

Einwirkung von Chlorwasserstoffgas auf eine durch Erhitzen veränderte Diastase.

IX. Mitteilung.

Von

Theodor Panzer.

(Der Redaktion zugegangen am 14. Juni 1913.)

In der ersten Mitteilung der vorliegenden Aufsatzserie¹⁾ wurde gezeigt, daß Diastase beim Behandeln mit trockenem Chlorwasserstoffgas unwirksam wird, und es wurde diese Tatsache darauf zurückgeführt, daß der Chlorwasserstoff sich mit einer zur diastatischen Wirksamkeit notwendigen Atomgruppe der Diastase chemisch verbindet. Wenn man anderseits eine wässrige Lösung von Diastase kocht, so verliert sie bekanntlich ihre diastatische Fähigkeit. Nach den Voraussetzungen, von welchen ich bei meinen Fermentuntersuchungen ausgegangen bin, mußte ich annehmen, daß durch das Erhitzen einer Lösung von Diastase gleichfalls eine für die diastatische Wirkung notwendige Atomgruppe der Diastase chemisch verändert wird. Diese und die folgenden Arbeiten sollten sich nun mit der Frage beschäftigen, ob die Atomgruppe, welche durch Einwirkung von Chlorwasserstoff chemisch gebunden wird, dieselbe ist wie die Atomgruppe, welche durch das Kochen chemisch verändert wird. Zunächst wiederholte ich die Versuche, welche ich mit wirksamen Diastasepräparaten angestellt hatte, mit einem durch Kochen unwirksam gemachten Diastasepräparate und studierte die Veränderungen, welche die Einwirkung von Chlorwasserstoffgas, Ammoniakgas, bzw. die aufeinanderfolgende Einwirkung von Chlorwasserstoffgas und Ammoniakgas an dem unwirksamen Diastasepräparate hervorbrachte.

In diesem Aufsatz soll nun über den ersten Teil dieser

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 82, S. 276.

Versuche, und zwar denjenigen berichtet werden, welcher sich mit der Einwirkung von Chlorwasserstoffgas beschäftigt.

Mir lag, um Vergleichen anstellen zu können, daran, die Versuchsbedingungen möglichst ähnlich denen zu gestalten, welche bei den Versuchen mit wirksamen Diastasepräparaten eingehalten wurden. Dementsprechend sollte auch das Versuchsobjekt, das unwirksame Diastasepräparat, einem der in den früheren Arbeiten verwendeten wirksamen Präparate, abgesehen von der Erhitzung, tunlichst ähnlich sein. Es schien mir praktisch, ein Präparat darzustellen, welches den in der ersten Mitteilung als «gereinigt» bezeichneten Präparaten vergleichbar ist, und verfuhr daher wie folgt.

100 g des Diastasepräparates, welches in der ersten Mitteilung unter dem Namen «Diastase III» näher beschrieben worden ist, wurden mit 1 l Wasser angerührt, die Lösung wurde filtriert und in 10 l 95%igen Alkohol gegossen. Nach dem Absitzen wurde der entstandene Niederschlag auf einem Filter gesammelt, mit 95%igem Alkohol ausgewaschen, nach dem Abtropfen des Alkohols mit 1 l Wasser angerührt, die Lösung filtriert, das Filtrat nach Zusatz von etwas essigsaurem Natrium zum Sieden erhitzt und 5 Minuten lang im Kochen erhalten. Nach dem Erkalten wurde die gekochte Flüssigkeit, welche gleichmäßig getrübt war, ohne einen Niederschlag abgesetzt zu haben, in 10 l 95%igen Alkohol gegossen. Der dadurch ausgefällte Niederschlag wurde auf ein Filter gebracht, nacheinander mit 95%igem Alkohol, absolutem Alkohol und Äther gewaschen und, nachdem der Äther an der Luft verdunstet war, im Vakuum über Chlorcalcium getrocknet. Dieses Präparat, welches mit «Diastase gekocht III» bezeichnet wird, erwies sich bei der Prüfung mit Fehlingscher Lösung vollkommen zuckerfrei und zeigte, wie später beschrieben werden wird, keine diastatische Wirkung.

Die Analyse des Präparates, welche in gleichem Sinne geführt wurde, wie in der ersten Mitteilung beschrieben worden ist, ergab folgende Zahlen:

Stickstoff: 0,1833 g lieferten 7,8 ccm N bei 19,2° C. und 750,4 mm, entsprechend 4,93% N;

0,1814 g lieferten 7,8 ccm N bei 18,1° C. und 745,8 mm, entsprechend 4,97% N;

im Mittel: 4,95% N.

