

489. Jesaja Leibowitz und Paul Mechlinski: Über die fermentative Spaltung der Polyamylosen. (Beiträge zur Chemie der Stärke von Hans Pringsheim und Mitarbeitern, XIX¹).

[Aus d. Chem. Inst. d. Univ. Berlin.]

(Eingegangen am 16. Oktober 1926.)

Die ersten Versuche über das fermentchemische Verhalten der Polyamylosen, die Pringsheim und Eissler²⁾ vor 13 Jahren anstellten, ergaben, daß diese Abbauprodukte der Stärke weder von den Amylasen, den spezifischen Spaltungsfermenten ihrer Stammsubstanz, noch von den damals als Gruppenreagenzien auf glucosidische und Disaccharid-Bindungen angesehenen Fermenten des Hefe-Auszuges und des Emulsins angegriffen wurden. Polyamylosen-spaltende Fermente wurden dagegen in den Mycelien einiger Schimmelpilze, wie *Aspergillus oryzae* und *Penicillium africanum*, gefunden; als Spaltprodukt ließ sich in allen Fällen Glucose nachweisen.

Die Indifferenz der Amylasen gegenüber den Polyamylosen beanspruchte besonderes Interesse, solange man — entsprechend der ursprünglichen Hypothese Pringsheims — allgemein eine sehr enge Beziehung zwischen diesen Anhydro-zuckern und der Stärke annahm, ja die Stärke direkt als polymere Diamylose auffaßte, wie es Karrer³⁾ noch neuerdings tut. Als sich die Nicht-Spaltbarkeit durch Amylasen endgültig als richtig erwies⁴⁾, mußte zur Erklärung die recht unwahrscheinliche Hypothese herangezogen werden, daß die Wirksamkeit der betreffenden Fermente an einen bestimmten Polymerisations- oder Assoziations-Zustand (Molatgröße) des Substrates geknüpft sei. Inzwischen ließen die neuesten Ergebnisse der Stärke-Forschung (Pringsheim, Kuhn) die Polyamylosen als Abwandlungsprodukte der eigentlichen Stärke-Bauelemente erscheinen; in der vorliegenden Arbeit wird unter anderem gezeigt, daß die erwähnte Hilfshypothese zur Aufrechterhaltung der Anschauung von der strukturechemischen Identität von Stärke und Polyamylosen auch angesichts der ferment-chemischen Befunde nicht aufrecht zu erhalten wäre.

Wir unterzogen den Abbau der Polyamylosen durch die Fermente des *Aspergillus oryzae* einer eingehenderen Untersuchung, wobei wir von der technischen „Taka-Diastase“ ausgingen. Dieses Ferment-Präparat enthält bekanntlich die mannigfaltigsten Fermente nebeneinander, von denen besonders die Anwesenheit von Amylase und von Maltase für unsere Untersuchung störend sein konnte. Unsere Versuche zur Befreiung des polyamylosen-spaltenden Prinzips von Amylase und Maltase hatten jedoch nur bedingten Erfolg, hauptsächlich infolge des schwankenden Verhaltens der verschiedenen, von uns verwendeten Ferment-Präparate bei der Adsorption, wodurch die Übertragung der einmal an einem Präparat gewonnenen Erfahrungen auf ein anderes unmöglich war; die Ursache dürfte

¹⁾ XVIII. Mitteilung: H. Pringsheim und J. Leibowitz, B. **59**, 2058 [1926].

²⁾ H. Pringsheim und F. Eissler, B. **46**, 2959 [1913].

³⁾ P. Karrer, Polymere Kohlenhydrate (Leipzig 1926).

⁴⁾ H. Pringsheim, Die Polysaccharide, 2. Aufl. (Berlin 1923), S. 170, 201; vergl. auch C. Oppenheimer, Die Fermente und ihre Wirkungen, 5. Aufl. (Leipzig 1925), Bd. I, S. 606.

