Weitere Mittheilungen über Verdauungsfermente

von v. Wittich.

I. Diastatische Fermente im Thierkörper.

Die Erfahrung, dass man das diastatische Ferment des Pankreas sehr wohl noch aus der mit Alkohol behandelten Drüsen-substanz durch Glycerin ausziehen kann, die ich bereits in meiner früheren Mittheilung erwähnte, veranlasste mich auch bei der Darstellung andrer diastatisch wirkender Fermente in gleicher Weise zu verfahren. Sie gab mir aber auch das Mittel an die Hand, Flüssigkeiten und Gewebe, die, wie z. B. die Leber, der Methode nicht recht zugänglich erschienen, auf die Gegenwart eines solchen zu prüfen. In allen Fällen wurde daher das zu untersuchende möglichst frische Gewebe so weit wie thunlich zerkleinert, in absolutem Alkohol etwa 24 Stunden lang aufbewahrt, letztere alsdann abgessen, jenes lufttrocken in einer Reibschale gerieben und durch feinmaschige Gaze gebeutelt, um die eigentlichen Parenchymtheile von den in Form feiner Fetzen dazwischen befindlichen Gefässen und Bindegewebssträngen zu sondern. Das so möglichst reine Parenchym wurde alsdann in einer Schale mit Glycerin gehörig durchgerieben und so der Ruhe überlassen. In ähnlicher Weise verfuhr ich auch mit dem Blute; dasselbe floss unmittelbar aus der Ader in ein mit Alkohol gefülltes Gefäss, und zwar soviel von demselben, um eine vollkommene Gerinnung desselben zu erhalten. Letztere wurde hierauf von der vollkommen farblosen alkoholischen Flüssigkeit abfiltrirt, getrocknet und möglichst fein zerrieben in Glycerin vertheilt. In ganz derselben Art wurden endlich auch das von dem Blutkuchen sich abscheidende Serum und die Galle behandelt, und in beiden Fällen das nach mehrtägiger Einwirkung abfiltrirte Glycerin auf seine diastatische Wirkung geprüft.

Ich wurde zu dieser Methode besonders durch die schon in meiner früheren Mittheilung erwähnte Unmöglichkeit geleitet, aus der Leber durch einfache Glycerin-Extraction des frischen Parenchyms ein Ferment zu gewinnen. Immer zeigte sich nach mehrstündigem Stehen in Glycerin eine sehr erhebliche Vermehrung des Zuckers in dem im Beginne fast zuckerfreien Gewebe, aber nie ein noch fernerhin wirksames Ferment. Anders dagegen gestalteten sich

die Thatsachen seitdem ich jene vorstehend gegebene Methode in Anwendung brachte.

In allen Fällen wurde ein Stück des frisch aus dem Körper genommenen Organes auf Zucker untersucht, der übrige grössere Theil aber schleunigst zerkleinert, mehrfach mit Wasser ausgewaschen, um es möglichst von Blut zu befreien (in vielen Fällen wurde letzteres durch einen in die vena porta geleiteten Wasserstrom entfernt), und dann in absoluten Alkohol gelegt u. s. w. Der endliche Erfolg war, dass ausnahmslos bereits nach 24stündigem, deutlicher noch nach mehrtägigem Stehen, das durch Gaze filtrirte Glycerin: 1) allein oder mit Wasser verdünnt keinen Zucker selbst in solchen Fällen zeigte, in denen die frische Leber unzweifelhaft denselben nachweisen liess. Aller Wahrscheinlichkeit nach war die sicherlich doch sehr geringe Menge des bereits vor der Alkohol-Wirkung gebildeten Zuckers durch den Alkohol extrahirt.

2) der concentrirte wie mässig verdünnte Glycerin-Auszug mit gekochtem Amylon oder Leberglycogen oft schon nach 15 Minuten deutliche Zucker-Reaction zeigte.

Auffallend war hierbei, dass, da das Leberparenchym doch selbst unzweifelhaft Glycogen führte, gleichwohl keine Umwandlung des letzteren durch das Leberferment erfolgte, so lang letzteres in unverdünntem Glycerin sich befand. Allein das Auffallende schwindet, wenn man bedenkt, dass schon nach der elementaren Zusammensetzung des Amylons und Zuckers die Nothwendigkeit der Gegenwart des Wassers zu erwarten stand. Eine Voraussetzung, welche durch den Versuch vollkommen bestätigt wird. Denn einmal erfolgt wirklich Umwandlung des im Parenchym befindlichen Glycogens, wenn man den Glycerinaufguss, ohne ihn von der Lebersubstanz abzufiltriren, einfach verdünnt, dann aber zeigt sich auch, dass ein durch Alkohol vollkommen wasserfrei gemachtes gekochtes Amylon durch einen übrigens ungemein wirksamen aber unverdünnten Glycerin-Auszug aus dem Pankreas selbst nach Tage langem Stehen nicht in Zucker umgewandelt wird, die Wirkung aber in wenigen Minuten erfolgt, wenn man den Auszug verdünnt.

