

Der Einfluß verschiedener Temperaturen auf die Fermente und die Regeneration fermentativer Eigenschaften.

Von

Dr. M. J. Gramenitzki.

(Aus dem pharmakologischen Laboratorium der medizinischen Akademie zu St. Petersburg des Prof. N. P. Krawkow.)

(Der Redaktion zugegangen am 2. September 1910.)

Der Zweck dieser Abhandlung ist, im allgemeinen die Haupttatsachen darzulegen, die wir bei Bearbeitung der Frage über den Einfluß verschiedener Temperaturen auf Fermentlösungen erhalten haben; eine ausführlichere und genauer begründete Darstellung der Resultate unserer Arbeit ist in unserer diesbezüglichen Dissertation (St. Petersburg 1910) zu finden.

Fermente sind thermolabile Stoffe, d. h. ihre Tätigkeit ist eng mit einer gewissen Temperatur verbunden und die Eigenschaften der Fermente können unter dem Einfluß verschiedener Temperaturen große Veränderungen erleiden.

Bei niedrigen Temperaturen ist die Schnelligkeit der Fermentationsprozesse sehr gering, bei höheren Temperaturen wird sie größer, und ein Maximum passierend, fällt sie wieder, und bei einer Temperatur von 70—80° C. hört der fermentative Prozeß vollständig auf.

Nach den geläufigen Anschauungen verliert jedes Ferment in einer Wasserlösung schon bei Temperaturen unter 100° C. auf immer seine spezifischen Eigenschaften, und nur einige Oxydasen können, ohne zerstört zu werden, ein kurzdauerndes Kochen vertragen. Dieses Verhalten der Fermente verschiedenen Temperaturen gegenüber gilt als charakteristisch, die Literatur über diese Frage ist eine sehr große, doch ihren Resultaten nach eine sehr einheitliche. Für pflanzliche Fermente wird als Zerstörungstemperatur oder Temperatur «des Todes» 80° C., für tierische Fermente ca. 70° C. angegeben.

Nach jetzt herrschenden Anschauungen wird der Verlust der spezifischen Eigenschaften der Fermente, deren «Tod», mit dem Koagulationsprozesse des Eiweißes verglichen, dabei werden die Verschiedenheiten, welche bisweilen bei den verschiedenen Präparaten ein und desselben Fermentes den Temperaturen gegenüber beobachtet werden, durch ihre «Individualität» oder durch Anwesenheit von Beimischungen erklärt. Nur einige Oxydasen, Fermente, die bis jetzt eine Sonderstellung einnahmen, erweisen sich als besonders standhaft höheren Temperaturen gegenüber.

Die systematischen Untersuchungen Kulpsohns¹⁾ im Laboratorium des Professors N. P. Krawkows deckten bei der Oxydase des Rettichs sehr eigenartige und interessante Eigenschaften auf, und zwar die Eigenschaft der Regeneration nach dem Kochen. Dieser Autor hat bewiesen, daß die Peroxydase und die Oxydase des Rettichs, welche durch Kochen ihre spezifischen Eigenschaften schon verloren hatten, dieselben nach Stehen in der Luft wiedergewannen; dieses konnte nicht nur nach Temperaturen von 100° C., sondern auch nach 115° C. beobachtet werden. Eine derartige Regeneration tritt in einem höheren oder niedrigeren Maße ein, nach längerer oder kürzerer Zeit, je nach der Wärme und Dauer der Erwärmung und je nach der Reinheit der Präparate; auch andere Ursachen können mitspielen.

Diese neue Eigenschaft der Fermente veranlaßte unsere bisherigen Anschauungen über die zerstörende Wirkung hoher Temperaturen, wenigstens in bezug auf die Oxydasen, zu verändern. Es entstand eine neue Frage: in wie weit ist diese Eigenschaft allgemein, und kann sie auch auf andere besonders typische Fermente, z. B. auf die hydrolytischen, verbreitet werden?

Mit der Klärung hauptsächlich dieser Frage beschäftigt sich unsere Arbeit.