die Anwesenheit von Begleitstoffen wechselnder Natur sein⁵⁾. Immerhin konnten wir in einer schwach sauren Taka-Diastase-Lösung fast die Gesamtmenge der Amylase und die Hauptmenge der Maltase an β -Aluminiumhydroxyd adsorbieren, während die zurückbleibende Lösung die Polyamylosen noch energisch spaltete. Auch hier konnte die Bildung reichlicher Mengen Glucose nachgewiesen werden; für die gleichzeitige oder intermediäre Entstehung eines reduzierenden Polysaccharids, speziell der Maltose, ergaben sich keine Anhaltspunkte. Leider war dieser Adsorptionsversuch an anderen Taka-Diastase-Präparaten nur unvollständig reproduzierbar. Dagegen ließen sich die Polyamylasen in schwach alkalischer Lösung an Kaolin adsorbieren, während aktive Maltase und Amylase zurückblieben. Zwar gelang es nicht, die Polyamylasen aus dem Kaolin-Adsorbat in aktiver Form wieder zu eluieren, doch zeigen diese Versuche, daß die Spaltung der Polyamylosen mit der Wirkung der Taka-Amylase ebensowenig zu tun hat, wie mit derjenigen der früher untersuchten pflanzlichen und tierischen Amylasen, und daß sie vermutlich nicht über die Zwischenstufe der Maltose verläuft.

Trotzdem unterliegt es keinem Zweifel, daß die vollständige Aufspaltung der Polyamylosen zur Glucose einen komplexen, in mehreren Phasen verlaufenden Vorgang darstellt. In diesem Sinne ist auch die Erscheinung zu deuten, daß die Kinetik der enzymatischen Polyamylosen-Spaltung keinem der einfachen Gesetze gehorcht, die sonst oft bei Fermentreaktionen beobachtet wurden: bei allen Polyamylosen verläuft die Hydrolyse langsamer als der monomolekularen Reaktion, der viele Disaccharid-Spaltungen gehorchen, oder der Schützschenschen Regel, die für die Einwirkung der Polysaccharasen Lichenase und Cellulase maßgebend ist⁶⁾, entsprechen würde.

Das Aciditäts-Optimum für die Spaltung aller Polyamylosen liegt bei etwa $p_H = 4.5$, fällt also mit dem Optimum der Taka-Amylase- und Taka-Maltase-Wirksamkeit zusammen, doch erfolgt der Abfall der Aktivitätsp_H-Kurve nach der sauren Seite steiler als im Falle der Taka-Maltase⁷⁾.

Innerhalb jeder der beiden Polyamylosen-Reihen ist das ferment-chemische Verhalten der Glieder unabhängig vom Polymerisationsgrad: die Spaltung von α -Diamylose und α -Tetraamylose bzw. von β -Triamylose und β -Hexaamylose verläuft qualitativ und — innerhalb der Fehlergrenzen — auch quantitativ gleich, der Grundkörper wird nicht rascher als sein Dimeres gespalten. Von den zwei möglichen Wegen, die Pringsheim⁸⁾ für den enzymatischen Abbau komplexer Polysaccharide skizziert hat — primäre Desassoziatio, der die eigentliche Spaltung erst folgt, oder direkter Eingriff des hydrolysierenden Ferments in das assoziierte Molekül und automatischer

⁵⁾ Die entscheidende Bedeutung der Begleitstoffe auf die Adsorbierbarkeit der Taka-Fermente kommt auch in den Versuchen von Nishimura (Chemie der Zellen und Gewebe **12**, 202 [1925]) zum Vorschein, der durch einmalige Adsorption an Tonerde A in schwach saurer Lösung eine Anreicherung der verschiedenartigsten Fermente in genau gleichem Grade erreichte. Dies kann nur durch die Annahme erklärt werden, daß sämtliche Fermente an demselben Begleitstoff haften, der nun die adsorptive Bindung mit dem Kaolin eingeht.

⁶⁾ P. Karrer und Mitarbeiter, Helv. **6**, 800 [1923], **8**, 797 [1925].

⁷⁾ vergl. J. Leibowitz und P. Mechlinski, H. **154**, 64 [1926].

⁸⁾ Naturwiss. **13**, 1084 [1925].

Zerfall des Komplexes als Folge der Veränderung seiner Grundkörper —, trifft im Falle der Polyamylosen offenbar der zweite zu⁹⁾.