Ergiebt sich hieraus die unzweifelhafte Anwesenheit eines diastatisch wirkenden Fermentes in der Leber, so lehrt die unter (1) angegebene Thatsache, dass das Glycogen nicht gleichzeitig durch das Glycerin ausgezogen wird. Endlich lässt sich aber noch feststellen, dass 3) nach mehrtägigem Verweilen der Lebersubstanz in

Glycerin, ersteres seinen ganzen Ferment-Gehalt an letzterem abgegeben hat, von ihm abfiltrirt und noch mehrmals mit frischem Glycerin ausgewaschen, in Wasser vertheilt selbst nach mehrstündiger Wirkung keine Spur von Zucker zeigt, letzteres aber in wenigen Minuten auftritt, sobald neues Ferment als Ersatz des ausgezogenen zugefügt wird.

Die erste Angabe über die diastatische Wirkung der Galle von Nasse (Ueber die Veränderungen des Stärkemehls durch die Galle. Arch. f. physiol. Heilk. Bd. IV.) wurde, soviel ich weiss, allein von J. Jacobson in seiner Inaugural-Dissertation (*De sacchari formatione fermentoque in jecore et de fermento in bile*. Regimonti 1865) im Wesentlichen bestätigt, aber auch nachgewiesen, dass nicht, wie Nasse meinte, die Gallensauren Salze ihr jene Eigenthümlichkeit verleihen, dass der Galle vielmehr ein eigenthümliches während der Fäulniss schwindendes (daher in alter Galle oft fehlendes) Ferment zukomme. Leider sind die von dem Verfasser gemachten Angaben hierüber dem allgemeinen Schicksale lateinischer Doctor-Dissertationen verfallen, d. h. sie blieben ungelesen und ungekannt. Ich habe angeregt durch meine Untersuchungen über die Fermente jene von Neuem geprüft und kann sie nur in allem Wesentlichen bestätigen, aber auch noch hinzufügen, dass sich auch in derselben Weise wie aus der Leber, d. h. durch Alkoholfällung, und Glycerinextraction des so gewonnenen Niederschlags aus der frischen Galle ein sehr wirksames diastatisches Ferment gewinnen lässt. Mit Erfolg untersucht wurden in angegebener Weise frische Hammel- und Kaninchen-Galle.

Dass die Speicheldrüsensubstanz mir ein sehr wirksames Ferment durch Glycerin-Auszug gaben, habe ich bereits früher mitgetheilt. Nur besonders hervorheben möchte ich, dass auch die submaxillaris des Kaninchen, deren Secret, wie Schiff angiebt, sich durchaus unwirksam zeigt, das Ferment enthält; dass es sich auch bei ihnen empfiehlt, die zerkleinerte Drüsensubstanz zunächst durch Alkohol auszuziehen, einmal um die Fette einigermassen aus ihr zu entfernen, dann aber, um dem Uebergange verschiedener Eiweiss-substanzen in das Glycerin vorzubeugen. Das unzweifelhaft energischste Präparat liefert die Bauchspeicheldrüse, welches auch rohes Amylon bei 40°C. in Zucker umwandelt.

Auch die Gewinnung eines diastatischen Ferments aus der Schleimhaut des Duodenums gelingt am besten, wenn die abprä-

parirte und zerkleinerte Haut zuerst in Alkohol ihres Wassers beraubt wurde, bevor man sie mit Glycerin anreibt. Um übrigens sicher zu sein, dass nicht etwa beigemischter Pankreas-Saft die Beobachtung unsicher mache, wurde bei Kaninchen, bei denen der Ductus pancreaticus bekanntlich sehr tief nach unten in den Darm mündet, nur das vor demselben gelegene Darmstück benutzt, in andern Fällen, in denen die Vermeidung jener Beimischung weniger sicher war, blieb nichts anderes übrig, als das zu untersuchende Schleimhautstück mehrstündig zu wässern, bevor es in Alkohol gelegt wurde.

