

Presskuchenauszüge anwesend sind. Ziegenblut liess sich nicht in die Tabelle aufnehmen, da kleine Dosen Rizin darauf gar nicht wirken und grosse gleich Hämolyse verursachen. Ziegenblutkörperchen dagegen sind eingereiht.

Tabelle I.

Vergleichende Übersicht über die Einwirkung der Rizinusauszüge auf verschiedene 1—2%ige Blutarten.

Nummer	Tierart:	Totale feste Agglutination erfolgte gerade noch		
		berechnet auf nicht entölte Samenkerne bei 1:	berechnet auf ölfreien Presskuchen bei 1:	berechnet auf reines Rizin bei 1:
1	Taubenblut	50000	100000	10000000
2	Meerschweinchenblut	50000	100000	10000000
3	Hundeblutkörperchen	20000	40000	4000000
4	Ziegenblutkörperchen	20000	40000	4000000
5	Menschenblut vom Erwachs.	10000	20000	2000000
6	Menschenblut vom Neugeb.	10000	20000	2000000
7	Katzenblutkörperchen	10000	20000	2000000
8	Rattenblut	10000	20000	2000000
9	Kaninchenblut	10000	20000	2000000
10	Hühnerblut	10000	20000	2000000
11	Schweineblut	5000	10000	1000000
12	Hammelblut.	2000	4000	400000
13	Rinderblut	2000	4000	400000
14	Froschblut (<i>Rana esculenta</i>)	2000	4000	400000
15	Krötenblut (<i>Bufo cinereus</i>)	2000	4000	400000
16	Seehasenblut (<i>Cyclopterus Lampus</i>)	2000	4000	400000
17	Igelblut	1000	2000	200000
18	Pferdeblutkörperchen	1000	2000	200000

III. Über die Rizinuslipase und ihre Wirkung.

Schon 1889 beobachtete GREEN¹⁾ und unabhängig von ihm SIFGMOND²⁾, dass beim Verreiben ölhaltiger Pflanzensamen mit Wasser sich freie Fettsäuren, wenn auch nur in geringer Menge bildeten, und schlossen daraus ganz richtig, dass ein fettspaltendes unorganisiertes Ferment, also eine Lipase, in diesen Samen vorhanden sein müsse. Erst nach diesen Entdeckungen besann

¹⁾ Proceed. Roy. Soc. 48, 1890, p. 370.

²⁾ Wiener Monatshefte f. Chem. 11, 1890, S. 272.

man sich allgemein wieder darauf, dass PELOUZE¹⁾ schon 1855 einwandfrei nachgewiesen hatte, dass beim Zerstoßen ölhaltiger Samen Glycerin und Fettsäuren frei werden, und dass SCHÜTZENBERGER 1876 diese Angaben nachgeprüft und bestätigt hatte. Ja SCHÜTZENBERGER hat auch bereits klar und deutlich ausgesprochen, dass diese hydrolytische Spaltung auf einem pflanzlichen Fermente beruhe. Die Entdeckung dieser Lipase in den uns hier interessierenden Rizinussamen kommt GREEN²⁾ zu. Seine Untersuchungen zeigen, dass in den ruhenden Rizinussamen das Enzym nicht fertig gebildet vorhanden ist, sondern nur eine Fermentmuttersubstanz, ein Enzymogen. Lässt man das Samenpulver einige Stunden bei 35° in Gegenwart verdünnter Essigsäure stehen, so geht das Enzymogen in Lipase über und die Flüssigkeit ist nun imstande, lipolytisch zu wirken. Vor jetzt gerade 10 Jahren erschien über diesen Gegenstand eine sehr ausführliche Arbeit von CONNSTEIN, HOYER und WARTENBERG³⁾, der die ausgesprochene Absicht zugrunde lag, dieses Fettspaltungsverfahren technisch zu verwerten. Sie bestätigten die Notwendigkeit der sauren Reaktion, die sowohl durch organische als durch unorganische Säuren herbeigeführt sein darf. Nach AD. WALTER⁴⁾ hat sich auf Grund dieser Arbeiten das lipatische Fettspaltungsverfahren in der Technik so gut eingeführt, dass nach der letzten Statistik jährlich 30 Millionen Kilogramm Fette und Öle damit in Fettsäuren und Glycerin zerlegt worden sind. Dies will, da ja auch das TWICHELL-Verfahren in den letzten Jahren zahlreiche Anhänger gewonnen hat, und daher der Lipase das Terrain streitig macht, recht viel sagen. Dem zu spaltenden Fett sind bei dem lipatischen Verfahren 30—40 % Wasser und 5 % gut zermahlene schalenfreie Rizinussamen sowie 0.06 % konzentrierte Essigsäure nach den ursprünglichen Angaben der genannten Autoren zuzusetzen. Durch neuere Arbeiten von CONNSTEIN und HOYER ist es gelungen, ein an Lipase den Samen gegenüber angereichertes Präparat in den Handel zu bringen, wodurch die Fettspaltung sich noch vorteilhafter und einfacher gestaltet hat. Dieses

¹⁾ Annales de Chimie et de Physique 3ème sér. Tome 45, 1855, p. 319.