Um so bemerkenswerter ist der scharfe Unterschied im Verhalten der α -Polyamylosen einerseits, der β -Polyamylosen andererseits gegen Taka-Diastase. Die Spaltung der Tri- und der Hexaamylose setzt nicht nur mit wesentlich größerer Geschwindigkeit ein als die der Di- und der Tetraamylose unter denselben Bedingungen, sie läßt sich auch glatt bis zu 100-proz. Glucose-Bildung zu Ende führen, während bei den α -Polyamylosen — sofern nicht sehr große Fermentmengen zur Verwendung kamen — bald eine stark hemmende Wirkung des Spaltproduktes in Erscheinung tritt und die Reaktion zum Stillstand bringt. Diese Erscheinung täuscht leicht eine Analogie zum Grenzabbau der Stärke vor; untersucht man aber das Hydrolysat der Tetraamylose nach der Erreichung des Maximums des Reduktionsvermögens, so findet man neben Glucose nur unveränderte Tetraamylose, deren Spaltung durch Zugabe weiterer Fermentmengen veranlaßt werden kann. Es handelt sich also um ein „falsches Gleichgewicht“, wie man es z. B. bei einigen Glucosid-Spaltungen durch Emulsin auch beobachtet hat¹⁰⁾. Es liegt nahe, anzunehmen, daß die Spaltung der α - und der β -Polyamylosen von zwei verschiedenen Fermenten ausgeführt wird. Tatsächlich wechselt das Verhältnis der Aktivitäten der Taka-Diastase gegenüber α - und β -Polyamylosen von Präparat zu Präparat. Auch bei unseren Adsorptionsversuchen war ein Parallelgehen der beiden Aktivitäten nicht zu beobachten und ihr Verhältnis Schwankungen innerhalb weiter Grenzen unterworfen.

Aus alledem kann geschlossen werden, daß die hier in Frage kommenden Fermente auf bestimmte chemische Strukturen ihrer Substrate, nicht aber auf bestimmte Assoziations- oder Polymerisations-Zustände spezifisch eingestellt sind. Das bedeutet einen neuen indirekten Beweis für die strukturelle Verschiedenheit der α - und der β -Polyamylosen, sowie für die Verschiedenheit dieser von der Stärke oder genauer von den eigentlichen Elementarkörpern der beiden Stärke-Bestandteile.

Beschreibung der Versuche.

Als Ferment-Material wurden verschiedene Proben (A, B, C usw.) der Taka-Diastase von Parke, Davis & Co. (London) verwendet. Von den mit mehreren Präparaten wiederholten Versuchen führen wir hier die typischsten an.

Aktivitäts- p_H -Kurven der Polyamylasen.

1. 15 ccm 1-proz. Tetraamylose-Lösung + 10 ccm Puffer-Lösung + 5 ccm dialysierte Ferment-Lösung A bei 37°. Titrationsen nach Bertrand mit je 5 ccm.

⁹⁾ Ebenso werden das natürliche Inulin und das leichtlösliche Verseifungsprodukt seines Acetates von Inulase gleich schnell gespalten (H. Pringsheim und R. Perewosky, H. 153, 138 [1926]). Auch zwischen Lichenin und Lichosan ist der Unterschied im Verhalten gegenüber der Malz-Lichenase — sofern überhaupt vorhanden — nur gering (H. Pringsheim und A. Beiser, Bio. Z. 172, 411 [1926]).

¹⁰⁾ Oppenheimer-Kuhn, Die Fermente und ihre Wirkungen, 5. Aufl. (Leipzig, 1924), Bd. I, S. 285.

pH	Stdn.	ccm n_{10} -KMnO ₄	% Glucose	pH	Stdn.	ccm n_{10} -KMnO ₄	% Glucose
2.5	0	0.35	—	4.5	0	0.45	—
	5	0.4	—		5	2.05	18.0
	24	0.45	—		24	2.45	22.8
3.0	48	0.4	—	48	2.65	24.7	
	0	0.4	—	5.0	0	0.3	—
	5	0.65	2.8		5	1.4	12.5
24	0.7	3.4	24		1.8	17.1	
3.5	48	0.75	3.8	48	1.95	18.7	
	0	0.35	—	6.0	0	0.45	—
	5	0.95	6.7		5	1.05	6.7
24	1.0	7.2	24		1.20	8.5	
4.0	48	1.05	7.8	48	1.40	10.9	
	0	0.4	—	7.0	0	0.45	—
	5	1.4	13.4		5	0.70	2.9
24	1.65	14.3	24		1.05	6.7	
48	1.7	14.9	48	1.20	8.5		

