Zur Frage der Kohlehydrat-Zerlegung durch thierische und pflanzliche Fermente und Enzyme.

Von

Dr. **Walther Nic. Clemm** in Darmstadt.

Gelegentlich meiner Arbeiten im Laboratorium meines unvergesslichen Lehrers Willy Kühne in Heidelberg beschäftigte ich mich auch mit dem Versuche, dasjenige Ferment aufzufinden, welches das Glykogen der Leber in Dextrose umwandelt, unabhängig davon, ob das Glykogen selbst aus Lävulose, Dextrose oder einer anderen Zuckerart gebildet war. Dass Ptyalin an diesem Vorgange nicht beteiligt ist, trotz seines Vorkommens in den Leberzellen, ist wohl allgemein heute anerkannt; dass andererseits die sogenannte Protoplasmawirkung der Leberzellen auf das Glykogen ohne Zuhülfenahme eines Enzyms, welches die Zellen selbst producieren, mir, trotz Richard Neumeister's¹⁾ bestimmter diesbezüglicher Angabe, nicht plausibel erscheint, darin bestärkt mich auch Kühne's mir in gedachtem Sinne erteilte Anregung, sowie die Untersuchungen E. Salkowsky's²⁾.

Um mir nun ein möglichst umfassendes Urteil über diesen Vorgang bilden zu können, suchte ich zunächst verschiedene, bei der Verdauung gebildete Zucker zu charakterisieren. Ich bediente mich dazu der von Emil Fischer³⁾ angegebenen Methode der Schmelzpunktbestimmung nach Darstellung des Osazons mittels essigsäuren Phenylhydrazins. Es ist mir zwar bewusst, dass diese einseitige Bestimmung keineswegs genügende Präcisierung der erhaltenen Zuckerarten gestattet, allein aus dem Umstande, dass die Phenylhydrazin-Verbindung durchaus nicht immer in gleicher Weise zu erhalten war, erhellt ebenso wie aus der Verschiedenheit der Schmelzpunkte, dass

1) Richard Neumeister, Lehrbuch, 2. Aufl., S. 320.

2) E. Salkowsky, Ueber Autodigestion der Organe. Zeitschr. f. klin. Medicin Bd. 17. 1887. Supplement S. 77.

3) Emil Fischer's Ber. der Deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 17 S. 579 ff. 1884, Bd. 20 S. 321 ff. 1887, und Bd. 23 S. 2119. 1890.

es offenbar sich um compliciertere Vorgänge bei der Kohlehydrat-Verdauung handelt, als die bei Neumeister S. 285 in seinem citierten Lehrbuche wiedergegebene herrschende Anschauung voraussetzen lässt.

Ich habe daher meine aus den Jahren 1889 und 1890 stammenden Laboratoriumsnotizen, welche wegen Nichterreichung des eingangs erwähnten Zieles unveröffentlicht blieben, meinen nachstehend wiedergegebenen Versuchen zu Grunde gelegt und hoffe mit denselben, trotz der bereits anerkannten Einseitigkeit derselben, anregend auf Nachprüfung der aufgerollten Fragen zu wirken. Meine bescheidenen Mittel erlaubten mir nicht, umfassendere Versuche, wie sie im Universitätslaboratorium von mir angestellt worden wären, daran anzuschliessen. Ich muss dieselben vielmehr Anderen überlassen, welche durch diese Skizze zur Nachprüfung der darin enthaltenen Resultate angeregt werden.

Wie erwähnt, liegen diesen Versuchen Emil Fischer's Berichte in der Deutschen chemischen Gesellschaft von 1884, 1887 und 1890 zu Grunde über die Phenylhydrazin-Verbindungen, welche fast alle Zucker, wenigstens diejenigen, welche alkalisches CuSO_4 reducieren, liefern: Fischer fand charakteristisch-verschiedene Schmelzpunkte dieser Osazone.

Ich selbst nun schlug vier verschiedene Wege ein, um solche Zucker zu erhalten, welche stets auf die gleiche Weise in ihre Phenylhydrazin-Verbindung überzuführen gesucht waren. Ich setzte Polysaccharide der Speichelverdauung, der Pankreasverdauung und, in thymolisierten Lebern frisch geschlachteter Thiere der Selbstverdauung durch die Protoplasmawirkung beziehungsweise durch das von mir angenommene Leberzellen-Ferment, sowie endlich der Verdauung durch wässeriges Diastase-Extract aus. Die Versuche umfassten also vier Gruppen, deren jede in mehrere Einzelversuche zerfiel:

- A. 1. Kartoffelstärke-Kleister wurde mit Speichelptyalin verdaut.
2. Glykogen wurde mit Speichelptyalin verdaut.
- B. 1. Kartoffelstärke-Kleister wurde mit Pankreassecret verdaut.
2. " " " " Pankreatin verdaut.
3. " " " " Pankreas-Glycerinextract verdaut.
- C. 1. Schweineleber, frisch zerkleinert und thymolisiert, unterlag der Selbstverdauung.

