

ÜBER DIE LACCASE DES JAPANISCHEN LACKS. II. ÜBER DIE REAGIERBARKEIT DER LACCASE GEGEN POLYPHENOLE UND DIAMINE.⁽¹⁾

Von Kunihiko SUMINOKURA.

Eingegangen am 26. November 1935. Ausgegeben am 28. März 1936.

Von den Polyphenole und Diamine oxydieren durch molekularen Sauerstoff bei Anwesenheit von Laccase nur diejenigen leicht, bei welchen die OH- oder NH₂-Gruppen in Ortho- oder Para-Stellung stehen, während dies die Meta-Verbindungen nur schwer tun, was früher bereits Bertrand⁽²⁾ mitgeteilt hat und später von verschiedenen Autoren als richtig bestätigt wurde.

Ich behandelte 48 Phenole und Amine mit der Laccase des japanischen Lacks und Sauerstoffgas. Die bei meinen Versuchen gewonnenen Resultate finden sich in Tabelle 1. Am leichtesten oxydieren bei Anwesenheit der Laccase die *p*-Phenylendiamine (Dimethyl-*p*-phenylendiamin, *p*-Phenylendiamin), dann kommen die *o*-Dioxyphenole (Urushiol, Oxyhydrochinon, Brenzcatechin), die *o*-Phenylendiamine (*o*-Phenylendiamin, Adrenalin, Diamidophenol) und die Benzole mit einer Hydroxyl- plus einer Methoxyl-Gruppe. Die Meta-Verbindungen (Resorcin, Orcin, Phloroglucin, *m*-Phenylendiamin), die Benzole mit zwei Äthoxylgruppen (Hydrochinondiäthyläther) und die Benzole mit einer Hydroxyl- plus verschiedenen anderen Gruppen (Tyrosin, Tyramin, Thymol, Salicylaldehyd) oxydieren nicht. Obgleich Alizarin, Protocatechusäure und Dioxyphenylalanin Ortho-Dihydroxyl besitzen, oxydieren diese Verbindungen doch nicht. Hydrourushiol oxydert nur schwer. Ebenso oxydieren das Methylenoxyd des Safrols und die aliphatischen Diamine gar nicht. Merkwürdig sind die Kresole; die, obgleich sie nur eine Hydroxyl-Gruppe besitzen, oxydieren sie doch etwas bei Anwesenheit der Laccase. Hier auch oxydieren nur Ortho- und Meta-Kresole, aber die Para-Verbindung nicht.

(1) I. Mitteilung, *Biochem. Z.*, **224** (1930), 292-321.

(2) G. Bertrand, *Compt. rend.*, **122** (1896), 1132.

Tabelle 1.

| Substanz | Konstitution | Oxyd. mit Laccase |
|--|--|-------------------|
| Ortho-Verbindungen | | |
| Brenzcatechin | $\text{C}_6\text{H}_4 \begin{cases} \text{OH} (1) \\ \text{OH} (2) \\ \text{OH} (1) \end{cases}$ | + |
| Pyrogallol | $\text{C}_6\text{H}_3 \begin{cases} \text{OH} (2) \\ \text{OH} (3) \end{cases}$ | + |
| Urushiol | $\text{C}_6\text{H}_3 \begin{cases} \text{OH} (1) \\ \text{OH} (2) \\ \text{C}_{15}\text{H}_{27} (3) \end{cases}$ | + |
| Hydrourushiol | $\text{C}_6\text{H}_3 \begin{cases} \text{OH} (1) \\ \text{OH} (2) \\ \text{C}_{15}\text{H}_{31} (3) \end{cases}$ | + (wenig) |
| Guajacol | $\text{C}_6\text{H}_4 \begin{cases} \text{OH} (1) \\ \text{OCH}_3 (2) \end{cases}$ | + |
| Eugenol | $\text{C}_6\text{H}_3 \begin{cases} \text{OH} (1) \\ \text{OCH}_3 (2) \\ \text{CH}_2\text{CH}:\text{CH}_2 (4) \\ \text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{NHCH}_3 (1) \end{cases}$ | + |
| Adrenalin | $\text{C}_6\text{H}_3 \begin{cases} \text{OH} (3) \\ \text{OH} (4) \end{cases}$ | + |
| <i>o</i> -Kresol | $\text{C}_6\text{H}_4 \begin{cases} \text{OH} (1) \\ \text{CH}_3 (2) \end{cases}$ | + (wenig) |
| <i>o</i> -Phenyldiamin | $\text{C}_6\text{H}_4 \begin{cases} \text{NH}_2 (1) \\ \text{NH}_2 (2) \end{cases}$ | + |
| 3-Methoxy-4-oxy-phenyläthyl-methyl-keton | | + |
| „ -octenyl-keton | | + |
| „ -heptenyl-keton | | + (wenig) |
| „ -pentadecyl-keton | | — |
| „ -nonyl-keton | | — |
| „ -octyl-keton | | — |
| „ -heptyl-keton | | — |
| „ -hexyl-keton | | — |
| Protocatechusäure | $\text{C}_6\text{H}_3 \begin{cases} \text{COOH} (1) \\ \text{OH} (3) \\ \text{OH} (4) \end{cases}$ | — |