2. 15 ccm 1-proz. Diamylose-Lösung + 5 ccm Puffer-Lösung + 10 ccm dialysierte Ferment-Lösung B bei 37°. Titrations mit je 5 ccm nach 24 Stdn. (die Anfangs-Bestimmungen ergaben kein Reduktionsvermögen).

pH	ccm n_{10} -KMnO ₄	% Glucose
3.0	0.7	8.3
4.0	3.0	35.5
5.0	3.5	41.4
6.0	1.8	21.3

3. 15 ccm 1-proz. β -Hexaamylose-Lösung + 10 ccm Puffer-Lösung + 5 ccm nicht-dialysierte Ferment-Lösung B bei 37°. Titrations mit je 5 ccm.

pH	Stdn.	ccm n_{10} -KMnO ₄	Zuwachs	% Glucose
3.5	0	2.9	—	—
	24	4.0	1.1	13.0
	48	4.6	1.7	20.1
4.0	0	2.8	—	—
	24	5.3	2.5	29.6
	48	6.1	3.3	39.0
4.5	0	2.8	—	—
	24	5.9	3.4	36.7
	48	7.1	4.8	56.8
5.0	0	2.8	—	—
	24	5.0	2.2	26.0
	48	4.4	1.6	18.9
6.0	0	2.8	—	—
	24	4.4	1.6	18.9
	48	5.2	2.4	28.4

Bei allen drei angeführten Versuchsreihen überzeugten wir uns durch Kontrollversuche, daß die Ferment-Lösungen allein unter dem Einfluß entsprechender pH- und Temperatur-Bedingungen keinen Zuwachs ihres Reduktionsvermögens erfahren.

Vergleichende Versuche über die Wirksamkeit der Polyamylasen.

Sofern nicht anderes angegeben, wurde jeder Versuch folgendermaßen angesetzt: 15 ccm 1-proz. Substrat-Lösung + 10 ccm Phosphat-Puffer ($p_H = 4.5$) + 5 ccm Ferment-Lösung; Versuchs-Temperatur 37° ; Titrationsen mit je 5 ccm.

4. Ferment-Lösung: 60 mg Ferment-Präparat B, gelöst in 20 ccm, undialysiert.

Zeit in Stdn.	Diamylose			Tetraamylose		
	ccm $n_{/10}$ -KMnO ₄	Zuwachs	% Glucose	ccm $n_{/10}$ -KMnO ₄	Zuwachs	Glucose %
0	2.7	—	—	2.6	—	—
6	4.1	1.4	16.6	4.2	1.6	18.9
24	5.6	2.9	34.3	5.7	3.1	36.7
48	6.3	3.6	42.6	6.2	3.6	42.6
	Triamylose			β -Hexaamylose		
0	2.7	—	—	2.7	—	—
24	6.8	4.1	48.5	6.9	4.2	49.7
48	8.7	6.0	71.0	8.9	6.2	73.4

Verhältnis der Spaltungsgrade für Tetra- und für Hexaamylose nach 24 Stdn.

$$\frac{Sp_T}{Sp_H} = \frac{36.7}{49.7} = 0.74.$$

5. Ferment-Lösung: 60 mg Ferment-Präparat B, in wenig Wasser gelöst, 24 Stdn gegen destilliertes Wasser dialysiert, auf 20 ccm aufgefüllt.

Zeit in Stdn.	Tetraamylose		β -Hexaamylose	
	ccm $n_{/10}$ -KMnO ₄	% Glucose	ccm $n_{/10}$ -KMnO ₄	% Glucose
0	0.0	—	0.0	—
24	2.8	33.1	3.2	37.9
48	3.2	37.9	4.9	58.0

$$\frac{Sp_T}{Sp_H} = \frac{33.1}{37.9} = 0.88.$$

6. Ferment-Lösung: 25 mg Präparat C, dialysiert.

Zeit in Stdn.	Diamylose		Tetraamylose		β -Hexaamylose	
	$n_{/10}$ -KMnO ₄	Glucose	$n_{/10}$ -KMnO ₄	% Glucose	$n_{/10}$ -KMnO ₄	% Glucose
Std.	ccm	%	ccm	%	ccm	%
0	0.0	—	0.0	—	0.0	—
5	1.0	11.4	1.2	13.6	—	—
24	2.3	26.3	2.5	28.6	4.2	47.8
48	2.5	28.6	2.6	29.6	6.4	62.4
96	—	—	—	—	7.95	92.2