Noch eins möchte ich hier anführen, was wohl geeignet sein dürfte, meine früheren durchaus negativen Resultate zu erklären. Keins der von mir gewonnenen Präparate zeigt eine so grosse Neigung zu faulen, als der Glycerin-Auszug aus dem frischen Darm; verdünnt man denselben und filtrirt ihn, so trübt sich das anfangs ganz klare Filtrat meistens schon nach 24stündigem Stehen unter deutlicher Pilzbildung, und verliert fast regelmässig gleichzeitig seine anfangs im frischen Zustande unzweifelhaft fermentirende Wirkung auf Amylon, eine Eigenthümlichkeit, auf welche schon Frerichs (Rud. Wagner Wörterbuch Art. Verdauung. Bd. III. 1. pg. 771) bei andern fermentirenden Secreten aufmerksam macht. Auch in meinen früher mitgetheilten Versuchen konnte ich unmittelbar nach der Gewinnung des Glycerin-Auszugs seine diastatischen Eigenschaften constatiren, vermisste sie aber meistens schon am andern Tage. In den wenigen älteren Versuchen achtete ich jedoch nicht auf eine etwa eingetretene Fäulniss, und glaubte die sich mir ergebenden Widersprüche auf Beobachtungs-Ungenauigkeiten zurückführen zu müssen. Jetzt glaube ich, dass auch damals das spätere Ausbleiben der Wirkung auf eine Zerstörung des Ferments durch Fäulniss zurückzuführen sei, um so mehr, als ich damals den stark gewässerten Darm ohne Weiteres mit Glycerin übergoss, für die Pilzwucherung also möglichst günstige Verhältnisse schuf.

Weiter ist es mir gelungen, ein unzweifelhaft diastatisches Ferment, wenn auch nur in geringer Menge zu gewinnen: aus dem Gesamtblute, dem Blutserum, aus dem Gewebe der Nieren, des Gehirns und aus der Schleimhaut des Magens. Die Darstellungsweise war durchweg dieselbe gleich anfangs mitgetheilte. Selbstverständlich wurden zur Feststellung seiner Gegenwart stets zwei Reagirgläser gleich-

zeitig aufgestellt, von denen das eine gekochtes Amylon mit reinem Glycerin, das andere mit dem in angegebener Art gewonnenen Auszug aus einem der vorerwähnten Gewebe gemischt wurde. — Andre Gewebe und Organe habe ich in gleicher Weise bisher nicht geprüft, immer aber ergibt sich aus dem Mitgetheilten, dass jenes gewissen Drüsensecreten eigenthümliche Ferment eine sehr grosse Verbreitung findet. Wie ich glaube, erklären sich aber auch hieraus die seltsamen Widersprüche, die den Beobachtern längst bekannt sind, dass die Speicheldrüsensecrete nicht bei allen Thieren fermentirend wirken, während das durch Maceration des Drüsengewebes gewonnene künstliche Secret unzweifelhaft scharificirende Eigenschaften hat. Aus eigener Erfahrung will ich hier nur den Parotis-Speichel des Schaafs erwähnen, welcher Amylon nicht verändert, während der Auszug aus der Drüse unzweifelhaft wirkt. Es lässt sich ferner aus der grossen Verbreitung des Fermentes wohl der Schluss ziehen, dass dasselbe nicht das Product des Zellenlebens im Drüsenparenchym selbst oder doch nicht allein sei, dass es vielmehr ein dem allgemeinen Stoffwechsel seine Bildung verdankender Körper, in dem Parenchym einiger Drüsen, aus uns bisher unerklärlichen Gründen vorwiegend angehäuft und mit dem Secrete ausgeführt wird.

Aus allen den aufgeführten Glycerin-Auszügen lässt sich das diastatische Ferment weiter durch Alkohol ausfällen, abfiltriren, trocknen und in Pulverform aufbewahren. Will man es noch weiter von den ihm anhängenden Stoffen befreien, so extrahirt man von Neuem den pulverförmigen Rückstand mit Glycerin und gewinnt so ein wohl noch recht wirksames aber kaum noch Spuren von Eiweiss zeigendes Präparat.

Ein anderes Verfahren, um letzteres von jenem zu befreien, gründet sich auf der längst bekannten Thatsache, dass die Fermentwirkung durch die Gegenwart geringer Mengen freier Säure nicht zerstört, ja nicht einmal wesentlich behindert wird; dann aber darauf, dass alle bisher untersuchten Fermente, wie ich aus eigenen Versuchen ersah, eine momentane (d. h. eine nicht wohl über eine Minute dauernde) Erwärmung bis auf 60° C. ertragen, ohne ihre saccharificirende Fähigkeit zu verlieren, während gleichzeitig bei derselben Temperaturhöhe die Mehrzahl der Albuminate coaguliren. Säuert man daher die aus dem alkoholischen Niederschlägen gewonnenen wässerigen Lösungen mit wenigen Tropfen Essigsäure an, erwärmt sie vorsichtig im Wasserbade bis auf 60° C. entfernt sie

möglichst bald, um eine dauernde Wirkung der Erwärmung zu vermeiden, und filtrirt, so erhält man sehr klare Lösungen von energischer Wirkung auf gekochtes Amylon, welche gleichwohl kaum Spuren von Albuminaten zeigen und nur durch recht ergiebigen Zusatz von Alkohol wieder ausgefällt werden können.

