

Malz-Diastase im Ultrafiltrationsapparat festgestellt war. Die Grenzen der Seitenzellen gegen die Elektrodenräume dagegen bestanden wieder aus den für Diastase undurchlässigen 12-proz. Eisessig-Kolloidum-Membranen.

Nach Füllung aller Räume bis auf den mit Fermentlösung beschickten Mittelraum mit destilliertem Wasser wurde 22 Volt Klemmenspannung angelegt. Nach etwa 5 Tagen hatte sich der Stoff folgendermaßen auf die 3 mittleren Zellen verteilt: 39% waren in der Mittelzelle geblieben, 32% in die der Anode benachbarte Zelle gewandert und nur 16% in die der Kathode benachbarte. Die restlichen etwa 13% saßen in der Membranfeuchtigkeit oder adsorptiv in den Membranen oder in den Elektrodenräumen. Die Aktivität des Stoffes in der Mittelzelle war von 2.4 auf 0.8 gesunken (bezogen auf die Stärke-Abbaugeschwindigkeit des Ausgangspräparates = 1 vergl. oben). Das anodisch gewanderte Material zeigte überhaupt keine Aktivität. Dagegen handelte es sich bei den 16% kathodisch gewandelter Substanz um eine hoch-reine Diastase, deren Aktivität 4.6 (gegen das Ausgangspräparat = 1) betrug.

Auch bei diesem reinsten Präparat waren die Eiweiß-Reaktionen bis auf schwache Millonsche Reaktion negativ, die Molischsche Reaktion auf Kohlenhydrate sehr stark positiv⁶). Die Verbrennung ergab: 56.4% C, 7.9% H, 3.28% N.

Versuche, die elektroosmotische Reinigung mit 220 Volt Klemmenspannung vorzunehmen, schlugen fehl, indem sich hierbei lediglich die Aktivität in der Mittelzelle verringerte, in keiner anderen Zelle aber Aktivität auftrat⁷). Es ist anzunehmen, daß bei dem hier in den Membranen vorhandenen hohen Spannungsgefälle (hoher Widerstand der Membranen, das Ferment beim Durchwandern evtl. als guter Depolarisator durch eine Art Elektrostenolyse zerstört wurde. Durch Adsorption an den Membranen traten ebenfalls stets Verluste auf.

Die Versuche werden sowohl für Malz-Diastase, als auch für andere Fermente fortgesetzt. Hefe-Autolysat erfuhr z. B. schon bei der ersten Reinigung Vervierfachung der Invertin-Aktivität bei Verschwinden der Eiweiß-Reaktionen bis auf schwache Xanthoprotein-Reaktion (Versuche von Fr. E. Hofmeister).

Münster i. W., den 10. Dezember 1923.

55. R. Fricke und P. Kaja¹): Über Inhomogenität und sonstige Eigenschaften von Malz-Diastase.

[Aus d. Chem. Institut d. Universität Münster i. W.]

(Eingegangen am 14. Dezember 1923.)

Nach Eulers auf Grund der bisherigen Literaturangaben wohl begründeter Auffassung²) besteht die Malz-Diastase aus mindestens 2 verschiedenen Komponenten, einer stärke-verflüssigenden und einer die verflüssigte Stärke bis zur Maltose abbauenden. Die bisherige Wahrscheinlichkeit dieser Auffassung mußte zur Gewißheit werden, wenn man die Unabhängigkeit dieser 2 Wirkungen der Diastase voneinander unzweideutig nachweisen konnte.

⁶ Dies steht in Übereinstimmung mit einem Befund von Fränkel und Hamburg, Hofm. Beitr. 8, 389 [1906].

⁷ vergl. ähnliche Beobachtungen von Fränkel und Hamburg, l. c., bei 110 Volt Klemmenspannung.

¹ Dissertat., Münster i. W. 1923.

² Euler, Chemie der Enzyme II 1, S. 116 ff. [1922]; vergl. auch U. Olsson, H. 126, 29 [1922].