Die Hauptresultate haben wir mit dem Präparat Taka-diastase der Firma Parke-Davis erhalten; dieses Präparat

¹⁾ Kulpsohn, Dissert., St. Petersburg 1908.

zeichnet sich durch seine starke Wirkung aus, man erhält es gewöhnlich befreit von Zucker nach Einwirkung von Spiritus und Äther: nach dieser Bearbeitung gibt das Präparat auch keinen Bodensatz bei hohen Temperaturen.

Außer mit Takadiastase arbeiteten wir mit der Diastase Pankreatin der Firma Parke-Davis und mit Maltin der Firma Merck.

Als Lösung für die Fermente wurde von uns ausschließlich destilliertes Wasser benutzt: die Konzentration der Lösungen, sowie deren Quantitäten waren verschieden, je nach den Zielen, welche wir verfolgten. Als Objekt der Fermentwirkung diente uns ein Wasserdekot von Reissstärke in verschiedenen Konzentrationen: das Dekot wurde durch allmähliches Erwärmen bis zum Kochen über einem Kupfernetz bereitet.

Der Verlauf der Hydratation wurde teilweise durch Polarisation, teilweise durch die Jodreaktion verfolgt, hauptsächlich aber durch Titrieren des entstandenen Zuckers (und der Dextrine?) mit Fehlingscher Flüssigkeit.

Die Beobachtungen, welche auf kurze Zeit berechnet waren (einige Stunden), führten wir ohne Zusatz von Antiseptics aus, jedoch griffen wir in allen anderen Fällen zu diesen Mitteln, um dem Einwand, daß bei der Hydratation möglicherweise bakterielle Fermente mitwirken, vorzubeugen. Außerdem rechneten wir mit der Möglichkeit der Glasauflösung bei sehr hohen Temperaturen, daher benutzten wir Probiergläser, bei denen das während unserer Experimente nicht vorkommen konnte: somit war auch denn die eventuelle Glasauflösung nicht imstande, den diastatischen Prozeß zu beeinflussen. Kurz, wir waren bemüht, zufällige Einflüsse auf den Prozeß der Fermentation auszuschließen und denselben möglichst rein zu beobachten.

Unsere allgemeine Untersuchungsmethode bestand darin, daß wir die filtrierte Fermentlösung zu gleichen Teilen in gleiche Probiergläschen gossen, letztere wurden mit Wattepföpfen verschlossen, während einer gewissen Zeit erwärmt (im Wasserbade, im Kochschen Dampfapparat oder im Autoklaven) und dann abgekühlt: darnach wurde in die Probiergläser ein frisch

bereitetes und abgekühltes Stärkedekokt (gewöhnlich aus Reis) hinzugegossen und die Gläser dann entweder in den Thermostaten (38—39° C.) gestellt, oder bei gewöhnlicher Temperatur (17—20° C.) aufbewahrt, oder endlich in eiskaltes Wasser gebracht. Nach gewissen Zeitabschnitten wurden dann quantitative Zuckerbestimmungen vorgenommen.

Unsere Untersuchungen zerfallen in zwei Hauptteile, im ersten Teile beweisen wir, daß Wasserlösungen von Taka-diastase, welche im Wasserbade, im Köchschen Dampfapparate oder im Autoklaven bei 115° C. gekocht wurden und dann nach Abkühlung mit einem Reisstärkedekokt vereinigt wurden, die Hydratation dieses Dekokts in einem gewissen Zeitabschnitt vollführen. Im zweiten Teil werden Erklärungen dieser Tatsache gegeben.

