

439. v. Gorup-Besanez: Weitere Beobachtungen über diastatische und peptonbildende Fermente im Pflanzenreiche.

(Eingegangen am 18. Novbr.; verl. in der Sitzung von Hrn. Oppenheim.)

Zur Zeit der ersten Mittheilung über diesen Gegenstand ¹⁾ ahnte ich nicht, wie bald meine bis dahin ganz vereinzelt stehenden, und wie es scheint, mit Misstrauen aufgenommenen Beobachtungen, in den merkwürdigen, wie damals noch unbekanntem Mittheilungen von Hooker und Ch. Darwin über fleischfressende Pflanzen, indirecte Bestätigung finden sollten, und kaum mochte Ch. Darwin vermuthet haben, dass ihm während des Niederschreibens des Satzes ²⁾: es möge sich bei der schon von J. Sachs nachgewiesenen Lösung und chemischen Metamorphose der Stärke und der Eiweisskörper in den Pflanzen durch Vermittelung von aus dem Keime in das Endosperm übergehenden Stoffen, um Fermentwirkungen handeln, — für die Richtigkeit dieser Voraussetzung, bereits ein directer Beweis zugehen würde.

Beschränkte sich dieser directe Beweis damals aber auf nur eine Pflanzenspecies, so bin ich heute in der Lage, nicht nur meine früheren Angaben nach wiederholter Prüfung in allen Punkten aufrecht zu erhalten, sondern das Vorkommen gleichzeitig diastatisch und peptonbildend wirkender Fermente als ein im Pflanzenreiche keineswegs vereinzelt zu bezeichnen. Ich habe nämlich derartige Fermente ausser den Wickensamen bisher nachgewiesen in den Samen von *Cannabis sativa*, von *Linum usitatissimum* und in der gekeimten Gerste und zwar im sogenannten gelben Darmmalze. Ungekeimte Gerste gab ein negatives Resultat, was angesichts der längst bekannten Thatsache, dass die sogenannte Diastase, das diastatische Ferment *κατ' ἐξοχήν* sich erst während des Keimens der Gerste entwickelt, von vorneherein nicht anders zu erwarten war und nur insofern nicht ohne Interesse ist, als daraus die gleichzeitige Bildung des diastatischen und des peptonbildenden Fermentes gefolgert werden muss. Die Frage, ob die Diastase von Payen und Persoz, nach der von ihnen angegebenen Methode dargestellt, auf Eiweisskörper peptonisirend wirkt, bleibt dadurch vorläufig unberührt, da die von mir aus Darmmalz erhaltenen Fermente nach einer wesentlich abweichenden Methode gewonnen wurden; doch dürfte die Angabe: die Diastase wirke nicht auf Eiweiss und ähnliche Stoffe, kaum als Gegenbeweis angesehen werden. Jedenfalls wäre diese Angabe mittelst der uns jetzt zu Gebote stehenden Methoden zu prüfen, was zu thun ich mir vorbehalte. Zur Isolirung der Fermente wurde stets die in meiner ersten Mittheilung beschriebene Hüfner'sche Methode be-

¹⁾ Diese Ber. VII, S. 1478.

²⁾ Ch. Darwin, *Insectivorous plants* London 1875, p. 362.

nutzt, und ist es mir gelungen, durch wiederholte Füllung der Glycerinlösungen mittelst ätherhaltigen Alkohols, das Wickenferment schneeweiss und pulverisirbar zu erhalten. So dargestellt, färbte es sich auch nach monatelangem Stehen in verschlossenen Gefässen nicht im Geringsten, und blieb auch nach mehreren Wochen wirksam. Durch alle Reinigungsversuche gelang es nicht, den Körper aschenfrei zu erhalten. In einem quantitativen Versuche erhielt ich 7.76 pCt. Asche, und wurde dieser Aschengehalt durch wiederholtes Lösen und Ausfällen nicht wesentlich herabgedrückt. Eine Stickstoffbestimmung gab nach Abzug der Asche nur 4.3 pCt. Stickstoff, demnach viel weniger, als Hüfner in dem Pankreasferment gefunden hatte¹⁾. Bemerkenswerth erscheint der bei allen bis nun überhaupt studirten Fermenten wiederkehrende hohe Aschengehalt, der den Gedanken nahe legt, es möge derselbe nicht bloß bei der Hefe ein wesentlicher sein. Ich glaube übrigens, dass bei Körpern, wie es die in Frage stehenden sind, Elementaranalysen über ihre Natur wenig Aufschluss geben können, denn einerseits ist ihre chemische Individualität zu fraglich, und anderseits wird dadurch ihre Wirkung, wie die Dinge gegenwärtig liegen, nicht im Mindesten verständlicher.

