

Mitteilung aus dem Institut für organische Chemie und Biochemie der
Universität Stockholm

Der enzymatische Abbau der Stärke und der Bau der Stärkemakromoleküle*)

Von **Karl Myrbäck**

Mit 12 Abbildungen

(Eingegangen am 1. Dezember 1942)

Die heute geläufigen Ansichten über den Bau der Stärke fußen fast ausschließlich auf Ergebnissen organisch-chemischer bzw. physikalisch-chemischer Arbeiten. Über den enzymatischen Abbau der Stärke liegen zwar unzählige Arbeiten vor; nur vereinzelt wurde aber versucht, aus den Ergebnissen der enzymatischen Spaltung Rückschlüsse auf den Bau des Substrates zu ziehen. Und doch zeigt die Wirkung der stärke-spaltenden Enzyme viele auffallende Eigentümlichkeiten, die ihrer Klärung harren. Die enzymatische Zerlegung der Stärke, ist, wie wir schon lange wissen, sehr kompliziert; sie verläuft z. B. in keiner Weise so übersichtlich, wie die enzymatische Spaltung eines einfachen Glykosids.

Meine Überzeugung ist, daß die Besonderheiten des enzymatischen Stärkeabbaues mit dem Bau des Substrates direkt zusammenhängen. Sie sind nicht etwa durch Eigenschaften der Amylasen bedingt, die diese von den Glykosidasen prinzipiell unterscheiden sollten. Vielmehr sind die Amylasen ganz normale, spezifische Glykosidasen, die normale Glykosidbindungen zwischen Glucoseresten lösen. Ob eine Glykosidbindung in der Stärke von einem bestimmten Enzym gelöst wird oder nicht, hängt von der Art der Glykosidbindung (Maltosebindung, Iso-

*) Diese Übersicht wurde auf Grund von Vorträgen über den Bau und enzymatischen Abbau der Stärke in Freiburg i. Br., Tübingen, Heidelberg und Berlin-Dahlem (Juni 1942) ausgearbeitet.

maltosebindung usw.) und von der Lage der Bindung im Substratmolekül (ob endständig, ob in der Nähe einer Anomalie usw.; vgl. weiter unten) ab.

Es steht fest, daß die Stärke als Grundkohlenhydrat nur d-Glucose enthält, nebst geringen Mengen von organisch gebundener Phosphorsäure und anderen Säuren¹⁾. Die Stärke ist makromolekular gebaut, der Polymerisationsgrad ist hoch; dabei sei nur kurz auf die Arbeiten Staudingers²⁾ hingewiesen, sowie auf die Molekulargewichtsbestimmungen von Lamm³⁾ in der Ultrazentrifuge. Das Stärkemolekül ist prinzipiell ein Kettenmolekül, in dem die Glucosereste durch gewöhnliche Glykosidbindungen aneinander geknüpft sind. Andere Bindungen kommen nicht vor, von den Esterbindungen der Säuren abgesehen. Die Stärke ist uneinheitlich, erstens in dem Sinne, daß sie ein Gemisch von Polymerhomologen ist^{2, 3)}, zweitens in dem Sinne, daß man aus ihr Fraktionen gewinnen kann, die sich auch in anderer Weise unterscheiden, als nur durch das Molekulargewicht.

Es steht fest, daß die Stärke zum großen Teil aus Maltose-resten aufgebaut sein muß, denn

a) entstehen bei der Spaltung der Stärke durch die gewöhnlichen Amylasen große Mengen von Maltose, oft 80% oder sogar mehr. Die Maltose ist dabei als ein primäres Spaltsprodukt anzusehen und ist nicht etwa durch Synthese gebildet (siehe weiter unten),

b) entstehen bei der Säurehydrolyse bzw. Acetolyse Maltose bzw. Derivate derselben in etwa den berechneten Mengen,

c) entstehen bei der Behandlung mit Acetylbromid nach Karrer⁴⁾ [vgl. auch Myrbäck⁵⁾ und Freudenberg⁶⁾] große Mengen von Acetobrommaltose.

Auch die Glykosidbindungen zwischen den Maltoseresten müssen zum großen Teil Maltosebindungen (α -glykosidische 1,4-Bindungen) sein. Es steht mit anderen Worten fest, daß die Glykosidbindungen der Stärke größtenteils Maltosebindungen sein müssen. Dies geht daraus hervor, daß man wie Haworth und Mitarbeiter⁷⁾ und viele andere Forscher (besonders K. Hess und K. H. Meyer) gezeigt haben, bei der Hydrolyse der permethylierten Stärke sehr große Mengen (90%) von 2,3,6-Tri-

methylglucose erhält. Daß fast alle Glykosidbindungen der Stärke derselben Art sein müssen, geht weiter besonders aus den Versuchen Freudenberg's⁸⁾ über die Säurehydrolyse und die optischen Eigenschaften hervor.

Wenn also angenommen werden kann, daß mindestens 90% der Glykosidbindungen Maltosebindungen sind, ist es dann berechtigt zu schließen, daß überhaupt nur Maltosebindungen in der Stärke vorhanden sind? Ist dies der Fall, so müssen die Kettenmoleküle einfach, ohne Verzweigungen gebaut sein. Höchstens könnten geschlossene Ringe vorkommen. Wenn aber außer den Maltosebindungen noch Glykosidbindungen anderer Art vorhanden sind, so könnten die Ketten eventuell verzweigt sein oder es könnten z. B. Ringe mit Seitenketten vorkommen. Dabei wäre in beiden Fällen noch zu bestimmen, wie groß die Zahl der miteinander verknüpften Glucosereste ist und ob die Kettenmoleküle, einfach oder verzweigt, nach einem besonderen Muster zusammengewickelt sind, ähnlich wie man sich wohl den Bau der Sphäroproteine vorzustellen hat. Schließlich könnten ja unter Umständen mehrere Ketten durch andere Kräfte als Hauptvalenzbindungen zu größeren Teilchen verknüpft sein.

Der Polymerisationsgrad eines Polysaccharids läßt sich bekanntlich unter gewissen Voraussetzungen aus der Endgruppenbestimmung berechnen, und viele sorgfältige Untersuchungen haben ja außer Zweifel gestellt, daß man aus der Trimethylstärke 4—5% Tetramethylglucose erhält [vgl. jedoch Hess⁹⁾]. Daraus hat bekanntlich Haworth den Schluß gezogen und lange verteidigt, daß das Stärkemolekül eine Kette von nicht mehr als etwa 25 Glucoseeinheiten ist. Durch diese Annahme gerät man aber in einen auffallenden Widerspruch mit vielen anderen Befunden über Eigenschaften der Stärke. Sie reduziert nicht, die Lösungen haben eine hohe Viscosität usw. Haworth hat zwar versucht¹⁰⁾ den Widerspruch durch speziellere Annahmen zu umgehen; zweifelsohne sollte aber, wie von Staudinger¹¹⁾ hervorgehoben wurde, das Problem nicht, wie Haworth es tut, folgendermaßen formuliert werden: „Die Stärke hat einen Polymerisationsgrad von 25; wie kommt es dann, daß sie nicht reduziert?“, sondern folgendermaßen: „Die Stärke ist makromolekular mit einem sehr hohen Mole-

kulargewicht; wie kommt es dann, daß man aus der Methylstärke 4—5% Tetramethylglucose erhält?“

Offenbar fußt die Berechnung des Polymerisationsgrades aus der Endgruppenbestimmung auf der Annahme, daß die Kettenmoleküle einfach, ohne alle Verzweigungen sind. Kommen Verzweigungen vor, so gibt die Endgruppenbestimmung ein zu niedriges Molekulargewicht. (Kommen Ringe vor, so gibt die Endgruppenbestimmung ebenfalls ein falsches Molekulargewicht.