Wir haben nicht die Absicht, hier alle unsere Untersuchungen ausführlich auszuführen, wir wollen uns damit begnügen, die Daten in Ziffern anzuführen, welche die Wirkung des diastatischen Ferments auch nach dem Kochen desselben beweisen. Es sei noch hinzugefügt, daß in den Versuchen, wo zur Erwärmung des Ferments eine Temperatur von 115° C. benutzt wurde, wir nicht zum Zusatz von Antiseptics griffen, da durch diese Temperatur eine volle bakteriologische Sterilität der Flüssigkeit erzielt wurde; dank besonderen Vorkehrungen konnten wir das sterilisierte Ferment mit der sterilisierten (apart!) Stärke vereinigen, ohne eine spätere Verunreinigung durch Bakterien zu befürchten; wir konnten also den Prozeß unbegrenzt lange Zeit beobachten. Weiterhin wäre zu bemerken, daß, laut Schmidts¹⁾ Angaben, die Fehlingsche Flüssigkeit zum Titrieren in verdünntem (4mal) Zustande genommen wurde; 1 ccm dieser Flüssigkeit entspricht ungefähr 1 mg Zucker (Berechnung für Glykose).

Systematische Untersuchungen haben uns gezeigt, daß von Überresten oder «Spuren» von Ferment, die ihre spezifischen Eigenschaften, trotz Einwirkung sehr hoher Temperaturen, noch behalten haben, nicht die Rede sein kann. Es ist

¹⁾ E. Schmidt, Ausführliches Lehrbuch d. pharmak. Chemie, 1901.

Tabelle Nr. 1.

Ohne Zusatz von Antiseptics.

Ver- suchs- num- mer	Quantität des Ferments	Quantität des Substrats	Zeit der Erwär- mung des Ferments	Be- dingungen der Hy- dratation	Zeit- abschnitte, nach welchen titriert wurde	Quantität Fehling- scher Flüssig- keit beim Titrieren in ccm
1	10 ccm der Lösung 1 : 250	20 ccm 1 : 100	5 Min. im Wasser- bad	38° C.	20 Min.	0
					2 Std.	1,1
					4½ Std.	2,4
2	id.	id.	id.	id.	30 Min.	0
					1 Std.	0
					1½ Std.	0,8
					2 Std.	1,2
3	id.	id.	id.	id.	5 »	6,6
					1½ Std.	1,0
					3 »	3,0
					4½ »	5,0
4	id.	id.	15 Min. im Koch- schen Apparat	id.	6 »	8,0
					30 Min.	0
					3 Std.	2,0
5	id.	id.	id.	Eiswasser	5 »	4,5
					20 Std.	3,5
					36 »	14,5
6	30 ccm der Lösung 1 : 900	id.	id.	id.	4 × 24 Std.	28,5
					24 Std.	11,0
					2 × 24 Std.	24,0
					3 × 24 »	30,0
					4 × 24 »	34,0
					5 × 24 »	37,0
					6 × 24 »	41,0
7 × 24 »	41,0					
7	id.	id.	30 Min. im Koch- schen Apparat	id.	8 × 24 »	43,0
					18 Std.	2,0
					2 × 24 Std.	6,5
					3 × 24 »	18,0
					4 × 24 »	22,0
					5 × 24 »	25,0
6 × 24 »	28,0					

Tabelle Nr. 1.

Fortsetzung.

Ver- suchs- num- mer	Quantität des Ferments	Quantität des Substrats	Zeit der Erwär- mung des Ferments	Be- dingungen der Hy- dratation	Zeit- abschnitte, nach welchen titriert wurde	Quantität Fehling- scher Flüssig- keit beim Titrieren in ccm
8	8 ccm der Lösung 1 : 250	5 ccm 1 : 100	15 Min. im Auto- klaven 115° C.	Thermo- staten 38—39° C.	1 1/2 Tage	0
					3 1/2 >	0
					4 1/2 >	Spuren
					5 1/2 >	0,5
					8 1/2 >	1,4
9	10 ccm Lösung 1 : 500	10 ccm 1 : 250	id.	id.	29 >	2,3
					18 Std.	0
					1 1/2 Tage	0,5
					3 1/2 >	0,7
					8 >	1,1
					9 >	1,5
85 >	5,4					
125 >	11,2					
10	id.	id.	id.	id.	1 1/2 Tage	0,9
					2 1/2 >	1,0
					72 >	6,2
					4 Monate	6,0
					10 >	8,0