2. Hundeleber, frisch zerkleinert und thymolisiert, unterlag der Selbstverdauung.

- D. 1. Kartoffelstärke-Kleister wurde mit Diastase-Extract verdaut.
2. Glykogen wurde mit Diastase-Extract verdaut.

A. 1. Aus 50 g Kartoffelstärke wurde mit Wasser ein homogener Kleister hergestellt, bei 40 ° C. derselbe thymolisiert und drei Tage lang mit filtriertem Speichel bei derselben Temperatur stehen gelassen, bis die Blaufärbung mit Jod verschwunden war und das Filtrat keine Erythrodextrin-Reaktion mehr gab. Bei sorgfältigem Vermeiden etwaiger Bräunung wurde das Achroodextrin, welches einen kleinen Teil des Zuckers mitriss, mittels Alkohols ausgefällt und schliesslich, nach dessen Verjagung auf dem Wasserbade, zu dünnem Syrup eingeengt. Von einem hierbei entstandenen flockigen Niederschlag wurde durch Papier abfiltriert und darauf mit dem gleichen Volumen einer Lösung von essigsaurem Phenylhydrazin — es waren 100 g der Base in 300 Teilen 50 %iger Essigsäure gelöst — 30 Minuten lang gekocht. Danach schied sich beim Erkalten ein mächtiger gelber Krystallkuchen aus, in dem die Osazonkrystalle mit den Platten des essigsauren Phenylhydrazins gemischt waren. Da nun dieses Salz, wenn es nochmals mit dem gleichen Volumen 50 %iger Essigsäure versetzt wird, nicht mehr auskrystallisiert, löste ich den Krystallbrei in der Hitze nochmals in der geschilderten Weise, wonach beim Erkalten das Osazon denn auch allein ausfiel. Es wurde nun auf dem Filter gesammelt, mit 50 %iger Essigsäure auf dem Filter gewaschen, und die Essigsäure danach mit Wasser verdrängt. Im Filtrate erzeugte Wasser einen zumeist amorphen Niederschlag, der extra gesammelt, in heissem Alkohol wieder gelöst und aus diesem abermals mit Wasser gefällt wurde. Hierbei liess sich das Osazon ziemlich rein erhalten.

Der auf dem Filter gesammelte Krystallbrei wurde in heissem Alkohol aufgenommen und durch Fällung mit Wasser wieder gewonnen.

Hierauf wurden die gesammelten zwei verschiedenen Osazonausscheidungen vereinigt, über Schwefelsäure im trockenen Luftstrom vom Wasser befreit, in heissem Aceton danach aufgenommen, aus diesem an der Luft nach vorheriger leichter Einengung auf dem Wasserbade krystallinisch erhalten und so endgültig die reinen Osazonkrystalle dargestellt.

Diese Phenylhydrazin-Verbindung hatte den Schmelzpunkt von 202—204° C., welcher dem des von E. Fischer beschriebenen Phenylglukosazons von der Formel: $C_{18}H_{22}O_4N_4$, annähernd entspricht. Die Polarisation wurde nicht bestimmt. Dieser Versuch ergab also als Endprodukt der Speichelverdauung Dextrose im Gegensatz zu der allgemeinen Annahme, dass hauptsächlich Maltose der durch das Speichelyptyalin allein gebildete Zucker sei. Bei der Wichtigkeit dieser Frage wurde noch ausser der Schmelzpunktbestimmung zur Vermeidung eines etwaigen Irrtums die Unterscheidung vom Maltosazon dadurch erwiesen, dass die Lösung der Krystalle in heissem Wasser versucht wurde. Während Maltosazon sich in etwa 15 Teilen heissen Wassers löst, blieben die erhaltenen Krystalle ungelöst darin. Es war mithin der Beweis erbracht, dass der aus Kartoffelstärke mittels Speichelyptyalin-Verdauung gewonnene Zucker die Phenylhydrazin-Verbindung der Glykose lieferte und nicht die der Maltose. Die letztere war also offenbar durch die Speichelverdauung vollständig in Dextrose, durch Zerlegung in die sie zusammensetzenden zwei Moleküle Traubenzucker, übergeführt.