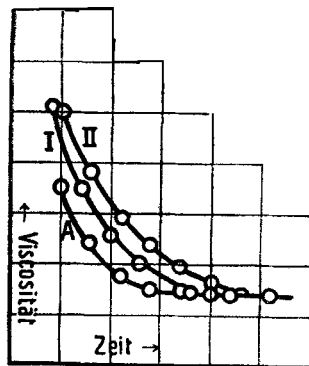
Es wurde im Interesse dieser Frage von uns untersucht, ob die Aktivitäten der in der voranstehenden Arbeit geschilderten 3 Reinheitsgrade von Malz-Diastase sich mit zunehmender Reinheit für verschiedene Funktionen der Diastase in gleichem Maße erhöhten oder nicht.

Zu diesem Zwecke wurde zunächst diejenige Anzahl ccm von verd. Fermentlösungen des Ausgangspräparates und der ersten Reinigung festgestellt, welche im gleichen Gesamtvolumen (Auffüllung mit destilliertem Wasser) 5 ccm einer 1-proz. Stärkelösung in derselben Zeit bis zum vollkommenen Verschwinden einer Jodreaktion abbaute, wie 5 ccm einer 0.15-proz. Lösung der zweiten Reinigung. Es wurden also so 3 Lösungsvolumina bestimmt, die mit verschieden reiner Diastase die gleiche Aktivität bzgl. der Bildung von Achroodextrin aus Stärke enthielten.

Nun wurde untersucht, ob die so festgestellten 3 Lösungsvolumina mit gleicher Aktivität bzgl. der Bildung von Achroodextrin aus Stärke auch gleiche Aktivität bzgl. des Gesamtprozesses der Dextrin- und Maltose-Bildung aus Stärke enthielten. Zu diesem Zwecke wurden die 3 Vergleichsvolumina mit destilliertem Wasser auf je 5 ccm aufgefüllt und mit je 5 ccm 1-proz. Stärkelösung gemischt. Nach 30 Min., der halben Zeit, die in einem solchen Versuchsansatz zum Verschwinden der Jodreaktion erforderlich war, wurden die 3 Reaktionen unterbrochen durch Zugabe von je 0.7 g fein gepulvertem $Ba(OH)_2$ unter lebhaftem Umschwenken in geschlossenem Gefäß. Durch die Zugabe von $Ba(OH)_2$ wurde außerdem erreicht, daß die im Moment des Zugebens noch in der Lösung vorhandene Stärke und hochmolekulare Dextrine ausfielen. Nach weiteren 15 Min. wurde vom Bodenkörper abfiltriert und die Lösungen polarimetrisch im Dezimeterrohr untersucht. Die Drehung lag in allen 3 Fällen zwischen $37'$ und $38.5'$ bei einer Fehlergrenze von $2'$. Die Versuchstemperatur war 23° .

Mit der verwandten, allerdings nicht sehr empfindlichen Methode war also eine Verschiebung des Aktivitätsverhältnisses der dextrin- und der maltose-bildenden Funktion der Diastase bei der Reinigung nicht nachzuweisen.

In analoger Weise, d. h. unter vollkommen vergleichbaren Verhältnissen angestellte Versuche über die kartoffelstärke-verflüssigende Wirkung der 3 Vergleichsvolumina durch Viscositätsmessungen in Abhängigkeit von der Zeit deuteten dagegen auf ein mit zunehmender Reinigung relativ zur übrigen Aktivität abnehmendes Verflüssigungsvermögen hin, so daß als der Träger letzterer Eigenschaft in Übereinstimmung mit Eulers Ansicht (s. o.) ein besonderer abtrennbarer oder zerstörbarer Bestandteil des Fermentes in Frage kommt. Die betreffenden Kurven sind in der Figur wiedergegeben. Hier sind in Richtung der Ordinate die Viscositäten der Stärkelösung bei 25° , in Richtung der Abszisse die Zeiten^{2a)} angegeben. A bedeutet die Kurve des Ausgangspräparates, I die der ersten und II die der zweiten Reinigung.