experimentell bewiesen, daß der Verlauf der Hydratation durch gekochtes Ferment sich sehr wesentlich von der Hydratation unterscheidet, welche durch Ferment-«Reste» hervorgerufen wird (z. B. 1/100, 1/1000 Teile des Ferments), und zwar besteht der Unterschied darin, daß in der ersten Zeit nach der Vereinigung des Dekokts mit der Stärke überhaupt kein Hydratationsprozeß zustande kommt, während ein vorher entnommener kleiner Bruchteil, z. B. 1/100, des nicht gekochten Ferments schon eine Hydratation ergibt; erst später nach 1—2—3 Stunden fängt das gekochte Ferment an die Stärke zu hydratieren, und zuletzt kommt es nicht nur zu einer gleichen Quantität der verwandelten Produkte, wie nach Einwirkung des 100. Teiles des nicht gekochten Ferments, sondern diese Quantität wird bei weitem übertroffen.

Wir bedienen uns noch einer anderen Methode: um die Empfindlichkeit der Reaktion auf die Diastase zu erhöhen, benutzten wir verhältnismäßig sehr geringe Quantitäten des Substrats (1—2 Tropfen eines Stärkedekokts 1 : 200) und beobachteten den Gang der Hydratation mittels der Jodreaktion; wir konnten uns dabei überzeugen, daß auch die minimalsten Teile des Ferments (z. B. 1 ccm einer Lösung 1 : 100000) schon nach 1—2 Minuten spezifisch wirkten, etwas größere Dosen wirken auf die Stärke beinahe momentan: wenn anderseits im Verlauf von 5—6 Minuten keine Veränderung der Stärke eingetreten ist, so ist anzunehmen, daß in der gegebenen Lösung ein diastatisches Ferment ganz fehlt. Diese Methode benutzend, kamen wir zum Schluß, daß die Takadiastase schon in den ersten Augenblicken der Einwirkung von Temperaturen von 80—82° C. (und umsomehr bei höheren Temperaturen) alle ihre spezifischen Eigenschaften verliert; die von uns bewiesene Hydratation der Stärke durch das gekochte Ferment kann nicht durch Einwirken von «Resten» oder «Spuren» des Ferments erklärt werden, welche eine besondere Beständigkeit gegenüber haben müßten, während die übrigen Teile des Ferments ihrer spezifischen Eigenschaften verlustig gehen.

In vollständiger Analogie mit den erwähnten Tatsachen befindet sich auch der Umstand, daß die Beständigkeit Temperaturen gegenüber der Oxydase (resp. Peroxydase) des Maltin-Ferments eigen ist. Dieses Ferment ist gleich anderen Oxydasen besonders beständig hohen Temperaturen gegenüber, es behält seine oxydierenden Eigenschaften (wir meinen hier die Guajakreaktion) nicht nur bei momentaner Erwärmung auf 100° C., sondern auch nach 5—8 Minuten langem Kochen. Doch verfolgt man Schritt für Schritt die oxydierenden Eigenschaften des Maltins bei den verschiedenen Temperaturen, so zeigt sich, daß, in gewissen Grenzen, je höher die Temperatur der Maltin-Lösung ist, um so energischer und schneller die Reaktion der Peroxydase beginnt; so ist sie bei 50° C. ausgeprägter als bei 40° C., bei 70° C. stärker als bei allen betreffenden niedrigeren Temperaturen: bei 75—76° C. aber

fängt die Reaktion an schwach zu werden, und bei 81—82° kommt sie garnicht zustande: die zur schnell erwärmten Fermentlösung hinzugefügte Guajakinktur verändert sich nicht und dasselbe gilt in noch höherem Maße für höhere Temperaturen. Bei genauerer Analyse dieser Tatsache kamen wir zu dem Schluß, daß der Grund für die besondere Beständigkeit der Oxydase in der Regeneration der fermentativen Eigenschaften zu suchen ist, diese Regeneration tritt schnell beim Fallen der Temperatur ein. Die Oxydase ist nicht deshalb beständig, weil bei den hohen Temperaturen irgendein Teil des Fermentes nicht zerstört wird, sondern weil dieses Ferment die Eigenschaft hat, in einen latenten, nicht wirksamen Zustand überzugehen, und zwar schon bei verhältnismäßig niedrigeren Temperaturen, um dann wieder beim Fallen der Temperatur die verlorenen Eigenschaften teilweise wiederzugewinnen.

