

# Biochemische Zeitschrift

Unter Mitwirkung von

M. Aseoli-Catania, L. Asher-Bern, A. Bach-Moskau, M. Bergmann-Dresden, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, Fr. Boas-Weihenstephan, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., Wl. Butkewitsch-Moskau, M. Cremer-Berlin, R. Doerr-Basel, A. Durig-Wien, F. Ehrlich-Breslau, H. v. Euler-Stockholm, S. Flexner-New York, J. Forssman-Lund, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, H. Freundlich-Berlin, E. Friedberger-Greifswald, E. Friedmann-Berlin, E. Fromm-Wien, O. Fürth-Wien, F. Haber-Berlin, M. Hahn-Berlin, P. Hári-Budapest, F. Hayduck-Berlin, E. Hägg-Lund-Abo, V. Henri-Paris, V. Henriques-Kopenhagen, R. O. Herzog-Berlin, K. Hess-Berlin, W. Heubner-Göttingen, R. Höber-Kiel, M. Jacoby-Berlin, P. Karrer-Zürich, M. Kochmann-Halle a. S., R. Krimberg-Riga, F. Landolf-Buenos Aires, L. Langstein-Berlin, E. Laqueur-Amsterdam, O. Lemmermann-Berlin, E. J. Lesser-Mannheim, P. A. Levene-New York, L. v. Liebermann-Budapest, S. Loewe-Dorpat, A. Loewy-Davos, H. Lüers-München, Th. Madsen-Kopenhagen, A. Magnus-Lvey-Berlin, J. A. Mandel-New York, E. Mangold-Berlin, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, J. Meisenheimer-Tübingen, O. Meyerhof-Berlin, L. Michaelis-Nagoya, H. Molisch-Wien, H. Murschhauser-Düsseldorf, W. Nernst-Berlin, C. v. Noorden-Frankfurt a. M., W. Omelianski-Leningrad, W. Ostwald-Leipzig, A. Palladin-Charkow, J. K. Parnas-Lemberg, Th. Paul-München, W. Pauli-Wien, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, L. Pincussen-Berlin, J. Pohl-Breslau, Ch. Porcher-Lyon, D. N. Prianischnikow-Moskau, H. Pringsheim-Berlin, P. Rona-Berlin, H. Sachs-Heidelberg, S. Salaskin-Leningrad, T. Sasaki-Tokio, B. Sbarsky-Moskau, A. Scheunert-Leipzig, A. Schlossmann-Düsseldorf, E. Schmitz-Breslau, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, K. Spiro-Basel, E. H. Starling-London, J. Stoklasa-Prag, W. Straub-München, K. Suto-Kanazawa, U. Suzuki-Tokio, H. v. Tappeiner-München, K. Thomas-Leipzig, H. Thoms-Berlin, C. Tigerstedt-Helsingfors, P. Trendelenburg-Freiburg i. Br., O. Warburg-Berlin, G. v. Wendt-Helsingfors, E. Widmark-Lund, W. Wiechowski-Prag, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin, N. Zelinsky-Moskau

herausgegeben von

C. Neuberg-Berlin

*Sonderabdruck aus 169. Band, Heft 1/3*

J. Bodnár und Iréne Villányi:

Über

die Thermostabilität des pflanzlichen Amylasezymogens



Berlin

Verlag von Julius Springer

1926

Die

# Biochemische Zeitschrift

erscheint zwanglos in Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen; je sechs Hefte bilden einen Band. Der Preis des Bandes beträgt *M* 28,—.

*In der Regel können Originalarbeiten nur Aufnahme finden, wenn sie nicht mehr als 1½ Druckbogen umfassen. Sie werden mit dem Datum des Eingangs versehen und der Reihe nach veröffentlicht, sofern die Verfasser die Korrekturen rechtzeitig erledigen. — Mitteilungen polemischen Inhalts werden nur dann zugelassen, wenn sie eine tatsächliche Richtigstellung enthalten und höchstens zwei Druckseiten einnehmen.*

*Manuskriptsendungen sind an den Herausgeber, Herrn Prof. Dr. C. Neuberg, Berlin-Dahlem, Hittorfstr. 18, zu richten.*

*Das Honorar beträgt M 40,— für den 16 seitigen Druckbogen.*

*Die Verfasser erhalten bis 100 Sonderabdrucke ihrer Abhandlungen kostenfrei bis zu einem Umfang von 1½ Druckbogen, von größeren Arbeiten nur bis 75. Doch bittet der Verlag, nur die zur tatsächlichen Verwendung benötigten Exemplare zu bestellen. Über die Freixemplare hinaus bestellte Sonderdrucke werden berechnet. Die Herren Mitarbeiter werden jedoch in ihrem eigenen Interesse dringend gebeten, sich, wenn irgend möglich, mit der kostenfrei zur Verfügung gestellten Anzahl zu begnügen, und falls mehr Exemplare unbedingt erforderlich sind, deren Kosten vorher vom Verlage zu erfragen.*

## Verlagsbuchhandlung Julius Springer

Berlin W 9, Linkstraße 23/24.