Tabelle 1. (Fortsetzung.)

| Substanz | Konstitution | Oxyd. mit Laccase |
|--------------------------|---|-------------------|
| Dioxyphenylalanin | $ \begin{array}{c} \text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH} \text{ (1)} \\ \text{C}_6\text{H}_3 \diagup \text{OH} \quad \text{C}_6\text{H}_3 \diagdown \text{OH} \text{ (3)} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{OH} \quad \text{OH} \text{ (4)} \end{array} $ | — |
| Alizarin | $ \begin{array}{c} \text{C}_6\text{H}_4 \diagup \text{CO} \quad \text{C}_6\text{H}_2 \diagdown \text{OH} \text{ (1)} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{CO} \quad \text{C}_6\text{H}_2 \diagdown \text{OH} \text{ (2)} \end{array} $ | — |
| Veratrol | $ \begin{array}{c} \text{C}_6\text{H}_4 \diagup \text{OCH}_3 \text{ (1)} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{OCH}_3 \text{ (2)} \quad \text{OCH}_3 \text{ (2)} \end{array} $ | — |
| Thymol | $ \begin{array}{c} \text{C}_6\text{H}_4 \diagup \text{OH} \quad \text{C}_6\text{H}_4 \diagdown \text{CH}(\text{CH}_3)_2 \text{ (2)} \text{ (1)} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{CH}(\text{CH}_3)_2 \text{ (2)} \quad \text{OH} \text{ (1)} \end{array} $ | — |
| Salicylaldehyd | $ \begin{array}{c} \text{C}_6\text{H}_4 \diagup \text{OH} \quad \text{C}_6\text{H}_4 \diagdown \text{CHO} \text{ (2)} \text{ (1)} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{CHO} \text{ (2)} \quad \text{OH} \text{ (1)} \end{array} $ | — |
| Saligenin | $ \begin{array}{c} \text{C}_6\text{H}_4 \diagup \text{OH} \quad \text{C}_6\text{H}_4 \diagdown \text{CH}_2\text{OH} \text{ (2)} \text{ (1)} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{CH}_2\text{OH} \text{ (2)} \quad \text{OH} \text{ (1)} \end{array} $ | — |
| Meta-Verbindungen | | |
| Resorcin | $ \begin{array}{c} \text{C}_6\text{H}_4 \diagup \text{OH} \text{ (1)} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{OH} \text{ (3)} \quad \text{OH} \text{ (1)} \end{array} $ | — |
| Orcin | $ \begin{array}{c} \text{C}_6\text{H}_3 \diagup \text{OH} \text{ (3)} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{CH}_3 \text{ (5)} \quad \text{OH} \text{ (1)} \end{array} $ | — |
| Phloroglucin | $ \begin{array}{c} \text{C}_6\text{H}_3 \diagup \text{OH} \text{ (3)} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{OH} \text{ (5)} \quad \text{OH} \text{ (1)} \end{array} $ | — |
| Dioxybenzoësäure | $ \begin{array}{c} \text{C}_6\text{H}_3 \diagup \text{COOH} \text{ (1)} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{OH} \text{ (2)} \quad \text{OH} \text{ (4)} \end{array} $ | — |
| Dioxybenzaldehyd | $ \begin{array}{c} \text{C}_6\text{H}_3 \diagup \text{CHO} \text{ (1)} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{OH} \text{ (2)} \quad \text{OH} \text{ (4)} \end{array} $ | — |
| <i>m</i> -Phenylendiamin | $ \begin{array}{c} \text{C}_6\text{H}_4 \diagup \text{NH}_2 \text{ (1)} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{NH}_2 \text{ (3)} \quad \text{NH}_2 \text{ (1)} \end{array} $ | — |
| Xylenol | $ \begin{array}{c} \text{C}_6\text{H}_5 \diagup \text{CH}_3 \text{ (3)} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{CH}_3 \text{ (4)} \quad \text{OH} \text{ (1)} \end{array} $ | — |
| <i>m</i> -Kresol | $ \begin{array}{c} \text{C}_6\text{H}_4 \diagup \text{CH}_3 \text{ (3)} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{CH}_3 \text{ (3)} \quad \text{OH} \text{ (1)} \end{array} $ | + (wenig) |

