

**Ueber den Einfluss der Reaction Amylum sowie Diastase
enthaltender Flüssigkeiten auf den Verlauf des fermentativen
Prozesses.**

Von

Dr. W. Detmer, Prof. an der Universität Jena.

(Der Redaktion zugegangen am 27. Juli 1882).

Die Frage nach dem Einfluss der Reaction Amylum sowie Diastase enthaltender Flüssigkeiten auf den Verlauf des fermentativen Prozesses ist bereits von Baranetzky, Kjöldahl sowie Wortmann in's Auge gefasst worden. Ich habe mich mit Rücksicht auf verschiedene pflanzenphysiologische Probleme sehr eingehend mit derselben Frage beschäftigt, und vor Jahresfrist namentlich im 10. Bande der landwirthschaftlichen Jahrbücher über die Ergebnisse meiner Untersuchungen berichtet. Eine Weiterführung der bezüglichen Beobachtungen hat die Frage, um die es sich hier handelt, zu einem gewissen Abschluss gebracht, so dass ich mir erlauben möchte, an dieser Stelle das Gesammtergebniss meiner Untersuchungen kurz zusammenzufassen. Auf die pflanzenphysiologische Bedeutung der von mir constatirten Thatsachen gehe ich hier nicht weiter ein; ich habe auf dieselbe bereits in meiner erwähnten Abhandlung hingewiesen.

Wird Stärkekleister mit einer Diastaselösung versetzt, so erfolgt bekanntlich alsbald eine lebhafte Amylumumbildung. Der Verlauf derselben lässt sich durch Bestimmung der entstehenden Dextrine — sowie Maltosemengen specieller ver-

folgen, indessen für meinen Zweck war es weit bequemer, eine andere Methode der Untersuchung in Anwendung zu bringen. Es liegt derselben die Thatsache zu Grunde, dass sich solche Flüssigkeiten, in denen Stärkeumbildung erfolgt, auf Jodzusatz während verschiedener Stadien des fermentativen Prozesses keineswegs in der nämlichen Weise färben. Der unveränderte Stärkekleister nimmt auf Jodzusatz eine charakteristisch blaue Farbe an. Dieselbe Färbung kann man hervorrufen, wenn man einer Mischung von Kleister und Diastaselösung etwas Jodtinctur hinzufügt, nachdem die Flüssigkeit soeben vollkommen klar geworden ist. Bei weiterem Fortschritt der Amylumumbildung nehmen Proben der Flüssigkeit auf Jodzusatz eine violette, später eine dunkelrothe, dann eine gelbrothe und schliesslich fast gar keine Färbung mehr an. Da nun bekanntlich in dem Masse, wie die Jodreaction der amyllum- und fermenthaltigen Flüssigkeiten sich ändert, auch die Zuckerbildung in den Lösungen Fortschritte macht, so kann jene Jodreaction in vielen Fällen als bequemes Mittel zur Verfolgung des Verlaufes des in Rede stehenden fermentativen Prozesses in Anwendung gebracht werden.

Zunächst habe ich durch viele Versuche festzustellen versucht, welchen Einfluss Gegenwart oder Abwesenheit von Kohlensäure auf den Verlauf des Prozesses der Stärkeumbildung durch Diastase ausüben. Diejenigen Versuche, denen gegenüber ohne Zweifel gar kein Bedenken erhoben werden kann, sind in der folgenden Weise durchgeführt worden.

Es wurden stets 25 cc. 1procentigen Stärkekleisters mit 5 cc. verdünnter Diastaselösung (Malzextract) versetzt. Es wurde nun entweder durch ein solches Flüssigkeitsgemisch unter Anwendung eines Aspirators, sorgsam entkohlensäuert, aber nachträglich wieder in den wassergasreichen Zustand versetzte atmosphärische Luft geleitet, oder es wurde in das Flüssigkeitsgemisch reine Kohlensäure eingeleitet. Diese letztere entwickelte ich aus Marmor durch Uebergiessen desselben mit verdünnter Salzsäure; das Gas passirte zur Reinigung vor dem Eintritt in die fermenthaltige Flüssigkeit ein mit sehr

verdünnter Kalilauge beschicktes Gefäß. Die Temperatur der Versuchsflüssigkeiten, welche zu Parallelbeobachtungen dienten, war genau die nämliche.