169. Band.	Inhaltsverzeichnis.	Heft 1/3.
		Seite
<b>Bodnar, J. und Iréne Villányi.</b>	Über die Thermostabilität des pflanzlichen Amylasezymogens . . . . .	1
<b>Ehrlich, Felix und Friedrich Schubert.</b>	Über die Chemie der Inkrusten des Flachses . . . . .	13
<b>Zaykowsky, J.</b>	Über den Einfluß des Calciums und der Phosphorsäure auf die Milch. . . . .	67
<b>Slobodska-Zaykowska, N.</b>	Zur Frage nach der konservierenden Wirkung von Milchhefe auf Milchsäurebakterien . . . . .	77
<b>Förster, Julius.</b>	Die Wirkung des Luftdrucks auf den Gaswechsel der roten Blutkörperchen . . . . .	93
<b>Utkin-Ljubowzow, L. und Xenia.</b>	Eine neue Methode zur Bestimmung der Serumtryptasen . . . . .	100
<b>Bach, A. und K. Nikolajew.</b>	Sind sauerstoffübertragende Enzyme mit wasserstoffübertragenden identisch? . . . . .	105
<b>Sbarsky, B.</b>	Zur Kenntnis des Mechanismus der Immunitätserscheinungen. I. Mitteilung: Die Adsorption des Diphtherietoxins durch Meerschweinchen- und Rattenerythrocyten . . . . .	113

Fortsetzung des Inhaltsverzeichnisses siehe 3. Umschlagseite.

# Über die Thermostabilität des pflanzlichen Amylasezymogens.

Von

J. Bodnár und Iréne Villányi.

(Aus dem kgl. ung. pflanzenbiochemischen Institut in Budapest, aus dem medizinisch-chemischen Institut der Universität in Debrecen und aus dem chemischen Institut der Universität in Szeged<sup>1</sup>.)

(Eingegangen am 4. Dezember 1925.)

Wir haben uns mit der Untersuchung des Amylasegehaltes verschiedener Getreidesamen beschäftigt, um zu erfahren, ob zwischen dem Amylasegehalt und der Keimfähigkeit der Samen ein solcher Zusammenhang vorhanden ist<sup>2</sup>), daß man aus dem Amylasegehalt auf die Keimfähigkeit der Samen schließen könne. Eine Wahrnehmung bei der Inangriffnahme unserer Untersuchungen lenkte uns vorläufig von unserem Ziele ab und führte uns zur Erkennung der Thermostabilität des pflanzlichen Amylasezymogens.

Wir begannen unsere Untersuchungen mit Weizen, und zur Bestimmung der Amylase wurde der gemahlene Weizen mit Stärkelösung vermischt, nach Zufügung von Toluol in den Thermostaten gestellt, und der entstandene reduzierende Zucker in gewissen Zeitintervallen bestimmt. Es ist bei den enzymatischen Untersuchungen die Einstellung einer sogenannten Kontrollprobe stets notwendig; dies geschieht derartig, daß die enzymenthaltende Lösung oder das Material zur Vernichtung des Enzyms durch Hitze inaktiviert wird. Zur Inaktivierung wurde das Weizenmehl mit Wasser vermischt, in einer Porzellanschale auf kochendem Wasserbad eine Stunde lang erhitzt, der nach der Verdampfung des Wassers erhaltene noch feuchte Brei auf eine Glasplatte aufgeschmiert, im Wasserdampfschrank gänzlich getrocknet und nachher pulverisiert. Das auf diese Weise inaktivierte Mehl hatte

---

<sup>1</sup>) Die in dieser Mitteilung publizierten Untersuchungen wurden vom Oktober 1922 bis August 1923 durchgeführt.

<sup>2</sup>) A. Némec et F. Duchoň, *Annal. de la Science Agronomique française et étrangère* 38, 320, 1921; 121, 1923; C. R. 174, 632, 1922.

eine deutliche amylytische Wirkung, zersetzte die Stärke unter Bildung einer erheblichen Menge reduzierenden Zuckers.

Indem wir daran dachten, daß bei der Temperatur der Inaktivierung und der Austrocknung (unter 100°) die Amylase des Weizenmehls nicht gänzlich inaktiviert wurde, führten wir die Inaktivierung so durch, daß das mit Wasser vermischte Mehl in einem Porzellanbecherglas eine Stunde lang bei 100° im CaCl<sub>2</sub>-Wasserbad gekocht wurde, und vollführten den Versuch im übrigen auf die schon beschriebene Weise. Das gewonnene inaktivierte Mehl wirkte ebenfalls zersetzend auf die Stärke ein. Mit diesem bei 100° in Gegenwart von Wasser inaktivierten Mehle wurden die folgenden Versuche durchgeführt.

### I. Versuchsreihe.

Es wurden je 2 g natives und inaktives Mehl mit je 100 ccm 1 proz. *Kahlbaumscher* löslicher Stärkelösung vermischt, die erste Probe sofort abfiltriert (0stündiger Versuch) und die übrigen mit je 3 ccm Toluol im Thermostaten bei 37° aufbewahrt. Nach Ablauf der Versuchszeit wurde filtriert und in 20 ccm des Filtrats der reduzierende Zucker nach *Bertrand* bestimmt und als Glucose berechnet. Die angegebenen Glucosemengen beziehen sich auf 100 ccm Lösung und sind Mittelwerte von untereinander gut übereinstimmenden parallelen Bestimmungen.

Tabelle I.

Versuchszeit Stunden	KMnO <sub>4</sub> *)		Glucose	
	Natives Mehl ccm	Inaktiviertes Mehl ccm	Natives Mehl mg	Inaktiviertes Mehl mg
0	13,5	4,0	195,0	55,0
24	21,5	7,3	322,5	102,5
48	27,8	8,5	430,0	120,0

\*) 1 ccm KMnO<sub>4</sub> entspricht 5,6 mg Cu.

