



säure in der Tat zur erwarteten α - γ -Diaminobuttersäure führte¹.

Beim geschilderten Abbau der nativen D-Polyglutaminsäure konnten nur 14,5% derjenigen β -Formylpropionsäure-Menge in Form ihres p-Nitrophenylhydrazons isoliert werden, die aus γ -Polyglutaminsäure theoretisch zu erwarten wäre. Diese geringe Ausbeute lässt sich zwar annehmbar begründen, gefährdet aber trotzdem die Zuverlässigkeit des Rückschlusses auf das Vorherrschen der γ -Glutamyl-Bindungen.

Es wurde jetzt gefunden, dass der mit alkalischer Natriumhypochlorit-Lösung durchgeführte Hofmannsche Abbau und eine darauffolgende saure Hydrolyse des Polyamids der aus geeigneten Bac.-subtilis-Stämmen isolierten D-Polyglutaminsäure in erheblich besserer Ausbeute β -Formylpropionsäure liefert. Aus 50 mg des Polyamids, dessen Amidierungsgrad rund 90% betrug, wurden nach erfolgtem Abbau 38 mg β -Formylpropionsäure-p-nitrophenylhydrazon isoliert. Kontrollversuche zeigten, dass aus 36 mg reiner β -Formylpropionsäure (einer Menge, die aus 50 mg γ -Polyglutaminsäure-polyamid vom Amidierungsgrad 90% theoretisch zu erwarten ist) nach genau derselben Säurebehandlung und weiteren Verarbeitung, wie dies bei der Hydrolyse des Abbauproduktes geschieht, 39–45 mg ihres p-Nitrophenylhydrazons erhalten werden. Dies zeigt nun ganz entschieden an, dass in der untersuchten D-Polyglutaminsäure γ -Glutamyl-Bindungen vorherrschen, und zwar in einem derart überwiegendem Mass, das die Anwesenheit von α -Glutamyl-Bindungen schon äusserst fraglich macht.

Die Beweiskraft dieses Abbauergebnisses liess sich auch dadurch bekräftigen, dass der analoge Abbau des synthetisch dargestellten α -L-Polyglutaminsäure-polyamids (L-Polyglutamin) zu α - γ -Diaminobuttersäure führte und als Abbauprodukt β -Formylpropionsäure hier nicht nachgewiesen werden konnte.

Da im Laufe des Abbaues jeder γ -Glutamyl-Rest 2 Mole NH_3 liefern sollte (I \rightarrow II \rightarrow III), während bei α -Glutamyl-Resten dies nicht der Fall ist (IV \rightarrow V \rightarrow VI), wurde auch versucht, durch Ammoniakbestimmungen auf das Zahlenverhältnis der zwei Bindungstypen zu schliessen. Es zeigte sich, dass bei geeigneter Arbeitsweise beim Abbau des Polyamids der nativen D-Polyglutaminsäure Ammoniakmengen zu fassen sind, die – übereinstimmend mit den präparativen Ergebnissen – für ein reines γ -Bindungssystem sprechen. Die Zuverlässigkeit dieser Methode bedarf aber einer noch ausführlicheren Überprüfung, da Kontrollversuche zeigten, dass auch beim analogen Abbau des L-Polyglutamins

Ammoniak in nicht vernachlässigbarer Menge freigesetzt wird.

Eine ausführliche Mitteilung soll demnächst an anderer Stelle erscheinen.

V. BRUCKNER, J. KOVÁCS, K. KOVÁCS und H. NAGY

Organisch-Chemisches Institut der Universität Budapest, den 2. Oktober 1952.

Summary

Poly-D-glutamic acid isolated from the culture medium of *Bac. subtilis* was converted to the corresponding polyamide and then subjected to Hofmann degradation and acid hydrolysis. The amount of formed β -formylpropionic acid suggests such a predominance of the γ -glutamyl bonds that an eventual presence of α -glutamyl bonds hardly requires further consideration.