Asche: 0,2601 g lieferten 0,0138 g Asche, entsprechend 5,30% Asche;

0,2193 g lieferten 0,0121 g Asche, entsprechend 5,51% Asche;

im Mittel: 5,41% Asche.

Amidstickstoff: 0,5262 g lieferten 3,8 ccm N bei 18,9° C. und 716,7 mm, entsprechend 0,41% N;

0,4933 g lieferten 4,1 ccm N bei 18,8° C. und 738,5 mm, entsprechend 0,46% N;

im Mittel: 0,44% N.

Titrierung und Formoltitrierung: 0,5550 g verbrauchten zur Neutralisation 0,112 ccm Normallauge (entsprechend 20,2 ccm für 100 g Substanz), weiter nach Zusatz von Formol 0,079 ccm Normallauge, entsprechend 0,18% N;

0,5480 g verbrauchten zur Neutralisation 0,092 ccm Normallauge (entsprechend 16,8 ccm für 100 g Substanz), weiter nach Zusatz von Formol 0,098 ccm Normallauge; entsprechend 0,25% N;

Im Mittel: zur Neutralisation 18,5 ccm Normallauge für 100 g Substanz und 0,22% formoltitrierbaren Stickstoff.

Die folgende Tabelle stellt die hier gefundenen Mittelwerte in prozentischer Berechnung mit den Mittelwerten eines vergleichbaren wirksamen Diastasepräparates zusammen:

	Diastase gekocht III	Diastase gereinigt IV
Stickstoff	4,95	5,46
Asche	5,41	3,56
Amidstickstoff	0,44	0,43
Formoltitrierbarer Stickstoff	0,22	0,18
Acidität in ccm Normallauge für 100 g Substanz	18,5	32,4

Gewiß ergeben sich Unterschiede zwischen den beiden Präparaten, doch scheinen mir diese Unterschiede nicht so

weit diskutabel, um daraus einen Schluß auf den chemischen Prozeß zu ziehen, welcher beim Erhitzen des Diastasepräparates vor sich gegangen ist.

Im weiteren war die Versuchstechnik genau dieselbe wie bei den Versuchen, welche in der ersten Mitteilung beschrieben worden sind.

Behandlung mit Chlorwasserstoff.

Über die Mengen Chlorwasserstoff, welche in mehreren Versuchen von der «Diastase gekocht III» aufgenommen und nach Überleiten von Luft bei Zimmertemperatur zurückbehalten wurden, gibt die folgende Tabelle Aufschluß.

Verwendete Menge des Diastasepräparates g	Aufgenommene Chlorwasserstoffmenge g	In Prozenten	
0,1922	0,0193	10,04	
0,5980	0,0598	10,00	
0,5494	0,0522	9,50	
0,2356	0,0222	9,42	
0,4853	0,0461	9,44	
0,4646	0,0447	9,62	
0,5144	0,0480	9,33	
0,5064	0,0459	9,06	4,95% N
0,2144	0,0213	9,93	= 12,88%
0,5546	0,0580	10,46	HCl
0,5602	0,0532	9,50	
0,5184	0,0457	8,82	
0,5144	0,0475	9,23	
0,5183	0,0529	10,21	
0,5259	0,0680	12,93	
0,3983	0,0416	10,45	

Die aufgenommenen Mengen Chlorwasserstoff stimmen im allgemeinen mit den Chlorwasserstoffmengen überein, welche, wie aus der ersten Mitteilung zu ersehen ist, von den entsprechenden wirksamen Präparaten («Diastase gereinigt III und IV») aufgenommen worden sind. Sie sind vielleicht im Durchschnitt ein wenig kleiner wie dort, was mit dem vielleicht

als zufällig anzusehenden geringeren Stickstoffgehalt der gekochten Diastase zusammenhängen mag. Durchwegs aber liegen sie auch hier unter dem dem Stickstoffgehalt äquivalent berechneten Chlorwasserstoffwert. Wie dort wurden auch mit der gekochten Diastase nach Behandlung mit Chlorwasserstoff Auspumpversuche angestellt; ihre Resultate zeigen die beiden folgenden Tabellen.

In Gewichten.