Diese I. Versuchsreihe wurde mehrmals mit verschiedenen inaktivierten Weizenmehlen mit ähnlichen Ergebnissen wiederholt. Das native Mehl (2 g) enthielt ursprünglich keinen bestimmbar Zucker, der in dem 0stündigen Versuch angegebene Zucker entstand, während das native Mehl mit der Stärkelösung vermischt und abfiltriert wurde. Der in dem 0stündigen Versuch bei dem inaktivierten Weizenmehl gewonnene Zucker ist — im Gegensatz zum nativen Mehle — nicht auf Amylasewirkung zurückzuführen, denn das inaktivierte Mehl enthält auch ursprünglich Zucker, welcher während der Inaktivierung entsteht. Wenn das in der I. Versuchsreihe gebrauchte inaktivierte Weizenmehl mit Wasser extrahiert wurde, fanden wir in dem wässrigen Extrakt ebenfalls 55 mg Zucker, es entstand also auf Wirkung des

inaktivierten Mehles nach 48 Stunden nicht 120 mg, sondern  $120 - 55 = 65$  mg Zucker. Daraus konnten wir daher folgern, daß das inaktivierte Weizenmehl ursprünglich keine aktive Amylase, sondern eine solche Substanz — Amylasezymogen — enthält, aus welcher die aktive Amylase während des Stehens mit Stärkelösung frei gemacht wird.

Falls wir das native Weizenmehl der Autolyse unterwarfen, zersetzte die Amylase des Mehles — wie aus den Daten der II. Versuchsreihe ersichtlich ist — die Stärke des Mehles und auch das inaktivierte Mehl wirkte ähnlich.

## II. Versuchsreihe.

Diese Versuchsreihe unterscheidet sich dadurch von der I. Versuchsreihe, daß statt 100 ccm Stärkelösung 100 ccm Wasser genommen wurden.

Tabelle II.

Versuchszeit Stunden	KMnO <sub>4</sub> *)		Glucose	
	Natives Mehl ccm	Inaktiviertes Mehl ccm	Natives Mehl mg	Inaktiviertes Mehl mg
0	0	2,7	0	37,5
24	1,7	5,1	25,0	70,0
48	4,2	5,6	57,5	77,5

\*) 1 ccm KMnO<sub>4</sub> entspricht 5,6 mg Cu.

Nach diesen Daten entstanden bei 2 g autolysiertem nativen Mehl 57,5 mg Zucker, bei 2 g inaktiviertem Mehl  $77,5 - 37,5 = 40$  mg Zucker.

Der wässrige Extrakt des nativen Weizenmehls gab mit Jodlösung keine Färbung, der wässrige Extrakt des inaktivierten Mehles färbte sich dagegen blau; demnach enthielt das inaktivierte Mehl wasserlösliche Stärke. Es sollte aus dem inaktivierten Mehle während des Extrahierens die aktive Amylase in Lösung übergehen, denn der im Thermostaten erhaltene Extrakt ergab nach Ablauf einer gewissen Zeit mit Jodlösung rote, sodann gelbe Färbung, und es erhöhte sich auch seine reduzierende Fähigkeit, wie dies die Daten der III. Versuchsreihe beweisen. Als wir den Extrakt vorerst aufkochten, bemerkten wir kein Verschwinden der Stärkereaktion und keine Erhöhung der reduzierenden Fähigkeit; es wurde demnach beim Kochen die aus dem Amylasezymogen entstehende aktive Amylase vernichtet.

## III. Versuchsreihe.

Es wurden 4 g inaktiviertes Weizenmehl mit 200 ccm toluolhaltigen Wassers vermischt und nach 24stündigem Stehen abfiltriert. Das Filtrat wurde in zwei gleiche Teile geteilt, der eine aufgekocht und der ursprüngliche reduzierende Zucker bestimmt; dann nach Zuzugung von je 3 ccm Toluol in den Thermostaten (37°) gestellt, und mit

in gewissen Zeitintervallen entnommenen Proben die Stärkereaktion und die Zuckerbestimmung durchgeführt.

Tabelle III.

I = ungekochter Extrakt, II = gekochter Extrakt.

Versuchszeit Stunden	Stärkereaktion		KMnO <sub>4</sub> *)		Glucose	
	I	II	I ccm	II ccm	I mg	II mg
0	blau	blau	9,1	9,2	27,5	28,0
24	"	"	—	—	—	—
48	violett	"	—	—	—	—
96	rotviolett	"	—	—	—	—
120	rot	"	11,8	9,0	36,5	27,5
144	"	"	—	—	—	—
168	gelb	"	—	—	—	—

\*) 1 ccm KMnO<sub>4</sub> entspricht 6 mg Cu.

Nach den Daten der IV. Versuchsreihe verliert der vorerst auf 80° erwärmte Extrakt des nativen Weizenmehls die stärkezersetzende Eigenschaft, ähnlich verhält sich der Extrakt des inaktivierten Weizenmehls.

#### IV. Versuchsreihe.

Es wurden 24 Stunden hindurch 6 g natives Weizenmehl mit 240 ccm toluolhaltigen Wassers extrahiert, das Filtrat in zwei gleiche Teile geteilt und der eine aufgekocht. Zu 80 ccm (= 2 g Mehl) jeden Teiles wurden 100 ccm 1proz. Stärkelösung und 3 ccm Toluol gegeben, in den Thermostaten gestellt und in nach gewisser Zeit entnommenen Proben von 20 ccm der Zucker bestimmt. Eine ähnliche Reihe wurde auch mit inaktiviertem Mehle eingestellt. Die angegebenen Zuckermengen sind auf 80 ccm ursprünglichen Extrakts berechnet.

