

Ueber den Einfluss der Kalziumsalze auf das Staerke verfluessigende Enzym des *Aspergillus oryzae*.

Von

Gen-itsu Kita.

(Eingegangen am 1. Oktober 1917)

Untersuchungen ueber den Einfluss der Kalziumsalze auf das verzuck-
ernden Enzym wurden schon lange angestellt, aber die Resultate gehen
auseinander. Windisch¹ z. B. beobachtete eine stoerende Wirkung des
Kalziumsulfates auf Malzdiastase, indem er nach Efferont bei hoeherer Tem-
peratur verzuckerte, wo man eine stoerende Wirkung deutlicher beobachten
kann, wie mit einem hoch gedarrten Malz, waehrend Mori² eine optimale
Konzentration des Kalziumsulfates bei der Kojiverzuckerung fand. Der
Grund dieser Abweichungen beruht abgesehen von der eigentlichen Natur
des Enzyms auf den Bedingungen, unter denen Enzym sich befindet, und
zwar auf der Reinheit, Konzentration, Einwirkungstemperatur usw. Nach
Lisborn³ hat das gut gereinigte, dialysierte Speichel- und Pankreasenzym auf
aschefreie Staerke keine Wirkung. Hier spielen natuerlich kleine Mengen
von Aschenbestandteilen eine besonders wichtige Rolle, mehr, als man bei
gewoehnlicher Maische erwartet. Ueber den Einfluss von Konzentration
des Enzyms bzw. der Salze habe ich⁴ frueher Mitteilungen gemacht. Dass
die Einwirkungstemperatur darauf Einfluss uebt, wird aus oben erwaehnter
Arbeit von Windisch verstaendlich, was mit meiner Arbeit uebereinstimmt
in dem Punkt, dass eine gewisse Menge von Salzen, die auf staerkere
Enzymloesung keine stoerende sondern foerdernde Einfluesse uebt, auf
schwaechere stoerend einwirkt.

1. Wochenschrift f. Brauerei, 1904, 735.
2. Jozoshikenjo-Hokoku (japanisch).
3. Wochenschrift f. Brauerei, 1911, 130.
4. Jour. Ind. Eng. Chem., 1913, 222.

Alle solche Untersuchungen aber wurden auf die gesamte Verzuckerung bezogen. Jedoch ist es eine wohl bekannte Tatsache, dass das Enzym mindestens zwei verschiedene Wirkungen, Verflüssigung und Verzuckerung, aufweist und ihre Verhältnisse je nach der Stammung abweichen, so dass man durch Verbindung zweier Arten eine vorteilhafte technische Anwendung sucht. Zuletzt konnte, Chrzaszcz¹ die beiden unvollkommenerweise isolieren.

Von diesem Gesichtspunkt aus habe ich die Einflüsse der Kalziumsalze näher betrachtet und fand, dass sie auf das verflüssigende Enzym des *Aspergillus oryzae* günstig einwirken selbst in Fällen, wo die gesamte Verzuckerung verhindert ist, was bei der Ausnutzung der Stärke von Bedeutung ist, als früher angenommen.

Experimenteller. Bei diesem Versuche wurde Takadiastase als das Enzym des *Aspergillus oryzae* und eine gut gewaschene Kartoffelstärke, welche die verflüssigende Erscheinung leichter beobachten lässt, als verzuckerndes Material genommen.

Versuch I. 500ccm 2%iger Kartoffelstärkeloesung wurden mit 10ccm 1%iger Takadiastaseloesung bei Zimmertemperatur von 25°C verzuckert und ausser 0,5grm Kalziumchlorid anhyd. eine äquivalente Menge von Sulfaten des Kalziums und Magnesiums in Vergleich genommen. Die verflüssigende Kraft wurde durch die Auslesbarkeit der Buchstaben durch bestimmte Schicht und die verzuckernde Kraft durch Reduzierbarkeit der Fehlingschen Loesung verglichen.

