kleiner gelber Nadelchen beginnt, welche die Flüssigkeit breiig erstarren machen. Nach dem Verdünnen mit Wasser abgesaugt und aus wenig siedendem Alkohol zweimal umkrystallisirt, schmolzen die erhaltenen langen, hellgelben Nadeln bei 181° und waren in jeder Beziehung identisch mit dem bereits beschriebenen Chlorderivat des Dinitroresorcins von Typke.

Behandelt man das Oximderivat des Dioxychinons von Nietzki in der beschriebenen Art und Weise mit Salzsäure und Zinnchlorür, so scheidet die klare Lösung auf Zusatz rauchender Salzsäure das Chlorhydrat des symmetrischen Diamido-resorcins ab, welches ebenfalls durch die Ueberführung in das Amido-oxy-chinonimid identificirt wurde.

Salpetersäure vom spec. Gew. 1,35 verwandelt das Oxim dagegen nicht ganz glatt in Styphninsäure, welche nach dem Verdünnen mit Aether ausgeschüttelt, durch Ueberführung in das schwer lösliche neutrale K-Salz, Wiederausfällen mit verdünnter Säure gereinigt, aus Alkohol in hexagonalen Tafelchen erhalten wurde, deren Schmelzpunkt bei 174° — 175° lag.

Freiburg, im August 1889.

Studien über Diastase;

von

C. J. Lintner und F. Eckhardt.

III.

Nachdem wir die Fortsetzung der Studien über Diastase, welche der eine von uns vor einigen Jahren begonnen,¹⁾ dieses Mal zuerst in der Zeitschrift fürs gesammte Brauwesen, 1889 Bd. 12, veröffentlichten, möge es uns gestattet sein, mit dem Hinweis auf die Originalabhandlung, in welcher sich genauere Angaben über die Ausführung der Versuche vorfinden, an dieser Stelle die wesentlichsten Ergebnisse unserer Untersuchungen kurz mitzutheilen.

¹⁾ Dies. Journ. [2] 34, 378; 36, 481.

Unsere Mittheilung zerfällt in 2 Theile, von denen sich der eine mit dem diastatischen Ferment der ungekeimten Gerste (resp. des Weizens), und zwar mit der Frage nach der Identität dieses Fermentes mit der Malzdiastase beschäftigt, während der andere die sogenannte künstliche Diastase von Reychler zum Gegenstande hat.

Wenn es sich darum handelt zu entscheiden, ob das Ferment des ungekeimten Getreides und die Malzdiastase gleich oder verschieden sind, so muss man sich natürlich lediglich darauf beschränken nachzuforschen, wie sich die beiden Fermente bezüglich ihrer Wirkungsweise verhalten. Ihre chemische Natur zu ermitteln, ist zur Zeit leider ein Ding der Unmöglichkeit. Nur das eine mag hier angeführt werden, dass es bis jetzt nicht gelungen ist, aus dem Weizen oder der Gerste auf dem gleichen Wege, wie beim Malze, ein einigermaßen reines und wirksames Ferment zu gewinnen. Bezüglich der Umwandlungsprodukte, welche das Ferment des ungekeimten Getreides aus der Stärke erzeugte, ist zu bemerken, dass wie beim Malz Dextrin und Maltose auftreten. Von einer Cerealose, einer neuen Zuckerart, welche Cuisinier bei der Einwirkung des Fermentes von ungekeimtem Getreide auf Stärke erhalten haben will, konnte niemals etwas beobachtet werden. Es wurde stets Maltose gefunden. Insofern verhält sich also das Gersten- und Weizenferment wie die Diastase des Malzes. Sein Lösungsvermögen ist indessen, wie schon früher wiederholt hervorgehoben und wie durch specielle Angaben belegt wird, geringer.

Als ein besonders geeignetes Mittel, die Wirkungsweise der beiden Fermente zu charakterisiren, erschien es, die Abhängigkeit der bei der Einwirkung auf Stärke entstehenden Zuckermenge von der Einwirkungstemperatur zu studiren und die erhaltenen Werthe bildlich in einer Curve zum Ausdruck zu bringen. Die Abscissen der Curven sollten die Temperaturgrade nach Celsius von 0—100 angeben, während die Ordinaten des sogen. Reductionsvermögen massen. Waren die beiden Fermente in ihrer Wirkung identisch, so mussten die ihnen zukommenden Curven das gleiche Bild geben.