²⁾ GREEN l. c.

³⁾ Ber. d. Deutschen Chem. Ges. Jahrg. 35, 1902, S. 3988.

⁴⁾ Zeitschr. f. angewandte Chemie Jahrg. 24, 1911, Heft 9, S. 385.

Präp
darg
mit V
Pass
von
des
Rizin
stoffe
Man
sich
fläch
Deka
sahn
etwa
und
die
Butt
ohne
Weis

Y. W
wiss
mir
laute

stoss
wird
dass
scha
trüb
keit
zent
Best
bleib
wird
Volu

Heft

Präparat, „Ferment“ genannt, wird in nachfolgender Weise dargestellt. Der geschälte Rizinussamen wird in einer Mühle mit Wasser fein vermahlen und die gebildete Samenmilch durch Passieren einer Überlaufzentrifuge mit hoher Umdrehungszahl von den zurückgehaltenen lipolytisch unwirksamen Bestandteilen des Samens getrennt. Die abfliessende Emulsion enthält das Rizinusöl in emulgiertem Zustande mit den gesamten Eiweissstoffen des Protoplasmas, darunter auch das fettspaltende Enzym. Man überlässt die Emulsion bei 24° einem Gärungsprozess, wobei sich das angereicherte Ferment als dicke Sahne an der Oberfläche des sauren Unterwassers absetzt und so durch einfaches Dekantieren leicht gewonnen werden kann. Das so erhaltene sahneartige konzentrierte Ferment besteht zur Hauptsache aus etwa 38% Rizinusölsäure, 4% Eiweisskörpern resp. fester Masse und 58% Wasser. Es enthält eine genügende Menge durch die Gärung entstandener freier Säure, grösstenteils Essig- und Buttersäure, um den Spaltungsprozess bei den Fetten und Ölen ohne weiteren Zusatz von Mineralsäure in wünschenswerter Weise zu beschleunigen.

Unter Verbesserung der Angaben von NICLOUX¹⁾ hat Y. W. JALANDER²⁾ eine Vorschrift der Darstellung der Lipase für wissenschaftliche Zwecke ausgearbeitet, nach der auch die von mir benutzte Lipase frisch dargestellt wurde. Die Vorschrift lautet:

200 g geschälte Rizinussamen werden möglichst fein zerstoßen und mit 250 g Cottonöl innig verrieben. Das Gemisch wird in einem Leinbeutel von gröberen Teilen dadurch getrennt, dass man den Beutel unter gleichzeitigem Drücken gegen einen scharfen Rand, z. B. einen Trichterrand, reibt. Die so erhaltene trübe Mischung wird in einer Zentrifuge mit einer Geschwindigkeit von 1000 Umdrehungen pro Minute zwei Stunden lang zentrifugiert. Hierbei setzen sich die unwirksamen gröberen Bestandteile ab, während der lipolytische Stoff in Aufschlammung bleibt. Man erhält zwischen 230—250 g Aufschlammung. Diese wird entölt, indem man zuerst der Aufschlammung das gleiche Volumen Petroläther zumischt und absetzen lässt. Nach dem

¹⁾ Contributions à l'étude de la saponification des corps gras. Paris 1906.

²⁾ Zur Kenntnis der Rizinuslipase. Biochem. Zeitschr. Bd. 36, 1911, Heft 5—6, S. 435.