Noch ein eigenthümliches Phänomen will ich hier erwähnen, auf welches zwar frühere Beobachter bereits aber in sehr verschiedenem Sinne aufmerksam machten, welches mir aber bisher durchaus nicht richtig gedeutet und wohl geeignet zu sein scheint, uns einen tiefen Blick in den molecularen Vorgang während der Umwandlung des Amylons in Zucker zu gestatten. Bidder und Schmidt benutzten bereits die Jodreaction des Amylons, um sein Verschwinden unter dem Einfluss der Speichelfermente zu constatiren. Gegen die Zulässigkeit dieser Probe hat jedoch Schiff¹⁾ geltend gemacht, dass dieselbe auch bei der Gegenwart von Albuminaten und anderen organischen Stoffen sehr häufig versagt, zum mindesten also aus dem Ausbleiben der Blaufärbung nicht auf den vollständigen Umsatz alles Amylons geschlossen werden darf. Da die von mir gewonnenen Fermente kaum Spuren von Eiweiss enthielten, so erschien es mir auffallend, dass bei sehr vorsichtigem Jodzusatz zu einer Mischung von Amylonkleister und Speichelferment die Blaufärbung gleichfalls ausblieb, dagegen eintrat, sobald ich tropfenweis mehr von der Jodtinctur zufügte. Hat man genau den Moment abgepasst, in dem die Blaufärbung bleibt, so zeigt sich schon nach wenigen Minuten eine Veränderung der Farbe, die anfangs violett, dann röthlich wird (wie bei Dextrin) endlich vollkommen verschwindet. Setzt man von Neuem Jod zu, so wiederholt sich diese Erscheinung so lange, bis nach Verlauf längerer Zeit der ganze Process der Umwandlung vollendet. Ich habe die Versuche stets so angestellt, dass ich ein Wenig von der Mischung abgoss, mit Jod prüfte, und dann den übrigen Rest (um nicht etwa durch die Gegenwart von Jod den Vorgang zu hemmen) in Ruhe stehen liess, und ihn erst nach 24 Stunden von Neuem untersuchte.

Um nun aber zu erfahren, welcher der hier in Frage kommenden Stoffe die Jodreaction behindert, verfuhr ich folgendermassen: Gleiche Mengen Amylon-Kleisters wurden in 6 Reagirgläser ver-

1) Schiff: *Physiologie de la digestion* tom. I. Leçon. 7.

theilt und mit ebenfalls gleichen Mengen folgender Flüssigkeiten gemischt

- Nr. 1) mit Wasser,
- » 2) » Glycerin,
- » 3) » Pepsinlösung in Glycerin,
- » 4) » wässeriger Lösung des Pankreasferments,
- » 5) » Pankreasferment in Glycerin,
- » 6) » mehrfach ausgekochtem Pankreasferment, dessen diastatische Wirkung nachweislich vernichtet war.

Zu jeder dieser 6 Mischungen wurde soviel Jod gefügt, dass alle ziemlich gleich blau erschienen. Schon nach wenigen Minuten waren die Flüssigkeiten in Nr. 4 und 5 (alle standen anfangs in einer Temperatur von 40° C) vollkommen entfärbt, während die übrigen selbst nach 24 Stunden blau waren und auch so blieben. Es musste also das Schwinden der Reaction entweder bedingt sein durch die Gegenwart des sich bildenden Zuckers, oder eine Theilerscheinung des ganzen Vorganges sein. Um hierin eine Entscheidung zu treffen, mischte ich eine Amylon-Abkochung mit nicht vollkommen reinem diabetischen Harnzucker, eine zweite Probe mit sehr schönem weissen Chlornatrim Saccharat. Auf Jodzusatz färbte ich nur die letztere, jene nicht, es muss daher auch im Harn noch eine Substanz sein, welche die Einwirkung des Jod's auf Amylon verhindert, für unsern Fall aber folgt, dass der Zucker allein daran unschuldig ist. Ein andrer Versuch wurde so angestellt. Ein concentrirter Amylon-Kleister blieb Nachts über unter der Einwirkung des Pankreasferments, wurde dann filtrirt und das Filtrat unter Zusatz von Schwefelsäure anhaltend gekocht, um das Ferment zu vernichten. Die Flüssigkeit reagirte sehr energisch gegen schwefelsaures Kupferoxyd, wurde sie hierauf von Neuem mit Amylon gemischt, und durch Jod gebläut, so behielt sie ihre Farbe selbst nach mehrtägigem Stehen. Um übrigens jenes eigenthümliche Verhalten des unreinen Harnzuckers etwas näher zu prüfen und die Bedingungen, welche in ihm die Jod-Amylon-Reaction verhindern, kennen zu lernen, mischte ich Amylon-Kleister nacheinander mit möglichst concentrirten Lösungen von Harnstoff, Kreatin und harnsauren Salzen, ohne jedoch einen Einfluss auf jene Proben zu finden, es schien mir daher wohl das Wahrscheinlichste, dass der Farbstoff des Harns, der ja auch jenem unreinen diabetischen Zucker noch anhaftete, die Einwirkung des Jods auf Amylon behindert, und