Je länger und stärker die Einwirkung der hohen Temperatur ist, eine je längere Zeit ist auch für den rückgängigen Prozeß¹⁾ notwendig, und um so unvollkommener ist dann dieser Prozeß, und bei genügend langdauerndem Einfluß von hohen Temperaturen kann das Ferment endgültig seine spezifischen Eigenschaften verlieren; das wird, wie man annehmen kann, der Fall sein, wenn der organische Teil der Fermentmoleküle eine weitgehende und nicht rückgängig zu machende Veränderung erfährt.

Wir halten es für wichtig, noch eine Beobachtung hier anzuführen: Die Oxydase bis zu 80° C. (und darüber) erwärmt, also in ihrem untätigen Zustande, zeigt gerade entgegengesetzte Eigenschaften, das heißt, sie desoxydiert. Wenn wir zu einer Maltinlösung, welche auf 80° C. (und höher) erwärmt ist, eine bei gewöhnlicher Temperatur mit demselben Ferment schon

¹⁾ Da wir es hier mit einer neuen Tatsache zu tun haben, so ist es uns sehr schwer, die richtige Terminologie zu finden. das Schwinden der fermentativen Eigenschaften und das Wiederauftreten derselben kann sowohl durch «rückgängiger Prozeß» oder Reaktion, oder «Rückgängigkeit» bezeichnet werden, als auch durch Ausdrücke allgemeineren Charakters, wie «Wiederentstehung» und «Regeneration». Die Zukunft wird uns lehren, welche Ausdrücke vorzuziehen sind.

oxydierte Guajaktinktur hinzufügen, so tritt sehr schnell (nach $\frac{1}{2}$ —1 Min.) die Entfärbung der Mischung ein; daß wir es hier mit einer Desoxydierung zu tun haben, ist daraus zu ersehen, daß es nur nötig ist, eine solche Lösung abzukühlen und eine neue Portion Maltin hinzuzufügen, damit die Guajaktinktur wieder blau wird. Dieses Experiment kann mit demselben Resultat mehrmals wiederholt werden.

Da wir einerseits die Tatsache des Einwirkens der Diastase auf Stärke auch nach der Beeinflussung des Ferments durch sehr hohe Temperaturen bewiesen haben, und andererseits auch das schnelle und vollkommene Verschwinden der Eigenschaften dieses Fermentes bei einer Temperatur von ca. 80° C. kennen, müssen wir annehmen, daß die erste Erscheinung auf den Prozeß der Regeneration, resp. auf die Wiederherstellung der diastatischen Eigenschaften, die nur zeitweilig beim Kochen verloren gegangen waren, zurückzuführen ist.

Der Beweis der Richtigkeit dieser Schlußfolgerung wird durch unsere weiteren Versuche erbracht. Diese Versuche, die wir mit einigen Worten erwähnen wollen, sind einfach. Eine filtrierte Takadistaselösung wird in einem Glaskolben bis auf 85—90° C. erwärmt und dann schnell auf Zimmertemperatur abgekühlt: diese Lösung wird nun in einige gleiche Portionen geteilt, deren eine mit einem gewissen Quantum des Substrats unmittelbar nach der Abkühlung versetzt wird («das Anfangsprobiergläschen» der Tabelle 2), die anderen erst nach einem gewissen Zeitabschnitt (von $\frac{1}{2}$, 1 und 2 Stunden usw.), während dessen das Ferment abgekühlt gestanden hat; weiterhin lassen wir die Hydratation der Stärke in allen Fällen in einem gleichen Zeitabschnitt (z. B. 15 Min.) und bei gleicher Temperatur vor sich gehen, und titrieren darnach. Die Resultate derartiger Versuche sind folgende: je länger das erwärmte (und abgekühlte) Ferment sich selbst überlassen bleibt, um so stärker zeigt sich resp. entwickelt sich die fermentative Kraft, wenn z. B., das Ferment unmittelbar nach der Abkühlung mit der Stärke vereinigt eine fermentative Kraft von 1 Einheit hat, so besitzt das 1 Stunde in der Luft gestandene Ferment eine Kraft von bis 3 Einheiten usw. usw., mit andern Worten, mit

dem längeren Stehen des Ferments beginnt immer mehr und mehr seine Regeneration, die Wiederherstellung der bei der Erwärmung verloren gegangenen Eigenschaften.