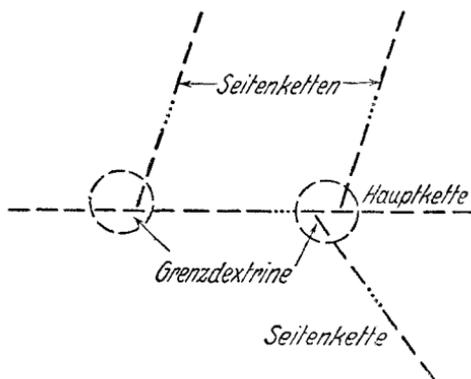


Abb. 1

Daß Ringe in der Stärke vorkommen sollten, wird jedoch von keiner Seite behauptet. (Siehe weiter unten.) Auf Grund von vergleichenden osmotischen und viscosimetrischen Messungen und anderen Überlegungen stellten (1937) Staudinger und Husemann¹¹⁾ ihre bekannte Stärkeformel auf, nach der das Stärkemolekül aus einer relativ kurzen Hauptkette besteht, die mit Seitenketten dicht besetzt ist. In demselben Jahre wurde von mir (Abb. 1) die Verzweigung der Stärkemoleküle als eine Ursache der Grenzextrinbildung angegeben*). Nimmt man an, daß in der Formel von Staudinger und Husemann die Seitenketten eine mittlere Länge von etwa 20 Glucoseres-

*) Diese Arbeit [Current Sci. 6, 47 (1937)] wurde schon 1936 nach Indien geschickt. Aus erklärlichen Gründen wurde sie erst 1937 veröffentlicht, so daß die Arbeit von Staudinger und Husemann bei der 2. Korrektur berücksichtigt werden konnte. Beweise für die Existenz der Verzweigungen haben zweifelsohne zuerst Staudinger und Husemann erbracht.

haben, so erklärt die Formel zwanglos die bekannte Ausbeute an Tetramethylglucose, das hohe Molekulargewicht, die fehlende Reduktionsfähigkeit, die Viscosität der Lösungen usw.

Kommen aber in den Stärkemolekülen Verzweigungen der Ketten vor, so muß man bei der Hydrolyse der Trimethylstärke nicht nur Tetramethyl- und Trimethylglucose, sondern auch Dimethylglucose erhalten, und zwar in einer Menge, die der der Tetramethylglucose ungefähr entspricht. In gewissen älteren Arbeiten wurde auch Dimethylglucose isoliert¹²⁾. Wie aber aus Arbeiten des Freudenberg'schen Laboratoriums¹³⁾ hervorgeht, ist die Isolierung und Bestimmung dieser Dimethylglucose sehr schwierig, und Schlüsse dürfen nur mit Vorsicht gezogen werden. Bei der Isolierung der Methylzucker als Methylglucoside tritt nämlich eine teilweise Entmethylierung der Trimethylglucose zu Dimethylglucose ein. Immerhin konnte aus den Versuchen der Schluß gezogen werden, daß normal bei der Hydrolyse vollmethylierter Stärke eine gewisse Menge von 2,3-Dimethylglucose entsteht und daß also in der Stärke Verzweigungen vorkommen, wobei die Seitenketten die Stellung 6 an der Hauptkette einnehmen.

Hier muß nun die Frage über die Uneinheitlichkeit der Stärke berücksichtigt werden. Man weiß ja lange, daß die native Stärke in Fraktionen von recht verschiedenen Eigenschaften aufgeteilt werden kann. Fraktionen, die ganz dünnflüssige Lösungen ohne Kleisterbildung geben, die wenig oder keine Phosphorsäure enthalten, nannte man Amylose; der kleisterbildende, phosphorreichere Anteil erhielt den Namen Amylopektin. Es ist zu betonen, daß die nach gewissen in der Literatur angegebenen Methoden gewonnene „Amylose“ gar keine Amylose ist. Manchmal erhält man z. B. eine Art Amylose, die mehr Phosphorsäure enthält als die Stärke¹⁴⁾. Vielleicht sind Amylose und Amylopektin nur als Extremfraktionen zu betrachten, zwischen welchen alle Übergänge existieren. Nach einer schonenden Extraktionsmethode gewann K. H. Meyer¹⁵⁾ eine Amylose, die von den Amylasen, besonders von der pflanzlichen α -Amylase fast zu 100% in Maltose zerlegt wird. Diese Amylose gibt bei der Endgruppenbestimmung sehr wenig Tetramethylglucose. K. H. Meyer zieht den Schluß, daß die Amylosemoleküle unverzweigte Ketten von mindestens 300 Glucose-

resten sind. Das Amylopektin soll dagegen ein stark verzweigtes Molekül haben. K. Hess¹⁶⁾ ist dagegen der Ansicht, daß auch die Amylosemoleküle verzweigt sind, jedoch viel schwächer als die des Amylopektins (vgl. unten).

Bei der enzymatischen Spaltung der Stärke durch die gewöhnlichen Amylasen entsteht immer als Hauptprodukt die Maltose. (Unter gewöhnlichen Amylasen verstehe ich die Amylasen der höheren Pflanzen, vor allem die der Getreidekörner, ferner die Amylasen der Schimmelpilze vom Typus der Taka-diastase und schließlich die tierischen Speichel- und Pankreas-amylasen). Die Umwandlung der Stärke in Maltose ist nie vollständig; man erreicht eine sogenannte Verzuckerungsgrenze, die mehr oder weniger scharf ist. Je nach dem Enzympräparat erhält man 60 bis etwa 90% Maltose. (Nebenbei sei bemerkt, daß man die Maltoseausbeute fast immer aus der Reduktion der Versuchsmischung berechnet, was selbstverständlich nicht ohne weiteres einwandfrei ist, weil fast immer nebst Maltose auch Glucose und reduzierende Dextrine entstehen. Durch Gärversuche können aber Maltose und Glucose für sich bestimmt werden¹⁷⁾). Die Nichtberücksichtigung der Glucosebildung kann selbstverständlich zu beträchtlichen Fehlern in der Berechnung der Maltoseausbeute führen. Dasselbe gilt für die Grenzdextrine, die meistens 3—6 Glucosereste enthalten und eine dementsprechend hohe Reduktion zeigen. Nach neuen unveröffentlichten Versuchen aus diesem Laboratorium ist die Maltotriose vergärbar (siehe weiter unten).

Das Aufhören der Stärkespaltung vor der 100%-igen Verzuckerung beruht, wie wir ja schon lange wissen, nicht auf Ausbildung eines Gleichgewichts oder auf Inaktivierung der Enzyme. Die Verzuckerung hört vielmehr auf, weil neben der Maltose Stoffe gebildet werden, die von dem betreffenden Enzym nicht (oder jedenfalls nur außerordentlich langsam, siehe unten) weiter angegriffen werden. Das sind die sogenannten Grenzdextrine. Eine Amylase erzeugt aus Stärke nie ein einheitliches Grenzdextrin, sondern ein Gemisch, in welchem Saccharide mit verschiedenen Molekulargewichten, vielleicht zum Teil auch prinzipiell verschiedenem Bau vorhanden sind. Eine Arbeit mit Gemischen von solchen, einander sehr nahe-

stehenden Sacchariden, ist selbstverständlich mühsam und wenig anregend; eine nähere Kenntnis der Natur der Grenz-dextrine ist aber für das Stärkeproblem sehr wesentlich.