Dekantieren wird der das Enzym enthaltende Bodensatz durch wiederholtes Mischen mit Petroläther und Dekantieren vollständig entölt. Wenn man von Anfang an eine wesentlich grössere als die angegebene Menge Petroläther zugibt, erhält man eine grossflockige schwere Fällung, die sich zu einer schleimigen zähen Masse zusammenballt und nachher durch Petroläther nicht mehr vollständig von Öl zu befreien ist. Das Enzym scheint eine besondere Fähigkeit zu besitzen, das Öl festzuhalten, denn die letzten, dem Enzym anhaftenden Fettsuren sind verhältnismässig schwer zu entfernen. Die erhaltene Trockenmenge des Enzyms schwankte bei JALANDER zwischen 2.5—3.0 % der verarbeiteten Rizinussamenmenge. In meinem Falle wurden nur 2.3 % Ausbeute erhalten, bestehend in einem weissen Pulver. Dieses besitzt in hohem Grade die Eigenschaft, welche auch der Staub der gepulverten Rizinussamen besitzt, die nämlich, die Schleimhäute der Augen und der Nase heftig zu reizen. Ehe ich über meine Versuche damit berichte, möchte ich noch zweier anderer Autoren, die sich mit der Lipase beschäftigt haben, Erwähnung tun.

ALONZO ENGLEBERT TAYLOR¹⁾ hat gefunden, dass beim Entfetten der Rizinussamen mit Äther die Lipase quantitativ mit in den Äther übergeht, während sie im fettfreien Zustande in Äther vollständig unlöslich ist. Schüttelt man den lipasehaltigen Äther mit Wasser, so geht ein Teil der Lipase trübe gelöst in das Wasser über. Filtriert man dieses, so geht die Hauptmenge der Lipase verloren, da sie vom Filter zurückgehalten wird. Die Rizinussamen enthalten nach TAYLOR ausser Lipase auch noch andere Fermente, nämlich auch noch eine Amylase, eine Invertase, eine Maltase und ein Endotrypsin. Die Trennung der Lipase von den Eiweissstoffen der Samen ist nach TAYLOR möglich aber nicht ratsam, da sie sonst durch das Endotrypsin zerstört wird. Das Pulver der Lipase bildet eine trübe Suspension; bei wiederholter Filtration wird sie quantitativ der Lösung entzogen. Die Lipase ist nicht nur imstande, Neutralfette zu zerlegen, sondern auch aus Glycerin und Fettsäuren aufzubauen. JALANDER hat diese Angaben TAYLORS bestätigt.

¹⁾ Journ. of Biolog. Chem. 2, 1906, S. 87.

giftig
nah
man
kaun
schäl
ein T
Entfe
entfe
iden
nahe

blatt
des
Seife
weise
aufk
mach
diese
Vieh
ausg
welch
mahl
Eisen
eben
Pers
Gefa
usw.

gewo
Neut
aus
ziehu
betra
Lipa
Vers
Weg

S. FOKIN¹⁾ behauptet, dass alle Lipase enthaltenden Samen giftig seien. Die Samen von Abrus, dessen Abrin dem Rizin so nahe verwandt ist, sind nach FOKIN jedoch frei von Lipase. Während man nach TAYLOR glauben sollte, dass entfettete Rizinussamen kaum noch lipatisch wirken, vermag nach FOKIN 1 Teil geschälter unentölter Rizinussamen 125 Teile Fett zu verseifen, ein Teil völlig entfettetes Samenmehl aber 375 Teile. Da beim Entfetten die Lipoide des Rizinussamens zum grössten Teil mit entfernt werden, hat die Lipase also nach FOKIN mit den Lipoiden keinen Zusammenhang, könnte aber sehr wohl dem Rizin nahe stehen oder mit ihm identisch sein.

In einem landwirtschaftlichen Interessen gewidmeten Fachblatte fühle ich mich verpflichtet, auf die aus der Einführung des Rizinusverseifungsverfahrens in den Betrieb der kleinen Seifensiedereien der Landwirtschaft erwachsende Gefahr hinzuweisen. Ich habe schon vor 10 Jahren, als dieses Verfahren aufkam, im „Tag“ die Öffentlichkeit darauf aufmerksam gemacht, dass das Mahlen von Rizinussamen und das Versenden dieses Pulvers in Kisten oder Säcken äusserst bedenklich ist. Vieh, welches aus einem Trog säuft, in welchem solche Säcke ausgewaschen worden sind, geht zugrunde. Kraftfuttermehl, welches aus einer Mühle stammt, in der vorher Rizinus gemahlen ist, wirkt giftig. Die neben den Rizinusemehlsäcken im Eisenbahnwagen oder sonst wo lagernden Futtermittel können ebenfalls schädliche Eigenschaften annehmen. Dass auch das Personal, welches mit dem Rizinusstaub in Berührung kommt, Gefahr läuft, an Augenentzündung, Nasen- und Halskatarrhen usw. zu erkranken, ist selbstverständlich.