Nachdem ich mich durch zahlreiche, auch nach meiner ersten Mittheilung noch fortgesetzte Versuche von der energisch diastatischen und peptonbildenden Wirkung des Wickenfermentes zur Genüge überzeugt hatte, wobei aber zum Nachweise der peptonisirenden Wirkung stets nach der Gruenhagen'schen Methode präparirtes Fibrin aus Ochsen- und Schweineblut zur Verwendung kam, hielt ich es nicht für überflüssig zu versuchen, ob das Wickenferment auch geronnenes Albumin unter Mitwirkung höchst verdünnter Salzsäure in Lösung zu bringen und in Peptone zu verwandeln vermöge. Um dies zu ermitteln, wurde ein Würfelchen geronnenen Eiweisses (von einem hart gekochten Hühnerei) in einer Proberöhre mit etwas Salzsäure von 0.2 pCt. Säuregehalt und einigen Tropfen der wässrigen Fermentlösung versetzt bei gewöhnlicher Zimmertemperatur sich selbst überlassen. Nach 24stündiger, noch deutlicher aber nach 48stündiger Einwirkung zeigten sich die Kanten des Eiweisswürfelchens durchscheinend und angegriffen, und gab das Filtrat sämtliche Peptonreactionen in grosser Schärfe. Doch war, was bei der grösseren Resistenzfähigkeit des geronnenen Eiweisses nicht Wunder nehmen kann, die Wirkung des Fermentes hier eine weit schwächere, wie bei Anwendung von zur Gallerte gequollenem Fibrin.

Was den Nachweis der Peptone anbelangt, so habe ich, durch meine Collegen, die HH. Rosenthal und Leube, seither darauf

¹⁾ Journal f. pract. Ch. N. F. Bd. V, S. 881.

aufmerksam gemacht, in der sogenannten Biuretreaction die empfindlichste und sicherste positive Reaction auf Peptone erkannt, deren sonstige Merkmale bekanntlich mehr negativer Natur sind. Peptonlösungen färben sich mit etwas Kali- oder Natronlauge und ein oder zwei Tropfen einer höchst verdünnten Kupfersulfatlösung versetzt deutlich und rein blassrosa, während Lösungen, welche noch unveränderte Eiweisskörper enthalten, dadurch, wie ich mich überzeugte, violett, und wenn sie ausschliesslich nur solche enthalten, rein blau gefärbt werden. Soll übrigens die Reaction gelingen, so muss die Kupfersulfatlösung so sehr verdünnt sein, dass ihre Färbung erst wahrnehmbar wird, wenn man sie in einer Proberöhre von oben herab betrachtet. Auch ist jeder Ueberschuss derselben auf das Sorgfältigste zu vermeiden. Von der Sicherheit dieser Reaction habe ich mich vielfach überzeugt und namentlich auch gefunden, dass, wenn Lösungen gleichzeitig Peptone und unveränderte Eiweisskörper enthalten und man die letzteren, sei es durch Kochen, Abdampfen, oder durch Neutralisation der sauren Lösungen entfernt, die Filtrate die Biuretreaction in vollkommener Reinheit geben.