Tabelle IV.

I = ungekochter Extrakt, II = gekochter Extrakt.

Versuchszeit Stunden	KMnO <sub>4</sub> *)		Glucose	
	I ccm	II ccm	I mg	II mg
Nativer Weizenmehlextrakt.				
0	2,9	1,0	67,5	22,5
24	10,7	0,9	274,5	22,5
48	19,3	1,0	513,0	22,5
120	20,0	1,0	535,5	22,5
Inaktiver Weizenmehlextrakt.				
0	3,0	3,1	68,0	68,0
24	3,9	3,1	94,5	68,0
48	5,0	3,0	126,0	68,0
120	6,4	3,0	162,0	68,0

\*) 1 ccm KMnO<sub>4</sub> entspricht 5,6 mg Cu.

In der V. Versuchsreihe wurde die Wirkung der nativen und inaktivierten Weizenmehle derartig untersucht, daß neben der Stärkereaktion mit der *Fehlingschen* Lösung auf reduzierenden Zucker, und mit dem *Barfoëd*-Reagens auf Glucose geprüft wurde. Sowohl bei der Einwirkung des nativen wie des inaktivierten Weizenmehls auf Stärke gelang es, die Glucose nachzuweisen; so ist im bei 100° inaktivierten Mehle auch Maltose (in Form von Zymogen) vorhanden.

### V. Versuchsreihe.

Es wurden 2 g natives und 2 g inaktiviertes Weizenmehl mit je 100 ccm 0,5proz. Stärkelösung vermischt, nach Zufügung von je 3 ccm Toluol in den Thermostaten von 37° gestellt, und die Reaktionen mit in gewissen Zeitintervallen entnommenen Proben von 3 bis 4 ccm durchgeführt.

Tabelle V.

+ schwach positiv, ++ positiv, +++ stark positiv.

Versuchszeit Stunden	Stärkereaktion		Reaktion mit <i>Fehlingscher</i> Lösung		Reaktion mit <i>Barfoëd</i> -Reagens	
	Natives Mehl	Inaktiviertes Mehl	Natives Mehl	Inaktiviertes Mehl	Natives Mehl	Inaktiviertes Mehl
0	blau	blau	+++	+	negativ	negativ
24	violett	"	+++	+	+	"
48	rotviolett	"	+++	++	++	+
72	rot	bläulich- violett	+++	++	+++	+
120	gelb	violett	+++	++	+++	++
168	"	"	+++	+++	+++	++

Die Daten der VI. Versuchsreihe beweisen, daß auch das mit Wasser ausgelaugte, also zuckerfreie inaktivierte Weizenmehl die Stärke zersetzte.

### VI. Versuchsreihe.

Es wurde diese Versuchsreihe mit dem extrahierten inaktivierten Mehle, der ersten Versuchsreihe ähnlich, eingestellt.

Tabelle VI.

Versuchszeit Stunden	KMnO <sub>4</sub> *) ccm	Glucose mg
0	0	0
24	2,2	30
48	4,7	65

\*) 1 ccm KMnO<sub>4</sub> entspricht 5,6 mg Cu.

Als wir in einer Flasche mehrere Monate hindurch aufbewahrtes Weizenmehl inaktivierten, wirkte das gewonnene inaktivierte Mehl

nicht zersetzend auf die Stärke ein. Dieses Mehl stammte aus der Oberfläche des in der Flasche aufbewahrten Mehles; das aus den unteren Schichten genommene Mehl gab ein solches inaktiviertes Mehl, welches schwach, aber bestimmt auf die Stärke wirkte. Auf Grund dieser Erfahrungen schien der Gedanke naheliegend, daß in erster Reihe das frisch gemahlene Mehl die Eigenschaft besitzt, bei 100° in Gegenwart von Wasser inaktiviert, nicht seine stärkeverzuckernde Eigenschaft zu verlieren. Zum Beweis dieser Vermutung wurde aus dem Weizenmehl, von dem das aufbewahrte Mehl stammte, frisch gemahlene Mehl bereitet, und davon ein solches inaktiviertes Mehl erhalten, welches die Stärke energisch zersetzte. Aus alledem kann man folgern, daß das Weizenmehl in Berührung mit der Luft jene Eigenschaft verlor, in inaktivierendem Zustande auf die Stärke einzuwirken. Die diesbezüglichen Versuchsdaten enthält die VII. Versuchsreihe (a = aus der Oberfläche des abgestandenen Weizenmehles, b = aus der Mitte desselben Mehles, c = aus demselben Weizen gewonnenes, aber aus frisch gemahlenem Mehle stammendes inaktiviertes Weizenmehl).

#### VII. Versuchsreihe.

Die Einstellung der Versuchsreihe geschah ähnlich der I. Versuchsreihe. Die Daten sind Mittelwerte von untereinander gut übereinstimmenden parallelen Bestimmungen.

Tabelle VII.

Versuchszeit Stunden	K Mn O <sub>4</sub> *)			Glucose		
	a ccm	b ccm	c ccm	a mg	b mg	c mg
0	3,8	4,5	7,0	60,0	72,5	115
24	3,6	5,6	19,0	57,5	90,0	330
48	3,7	6,3	21,0	60,0	102,5	370

\*) 1 ccm K Mn O<sub>4</sub> entspricht 6,5 mg Cu.