	I. g	II. g	III. g	IV. g	V. g
Verwendete Menge des Diastasepräparates	0,1922	0,5183	0,3983	0,5980	0,5494
Aufgenommene Chlorwasserstoffmenge	0,0193	0,0529	0,0416	0,0598	0,0522
Das Präparat enthielt noch Chlorwasserstoff:					
am 1. Tage	0,0141	—	—	0,0464	0,0461
» 2. »	0,0166	0,0430	—	0,0430	—
» 3. »	0,0154	0,0423	0,0347	0,0403	0,0424
» 4. »	0,0151	—	0,0338	—	0,0417
» 5. »	—	—	0,0333	0,0381	0,0409
» 6. »	0,0149	0,0396	0,0317	0,0372	0,0400
» 7. »	0,0144	0,0391	0,0312	0,0362	—
» 8. »	0,0143	—	0,0304	0,0354	0,0385
» 9. »	0,0140	0,0377	—	—	—
» 10. »	0,0146	0,0371	0,0297	0,0341	0,0382
» 11. »	0,0139	—	0,0295	—	0,0379
» 12. »	—	0,0363	0,0293	0,0335	0,0378
» 13. »	0,0137	0,0361	0,0286	0,0334	0,0369
» 14. »	0,0137	0,0358	0,0285	0,0333	0,0369
» 15. »	0,0139	—	0,0281	0,0327	0,0366
» 16. »	0,0137	—	—	0,0325	—
» 17. »	—	0,0350	0,0281	0,0323	0,0365
» 18. »	0,0133	0,0345	0,0277	—	0,0364
» 19. »	—	0,0345	0,0275	0,0326	0,0355
» 20. »	0,0134	0,0345	0,0275	0,0304	—
» 21. »	—	0,0339	—	—	—
» 22. »	—	—	—	—	—
» 23. »	—	0,0339	—	—	0,0345

In Prozenten.

	I.	II.	III.	IV.	V.
Aufgenommene Chlorwasserstoffmenge	10,04	10,21	10,45	10,00	9,50
Das Präparat enthielt noch Chlorwasserstoff:					
am 1. Tage	7,34	—	—	7,76	8,39
» 2. »	8,64	8,30	—	7,19	—
» 3. »	8,01	8,16	8,71	6,74	7,72
» 4. »	7,86	—	8,49	—	7,59
» 5. »	—	—	8,36	6,37	7,44
» 6. »	7,75	7,64	8,96	6,22	7,28
» 7. »	7,50	7,54	7,83	6,05	—
» 8. »	7,44	—	7,63	5,99	7,01
» 9. »	7,29	7,27	—	—	—
» 10. »	7,60	7,16	7,46	5,70	6,96
» 11. »	7,24	—	7,41	—	6,90
» 12. »	—	7,00	7,36	5,60	6,88
» 13. »	7,13	6,97	7,18	5,59	6,72
» 14. »	7,13	6,91	7,16	5,57	6,72
» 15. »	7,24	—	7,06	5,47	6,66
» 16. »	7,13	—	—	5,42	—
» 17. »	—	6,75	7,06	5,40	6,64
» 18. »	6,92	6,66	6,96	—	6,63
» 19. »	—	6,66	6,91	5,45	6,46
» 20. »	6,97	6,66	6,91	5,08	—
» 21. »	—	6,54	—	—	—
» 22. »	—	—	—	—	—
» 23. »	—	6,54	—	—	6,28

Die Abspumpversuche verlaufen auch hier ganz ähnlich wie bei den analogen Versuchen mit wirksamen Diastasepräparaten, sie zeigen gleichfalls in den ersten 3—4 Tagen einen raschen Gewichtsabfall, und von da ab eine langsame, ziemlich gleichmäßige Gewichtsabnahme. Diese gleichmäßige Gewichtsabnahme geht vielleicht noch langsamer vor sich als bei den wirksamen Präparaten, so daß das Gewicht der Prä-

parate am Ende der Versuche (am 20. Tage entsprechend 5,08 bis 6,97% Chlorwasserstoffgehalt) durchschnittlich noch höher ist wie bei den analogen wirksamen Präparaten (am 20. Tage entsprechend 4,98 bis 5,34% Chlorwasserstoffgehalt), doch mag dieser Unterschied möglicherweise auch nur Zufall, durch Äußerlichkeiten in den Versuchsbedingungen verursacht sein.

Im übrigen passen auch hier die dort angestellten Betrachtungen und Schätzungen, welche ich nicht nochmals wiederholen will.

Bestimmung der Acidität.