^{2a)} d. h. die Zeiten nach dem Mischen der auf 25° vorgewärmten Stärke- und Ferment-Lösungen.

Weitere Eigenschaften der Malz-Diastase.

Bei Ultrafiltrationsversuchen erwies sich die Malz-Diastase als sehr feinteilig, indem nur die dichtesten de Haenschen, Bechhold-oder Acetyl-cellulose-Filter³⁾ das Präparat vollkommen zurückhielten. Die Ultrafilter aus Kolloidium, vor allem weiterporige, pflegten größere Mengen Ferment zu adsorbieren. Die adsorbierten Mengen konnten durch Trocknen des Filters mit 40° warmer Luft und nachfolgendes Auswaschen mit Wasser größtenteils zurückgewonnen werden. Zusatz der verschiedensten Neutralsalze und Salzgemische in den verschiedensten, auch sehr verdünnten Konzentrationen zu den Lösungen des Ausgangs-Fermentes und der gereinigten Fermente vermochte die Aktivität für die verwandte Prüfungsmethode (Jodreaktion) nicht merklich zu steigern, auch z. B. nicht Zusatz von wäßrigem Fermentaschen-Auszug zur Lösung des reinsten Präparates. Auch Schädigungen wurden dadurch nicht beobachtet.

Die aus den Ergebnissen der voranstehenden Abhandlung hervorgehende Unwichtigkeit des in der rohen Malz-Diastase vorhandenen Eiweißes für die diastatische Wirkung konnte auch noch durch andere Versuche erhärtet werden. So griff Trypsin in vorschriftsmäßig schwach soda-alkalischer Lösung das Ferment auch bei tagelanger Einwirkung bei 30° nicht an, indem nach Neutralisation gegen Methylorange die Lösung stets wieder die ursprüngliche Aktivität gegen Stärke zeigte. Zusatz geringer Mengen Uranylacetat, welches als Diastase-Gift bekannt ist⁴⁾, schadete nichts, solange noch Eiweiß in der Fermentlösung war, welches sich mit dem Uransalz verband und ausfiel. Ja die Lösung zeigte nach dem Uransalz-Zusatz unter Berücksichtigung des vergrößerten Volumens sogar erhöhte Aktivität. (Sie enthielt dann selbst kein Uransalz mehr.) Überschritt aber die zur Fermentlösung hinzugesetzte Uranyl-Lösung eine gewisse Größe, so traten starke Schädigungen auf. (Die Lösung enthielt dann nach dem Filtrieren Uranyl-Ionen.) In Übereinstimmung hiermit wirkten auf das reine, eiweißfreie Präparat der elektroosmotischen Reinigung die geringsten Mengen Uranylsalz sofort stark schädigend ein.

Um diese Verhältnisse zu überschauen, wurde folgende Versuchsreihe unternommen: Zu 10 ccm 5-proz. Diastaselösung des Ausgangspräparates der vorhergehenden Arbeit wurden unter Umrühren wechselnde Mengen einer 1-proz. Uranylacetat-Lösung zugegeben, nach kurzem Stehen vom Niederschlag abfiltriert und von dem Filtrat soviel zu 10 ccm einer 1-proz. Stärkelösung gegeben, wie 1 ccm der ursprünglichen Diastaselösung entsprach. Bestimmt wurde die Zeit bis zum Verschwinden jeder Färbung mit Jod. Die Resultate sind in der Tabelle wiedergegeben.

Nr.	Zugesetzte Menge Uranyl-acetat	Zeit bis zum Ausbleiben der Jodreaktion	Nr.	Zugesetzte Menge Uranyl-acetat	Zeit bis zum Ausbleiben der Jodreaktion
1	0 ccm	70'	7	2.5 ccm	48'
2	0 »	68'	8	5.0 »	60'
3	0 »	68'	9	6.0 »	60'
4	0.31 »	68'	10	8.0 »	∞
5	0.625 »	68'	11	10.0 »	∞
6	1.25 »	55'	12	12.0 »	∞

³⁾ vergl. Fricke und Klempf, Kolloid-Ztschr. 33, 164 [1923].