Es ergab sich, dass die Gegenwart der Kohlensäure den Verlauf des Processes der Amylumumbildung in allen Fällen ganz bedeutend beschleunigte. Proben derjenigen Flüssigkeit, durch welche Luft geleitet wird, können auf Jodzusatze noch eine violette Färbung annehmen, während sich Proben der Flüssigkeit, die mit Kohlensäure in Contact gelangt, auf Jodzusatze bereits gelbroth färben. Wenn sich die Flüssigkeit, in welche Kohlensäure eingeleitet wird, auf Jodzusatze fast gar nicht mehr färbt, so kann die Lösung, durch welche Luft geleitet wird, auf Jodzusatze noch eine violette oder dunkelrothe Färbung annehmen. Ich konnte constatiren, dass Gegenwart von Kohlensäure sogar noch dann beschleunigend auf den Verlauf des fermentativen Processes einwirkte, wenn die Temperatur derjenigen Flüssigkeit, durch welche atmosphärische Luft geleitet wurde, absichtlich etwas höher als die Temperatur der mit Kohlensäure in Contact gelangenden Lösung gehalten wurde.

Mit Rücksicht auf die Ursache des Phänomens der Beschleunigung des Processes der Stärkeumbildung durch Kohlensäure erschien es mir von vornherein wahrscheinlich, dass das erwähnte Gas diese eigenthümliche Wirkung äussert, indem dasselbe den sauren Charakter des Gemisches des Stärkekleisters und der Diastaselösung erhöht. Allerdings involviret diese Annahme noch keine Vorstellung über den speciellen Modus der Säurewirkung. Ich habe nun weitere Versuche über die Wirkung verschiedener Säuren auf den Amylumumbildungsprozess angestellt.

Je 25 cc. 1procentigen Stärkekleisters wurden z. B. mit je 5 cc. verdünnter Fermentlösung versetzt und erhielten noch folgende Zusätze: 1) 5 cc. Wasser; 2) 5 cc. Wasser mit 0,0001 gr. Citronensäure; 3) 5 cc. Wasser mit 0,0005 gr. Citronensäure; 4) 5 cc. Wasser mit 0,001 gr. Citronensäure; 5) 5 cc. Wasser mit 0,002 gr. Citronensäure; 6) 5 cc. Wasser mit 0,005 gr. Citronensäure; 7) 5 cc. Wasser mit 0,010 gr.

Citronensäure; 8) 5 cc. Wasser mit 0,020 gr. Citronensäure; 9) 5 cc. Wasser mit 0,050 gr. Citronensäure. In die Flüssigkeit Nr. 10 wurde gewaschene Kohlensäure eingeleitet; die Flüssigkeit Nr. 11 erhielt einen Zusatz von kohlensäurehaltigem Wasser. Sämmtliche Versuche wurden gleichzeitig neben einander angestellt und führten zu folgenden Resultaten:

	Anfang 11 Uhr 15 Minuten.	
	Jodreaction um	
	11 Uhr 40 Min.	12 Uhr 0 Min.
1)	Blau	Violett
2)	«	«
3)	Violett	«
4)	Dunkelroth	Gelbroth
5)	«	«
6)	«	«
7)	Blau	Blau
8)	«	«
9)	«	«
10)	Dunkelroth	Gelbroth
11)	«	«

Im Verlaufe der Versuche liess sich noch constatiren, dass die Stärkeumbildung in der Flüssigkeit Nr. 2 (0,0001 gr. Citronensäure) schneller als in der Flüssigkeit Nr. 1 (kein Säurezusatz) erfolgte.

Um 3 Uhr zeigt eine Probe der Flüssigkeit Nr. 7 auf Jodzusatz eine violette Färbung; Proben der Flüssigkeiten Nr. 8 und 9 färbten sich aber noch blau. Am nächsten Tage um 10 Uhr färbte sich eine Probe der Flüssigkeit Nr. 7 auf Jodzusatz dunkelroth, eine Probe der Flüssigkeit Nr. 8 violett, aber eine Probe der Flüssigkeit Nr. 9 nahm auf Jodzusatz noch immer eine blaue Färbung an.