Tabelle 1. (Fortsetzung.)

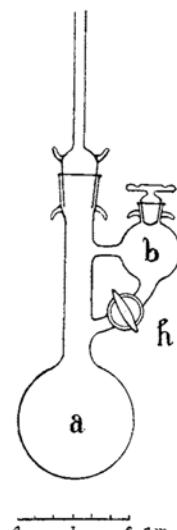
| Substanz | Konstitution | Oxyd. mit Laccase |
|----------------------------------|---|----------------------|
| Para-Verbindungen | | |
| Hydrochinon | $\text{C}_6\text{H}_4 \begin{cases} \text{OH} (1) \\ \text{OH} (4) \end{cases}$ | + |
| Oxyhydrochinon-triacetat | $\text{C}_6\text{H}_3 \begin{cases} \text{OOCCH}_3 (1) \\ \text{OOCCH}_3 (2) \\ \text{OOCCH}_3 (4) \end{cases}$ | + |
| Hydrochinonmonomethyläther | $\text{C}_6\text{H}_4 \begin{cases} \text{OH} (1) \\ \text{OCH}_3 (4) \\ \text{OCH}_3 (1) \end{cases}$ | + |
| Hydrochinondimethyläther | $\text{C}_6\text{H}_4 \begin{cases} \text{OCH}_3 (4) \\ \text{OC}_2\text{H}_5 (1) \\ \text{OC}_2\text{H}_5 (4) \end{cases}$ | - |
| Hydrochinondiäthyläther | $\text{C}_6\text{H}_4 \begin{cases} \text{OC}_2\text{H}_5 (1) \\ \text{OC}_2\text{H}_5 (4) \end{cases}$ | - |
| Diamidophenol-hydrochlorid | $\text{C}_6\text{H}_3 \begin{cases} \text{OH} (1) \\ \text{NH}_2\text{-HCl} (2) \\ \text{NH}_2\text{-HCl} (4) \end{cases}$ | + |
| <i>p</i> -Phenyldiamin | $\text{C}_6\text{H}_4 \begin{cases} \text{NH}_2 (1) \\ \text{NH}_2 (4) \end{cases}$ | + |
| Dimethyl- <i>p</i> -phenyldiamin | $\text{C}_6\text{H}_4 \begin{cases} \text{NH}_2 (1) \\ \text{N}(\text{CH}_3)_2 (4) \end{cases}$ | + |
| „ -hydrochlorid | $^*\text{C}_6\text{H}_4 \begin{cases} \text{NH}_2\text{-HCl} (1) \\ \text{N}(\text{CH}_3)_2 (4) \end{cases}$ | - |
| <i>p</i> -Kresol | $\text{C}_6\text{H}_4 \begin{cases} \text{OH} (1) \\ \text{CH}_3 (4) \end{cases}$ | - |
| Tyrosin | $\text{C}_6\text{H}_4 \begin{cases} \text{OH} (1) \\ \text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH} (4) \end{cases}$ | - |
| Tyramin | $\text{C}_6\text{H}_4 \begin{cases} \text{OH} (1) \\ \text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2 (4) \end{cases}$ | - |
| Methylenoxyd-Verbindung | | |
| Safrol | $\text{CH}_2 \begin{cases} \text{O} \\ \text{O} \end{cases} \text{C}_6\text{H}_3\text{CH}_2\text{CH}:\text{CH}_2$ | - |
| Aliphatische Amine | | |
| Äthylendiamin | $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_2\text{NH}_2$ | - |
| Putrescin-dihydrochlorid | $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2\text{-2HCl}$ | - |
| Cadaverin-dihydrochlorid | $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_5\text{NH}_2\text{-2HCl}$ | - |

Experimenteller Teil.