in der That zeigt sich denn auch, dass normaler mit Amylonkleister gemischter Harn, die Jodreaction nur zeigt, wenn man von letzterem nicht zu geringe Mengen zufügt¹⁾. Dass übrigens weiter das Ferment allein das Jod nicht verändert, folgt daraus, dass eine Lösung desselben in Wasser durch Jod gelb gefärbt wird, und auch so bleibt, sich nicht wie mit Jod gefärbtes Blutserum allmählig entfärbt. Nach Allem bleibt nichts anderes übrig als anzunehmen, dass während der Einwirkung des Ferments auf gekochtes Amylon das zugefügte Jod die Bedingungen vorfindet, um eine Verbindung einzugehen, welche auf Amylon nicht einzuwirken vermag. Und dieser Voraussetzung entspricht denn auch die Thatsache, dass ein sich unter dem Fermenteinfluss befindender Amylonkleister, in welchem ein Tropfen Jod eine nur ganz vorübergehende Bläuung bewirkt, sich augenblicklich intensiv färbt, sobald man rauchende Salpetersäure zusetzt. Aber auch diese Bläuung schwindet meistens nach wenigen Minuten, so lange die Umwandlung der Amylons noch vor sich geht, nicht etwa durch zu grosse Mengen der Säure vernichtet wurde.

Es scheint somit, dass während der Fermentwirkung Wasser zersetzt wird, und der in statu nascente freiwerdende H, wenn ihm ein Körper grösserer chemischer Verwandtschaft, wie das Jod, geboten wird, sich mit diesem verbindet. An ein wirkliches freierwerden des H. kann jedoch dabei nicht gedacht werden, da, wenn man den ganzen Process über Quecksilber vor sich gehen lässt, keine Spur freien H.'s sich sammelt. Vielmehr hat man es sich wohl so vorzustellen, dass unter dem Einfluss des Fermentes eine theilweise Umlagerung der zu Wasser verbundenen Atome erfolgt, und die hierbei nothwendige Lockerung derselben dem etwa zugefügten Jod die Gelegenheit bietet, einen Theil des H. an sich zu ziehen. Alle hier bisher in Betracht kommenden Fermente theilen übrigens die Eigenschaft, Wasserstoffsuperoxyd unter lebhaften Schäumen zu zerlegen, auf welche schon Schoenbein aufmerksam machte (Journ. f. pract. Chemie. Bd. 89).

1) Schiff a. a. O. macht bereits auf das Verhalten des Harns gegen Jodamylon aufmerksam.

II. Vegetabilische Fermente.

1. Malz-Diastase.

Wie die thierischen, so glückt es auch, die pflanzlichen Fermente aus dem trockenen Saamen durch Glycerin zu extrahiren. Grob zerkleinerte Gerste mit Glycerin angerührt gab schon nach halbstündigem Stehen einen Auszug, der nach mehrfachem Filtriren durch grobes Filtrirpapier schliesslich vollkommen klar abfloss, durch Jod weder roth (Dextrin) noch blau gefärbt wurde, keine reducirenden Eigenschaften gegen schwefelsaures Kupferoxyd zeigte, rohes wie gekochtes Amylon bei mässiger Erwärmung im Wasserbade (40° C) bereits in wenigen Minuten in Zucker umwandelte, und sich gegen Jod während seiner Einwirkung auf Amylon ganz ebenso verhielt, wie die thierischen Fermente.

