

176. G. Woker und H. Maggi: Zur Frage der Diastase-modell-Eigenschaften des Formaldehyds.

(Eingegangen am 8. Mai 1919.)

In Nr. 3 und 4 der diesjährigen »Berichte« haben Jacoby, v. Kaufmann und Lewite, sowie Sallinger drei Arbeiten veröffentlicht, auf deren wesentliche Punkte wir uns gestatten, in einer einzigen Erwiderung zu antworten, da wir hierdurch zahlreiche Wiederholungen vermeiden und so vor allem der Forderung größtmöglicher Raumersparnis gerecht werden können.

Den von den genannten Autoren angeführten negativen Resultaten stellen wir hier zunächst den von unserer Seite beschriebenen Erscheinungskomplex gegenüber, der in seiner Gesamtheit so beschaffen ist, daß man sehr gespannt sein dürfte, wie derselbe anders als durch eine der Diastase prinzipiell vergleichbare Wirkung zu deuten wäre.

Bei der von H. Maggi befolgten Arbeitsweise zeigten frisch hergestellte Formalin-Stärke-Gemische:

1. einen positiven Ausfall der Moore-Hellerschen Reaktion (analoger Nachweis der Diastase nach Kübel¹⁾);
2. einen positiven Ausfall der Caramel-Probe bei Zusatz von konz. Schwefelsäure zu den nach Moore-Heller angesetzten Reaktionsgemischen;
3. einen positiven Ausfall der Rubnerschen Probe (modifiziert durch stundenlanges Kochen, das wegen der noch zu erwähnenden stark hemmenden Wirkung des Formaldehyds notwendig ist. Es kann eine Hemmungswirkung hier wie bei den Reduktionsproben auch an künstlichen Formaldehyd-Glucose- oder Formaldehyd-Maltose-Mischungen beobachtet werden);
4. Verflüssigung von Stärkekleister-Zylindern (z. B. in Mettschen Capillaren) analog der Diastase-Bestimmung von Walther²⁾, oder nach der auf dem gleichen Prinzip beruhenden Methode von Müller³⁾ mittels der Stärkekleister-Platten. Nach beendigter Wirkung wurden frisch in den Formaldehyd eingelegte Stärke-Capillaren nicht nur nicht schwächer — wie es bei einer Bindung der Fall sein müßte —, sondern sogar stärker angegriffen als die zuerst eingelegten Stärke-Röhrchen;
5. morphologische Veränderungen des Stärkekorns (Arrosionen, Sprünge, Auflösung, gerade so wie bei der Diastase-Wirkung) und

¹⁾ Kübel, Pflügers Archiv 76, 276 [1898].

²⁾ Walther, s. Pawlow, Arb. d. Verdauungsdrüsen (Wiesbaden 1903).

³⁾ Müller, Zentrbl. inner. Med. 1908, 386.

bei verschiedenen Stärkesorten des Handels (lösliche Stärke Kahlbaum, Weizen-, Reis-, Kartoffel- und Arrow-root-Stärke) dieselbe Stufenfolge der Angreifbarkeit, hier wie dort;

6. der der morphologischen Veränderung parallele Ausfall der Jodreaktion an dem mit Formaldehyd behandelten Stärkekorn;

7. eine Volumenabnahme der Stärke-Formaldehyd-Gemische, die größer ist als die durch Formaldehyd-Polymerisation veranlaßt;

8. niedrigere Anfangswerte der nämlichen Gemische gegenüber dem arithmetischen Mittelwert der Komponenten, Stärke und Formaldehyd, bei der Viscositätsbestimmung (nach Heß);

9. Isolierung in typischen gelben Rosetten kristallisierender Osazone (Schmp. 180—182°) sowohl direkt aus einer Anzahl mehrmals fraktioniert dialysierter Dialysate von Formaldehyd-Stärke-Gemischen, wie aus den ohne Temperaturerhöhung gewonnenen, durch längeres Stehen vom Formaldehyd befreiten Verdunstungsrückständen jener Dialysate. Die Verdunstungsrückstände wurden nach dem Aufnehmen in möglichst wenig Wasser mit der 10-fachen Menge 96-proz. Alkohols versetzt, der Niederschlag abfiltriert, das alkoholische Filtrat verdunstet und der Verdunstungsrückstand mit Natriumacetat und Phenylhydrazin-Chlorhydrat auf Osazone verarbeitet. Das aus den Verdunstungsrückständen in der angegebenen Weise gewonnene Osazon¹⁾ kann unter den in Betracht fallenden Körpern des Stärke-Formaldehydgemisches nur einem Zucker zugehören, da nur Zucker der Alkohol-Fällung entgehen und nach dem Verdunsten des alkoholischen Filtrats im Rückstand erscheinen kann. Für Zucker spricht:

10. der positive Ausfall der Gärprobe in der Lösung des erwähnten Verdunstungsrückstandes und in einzelnen fraktionierten Dialysaten selbst und

11. die im Gegensatz zu den stark gehemmten Reduktionswirkungen der Formaldehyd-Stärke-Reaktionsgemische selbst zum Teil sehr erhebliche Reduktionswirkung der erwähnten Rückstände und Dialysate.

Immerhin ist es H. Maggi trotz der erwähnten Hemmungswirkungen auch am unveränderten Formaldehyd-Stärke-Reaktionsgemisch selbst gelungen, eine stärkere Reduktionswirkung der Mischung gegenüber derjenigen ihrer Komponenten festzustellen. So z. B. an für sich allein nicht die geringste Reduktionswirkung zeigender Weizen-

¹⁾ Ein weiteres Osazon wurde nach Invertierung des mit Alkohol aus den Dialysaten gewonnenen Niederschlags erhalten und als Glykosazon identifiziert. Auf Grund der Jodreaktion haben wir den Niederschlag als Dextrin angesprochen, was mit Rücksicht auf die Behauptung v. Kaufmanns, es habe sich um Stärke gehandelt, hervorgehoben sei.

stärke, nachdem dieselbe während einiger Wochen mit Formaldehyd sich selbst in der Vertiefung eines Objektträgers überlassen und unter dem Mikroskop auf die erwähnten morphologischen Veränderungen untersucht worden war.

Versuch: 1 Tropfen des im mikroskopischen Bild wie beim Diastase-Versuch veränderten Formaldehyd-Stärke-Gemisches wurde in der Vertiefung des Objektträgers mit einem Tropfen zur Hälfte mit Wasser verdünnter Fehlingscher Lösung versetzt und über einer kleinen Flamme aufgeköcht. Hierbei bildete sich sofort eine gelbe Zone (an der Flüssigkeitsoberfläche) aus, während unter den gleichen Bedingungen die Lösung der Weizenstärke allein gar keine und der Formaldehyd nur eine schwache, erst nach dem Verdünnen und mehrmaligen Aufkochen deutliche Reduktionswirkung erkennen ließ.

Die starken Reduktionseffekte entsprechender Diastase-Proben wurden bei diesem und analogen Versuchen wegen der Hemmungswirkung des Formaldehyds nie erreicht; doch konnte umgekehrt von H. Maggi gezeigt werden, daß sich einem stark reduzierenden Diastase-Stärke-Gemisch ein Teil seiner Reduktionskraft durch Beimischung des den Zucker in eine maskierte Form überführenden Formaldehyds nehmen läßt.

In homogenen Stärkelösungen dagegen gelingt der Nachweis einer stärkeren Reduktion des Formaldehyd-Stärke-Gemisches gegenüber dem Fehlingschen Reagens nur bei rascher Anstellung der Reduktionsprobe am frisch hergestellten Gemisch, wie dies der folgende, nach der Versuchsanordnung der Diastase-Bestimmung von Lintner angesetzte Versuch von H. Maggi beweist:

Versuch: Je 2 Gläschen wurden mit 1 ccm unverdünntem Formalin (40-proz.), je 2 mit 1 ccm 20-proz., je 2 mit 1 ccm 10-proz. Formalin und je 2 mit 1 ccm Wasser beschickt. Dann erhielt die eine Gläschenserie einen Zusatz von je 1 ccm 2-proz. löslicher Stärke, die andere statt dessen einen gleich großen Wasserzusatz. Als Stärkekontrolle diente ein Gläschen, das 1 ccm Wasser und 1 ccm der 2-proz. Stärkelösung enthält. Sämtliche Gläschen erhielten nunmehr einen Zusatz von je $\frac{1}{10}$ ccm Fehlingscher Lösung I und wegen der Acidität des Formalins $\frac{2}{10}$ ccm Fehlingscher Lösung II und kamen gleichzeitig in ein kochendes Wasserbad. Nach 1—2 Minuten ergab sich im auffallenden Licht folgendes Bild:

- Formalin 40-proz. + Stärke: gelb mit grünblauem Reflex, kein Bodenkörper,
- » 40-proz. + Wasser: Flüssigkeit durchsichtig blau, wenig noch nicht abgesetzter Niederschlag,
 - » 20-proz. + Stärke: gelb, blauer Reflex, bedeutend schwächer als bei 40-proz. Formalin + Stärke,
 - » 20-proz. + Wasser: blau, schwach gelbliche Trübung, viel geringer als bei Formalin 40-proz.,
 - » 10-proz. + Stärke: im auffallenden Licht fast rein gelb, undurchsichtig,
 - » 10-proz. + Wasser: blau, Trübung sehr gering, ungefähr wie bei Formalin 20-proz.,

Stärke (Fehling)-Kontrolle: durchscheinend blau, etwas rötlicher Niederschlag,

Wasser (Fehling)-Kontrolle rein blau.

Nach weiteren 5 Minuten Aufenthalt im kochenden Wasserbad:

Formalin 40-proz. + Stärke: gelb mit etwas grünlichem Reflex, viel gelber Bodenkörper,

» 40-proz. + Wasser: Flüssigkeit durchsichtig blau, gelber Bodenkörper; nach dem Umschütteln ziemlich undurchsichtig, aber bedeutend weniger als beim Formalin-Stärke-Gemisch,

» 20-proz. + Stärke: gelb, blauer Reflex, aber schwächer als bei Formalin 40-proz. + Stärke (undurchsichtig),

» 20-proz. + Wasser: fast rein blau und durchsichtig, nur Spuren eines gelblichen Niederschlags,

» 10-proz. + Stärke: vollständig undurchsichtig, rein gelb,

» 10-proz. + Wasser: wie nach 2 Minuten

Stärke (Fehling)-Kontrolle: durchscheinend bläulich, etwas rötlicher Niederschlag, wie nach 2 Minuten,

Wasser (Fehling)-Kontrolle: wie nach 2 Minuten.

Trotzdem dem positiven Resultat der letztgenannten Reduktionsversuche negative Ergebnisse anderer Autoren gegenüberstehen, kann es sich für uns, die wir so und so oft im Verlauf der Arbeit von H. Maggi, wie bei den Vorversuchen die vorhin erwähnten Kriterien einer Stärkespaltung bei Einwirkung des Formaldehyds vor Augen hatten, nicht darum handeln, diese jederzeit demonstrierbaren Tatsachen zu diskutieren, sondern lediglich darum, den Ursachen der abweichenden Resultate nachzugehen und die Stichhaltigkeit der vermeintlichen Gegenbeweise zu prüfen, die im Höchsthalle doch nichts anderes aussagen würden, als daß unter abweichenden Versuchsbedingungen einzelne Kriterien einer diastatischen Stärkespaltung nicht wahrgenommen werden konnten.

In Bezug auf die Ursache der abweichenden Resultate — die Versuchsbedingungen — ist außer der bei den meisten Autoren andern Reaktion des Mediums (neutraler Formaldehyd), für welche wir keine Erfahrungen über eine tiefgreifende Spaltung besitzen, und die daher schon aus diesem Grunde außer Diskussion fallen würden, und die häufig angewandte erhöhte Temperatur¹⁾ in erster Linie die lange Reaktionszeit zu erwähnen, die irrtümlicherweise von allen den genannten Autoren als besonders günstig vorausgesetzt wird, trotz der von der Einen von uns schon im ersten Bericht über die Vor-

¹⁾ Es genügt, auf die Stärkerückbildung aus Erythro-dextrin beim bloßen Erhitzen zu verweisen. (s. Reichert, A reversion of the starch-dextrin reaction. Univ. Pennsylvania Medic. Bull. 23, 57 [1910].)

versuche¹⁾ erwähnten Reaktionsdauer von $\frac{1}{2}$ Std. und der in der 1. Erwiderung an v. Kaufmann²⁾ ausdrücklich betonten Schwierigkeiten, die dem Nachweis der aus Stärke entstehenden reduzierenden Substanz besonders ausgeprägt in gestandenen Stärke-Formaldehyd-Gemischen erwachsen. Hierfür bieten eine neue Illustration der positive und der negative Ausfall der Reduktionsprobe, den einerseits H. Maggi, l. c. andererseits H. Sallinger nach der Methode von Lintner erhielt, wobei der Unterschied darin bestand, daß im ersteren Fall die Fehling'sche Lösung sofort nach der Beschickung der Gläserreihe mit Stärke und Formaldehyd zugefügt und zum Kochen erhitzt wurde, während im andern Fall eine 12-stündige Digestion des Stärke-Formaldehyd-Gemisches vorausging.