Nachdem Phenole bzw. Amine in einen Reaktionskolben (Abb. 1, a) aufgenommen worden, wurden einige c.c. Wasser oder Alkohol und 10 c.c. 1/3 Mol Phosphat-Puffer von pH 6.0 hinzugefügt. In der Kugel b wurde bei geschlossenem Hahn h eine Laccase-Lösung gebracht. Darauf wurde der Reaktionskolben mit der Gasbürette verbunden und in einen Thermostaten von 20.0°C. getaucht. Nachdem er evakuiert und darauf mit Sauerstoff gefüllt wurde, wurde der Hahn h geöffnet und der Reaktionskolben geschüttelt. Damit die Versuche unter konstantem Druck verlief, benützte ich die Petterson'sche Bürette.

Die meisten Substrate wurden in der Menge von 5/10000 g. Mol. verwendet, nur die Methoxyhydroxyl Ketone (Diese Ketone verdanke ich der Liebenswürdigkeit von Prof. Dr. H. Nomura.) der von 2/10000 g. Mol. Um die Reaktionsgeschwindigkeiten miteinander vergleichen zu können, wurde stets dasselbe aus dem japanischen Lack („Kiurushi“ aus Saji, Tottori) hergestellte Laccasepräparat benutzt.

Die Resultate, die sich bei den gegen Laccase indifferenten Substraten ergaben, sind hier nicht mitgeteilt.



Versuch 1. Substrat: Brenzcatechin 5/10000 g. Mol. Laccase: 50 mg. Barometrischer Druck: 770.5 mm.

Tabelle 2.

| Reaktionsdauer | O ₂ absorbiert | Reaktionsdauer | O ₂ absorbiert |
|----------------|---------------------------|----------------------------------|---------------------------|
| 1 Min. | 1.293 mg. | 90 Min. | 8.508 mg. |
| 3 | 1.939 | 115 | 9.259 |
| 5 | 2.401 | 180 | 11.502 |
| 10 | 3.245 | 240 | 12.728 |
| 17 | 4.036 | 300 | 13.546 |
| 30 | 4.986 | 420 | 14.404 |
| 60 | 7.083 | 495 | 14.694 |
| 77 | 8.006 | ca. 22 Stdn. (nicht geschüttelt) | 15.947 |

Versuch 2. Substrat: Guajakol 5/10000 g. Mol. Laccase: 50 mg. Barometrischer Druck: 767.4 mm.

Tabelle 3.

| Reaktionsdauer | O ₂ absorbiert | Reaktionsdauer | O ₂ absorbiert |
|----------------|---------------------------|----------------------------------|---------------------------|
| 1 Min. | 0.407 mg. | 120 Min. | 4.624 mg. |
| 3 | 0.499 | 180 | 5.885 |
| 5 | 0.578 | 240 | 6.726 |
| 10 | 0.801 | 270 | 6.858 |
| 15 | 1.077 | 360 | 7.173 |
| 30 | 1.760 | 480 | 7.751 |
| 60 | 2.890 | 540 | 7.974 |
| 90 | 3.849 | ca. 23 Stdn. (nicht geschüttelt) | 9.511 |
| 105 | 4.190 | | |

Versuch 3. Substrat: Eugenol 5/10000 g. Mol. Laccase: 50 mg. Barometrischer Druck: 767.6 mm.