Noch bequemer ist die Gewinnung der Diastase aus zerriebener Graupe und sogenannter Hirsegrütze, da die Anwesenheit der Hülsen bei dem unbearbeiteten Saamen die Zerkleinerung behindert. Sicherlich noch besser dürfte es sein, sie aus Gerstenmehl zu extrahiren, doch bringt seine Verwendung den Uebelstand mit sich, dass das Glycerin auch den in dem Gerstenmehl enthaltenen Zucker leichter aufnimmt, als aus der nur grob zerstückelten Graupe und Hirse. Um dies zu vermeiden, habe ich folgenden etwas umständlicheren Weg eingeschlagen. Feinstes Weizenmehl wurde so lange mit Alkohol ausgewaschen, bis letzteres vollkommen farblos abfloss, der Alkohol wird von dem Filtrum-Rückstand möglichst vollkommen abgepresst, und letzteres an der Luft zum Trocknen ausgebreitet. War diess erfolgt, so wurde das Mehl mit Glycerin angerieben, und nach 12stündigem Stehen auf ein grobes Filtrum gebracht. Das abfließende Glycerin ist anfangs wolkig trübe, klärt sich aber bei mehrmaligem Umgiessen vollständig, und zeigt dann weder Jodreaction (auf Amylon) noch reducirende Wirkung auf schwefelsaures Kupferoxyd, wohl aber energisch diastatische auf gekochtes wie rohes Amylon. Aus allem ergibt sich die wichtige Thatsache, dass die Diastase keineswegs sich erst, wie Payon und Persoz angeben (Annales de Chim. et de Phys. 53. 73) [Limpricht, Lehrbuch der organ. Chemie 1862. 59; Schlossberger, Lehrbuch der organ. Chemie 1860. pg. 837], während der Keimung bildet, sich vielmehr bereits in dem noch vollkommen ruhenden Gersten- und Weizenkorn findet und hier in seiner

Wirkung auf das sie begleitende Amylon durch den Mangel an Wasser behindert wird. Dem Keimen des Saatkorns geht zunächst eine nicht unbeträchtliche Wasser-Imbibition voraus, und erst wenn diese erfolgt ist, beginnt die Wirkung der bereits vorgebildeten Diastase.

In der schon früher erwähnten Abhandlung (Ueber die katalytische Wirksamkeit organischer Materien und deren Verbreitung in der Pflanzen- und Thierwelt. Journ. f. pract. Chemie. Bd. 89) hebt Schoenbein bereits die grosse Verbreitung katalytisch auf HO_2 wirkender Substanzen im Pflanzenreiche hervor und betont es ausdrücklich, dass dieselben durch ganz dieselben Eingriffe vernichtet werden, welche auch die diastatische Wirkung der in ihnen vorkommenden Massen zerstört, dass also aller Grund vorliege, beide zu identificiren. Auch jene finden sich nach Schoenbeins Angaben keineswegs nur in dem keimenden Saamen, allein darin irrt Schoenbein wohl, wie ich glaube, dass er jene Fähigkeit als eine das Pflanzenalbuminat charakterisirende auffasst, die reingewonnenen diastatischen Fermente, wie die noch weiter zu besprechenden ihnen verwandten vegetabilen, lassen sich nicht einfach als Albuminate auffassen, wenn ich auch damit keineswegs ihre genetische Beziehung zu diesen in Frage stellen will.

Noch einer andern irrthümlichen Auffassung muss ich auf Grund eigener Erfahrung hier entgegentreten. Kühne¹⁾ findet darin einen wesentlichen Unterschied zwischen dem Speichelferment und der Diastase, dass letztere am schnellsten bei einer Temperatur (66°C) zu wirken beginnt, in welcher die Wirkung jenes bereits erlischt. Der Unterschied ist nur ein quantitativer, kaum weniger gross als der zwischen den Fermenten der verschiedenen Speicheldrüsen. Die Umwandlung des Amylons durch Diastase, besonders des rohen, wird wohl durch höhere Temperatur ($40\text{--}66^\circ \text{C}$) wesentlich gefördert, erfolgt aber auch in Stubenwärme; gekochtes Amylon wird in ihr fast momentan, rohes in verhältnissmässig kurzer Zeit in Zucker umgesetzt. Andererseits erträgt aber auch das Speichelferment eine Erwärmung auf 60°C . sehr wohl, ohne seine Fähigkeit einzubüssen. Aus dem Glycerin-Auszug aus Gerste oder Weizen lässt sich nun weiter das Ferment in ähnlicher Weise wie die thierischen durch absoluten Alkohol fällen, alfiltriren und nach mehr-

1) Kühne: Lehrbuch der physiologischen Chemie. pg. 21.

fachem Auswaschen mit Alkohol in Wasser wieder lösen. Die Energie, mit der es auf Amylon wirkt, hängt in erster Reihe natürlich von seiner Concentration ab, man thut daher gut, den Alkoholniederschlag auf einem möglichst kleinen Filtrum zu sammeln, letzteres alsdann an der Luft zu trocknen, und mit wenig Wasser auszuspülen. Die wässerige Lösung erträgt eine momentane Erwärmung auf 60° C. ohne an Wirkungsfähigkeit einzubüssen, da aber die Mehrzahl der Albuminate schon bei 60° coagulirt, so kann man die sich bei 60° C. mässig trübende Flüssigkeit von Neuem abfiltriren und gewinnt so eine Lösung, welche kaum noch Eiweiss-Reaction zeigt, gleichwohl aber ungemein energisch auf Amylon wirkt.