Ursache dieser und analoger Hemmungswirkungen des Formaldehyds bei andern Prüfungsmethoden auf Stärke-Spaltprodukte sind:

a) Die Bindung von Formaldehyd an die Spaltprodukte, insbesondere Zucker, wodurch diese in die schon erwähnte maskierte Form übergehen, in der sie dem Nachweis entgehen können³⁾;

b) die Bildung von schwer oder gar nicht weiter angreifbaren Produkten resynthetischer Prozesse im Reaktionsgemisch — der nicht reduzierenden »Reversionsdextrine«⁴⁾ —, dadurch bedingt, daß die das Glykose-Molekül enthaltenden Stärke Spaltprodukte dessen z. B. in der optischen Eigenschaft der Multirotation sich äußernde Fähigkeit der Isomerisation in sich tragen. Bei der beständig neben der Spaltungsreaktion einhergehenden Resynthese vollzieht sich daher diese letztere zum großen Teil am umgelagerten Produkt, ähnlich wie bei der Maltase-Einwirkung auf das tiefste diastatische Spaltprodukt der Stärke — die Maltose — Emmerling⁵⁾ die Reversion zu der schwer angreifbaren Isomaltose festgestellt hat. Je länger Formaldehyd und Stärke aufeinander einwirken, desto mehr verschiebt sich das Gleichgewicht zuungunsten der Spaltungsreaktion; denn spaltbar sind nur das ursprüngliche Produkt und die primär aus ihm hervorgehenden Derivate, nicht aber die Isomeren und deren Kondensationsprodukte.

¹⁾ B. 49, 2313 [1916]. ²⁾ B. 50, 687, 688 [1917].

³⁾ Durch maskierten Zucker, der der Reaktion mit dem Cuprisalz entgangen ist, würde sich z. B. die von einem der Autoren beschriebene »eher« stärkere Blaufärbung der Formaldehyd-Stärke-Proben gegenüber der Kontrolle im Lintnerschen Colorimeter erklären, da Zucker bekanntlich mit Kupfersalzen intensiv blau gefärbte Verbindungen liefert.

⁴⁾ Wohl, B. 23, 2084 [1890]; Wohl und Glimm, Bio. Z. 27, 349 [1910], Grimaux und Lefèvre, C. r. 103, 146; König, Untersuchung landwirtsch. und gewerbl. wichtiger Stoffe, S. 281 [1911].

⁵⁾ Emmerling, B. 34, 600, 2206 [1901].

Es erfährt also das System mit der Zeit eine Zunahme der unspaltbaren, nicht reduzierenden Moleküle auf Kosten der spaltbaren, und aus zunächst gebildeten reduzierenden Produkten bilden sich nicht reduzierende, mit Alkohol fällbare Reversions-Dextrine zurück.

Hierdurch erklärt sich das von verschiedenen Autoren beobachtete Fehlen der Reduktionswirkung an gestandenen Formaldehyd-Stärke-Lösungen, während das System gegenüber Jod typische Dextrin-Färbungen zeigt. Denn die Farbenreaktion mit Jod kommt Dextrinen und Reversions-Dextrinen zu, während die Reduktionswirkung den letzteren abgeht.

Hierdurch erklärt sich ferner, daß nach der Alkohol-Fällung gestandener Stärke-Formaldehyd-Gemische die erhaltene Niederschlagsmenge der Menge der ursprünglich vorhandenen Stärke entspricht. Da die genannten Autoren, wie auch (bei einem durch Phenylhydrazin-Zusatz variierten Versuch) Wohlgemut¹⁾ unter Fällungsbedingungen arbeiten, bei denen auch die einfachsten Dextrine und Reversions-Dextrine quantitativ ausgefällt werden, so läßt sich aus der fehlenden Gewichtsabnahme nichts anderes folgern, als daß im Moment der Prüfung der Reaktionsgemische keine über die Dextrinstufe hinausgehenden Abbauprodukte mehr vorhanden waren.²⁾ Da die Stärkespaltung mit einer Fixierung von Wasser einhergeht, ließe sich im Gegenteil eine geringe Zunahme der Niederschlagsmenge erwarten, und in der Tat fällt es auf, daß die Mehrzahl der einschlägigen Formaldehyd-Stärke-Versuche eine solche geringe Zunahme gegenüber der Stärke-Wasser-Kontrolle aufweist.