Nach den Daten der VIII. Versuchsreihe verhalten sich die aus frisch gemahlenem Roggen und Gerste bereiteten inaktivierten Mehle ähnlich dem inaktivierten Weizenmehl.

#### VIII. Versuchsreihe.

Die Bereitung und die Untersuchung der Wirkung des inaktivierten Roggen- und Gerstenmehls geschah nach den beim Weizenmehl beschriebenen Methoden.

Tabelle VIII.

Versuchszeit Stunden	KMnO <sub>4</sub> *)		Glucose	
	Natives Mehl ccm	Inaktiviertes Mehl ccm	Natives Mehl mg	Inaktiviertes Mehl mg
Roggenmehl.				
0	15,8	3,6	270	57,5
24	24,1	7,5	432	122,5
48	—	9,2	—	152,5
Gerstenmehl.				
0	15,7	2,9	270	45,0
24	21,4	7,0	385	115,0
48	24,5	9,0	442	147,5

\*) 1 ccm entspricht 6,5 mg Cu.

Der wässrige Extrakt des inaktivierten Roggenmehls färbte sich mit Jodlösung rot, der des inaktivierten Gerstenmehls blau. Der wässrige Extrakt des Gerstenmehls mit Toluol im Thermostaten aufbewahrt, gab, wie es aus der IX. Versuchsreihe ersichtlich ist, nach Ablauf einer gewissen Zeit mit Jodlösung eine rote Färbung.

### IX. Versuchsreihe.

Die Einstellung dieser Versuchsreihe geschah auf die in der III. Versuchsreihe beschriebene Weise.

Tabelle IX.

I = ungekochter Gerstenextrakt, II = gekochter Gerstenextrakt.

Versuchszeit Stunden	Stärkereaktion		Versuchszeit Stunden	Stärkereaktion	
	I	II		I	II
0	blau	blau	96	rot	blau
24	"	"	120	—	"
48	violett	"	168	—	"

Nach den Daten der Versuchsreihen I bis IX verlieren die Weizen-, Roggen- und Gerstenmehle, in Gegenwart von Wasser längere Zeit auf 100° erwärmt, ihre Stärkeverzuckernde Eigenschaft nicht. Dem entgegen verlieren die aus Mehlen bereiteten wässrigen Extrakte, schon auf 80° erwärmt, gänzlich ihre amylolytische Wirkung. Die Amylase ist demnach in den Samen in zweierlei Formen vorhanden, und zwar als wasserlösliche thermolabile Amylase und als wasserunlösliches thermostabiles Amylasezymogen; aus diesem Zymogen entsteht die wasserlösliche und hitzeunbeständige Amylase. Trotzdem

die pflanzliche Amylase zu den besser bekannten und sehr viel studierten Enzymen gehört, ist in der Literatur über die Thermostabilität des pflanzlichen Amylasezymogens keine Mitteilung zu finden. Das ist auch leicht begreiflich, nachdem zum Studium der Eigenschaften der pflanzlichen Amylase der aus den pflanzlichen Objekten, so in erster Reihe aus Gerste (Malz) bereitete wässrige Extrakt gebraucht wurde; dieser Extrakt enthält aber nur die thermolabile Amylase, da das thermostabile Amylasezymogen wasserunlöslich und dadurch nicht extrahierbar ist, und daher in der mit Wasser extrahierten Substanz zurückbleibt.

Zuletzt führten *Palladin* und *Popoff*<sup>1)</sup> mit verschiedenen Blättern (Roggen, Ricinus, Akazie, Rüben) solche Untersuchungen durch, aus denen man folgern kann, daß in den Blättern nur ein geringer Teil der Amylase in freier wasserlöslicher Form vorhanden ist, der andere größere Teil zum Protoplasma gebunden ist und aus dieser gebundenen Amylase die wasserlösliche aktive Amylase frei gemacht wird. Genannte haben die zerriebenen Blätter mit chloroformhaltigem Wasser einige Tage autolysiert, filtriert, die zurückgebliebene Substanz ausgepreßt, mit Wasser gut ausgewaschen und wieder ausgepreßt. Trotzdem, daß die wasserlösliche Amylase aus den Blättern gänzlich entfernt wurde, zeigte die ausgewaschene Blättersubstanz eine große amylytische Wirkung. Nachdem die gekochten Blätter die Stärke nicht zersetzten, wurde die an das Protoplasma gebundene Amylase durch Hitze vernichtet. Demgegenüber beweisen unsere später bekanntzumachenden Versuche, daß nicht nur die Samen, sondern auch die grünen Blätter thermostabiles Amylasezymogen enthalten.

Wenn das Weizenmehl sämtliche Amylase in wasserlöslicher Form enthalten würde, könnte das mit Wasser extrahierte Mehl auf die Stärke nicht einwirken. Als wir die Wirkung des mit Wasser mehrmals extrahierten Mehles auf die Stärke untersuchten, erfuhren wir, daß es anfangs kaum eine Wirkung auf die Stärke ausübt, später zersetzte es jedoch die Stärke ebenso energisch wie das mit Wasser nicht extrahierte Weizenmehl. So ist aus dem Weizenmehl nur die aktive Amylase auslösbar; der größte Teil der Amylase ist in Form von wasserunlöslichem Zymogen vorhanden, und es ist eine gewisse Zeit zur Freimachung der wasserlöslichen aktiven Amylase aus dem Zymogen erforderlich. Es ist nun fraglich, ob das Wasser nicht derartige Bestandteile (Salze) auslöst, welche zur Tätigkeit der Amylase notwendig sind. Nach den Untersuchungen von *Bierry*, *Preti*, *Kendall* und *Shermann*<sup>2)</sup> hat die gewöhnliche Dialyse (Auswaschen) auf die Malzdiastase keine Wirkung.