Es ist dabei zunächst zu untersuchen, inwieweit es berechtigt ist, aus Kenntnissen der Konstitution enzymatischer Spaltprodukte auf die Konstitution der Stärke zu schließen. Wenn man beispielsweise finden sollte, daß ein Grenz-dextrin eine β -glykosidische Bindung enthält, ist das ein Beweis dafür, daß die Stärke β -glykosidische Bindungen enthält? Die Frage kann auch so gestellt werden: Sind die durch die Amylasen erzeugten Stoffe primäre Spaltprodukte; sind sie in sonst unveränderter Form herausgeschnittene Stücke der Stärkemoleküle? Es sei an die Annahme von Pringsheim¹⁸⁾ erinnert, daß die Amylasen bei der Stärkespaltung als Primärprodukt eine labile Glucoseform erzeugen, aus der spontan sowohl die Maltose als die Grenz-dextrine durch Zusammentreten der radikalartigen Zuckerreste entstehen. Wäre diese Auffassung richtig, so könnte man selbstverständlich aus der Konstitution der Spaltprodukte, wäre sie noch so eingehend bekannt, keine Schlüsse auf den Bau der Stärke ziehen. Die moderneren Untersuchungen haben aber außer Zweifel gestellt, daß die Maltose ein primäres Spaltprodukt ist; sie entsteht direkt aus den Ketten ohne intermediäre Bildung labiler Monosaccharide. (Es sei hinzugefügt, daß es kein Wunder ist, daß Maltose und nicht Glucose entsteht, auch wenn sämtliche Glykosidbindungen in der Stärke derselben Art sind. Die terminalen Bindungen sind ja durch ihre Lage von der anderen verschieden). Es ist auch leicht zu zeigen, daß die Amylasegrenzdextrine Primärprodukte sind; sie sind freigesetzte Stücke der Stärkekettensmoleküle, die aus besonderen Gründen von den Amylasen nicht weiter gespalten werden.

Es ist aber in diesem Zusammenhang notwendig, darauf hinzuweisen, daß es wahrscheinlich einen Fall gibt, in dem Spaltprodukte der Stärke entstehen, die in den Kettenmolekülen nicht vorgebildet sind. Dies ist die Stärkespaltung durch den *Bacillus macerans*. Schardinger¹⁹⁾ zeigte, daß dieser Mikroorganismus die Stärke zum großen Teil in nichtreduzierende kristallisierende Dextrine verwandelt. Wichtig ist, wie von Tilden und Hudson²⁰⁾ und von Freudenberg

gezeigt wurde, daß dieselbe Umwandlung auch mit sterilfiltrierter Kulturflüssigkeit des Bazillus, also durch ein Enzym, eintritt. Bis zu 40% der Stärke können als Schardingerdextrine gefaßt werden. Aus den Freudenbergschen Arbeiten²¹⁾ geht hervor, daß die Schardingerdextrine ringförmig gebaut sind mit je 5 oder 6, in seltenen Fällen vielleicht 7 oder 8 Glucoseeinheiten im Ring. Sie enthalten nur Maltosebindungen. Da nun in der Stärke solche Ringe zu einer Menge von 40% unmöglich vorkommen können, so wird geschlossen, daß sie bei der Spaltung durch Umglucosidierung in der Weise entstehen, daß das Enzym aus den Ketten der Stärke Spaltstücke von 5 oder 6 Glucoseresen ablöst, wobei unter dem Einfluß des Enzyms die beiden Enden des Spaltstücks zu einer Maltosebindung zusammentreten²²⁾. In diesem Spezialfalle entstehen also Stoffe, die in der Stärke nicht vorgebildet sind. Ohne weiteres darf man also gar nicht aus der Konstitution der Spaltprodukte auf die Konstitution der Stärke schließen.

Selbstverständlich gilt dies auch bezüglich der Konfiguration der reduzierenden Gruppe reduzierender Spaltprodukte. Bekanntlich setzt, wie besonders von R. Kuhn²³⁾ gezeigt wurde, die pflanzliche Saccharogenamylase (β -Amylase) die Maltose in der β -Form frei, während alle anderen Amylasen α -Maltose erzeugen. Weder das eine noch das andere berechtigt zu Schlüssen über die Konfiguration der Glykosidbindungen in der Stärke. Aus anderen Gründen wissen wir, daß alle Bindungen α -Bindungen sind. Warum eben bei der Saccharogenamylase eine Umkehr eintritt, ist noch unklar.

Die gewöhnlichen Grenzdextrine sind aber primäre Spaltprodukte und nicht durch Synthese entstanden. Sie enthalten alle je eine reduzierende Gruppe pro Mol. Ihre Menge ist unabhängig von der Enzymmenge (vorausgesetzt, daß keine dextrinspaltenden Fermente anwesend sind, siehe unten). In den Grenzdextrinen häufen sich die Nichtkohlehydratbestandteile der Stärke, vor allem die Phosphorsäure an. Die meisten Amylasen geben, wie wir sehen werden, ganz niedrigmolekulare Grenzdextrine, nur die Saccharogenamylase gibt ein hochmolekulares. Die Ursache für die Bildung der Grenzdextrine ist der Bau der Stärke. Bei unseren Stärkearbeiten war die folgende Arbeitshypothese leitend²⁴⁾: Wir nahmen an, daß die

gewöhnlichen Amylasen nur solche Ketten bzw. Kettenteile verzuckern können, die ganz nach dem einfachen Maltose-schema, d. h. nach der Stärkeformel von Haworth aufgebaut sind. Der Umstand, daß die Stärke nicht vollständig verzuckert wird, zeigt unserer Auffassung nach, daß in den Stärkemolekülen hier und da Abweichungen von diesem Schema vorkommen, Anomalien, wie wir sie nannten. Als solche wurden in Betracht gezogen: Substitution einzelner OH-Gruppen durch Säuren, Verzweigungen der Ketten, Anwesenheit anderer Bindungen als Maltosebindungen (die ja an sich vorkommen könnten, ohne daß die Ketten verzweigt sein müssen) usw. Wir nahmen weiter an, daß die gewöhnlichen Amylasen auf die anormal gebauten Teile der Stärkemoleküle ohne Wirkung sind, so daß eben diese Teile als Grenzdextrine zurückbleiben. Nehmen wir z. B. an, daß in einem Stärkemolekül irgendwo eine andere Bindung als eine Maltosebindung vorkommt. Die Amylasen vermögen also diese Bindung nicht zu lösen, und auch die in unmittelbarer Nähe befindlichen normalen Maltosebindungen werden von der anormalen Bindung so beeinflußt (sie werden sozusagen zu terminalen Bindungen), daß sie unangegriffen bleiben. Bei der Spaltung wird dann ein Stück der Kette übrig bleiben, das die anormale und vielleicht 2—4 normale Bindungen enthält. Eine Schlußfolgerung aus dieser Hypothese ist, daß die Anomalien der Stärkemoleküle in den Grenzdextrinen stark angereichert vorkommen müssen. Durch die Amylase-wirkung werden die trivialen Teile der Stärkemoleküle verzuckert und können durch Vergärung beseitigt werden, während die interessanteren Teile als Grenzdextrine zurückbleiben.