Die Resultate gibt die folgende Tabelle, in welcher unter den Auspumpversuchen Versuche verstanden sind, welche mit dem ausgepumpten Material der Auspumpversuche IV und V angestellt sind. Der Wert, welcher in dieser Tabelle für Chlorwasserstoffgehalt angegeben wird, entspricht dem Gewichte der Präparate am Ende der Auspumpperiode.

Verwendete Menge des Diastasepräparates g	Chlorwasserstoff- gehalt g	Normallauge verbraucht	
		zur Neutralisation ccm	zur Formoltitrierung ccm
0,4853	0,0461	1,366	0,097
0,4646	0,0447	1,324	0,058
Auspumpversuche.			
0,5980	0,0304	0,952	0,056
0,5494	0,0345	1,094	0,041

In der prozentischen Berechnung, wie sie bisher immer angewendet worden ist, ergibt sich folgende Zusammenstellung.

Chlorwasserstoff- gehalt %	Acidität		Aciditätszunahme	
	des behandelten	des ursprünglichen	gefunden	berechnet
	Präparates	Präparates	ccm	ccm
9,44	281,5	18,5	263,0	258,9
9,62	285,0	18,5	266,5	263,8
Auspumpversuche.				
5,08	159,2	18,5	140,7	139,3
6,28	199,1	18,5	180,6	172,2

Als wirksame Diastasepräparate mit Chlorwasserstoffgas behandelt worden waren, hatte sich gezeigt, daß die Zunahme der Acidität nicht der aufgenommenen Chlorwasserstoffmenge entsprach, sie war erheblich geringer, als die Menge Chlorwasserstoff an sich bedingen würde, welche tatsächlich aufgenommen wurde. Diese Tatsache führte zu dem Schlusse, daß der diesem Fehlbetrage entsprechende Anteil des Chlorwasserstoffs in irgend einer besonderen Weise an eine Atomgruppe der Diastase gebunden worden sei, wie z. B. Chlorwasserstoff sich an zwei doppelt aneinander gebundene Kohlenstoffatome anlagern kann. Diejenige Atomgruppe, an welche Chlorwasserstoff in besonderer Weise gebunden worden ist, war eine Atomgruppe, deren Existenz für das Zustandekommen der diastatischen Wirksamkeit notwendig ist, welche daher dadurch, daß sie Chlorwasserstoff bindet, ein Unwirksamwerden der Diastase bedingt. Sie gibt aber beim Auspumpen der Präparate ihren Chlorwasserstoff allmählich wieder ab und dadurch wird die Diastase wieder wirksam.

In den vorliegenden Versuchen, welche mit durch Kochen unwirksam gemachter Diastase angestellt worden sind, entspricht die Zunahme der Acidität innerhalb der Grenzen der unvermeidlichen Versuchsfehler recht genau der aufgenommenen Chlorwasserstoffmenge; denn die Differenzen zwischen gefundener und berechneter Aciditätszunahme, welche in vorstehender Tabelle für 100 g Substanz und Normallauge angeführt sind, bedeuten im praktischen Versuche, bei welchem

0,5 g Substanz und $\frac{1}{5}$ Normalflüssigkeiten verwendet worden sind, nur Differenzen um 0,1 ccm, höchstens 0,2 ccm Titerflüssigkeit, Differenzen, welche, da die Aciditätsbestimmung aus zwei Akten (Zufügen eines Überschusses von Barytlauge, Zurücktiteren mit Säure) besteht, als unvermeidliche Versuchsfehler angesehen werden müssen. Kann demnach gekochte Diastase den Chlorwasserstoff nicht mehr in derselben besonderen Weise binden, welche keine Aciditätszunahme hervorruft, während wirksame Diastase es kann, dann muß durch das Kochen jene Atomgruppe, welche Chlorwasserstoff in der besonderen Weise gebunden hat, chemisch verändert worden sein. Es bedeutet demnach das Unwirksamwerden der Diastase durch Kochen und das Unwirksamwerden der Diastase durch Behandlung mit Chlorwasserstoff chemische Veränderungen ein und derselben Atomgruppe. Ob außer dieser einen Atomgruppe noch andere Atomgruppen für die diastatische Wirkung notwendig sind und ob durch das Kochen außer dieser einen Atomgruppe noch andere Atomgruppen betroffen werden, bleiben natürlich offene Fragen.