<sup>1)</sup> *W. Palladin* und *H. Popoff*, diese Zeitschr. 128, 487, 1922.

<sup>2)</sup> *F. Czapek*, Biochemie der Pflanzen, II. Aufl., 1913, S. 437.

*Lisbonne* und *Vulquin*<sup>1)</sup> fanden, daß nur mit elektrischer Dialyse die anorganischen Salze in solchem Maße extrahiert werden können, daß man inaktive Amylase gewinnt, welche sodann bei Zugabe von Salzen sich reaktiviert.

Über die stärkehydrolysierende Eigenschaft des nativen und extrahierten Weizenmehls geben die Daten der X. Versuchsreihe zahlenmäßige Aufklärung.

### X. Versuchsreihe.

Es wurden 2 g natives Weizenmehl mit 50 ccm toluolhaltigen Wassers in ein Zentrifugenrohr gebracht, nach öfterem Schütteln eine halbe Stunde lang stehen gelassen und sodann zentrifugiert. Dieser Prozeß wurde mit 50 ccm Wasser sechsmal wiederholt, und so wurden 2 g Weizenmehl siebenmal mit Wasser extrahiert. Die Einstellung der Versuchsreihe geschah in der bei der I. Versuchsreihe beschriebenen Weise, und die gewonnenen Daten sind Mittelwerte von untereinander gut übereinstimmenden parallelen Bestimmungen.

Tabelle X.

a = natives Weizenmehl, b = mit Wasser extrahiertes Weizenmehl.

Versuchszeit Stunden	K Mn O <sub>4</sub> *		Glucose	
	a ccm	b ccm	a mg	b mg
0	14,5	0	220	0
24	24,0	23,4	380	367,5

\*) 1 ccm K Mn O<sub>4</sub> entspricht 5,8 mg Cu.

### XI. Versuchsreihe.

Diese Versuchsreihe wurde ähnlich der V. Versuchsreihe eingestellt, mit dem Unterschied, daß statt inaktivierten Weizenmehls mit Wasser extrahiertes natives Weizenmehl verwendet wurde.

Tabelle XI.

a = natives Weizenmehl, b = mit Wasser extrahiertes natives Weizenmehl.

Versuchszeit Stunden	Stärkereaktion		Reaktion mit <i>Fehling</i> scher Lösung		Reaktion mit <i>Barfoed</i> -Reagens	
	a	b	a	b	a	b
0	blau	blau	+++	negativ	negativ	negativ
24	violett	violett	+++	++	+	+(?)
48	rotviolett	rotviolett	+++	+++	++	++
72	rot	rot	+++	+++	+++	+++

<sup>1)</sup> l. c.

Es ist bekannt, daß die keimenden Samen viel mehr Amylase als die ruhenden Samen enthalten; die Amylase entsteht aus dem Amylasezymogen während der Keimung. Auf Grund der Untersuchungen von *Bach* und *Oparin*<sup>1)</sup> verhält sich der Amylasegehalt der ruhenden Weizensamen zu den keimenden Samen wie 1:23. Während der Keimung wird das Zymogen zersetzt, und so ist es höchstwahrscheinlich, daß die keimenden Samen im Gegensatz zu den ruhenden Samen kein Amylasezymogen enthalten. Nachdem auf Grund unserer Untersuchungen nur das Zymogen der Amylase thermostabil ist, schien es interessant, Untersuchungen in der Richtung zu vollführen, ob das aus keimendem Weizen bereitete inaktivierete Mehl die Stärke zersetzte. Nach den Daten der XII. Versuchsreihe gab das aus keimendem Weizen bereitete, ursprünglich sehr stark aktive Mehl ein solches inaktiviertes Mehl, welches überhaupt auf die Stärke nicht wirkte; so enthält der keimende Weizen kein Amylasezymogen, es bildete sich während der Keimung die wasserlösliche thermolabile Amylase aus dem Zymogen.

### XII. Versuchsreihe.

Es wurde der Versuch mit aus keimendem Weizen bereitetem, inaktiviertem Mehle der I. Versuchsreihe ähnlich eingestellt, und wir geben nur die Menge der verbrauchten  $\text{KMnO}_4$ -Lösung an, aus welcher im Ostündigen Versuch ebensoviel verbraucht wurde als nach Verlauf von 48 Stunden.

Tabelle XII.

Versuchszeit Stunden	$\text{KMnO}_4$ ccm
0	28,8, 28,3
48	28,0, 28,5

Das inaktivierete Mehl des keimenden Weizens mit verdünnter Stärkelösung vermengt, ergab auch nach Tagen mit Jodlösung eine reine blaue Färbung.