Tabelle 4.

| Reaktionsdauer | O ₂ absorbiert | Reaktionsdauer | O ₂ absorbiert |
|----------------|---------------------------|----------------------------------|---------------------------|
| 1 Min. | 0.486 mg. | 120 Min. | 6.833 mg. |
| 3 | 0.644 | 190 | 7.227 |
| 5 | 0.854 | 244 | 7.332 |
| 10 | 1.406 | 300 | 7.503 |
| 15 | 1.879 | 422 | 7.858 |
| 30 | 3.403 | 476 | 7.989 |
| 35 | 3.916 | 481 | 8.002 |
| 60 | 5.519 | 508 | 8.160 |
| 90 | 6.504 | ca. 23 Stdn. (nicht geschüttelt) | 11.813 |

Versuch 4. Substrat: Hydrochinon 5/10000 g. Mol. Laccase: 50 mg. Barometrischer Druck: 761.8 mm.

Tabelle 5.

| Reaktionsdauer | O ₂ absorbiert | Reaktionsdauer | O ₂ absorbiert |
|----------------|---------------------------|----------------------------------|---------------------------|
| 1 Min. | 0.547 mg. | 64 Min. | 7.987 mg. |
| 3 | 0.912 | 80 | 8.417 |
| 5 | 1.290 | 290 | 8.548 |
| 10 | 2.046 | 410 | 8.808 |
| 25 | 4.222 | 530 | 8.834 |
| 30 | 4.886 | ca. 23 Stdn. (nicht geschüttelt) | 13.095 |
| 60 | 7.792 | | |

Versuch 5. Substrat: Adrenalin 5/10000 g. Mol. Laccase: 50 mg. Barometrischer Druck: 759.8 mm.

Tabelle 6.

| Reaktionsdauer | O ₂ absorbiert | Reaktionsdauer | O ₂ absorbiert |
|----------------|---------------------------|----------------------------------|---------------------------|
| 5 Min. | 1.261 mg. | 180 Min. | 15.854 mg. |
| 15 | 2.378 | 240 | 17.673 |
| 30 | 3.704 | 360 | 19.194 |
| 60 | 6.121 | 480 | 20.129 |
| 84 | 7.914 | 570 | 20.818 |
| 120 | 10.630 | ca. 23 Stdn. (nicht geschüttelt) | 22.481 |
| 135 | 11.838 | | |

Versuch 6. Substrat: Urushiol (destilliert) 5/10000 g. Mol. Laccase: 50 mg. Barometrischer Druck: 765.0 mm.

Tabelle 7.

| Reaktionsdauer | O ₂ absorbiert | Reaktionsdauer | O ₂ absorbiert |
|----------------|---------------------------|----------------------------------|---------------------------|
| 3 Min. | 2.395 mg. | 180 Min. | 13.190 mg. |
| 9 | 5.587 | 240 | 13.464 |
| 17 | 8.767 | 300 | 13.752 |
| 30 | 11.292 | 360 | 13.936 |
| 45 | 11.881 | 420 | 14.145 |
| 60 | 12.195 | ca. 21 Stdn. (nicht geschüttelt) | 18.254 |
| 120 | 12.836 | | |

Versuch 7. Substrat: Hydrourushiol 5/10000 g. Mol. Laccase: 50 mg. Barometrischer Druck: 767.5 mm.

Tabelle 8.

| Reaktionsdauer | O ₂ absorbiert | Reaktionsdauer | O ₂ absorbiert |
|----------------|---------------------------|--|---------------------------|
| 1 Min. | 0.197 mg. | 240 Min. | 1.603 mg. |
| 4 | 0.263 | 300 | 2.299 |
| 13 | 0.328 | 390 | 2.639 |
| 30 | 0.394 | ca. 25 Stdn. (nicht geschüttelt) | 3.143 |
| 60 | 0.736 | 30 Stdn. (von 25 bis 30 Stdn. geschüttelt) | 4.452 |
| 120 | 1.051 | | |

Versuch 8. Substrat: *o*-Phenyldiamin 5/10000 g. Mol. Laccase: 50 mg. Barometrischer Druck: 760.8 mm.

Tabelle 9.

| Reaktionsdauer | O ₂ absorbiert | Reaktionsdauer | O ₂ absorbiert |
|----------------|---------------------------|----------------------------------|---------------------------|
| 1 Min. | 0.547 mg. | 88 Min. | 8.015 mg. |
| 3 | 0.859 | 120 | 9.343 |
| 6 | 1.236 | 182 | 10.904 |
| 10 | 1.757 | 240 | 11.594 |
| 15 | 2.342 | 300 | 12.140 |
| 30 | 3.956 | 425 | 12.635 |
| 45 | 5.296 | 540 | 12.856 |
| 60 | 6.454 | ca. 23 Stdn. (nicht geschüttelt) | 14.639 |

Versuch 9. Substrat: *o*-Kresol 5/10000 g. Mol. Laccase: 50 mg. Barometrischer Druck: 766.8 mm.