In der Tabelle Nr. 2 führen wir einige Zahlen an, die das Gesagte illustrieren.

Tabelle Nr. 2.

Regeneration der diastatischen Eigenschaften des Ferments nach dessen Erwärmung (Hydratation bei gewöhnlicher Temperatur.)

Ver- suchs- num- mer	Quan- tität des Sub- strats	Quantität des Ferments	Tempera- tur der Erwär- mung	Dauer der Hydra- tation	Probiertgläsern	ccm der Fehling- schen Flüssig- keit beim Titrieren	
1	10 ccm 1:100	10 ccm 1:1000	bis zu 85° C.	15 Min.	ungewärmt	10,2	
					Anfangsgläschen	1,5	
					ge- stan- den	16 Min.	1,7
						33 „	1,9
						48 „	3,0
						1 Std. 4 Min.	4,0
						1 „ 45 „	5,2
2 „ 30 „	6,0						
2	id.	id.	bis zu 95° C.	30 Min.	ungewärmt	12,0	
					Anfangsglas	0,6	
					ge- stan- den	25 Min.	4,2
						1 Std. 5 Min.	5,5
						4 „ 50 „	6,4
						6 „	8,2
						8 „	8,0
						22 „	8,4
						30 „	8,0
						2 Tage	9,5
5 „	12,0						
3	5 ccm 1:200	5 ccm 1:1000	bis zu 85° C.	20 Min.	ungewärmt	7,5	
					Anfangsglas	3,0	
					ge- stan- den	30 Min.	6,0
						3 Std.	6,0
						20 „	7,0
						2 Tage	7,0

Tabelle Nr. 2.

Fortsetzung.

Ver- suchs- num- mer	Quan- tität des Sub- strats	Quantität des Ferments	Tempera- tur der Erwär- mung	Dauer der Hydra- tation	Probiergläschen	ccm der Fehling- schen Flüssig- keit beim Titrieren	
4	5 ccm 1:200	5 ccm 1:1000	bis zu 95° C.	10 Min.	ungewärmt Anfangsglas	4,0 Spuren	
					ge- stan- den	1/2 Std.	0,6
						6 »	1,5
						28 »	1,9
						3 Tage	2,0
5	id.	id.	bis zu 85° C.	20 Min.	ungewärmt Anfangsglas	6,0 0,3	
					ge- stan- den	35 Min.	0,4
						1 Std. 20 Min.	0,5
						20 »	3,0
						2 Tage	3,0
6	id.	id.	id.	id.	ungewärmt Anfangsglas	7,5 1,3	
					gestan- den	1 Std.	3,5
						3 »	5,0
						20 »	6,0
						2 Tage	5,5
						6 »	5,2
						13 »	5,2
20 »	5,1						
7	id.	id.	5 Min. im Wasser- bad ge- kocht	4 Std.	Anfangsglas	1,5	
					gestan- den	20 Std.	2,0
						3 Tage	3,2
8	id.	id.	1/2 Std. im Wasser- bad ge- kocht	19 Std.	Anfangsglas	3,5	
					gestanden 20 Std.	5,0	

Dieses sind in allgemeinen Zügen die Tatsachen, die unsere Versuche und Beobachtungen ergeben haben, an die wir folgende allgemeine Schlußfolgerungen knüpfen.