Wenn aber die Atomgruppe der wirksamen Diastase, welche Chlorwasserstoff in besonderer Weise bindet, diesen Chlorwasserstoff beim Auspumpen allmählich wieder abgibt und andererseits dieselbe Atomgruppe durch das Kochen chemisch verändert wird und dann keinen Chlorwasserstoff mehr in der besonderen Weise binden kann, dann kann sie auch beim Auspumpen keinen Chlorwasserstoff mehr abgeben und die langsame Gewichtsabnahme bei den Auspumpversuchen, welche etwa vom 3. oder 4. Tage dieser Versuche an zu beobachten ist, müßte entweder noch langsamer vor sich gehen oder ganz entfallen. Sie kann nicht ganz entfallen, wenn es noch andere Atomgruppen in den Diastasepräparaten gibt, welche gleichfalls Chlorwasserstoff binden und beim Auspumpen wieder abgeben. Als solche andere Atomgruppen wurden schon in der ersten Mitteilung die unorganischen Stoffe der Diastasepräparate (z. B. Phosphate) angesehen. Es wäre demnach nur eine Verlangsamung der Gewichtsabnahme beim Auspumpen zu er-

warten und diese Verlangsamung kann, worauf schon hingewiesen worden ist, vielleicht bei einem Vergleiche mit der bezüglichen Tabelle der ersten Mitteilung aus der prozentischen Tabelle der Auspumpversuche herausgelesen werden.

Formoltitrierungen.

In prozentischer Berechnung.

nach Behandlung mit Chlorwasserstoff %	Formoltitrierbarer Stickstoff des unveränderten Präparates %
0,28	0,18 bis
0,17	0,25

Auspumpversuche.

0,13	im Mittel
0,10	0,22

Die Formoltitrierungen des mit Chlorwasserstoff behandelten Präparates geben daher keine Werte, welche von denen des unveränderten Präparates wesentlich abweichen würden.

Bestimmung des Amidstickstoffes.

Ebensowenig geben die Bestimmungen des Aminostickstoffes Werte, welche von den bezüglichen Werten der mit Chlorwasserstoffgas nicht behandelten erhitzten Diastasepräparate nennenswert abweichen würden.

Verwendete Menge des Diastasepräparates g	Chlorwasserstoff- gehalt g	Stickstoff in ccm	Tem- peratur in ° C.	Barometer- stand in mm Quecksilber
0,5144	0,0480	3,7	20,8	753,5
0,5064	0,0459	3,8	19,5	752,0

In prozentischer Berechnung.

Chlorwasserstoff- gehalt %	Amidstickstoff	
	nach Behandlung mit Chlorwasserstoff %	bei dem unveränderten Präparate %
9,33	0,41	} 0,44
9,06	0,43	

Ein irgend merkbarer Grad von Hydrolyse oder Anhydridbildung wird demnach bei den eiweißartigen Bestandteilen der «gekochten» Diastase durch die Einwirkung von Chlorwasserstoff nicht verursacht.

Prüfung der Fermentwirkung.

War es schon von vorneherein wenig aussichtsvoll, daß ein gekochtes Fermentpräparat irgendwie wieder Fermentwirkung erlangen sollte, so war es noch umsoweniger zu erwarten, daß eine Reaktion, welche an sich schon die Fermentwirkung aufhebt, eine auf andere Weise verloren gegangene Fermentwirkung wieder herstellen sollte. Nichtsdestoweniger wurden der Vollständigkeit halber die Prüfungen auf Fermentwirkung angestellt.

Die Versuche mit jenen Präparaten, aus welchen der Chlorwasserstoffüberschuß nur durch Luftüberleitung entfernt worden war, entsprachen auch vollkommen der Erwartung, das heißt, das gekochte Präparat zeigte auch nach der Behandlung mit Chlorwasserstoff nicht die geringste diastatische Wirkung. Selbstverständlich wurden die Lösungen der Präparate auch hier sorgfältig neutralisiert, und zwar in genau derselben Weise, welche in der ersten Mitteilung beschrieben worden ist.

Ich führe diesbezüglich nur einen von meinen derartigen Versuchen an.

0,2356 g Diastase gekocht III hatten aufgenommen
0,0222 g = 9,42% Chlorwasserstoff;

Kontrolle: 0,2 g Diastase gekocht III;

Stärkelösung: 2 g lösliche Stärke: 500 ccm Wasser.