Es sind also erstaunlich kleine Citronensäuremengen im Stande, den Verlauf des Processes der Stärkeumbildung durch Diastase ganz bedeutend zu beschleunigen. Bei meinen Versuchen haben 0,0005 gr. Citronensäure schon sehr wahrnehmbar gewirkt; grössere Säuremengen wirkten noch günstiger. Wird aber eine bestimmte Säuremenge überschritten,

so tritt wieder eine Verlangsamung im Verlaufe des fermentativen Prozesses ein, und die Gegenwart noch grösserer Säuremengen hebt die Wirkung der Diastase völlig auf. Ich habe auch durch besondere Versuche festgestellt, dass eine gewisse Stärkemenge in Berührung mit einer bestimmten Quantität der Fermentlösung in der Zeiteinheit bei Gegenwart kleiner Citronensäuremengen thatsächlich mehr Zucker als bei Abwesenheit derselben liefert.

Kleine Phosphorsäure-, sowie Salzsäurequantitäten wirken ebenfalls beschleunigend auf den Prozess der Stärkeumbildung ein, während irgendwie grössere Mengen dieser Säuren die Diastase unwirksam machen.

Beachtung verdient die Thatsache, dass selbst ziemlich grosse Carbolsäuremengen den Verlauf des Prozesses der Stärkeumbildung nur in geringfügigem Grade beeinflussen. Meine Versuche wurden mit je 25 cc. Stärkekleister und je 5 cc. Malzextract angestellt. 1) Kein Zusatz; 2) Zusatz von 0,300 gr. Carbolsäure; 3) Zusatz von 0,360 gr. Carbolsäure. Nach Verlauf von 24 Stunden wurden Zuckerbestimmungen vorgenommen. Diese sowie die Ermittlung des Zuckergehaltes von 5 cc. Malzextract (4) führten zu folgenden Resultaten:

Gefundene Kupferoxydmenge.	Der gebildeten Zuckermenge entsprechende Kupferoxydquantität.
1) 0,300 gr.	0,247 gr.
2) 0,283 «	0,230 «
3) 0,206 «	0,153 «
4) 5,053 «	—

Man sieht, dass selbst relativ grosse Carbolsäuremengen die Zuckerbildung nicht wesentlich beeinträchtigen, eine Thatsache, die wohl mit der sehr schwach sauren Reaction der Carbolsäure, sowie mit der Schwerlöslichkeit der Säure in Wasser in Zusammenhang gebracht werden muss. Uebrigens haben Versuche, bei deren Anstellung recht bedeutende Carbolsäuremengen in Anwendung gebracht wurden, ergeben, dass der Prozess der Amylumumbildung unter solchen Umständen nicht mehr stattfinden kann.

Werden Gemische von Stärkekleister und Malzextract mit einigen Tropfen concentrirter Kalilauge versetzt, so kann keine Amylumumbildung mehr in der Flüssigkeit zu Stande kommen. Ertheilt man aber den erwähnten Gemischen nur eine äusserst schwach alkalische Reaction, so ist die Stärkeumbildung noch möglich; sie verläuft unter diesen Umständen aber nur langsam. Ich fand es bei der Ausführung bezüglicher Versuche zweckmässig, mit relativ kleinen Stärkekleister- und erheblichen Malzextractmengen zu experimentiren. Werden nämlich schwach alkalisch reagirende Gemische, die aus viel Kleister und relativ wenig Malzextract bestehen, zur Untersuchung verwendet, so nehmen diese Flüssigkeiten häufig (zumal bei höherer Sommertemperatur) schon eine schwach saure Reaction an, bevor der Beginn der Stärkeumbildung sicher constatirt werden kann. Diese Säuerung der Flüssigkeit ist mit dem massenhaften Auftreten von Schizomycceten in derselben verbunden. Wenn man aber die Versuche in der Weise anstellt, wie dies oben angegeben worden ist, so lässt sich mit aller Sicherheit der Nachweis liefern, dass der Prozess der Amylumumbildung in solchen Gemischen von Stärkekleister und Malzextract, die von Beginn der Experimente an bis zum Abschluss derselben schwach alkalisch reagiren, zur Geltung kommen kann. Es sei noch bemerkt, dass verdünnte Alkalien und Säuren (Kohlensäure, Citronensäure etc.) bei Abwesenheit der Diastase in der nämlichen Zeit, in welcher das Ferment eine gegebene Amylummenge völlig umbildet, diese Wirkung nicht ausüben.