A. 2. 17,7 g Glykogen, frisch dargestellt und mit Alkohol und Aether gewaschen, wurden im luftleeren Raume über Schwefelsäure getrocknet. Das Pulver wurde hierauf in 400 ccm Wasser gelöst und durch Papier filtriert. Das Filtrat wurde mit durchgeseihtem Speichel im Wasserbade der Verdauung ausgesetzt. — Nach Verschwinden der Glykogen-Rotbraunfärbung mit Jod, sowie der Erythrodextrin-Reaktion wurde das Achroodextrin in der geschilderten Weise mit Alkohol ausgefällt, dieser verjagt, zu dünnem Syrup eingengt, filtriert und hierauf durch Kochen mit der gleichen Menge einer Lösung von essigsauerm Phenylhydrazin das Osazon in Mischung mit den Platten des essigsauen Salzes krystallinisch erhalten. Nach Lösung des Krystallgemisches in heisser 50%iger Essigsäure fiel das Osazon beim Erkalten aus, wurde auf dem Filter mit 50%iger CH_3COOH gewaschen, durch Wasser von dieser befreit, in heissen Alkohol danach aufgenommen, wieder ausgefällt mit Wasser und schliesslich nach vorheriger Trocknung aus heissem Aceton rein dargestellt.

Diese Verbindung entsprach ebenfalls mit ihrem Schmelzpunkt von 204° C. und ihrer Unlöslichkeit in

heissem Wasser dem Phenylglukosazon. Aus thierischer wie aus pflanzlicher Stärke hatte mithin das Speichelptyalin bei dreitägiger Verdauungszeit die Hexobiose Maltose in die sie zusammensetzenden zwei Moleküle des Monosaccharids Glykose zerlegt. Bei normalen Verdauungsverhältnissen kommt eine derart lange Ptyalinverdauung nicht in Frage; bei pathologischen Veränderungen dagegen, bei Ektasieen des Magens und Lähmung seiner motorischen Thätigkeit, welche sich mit Achylie oder doch mit Salzsäure-Mangel paaren, könnte diese Erzeugung des einfachen Zuckers in der Magenhöhle vor sich gehen und bliebe nicht erst der Darmthätigkeit vorbehalten. Es scheint mir dies ein Grund mehr zu sein dafür, vor der Kohlehydrat-Diät bei Achylie zu warnen, einerseits wegen der Gärungsgefahr des Zuckers im Magen, andererseits wegen der zu raschen Aufsaugung grösserer Mengen desselben und des dadurch ermöglichten Auftretens von alimentärer Glykosurie. Es dürfte dies Moment auch ein Streiflicht werfen auf die „glycosuria ex amylo“ im Gegensatze zu der „glycosuria ex saccharo“ Naunyn's wie auf das von H. Strauss¹⁾ beobachtete Auftreten der ersteren Form bei Deliranten. Eine vorübergehende nervös-toxische Lähmung des Magens dürfte zwanglos, im Lichte meiner Theorie betrachtet, das Auftreten des Harnzuckers in solchen Fällen erklären, welcher — im Magen gebildet und direct resorbiert — den gewöhnlichen Weg durch die Leber umgehen würde.

Nach dieser Abschweifung gehe ich zur zweiten Gruppe meiner Versuche über, zu den mit Pankreasptyalin verschiedener Herkunft angestellten.

B. 1. Ein Hund wurde zwei Tage lang mit Fleisch und Fett gefüttert und ihm am Vormittage des zweiten Tages die Pankreasfistel angelegt. Bereits nach sechs Stunden begann das Secret aus der Fistel auszufließen. Nachdem das Thier zwei Ruhetage hiernach gehabt hatte, wurden 50 ccm der mitteldicken Fistelflüssigkeit, welche während 2¹/₂ Vormittagsstunden gesammelt war, direkt zur Verdauung eines Kleisters aus 100 g Kartoffelstärke verwendet. Bereits nach fünf Minuten trat starke Kupferreduction im Probefiltrat auf. Am folgenden Tage wurde abgeseiht; im Filtrate war weder die

1) H. Strauss, Ueber nichtdiabetische Glykosurien. Die medicin. Woche 1902 Nr. 6 S. 56.