Man könnte möglicherweise denken, daß die Grenzdextrine einfach deshalb gebildet werden, weil die Amylasen ganz kurze Ketten überhaupt nicht angreifen können. Die Enzyme sollten aus den langen Ketten Maltose-molekül nach Maltosemolekül abspalten, bis ein Stückchen übrig wäre, zu dem das Enzym vielleicht keine Affinität mehr hätte. So liegen die Verhältnisse aber nicht. Wenn man nämlich die Wirkung der Amylasen auf Substrate untersucht, die ganz nach dem Maltoseschema aufgebaut sind, so findet man, daß sie normal aufgespalten werden. Wir konnten z. B. zeigen, daß die Maltotetraose ganz normal in Maltose zerfällt. Nur Maltose und Maltotriose werden nicht angegriffen.

Infolge der Bildung der Grenzdextrine erreicht man, wie gesagt, bei der amylyatischen Spaltung der Stärke eine sogenannte

Verzuckerungsgrenze. Leider ist diese oft nicht ganz scharf, sondern es kann eine langsame sogenannte Nachverzuckerung beobachtet werden. Manchmal ist diese Nachverzuckerung nur eine sekundäre Spaltung der Maltose durch die Wirkung etwa vorhandener Maltase, aber manchmal ist sie eine wirkliche Nachverzuckerung, d. h. eine Spaltung der Grenzdextrine in vergärbare Zucker bzw. in andere Grenzdextrine von niedrigerem Molekulargewicht. Dies zeigt sich u. a. darin, daß man bei sehr langer Einwirkung der Enzyme mit verschiedenen Präparaten desselben Enzyms verschiedene Ausbeuten an Grenz dextrin erhalten kann, was selbstverständlich für die Beurteilung der Resultate ein wesentlicher Nachteil ist.

Die Nachverzuckerung kann entweder darauf beruhen, daß die Amylasen auch die anormalen Teile der Stärkemoleküle, obgleich mit sehr geringer Geschwindigkeit angreifen können, oder darauf, daß sie durch Aktivatoren („Komplemente“) dazu befähigt werden, oder schließlich darauf, daß die Amylasepräparate meistens kleine Mengen von speziellen dextrinsplattendenden Enzymen enthalten. Die Pringsheimsche Komplementtheorie²⁵⁾ ist wohl jetzt völlig verlassen; selbst konnte ich nie die von Pringsheim beschriebenen Aktivierungen beobachten. Die Nachverzuckerung beruht, und dies ist ja auch die einfachste Erklärung, darauf, daß die Amylasepräparate außer den eigentlichen Amylasen noch andere Carbohydrasen enthalten²⁶⁾. Sie enthalten also nicht nur oft Maltase, sondern z. B. auch ein Enzym, das die Isomaltose spaltet. Merkwürdigerweise fanden wir, daß maltasefreie Präparate unter Umständen Isomaltose spalten, und daß umgekehrt, gewisse andere Präparate wohl Isomaltose, nicht aber Maltose angreifen. Zu demselben Ergebnis ist auch K. H. Meyer gekommen. Dies ist ein neues Beispiel dafür, daß innerhalb der α -Glykosidasengruppe eine Substratspezifität manchmal beobachtet werden kann, die so nahe an der absoluten liegt, wie es experimentell überhaupt feststellbar ist. Vgl. hierzu die Diskussion über die Spezifität der Carbohydrasen²⁷⁾.

Wegen des Vorhandenseins solcher Enzyme in den Amylaselösungen erhält man also, wie gesagt, bei der Stärkespaltung meistens keine absolut scharfe Verzuckerungsgrenze, d. h. keine absolut definierte Zusammensetzung des Grenzdextringemisches.

Es ist also leider gegenwärtig nicht möglich, die Zusammensetzung des Grenzextringemisches, das z. B. von der Speichelamylase erzeugt wird, in dem Sinne anzugeben, daß man eine absolut richtige Ausbeute und die Verteilung auf verschiedene Kettenlängen angeben kann, dabei von den erheblichen experimentellen Schwierigkeiten bei der Fraktionierung ähnlicher Gemische abgesehen. In der Abb. 2 ist ein Versuch mit diesem

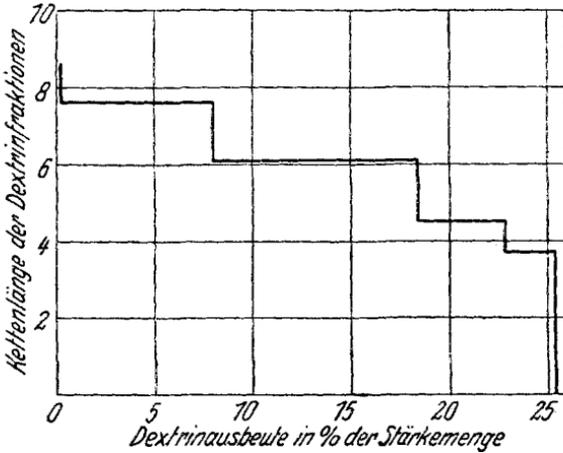


Abb. 2

Enzym veranschaulicht. Wie in den folgenden ähnlichen Abbildungen gibt die stufenförmige Kurve den Polymerisationsgrad der isolierten Dextrinfraktionen und die Dextrinausbeute in Prozent der in Arbeit genommenen Stärkemenge wieder. Jede „Stufe“ gibt also Menge und Kettenlänge einer tatsächlich isolierten Fraktion an. Es ist wohl möglich, daß die in diesem Falle gefundene Totalausbeute an Grenzextrinen (25,3%) zu niedrig ist, und daß die gefundenen Kettenlängen der Fraktionen auch etwas zu niedrig sind, beides als Folge der langsamen Nachverzuckerung der Dextrine. Wir können aber die Stärkespaltung durch die Speichelamylase folgendermaßen beschreiben: Die scheinbare Maltoseausbeute liegt in der Nähe von 80%, die wahre Maltoseausbeute (durch Gärversuche ermittelt) liegt in der Nähe von 70%. Die wirkliche Ausbeute an Grenzextrin liegt in der Nähe von 30%. Wenn wir in einem Versuch eine Grenzextrinausbeute finden, die weit unter 30% liegt, so

bedeutet dies, daß eine gewisse Spaltung der eigentlichen Grenz-dextrine durch die speziellen Carbohydrasen stattgefunden hat. Das Grenzdextrin können wir fraktionieren und beispielsweise feststellen, daß die Kettenlänge bei einem Viertel der Dextrine zwischen 6 und 8 liegt, beim zweiten und dritten Viertel in der Nähe von 6, beim letzten Viertel zwischen 4 und 6. Es kann sehr wohl sein, daß sowohl die Totalausbeute wie die gefundenen Molekulargewichte zu niedrig sind; dies hindert aber nicht, daß wir den allgemeinen Charakter der Grenzdextrine (die Art der enthaltenen Glykosidbindungen, Endgruppen, Verzweigungen usw.) feststellen und daraus Schlüsse über den Bau der Stärke ziehen können.

Was für Produkte geben nun die verschiedenen Amylasen bei der Stärkespaltung?

