



Fig. 2.

Dehnungs-Kurven von Viscose (schwach ausgezogen) und Kupfer-Seide (stark ausgezogen) bei verschiedenen Luftfeuchtigkeiten.

———— bei 0% relativer Luftfeuchtigkeit,
 - - - - - bei 100% relativer Luftfeuchtigkeit.

Zusammenfassung.

1. Es wird wahrscheinlich gemacht, daß die Krystallit-Anordnung in der Faser (Faser-Struktur) als Wachstums-Struktur, entstanden unter dem Einfluß der Spannung, aufzufassen ist.
2. Es wird in einigen Fällen gezeigt, daß die topochemische Umwandlung unter Erhaltung der Cellulose-Masse im Krystallit bzw. Micell erfolgt.
3. Die Auffassung der Faser als zweiphasiges System, bestehend aus Krystallit und Interkrystallit-Substanz, gestattet die Deutung der beobachteten Deformations-Vorgänge.

229. Hans Pringsheim und Jesaja Leibowitz: Über α - und β -Amylasen. (Beiträge zur Chemie der Stärke, XIII¹.)

[Aus d. Chem. Institut d. Universität Berlin.]

(Eingegangen am 17. April 1925.)

(Vorgetragen in der Sitzung vom 18. Mai von Hrn. H. Pringsheim.)

Die von uns in der 12. Mitteilung¹) dargelegten neuartigen Prinzipien der Konstitution der Stärke haben inzwischen zwei wünschenswerte Ergänzungen erfahren: einmal konnte Sjöberg²) zeigen, daß sich beim amylolytischen Grenzabbau aus der Stärke-Amylose das von uns³) auf andere Weise dargestellte Dihexosan gewinnen läßt, ganz analog unserer Darstellung des Trihexosans aus Amylopektin⁴); vor allem aber wurde von R. Kuhn⁵) auf Grund geistvoll angelegter reaktionskinetischer Beobachtungen ein un-

¹) XII. Mitteilung: B. 57, 1581 [1924]. ²) B. 57, 1251 [1924].

³) Pringsheim und Wolfsohn, B. 57, 887 [1924].

⁴) Pringsheim und Beiser, Bio. Z. 148, 336 [1924].

⁵) B. 57, 1965 [1924].

abhängiger Beweis für die von uns zuerst dargelegte γ -Struktur des Stärke-Moleküls erbracht. Ein weiteres sehr bemerkenswertes Ergebnis der Kuhnschen Untersuchungen ist der Nachweis der spezifischen Verschiedenheit von tierischen und pflanzlichen Amylasen: er findet, daß die Speichel- und Pankreas-Amylase die Maltose aus der Stärke in ihrer abwärtsmutierenden, die Malz-Amylase dagegen in ihrer aufwärtsmutierenden Form in Freiheit setzt; letzteres ist auch von Euler⁶⁾ festgestellt worden. Kuhn zieht daraus den Schluß, daß die tierischen Amylasen eine α -glucosidische und die pflanzliche eine β -glucosidische Bindung im Stärke-Molekül sprengen.

Wir schließen uns dieser Zweiteilung der amylytischen Fermente in „ α -Amylasen“ und „ β -Amylasen“ an und sehen einen neuen Beweis für die Richtigkeit der Kuhnschen Schlüsse in der Tatsache, daß unsere gereinigte Amylobiose nur vom Malz-Auszug und nicht von den tierischen Amylasen gespalten wird⁷⁾, während im Gegensatz dazu das Dihexosan — offenbar von der diagonalen Bindung her — durch Pankreatin quantitativ in Maltose aufgesprengt wird⁸⁾. Es ist also unsere „Amylobiase“ mit der „ β -Amylase“ Kuhns identisch, wie schon Oppenheimer in seinem Handbuch⁹⁾ bemerkt.