Kurz erwähnten wir schon, daß es uns gelungen ist, nicht bloß in Samen, sondern auch in grünen Blättern die Gegenwart des thermostabilen Amylasezymogens nachzuweisen. Diese Untersuchungen wurden auf folgende Weise durchgeführt: Es wurden 5 g frische Blätter in einem Porzellanmörser mit 1 bis 2 g *Merckscher* Quarzsplitter gut zerrieben, der Inhalt des Mörsers mit 80 bis 100 ccm Wasser in einem Erlenmeyerkolben gespült, auf einer Asbestplatte 10 Minuten lang gekocht, sodann in eine Porzellanschale gebracht und auf dem Wasserbade zur Trockne eingedampft. Die auf diese Weise gewonnene Sub-

<sup>1)</sup> *A. Bach* und *A. Oparin*, diese Zeitschr. **134**, 183, 1922.

stanz wurde fein pulverisiert, mit 100 ccm Wasser und 2 bis 3 ccm Toluol vermischt, im Thermostaten bei 37° aufbewahrt, nach 24 Stunden abfiltriert, das Filtrat in zwei Teile geteilt und der eine Teil aufgekocht. Dann wurden zu beiden Teilen 5 ccm 1proz. Stärkelösung und 2 bis 3 ccm Toluol hinzugefügt; aus den im Thermostaten aufbewahrten Lösungen wurden zeitweise Proben von 3 bis 4 ccm entnommen und auf Stärke geprüft.

### XIII. Versuchsreihe.

Nach den Daten der XIII. Versuchsreihe enthalten die untersuchten Blätter mit Ausnahme der Gurken- und Traubenblätter thermostabiles Amylasezymogen. Nachdem die Stärkereaktion der aufgekochten Lösungen selbst nach 120 Stunden keine Änderung zeigte, kann die Stärkezersetzung nicht auf die Wirkung der in den Blättern vorhandenen Säuren zurückgeführt werden.

Tabelle XIII.

a = mit ungekochter Lösung, b = mit gekochter Lösung.

Versuchszeit, Stdn.	0		24		48		120	
	a	b	a	b	a	b	a	b
Gurken . . . .	blau	blau	blau	blau	blau	blau	blau	blau
Mais . . . . .	"	"	"	"	rot	"	—	"
Kraut . . . . .	"	"	gelb	"	—	"	—	"
Bohnen . . . .	"	"	rot	"	rot	"	—	"
Sojabohnen . .	"	"	violett	"	violett	"	violett	"
Rettig . . . . .	"	"	blau	"	blau	"	rot	"
Ricinus . . . .	"	"	violett	"	violett	"	violett	"
Zuckerrübe . .	"	"	blau	"	rot	"	—	"
Kartoffel . . .	"	"	rot	"	gelb	"	—	"
Trauben . . . .	"	"	blau	"	blau	"	blau	"

Bekanntlich sind die Enzyme in Gegenwart ihrer Substrate auf äußere schädliche Einflüsse weniger empfindlich; nun ist es fraglich, wie die Abwesenheit der Stärke die Thermostabilität des Amylasezymogens beeinflusst. Zur Untersuchung dieser Frage sind die Amylasezymogen enthaltenden Blätter besonders geeignet, nachdem die Blätter leicht stärkefrei zu machen sind. Die mit den vorher im Dunkeln aufbewahrten Blättern durchgeführten Untersuchungen beweisen, daß die Thermostabilität des in Blättern vorhandenen Amylasezymogens nicht an die Gegenwart der Stärke gebunden ist.

In letzterer Zeit machte *Biedermann*<sup>1)</sup> die interessante Entdeckung, daß gekochte Stärkelösung während des Stehens unter Bildung von Dextrin und Zucker gespalten wird. Dieser Vorgang, welchen *Bieder-*

<sup>1)</sup> *W. Biedermann*, Fermentforsch. 1, 385, 474, 1916; 2, 488, 1919; 4, 1, 359, 1921.

*mann* die Autolyse der Stärke benannte, wurde von Speichelasche, NaCl, CaCl<sub>2</sub>, KCl stark stimuliert. Diese Erscheinung erklärte *Biedermann* vorerst so, daß während der Autolyse aus der Stärke sich Amylase bildet; später änderte er diese Meinung derartig, daß die Stärke bei der Autolyse durch die Wirkung jener Amylase zersetzt wird, die aus den an den Stärkekörnern anhaftenden thermostabilen Amylasezymogenspuren entsteht. Zur Entstehung der Amylase aus dem Zymogen sowie zur Reaktivierung einer gekochten Speichellösung ist Sauerstoff (Berührung mit Luft) unerlässlich<sup>1)</sup>. Die auf den Stärkekörnern haftenden Amylasezymogenspuren stammen aus dem pflanzlichen Objekt, aus welchem die Stärke hergestellt wurde; so müssen auch die pflanzlichen Objekte (Mehle der Stärkesamen) Amylasezymogen enthalten, und zwar in größerer Menge als die aus ihnen gewonnene Stärke. Dies wurde durch unsere Versuche bestätigt.

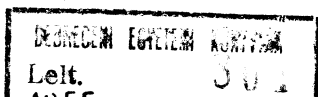
Die Hydrolyse der Stärke wird neuerdings nach *Biedermann*<sup>2)</sup> sowie nach *Haehn*<sup>3)</sup> und *Iljin*<sup>4)</sup> bloß durch einfache Salze und Salzmischungen (Alkalichloride und -phosphate) durchgeführt, und bei diesem Prozeß hat der Luftsauerstoff auch eine entscheidende Bedeutung. Nach unseren im Gange befindlichen Untersuchungen scheint der Sauerstoff bei der Entstehung der Getreideamylase aus ihrem thermostabilen Zymogen keine Rolle zu spielen.