Von den anderen Amylasen unterscheidet sich scharf die sogenannte β -Amylase, die Saccharogenamylase. Wir beginnen mit der Beschreibung der von diesem Enzym erzeugten Spaltprodukte: Aus Stärke bildet es ziemlich genau 60% Maltose. Die Maltose ist das einzige niedermolekulare Spaltprodukt. Sonst entsteht nämlich nur ein hochmolekulares Grenzdextrin, das wir das β -Dextrin nennen. Das Dextrin (das selbstverständlich ebensowenig wie die Stärke einheitlich ist) ist stärkeähnlich oder vielleicht richtiger amylopektinähnlich, kleisterbildend, phosphorhaltig und gibt mit Jod violette Färbung.

Nach K. H. Meyer¹⁵⁾ wird die Amylose von der β -Amylase zu 100% in Maltose gespalten. Er zieht u. a. daraus den Schluß, daß die Ketten der Amylosemoleküle einfach ohne Verzweigungen sind. In unseren Versuchen wurden zwar manchmal nach Meyer dargestellte Amylosepräparate zu 100% in Disaccharide zerlegt²⁸⁾. Die Spaltkurve ist aber manchmal nicht gleichmäßig gekrümmt, sondern ein Teil des Präparates (vielleicht 20%) wird wesentlich langsamer gespalten als der Rest. Wir sind deshalb zu der Annahme geneigt, daß auch in den Amylosepräparaten meistens Anomalien, wenn auch in relativ kleiner Zahl vorkommen. Es mag sein, daß Amylosefraktionen gewonnen werden können, die fast normal gebaut sind. Es sei hervorgehoben, daß die von uns angenommenen Anomalien in der Amylose nicht notwendigerweise Verzweigungen zu sein brauchen.

Der Mechanismus der Spaltung von Stärke usw. durch Saccharogenamylase ist wahrscheinlich folgender: Das Enzym greift die Kettenmoleküle von den freien nicht reduzierenden Kettenenden an und spaltet ein Maltosemolekül nach dem anderen ab. Ist die Kette durchweg normal gebaut, so wird sie vom Enzym ganz in Maltose zerlegt. Auch ganz kurze Ketten, wie Maltotetraose, werden zerlegt, Maltotriose nicht. (Daß die Spaltung vom nicht reduzierenden Kettenende aus erfolgt und von der Anwesenheit einer reduzierenden Gruppe unabhängig ist, geht u. a. daraus hervor, daß man Stärke und Dextrine zu den entsprechenden Säuren oxydieren kann, die aber normal verzuckert werden²⁹). Eine Maltohexaonsäure wird z. B. in 2 Mol Maltose und 1 Mol Maltonsäure zerlegt). Ist das Kettenmolekül nicht überall normal gebaut, d. h. kommt eine der erwähnten Anomalien vor, so kann das Enzym über diese Anomalie nicht hinwegkommen. So bleibt die Verzuckerung z. B. vor einem Verzweigungspunkt stehen, wahrscheinlich sogar vor einem Glucoserest, der durch Phosphorsäure substituiert ist. Jedenfalls enthält das β -Dextrin alle Phosphorsäure der Stärke.

Die Spaltung durch β -Amylase hört wahrscheinlich dicht vor der betreffenden Anomalie auf, denn wie wir unten sehen werden, erhält man mit Malzamyase (d. h. der Mischung von α - und β -Amylase) Grenzdextrine, die die Anomalien enthalten und die Kettenlängen von nur 3 bis 6 Glucoseeinheiten haben.

Da die Stärke durchschnittlich etwa 4% Endgruppen enthält und da das Enzym aus der Stärke 60% Maltose bildet, so muß das β -Dextrin, da die Verzweigungen bei der Spaltung nicht verschwinden, etwa 10% Endgruppen enthalten, wie auch durch Haworth u. a. festgestellt worden ist³⁰). Im Dextrin muß also im Mittel jede zehnte Glucoseeinheit eine Verzweigung tragen. Die erwähnte Maltoseausbeute von 60% scheint ziemlich unabhängig von der Stärkesorte zu sein, also z. B. auch von Phosphorgehalt. Wenn wir die Amylosemenge in der Stärke auf 20% schätzen und annehmen, daß diese Menge total verzuckert wird, so bedeutet ja die Maltoseausbeute von 60% daß das Amylopektin etwa 50% Maltose gibt. Wie kann dann ein Amylopektinmolekül aussehen, das bei der enzymatischen

Spaltung 50% Maltose und ein hochmolekulares Grenzdextrin mit etwa 10% Endgruppen gibt. Wenn wir annehmen, daß das Amylopektinmolekül etwa die Formel von Staudinger und Husemann¹¹⁾ hat, so wäre anzunehmen, daß von den Seitenketten, die ja eine Länge von etwa 20 Glucoseeinheiten haben sollen, je 18 Glucosereste als Maltose abgesprengt werden. Dann sollten aber je nach der Länge der Hauptkette bis zu 90% Maltose entstehen. Nehmen wir statt dessen mit Freudenberg an, daß die Hauptkette sehr lang ist und daß die Verzweigungen weniger dicht sitzen! Da das Dextrin wie gesagt eine Verzweigung pro 10 Glucosereste hat und von den Seitenketten der Stärke im Dextrin je etwa 2 Glucosereste noch an der Hauptkette haften, so sollte dies bedeuten, daß zwischen den Verzweigungen der Hauptkette im Mittel je 8 Glucoseeinheiten liegen. Nun hat das Amylopektin einen Endgruppengehalt von etwa 5%. Dies müßte dann bedeuten, daß die Seitenketten eine mittlere Länge von nicht mehr als etwa 12 Einheiten haben. Da man annehmen kann, daß das Enzym aus solchen Seitenketten je 10 Glucosereste als Maltose abspaltet, so würde die Verzuckerung des Amylopektins durch das Enzym etwa 50% betragen. Die Versuche mit β -Amylase sind also an und für sich mit der Annahme verträglich, daß das Amylopektinmolekül aus einer langen Hauptkette mit Seitenketten von etwa 12 Gliedern besteht, die sich auf Abständen von etwa 8 Einheiten befinden.

Bekanntlich nimmt K. H. Meyer^{15, 31)} einen ganz anderen Bau des Amylopektins an. Er rechnet mit einer wiederholten Verzweigung der Ketten, so daß man überhaupt nicht mehr von einer Hauptkette reden kann. Zweifelsohne ist die Formel von Meyer mit den mit der Saccharogenamylase gewonnenen Ergebnissen vereinbar, wenn man nur die Länge der Kettenstücke zwischen den Verzweigungen passend wählt. Zu der Formel wurde Meyer eben durch Versuche mit der Saccharogenamylase geführt und mehrere Umstände scheinen dafür zu sprechen, daß seine Auffassung richtig ist. Nur kann bemerkt werden, daß man wenig darüber weiß, welche Enzyme in dem angewendeten Hefesaft in Wirkung sind. Nach den neuesten Arbeiten Meyers³¹⁾ sind bei der Spaltung sowohl Hydrolasen als Phosphorylasen beteiligt.