Nun geben aber die Autoren an, daß der Niederschlag mit Jod unter Blaufärbung reagiert, und schließen hieraus auf die Abwesenheit von Dextrinen. Dieser Schluß ist um so weniger berechtigt, als die Autoren die Jodmenge nicht variieren³⁾. Eine Blaufärbung mit dem ersten zugesetzten Tropfen Jod-Jodkalium Lösung* können sowohl reine Stärkelösungen wie Stärke-Erythro-dextrin-Gemische zeigen, wie die Versuche an künstlichen Mischungen von Stärke und Handelsdextrin

¹⁾ Wohlgemut, Bio. Z. 94, 219 [1919].

²⁾ Wegen der neutralen Reaktion muß es dahingestellt bleiben, ob tiefere Abbauprodukte zu Anfang vorhanden waren und revertiert worden sind.

³⁾ Auch gegenüber der Untersuchung der Stärke-Formaldehyd-Lösungen mittels der Jodreaktion muß dieser Einwand erhoben werden. Die Autoren stellen in jedem Fall auf unsere ersten Vorversuche nach der Wohlgemutsehen Methode ab, obschon wir auch hier betont haben, daß wir wegen der Abhängigkeit der Resultate von der Jodmenge diese Methode verlassen und alle späteren Versuche nach der von Sahli empfohlenen Methode, die eine Variierung der Jodmenge in sich schließt, ausgeführt haben.

ergeben, und wie sich dies auch für natürliche Stärke-Dextrin-Gemische in der Literatur¹⁾ beschrieben findet.

Von einigen Autoren ist ferner als Beweis für ihre Annahme einer Formaldehyd-Stärke-Verbindung die Blaufärbung solcher Jod enthaltender Systeme beim bloßen Verdünnen mit Wasser herangezogen worden. Sie betrachten dementsprechend die Blaufärbung als eine Folge der Regeneration von Stärke durch Hydrolyse der Stärke-Formaldehyd-Verbindung. Sie lassen dabei aber außer acht, daß eine Verbindung von der vermuteten großen hydrolytischen Spaltbarkeit auch in konzentrierten wäßrigen Lösungen soviel freie Stärke enthalten müßte, um die empfindliche Jod-Stärke-Reaktion zu geben. Daß in Gegenwart von Formaldehyd die Stärke eine andere Farbenreaktion als die rein blaue gibt, wäre also nicht zu erklären.

Im Sinne der Annahme einer diastatischen Wirkung des Formaldehyds erklärt sich dagegen der Farbwechsel beim Verdünnen aus der Verteilung des Jods in Stärke-Dextrin-Gemischen und der Änderung dieser Verteilung bei Wasserzusatz²⁾.

Die erwähnten Autoren haben ihren Hydrolyse-Versuch in mannigfacher Weise variiert, indem sie gefunden haben, daß ganz verschiedenartige Säuren, Basen und Salze einen beschleunigenden Einfluß auf das Auftreten der Blaufärbung ausüben. Die Verschiedenartigkeit der verwendeten Zusätze (die zum Teil nahezu vollständig, zum Teil überhaupt nicht hydrolytisch gespalten sind) ließe eine ungleichsinnige Beeinflussung des in Frage kommenden hydrolytischen Vorgangs erwarten, während die erwähnten Elektrolyt-Zusätze alle mehr oder weniger stark die Blaufärbung beschleunigen.

¹⁾ So schreibt Zuntz im Abschnitt: Methoden zur Untersuchung der Verdauungsprodukte in Abderhaldens Handbuch der Biochem. Arbeitsmethoden (Bd. 3, I. Hälfte [1910], S. 217): »Die Jodreaktion ergibt, selbst bei Anwendung einer sehr verdünnten Jod-Jodkalium-Lösung nicht immer völlig sichere Ergebnisse« »Falls viel Amylo dextrin und nur wenig Erythro-dextrin im Verdauungsgemisch vorhanden ist, so erhält man eine blaue Reaktion.«

²⁾ Die Jod-Stärke-Reaktion wird bekanntlich durch die Gegenwart der Achroo-dextrine verhindert, weil diese ein stärkeres Bindungsvermögen für Jod besitzen, als die Stärke. Setzen wir nun durch Verdünnung die Konzentration der Achroo-dextrine herab, so vermindern wir damit die Chancen für das Zustandekommen der eigenfarblosen Achroo-dextrin-Jod-Verbindung, und bei hinreichender Verdünnung wird die Bildungsgeschwindigkeit der Jod-Achroo-dextrin-Verbindung so gering, daß den wohl nahezu immer in Formaldehyd-Stärke-Reaktionsemischen noch vorhandenen unveränderten Stärke-Molekülen Zeit bleibt, einen Teil des dem System zugesetzten und vom Achroo-dextrin nur unvollständig gebundenen Jods unter Bildung der blauen Jodstärke zu fixieren.