Eine der logischen Folgerungen aus den dargelegten Verhältnissen ist, daß bei kombinierter Einwirkung von α - und β -Amylasen aus Stärke Glucose gebildet werden könnte. Unsere Versuche auf diesem Gebiete sind noch nicht völlig abgeschlossen; die zu überwindenden Schwierigkeiten liegen in der Verschiedenheit der Wirkungsbedingungen der Fermente, von denen Malz-Amylase ein Aciditäts-Optimum von $p_H = 4.5-5$, Pankreas-Amylase ein solches von $p_H = 7$ besitzt, vor allem aber in der Anwesenheit einer schwach-wirksamen Maltase in unseren Pankreatin-Präparaten (Schuchardt), die bei längerer Ausdehnung des Versuchs Maltose merklich spalten. Wir haben vorläufig bei Versuchen ohne Puffer eine weitgehende, gelegentlich sogar eine quantitative Glucose-Bildung aus Stärke erreicht, die nicht auf die Wirksamkeit der schwachen Pankreas-Amylase allein zurückgeführt werden kann. Weitere Versuche unter Kontrolle der Wasserstoff-ionen-Konzentration und Eliminierung der Maltase sind im Gange. Die Umwandlung von Stärke in Glucose unter Ausschluß eines maltose-spaltenden Ferments wird die Abwesenheit von Maltose-Bindungen in der Stärke endgültig beweisen.

Die neuen Feststellungen Kuhns, sowie sein vorjähriger Befund der Spaltbarkeit der Stärke durch Emulsin¹⁰⁾ setzen das alte Problem von der Existenz von „Isomaltose“ (Gentiobiose?)-Bindungen in der Stärke wieder auf die Tagesordnung. Wir verweisen auf die Ausführungen hierzu in der 12. Mitteilung¹¹⁾ und warten — ehe wir auf die strukturchemischen Ausführungen Kuhns eingehen — seine ausführliche Mitteilung ab. Eins sei jedoch schon jetzt hervorgehoben, daß nämlich die Einwirkung von Emulsin auf Stärke nicht auf die β -Glucosidase dieses Ferment-Gemisches, sondern auf eine in ihm enthaltene Amylase zurückzuführen ist. Wir konnten bei gleichzeitiger

⁶⁾ Euler und Helleberg, H. 139, 24 [1924].

⁷⁾ vergl. Pringsheim und Leibowitz, B. 57, 884 [1924].

⁸⁾ Pringsheim und Schapiro, unveröffentlicht.

⁹⁾ Die Fermente und ihre Wirkungen, 5. Aufl. [1925], S. 650.

¹⁰⁾ Kuhn, H. 135, 12 [1924]. ¹¹⁾ a. a. O.

Einwirkung von Malz-Auszug und Emulsin auf Stärke eine, wenn auch nicht sehr reichliche, Glucose-Bildung nachweisen, obwohl beide Fermente völlig maltase-frei waren und das Verhalten des Emulsins allein gegen Stärke genau den Angaben Kuhns entsprach. Die Kombination Malz + Emulsin bildet somit eine Analogie zu Malz + Pankreatin; das stärke-spaltende Prinzip des Emulsins dürfte also nichts anderes als eine sehr schwache α -Amylase sein, die hier merkwürdigerweise im Pflanzenreiche auftritt. Dem entspricht die Tatsache, daß auch die Amylobiose von Emulsin nicht angegriffen wird¹²⁾, was wieder einen indirekten Beweis für die Identität von β -Amylase und Amylobiase darstellt.

Beschreibung der Versuche.

Zusammensetzung der Versuchslösungen:

40 ccm 0.62-proz. Stärke-Lösung	} bei 38°.
8 ccm Wasser	
2 ccm Ferment (bzw. 1 ccm + 1 ccm).	

Substrat- und Ferment-Lösungen waren völlig frei von reduzierenden Beimengungen.

Titrationen mit je 5 ccm

(M = Malz-Auszug, P = Pankreatin-Lösung, E = Emulsin-Lösung).

Ferment	Versuchsdauer	mg Cu	% Spaltung, berechnet auf Maltose
1. M	48 Stdn.	23.9	8.3
2. P	48 Stdn.	33.8	116
3. E	48 Stdn.	4.7	16
E	96 Stdn.	10.0	34
E	120 Stdn.	12.1	41
4. M + P	48 Stdn.	47.9	163
5. M + P	42 Stdn.	53.0	182 (berechnet auf Glucose 97%)
M + P	48 Stdn.	54.6	188 (berechnet auf Glucose 100%)
6. M + E	48 Stdn.	29.8	103
M + E	62 Stdn.	33.9	115
7. M + E	48 Stdn.	30.4	104

Der Rest der Lösung 5 wurde $1\frac{1}{2}$ Stdn. im Wasserbade mit Phenyl-hydrazin und Essigsäure erhitzt, hierauf heiß filtriert und der Niederschlag mit heißem Wasser ausgewaschen. Ausbeute an Glucosazon ca. 110 mg; Schmp. 204°; α_D (19.7 mg in 0.8 ccm Pyridin + 1.2 ccm Alkohol) = $-0.58^{13)}$; Stickstoff-Bestimmung:

0.0712 g Sbst.: 9.5 ccm N (über 33-proz. KOH, 21°, 768 mm) = 15.43% (ber. 15.64%).