Ueber die für die Malzdiastase hier in Betracht kommenden Verhältnisse lagen bereits von Kjeldahl in seinen schönen Untersuchungen über die zuckerbildenden Fermente Angaben

und Curven vor. Da indessen Kjeldahl zu seinen Versuchen sich des Kartoffelstärkekleisters bediente, bei dem geringen Lösungsvermögen des Gerstenfermentes für die in Frage kommenden Versuche aber lösliche Stärke verwendet werden musste, so konnten die von Kjeldahl construirten Curven nicht ohne weiteres angenommen werden. Zunächst war man darauf bedacht, Gersten und Malzauszüge von gleichem Fermentativvermögen anzuwenden.

Die Versuche mit Malzdiastase ergaben nun eine Curve mit einem Optimum der Diastasewirkung bei 50° , bei 55° ist schon eine geringe Abnahme bemerklich, bei 62° ist dieselbe schon sehr stark. Als günstigstes Temperaturintervall kann 50° — 55° bezeichnet werden.

Die mit Gerstenauszug erhaltene Curve zeigt nun in der That einen andern Verlauf. Zwar ist als Temperaturoptimum auch 50° anzunehmen. Das günstigste Intervall liegt aber mehr bei 45° — 50° und besonders beachtenswerth ist der Umstand, dass die Curve beträchtlich höher ansetzt als die vorhergehende, da schon bei 4° das Reduktionsvermögen so hoch ist, wie beim Malz bei $14,5^{\circ}$. Dagegen erreicht das Reduktionsvermögen im Maximum nur 41,2, während bei Malz das Maximum 51,0 beträgt, obwohl bei 35° das Reduktionsvermögen in beiden fast das gleiche war. Endlich fällt die Curve weniger steil ab. Es ist nun klar, warum bei der Einwirkung eines Gerstenauszuges auf lösliche Stärke bei 50° die Jodreaction viel langsamer verschwindet, als bei Anwendung eines Malzauszuges von gleichem Fermentativvermögen. Es rührt dies eben davon her, dass die Intensität der Zuckerbildung eines Gerstenauszuges bei 50° geringer ist als die des Malzes, während bei gewöhnlicher Temperatur unter den Bedingungen der Fermentativbestimmung das Umgekehrte der Fall ist.

Tritt also schon hier ein wesentlicher Unterschied in der Wirkung von Gerste und Malzauszügen zu Tage, so ist ein solcher noch mehr in die Augen springend bei der Verflüssigung der Stärke.

Zwar kann ein Verflüssigungsvermögen den Gersten-, resp. Weizenauszügen nicht abgesprochen werden, jedoch ist dasselbe so gering, dass es nur bei Anwendung verhältnissmässig sehr grosser Mengen oder sehr concentrirter Auszüge sichtbar wird,

während es vorkommen kann, dass unter Verhältnissen, unter denen Diastase noch intensiv verflüssigt, mit Gerstenauszügen nichts hiervon zu bemerken ist.

Bei der oben erwähnten Temperaturcurve hat es überrascht, dass bei 62° (das Temperaturoptimum von Kjeldahl ist 63°) schon eine so starke Abnahme der Zuckerbildung eintrat. Da dort mit Stärkelösung gearbeitet wurde, wiederholte man die Versuche mit löslicher Stärke und Stärkekleister neben einander bei 50°, 55° und 62°. Dabei ergab sich für lösliche Stärke $R = 50,16$ bei 50°; $R = 50,02$ bei 55°; $R = 27,30$ bei 62°; für Stärkekleister: $R = 49,83$ bei 50°; $R = 50,23$ bei 55°; $R = 35,24$ bei 62°. Es liegt also in beiden Fällen das günstigste Temperaturintervall bei 50°—55°. Auffallend erscheint, dass bei Anwendung eines Stärkekleisters die Temperatur von 62° einen weniger starken Rückgang aufweist als bei Anwendung einer Stärkelösung. Vielleicht giebt das Verhalten der Diastase gegen höhere Temperatur in rein wässriger Lösung einerseits und bei Gegenwart von Stärke andererseits eine Erklärung an die Hand. Wie der eine von uns (L.) nachgewiesen, wird in wässriger Lösung die Diastase durch hohe Temperatur weit mehr geschwächt als bei Gegenwart von Stärke. Es wäre nun nicht undenkbar, dass der schützende Einfluss der Stärke beim Stärkekleister und dessen Umwandlung mächtiger ist als bei Stärkelösungen.

Ueber die sogenannte künstliche Diastase von Reyhler. — In seiner Mittheilung über die Entstehung eines diastatischen Fermentes aus Weizenkleber durch die Einwirkung verdünnter Säuren¹⁾ bemerkt Reyhler: „es ist nicht unwahrscheinlich, dass beim Keimungsprocesse der Gerste und anderer Samen die Löslichkeit und Fermentkraft eines Theils der Eiweisskörper durch ähnliche Reactionen bewirkt werde, wie beim Auflösen des Klebers in einer sehr verdünnten Säure“.