Dauer des Versuches	Kontrolle			Mit Chlorwasserstoff behandeltes Präparat		
	Jod- lösung	Reduktion in mg Zucker	mg Zucker gebildet	Jod- lösung	Reduktion in mg Zucker	mg Zucker gebildet
Beginn	blau	3,1	0	blau	4,6	0
1/2 Stunde	›	3,7	(0,6)	›	4,5	0
1 ›	›	3,4	(0,3)	›	4,5	0
1 1/2 Stunden	›	?	?	›	4,2	0
2 ›	›	3,0	0	›	4,2	0
Reduziert Fehling		nicht			nicht	

Dem gegenüber zeigten aber die mit Chlorwasserstoff behandelten und nachher ausgepumpten Präparate ein ganz unerwartetes Resultat: sie besaßen alle eine zwar nur schwache, aber deutlich erkennbare diastatische Wirksamkeit, wie die folgenden Versuchsprotokolle beweisen.

I.

Angestellt mit dem Präparate vom Auspumpversuche I: 0,1922 g Diastase gekocht III hatten aufgenommen 0,0193 g = 10,04% Chlorwasserstoff und nach 20tägigem Auspumpen noch behalten 0,0134 g = 6,97% Chlorwasserstoff.

Kontrolle: 0,2 g Diastase gereinigt IV (also ein wirksames Präparat).

Stärkelösung: 2 g lösliche Stärke: 500 ccm Wasser.

Dauer des Versuches	Kontrolle			Mit Chlorwasserstoff behandeltes Präparat		
	Jod- lösung	Reduktion in mg Zucker	mg Zucker gebildet	Jod- lösung	Reduktion in mg Zucker	mg Zucker gebildet
Beginn	blau	4,7	0	blau	2,7	0
1/2 Stunde	0	10,6	5,9	›	3,1	0,4
1 ›	0	9,7	5,0	›	2,9	0,2
1 1/2 Stunden	0	9,7	5,6	›	4,0	1,3
2 ›	0	11,1	6,4	›	4,0	1,3
Reduziert Fehling		stark			wenig	

II.

Angestellt mit dem Präparate vom Auspumpversuche II. 0,5183 g Diastase gekocht III hatten aufgenommen 0,0529 g = 10,21 % Chlorwasserstoff und nach dem 23 tägigen Auspumpen noch behalten 0,0339 g = 6,54 % Chlorwasserstoff.

Kontrolle: 0,5 g Diastase gekocht III (also das unwirksame Präparat).

Stärkelösung: 2 g lösliche Stärke: 500 ccm Wasser.

Dauer des Versuches	Kontrolle			Mit Chlorwasserstoff behandeltes Präparat		
	Jod- lösung	Reduktion in mg Zucker	mg Zucker gebildet	Jod- lösung	Reduktion in mg Zucker	mg Zucker gebildet
Beginn	blau	3,5	0	blau	5,6	0
1/2 Stunde . . .	»	3,6	(0,1)	»	6,5	0,9
1	»	3,6	(0,1)	»	6,5	0,9
1 1/2 Stunden . . .	»	3,3	0	»	6,7	1,1
2	»	3,5	0	»	6,5	0,9
Reduziert Fehling		nicht			mäßig	

Vor allem sei darauf verwiesen, daß das Präparat «Diastase gekocht III» an sich Fehlingsch Lösung nicht reduzierte, also zuckerfrei war, und daß es, wie sich aus den angeführten und den noch folgenden Versuchen ergibt, keine diastatische Wirkung besaß.

In den bisher angeführten Versuchen ist allerdings der Beweis für eine diastatische Wirksamkeit der mit Chlorwasserstoff behandelten und ausgepumpten, gekochten Diastasepräparate nicht sehr sinnfällig. Das einzige, eindeutige Beweismittel bildet nur der Ausfall der qualitativen Fehlingschen Reaktion. Gegen die Resultate der quantitativen Zuckerbestimmungen könnte noch der Einwand erhoben werden, daß die Differenzen nicht viel größer sind als die Schwankungen, die auch sonst bei meiner Versuchsanordnung bei unwirksamen Präparaten beobachtet worden sind. Allerdings ist gegen diesen Einwand vorzubringen, daß die Differenzen doch größer sind als die erwähnten Schwankungen, und daß vor allem die Werte im

Verläufe des Versuches steigende Tendenz zeigen, während die Schwankungen bei unwirksamen Präparaten in der geringeren Anzahl der Versuche keine bestimmte, meist aber fallende Tendenz besitzen, was übrigens in der Versuchsanordnung begründet erscheint. Das vollkommene Verschwinden der Stärke, kenntlich an dem Verschwinden der für die Stärke charakteristischen Jodreaktion, wurde in den bisherigen Versuchen nicht beobachtet.