2. Emulsin.

Zur Darstellung des Emulsin wurde $\frac{1}{4}$ Pfund süsse Mandeln möglichst fein zerrieben, mit Aether und heissem Alkohol so lange ausgewaschen, bis das abfliessende Filtrat möglichst fettfrei war; der Filtrum-Rückstand hierauf sorgfältig abgepresst, an der Luft getrocknet, in einer Reibschale zerrieben und durch feine Gaze gebeutelt, so dass die groberen Theile, und vor Allem die Kleie, zurückblieben. Das durchgebeutelte Mehl wurde alsdann mit Glycerin angerieben und blieb so Nacht über stehen. Nachdem es hierauf durch feines Leinen gepresst, wurde es auf grobes Filtrirpapier gebracht. Anfangs trübe, klärte es sich während der äusserst langsamen Filtration vollständig. Da das Glycerin einer Fäulniss vorbeugt, kann man die Filtration ohne Gefahr mehrtägig vor sich gehen lassen, thut aber doch gut, das Filtrum täglich zu erneuern, da die durch das Leinentuch gepressten Mandelpartikelchen sehr bald die Poren des Filtrum's vollkommen verstopfen, jedes weitere Abfliessen unmöglich machen. Keiner der bisher besprochenen Glycerin-Auszüge ist so reich an Eiweiss, wie der aus Mandeln. Ein Theil desselben fällt schon aus, wenn man jene mit Wasser verdünnt, der grösste Theil aber ist auch in der verdünnten Flüssigkeit in so ungemein fein vertheiltem Zustande, dass letztere selbst nach mehrfachem noch so sorgsamem Filtriren immer milchig trübe bleibt. Es genügt aber meistens ein Tropfen Essigsäure, um alles Eiweiss in Form eines ungemein compacten Coagulum's auszufällen. Fügt man daher zu der milchigen Flüssigkeit von der Säure bis zu schwachsaurer Reaction zu und filtrirt alsdann, so erhält man ein vollkommen klares Filtrat, welches sowohl sauer als nach er-

folgter Neutralisation durch kohlensaures Natron ungemein energische Wirkung auf eine Amygdalinlösung zeigt. Wenige Minuten genügen, um in Stubenwärme letztere in Blausäure und Zucker zu zerlegen, während, wie ich mich zur Vorsicht überzeugte, weder meine Amygdalin- noch meine Emulsin-Lösung auch nur Spuren beider erkennen liessen. Eben so energisch wirkte das Präparat auch auf Salicin.

Neutralisirt man jene klare saure Lösung, so trübt sie sich meistens ein wenig, man thut gut, sie alsdann bis auf 60° C. zu erwärmen (was ihre Wirkung, wie ich mich überzeugte, durchaus nicht beeinträchtigt) und von Neuem zu filtriren. Sie zeigt jetzt weder gegen Salpetersäure noch gegen Millons Reagens Eiweissreaction, aber immer noch ungemein energische Wirkung auf Amygdalin und Salicin.

Ein andrer Weg, den man einschlagen kann, um ein möglichst reines Emulsin zu gewinnen, ist der, dass man den Glycerin-Auszug mit Alkohol ausfällt, mit letzterem auswäscht, trocknet, in Wasser löst und die gelösten Albuminate wiederum durch Essigsäure ausfällt.

3. Fermente der Hefe.

Ist die Annahme Liebig's¹⁾, die er noch neuerdings gegen Pasteur vertheidigte, richtig, dass die Alkohol-Gährung wohl eine Parallel-Erscheinung der Entwicklung des Hefepilzes sei, letztere selbst aber nicht, wenigstens nicht in der Ausschliesslichkeit, wie Pasteur meint, den ganzen Gährungsprocess bedinge, dass mit dem Wachsthum der Pilzzellen vielmehr sich eine Substanz entwickle, deren fermentirende Wirkung es sei Traubenzucker zu zerlegen, so liess sich erwarten, aus gährungsfähiger Hefe jene wirksame Substanz ebenso zu gewinnen, wie die übrigen Fermente. Liebig selbst gelang es wohl durch Auswaschen der Hefe jenes den Rohrzucker in Traubenzucker umwandelnde Ferment der Hefe zu isoliren, allein nie glückte es ihm, die Alkoholgährung selbst nach Ausschluss der sich entwickelnden Pilze einzuleiten. Ich bin in meinen Versuchen nicht glücklicher gewesen; Glycerin entzieht sowohl frischer wie ganz alter, und zur Alkoholgährung völlig un-

1) J. v. Liebig: Ueber Gährung, über Quelle der Muskelkraft und Ernährung a. d. Annal. d. Chem. u. Pharmacie 1870.

wirksamer vertrockneter Hefe das den Rohrzucker umwandelnde Ferment ungemein schnell, und bedarf alsdann, selbst in Stubentemperatur, einer nur sehr kurzen Einwirkung, um jenen in Traubenzucker umzusetzen. Nie aber liess sich auch aus ganz frischer sehr wirksamer Hefe jene die Alkohol-Gährung bedingende Substanz herstellen. Ersteres lässt sich, wie alle Fermente, durch Alkohol aus dem Glycerin fällen, und zeigte in der hierauf bewirkten wässerigen Lösung scheinbar die gleiche Kraft wie die glycerinige.