1) *W. Biedermann*, diese Zeitschr. 129, 582, 1922.

2) *Derselbe*, ebendasselbst 135, 282, 1923; 137, 35, 1923.

3) *H. Haehn*, ebendasselbst 135, 587, 1923.

4) *W. S. Iljin*, ebendasselbst 145, 14, 1924.



Fortsetzung des Inhaltsverzeichnisses.

	Seite
<b>Fürth, Otto.</b> Bemerkungen zu der Abhandlung von J. Tillmans und A. Alt „Über den Gehalt der wichtigsten Proteinarten der Lebensmittel an Tryptophan und ein neues Verfahren der Tryptophanbestimmung“ . . . . .	117
<b>Mosonyi, Johann.</b> Zur Magensalzsäurebildung aus den Chloriden des Blutes . . . . .	120
<b>Bakonyi, Stefan.</b> Versuche zur Theorie der aceton-äthylalkoholischen Gärung . . . . .	125
<b>Adlersberg, D.</b> Die antagonistische Wirkung des Insulins und des Hypophysenhormons auf den Wasserhaushalt . . . . .	129
<b>Klein, G.</b> Aldehydabspaltung aus Zuckerarten . . . . .	132
<b>Lustig, B.</b> Versuche über den Eiweißabbau mit Trypsin unter gleichzeitiger Dialyse . . . . .	139
<b>Rondoni, P.</b> Über die Beteiligung des Pyrrols am Aufbau des Melanins	149
<b>Enriques, Eugen und Rudolf Sivó.</b> Neues Verfahren zur Bestimmung des Bilirubingehaltes von Seren und Duodenalsäften . . . . .	152
<b>Foit, Richard.</b> Eine einfache Methode zur raschen und verlässlichen Bestimmung des Stickstoffs im Harn und Blute . . . . .	161
<b>Virtanen, Artturi I. und Brita Bärlund.</b> Die Oxydation des Glycerins zu Dioxyaceton durch Bakterien . . . . .	169
<b>Jendrassik, L.</b> Beeinflussung der Oberflächenspannung durch Adsorbentien . . . . .	178
<b>Mangold, Ernst und Constanze Schmitt-Krahmer.</b> Über die Milchsäurebildung bei der Totenstarre glatter Muskeln. II . . . . .	186
<b>Sen, Kshitish Chandra.</b> Über die chemische Natur der Adsorption . .	192
<b>Hägglund, Erik, Arne Söderblom und Bølge Troberg.</b> Über die Abhängigkeit der alkoholischen Gärung von der Wasserstoffionenkonzentration. III. . . . .	200
<b>Heller, Józef.</b> Chemische Untersuchungen über die Metamorphose der Insekten. III. Mitteilung: Über die „subitane“ und „latente“ Entwicklung . . . . .	208
<b>Dingemans, Elisabeth und Ernst Laqueur.</b> Über die Adsorption von Giften an Kohle. III. Mitteilung: Über die Verteilung von Giften zwischen Magen- bzw. Darmwand und Kohle. . . . .	235

Verlag von Julius Springer in Berlin W 9

Soeben erschien:

# Allergische Krankheiten

Asthma bronchiale, Heufieber, Urticaria und andere

Von

**Professor Dr. W. Storm van Leeuwen**

Direktor des Pharmakotherapeutischen Instituts der Reichsuniversität in Leiden (Holland)

Übersetzt von

**Professor Dr. Friedrich Verzár**

127 Seiten mit 3 Abbildungen — RM 6,60

Verlag von Julius Springer in Berlin W 9

Soeben erschien:

# ERGEBNISSE DER BIOLOGIE

Herausgegeben von

K. VON FRISCH / R. GOLDSCHMIDT  
W. RUHLAND / H. WINTERSTEIN

BAND I

678 Seiten mit 130 zum Teil farbigen Abbildungen  
RM 36; in Leinen geb. RM 38,40

## INHALTSÜBERSICHT

W. Biedermann-Jena, Vergleichende Physiologie des Integuments der Wirbeltiere / F. Bachmann-Leipzig, Das Saftsteigen der Pflanzen / H. Kaho-Dorpat, Das Verhalten der Pflanzenzelle gegen Salze / D. N. Priaschnichnikow-Moskau, Ammoniak, Nitrate und Nitrite als Stickstoffquellen für höhere Pflanzen / D. Katz-Rostock, Sozialpsychologie der Vögel / H. Wachs-Rostock, Die Wanderungen der Vögel

Die Ergebnisse der Biologie werden alljährlich in zwangloser Reihenfolge eine kritische Übersicht über einzelne Gebiete der Biologie bringen. Es soll auf diese Weise eine ständige Ergänzung des in dem „Handbuch der vergleichenden Physiologie“ vorliegenden Materials erfolgen, so daß stets ein Überblick über den gegenwärtigen Stand der wichtigen Probleme und über die ihrer Lösung dienenden Arbeiten möglich ist. Während die „Ergebnisse der Physiologie“ hauptsächlich die menschliche Physiologie behandeln, die tierische nur, soweit sie für die medizinische Wissenschaft von Bedeutung ist, befassen sich die „Ergebnisse der Biologie“ mit der vergleichenden Physiologie und Psychologie der Tiere, der Pflanzenphysiologie, der Entwicklungsmechanik und Vererbungslehre.