Tabelle 10.

| Reaktionsdauer | O ₂ absorbiert | Reaktionsdauer | O ₂ absorbiert |
|----------------|---------------------------|----------------|---------------------------|
| 2 Min. | 0.446 mg. | 330 Min. | 0.801 mg. |
| 30 | 0.459 | 420 | 1.076 |
| 120 | 0.512 | 540 | 1.273 |
| 240 | 0.761 | | |

Versuch 10. Substrat: *o*-Kresol 5/10000 g. Mol. Laccase: 200 mg. Barometrischer Druck: 765.9 mm.

Tabelle 11.

| Reaktionsdauer | O ₂ absorbiert | Reaktionsdauer | O ₂ absorbiert |
|----------------|---------------------------|----------------|---------------------------|
| 1 Min. | 0.432 mg. | 240 Min. | 1.965 mg. |
| 10 | 0.642 | 330 | 2.279 |
| 60 | 1.114 | 420 | 2.764 |
| 120 | 1.376 | 540 | 3.249 |

Versuch 11. Substrat: 3-Methoxy-4-hydroxy-phenyläthyl-methyl-keton 2/10000 g. Mol. Laccase: 30 mg. Barometrischer Druck: 763.5 mm.

Tabelle 12.

| Reaktionsdauer | O ₂ absorbiert | Reaktionsdauer | O ₂ absorbiert |
|----------------|---------------------------|----------------|---------------------------|
| 1 Min. | 0.326 mg. | 60 Min. | 2.455 mg. |
| 10 | 0.744 | 120 | 3.199 |
| 15 | 0.901 | 150 | 3.265 |
| 31 | 1.750 | 330 | 3.435 |

Versuch 12. Substrat: 3-Methoxy-4-hydroxy-phenyläthyl-octenyl-keton 2/10000 g. Mol. Laccase: 10 mg. Barometrischer Druck: 766.0 mm.

Tabelle 13.

| Reaktionsdauer | O ₂ absorbiert | Reaktionsdauer | O ₂ absorbiert |
|----------------|---------------------------|----------------|---------------------------|
| 1 Min. | 0.472 mg. | 120 Min. | 1.547 mg. |
| 5 | 0.642 | 240 | 1.927 |
| 15 | 0.905 | 300 | 2.045 |
| 30 | 0.957 | 360 | 2.596 |
| 62 | 1.010 | 420 | 2.570 |

Versuch 13. Substrat: Pyrogallol 5/10000 g. Mol. Laccase: 10 mg. Barometrischer Druck: 761.2 mm. Nur bei diesem Versuch wurde neben dem Reaktionskolben noch ein kleiner Kolben mit KOH verwendet, um das sich entwickelnde CO₂-Gas⁽³⁾ zu absorbieren.

Tabelle 14.

| Reaktionsdauer | O ₂ absorbiert | Reaktionsdauer | O ₂ absorbiert |
|----------------|---------------------------|----------------------------------|---------------------------|
| 8 Min. | 0.260 mg. | 302 Min. | 8.970 mg. |
| 15 | 1.263 | 360 | 9.452 |
| 30 | 2.005 | 472 | 10.715 |
| 60 | 4.062 | 555 | 11.665 |
| 120 | 6.067 | ca. 23 Stdn. (nicht geschüttelt) | 16.443 |
| 225 | 8.020 | | |

(3) R. Willstätter und H. Heiss, *Ann.*, **433** (1923), 17.

Versuch 14. Substrat: *m*-Kresol 5/10000 g. Mol. Laccase: 50 mg. Barometrischer Druck: 772.3 mm.