Wässrige Lösungen von Takadiastase erweisen sich hohen Temperaturen gegenüber sehr beständig. Nicht nur bei einer

Temperatur bis zu 100° C., sondern auch nach 1stündiger Erwärmung bei 100° C., oder $\frac{1}{4}$ stündiger bei 115° C., behält dieses Ferment bis zu einem gewissen Grade seine spezifischen Eigenschaften. Diese Erscheinung wird bedingt durch die Regeneration der fermentativen Eigenschaften. Der Verlauf dieses Prozesses ist sehr verschieden und hängt ab von der Stärke der einwirkenden Temperatur auf das Ferment und von der Temperatur, bei welcher die Regeneration beobachtet wird. Einige Präparate von Takadiastase besitzen die Eigenschaft der direkten Regeneration, d. h. sie regenerieren von selbst ohne Substrat; andere Präparate sind nur zu einer indirekten Regeneration fähig, sie verlangen für den Beginn des Prozesses die Anwesenheit von Stärke.

Welches der Grund dieses Unterschiedes ist, können wir nicht sagen, jedenfalls je stärker das Ferment, um so eher können wir von ihm eine direkte Regeneration erwarten.

Die fermentativen Eigenschaften von wässrigen Lösungen der Takadiastase gehen schon in den ersten Augenblicken der Einwirkung einer Temperatur von 80° C. verloren.

Studiert man die Regeneration des Ferments nach kurzdauernder Erwärmung bei $80-85^{\circ}$ C., so zeigt sich, daß, bei einer Temperatur von 50° C. und einer höheren eine Regeneration nicht zustande kommt; bei einer Temperatur von 45° C. tritt entweder die Regeneration auch nicht ein, oder wenn sie eintritt, dann nur in einem sehr schwachen Maße, um wieder bald (nach 2—3 Stunden) zu verschwinden; bei einer Temperatur von 40° C. geht die Regeneration am energischsten vor sich, aber nach 4—5—6 Stunden beginnt sie abzunehmen; bei gewöhnlicher Temperatur beginnt die Regeneration der Diastase verhältnismäßig langsam, steigt aber lange Zeit (1 Tag und länger) und wird vollständiger als bei 40° C.; also die Temperatur übt einen großen Einfluß auf die Regeneration der diastatischen Eigenschaften aus.

Weniger konzentrierte Lösungen von Takadiastase sind beständiger Temperaturen gegenüber, d. h. sie geben eine vollkommenere Regeneration.

Der Begriff eines Optimums der Temperatur für die Fermentwirkung ist sehr bedingt; dieses Optimum hängt ganz von dem Zeitabschnitt ab, während welchem der Prozeß beobachtet wird. Je kürzer die Zeit der Beobachtung, um so höher ist dieses Optimum und umgekehrt.

Dialysierte Takadiastase-Präparate sind, gleich gewöhnlichen, der Regeneration nach dem Kochen fähig.

Das Vorhandensein oder Nichtvorhandensein von spezifischen Eigenschaften in der Fermentlösung und ebenso ihre spezifische Wirkung sind nicht mit einer Veränderung der elektrischen Leitbarkeit dieser Lösungen verbunden.

Der kolloidale Charakter der Takadiastase-Lösung, welcher im Ultramikroskop beobachtet wird, verändert sich auch bei sehr hohen Temperaturen (z. B. bei 240°C.) nicht. Die Oxydase Maltin (resp. Peroxydase) behält noch eine schwache oxydierende Eigenschaft auch nach 10 Minuten langem Erwärmen im Wasserbade bis zu 100°C. Nach noch längerem Erwärmen (15—20 Min.) verschwinden die fermentativen Eigenschaften, doch kehren sie nach einem gewissen Zeitabschnitt wieder, also die Oxydase regeneriert sich gleich der Takadiastase. Eine noch stärkere Temperatureinwirkung beraubt die Oxydase des Regenerationsvermögens.

Die Oxydase Maltin wird schon bei einer Temperatur von $80\text{--}82^{\circ}\text{C.}$ unwirksam, sie verliert ihre fermentativen Eigenschaften.

Deshalb muß die «Beständigkeit» dieses Ferments, d. h. das Vorhandensein der spezifischen Eigenschaften nach 10 Minuten langer Erwärmung nicht durch Reste von Ferment, welche unzerstört von der hohen Temperatur geblieben, erklärt werden, sondern durch den rückgängigen Prozeß, durch die Regeneration der Oxydase, welche mit dem Abkühlen der Lösung beginnt.