⁴⁾ vergl. Euler, Chemie der Enzyme II 1, 116 [1922].

Ähnliche Verhältnisse fanden sich für die Vergiftung mit Bleiacetat. Die bisher vielfach vertretene Ansicht, daß Eiweiß ein integrierender Bestandteil der Malz-Diastase sei⁵⁾, ist demnach fallen zu lassen.

Münster i. W., den 10. Dezember 1923

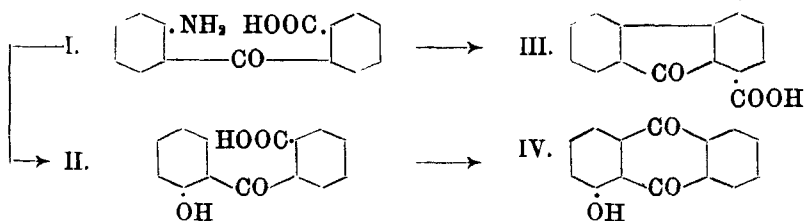
56. A. Sieglitz: Über eine Synthese der Fluorenon-1-carbonsäure. (Studien in der Fluoren-Reihe, VIII. 1))

[Aus d. Chem. Laborat. d. Bayr. Akademie d. Wissenschaften in München.]

(Eingegangen am 17. Dezember 1923.)

Durch Umlagerung von Anthrachinon-oxim erhielten E. Beckmann und O. Liesche²⁾ die 2'-Amino-benzophenon-2-carbonsäure (I). Ihr Diazoniumsulfat sollte beim Verkochen neben 2'-Oxy-benzophenon-2-carbonsäure (II) auch ein Fluoren-Derivat³⁾, die Fluorenon-1-carbonsäure (III), ergeben. Diese Säure, die bisher nur mühsam nach F. Mayer und K. Freitag⁴⁾ aus der schwer zugänglichen Diphenyl-2,3'-dicarbonsäure⁵⁾ erhalten werden konnte, wurde zuerst von R. Fittig⁶⁾ als Abbauprodukt des Fluoranthens aufgefunden und ist auch durch ihr optisches Verhalten⁷⁾ ausgezeichnet.

Versuche bestätigten die Richtigkeit obiger Vermutung, womit sich ein präparativ brauchbarer Weg zur Darstellung der Säure III und damit zu weiteren synthetischen Versuchen in der Fluoranthen-Reihe⁸⁾ bietet.



Hauptprodukt der Verkochung bildete die Oxy-säure II. Sie wurde noch zur 2'-Methoxy-benzophenon-2-carbonsäure methyliert und ergab bei Behandlung mit Schwefelsäure Erythro-oxy-anthrachinon (IV).

Beschreibung der Versuche.

Verkochung des Diazoniumsulfats der 2'-Amino-benzophenon-2-carbonsäure (I).

Das Gemisch von 20 g gereinigter Amino-säure, 70 ccm Wasser, 3.2 g Natriumhydroxyd und 6.2 g Natriumnitrit wurde bei 0° unter Turbinieren

¹⁾ vergl. z. B. Sherman und Schlesinger, Am. Soc. 37, 1305 [1915]; andererseits Fränkel und Hamburg, l. c.

²⁾ B. 55, 2032 [1922]. ³⁾ B. 56, 17 [1923].

⁴⁾ C. Graebe und F. Ullmann, A. 291, 14 [1896]. ⁵⁾ B. 54, 347 [1921].

⁶⁾ F. Mayer und K. Freitag, l. c.; A. Sieglitz und J. Schatzkes, B. 54, 2070 [1921].

⁷⁾ A. 193, 149 [1878], 200, 6 [1880]; vergl. auch F. Mayer, B. 46, 2580 [1913].

⁸⁾ A. Hantzsch, B. 49, 226 [1916].

⁹⁾ F. Mayer und A. Sieglitz, B. 54, 1397 [1921].