Tabelle 15.

| Reaktionsdauer | O ₂ absorbiert | Reaktionsdauer | O ₂ absorbiert |
|----------------|---------------------------|----------------|---------------------------|
| 10 Min. | 0.132 mg. | 180 Min. | 0.397 mg. |
| 30 | 0.159 | 300 | 0.568 |
| 60 | 0.278 | 420 | 0.648 |
| 90 | 0.304 | 540 | 0.833 |
| 120 | 0.264 | | |

Versuch 15. Substrat: Oxyhydrochinon-triacetat 5/10000 g. Mol. Laccase: 50 mg. Barometrischer Druck: 761.6 mm.

Tabelle 16.

| Reaktionsdauer | O ₂ absorbiert | Reaktionsdauer | O ₂ absorbiert |
|----------------|---------------------------|----------------|---------------------------|
| 3 Min. | 2.709 mg. | 180 Min. | 10.199 mg. |
| 9 | 4.403 | 240 | 10.499 |
| 15 | 5.575 | 300 | 10.773 |
| 30 | 7.581 | 360 | 10.799 |
| 60 | 8.949 | 420 | 11.187 |
| 90 | 9.522 | 480 | 11.228 |
| 120 | 9.861 | 525 | 11.359 |

Versuch 16. Substrat: Hydrochinon-monomethyläther 5/10000 g. Mol. Laccase: 50 mg. Barometrischer Druck: 763.0 mm.

Tabelle 17.

| Reaktionsdauer | O ₂ absorbiert | Reaktionsdauer | O ₂ absorbiert |
|----------------|---------------------------|----------------|---------------------------|
| 15 Min. | 1.853 mg. | 123 Min. | 6.917 mg. |
| 31 | 3.184 | 305 | 7.269 |
| 47 | 4.463 | 420 | 7.308 |
| 61 | 5.129 | 515 | 7.373 |

Versuch 17. Substrat: Diamidophenol-hydrochlorid 5/10000 g. Mol. Laccase: 50 mg. Barometrischer Druck: 763.9 mm.

Tabelle 18.

| Reaktionsdauer | O ₂ absorbiert | Reaktionsdauer | O ₂ absorbiert |
|----------------|---------------------------|----------------|---------------------------|
| 3 Min. | 0.483 mg. | 132 Min. | 7.970 mg. |
| 9 | 1.163 | 180 | 9.002 |
| 15 | 1.803 | 245 | 9.995 |
| 30 | 3.214 | 300 | 10.557 |
| 45 | 4.416 | 360 | 11.197 |
| 60 | 5.278 | 480 | 12.124 |
| 120 | 7.669 | 600 | 12.751 |

Versuch 18. Substrat: *p*-Phenyldiamin 5/10000 g. Mol. Laccase: 30 mg. Barometrischer Druck: 766.4 mm.

Tabelle 19.

| Reaktionsdauer | O ₂ absorbiert | Reaktionsdauer | O ₂ absorbiert |
|----------------|---------------------------|----------------|---------------------------|
| 1 Min. | 2.086 mg. | 20 Min. | 8.698 mg. |
| 2 | 3.831 | 60 | 8.777 |
| 5 | 6.796 | 180 | 8.973 |
| 8 | 8.134 | 360 | 9.039 |
| 15 | 8.632 | 480 | 9.078 |

Versuch 19. Substrat: Dimethyl-*p*-phenyldiamin 5/10000 g. Mol. Laccase: 50 mg. Barometrischer Druck: 762.2 mm.

Tabelle 20.

| Reaktionsdauer | O ₂ absorbiert | Reaktionsdauer | O ₂ absorbiert |
|----------------|---------------------------|----------------|---------------------------|
| 2 Min. | 5.006 mg. | 123 Min. | 11.146 mg. |
| 5 | 7.717 | 180 | 11.602 |
| 7 | 8.108 | 210 | 12.410 |
| 10 | 8.473 | 300 | 13.349 |
| 30 | 9.151 | 420 | 14.366 |
| 60 | 9.660 | 540 | 14.809 |

Zum Schluss möchte ich den Herren T. Oshida und S. Yamane für ihre Hilfe, sowie der Keimeikai für ihre finanzielle Unterstützung bei Ausführung dieser Arbeit meinen herzlichen Dank ausdrücken.

*Biochemisches Laboratorium der Kaiserlichen
Landwirtschaftlichen Hochschule, Tottori.*