Die Oxydase, in den untätigen Zustand übergeführt, also bei einer Temperatur von 80°C. und höher, zeigt direkt entgegengesetzte Eigenschaften und zwar die Eigenschaft der Desoxydation.

Die Maltinlösung hellt nach einem gewissen Zeitabschnitt eine Stärkelösung auf, auch nach 10 Minuten langer Erwärmung im Wasserbade mit der Stärke zusammen, also wird die letztere in einen löslichen Zustand übergeführt, Zucker wird jedoch dabei gar nicht gebildet: mit anderen Worten also ist die Amylase noch wirksam, während die Wirkung der Amylomaltase schon zerstört ist.

Die «Beständigkeit» der Amylase des Maltins wird bedingt durch den rückgängigen Prozeß der Regeneration der fermentativen Eigenschaften.

Amylomaltase des Maltins, Invertin der Takadiastase und das amylytische Ferment des Pankreatins verlieren scheinbar ihre fermentativen Eigenschaften schon für immer bei einer Temperatur bis zu 100° C.; doch bei etwas niedrigeren Temperaturen läßt es sich schon beweisen, daß diese Fermente, wenn auch in schwachem Maße, zur Regeneration fähig sind.

Was die Art der Wirkung der Fermente betrifft, so ist dieselbe zurzeit noch recht rätselhaft, ebenso wie die Wirkung aller Katalysatoren überhaupt. Am ehesten können wir uns die Fermente oder genauer die Gruppen, welche die Fermentation vollführen, als Seitenketten eines gemeinsamen Kerns, eines gemeinsamen Moleküls vorstellen, analog den «Seitenketten» der Zelle in der Theorie Ehrlichs. Es kann mehrere solcher Seitenketten geben und ihr Charakter kann verschieden sein, je nach den chemischen Reaktionen, die sie bewirken.

Die Voraussetzung von verschiedenen Seitenketten bei ein und demselben Grundbestandteil der Fermente findet darin ihre Bestätigung, daß wir imstande sind, einige der fermentativen Eigenschaften zu zerstören, während andere erhalten bleiben können. Nehmen wir z. B. eine Takadiastaselösung und erwärmen sie bis zu 70° C., so werden die katalytischen Eigenschaften zerstört, doch bleiben die invertierenden und diastatischen erhalten: erwärmen wir die Lösung weiter bis zu 100° C., so werden auch die invertierenden und diastatischen Eigenschaften zerstört, aber mit dem Unterschiede, daß die diastatischen sich regenerieren können, die invertierenden aber nicht. Nehmen wir eine Lösung von Maltin und erwärmen

sie bis zu 100° C., so wird die Amylomaltase zerstört, die Amylase aber und die Oxydase können sich regenerieren: wenn wir nun diese Maltinlösung 15 Minuten kochen, so wird die Amylase vollständig zerstört und es kann nur die Oxydase sich regenerieren. Wir besitzen also in der Temperatur ein Mittel, welches imstande ist, die einen Fermente von den anderen zu trennen, oder genauer gesagt, die einen fermentativen Eigenschaften zu zerstören, während andere gleichzeitig noch erhalten bleiben können. Diese Tatsache spricht für den verschiedenen spezifischen Charakter der vorausgesetzten Seitenketten, gegenüber den gleichen Einflüssen verhalten sie sich verschieden, dabei gerät der eine Teil der Seitenketten in einen latenten Zustand, den man «Paralyse» nennen kann und von dem sie sich erholen können, während der andere Teil unrettbar «stirbt».

Es ist vollständig unbekannt, was für Veränderungen diese Gruppen beim Übertritt ins latente Stadium erleiden, ob dies Prozesse der Dissoziation, Polymerisation, Dehydratation oder Prozesse einer intramolekularen Umstellung der Atome oder ihrer Komplexe (Inversion); die Entscheidung dieser Fragen gehört der Zukunft.