Stärke- noch die Erythrodextrin-Reaktion mehr mit Jod erhältlich; dagegen fiel Achroodextrin auf Alkoholzusatz daraus nieder und riss 1,666 % Zucker mit. Nachdem nun am folgenden Tage mit Essigsäure angesäuert und durch nachfolgendes Kochen das Eiweiss auscoaguliert war unter gleichzeitiger Verjagung des Alkohols, wurde vom Niederschlag abfiltriert, die Flüssigkeit zu dünnem Syrup eingeeengt und in der geschilderten Weise nach Zusatz von essigsaurem Phenylhydrazin das Osazon erhalten, mittels Essigsäure von der überschüssigen Base befreit und die Krystalle nach Aufnahme in C_2H_5OH daraus zu erhalten gesucht, nachdem sie durch vorsichtiges Abgiessen von der Mutterlauge getrennt waren. Die Krystalle waren auffallend weich und leicht zerdrückbar und lösten sich zwar im Alkohol auf, dagegen misslang das Erhalten der krystallinischen Verbindung aus dieser Lösung vollkommen. Eine Schmelzpunktbestimmung konnte ich daher bei diesem Versuche nicht anstellen.

B. 2. Aus dem bereits leicht fauligen Fistelsecret wurde das Ferment mit Alkohol ausgefällt; von einem Darstellungsversuche des diastatischen Ferments allein nach Danilewski oder Cohnheim wurde in Anbetracht dieser doch nicht zuverlässigen und umständlichen Methoden abgesehen, zumal die Mitfällung des Trypsins und des Steapsins in diesem Pankreatin für meine Zwecke belanglos blieb. Hierauf wurden die Enzyme in Wasser aufgenommen, wodurch — unter Berücksichtigung des geringen Alkoholzusatzes — eine gut wirksame und haltbare Fermentmischung erhalten wurde. Diese Lösung wurde einem Kleister von 24 g Kartoffelstärke zugesetzt und dieser damit im Wasserbade bei $40^\circ C.$ verdaut. Nach Verschwinden der Jodreaktionen und Beseitigung des Achroodextrins und der Eiweissstoffe wurde das Filtrat in der geschilderten Weise eingeeengt, die Phenylhydrazin-Verbindung des entstandenen Zuckers daraus dargestellt, wieder gelöst, gewaschen, aus Alkohol und Aceton umkrystallisiert und der Schmelzpunkt des erhaltenen Osazons bestimmt. Derselbe lag mit $191^\circ C.$ dem des Galaktosazons von der Formel: $C_{18}H_{22}N_4O_4$ (von $193^\circ C.$ nach Emil Fischer, l. c.) am nächsten. Offenbar war also bei diesem Versuche nicht die Zerlegung des Polysaccharids in der gewöhnlichen Weise vor sich gegangen, indem aus Isomaltose Maltose¹⁾ gebildet wird, und aus dieser wieder Glykose durch Zerfall

1) v. Mering und Musculus, Untersuchungen über die ungeformten Fermente. Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 2. 1878/1879.

in ihre zwei Glucit-Aldehyd-Moleküle entsteht, sondern es war der Aldehyd des anderen stereoisomeren sechswertigen Alkohols, des Dulcits, aus der Kartoffelstärke gebildet worden. Zur Erklärung dieses auf den ersten Blick verblüffenden Ergebnisses dürften aber die den umgekehrten Weg gegangenen Experimente Th. Bokorny's¹⁾, M. Cremer's¹⁾ und Arthur Meyer's¹⁾ wesentlich beitragen. Die zwei ersten Forscher fanden nämlich, dass Kartoffeltriebe und Chlorophyllkörner aus den verschiedenen Monosacchariden in gleicher Weise Stärke zu bilden vermögen, während Meyer nachwies, dass aus den stereoisomeren sechswertigen Alkoholen ebenso wie aus ihren Oxydationsproducten, den verschiedenen Monosacchariden, und aus deren Zusammenlagerungen zu Hexobiosen entstätkt gewesene Laubblätter in gleicher Weise Polysaccharide zu bilden vermögen.

Bei der bereits bestehenden Bakterienwirkung ist es allerdings nicht ausgeschlossen, dass in diesem Versuche ein organisiertes Ferment seine Wirkung entfaltete; immerhin ist auch dann ein Hinweis auf die im Darne erfolgende Kohlehydrat-Zerlegung gegeben.

B. 3. Da das Schweinepankreas nach Roberts²⁾ einen besonders hohen Gehalt an Diastase aufweist, so stellte ich mir aus einem solchen von 60 g Gewicht durch Zerreiben mit Sand und Glycerin ein frisches Extract her.