Bei allen von mir angestellten Beobachtungen wurde stets ein Controlversuch mit Fibrin und Salzsäure von der angegebenen Verdünnung allein gemacht. Stets ging auch hier ein Theil des Fibrins in Lösung, allein die filtrirte Lösung gab mit Ammoniak höchst vorsichtig neutralisirt, das sogenannte Neutralisationspräcipitat (Syntonin, Parapepton Meissner's) wurde durch Blutlaugensalz gefällt, und gab mit verdünnter Kupfersulfatlösung und Kali- oder Natronlauge niemals eine rosaroth, sondern stets rein blaue Färbung. Andererseits beobachtete ich auch bei den Versuchen mit Fermentlösung, dass die Filtrate, neutralisirt, zuweilen ein geringes Neutralisationspräcipitat gaben und durch Blutlaugensalz noch getrübt wurden. Bei dem weitaus am kräftigsten wirkenden Wickenfermente waren jedoch in den meisten Fällen unveränderte Eiweisskörper in den Lösungen nicht mehr nachweisbar, d. h. man erhielt Filtrate, welche beim Kochen völlig klar blieben, weder durch Mineralsäuren, noch durch Blutlaugensalz, noch endlich durch Eisenchlorid und Kupfersulfat mehr gefällt wurden, dagegen die Biuretreaction ganz rein gaben. In einem Falle blieb die Lösung, welche durch Blutlaugensalz noch getrübt wurde, und mit Kupfersulfat und Natronlauge eine Färbung annahm, deren Rosa eine starke Beimischung von Violett hatte, beim Kochen völlig klar; als sie jedoch in einem Porzellanschälchen im Wasserbade verdunstet wurde, schieden sich schon während des Abdampfens caseinähnliche Häutchen ab, und es löste sich der Rückstand nur theilweise in Wasser. Diese Lösung gab aber nun die Biuretreaction in vollkommener Schärfe und Reinheit. Längst bekannt ist es, dass auch bei der Pepsinverdauung durchaus nicht immer

alle Eiweisskörper in Peptone verwandelt werden, sondern theilweise noch als solche in Lösung gehen (Brücke).

Da in neuester Zeit die Ansicht ausgesprochen wurde¹⁾, das Pankreaspepton sei nichts weiter als ein Gemenge von Leucin, Tyrosin und noch zwei anderen Zersetzungsprodukten der Eiweisskörper, und mich selbst das Auftreten des Leucins neben Asparagin in den Wickenkeimen²⁾ auf den Gedanken einer Fermentwirkung gebracht hatte, so liess ich auf eine grössere Menge aufgequollenen Fibrins (etwa 300 Grm.) Wickenferment und die mehrfach erwähnte höchst verdünnte Salzsäure einwirken. Nach mehrtägiger Einwirkung wurde das Filtrat mit Bleiessig ausgefällt, das Filtrat vom Bleiessigniederschlage durch Schwefelwasserstoff entbleit, und die so erhaltene Lösung der Peptone im Wasserbade vorsichtig bis zur Consistenz eines dünnen Syrups verdunstet. Dieser klare, gelblich gefärbte Syrup zeigte jedoch auch nach monatelangem Stehen nicht die geringste Neigung, Krystalle abzuscheiden. Durch Alkohol wurde er nur in grossem Ueberschusse gefällt, und es setzte sich der anfänglich weisse, sehr fein vertheilte Niederschlag in Gestalt eines ölig-flüssigen Absatzes zu Boden. Es konnte weder Leucin und Tyrosin, noch Asparagin nachgewiesen werden, und ebenso wenig liess sich im Bleiessigniederschlage Asparaginsäure auffinden. Die Lösung zeigte im Uebrigen alle Reactionen der Peptone, namentlich auch die Biuretreaction.