Wir gehen jetzt zu einer anderen Amylase über, nämlich zur pflanzlichen α -Amylase, der Dextrinogenamylase des Malzes. Erhitzt man einen Malzextrakt kurze Zeit auf etwa 70° , so zeigt er ganz andere Wirkung auf Stärke als vor der Erhitzung. Die Stärke wird noch fast so schnell wie vor der Erhitzung dextriniert, d. h. der Kleister löst sich auf, die Viskosität sinkt schnell fast auf die des Wassers, und die Färbbarkeit mit Jod verschwindet. Dagegen wird die Bildung vergärbarer Zucker durch die Erhitzung sehr stark beeinträchtigt. Die Erklärung ist die von E. Ohlsson³²⁾ gegebene: Im Gerstenmalz ist die Saccharogenamylase der Gerste mit der während der Keimung gebildeten Dextrinogenamylase gemischt. Die Saccharogenamylase wird bei der Erhitzung zerstört, die Dextrinogenamylase nicht. Dieses Enzym dextriniert die Stärke sehr schnell, d. h. führt sie rasch in Produkte mittleren Molekulargewichts (1000—3000) über, die niedrigviscöse Lösungen geben und von Jod nicht gefärbt werden. Die Bildung vergärbaren Zuckers ist dabei unbedeutend. Bei längerer Einwirkung des Enzyms werden die primär gebildeten Dextrine, die wir α -Dextrine nennen, weitgehend verzuckert. Dabei entsteht nicht nur Maltose, sondern auch direkt Glucose. Die Verzuckerung ist aber nicht vollständig: Man erhält nebst den Zuckern auch die Grenzdextrine, deren Menge nach dem obigen von Malzextrakt zu Malzextrakt etwas variieren kann. Könnte man die Wirkung der dextrinspaltenden Fermente ganz ausschalten, würde die Grenzdextrinausbeute wahrscheinlich etwa 30% der Stärke betragen.

Spaltet man Stärke mit der Dextrinogenamylase, und rechnet man die Reduktion der Versuchsmischung in Prozent gelöster Bindungen um, so erhält man eine Kurve wie die Kurve Nr. 1 in der Abb. 3. Die Kurve ist gar nicht gleichmäßig gekrümmt, sondern zerfällt scharf in zwei Teile, die durch einen Knickpunkt der Kurve bei einem Spaltungsgrad von etwa 16% getrennt sind. Der Knickpunkt ist so scharf und die beiden Geschwindigkeiten so verschieden, daß wir unbedingt von zwei verschiedenen Wirkungen des Enzyms bzw. Enzymgemisches sprechen müssen, einer Dextrinisierung und einer Verzuckerung. Die Bildung vergärbarer Zucker ist während der Dextrinisierung nur ganz klein.

Die Frage drängt sich auf, ob die zwei Wirkungen von einem oder von zwei Enzymen herrühren. So viel kann jedenfalls als gesichert angesehen werden, daß der obere Teil der Kurve (die Verzuckerung) nicht etwa von unzerstörter Saccharogenamylase stammt. Dagegen könnte im Malzextrakt außer Saccharogen- und Dextrinogenamylase noch ein drittes (thermostabiles) Enzym vorhanden sein, das die Verzuckerung der α -Dextrine bewirken sollte. Dies scheint nicht der Fall zu sein, denn weder durch Erhitzung noch durch Einwirkung inakti-

vierender Stoffe konnten die beiden Wirkungen verschieden beeinflußt werden (unveröffentlicht).

Wie soll man nun die Wirkungsweise der Dextrinogenamylase verstehen? Wir haben die Frage zu beantworten versucht, indem wir Spaltungsversuche bei verschiedenen Spaltungsgraden abgebrochen und die Spaltprodukte untersucht haben.

Besonders interessierte uns

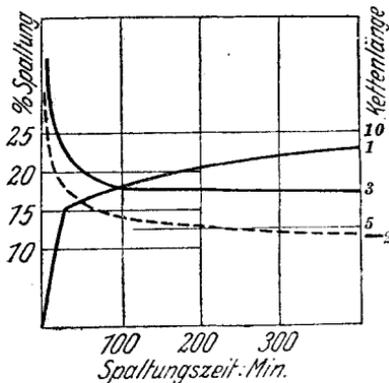


Abb. 3

dabei die Spaltprodukte beim Knickpunkt der Kurven. Glucose und Maltose wurden durch Gärung entfernt und die α -Dextrine mit Alkohol fraktioniert. Ein Versuch mit Gerstenstärke sei als Beispiel angeführt²²⁾. Die Kurve 1 in der Abb. 3 zeigt die prozentische Anzahl gelöster Bindungen. Berechnet man aus der Reduktionsfähigkeit das mittlere Molekulargewicht sämtlicher Abbauprodukte (also einschließlich der vergärbaren Zucker), so erhält man die Kurve 2. Der Polymerisationsgrad ist rechts angegeben. Entfernt man die Zucker durch Gärung, und bestimmt man dann den mittleren Polymerisationsgrad der Dextrine, so erhält man die Kurve 3. Ohne weiteres ist ersichtlich, daß bei der Stärkespaltung durch Dextrinogenamylase der Polymerisationsgrad sehr schnell auf etwa 8 abnimmt, um dann nur sehr langsam weiter zu sinken, was mit der zweiten Phase der Reaktion, der Verzuckerung der α -Dextrine zusammenhängt. Bei dieser Stärkesorte (und die Verhältnisse bei anderen Stärke-

sorten sind ganz ähnlich) sind also 16% der Glykosidbindungen sehr viel leichter löslich als die übrigen 84%.

Wir haben nun die α -Dextrine fraktioniert und den Polymerisationsgrad der Fraktionen bestimmt. Drei Versuche wurden ausgeführt und zwar bei den Spaltungsgraden 10,1, 15,1 und 18,35%. Die Verteilung der isolierten α -Dextrinfraktionen auf verschiedene Kettenlängen geht aus der Abb. 4 hervor. Die Menge der vergärbaren Zucker waren in den drei

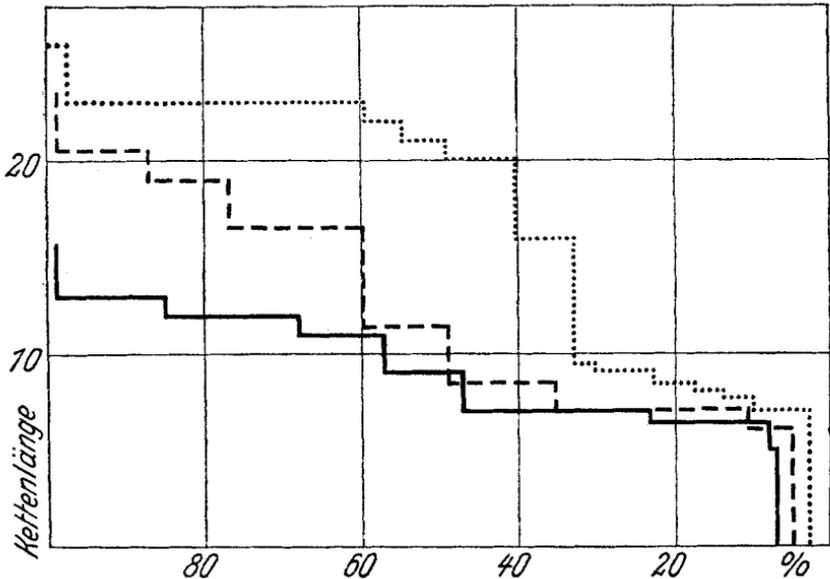


Abb. 4

Fällen etwa 3 bzw. 5 bzw. 7%. In sämtlichen Versuchen fehlen hochmolekulare Spaltprodukte ganz. Es kann selbstverständlich nicht behauptet werden, daß die Fraktionen in bezug auf Kettenlänge ganz einheitlich sind. Die Anwesenheit nennenswerter Mengen von hochmolekularen Spaltprodukten ist jedoch ausgeschlossen. In dem Versuche beim Spaltungsgrade 10,1% hat z. B. die erste Fraktion, die nur 3% der Stärkemenge entspricht, einen Polymerisationsgrad von 26, während nicht weniger als etwa 40% der Dextrine eine Kettenlänge von durchschnittlich 23 haben. Ein Vergleich der drei Kurven der Abb. 4 zeigt, daß die Spaltung vom Spaltungsgrade 10,1%