Mit 10 ccm dieses Glycerinextractes wurde ein Kleister aus 24 g Kartoffelstärke diastasiert.

Nach Darstellung des Osazons in der geschilderten Weise und Umkrystallisieren desselben aus heissem Alkohol und schliesslich aus heissem Aceton erhielt ich einen Schmelzpunkt dafür von 207—208 ° C., annähernd dem des Maltosazons, den E. Fischer gegen 206 ° C. fand, also fast 20 ° C. höher als der jener Zuckerverbindung war, welche ich nach Stärkediastasierung mit Hundepankreas-Fistelsaft erhalten hatte. Es waren also dort entweder, wie schon erwähnt, diastasierende Bakterienfermente im Spiele, oder die Pankreas-ptyaline der verschiedenen Thierarten sind nicht nur, wie Roberts bereits feststellte, hinsichtlich ihrer quantitativen, sondern auch bezüglich ihrer quali-

1) Cit. bei Richard Neumeister, Lehrb. d. physiol. Chemie, 2. Aufl., S. 327. Jena 1887, G. Fischer.

2) Roberts citiert bei Gamgee, Die physiologische Chemie der Verdauung. Deutsch von Adler und Beyer. Leipzig und Wien 1897, Fritz Deuticke.

tativen Wirkung, d. h. bezüglich der aus Stärke durch sie gebildeten Zuckerarten, verschieden. Für diese letztere Annahme spricht auch die Thatsache, dass der um ca. 3° C. höhere Schmelzpunkt als derjenige des Glukosazons einer Zuckerverbindung angehört, welche bisher noch nicht beschrieben worden ist, oder höchstens der seines Disaccharids Maltose, wobei der Ausfall der Invertierung durch den Pankreassaft auffallend wäre. Dass es sich thatsächlich nicht um Phenylglukosazon handelte, wies ich in der Weise nach, dass ich mit concentrirter Chlornatrium-Lösung eine Probe des fraglichen Zuckers zur freien Verdunstung aufstellte: Während nun aus gleichzeitig aufgestellten Proben von diabetischem Harn mit concentrirter NaCl-Lösung, sowie aus einer Mischung von 1,33 Theilen Kochsalz und 8,67 Theilen Harnzucker die Zucker-Chlornatrium-Krystalle sich schön ausschieden, krystallisierte nach Ausscheidung des Kochsalzes und Absaugen davon aus dem dicken Pankreas-Zucker-Syrup nichts mehr aus. Es ist damit die Annahme nahegelegt, dass differente Zucker durch Pankreasptyalin aus Stärke gebildet werden, die auch von den durch Speicheldiastasierung erhaltenen verschieden sind.

Eine frische, 1400 g schwere und sehr glykogenreiche Schweineleber von einem Thierte, das vier Tage lang mit Reis gefüttert worden war, wurde in der üblichen Weise zunächst in der Fleischhackmaschine und alsdann durch Zerreiben mit Sand zerkleinert. Der Brei wurde alsdann mit Wasser aufgeschwemmt und, gut thymolisiert, der Selbstverdauung bei 40° C. zwei Tage lang überlassen.

Danach filtrirte ich durch einen Spitzbeutel, kochte diesen mit dem Breirückstand in Wasser aus und vereinigte das Filtrat hiervon mit der Hauptmasse. Die Flüssigkeit wurde hierauf mit CH_3COOH angesäuert, worauf ein — im Ueberschuss der Essigsäure unlöslicher — Niederschlag von Nukleïn entstand, welches aus den Nuklealbuminen des Breies abgespalten war.

Von diesem Niederschlag wurde abfiltrirt, zurückneutralisiert und nach nochmaligem schwachem Ansäuern das Eiweiss durch Kochen auscoaguliert. — Nach Abseihen von diesem Coagulat ergab das Filtrat weder Neutralisationsniederschlag mehr, noch enthielt es

ein coagulables Eiweiss. Es wurde nunmehr auf ein Sechstel eingengt. Um die Gegenwart von Nukleïn in dieser Flüssigkeit völlig auszuschliessen, kochte ich zur eventuellen Abspaltung der Phosphorsäure aus dem Nukleïn mit Salzsäure; die Phosphorsäure-Reaktion mit molybdänsaurem Ammoniak fiel jedoch vollkommen negativ aus.