$$\frac{Sp_T}{Sp_H} = \frac{28.6}{46.4} = 0.59.$$

7. Ferment-Lösung: 200 mg Präparat C, undialysiert.

Zeit in Stdn.	Tetraamylose		
	ccm n_{10} -KMnO ₄	Zuwachs	% Glucose
0	6.05	—	—
24	10.45	4.40	50.3
48	10.90	4.85	55.6

8. Fermentlösung, enthaltend 150 mg, dialysiert. Nach der 2. Titration wurden weitere 100 mg Ferment zugegeben und die Bestimmung sofort wiederholt.

Zeit in Stdn.	Tetraamylose		
	ccm n_{10} -KMnO ₄	Zuwachs	% Glucose
0	5.4	—	—
24	8.8	3.4	38.4
24	11.75	3.4*)	38.4
48	14.75	6.4*)	73.6
96	14.95	6.6*)	75.9

*) Korrigiert.

9. Ferment-Lösung: 200 mg Präparat D, undialysiert.

Zeit in Stdn.	Triamylose			β -Hexaamylose		
	ccm n_{10} -KMnO ₄	Zuwachs	% Glucose	ccm n_{10} -KMnO ₄	Zuwachs	% Glucose
0	4.65	—	—	4.65	—	—
48	13.10	8.45	98.5	13.35	8.70	101.5

Aus den Restflüssigkeiten aller Versuche der Versuchsreihen 4–9 konnten beim Erhitzen mit Phenyl-hydrazin und Essigsäure reichliche Mengen Glucosazon abgeschieden werden; wasser-lösliche Osazone entstanden daneben nicht.

Untersuchung der unvollständigen α -Polyamylosen-Spaltung.

10. Hemmung der Tetraamylose durch Glucose:

a): 10 ccm 1-proz. Tetraamylose-Lösung + 10 ccm Phosphat-Puffer (pH = 4.5) + 5 ccm Ferment-Lösung B, dialysiert; 37°; Titrationsen mit je 5 ccm. — b): wie a) + 50 mg Glucose.

Zeit in Stdn.	a)			b)		
	ccm n_{10} -KMnO ₄	Zuwachs	% Glucose	ccm n_{10} -KMnO ₄	Zuwachs	% Glucose
0	0.4	—	—	3.5	—	—
24	2.6	2.2	33.2	4.4	0.9	13.2
48	3.1	2.7	39.5	4.7	1.2	17.6

11. 2 g Tetraamylose + 50 ccm Phosphat-Puffer (pH = 4.5) + 100 ccm Ferment-Lösung (enthaltend 700 mg Präparat B, dialysiert) auf 300 ccm aufgefüllt; 37°; Titrationsen mit je 5 ccm. Nach 96 Stdn. kam die Spaltung

zum Stillstand, nachdem die Lösung ein Reduktionsvermögen entsprechend einer 46-proz. Glucose-Bildung erreicht hatte. Die Lösung wurde bis zur Vertreibung des Toluols auf dem Wasserbade erhitzt, hierauf mit Preßhefe versetzt, nach vollendeter Gärung filtriert, mit Eisenhydroxyd-Lösung geklärt und zum Sirup eingedampft, der auf Alkohol-Zusatz sofort krystallinisch erstarrte. Nach dem Umkrystallisieren aus heißem verd. Alkohol konnte der erhaltene Körper durch Krystallform, spez. Drehung und die charakteristischen blaugrünen Nadeln seines Jod-Additionsproduktes als unveränderte Tetraamylose identifiziert werden:

$$[\alpha]_D = +0.29^0 \times 10/0.5 \times 0.042 = +138.1^0 \text{ (Wasser).}$$

Mol.-Gew.-Bestimmung in Wasser: $K=1860$, $p=0.72\%$, $\Delta=0.021^0$, $M=638$, ber. 648.