Die nach dem JALANDERSCHEN Verfahren für meine Zwecke gewonnene Rizinuslipase ist nicht nur imstande, sehr energisch Neutralfette zu spalten, sondern auch Synthesen von Neutralfett aus den Komponenten auszuführen. Sie ist also in jeder Beziehung ein echtes, stark wirksames Ferment. Ihr Aschengehalt beträgt 3.29%. Da in der Literatur sich über Verhalten der Lipase zu Blut keine Angaben finden, machte ich selbst solche Versuche. Da diese Lipase nicht eigentlich auf chemischem Wege, sondern nur auf mehr mechanischem aus dem Rizinus-

¹⁾ Chem. Revue der Fett- und Harzindustrie 13, 1906, Juni bis August.

samen abgeschieden worden ist, vergleiche ich sie in der nachstehenden Tabelle mit ölfreiem Samenpresskuchen.

Tabelle II.

Vergleich der Wirkung der nach JALANDER dargestellten Lipase und der entölten Samen.

Nummer	Blutart:	Totale Agglutination erfolgt durch	
		Lipase bei 1:	ölfreie Samea bei 1:
1	Meerschweinchenblut	82 500	100 000
2	Taubenblut	23 600	100 000
3	Menschenblut	13 000	20 000
4	Schweineblut	11 254	10 000
5	Seehasenblut	9 900	4 000
6	Kaninchenblut	8 250	20 000
7	Katzenkörperchen	6 666	20 000
8	Ziegenkörperchen	6 666	40 000
9	Hundeblut	keine Wirkung	40 000
10	Hühnerblut	" "	20 000
11	Rinderblut	" "	4 000
12	Hammelblut	" "	4 000
13	Igelblut	" "	2 000
14	Pferdekörperchen	" "	2 000

Ein Blick auf diese Tabelle zeigt, dass Rizin und nach JALANDER dargestellte Rizinuslipase auf keinen Fall identisch sind, dass aber beiden Stoffen agglutinierende Wirkung auf eine Reihe von Blutarten zukommt. Wäre diese Wirkung der Lipase lediglich durch anhängendes Rizin bedingt, so müsste die Wirkung der Lipase proportional ihrem Rizingehalte und also z. B. auf Meerschweinchenblut und Taubenblut identisch sein, da das Rizin auf beide identisch wirkt. Dies ist aber keineswegs der Fall; vielmehr wirkt die Lipase auf Meerschweinchenblut viel stärker als auf Taubenblut. Auch betreffs der übrigen Blutarten besteht keine Kongruenz, abgesehen davon, dass kleine Dosen sowohl von Rizin als von Lipase auf Ziegenblut gar nicht wirken, während grosse Hämolyse veranlassen. Ziegenkörperchen werden dagegen sowohl von Rizin als von dem Lipasepräparat agglutiniert. Ich muss daher aus meinen Versuchen schliessen, dass im JALANDERSCHEN Präparate die Lipase mit Rizin innig verbunden ist, dass aber eine reine Rizinwirkung auf Blut sich nicht entfalten kann sondern nur eine in unberechenbarer Weise modi-

fizier
sungen
körper
Versu
Lösun
Bei Z
Lösun
sich b
nur d
Lipase
noch
Lipase
dense
— E
Menge
befund
zunäc
merkt
ein de

samen
einma
Nach
Flüssi
zur V
Agglu
Lipase
Menge
meine
zusam
Greif
Autor
einträ
Ohne
Rizin
Nach
bare
lipat
auch
des E

fizierte. Eine Trennung der Lipase vom Rizin in den Lösungen des JALANDERSchen Präparates mit Hilfe von Blutkörperchen gelang mir ebensowenig, als es in den S. 19 erwähnten Versuchen NEUBERG gelungen ist. Stets verschwand aus der Lösung gleichzeitig die Hauptmenge des Rizins und der Lipase. Bei Zusatz von Antirizins serum zu einer 0.1 %igen neutralen Lösung der JALANDERSchen Lipase erhält man einen langsam sich bildenden aber beträchtlichen Niederschlag, der keineswegs nur das Rizin enthält, sondern auch beträchtliche Mengen der Lipase. Das Filtrat wirkte weder agglutinierend noch toxisch noch deutlich lipatisch. Subkutan tötet die JALANDERSche Lipase ohne Rizins serum Kaninchen so sicher und unter denselben — im nächsten Kapitel näher zu erörternden — Erscheinungen wie das Rizin, nur braucht man grössere Mengen. Ich werde im folgenden Kapitel (S. 31) den Sektionsbefund nach einer grossen Dose Lipase mitteilen; hier würde er zunächst nicht verständlich sein. Hier sei nur im voraus bemerkt, dass er durchaus eindeutig ist und nur auf Rizin oder ein dem Rizin analoges Gift bezogen werden kann.