Diese Versuche sprechen daher, so interessant sie an und für sich sind, eher gegen als für die Annahme der hydrolytischen Spaltung einer vermuteten Stärke-Formaldehyd-Verbindung.

Weiter ist angegeben worden, daß Diastase-Stärke-Gemische im Gegensatz zu Formaldehyd-Stärke-Gemischen eine Blaufärbung durch die erwähnten Zusätze, z. B. Ammoniumacetat, nicht zu geben vermögen. Diese Angabe ist nur dann zutreffend, wenn die Diastase — deren viel stärkere und nahezu ungehemmte Einwirkung auf die Stärke von uns niemals bestritten worden ist — schon alle Stärke verzuckert oder weitgehend dextrinisiert hat, während im Formaldehyd-Stärke-Gemisch noch unveränderte Stärke enthalten ist. Es fehlt dann eben im Diastase-Versuch die Voraussetzung jeder derartigen Blaufärbung — die Stärke. Diastase-Stärke-Gemische können daher mit Formaldehyd-Stärke-Gemischen nur dann verglichen werden, wenn sie noch unveränderte Stärke enthalten. Dies ist z. B. der Fall bei mit Pilzkulturen durchsetzten Stärkelösungen, welche infolge der diastatischen Wirkung der Pilze mit gewöhnlichen Jod-Jodkalium-Lösungen nur noch unter Rot-Rotbraun-Färbung reagieren. An solchen Lösungen hat Skrabal¹⁾ gezeigt, daß sich durch bestimmte Zusätze (J , $Na_2S_2O_3$, Na_2CO_3 , $NaC_2H_3O_2$ (Natriumacetat), Na_2SO_4 u. s. w.) eine tiefe Blaufärbung erzielen läßt, wenn JOH dem Reaktionsgemisch zugesetzt oder darin vorhanden, was im Formaldehyd-Stärke-Jod-System immer der Fall ist²⁾.

Da zu diesen die Bläuung beschleunigenden Zusätzen von den Autoren angeführte Salze, wie Acetate und Sulfate, gehören, so ist damit von ihnen selbst ein weiteres Argument für die prinzipielle Analogie der Formaldehyd- und der Diastase-Wirkung erbracht und zugleich ein Beitrag geliefert worden³⁾ zu der schon von Schönbein⁴⁾

¹⁾ Skrabal, Ch.-Z. 29, 550 [1905]; Sitzungsber. d. K. Akad. d. Wiss. Wien, Abt. IIb, 116, 275 [1907].

²⁾ Bei stärkeren JOH-Konzentrationen kann das Vorhandensein der unterjodigen Säure am deutlichen Jodoform-Geruch der mit Jod versetzten Stärke-Formaldehyd-Reaktionsgemische wahrgenommen werden.

³⁾ Ganz allgemein wirken alle Faktoren, die die Bildung und Zersetzung der JOH im Reaktionsgemisch — unter Freiwerden von Jod im status nascens — begünstigen, beschleunigend auf die Blaufärbung des Systems, indem sie durch Steigerung der Empfindlichkeit der Jod-Stärke-Reaktion das Farbenbild in Stärke-Dextrin-Jod-Gemischen zugunsten der Jod-Stärke-Reaktion verschieben. Neben resynthetischen Prozessen (s. Reichert l. c.) mag dieser Faktor auch bei der Blaufärbung von Stärke-Formaldehyd-Jod-Gemischen beim Erhitzen beteiligt sein.

⁴⁾ Schönbein, Fr. 2, 398 [1863].

und Goppelsröder¹⁾, später von Mylius²⁾ Meineke³⁾, Skrabal⁴⁾ und Washburn⁵⁾ studierten Beeinflussung der Empfindlichkeit der Jod-Stärke-Reaktion durch Natriumsulfat, Kalialaun, Ammoniumsulfat und andere Zusätze.