zu den Spaltungsgraden 15,1 bzw. 18,35% fast nur die Dextrine trifft, die einen höheren Polymerisationsgrad als 6—7 haben. Vergärbare Zucker werden nur in ganz kleinem Umfange gebildet, was der erwähnten Feststellung entspricht, daß die Geschwindigkeit der Verzuckerung sehr viel kleiner als die der Dextrinisierung ist. Die Dextrinisierung der Gerstenstärke führt also zu einem Gemisch von α -Dextrinen mit einem mittleren Polymerisationsgrad von etwa 7,5. Daneben werden nur etwa 7% vergärbare Zucker gebildet. In dem Dextringemisch, dessen Zusammensetzung aus der unteren Kurve der Abb. 4 hervorgeht, treten die α -Dextrine mit Kettenlängen von 6 und 7 Glucoseresen sehr stark hervor. Die maximale Kettenlänge liegt bei etwa 13. Dextrine dieser Art, die also bei einem Spaltungsgrade von 16—20% isoliert worden sind, sind als die wahren α -Dextrine, die Produkte der Dextrinisierung zu betrachten.

In der Abb. 5 findet man teils die bei den Spaltungsgraden 10,1 bzw. 18,35% tatsächlich gefundene Verteilung der α -Dextrine auf verschiedene Kettenlängen, teils die nach der Formel $F_n = \alpha^{2n} (1 - \alpha)^{n-1}$ von W. Kuhn³³⁾ berechnete Verteilung. Die Kurven zeigen gar keine Ähnlichkeit, was also bedeutet, daß die Spaltung der Stärke durch die Dextrinogenamylase nicht so geschieht, daß das Enzym alle Bindungen des Kettenmoleküls mit der gleichen Wahrscheinlichkeit angreift. Vielmehr geht hervor, daß das Enzym mit großer Geschwindigkeit etwa 16% der Bindungen spaltet, wobei ein Gemisch von α -Dextrinen gebildet wird, in dem die Hexa- und Heptaosen sehr stark angereichert sind. Ganz ähnliche Resultate gaben Versuche mit Kartoffel-, Mais- und Arrowstärke.

Die verschiedenen Fraktionen der α -Dextrine unterscheiden sich nicht nur in bezug auf das Molekulargewicht³⁴⁾. Behandelt man sie mit Amylase, vor allem mit Saccharogenamylase, so zeigt sich, daß die Fraktionen mit den Kettenlängen 6—7 Einheiten sehr weitgehend, oft zu fast 100% in vergärbare Zucker zerfallen. (Tab. 1 zeigt Versuche mit α -Dextrinen aus Kartoffelstärke). Glucose wird dabei nicht gebildet. Dadurch ist aber nicht gesagt, daß nur Maltose entsteht, denn wie wir neuerdings zeigen konnten, ist auch die Maltotriose sehr leicht vergärbar. Dadurch erklärt sich, daß man auch aus einer

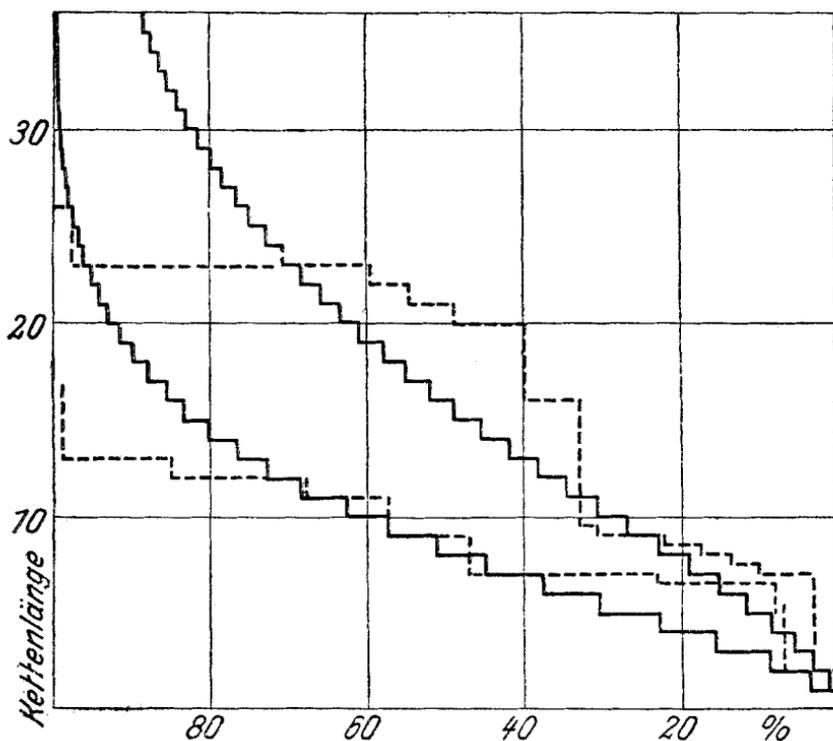


Abb. 5

Tabelle 1. Verzuckerung der α -Dextrine aus Kartoffelstärke

Fraktion Nr.	Mol.-Gew.	% vergärbare Zucker mit	
		Saccharogen- amylase	Speichel
PDI	4100	35,4	—
II	4100	38	49
III	2940	40	54
IV	1910	53	63
V	1150	99	—
VI	1090	100	98
VII	1100	98	—
VIII	950	87	—
IX	1250	91	92
X	1150	100	99
XI	1070	104	—
XII	1020	100	100
XIII	1030	97	103
XIV	(690)	(72)	—

Heptaose ohne Glucosebildung 100% vergärbare Zucker erhalten kann. (Die Maltotriose wird von den Amylasen nicht angegriffen, was im Hinblick auf die Anschauungen K. H. Meyers über die enzymatische Spaltung der Amylose von Interesse ist). Untersucht man z. B. die Spaltbarkeit der α -Dextrine aus Kartoffelstärke, so findet man, daß etwa 60% der Fraktionen total verzuckert werden. Dies bedeutet, daß sie normal gebaut sind, daß sie mit anderen Worten Maltohexaosen und Maltoheptaosen enthalten. Daß sie normal gebaut sind, geht auch aus anderen Ergebnissen hervor, z. B. aus dem Verhalten gegen Überjodsäure³⁵) und aus der Geschwindigkeit der Säurehydrolyse. Die übrigen α -Dextrine, die also ein Molekulargewicht größer als etwa 1200 haben, werden nur unvollständig verzuckert. Dies sind die anormal gebauten α -Dextrine, die die Anomalien enthalten und deshalb bei der Spaltung mit Saccharogenamylase nicht nur Maltose, sondern auch Grenzdextrine geben. Daß sie anormale Glykosidbindungen enthalten, geht z. B. daraus hervor, daß ihre Hydrolysegeschwindigkeit in saurer Lösung abnorm niedrig ist. In der Tab. 2 finden wir die Hydrolysekonstanten von Stärke, Maltose, einem normalen α -Dextrin (Maltohexaose) und einem Grenzdextrin aus einem anormalen α -Dextrin. Die Hydrolysegeschwindigkeit der Hexaose liegt wie zu erwarten, zwischen der der Maltose und der der Stärke, die des Grenzdextrins liegt weit unter der der Stärke.