Über die Reinigung von Pektinase

Pektinstoffe werden von den Enzymen Pektinase (Polygalakturonase) unter Aufspaltung der glykosidischen Bindungen der Fadenmolekel und Pektase (Pektinesterase) unter Verseifung der Methylestergruppen angegriffen¹. Beide Enzyme sind oft zusammen anzutreffen, wobei Pektase die Wirksamkeit der Pektinase zu beeinflussen vermag² und umgekehrt. Für Untersuchungen über die Eigenschaften der Pektinase ist daher eine quantitative Eliminierung der Pektase unerlässlich. Diese erfolgt meist durch Veränderung des pH-Wertes der Lösung³ oder Behandlung mit Kationenaustauschern⁴ und anderen Adsorptionsmitteln⁵. Dabei war bisher immer ein erheblicher Aktivitätsverlust der isolierten Pektinasekomponente zu beobachten. Auch papierchromatographisch kann eine Trennung, jedoch nur in geringeren Mengen, erreicht werden⁶.

Im folgenden wird gezeigt, dass eine quantitative Eliminierung der Pektase aus Enzymmischlösungen durch

¹ Vgl. Z. I. KERTESZ, *The Pectic Substances* (Interscience Publ., New York, N. Y. 1951), S. 333 ff.

² E. F. JANSEN, L. R. MACDONNELL und R. JANG, *Arch. Biochem.* 8, 113 (1945). – J. MATUS, *Ber. Schweiz. bot. Ges.* 58, 319 (1948). – R. J. MCCOLLOCH und Z. I. KERTESZ, *Food Technol.* 3, 94 (1949).

³ H. ROTHSCILD, *Enzymologia* 5, 359 (1938). – E. F. JANSEN und L. R. MACDONNELL, *Arch. Biochem.* 8, 97 (1945). – H. LINEWEAVER, R. JANG und E. F. JANSEN, *Arch. Biochem.* 20, 137 (1949).

⁴ R. J. MCCOLLOCH und Z. I. KERTESZ, *J. Biol. Chem.* 160, 149 (1945). – P. W. TALBOYS, *Nature* 166, 1077 (1950).

⁵ E. SCHUBERT, *Nature* 169, 931 (1952); *Bioch. Z.* 323, 78 (1952).

⁶ W. W. REID, *Nature* 166, 569 (1950).

¹ J. KOVÁCS, V. BRUCKNER und K. KOVÁCS, *Chem. Soc. (im Druck)*.

einfache Perkolation über Gemischtbettionenaustauscher (Dowex-50 in H-Form und Dowex-2 in OH-Form) gelingt, wobei die Aktivität der Pektinase in der Perkolutionslösung vollständig erhalten bleibt. Interessanterweise erfolgt bei Perkolation über getrennte Austauscher eine vollständige Inaktivierung der Pektinase in der Perkolutionslösung. Die Untersuchungen wurden an Pektinasepräparaten des Handels¹ ausgeführt, die Pektase und häufig weitere Enzyme als Verunreinigungen enthalten (Tab.).

Reinigung von Pektinase an Ionenaustauschern

	Aktivität der Pektinase, Prozentuale Abnahme der Viskosität nach 20 min bei pH 3,9	Aktivität der Pektase, Proz. Abnahme der Methoxygruppen nach 65 h bei pH 6,0
Enzymlösung, nicht behandelt	83,9	77,6
Enzymlösung, perkoliert über Gemischtbettaustauscher .	83,9	0
Enzymlösung, perkoliert über Kationenaustauscher . . .	4,5	—
Enzymlösung, perkoliert über Anionenaustauscher . . .	0	—

Experimentelles. 4,0 g Pektinase wurden in 80,0 cm³ Wasser gelöst. Je 20, cm³ der Lösung wurden über je 60 cm³ Dowex-50 (H-Form) und Dowex-2 (OH-Form) im Gemischtbett, bzw. getrennt perkoliert und auf 100 cm³ aufgefüllt. Für die Messung der Aktivität der Pektinase wurden je 5 cm³ Enzymlösung zu einer Pektinlösung, enthaltend 0,2 g Pektin, 25 cm³ Wasser und 20 cm³ Azetatpuffer (pH 3,9) gegeben. Die Viskosität der Lösung wurde nach 20 min bei 20° im Ostwald-Viskosimeter gemessen und als Zähigkeitszahl Z ($Z = \eta \text{ sp/c}$; c = Milliäq. Uronsäure je 100 cm³ Lösung) angegeben. Die Enzymaktivität wurde durch die prozentuale Abnahme der Zähigkeitszahl (Ausgangswert Z = 1,400) charakterisiert. Für die Ermittlung der Aktivität der Pektase wurden je 10 cm³ Enzymlösung zu einer Pektinlösung, enthaltend 0,35 g Pektin (mit einem Veresterungsgrad von 64 %), und 10 cm³ Azetatpuffer (pH 6,0) gegeben. Die Verseifung der Methylestergruppen wurde durch kolorimetrische Bestimmung des abgespaltenen Methanols mit Chromotropsäure ermittelt². Die Enzymaktivität wurde durch die prozentuale Abnahme der Estergruppen charakterisiert.