12. Bei einem zweiten analogen Versuch wurde die Lösung nach Erreichung eines konstanten Reduktionswertes von 43-proz. Glucose mit Trichlor-äthylen geschüttelt, das alle Polyamylosen selbst aus verdünntester Lösung als wohlkrystallisierte, leicht filtrierbare Additionsprodukte fällt. Die filtrierte Lösung hinterließ beim Eindampfen im Vakuum einen Sirup, der nach der Behandlung mit Alkohol und Alkohol-Äther reine Glucose ($[\alpha]_D = +55^0$) ergab.

Adsorptionsversuche.

13. 0.7 g Ferment-Präparat A, in wenig Wasser gelöst, wurden 24 Stdn. durch eine Fischblase gegen destilliertes Wasser dialysiert, hierauf auf 100 ccm aufgefüllt: Lösung a.

50 ccm Lösung a wurden mit 10 ccm Alkohol versetzt und durch 5 ccm Phosphat-Puffer auf $p_H = 6.0$ eingestellt und 15 Min. mit β -Aluminiumhydroxyd¹¹⁾ geschüttelt, hiernach filtriert und durch Zugabe von 5 ccm Citrat-Puffer auf $p_H = 4.5$ gebracht: Lösung b.

Ansätze: 150 mg Substrat, 10 ccm Phosphat-Puffer ($p_H = 4.5$), 5 ccm a) bzw. 7 ccm b), aufgefüllt auf 30 ccm.

Ferment-Lösung	Zeit in Stdn.	Stärke	Maltose		Tetraamylose		β -Hexaamylose	
		ccm $n/10$ - KMnO ₄ ¹²⁾	ccm $n/10$ - KMnO ₄	% Spaltung	ccm $n/10$ - KMnO ₄	% Spaltung	ccm $n/10$ - KMnO ₄	% Spaltung
a)	0	0.0	3.9	—	0.0	—	0.0	—
	24	5.3	6.2	56.1	3.4	40.2	4.8	56.8
	48	5.7	7.1	78.0	3.7	43.8	6.0	71.0
b)	0	0.0	4.0	—	0.0	—	0.0	—
	24	0.2	4.4	9.7	3.1	36.7	3.8	45.0
	48	0.2	4.5	12.2	3.1	36.7	5.1	60.4

$$\frac{Sp_T}{Sp_H} = 0.71 \text{ (für a), } 0.82 \text{ (für b).}$$

Ohne Alkohol-Zusatz gelang die Abtrennung der Amylase und Maltase weniger gut.

¹¹⁾ Wir verwendeten die von H. Fringsheim und A. Beiser (vergl. Bio. Z. **172**, 411 [1926]) nach R. Willstätter, H. Kraut und O. Erbacher (B. **58**, 2458 [1925]) dargestellten Präparate. ¹²⁾ siehe Seite 2745.

14. Ansätze: 250 mg Substrat, 10 ccm Phosphat-Puffer ($p_H = 4.5$), 15 ccm Lösung b).

Zeit in Stdn.	Maltose		β -Hexaamylose	
	ccm n_{10} -KMnO ₄	% Spaltung	ccm n_{10} -KMnO ₄	% Spaltung
0	7.7	—	0.0	—
24	8.5	10.1	8.9	54.0

Nach 24 Stdn. wurde das Hexaamylose-Hydrolysat mit Phenylhydrazin und Essigsäure erhitzt. Es fiel reichlich Glucosazon (Sdp. 206⁰) aus, das in der Hitze abfiltriert wurde. Aus dem erkalteten Filtrat schied sich nur eine geringe Menge schmieriger Flocken aus, die sich durch Umlösen aus Wasser nicht reinigen ließen.

An den Präparaten B und C ließ sich auf diesem Wege keine so weitgehende Ferment-Fraktionierung durchführen: von β -Aluminiumhydroxyd wurde nicht mehr als $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$ der Amylase und $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{2}$ der Maltase adsorbiert.

Versuche zur Ferment-Fraktionierung mit α -Aluminiumhydroxyd und Metaaluminiumhydroxyd verliefen negativ.

Mit Kaolin lassen sich die Polyamylasen aus alkalischer, weniger gut aus neutraler oder saurer Lösung adsorbieren.