Nunmehr wurde die Flüssigkeit eingengt und mit dem halben Volumen Alkohol ein zäher, harziger Niederschlag erzielt, von dem durch Papier getrennt wurde. Während der Niederschlag keine Zuckerreaktion gab, reducierte das Filtrat Kupfer stark. Es wurde nunmehr auf dem Wasserbade der Alkohol verjagt und hierauf mit alkoholischer Aetzkali-Lösung der Zucker in seiner Kaliverbindung ausgefällt. Dieses Verfahren wurde mehrmals wiederholt und die Niederschläge gesammelt. Letztere haften zähe an den Glaswänden und liessen sich so leicht von den Cu noch immer reduzierenden Filtraten trennen. Nach Rückneutralisierung der Filtrate und Vereinigung derselben wurde eingengt.

Die Kali-Zucker-Niederschläge vergoren in wässriger Lösung. Die Titrierung und Polarisation ergab 2,9% Dextrose.

Als ich nun in der gewohnten Weise mit essigsaurem Phenylhydrazin das Osazon darzustellen versuchte, entstand ein wässriger, braunschwarzer, amorpher Niederschlag, von dem die Substanz auf keine Weise zu befreien war.

Mit essigsaurem Natron und Phenylhydrazin dagegen gelang es mir, aus dem Kalizucker, nicht aber aus dem zuckerhaltigen Filtrate, die Osazonkrystalle zu erhalten in der Weise, dass 30 g der Base und 20 g essigsaures Natron in heissem Wasser gelöst, filtriert und mit dem gleichen Volumen wässriger Kali-Zucker-Lösung versetzt und danach eine Stunde lang gekocht wurden.

Beim Erkalten fiel das Osazon mit einem amorphen, harzigen Niederschlag gemischt aus; derselbe war leicht von den Krystallen zu trennen, da er sich in siedendem Alkohol, in den ich letztere aufnahm, unlöslich zeigte. Aus C_2H_5OH gewonnen, wurde das Osazon in heissem Aceton gelöst und auf dem $60^\circ C.$ warmen Wasserbade hieraus langsam zum Auskrystallisieren gebracht.

Das so erhaltene Osazon hatte den Schmelzpunkt von 204 bis $205^\circ C.$, während das aus dem Alkohol ausgefallene um 1° niedriger, bei 203 – $204^\circ C.$, schmolz. Es handelte sich also abermals um Glukosazon, die Phenylhydrazin-Verbindung des Traubenzuckers.

C. 2. Ein Hund wurde zwei Tage lang mit Reis gefüttert,

danach getötet und die lebenswarme Leber gewogen, möglichst schnell zerkleinert und mit Sand und Wasser zerrieben. Die Leber wog 550 g und wurde nach Thymolisierung der Selbstverdauung bei 40° C. ausgesetzt. Nach Verschwinden der Jodreaktionen stellte ich den Kalizucker in der geschilderten Weise daraus dar. In diesem Falle gelang es, die Osazonkrystalle auch aus dem Filtrate zu erhalten. Nach mehrmaligem Waschen und Umkrystallisieren bestimmte ich den Schmelzpunkt der aus Aceton erhaltenen Krystalle mit 204° C., dem des Glukosazons. — Der durch die Leberzellen gebildete Zucker ist also in allen Fällen stets Dextrose und erfährt mithin keine spätere Umwandlung mehr.

D. 1. Aus ungeschroter Malzgerste stellte ich mir ein wässriges Diastase-Extract her; dasselbe verdarb jedoch so schnell, dass ich mir ein anderes — aus fast $\frac{1}{2}$ kg Gerste — mit Glycerin anfertigte. Da dieses Extract Kupfer stark reducierte, setzte ich nur 10 ccm davon einem Kartoffelstärke-Kleister zu und stellte auf's Wasserbad von 60° C., da das Optimum der Temperatur für Pflanzendiastase zwischen 55 und 63° C. liegt. Nach zwei Tagen wurde filtriert, eingeengt, das Achroodextrin beseitigt und das Osazon in heissem Wasser, aus dem es beim Erkalten ausfiel, gelöst. Diese Löslichkeit in heissem Wasser zeigte seine Identität mit Phenylmaltosazon. Eine Schmelzpunktbestimmung unterblieb.

D. 2. Dasselbe Diastase-Extract wurde zur Einwirkung auf Glykogen verwendet. Es schieden sich die schön charakteristischen Nadeln des Phenylmaltosazons aus. Auch bei diesem Versuche wurde die Identifizierung mit der genannten Verbindung lediglich durch die Löslichkeit derselben in heissem Wasser ohne Schmelzpunktbestimmung durchgeführt.