Bekanntlich können grosse Molekeln in das Innere von Austauschpartikeln nicht eintreten und stehen mit diesen nur in Kontaktaustausch³. Das unterschiedliche Verhalten der Enzyme in Gemischtbett- und getrennten Austauschern bestätigt diese Tatsache und zeigt, dass der pH-Wert innerhalb der Austauschpartikel für die beschriebene Reinigung nicht massgebend sein kann. Das Gemischtbett wirkt wohl auf die Aussenlösung ähnlich einem Puffer von konstantem pH-Wert. Die unveränderte Aktivität der Pektinase muss daher auf eine solche Pufferwirkung zurückgeführt werden. Die Pektase wird wahrscheinlich vom Harz adsorbiert.

¹ Die Pektinase, ein Handelsprodukt der Firma Takamine, Laboratory Inc., Clifton, N.J., USA., wurde in freundlicher Weise von Herrn Dr. F. WEBER, Küsnacht, zur Verfügung gestellt.

² K. N. Boos, Anal. Chem. 20, 964 (1948).

³ H. DEUEL, J. SOLMS und L. ANYAS-WEISZ, Helv. chim. Acta 33, 2171 (1950).

Die vorliegende Arbeit wurde durch Mittel der Arbeitsbeschäftigungskredite des Bundes ermöglicht. Ich danke bestens für diese Unterstützung.

L. ANYAS-WEISZ

Agrikulturchemisches Institut der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich, den 3. Dezember 1952.

Summary

A quantitative elimination of pectase from commercial pectinase preparations, without loss of pectinase activity, using mixed-bed systems of cation- and anion-exchangers is reported.

Chromosome Numbers and Sex Mechanism in Euphyllopods

An inspection of Euphyllopod chromosome numbers in MAKINO's¹ atlas creates the impression of a comparative uniformity within this group; $n = 12$ appears to be the prevalent number, with the exception of *Artemia salina* ($n = 21$), and its parthenogenetic polyploid races and of *Apus* sp., whose number is based on a very old reference ($2n = 10$, MOORE, 1893).

The study of some Euphyllopod species from Israel has shown that the chromosome number in this group is far from uniform. The Table lists the complements of four species, as determined from aceto-orcein and acetolacmoid squashes and from sectioned material, fixed in BARIGOZZI, BOUIN, CARNOY or FLEMMING and stained with HEIDENHAIN's haematoxylin. The Notostracan *Lepidurus* ranges lowest in the list with $n = 6$. *Chirocephalus bairdi* Br. agrees with other species of the genus in possessing the number $n = 12$. This number is increased by one in *Branchinecta ferox* M. Edw. ($n = 13$). *Streptocephalus torvicornis* Waga has $n = 18$, i.e. exactly three times the number of *Lepidurus*.

Chromosome numbers of the four species examined

	Haploid number (n)	Number of animals examined	
		Males	Females
Tribe: NOTOSTRACA <i>Lepidurus</i> sp. (<i>productus</i> Bosc. ?) . . .	6	14	—
Tribe: ANOSTRACA* <i>Chirocephalus bairdi</i> Br. .	12	15	7
<i>Branchinecta jerox</i> M. Edw.	13	16	3
<i>Streptocephalus</i> <i>torvicornis</i> Waga	18	20	4

* The author is much indebted to Dr. ENRICO VANNINI, Modena, for kindly determining the Anostracan species.

It is true that the Notostraca are considered to belong to a different tribe than the other three species listed. Nevertheless, it is not without interest to record the low number in this group and to consider, whether it may constitute the basic complement, of which 12 and

¹ S. MAKINO, *Chromosome numbers in animals*, Iowa State College Press (1951).