

Über die enzymatische Wirkung des Rettigs. (*Raphanus sativus* L.)

Von

Tadasu Saiki.

(Aus dem Institut für Infektionskrankheiten zu Tokio. Direktor: Prof. Dr. S. Kitasato.)
(Der Redaktion zugegangen am 3. Juli 1906.)

Wenn man Rettig eine Zeitlang stehen läßt — wie dies in Japan für kulinarische Zwecke geschieht — so gewinnt er mehr und mehr einen süßen Geschmack. Das kommt wahrscheinlich zustande teils durch die Eindickung des Saftes, teils aber auch durch fermentative Verzuckerung von Stärke. Von letzterem Vorgang kann man sich durch folgenden Versuch überzeugen: Wenn man ein Stückchen Stärkekleister, das mit Jodjodkali tiefblau gefärbt ist, mit der Schnittfläche des Rettigs in Berührung bringt, so sieht man zuerst, wie das Stückchen sich auflöst und die blaue Farbe desselben sich in die weinrote verwandelt; es wird immer blasser, schließlich ganz farblos. Besonders geht der Übergang der Farben schnell vonstatten, wenn man die Schnittfläche mit dem warmen Finger leicht streicht. Diese Tatsachen führten mich zu der Annahme, daß ein diastatisch wirkendes Ferment im Rettig vorhanden sein müsse. Ich konnte das Vorhandensein von sehr kräftig diastatisch wirkendem Ferment dann experimentell bestätigen, und zwar bestimmte ich die Wirksamkeit desselben quantitativ. Über dieses Ferment berichtete ich im Februar 1905 in der Sitzung der Bakteriologischen Gesellschaft zu Tokio unter dem Namen «Raphanus-Diastase». Wahrscheinlich liegen bis jetzt keine Angaben über Diastase im Rettig vor. Die Zuckerrübe (*Beta vulgaris*), in welcher Brasse und Gonnermann eine Diastase nachwiesen, gehört bekanntlich im botanischen System zu einer anderen Ordnung wie der Rettig. Auch in *Daucus carota* und in *Brassica carota* konnte ich eine Diastase nachweisen, welche aber weniger wirksam war als die des Rettigs.

Hingegen fielen die Versuche zum Nachweise eines proteolytischen, eines fettsplattendes und eines alkoholbildenden Ferments im Rettig negativ aus.

Der zu den folgenden Versuchen benutzte Rettig ist eine Sorte, die unter dem Namen «Nerima-daikon» in Japan sehr bekannt ist und allgemein kultiviert wird.

Experimenteller Teil.

Der Rettig wurde zermahlen, gerieben, und durch ein Koliertuch gepreßt, der Preßsaft filtriert und dialysiert. Die Flüssigkeit zeigte von vornherein keine Trommersche Reaktion, keine Reaktion mit dem Barfoedschen Reagens und keine Osazonbildung; wohl aber zeigte sie nach Zusatz einer kleinen Menge Stärkekleister die Zuckerreaktion. Zuerst wurde der Rettigpreßsaft mit frisch zubereitetem Kleister aus gereinigter Weizenstärke versetzt und die Mischung wurde in den Brutraum gebracht. Nach drei Stunden wurde die Mischung kurze Zeit aufgekocht und abfiltriert. Das Filtrat wurde zum Sirup eingeeengt und mit heißem Alkohol extrahiert. Das alkoholische Extrakt wurde eingedampft und der Rückstand wieder mit heißem Alkohol extrahiert. Mit dem Rückstand wurde dieselbe Operation nochmals wiederholt und darauf wurde die eingeeengte Flüssigkeit stehen gelassen. Dabei schieden sich schöne nadelförmige Krystalle aus. Sie wurden gesammelt, in reinem Methylalkohol suspendiert, abgesaugt und mit einer geringen Menge reinen Methylalkohols gewaschen. Die Substanz wurde danach zuerst aus Äthylalkohol und dann aus Methylalkohol umkrystallisiert. Eine wässrige Lösung, welche in 100 ccm 5,79 g Substanz enthielt, drehte im 2-dm-Rohr bei 17° 15,25° nach rechts, nach einigen Stunden 15,88°. Hieraus berechnete man

$$[\alpha]_D^{17} = + 137,1^\circ.$$

Eine wässrige Lösung von 1,41 g derselben Substanz in 100 ccm drehte im 2-dm-Rohr bei 18° 3,91° nach rechts. Demnach

$$[\alpha]_D^{18} = + 138,6^\circ.$$

Die Substanz wurde sodann mit Phenylhydrazin und Essigsäure auf dem Wasserbad 1½ Stunde erwärmt. Beim Erkalten schieden sich gelbliche nadelförmige Krystalle aus. Zum Zwecke

der Reinigung löste ich die Substanz in Pyridin, fällte mit Benzol und wiederholte diese Operation noch einmal. Das so gereinigte Präparat schmolz bei 206° .