Mein Bestreben ging nun dahin, die diastatische Wirksamkeit sinnfälliger zu demonstrieren, und ich ging zunächst von folgender Erwägung aus: In den Versuchen, welche in der ersten Mitteilung veröffentlicht worden sind, hat sich gezeigt, daß die ursprünglichen Handelspräparate, welche Milchzucker enthielten, nach dem Behandeln mit Chlorwasserstoff durch das Auspumpen einen höheren Grad von diastatischer Wirksamkeit erlangten als die gereinigten, milchzuckerfreien Präparate. Ich habe daher das gekochte Diastasepräparat mit dem gleichen Gewichte Milchzucker innig gemengt, dieses Gemenge der Einwirkung von Chlorwasserstoff ausgesetzt und ausgepumpt. Die Resultate dieses Versuches zeigen folgende Tabellen:

	Chlorwasserstoffgehalt	
	dem Gewichte nach g	in Prozenten
Verwendete Menge des Gemisches . .	1,0451	—
Aufgenommene Chlorwasserstoffmenge	0,0591	5,66
Das Präparat enthielt noch Chlorwasserstoff:		
am 1. Tage	—	—
» 2. »	0,0459	4,39
» 3. »	0,0429	4,10
» 4. »	—	—
» 5. »	0,0416	3,98
» 6. »	0,0403	3,86
» 7. »	0,0399	3,82
» 8. »	—	—
» 9. »	—	—

Fortsetzung.

	Chlorwasserstoffgehalt	dem Gewichte nach	
		g	in Prozenten
Das Präparat enthielt noch Chlorwasserstoff: am 10. Tage		0,0382	3,66
» 11. »		0,0381	3,65
» 12. »		0,0374	3,58
» 13. »		0,0371	3,55
» 14. »		0,0366	3,50
» 15. »		—	—
» 16. »		0,0363	3,47
» 17. »		0,0360	3,45
» 18. »		0,0359	3,44
» 19. »		0,0353	3,38
» 20. »		0,0353	3,38

Kontrolle: 1 g des Gemisches aus gleichen Teilen Diastase gekocht III und Milhzucker.

Stärkelösung: 2 g lösliche Stärke: 500 ccm Wasser.

Dauer des Versuches	Kontrolle			Mit Chlorwasserstoff behandeltes Präparat		
	Jodlösung	Reduktion in mg Zucker	mg Zucker gebildet	Jodlösung	Reduktion in mg Zucker	mg Zucker gebildet
Beginn	blau	19,2	0	blau	22,2	0
1/2 Stunde	»	18,4	0	»	21,9	0,3
1 »	»	18,0	0	»	21,8	0,4
1 1/2 Stunden . . .	»	18,1	0	»	20,8	1,4
2 »	»	18,1	0	»	20,3	1,9
Reduziert Fehling		stark			stark	

Zu diesem Versuche sei zunächst bemerkt, daß durch das Gemenge nicht so große Chlorwasserstoffmengen aufgenommen worden sind wie durch das unvermengte Diastasepräparat. Die Abgabe von Chlorwasserstoff beim Auspumpen folgt aber demselben Typus wie dort.

Als besonderes Resultat dieses Versuches darf wohl hervorgehoben werden, daß die allmähliche Bildung von Zucker durch die Ergebnisse der Titration festgestellt wird; denn die Werte der letzten Kolonne obiger Tabelle können wohl nicht mehr als Versuchsfehler aufgefaßt werden. Einen einwandfreien Beweis liefert auch dieser Versuch nicht, wofern man ihn allein heranziehen würde; denn auch hier wurde die Stärke nicht vollständig zum Verschwinden gebracht.

Ich stellte endlich noch einen Versuch an, in welchem ich das mit Chlorwasserstoff behandelte und ausgepumpte, gekochte Diastasepräparat durch 24 Stunden auf Stärke einwirken ließ. Zu diesem Versuche diente das Material vom Auspumpversuch III.

0,3983 g Diastase gekocht III hatten aufgenommen 0,0416 g = 10,45% Chlorwasserstoff und nach 20 tägigem Auspumpen noch behalten 0,0275 g = 6,91% Chlorwasserstoff.

Kontrolle: 0,5 g Diastase gekocht III.

Stärkelösung: 2 g lösliche Stärke: 500 ccm Wasser.