15. 60 mg Ferment-Präparat B, gelöst in 20 ccm Wasser + 5 ccm Phosphat-Puffer ($p_H = 8$), geschüttelt mit Kaolin Kahlbaum, nach $\frac{1}{2}$ -stdg. Stehen bei Zimmer-Temperatur filtriert, Filtrat durch Zusatz von 5 ccm Citrat-Puffer ($p_H = 3$) auf $p_H = 5$ eingestellt.

Ansätze: 10 ccm Ferment-Lösung + 5 ccm Phosphat-Puffer ($p_H = 4.5$), aufgefüllt auf 30 ccm; 37⁰. Titrationsen mit je 5 ccm.

Substrat	Zeit in Stdn.	ccm n_{10} -KMnO ₄	Zuwachs	% Spaltung
200 mg Maltose	0	6.30	—	—
	24	9.80	3.50	60
150 mg Tetraamylose	0	0.65	—	—
	24	1.45	0.80	9.5
	48	1.60	0.95	11.2
150 mg β -Hexaamylose.....	0	0.50	—	—
	24	0.65	0.15	1.8
	48	0.75	0.25	3.0

$$\frac{SP_T}{SP_H} = 5.3.$$

Alle Versuche, die adsorbierten Polyamylasen mit saurem, neutralem oder alkalischem Phosphat, reinem oder kohlensäure-gesättigtem Wasser zu eluieren, hatten keinen Erfolg. Auch der Kaolin-Niederschlag als Ganzes,

¹²⁾ Der Grad der Spaltung kann nicht direkt bestimmt werden, da wohl Maltose und Glucose nebeneinander entstehen.

16. 60 mg Ferment-Präparat C, behandelt wie unter 14. Ansätze wie unter 15.

Substrat	Zeit in Stdn.	ccm $n/_{10}$ -KMnO ₄	Zuwachs	% Spaltung
80 mg Maltose	0	3.0	—	—
	24	3.7	0.7	30.4
	48	4.4	1.4	60.9
150 mg Tetraamylose	0	0.90	—	—
	24	1.00	—	—
	48	0.95	—	—
150 mg β -Hexaamylose	0	0.80	—	—
	24	0.75	—	—
	48	0.90	—	—

in Tetraamylose- oder Hexaamylose-Lösung suspendiert, zeigte keine enzymatische Aktivität. Die Polyamylasen im Adsorbat fallen offenbar sehr rasch der Zerstörung anheim.

17. Adsorption von Präparat C bei $p_H = 7$. Ausführung und Versuchsansätze wie unter 15.

Substrat	Zeit in Stdn.	ccm $n/_{10}$ -KMnO ₄	Zuwachs	% Spaltung
80 mg Maltose	0	3.00	—	—
	24	4.50	1.50	68
150 mg Tetraamylose	0	0.90	—	—
	24	3.00	2.10	24.8
60 mg β -Hexaamylose	0	0.55	—	—
	24	3.30	2.75	80.9

$$\frac{Sp_T}{Sp_H} = 0.31.$$

440. K. Scharrer: Zur Trennung des Chlorats vom Perchlorat.

[Aus d. Agrikulturchem. Institut d. Hochschule für Landwirtschaft und Brauerei Weihenstephan bei München.]

(Eingegangen am 30. Oktober 1926.)

Von den vielen Methoden¹⁾, die sich die Trennung des Chlorats vom Perchlorat zur Aufgabe setzen, erfüllen nur wenige das vom Analytiker anzustrebende Ziel: Verbindung einer möglichst einfachen, leicht durchzuführenden, mithin eleganten Arbeitsweise bei gleichzeitiger Erreichung größtmöglicher Genauigkeit. Erst in der letzten Zeit wurden, gleichsam zur Bestätigung des „Gesetzes der Serie“, eine Anzahl wirklich schöner Verfahren ausgearbeitet, nämlich von L. Hahn einerseits, K. A. Hofmann in Gemeinschaft mit Fr. Hartmann und U. Hofmann andererseits, und schließlich

¹⁾ Lunge-Berl, Chemisch-technische Untersuchungsmethoden, Bd. I, S. 791 ff., 1013, Bd. II, S. 1205, 1206; J. König, Die Untersuchung landwirtschaftlich wichtiger Stoffe, S. 260 (Berlin 1923).