Aus Lösung 6 wurden gewonnen 15 mg Glucosazon; Schmp. 205°.

Nachschrift.

(Eingegangen am 19. Mai 1925.)

Die ersten Nachprüfungen unserer Versuche mit einem maltase-freien Pankreatin-Präparat (Merck) hat unsere früheren Ergebnisse bestätigt. Da uns aber augenblicklich nur ausdialysierte Malz-Auszüge von geringerer Wirkungskraft zur Verfügung stehen, konnte der frühere Grad der Glucose-Bildung nicht erreicht werden; die Resultate sind also quantitativ weniger schlagend, dafür aber qualitativ von überzeugender Zuverlässigkeit. Als Ergänzung zu den Emulsin-Versuchen konnte der Nachweis erbracht werden,

¹²⁾ Pringsheim und Leibowitz, a. a. O.

¹³⁾ vergl. Levene und La Forge, J. Biol. Ch. **20**, 429 [1915].

daß dieses Ferment-Gemisch in Kombination mit Pankreatin keine Glucose aus Stärke bildet, wodurch sein **stärke-spaltender Anteil** noch genauer als α -Amylase charakterisiert wird.

In Gestalt der „Biolase“, eines außerordentlich wirksamen diastatischen Präparates der A.-G. Kalle & Co., Biebrich a. Rh., sind wir in den Besitz einer maltase-freien pflanzlichen Amylase uns unbekanntem Ursprungs gekommen, bei der das Aciditäts-Optimum der Wirksamkeit dem der tierischen Amylasen entspricht¹⁴⁾ und die Amylobiose nicht spaltet, woraus der Schluß gezogen werden kann, daß die Verteilung der α - und β -Amylasen auf das Tier- und Pflanzenreich keine gesonderte ist. In der Amylobiose hatten wir also ein Reagens für die Unterscheidung spezifisch verschiedener Amylasen in der Hand.

Der Versuch, die Stärke durch eine Ferment-Symbiose möglichst quantitativ in Glucose aufzuspalten, der für die konstitutionelle Erforschung der Stärke von größter Bedeutung ist, wird ausgedehnte Vorbereitungen nötig machen, da die Kinetik der Einwirkungen der zu kombinierenden Fermente bei ein und derselben Wasserstoff-ionen-Konzentration auf das gleiche Maß gebracht werden muß. Bei dieser Gelegenheit werden wir auch die Frage zur experimentellen Entscheidung bringen, ob das unter dem Einflusse der gemeinsamen Fermentwirkung neben der Glucose entstehende Polysaccharid ausschließlich Maltose ist.

Versuche.

30 ccm 0.85-proz. Stärke-Lösung
 10 ccm Puffer-Lösung
 8 ccm Wasser
 2 ccm Ferment-Lösung

} bei 36°.

Titrationen mit je 5 ccm; Einwirkungsdauer 48 Stdn.

Ferment	pH	mg Cu	% Spaltung, berechnet auf Maltose
8. M	4.8	23.1	78
9. P	6.8	28.0	94
10. M + P	6.0	34.2	114
11. M + P	6.2	31.5	106
12. P + E	6.0	28.2	95

Aus der Lösung 10 wurden 15 mg Glucosazon gewonnen.

Prüfung des Pankreatins auf Maltose:
 40 ccm 0.583-proz. Maltose-Lösung,
 10 ccm Phosphat-Puffer (pH = 6.6),
 20 mg Pankreatin.

Titrationen mit je 5 ccm nach 0 Stdn.	24 Stdn.	48 Stdn.
mg Cu 22.9	22.9	23.0

Dem Japan-Ausschuß der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft danken wir für seine Hilfe.

¹⁴⁾ Pringsheim und Schapiro, unveröffentlicht.