	A	B	C	D
Zugesetzte Salze	CaCl ₂	CaSO ₄	MgSO ₄	Kontroll
Verflüssigende Kraft:	Nach 30 Minuten A, B und C verflüssigt, während D noch deutlich undurchsichtig.			
Jodreaction:				
Nach 30 Minuten	rp	rp	rp	b
„ 5 Stunden	—	—	—	b
Die Fehlingsche Loesung	reduzierende Kraft:			
Nach 30 Minuten	10,5ccm Fehring'scher Loesung mit 18ccm Zuckerloesung, 2 Minuten im gleichen Zustande gekocht.			
	gruen	eben	gelb	etwas gruen
Der Grad	4	2	1	3

1. Wochenschrift f. Brauerei, 1911, 100.

Ueber den Einfluss der Kalziumsalze auf das verfluessigende Enzym. 3

Nach 5 Stunden	20ccm Fehlingscher Loesung mit 12,5ccm Zuckerloesung.			
	etwas gruen	etwas gruen	eben	etwas gruen
	20ccm Fehlingscher Loesung mit 13ccm Zuckerloesung.			
	eben	gelb	gelb	gelb
Der Grad	4	3	1	2

Versuch 2. Der gleiche Versuch wurde bei 50°C ausgefuehrt.

	A	B	C	D
Verfluessigende Kraft:	Schnell bei A und B, so dass nach 5 Minuten ganz klar.			
Jodreaktion:				
Nach 30 Minuten	r	r	sr	p
„ 1 Stunde	r	r	—	p
„ 2 Stunden	—	—	—	p

Die Fehlingsche Loesung reduzierende Kraft:

Nach 15 Minuten	7ccm Fehlingscher Loesung mit 15ccm Zuckerloesung.			
	blaugruen	blaugruen	gelb	eben
Nach 1 Stunde	20ccm Fehlingscher Loesung mit 17ccm Zuckerloesung.			
	blau	blau	gelb	gelb
Der Grad	3	4	1	2

Wie diese Versuche zeigen, stimmen die Resultate nach der Einwirkungsdauer und Temperatur nicht ueber ein, aber die mit Kalziumsalzen sind immer schnell verfluessigt, waehrend ihre reduzierende Kraft schwach ist.

Die gleichen Versuche mit einer rohen, gereinigten, bezw. auf 70°C erwaermt (um Amylokoagulase, wenn vorhanden, zu zersetzen) Malzdiastase verhalten sich ganz anders; die verfluessigende sowie verzuckernde Kraft bei Zimmertemperatur wird durch den Zusatz von kleinen Mengen von Kalziumsalzen verzoegert, waehrend bei 50°C die verfluessigende Kraft etwas befoerdert wird.

Aus dieser Tatsache folgt, dass bei einer gleichzeitigen Verzuckerung und Vergaerung, wie bei dem japanischen Brauverfahren und Amyloverfahren, Ausnutzung der Staerke durch den Zusatz von Kalziumsalzen beguenstigt werden soll, weil hier die verzoegernde Wirkung der Verzuckerung nicht besonders in Betracht kommt, aber schwer loesliche Staerke durch Kalziumsalze leicht in die Loesung gebracht werden koennte.

Wie der folgende Versuch zeigt und meine langjaehrigen Erfahrungen lehren, reagieren die Maische nach vollstaendiger Vergaerung mit Jod direkt farblos, aber nach dem Abkochen blau, was das Zurueckbleiben der schwer ausschliessbaren Staerke bezeugt (ausgenommen den Fall mit Korean).

Zusammenfassung.

Bei der Einwirkung von Enzym des *Aspergillus oryzae* wirken Kalziumsalze foerdernd auf seine verfluessigende Kraft, selbst im Falle, wo die verzuckernde Kraft verzoegert werden. Diese Tatsache hat eine technische Bedeutung zwecks Ausnutzung der Staerke bei der Gaerung mit gleichzeitiger Verzuckerung.