Auch das Myrosin lässt sich aus zerkleinertem weissen Senfsaamen durch Glycerin gewinnen, dagegen habe ich bisher keine positiven Resultate in den Versuchen erzielt, das eine Alkohol-Gährung bewirkende Erythrozym Schunck aus der *Rubia tinctorum* in gleicher Weise darzustellen.

Ueber die physicalischen Eigenschaften der in Rede stehenden thierischen und pflanzlichen Fermente, die doch das Gemeinsame zeigen, dass sie alle eine bestimmte Beziehung zum Amylon und einigen ihm nahestehenden und verwandten Körpern haben, weiss ich nur Weniges mitzuthellen. Immer glückt es dann doch auch nach der hier mitgetheilten Methode nur so geringe Mengen der sicher von allen Beimischungen befreiten Substanz zu gewinnen, dass diese nicht ausreicht, die hier einschlägigen Fragen an der Hand sicher constatirten Thatsachen zu erörtern. So ist es mir vor Allem nicht möglich gewesen, festzustellen, ob die reinen Fermente irgendwelchen Einfluss auf die Polarisationssebene ausüben, wenigstens glaube ich aus den bisher durchweg negativen Resultaten keineswegs zu einem Schluss auf ihre vollkommene Indifferenz in dieser Beziehung berechtigt zu sein. Die von mir in Frage gestellten Lösungen waren bisher, wenn auch sehr wirksam, doch stets so diluirt, dass gleiche Concentrationsgrade vollkommen wirksamer Stoffe (z. B. des Albumins) gleichfalls kaum ein Resultat gegeben haben würden. Hoffentlich aber glückt es noch bei Ausführung der Methode in etwas grösserem Massstabe, als es mir bis dahin möglich war, auch die Entscheidung dieser Frage herbeizuführen.

Nur einer physicalischen Eigenthümlichkeit der Fermente soll hier noch Erwähnung geschehen, von der ich mir anfangs noch Hoffnung machte, sie zur Reingewinnung grösserer Mengen der Fermente weiter verwerthen zu können. Alle diastatischen Fermente

(auch das Emulsin) diffundiren verhältnissmässig leicht durch den Dialysator; nicht nur, dass sie gekochtes Amylon resp. Amygdalin, von welchem sie durch denselben geschieden sind, in verhältnissmässig kurzer Zeit (2—3 Std.) deutlich in Zucker umwandeln, sondern sie ertheilen auch durch das vegetabile Pergament hindurch destillirtem Wasser nach mehrstündigem Stehen unzweifelhaft fermentirende Eigenschaften. Allein die grosse Neigung des durch die Diffusion verdünnten Glycerin zu pilzen und Fäulniss zu erregen, zerstört, wie es scheint, die diastatischen Fermente besonders bei Gegenwart von vielem Wasser sehr schnell, lässt daher kaum weiter hoffen auf diese Weise ein vollkommen reines Ferment zu gewinnen. Indem ich mir weitere und genauere Mittheilungen über die physiologische Bedeutung der thierischen wie pflanzlichen Fermente vorbehalte, sei es mir gestattet, hier kurz die Resultate meiner bisherigen Angaben zusammenzustellen:

1. das aus verschiedenen Secreten des Thierkörpers bekannte saccharificirende Ferment ist ein im Körper ungemein verbreitetes, kann also nicht wohl als alleiniges Product der Drüsenhätigkeit aufgefasst werden. Die Thatsache gewinnt um so grösseres physiologisches Interesse, als die katalytische Wirksamkeit desselben sich nicht nur in der Umwandlung der Kohlenhydrate zeigt; denn

2. alle diese Fermente zeigen energische Wirkung auf Wasserstoffsuperoxyd, und bewahren beide Eigenschaften;

3. selbst in Temperaturen (60—80° C.), in welchen die Albuminate bereits coaguliren, können sie kaum als solche aufgefasst werden, lassen sich daher fast vollständig von diesen trennen;

4. die sogenannte Malzdiastase entwickelt sich keineswegs während der Keimung, ist vielmehr bereits in den noch ruhenden Saamen vorhanden;

5. alle Fermente charakterisiren sich ferner durch ihre grosse Diffusibilität, und unterscheiden sich auch dadurch wohl von den Albuminaten.