Die Lösung der Osazonkrystalle in Pyridinalkohol drehte die Ebene des polarisierten Lichtes nach rechts. Durch diese Versuche wurde festgestellt, daß die eine der oben beschriebenen Kupferoxyd reduzierenden Substanzen Maltose war. Hiermit war die diastatische Wirkung des Rettigpreßsaftes unzweifelhaft erwiesen. Zur quantitativen Bestimmung dieser Wirkung wurde der abfiltrierte Rettigpreßsaft in drei gleiche Portionen (je 50 ccm) geteilt.

a) Der erste Teil wurde mit dem gleichen Volumen Wasser, b) der zweite mit dem gleichen Volumen des 3%igen reinen Stärkekleisters (die gereinigte Weizenstärke enthielt 80% reine Stärke), c) der dritte nach dem Aufkochen mit dem gleichen Volumen des 3%igen reinen Weizenstärkekleisters versetzt. Alle drei Proben (jede Probe 100 ccm) wurden 3 Stunden lang bei 40° gehalten, dann aufgekocht, filtriert und eingedampft.

Die sirupösen Rückstände wurden mit heißem Alkohol extrahiert, die alkoholischen Extrakte bei niedriger Temperatur vom Alkohol befreit, die Rückstände mit Wasser aufgenommen und auf die ursprünglichen Volumen (100 ccm) aufgefüllt. 10 ccm von jeder Probe wurden abfiltriert und mit Wasser auf 50 ccm aufgefüllt. Bei der Titration fand ich, daß 10 ccm der Fehling'schen Lösung bei a) 14,2 ccm, b) 10,5 ccm, c) 14,5 ccm der betreffenden Probe-Flüssigkeit entsprachen.

Wenn man also die reduzierenden Substanzen alle als Maltose berechnete, so bekam man bei a) und c) 2,6 g, bei b) dagegen 3,6 g Maltose, berechnet auf die ursprünglichen 100 ccm der zum Versuch benutzten Flüssigkeit. Also mußte der durch Einwirkung des Fermentes auf die Stärke entstandene Zucker 1,0 g betragen. Das machte 83,3% der zur Probe verwandten reinen Stärke. Die Resultate anderer, zum gleichen Zwecke angestellter Versuche sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt. Der Rettigpreßsaft wurde diesmal in vier gleiche Portionen geteilt, die Flüssigkeit aufgekocht und ohne vorheriges Eindampfen mit Alkohol versetzt, dann wurden 10 ccm davon

direkt abpipettiert und mit Wasser auf 50 ccm aufgefüllt. Sonst verfuhr ich ganz gleich wie beim vorigen Versuche.

	Flüssigkeitsmenge, welche zur Reduktion von 10 ccm Fehlingscher Lösung erforderlich ist	Maltose in 100 ccm Flüssigkeit in g
a) Preßsaft, unmittelbar nach der Bereitung mit dem gleichen Volumen Wasser versetzt und auf Zucker untersucht	16,0	2,3
b) Preßsaft, ohne Stärkezusatz, mit dem gleichen Volumen Wasser versetzt und bei 40° 3 Stunden lang gehalten	15,7	2,4
c) Preßsaft mit dem gleichen Volumen 3%igen reinen Stärkekleisters digeriert	11,0	3,4
d) Preßsaft, 10 Minuten im Wasserbad gekocht, dann wie in Probe c)	16,2	2,3

Unter der Annahme, daß die Reduktion durch Maltose bedingt ist, findet man durch Vergleichung von c) und d) die gebildete Zuckermenge (1,1 g) zu 91,6% der ursprünglich vorhandenen Stärke (1,2 g), während bei Vergleichung von c) und b) 83,3% gefunden werden.

So wurde der Beweis geliefert, daß eine ziemlich kräftig wirkende Diastase in Rettig vorhanden war. Mit Hilfe der gebräuchlichen Methode gelang es mir auch, sie darzustellen. Sie bildete ein gelblich-weißes, ziemlich hygroskopisches Pulver. Der geringe Gehalt an Eiweißsubstanzen in Rettig schien bei der Darstellung des Präparates sehr günstig zu sein. Ich hoffe später meine Beobachtungen über die Diastase noch erweitern zu können.

Zum Schluß sei noch bemerkt, daß der Rettigpreßsaft weder für sich noch nach Zusatz von 0,2% HCl oder 0,05% Soda imstande war, Rinderfibrin oder gekochtes Eiereiweiß aufzulösen. Auch fiel ein Versuch, den ich für den Nachweis einer erepsinähnlichen Wirkung mit Witteschem Pepton anstellte, negativ aus.