Endlich wurde behauptet, daß überschüssiger Jodzusatz in Diastase-Stärke-Gemischen im Gegensatz zum Stärke-Formaldehyd-Gemisch keine Nachbläuung hervorrufe. Dies ist nicht richtig. Eine Nachbläuung findet eben auch hier nur dann nicht statt, wenn die Diastase-Wirkung so weit vorgeschritten ist, daß überhaupt keine Stärke mehr vorhanden ist, die sich rückbläuen könnte. Die von Sahli⁶⁾ empfohlene Methode der Diastase-Bestimmung im Magensaft beruht ja eben gerade auf dieser Rückbläuung mit steigenden Jodzusätzen, welche letztere in dem Moment auftritt, wo die Achroo-dextrine durch Jod abgesättigt und freies Jod zur Färbung der Stärke vorhanden ist⁷⁾.

Was zum Schluß das Fehlen einer irgendwie erheblichen polarimetrischen Veränderung betrifft, welche auch H. Maggi⁸⁾ konstatiert hat, so läßt sich dies entweder dadurch erklären, daß unter den betreffenden Versuchsbedingungen (neutrale Reaktion) die Spaltung nicht über die Dextrinstufe hinausgeht und nur schwach ausgeprägt ist, so daß eine polarimetrische Änderung zu minim ist, um wahrgenommen zu werden⁹⁾, oder aber beim Arbeiten mit schwach saurem Formalin dadurch, daß unter dem Einfluß der die Birotation sehr stark beschleunigenden Wasserstoff-Ionen die maximale Drehungsabnahme schon in dem Zeitintervall erreicht war, das zwischen der Beschickung des Polarimeterrohrs mit dem Reaktionsgemisch und der 1. Beobachtung notwendigerweise verstreicht.

Daß Säuren und Basen diesen Einfluß auf die Birotation bzw. auf die derselben zugrunde liegende Isomerisation des Stärkemoleküls

¹⁾ Goppelsröder, Pogg. Ann. 119, 57 [1863].

²⁾ Mylius, B. 20, 688 [1887]. ³⁾ Meineke, Ch.-Z. 18, 157 [1894].

⁴⁾ Skrabal, Sitzungsber. d. K. Akad. d. Wiss. Wien, Abt. IIb., 120, 635 [1911]; 123, 247, 248 [1914].

⁵⁾ Washburn, Am. Soc. 30, 31 [1908].

⁶⁾ Sahli, Lehrb. d. klin. Untersuchungsmethoden, 6. Aufl., I. Bd., S. 588 [1913].

⁷⁾ So sagt Sahli (l. c.): »Eine Mischung von Stärke und Achroo-dextrin gibt deshalb mit Spuren von Jodlösung keine Färbung, dagegen tritt die violette Färbung sofort auf, wenn man einen Überschuß von Jod zusetzt.«

⁸⁾ H. Maggi, s. Fermentforschung [1919].

⁹⁾ Da die Direktpolarisation der Stärke schon irgendwie aufgeschlossenes, also nach der Auffassung von Lintner, der jede Stärkelösung schon als eine Aufspaltung betrachtet hat, dextrinisiertes Material voraussetzt, würde es sich nur um die geringen Differenzen innerhalb der Dextrine handeln.

und seiner Spaltprodukte besitzen, mag auch die Ursache für das Versagen der echten Diastase-Wirkungen im alkalischen und im stärker sauren Medium sein, ein Versagen, das man im allgemeinen einer Schädigung der Diastase zuschreibt, während es vielleicht richtiger wäre, dasselbe hier wie beim Formaldehyd — der auch nach Überschreitung des Wasserstoffionen-Optimums mit zunehmender Acidität zunehmende Hemmung seiner Wirkung zeigt — auf die Änderungen (Isomerisation) des Substrates zurückzuführen.

Um die stark ausgeprägten Hemmungswirkungen infolge Isomerisation, Resynthese, Reversion und Bindung an die Spaltprodukte, welche der Formaldehyd-Wirkung eigentümlich sind, aus ihrer Isolierung herauszubeheben, haben wir uns gefragt, ob analoge Erscheinungen eines stark gehemmten Reaktionsverlaufes im Bereich der echten fermentativen Wirkungen zu verzeichnen sind? Dies ist in der Tat der Fall. Es gibt ein, allerdings eiweißspaltendes Ferment, das sich im Prinzip gerade so verhält wie der Formaldehyd gegenüber der Stärke: es ist das Papain, dessen Wirkung von einem der Autoren, welche die Diastase-Modell-Eigenschaften des Formaldehyds bestritten haben¹⁾, folgendermaßen beschrieben worden ist:

. . . es »nimmt mit Zunahme der Digestionsdauer die Menge des koagulablen Eiweißes zu. Werden die Proben nicht erhitzt, vielmehr das Eiweiß durch Alkohol oder mit Trichlor-essigsäure am Schluß des Versuches ausgefällt, so wird dieselbe Eiweißmenge gefunden wie in den Kontrollversuchen, in denen die Fermentwirkung ausgeschaltet war.« Trotzdem unter den erwähnten ungünstigen Versuchsbedingungen, gerade so wie bei der Formaldehyd-Stärke-Reaktion eine Spaltung des Eiweißes durch das Papain nicht vorhanden oder wieder rückgängig gemacht worden ist, wird doch niemand die eiweißspaltenden Wirkungen dieses Enzyms in Abrede stellen.