Ich habe auch nach der TAYLORSchen Methode Rizinusamenbrei mit Äther extrahiert und die ätherische Lösung nach einmaliger Filtration mit physiol. Kochsalzlösung ausgeschüttelt. Nachdem ich bei 33° den Äther verdunstet hatte, prüfte ich die Flüssigkeit auf agglutinierende Wirkung mit Hilfe von 5 gerade zur Verfügung stehenden passenden Blutarten, bekam aber keine Agglutination. Aber auch der Beweis, dass die Flüssigkeit Lipase oder überhaupt irgend etwas Organisches in merkbaren Mengen enthielt, war nicht zu erbringen. Ich fasse zum Schluss meine Erfahrungen über die Rizinuslipase in folgendem Satze zusammen. Nach TAYLOR bekam ich überhaupt nichts Greifbares. Dies ist insofern nicht befremdlich, als dieser Autor selbst sagt, dass Filtration die Wirksamkeit schwer beeinträchtigt, da sie die Hauptmenge des Fermentes zurückhält. Ohne Filtration würden aber die geringsten suspendierten Rizinuspartikelchen mir ein falsches Ergebnis geliefert haben. Nach der JALANDERSchen Methode erhält man ein brauchbares feinpulveriges, weisses Präparat, welches zu lipatischen Zwecken vorzüglich brauchbar ist, das aber auch die agglutinierenden und toxischen Eigenschaften des Rizins besitzt und weder durch Blutkörperchen noch

durch Antirizins Serum vom Rizin getrennt werden kann. Die in der Presse mehrfach aufgestellte Behauptung, das lipatische Rizinus-Ferment habe gar nichts mit Rizin zu tun und sei ungiftig, ist also nach wie vor unbewiesen, ja wohl unbeweisbar. Als vorstehendes schon gesetzt war, wurde eine neue relativ einfache Methode der Lipasedarstellung veröffentlicht. Herr WAKULENKO hat darüber in meinem Institute Versuche angestellt, die demnächst veröffentlicht werden.

IV. Über die Wirkung des Rizins auf Tiere.

Bei innerlicher Darreichung wird das Rizin nur zum Teil, aber immerhin doch merkbar durch die Verdauungsenzyme entgiftet. Natürlich ist die entgiftende Kraft der Verdauungsorgane nicht bei allen Tieren gleich gross. Setzt man die Empfindlichkeit, in ganzen Zahlen ausgedrückt, pro Kilo Tier bei innerlicher Darreichung, für das Kaninchen gleich 100, so ist die der Ente und des Hahnes gleich 5; dazwischen liegen Schwein, Hund, Pferd, Ochs, Hammel. Diese Anordnung beruht auf Fütterungsversuchen von CORNEVIN.¹⁾ Auf die von BIRBAUM komme ich später zu sprechen. Der grössere Teil des nicht durch die Verdauung entgifteten Rizins wird resorbiert, wenn auch nur langsam, und kreist mit dem Blute. Während Rizin mit 50—100 fach verdünntem Blute die oben beschriebenen Agglutinationserscheinungen zeigt, ist das unverdünnte Blut durch sein Plasma vor der Wirkung des Giftes, falls es nicht in enormen Dosen vorhanden ist, geschützt. Das Gift gelangt auf diese Weise mit dem Blute in alle Organe und verankert sich offenbar in den durch keine umgebende reichliche Plasmamenge geschützten wichtigen Zellen des Zentralnervensystems und lähmt diese. Grobe anatomische Veränderungen braucht es hier nicht hervorzurufen. So kommt es, dass nach eben gerade tödlicher Dose die Tiere bei der Sektion keinerlei Veränderungen zu zeigen brauchen. Was die Symptome vor dem Tode anlangt, so können bei Kaninchen und Meerschweinchen bisweilen vor dem Tode Erregungsercheinungen, ja heftige Konvulsionen auftreten, während in anderen Fällen gar keine Erregung beobachtet wird, obwohl die Dose genau dieselbe war.

¹⁾ Annales agronomiques T. 23, 1898, S. 289. Mir leider nicht zugänglich.

zellen
dürft
unter
hund
um d
einem
wird.
anker
Vason
könne
ehe d
venöse
Inkub
sprit
nahms
Gewel
dass
Millig
ninch
trächt
einzel
austri
änder
samm
durch
durch
Alter

Einze
bald
BERK

nerve
poison

Ebenda
JOHN

publ.