Nach den Angaben Reyhler's und den Erfahrungen der Verfasser über das Ferment der ungekeimten Gerste, resp. des Weizens, schien es in hohem Grade wahrscheinlich, dass die sogen. künstliche Diastase wohl mehr dem im Weizen bereits vorhandenen Fermente zu vergleichen oder mit dem-

¹⁾ Ber. 1889, S. 414.

selben identisch wäre, als mit der beim Keimungsprocess entstehenden Diastase des Malzes. Es lag die Vermuthung nahe, dass eine directe Neubildung von Ferment bei den Reyhler'schen Versuchen gar nicht stattfindet, sondern nur die Lösung des vorhandenen Fermentes begünstigt werde, dadurch, dass die zähe Beschaffenheit des Klebers, welche die Löslichkeit des Fermentes mechanisch verhindern konnte, durch die Einwirkung der Säure aufgehoben werde. Um hierüber Klarheit zu gewinnen, wurden mit Hilfe der von dem einen von uns (L.) angegebenen Methode zur Bestimmung des Fermentativvermögens diastatischer Lösungen die Versuche von Reyhler in modificirter Form wiederholt, durch neue Versuche ergänzt und andererseits analog dem im ersten Abschnitt eingeschlagenen Verfahren die Reyhler'schen Fermentlösungen charakterisirt.

Die Beobachtung Reyhler's, dass bei der Behandlung von Weizenmehl und Kleber (ebenso von Mucedin, welches die Verf. prüften) mit verdünnten Säuren fermentative Lösungen erhalten werden, konnte bestätigt werden.

Die Lösungen gleichen in ihren Wirkungen indessen ganz und gar den Gersten- und Weizenauszügen. Sie können daher nicht den Malzauszügen an die Seite gestellt werden. Man kann also auch nicht von künstlicher Diastase sprechen, sofern man unter Diastase schlechthin das Ferment des Malzes versteht.

Was die Entstehung des Ferments betrifft, so sind wir weit entfernt anzunehmen, dass das Ferment aus dem Kleber oder einem bekannten Bestandtheil desselben, etwa dem Mucedin, entstehe. Wenn das der Fall wäre, so müssten weit wirksamere Auszüge als in Wirklichkeit erhalten werden, und es wäre kein vernünftiger Grund einzusehen, weshalb nicht das Mucedin z. B. nach und nach völlig sollte in Ferment übergeführt werden können. (Wenn man erwägt, dass 0,12 Mgrm. Diastase, deren Reinheit nicht unbestreitbar erwiesen ist, nach der angewendeten Methode der Fermentativbestimmung so viel Zucker producirt, dass 5 Ccm. Fehling'sche Lösung reducirt wurden, so kann man mit Zugrundelegung dieses Verhältnisses und der bei der Fermentativbestimmung erhaltenen Cubikcentimeterwerthe berechnen,

dass das Mucedin im Maximum 2 $\frac{0}{10}$, und der Kleber 2,4 $\frac{0}{10}$ diastatisches Ferment lieferten.) Man ist vielmehr zu der Annahme gezwungen, dass dem Kleber, sowie dem Mucedin eine Substanz anhafte, welche, ebenso wenig gekannt, wie das diastatische Ferment, selbst bei der Behandlung mit verdünnter Säure oder bis zu einem Grade vielleicht schon mit Wasser allein in das Ferment übergehe. Diese hypothetische Substanz kann man sehr wohl als Fermentogen oder Zymogen bezeichnen.

Die Malzdiastase verdankt ihre Entstehung unzweifelhaft den chemischen Vorgängen, welche sich bei der Keimung des Kornes abspielen, die wir noch keineswegs übersehen können. Jedenfalls ist es kein so einfacher, im Laboratorium nachzuahmender Vorgang, wie die Einwirkung verdünnter Säuren auf gewisse Substrate, welcher hierbei eine Rolle spielt. Dass etwa die Bakterien bei der Entstehung der Diastase mit im Spiele sind, erscheint uns völlig ausgeschlossen, wie es ja auch durch exacte Untersuchungen festgestellt ist, dass im Innern des Getreidekorns keine Bakterien vorkommen. Bei einzelnen unserer Versuche traten bei längerer Einwirkung auch Bakterien auf. Dieselben zeigten unter dem Mikroskop bald Stäbchen-, bald Kokkenform; fördernd auf die Fermentbildung wirken dieselben wohl nicht ein. Bei Versuchen, in welchen frische Kleberlösungen mit Bakterien aus älteren Lösungen infiziert wurden, konnte niemals eine raschere Steigerung der Fermentwirkung beobachtet werden.

München, November 1889.