Vielleicht ist die Analogie zum Papain auch noch weitergehend. Schon in ihrer Vorpublikation hat die Eine von uns auf den möglicherweise allgemeineren Charakter der intermediären Hydratbildung aldehydischer Fermente bei fermentativen Hydrolysen hingewiesen und gelegentlich an anderer Stelle bemerkt, daß trotz der sehr großen Schwierigkeiten, die dem Nachweis eventueller eiweißspaltender Fähigkeiten des Formaldehyds infolge der sehr rasch verlaufenden Simultanreaktion mit den Aminogruppen des Eiweißmoleküls entgegenstehen, gewisse Anzeichen vorhanden sind, die auf eine solche Fähigkeit hindeuten, so die Aufhellung trüber Ricinlösungen nach der schönen

¹⁾ Jacoby, die Fermente des Eiweiß-Stoffwechsels etc. in Abderhaldens Handbuch der Biochemischen Arbeitsmethoden, 3. Bd., 1. Hälfte [1910], S. 417 u. 418.

Jacobyschen Methode der Pepsin-Bestimmung, — eine Aufhellung, die auch an konzentrierten Witte-Pepton-Lösungen und wohl noch andern Eiweißlösungen festgestellt werden kann —; die gegenüber den gleich viel Salzsäure enthaltenden Salzsäure-Kontrollen stärkere Lösung von Carmin-fibrin (in etwa 10-mal so starker HCl-Konzentration, als sie für die Pepsin-Bestimmung im Magensaft nach der Grütznerschen Methode angewendet wird) durch konzentrierte Formalinlösungen und die bisweilen beobachtete etwas tiefere Delle, welche auf weich gekochten Eiweißplatten durch Gemische von 1 Tropfen bezw. $\frac{1}{10}$ ccm *n*-HCl + 1 Tropfen bezw. $\frac{1}{10}$ ccm Formalin, gegenüber 1 Tropfen resp. $\frac{1}{10}$ ccm *n*-HCl + 1 Tropfen resp. $\frac{1}{10}$ ccm Wasser hervorgerufen werden. Was die Analogie dieser sehr schwachen und wegen der Wechselwirkung mit den Aminogruppen des Eiweißes nur bei einigen wenigen Methoden verfolgbaren Einwirkung des Formaldehyds auf Eiweiß (die aus diesem Grunde nur beiläufig und mit allem Vorbehalt erwähnt sein sollen) mit der Papain- oder Papayotin-Wirkung in ein besonderes Licht rückt, ist das Verhalten gegenüber nativen Eiweißlösungen beim raschen Aufkochen und sofortiger Anstellung der Biuret-Reaktion. Die Gegenwart von Papayotin gibt sich hierbei durch den roten Ausfall der Biuret-Probe zu erkennen. Aber auch ein im Moment des Aufkochens (das sofort nach der Mischung möglichst rasch vorgenommen werden muß) mit Alkali und Kupfersulfat-Lösung gleichzeitig versetztes hältiges Gemisch von Hühner-Eiweiß-Lösung oder Blutserum und Formalin gibt häufig eine rötliche Färbung der Lösung, während die Kontrollen mit derselben Menge Alkali allein unter den gleichen Bedingungen rotviolett, violett oder blauviolett gefärbt erschienen. Nichtsdestoweniger kann nicht nachdrücklich genug die Notwendigkeit weit eingehenderer Versuchsserien betont werden, da eine noch raschere Ausführung aller Operationen als beim Papayotin-Nachweis erforderlich ist, und man daran denken kann, daß der Unterschied im Eiweißgehalt, wie ihn die Reaktion des Formaldehyds mit den Aminogruppen des Eiweißes mit sich bringt, wobei das Eiweiß teilweise ausfällt, für die Nuancenänderung in Betracht zu ziehen ist.

Institut f. physik.-chem. Biologie der Universität Bern.