.

1. In Anlehnung an Pregls Apparatur und Methodik der mikroquantitativen Analyse wird ein Spezialapparat einfacher Art zur mikroquantitativen Bestimmung von Blausäure (HCN) angegeben.

¹⁾ Beispiel einer Zeitwertberechnung:

500 mg <i>Aspergillus niger</i> -Myzel in 90 Minuten	29·62%	Amygdalin gespalten
1 " " " " " 90 × 500 "	29·62%	" " "
Nach Emulsin-Standardkurve Abb. 3 entspricht 29·62% Spaltg. als Abszisse 75·50 Zeiteinheit.		
	50—%	" " " 170—
daher: 75·5:170 = 90 × 500:x		
	x (Zeitwert des <i>Aspergillus</i> -Myzels)	= 101·320
		Zeitwertexponent = 5·01

Die durch Ansäuern oder Fermentation in Freiheit gesetzte Blausäure wird bei 35° C durch einen reinen Kohlensäurestrom in leicht saueres, kaltes Silbernitrat abgeblasen (2 $\frac{1}{2}$ —4 Std.) und das entstandene Silbercyanid in Asbest-Filterröhrchen mit der Kuhlmannwage gewogen.

Die Genauigkeit dieser Methode entspricht derjenigen der Halogenbestimmung nach Pregl.

2. Bei fermentativen, Blausäure liefernden Systemen kann durch intermittierendes Abblasen während der Fermentation die Spaltungsausbeute in einer bestimmten Zeit beträchtlich erhöht werden. Als Wasserstoffionenkonzentrations (p_H)-Optimum für Emulsin bei zwölfstündiger Fermentation wurde, eine breite Zone von $p_H = 4.74$ bis $p_H = 6.56$ festgestellt. An dem verwendeten Emulsinpräparat (geschwächt) konnte aus der leichten Zweigipfeligkeit der Spaltungskurve bei verschiedener p_H ein neuer Beweis für die Existenz der Amygdalase und Prunase im Emulsinkomplex gefunden werden.

3. Von Pflanzenmaterial reicht $\frac{1}{2}$ — $1\frac{1}{2}$ g zur Ausführung einer Blausäure-Bestimmung aus; die Fermentationsdauer beträgt unter intermittierendem Blasen 24—30 Stunden. Die an ca. 20 Pflanzenarten durchgeführten mikroquantitativen Analysen ergaben Werte, die meist etwas höher waren als die in der Literatur angegebenen, makrochemisch gewonnenen Zahlen. — Bei genauer Analyse des „Fermentationsmilieus“ dürfte sich diese Methode auch zur Verfolgung der physiologischen Bedeutung der Blausäure-Verbindungen in der Pflanze eignen. Eine Mikro-Hydrolyse der Blausäure-Glukoside würde allerdings noch zuverlässigere Werte liefern.

4. In Fortsetzung des von Willstätter betretenen Weges wurde die Methode in ihrer Umkehrung auch zur quantitativen Erfassung des Emulsins in verschiedenen Pflanzen- und Tierobjekten verwendet. Da schon der Amygdalinzeitwert bei diesen meist ein sehr großer ist, kann dessen Briggscher Logarithmus als „Zeitwertexponent“ herangezogen werden. Der Emulsinzeitwertexponent bei Cruciferen-, Umbelliferen- und Leguminosensamen liegt zwischen 5.6 und 6.4; zur praktischen Emulsindarstellung wären daher neben den bewährten Rosaceensamen (unentfettet, Z. W. Exp. = 3.8) höchstens noch der Vordarmsaft des Mäikäfers (Z. W. Exp. = 4.74) und verschiedene Pilze (Z. W. Exp.: 5.0—5.36) geeignet.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Österreichische Botanische Zeitschrift = Plant Systematics and Evolution](#)

Jahr/Year: 1923

Band/Volume: [072](#)

Autor(en)/Author(s): Brunswik Hermann

Artikel/Article: [Die mikroquantitative Bestimmung von Blausäure, pflanzlichen Blausäureverbindungen und Emulsin. 58-75](#)