Die Versuche mit Hanf- und Leinsamen wurden von Hrn. Hermann Will, der mich schon bei meinen früheren Beobachtungen unterstützt hatte, unter meiner Leitung ausgeführt. Hanf- und Leinsamen der letzten Ernte (1874) wurden bei Beginn des Sommers in Arbeit genommen und daraus nach dem bei den Wickensamen benutzten Verfahren durch Fällung der Glycerinauszüge mit ätherhaltigem Alkohol Niederschläge erhalten, die in wässriger, so wie in glyceriniger Lösung diastatisch und peptonbildend wirkten. Schon nach etwa einstündiger Einwirkung einiger Tropfen dieser Lösungen auf dünnen Stärkekleister bei mittlerer Zimmertemperatur konnte durch Fehling'sche Flüssigkeit ebensowohl, wie durch die Gährungsprobe mit wohlausgewaschener Bierhefe Traubenzucker nachgewiesen werden, während gleichzeitig angestellte Controlversuche mit Stärkekleister allein, und solchem, dem einige Tropfen Glycerin zugesetzt waren, stets negative Resultate lieferten. Die peptonisirende Wirkung der aus Hanf- und Leinsamen erhaltenen Fermente wurde in zwei Versuchsreihen ebenfalls festgestellt. Nach 2- bis 3stündiger Einwirkung einer wässrigen Fermentlösung auf durch Salzsäure von 0.2 pCt. zur Gallerte gequollenes Fibrin war ein Theil des letzteren verflüssigt,

¹⁾ Huppert, diese Ber. VI, S. 1279.

²⁾ Diese Ber. VII, S. 146. 569.

die Filtrate gaben mit höchst verdünnter Kupfersulfatlösung und Natronlauge rein rosaroth Färbung, blieben beim Kochen klar, gaben durch Mineralsäuren und durch Ferrocyankalium keine Fällung, wurden aber durch Gerbsäure, Quecksilberchlorid, Phosphorwolframsäure und Jodquecksilberkalium gefällt. Ein Controlversuch mit Salzsäure allein gab wie immer ein negatives Resultat.

Zu den Versuchen mit gekeimter Gerste wurde gelbes Darmmalz und Luftmalz verwendet. Die Glycerinauszüge beider gaben mit ätherhaltigem Alkohol flockige Niederschläge, deren Lösungen kräftige diastatische Wirkungen äusserten; unzweifelhaft peptonisirend wirkte aber sonderbarer Weise nur die von dem Darmmalze stammende Lösung, während jene aus Luftmalz aufgequollenes Fibrin so ungewöhnlich schwache Wirkung äusserte, dass ich die erlangten Resultate als positiv zu bezeichnen, Anstand nehme. Ueber den Grund dieses abweichenden Verhaltens vermag ich augenblicklich nichts auszusagen. Weitere Versuche werden vielleicht darüber Aufschluss geben.

Versuche mit Lupinensamen gaben durchaus negative Resultate, desgleichen solche mit *Secale cornutum*. Hr. Hermann Will ist gegenwärtig damit beschäftigt, Bohnen und Mandeln auf Fermente zu prüfen.

Erlangen, November 1875.

440. A. Kundt und E. Warburg: Erwiderung auf die Notiz des Hrn. Naumann in Heft 14, S. 1063.

(Eingegangen am 18. November; verl. in der Sitzung von Hrn. Oppenheim.)

Zu der citirten Notiz des Hrn. A. Naumann haben wir folgenden zu bemerken.

Hr. Naumann hat 1867¹⁾ eine empirische Regel aufgestellt, nach welcher das Verhältniss der beiden specifischen Wärmen eines Gases $k = \frac{n+5}{n+3}$ sein soll, wo n die Zahl der Atome im Molekül bedeutet.

Durch eine solche, aus experimentellen Daten hergeleitete Regel kann, wie uns scheint, nie der Grund eines Widerspruches zwischen der Erfahrung und einer mechanischen Theorie, wie sie Boltzmann²⁾ gegeben hat, nachgewiesen werden. Dazu wäre erforderlich entweder die Boltzmann's Theorie zu Grunde liegenden Hypothesen durch andere zu ersetzen oder in den Rechnungen desselben einen Fehler

¹⁾ Annalen der Chem. u. Pharm. Bd. 142, pag. 272.

²⁾ Berichte der Wiener Akad. 1871, Bd. 63. pag. 397—418.