Dauer, des Versuches	Kontrolle			Mit Chlorwasserstoff behandeltes Präparat		
	Jod- lösung	Reduktion in mg Zucker	mg Zucker gebildet	Jod- lösung	Reduktion in mg Zucker	mg Zucker gebildet
Beginn	blau	2,8	0	blau	3,5	0
24 Stunden . . .	"	2,7	0	rot	5,7	2,2
Reduziert Fehling		0			mäßig	

Daß hier in der Probe, welche das mit Chlorwasserstoff behandelte Präparat enthielt, eine diastatische Wirkung vor sich gegangen ist, kann keinem Zweifel unterliegen; denn sowohl die Bildung von Zucker, sowie das Verschwinden der Stärke, bezw. deren Umwandlung in Dextrin ist offensichtlich.

Es könnte nun eine Einwendung gegen die lange Dauer des Versuches erhoben werden, indem die diastatische Wirkung nicht einer Wirksamkeit des gekochten und mit Chlorwasserstoff behandelten Diastasepräparates zugeschrieben, sondern auf die Tätigkeit von niederen Organismen, welche sich in der Flüssigkeit entwickelt hätten, zurückgeführt wird. Ich verfüge

bereits über eine ganze Reihe von Versuchen, welche unter ähnlichen Umständen durchgeführt worden sind und später publiziert werden sollen. Da wäre es doch höchst sonderbar, daß sich die niederen Organismen immer nur gerade in jenen Flüssigkeiten entwickeln sollten, welche die mit Chlorwasserstoff behandelten Präparate enthielten, während die Kontrollproben davon freigeblieben wären. Könnte man doch gerade für die Einwirkung von Chlorwasserstoff eher eine antiseptische Wirkung in Anspruch nehmen.

Ein zweites Bedenken, nämlich daß die Bildung von Zucker in allen Versuchen, sowie die Umwandlung der Stärke in Dextrin im letzten Versuche nur auf eine hydrolytische Wirkung der Salzsäure zurückzuführen sei, erledigt sich einfach dadurch, daß alle Präparate vor der Prüfung auf ihre Wirksamkeit sorgfältigst mit Lauge neutralisiert worden sind. Überdies zeigen ja die nicht ausgepumpten Präparate, welche beträchtlich mehr Chlorwasserstoff enthielten, gar keine diastatische Wirksamkeit.

Nehme ich alle Versuche zusammen, dann kann ich wohl sagen:

Das Diastasepräparat, welches durch Erhitzen unter geeigneten Umständen unwirksam gemacht worden war, erlangte durch Einwirkung von Chlorwasserstoffgas und nachfolgendes Auspumpen wieder diastatische Wirksamkeit, allerdings nur in geringem Grade.

In einem früheren Abschnitte wurde gezeigt, daß für die diastatische Wirksamkeit eine bestimmte Atomgruppe notwendig ist. Diese Atomgruppe wird sowohl durch Erhitzen als auch durch Einwirkung von Chlorwasserstoff chemisch verändert. Durch jede dieser beiden chemischen Veränderungen büßt diese Atomgruppe ihre diastatische Wirksamkeit ein. Die durch Einwirkung von Chlorwasserstoff hervorgerufene Veränderung dieser Atomgruppe kann durch Auspumpen wieder rückgängig gemacht werden und die Atomgruppe erlangt dadurch wieder ihre diastatische Wirksamkeit. Ist diese Atomgruppe aber durch Erhitzen chemisch verändert worden, dann wird sie durch Chlorwasserstoff nicht mehr angegriffen, bzw. nicht mehr so angegriffen, wie die unveränderte Atomgruppe.

Dem gegenüber zeigen aber die letzten Versuche, daß das Diastasepräparat, welches durch Erhitzen unwirksam gemacht worden war, durch Einwirkung von Chlorwasserstoff und Auspumpen wieder wirksam wurde.

Darin liegt ein Widerspruch. Dieser Widerspruch ist aber nur ein scheinbarer. Denn wie ich aus einer später zu publizierenden Versuchsreihe schließen zu können glaube, klärt sich der scheinbare Widerspruch in folgender Weise auf:

Die durch das Erhitzen chemisch veränderte Atomgruppe wird in der Tat durch die Einwirkung von Chlorwasserstoff nicht mehr weiter angegriffen. Der Chlorwasserstoff greift aber noch andere Atomgruppen des Diastasepräparates an, darunter auch eine, welche beim Auspumpen Chlorwasserstoff abgibt und dadurch zu einer diastatisch wirksamen Atomgruppe wird.