Tabelle 2

Hydrolyse in 2,22 n-Schwefelsäure bei 100°

Zeit der Hydrolyse in Minuten	$k \cdot 10^3$			
	Stärke	Maltose	Normales α -Dextrin	Grenzdextrin
5	—	53	33	—
10	23	51	33	—
15	20	—	37	12
30	—	52	—	11
45	21	—	40	11
90	16	—	—	11
120	13	—	—	10

Rund 60% der α -Dextrine scheinen normal gebaut zu sein. Wir erinnern uns dabei, daß die Saccharogenamylase aus der

Stärke 60% Maltose bildet. Es ist sicher kein Zufall, daß die beiden Zahlen übereinstimmen; vielmehr ist es so, daß die normalen α -Dextrine eben aus den Teilen der Stärkemoleküle entstehen, die mit Saccharogenamylase Maltose geben. Die normal gebauten α -Dextrine stammen also aus der Amylose und aus den normal gebauten Teilen der Seitenketten verzweigter Moleküle, und entstehen in der Weise, daß die Dextrinogenamylase aus nicht geklärten Gründen etwa jede sechste Glykosidbindung sprengt. Die anormal gebauten α -Dextrine stammen aus dem verzweigten Teil des Amylopektins und entstehen so, daß das Enzym vermutlich auch hier etwa jede sechste Bindung der jeweiligen „Hauptkette“ löst und zwar unabhängig davon ob eine Seitenkette vorkommt oder ob die zwischenliegenden etwa 5 Glykosidbindungen der „Hauptkette“ normal sind oder nicht, bzw. unabhängig davon ob andere Arten von Anomalien vorkommen.

Ist diese Vorstellung richtig, so muß geschlossen werden, daß die Amylose durch die Dextrinogenamylase zu Hexa- und Heptaosen dextriniert wird. Gleichzeitig mit uns hat K. H. Meyer³¹⁾ die Einwirkung des Enzyms auf die Amylose untersucht. Er findet, daß, wenn man die Spaltung in Prozent Maltose umrechnet, so steigt die (scheinbare) Maltoseausbeute sehr schnell auf 80—90%. Die monomolekularen Reaktionskoeffizienten fallen dabei ab, und es wird geschlossen, daß die Produkte mit niedrigerem Molekulargewicht langsamer angegriffen werden als die hochmolekularen. Von einem scheinbaren Maltosegehalt von etwa 90% ab geht die Spaltung sehr langsam auf 100%, und es wird angenommen, daß diese langsame Spaltung eine Zerlegung von Tri- oder Tetrasacchariden ist. Dazu muß bemerkt werden, daß wie schon erwähnt, die Maltotriose nicht angegriffen wird. Über den Mechanismus der Amylosespaltung wird von K. H. Meyer angenommen, daß das Enzym alle Bindungen im Inneren der Kettenmoleküle mit der gleichen Wahrscheinlichkeit angreift; es soll die Ketten wahllos in Stücke aller möglichen Kettenlängen zerschlagen. Nur die terminalen Bindungen sollen langsam oder gar nicht angegriffen werden; Maltose soll also gar nicht, die Maltotriose langsam gespalten werden (vgl. oben über die Nichtspaltbarkeit der Maltotriose!) Meyer lehnt also unsere Auffassung

ab, nach der das Enzym primär mit großer Geschwindigkeit gewisse Bindungen spaltet und erst dann viel langsamer die entstandenen α -Dextrine verzuckert.

Es muß bemerkt werden, daß in der Arbeit Meyers ein Versuch, in dem die Reduktion nach der Bertrandschen Methode bestimmt wurde, durch eine Kurve mit dem oben beschriebenen Verlauf veranschaulicht ist, während andere Versuche derselben Arbeit einen ganz anderen zeitlichen Verlauf zeigen, und zwar etwa denselben Verlauf wie wir beobachtet haben.

Die von uns gefundene Kurve²⁸) der Dextrinisierung und Verzuckerung der Amylose durch die Dextrinogenamylase liegt ganz anders als die von K. H. Meyer veröffentlichte. Wir finden (Abb. 6), daß bei der Amylose und sogar ausgeprägter als bei der Stärke und viel mehr ausgeprägt als beim Amylopektin, die Spaltkurve in zwei scharf getrennte Teile zerfällt, und zwar liegt der Knickpunkt der Amylosekurve bei einer scheinbaren Maltoseausbeute von 44%. Wenn also etwa 22% der Glykosidbindungen der Amylose gelöst worden sind, so fällt die Spaltungsgeschwindigkeit plötzlich auf weniger als 2% der früheren. Auch bei der Amylose ist also die Dextrinisierung eine Phase, die scharf von der nachfolgenden Verzuckerung unterschieden werden kann. Wir betonen, daß die bei diesen Versuchen angewendeten Amylosepräparate nach der von K. H. Meyer angegebenen Methode dargestellt waren und daß sie durch Saccharogenamylase fast vollständig in Maltose gespalten werden (vgl. jedoch das oben gesagte über den Bau der Amylose!). Daß der Knickpunkt der Spaltkurve der Amylose bei einem Spaltungsgrade von 22% liegt, bedeutet, daß die Spaltprodukte, einschließlich der kleinen Mengen gleichzeitig gebildeter vergärbbarer Zucker, eine mittlere Kettenlänge von 5 Glucoseresten haben. Um die wahre Kettenlänge der α -Dextrine aus der Amylose und die Verteilung der Dextrine auf verschiedenen Kettenlängen kennenzulernen, haben wir Fraktionierungsversuche ausgeführt. Die vergärbbaren Zucker wurden dann durch Gärung entfernt und die Dextrine mit Alkohol fraktioniert gefällt. In einem Versuche isolierten wir beim Spaltungsgrad 21,2% fünf α -Dextrinfraktionen. Die Ausbeute an vergärbbarem Zucker war 17%. Die Verteilung auf verschiedene Kettenlängen geht aus der ausgezogenen

Kurve in der Abb. 7 hervor. Wir finden, daß nicht weniger als etwa 65% der total gebildeten Dextrinmenge eine Kettenlänge von 6—7 Glucoseeinheiten haben. 32% der Dextrine zeigen eine Kettenlänge von 4—5. Bedenkt man, daß während der Versuchszeit eine nicht unbeträchtliche Maltosebildung eingetreten ist, so erscheint es wahrscheinlich, daß die Dextrine mit 4—5 Glucoseresten aus denen mit 6—7 Glucoseresten durch Abspaltung eines Maltosemoleküls hervorgegangen sind, so daß die primär entstehenden α -Dextrine fast ausschließlich aus Hexa- und Heptaosen bestehen.

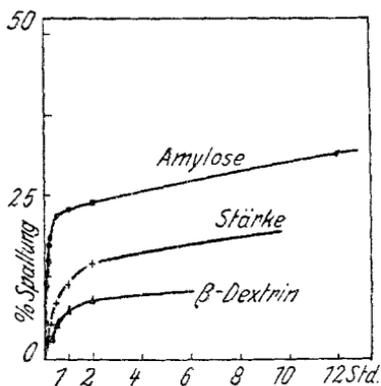


Abb. 6

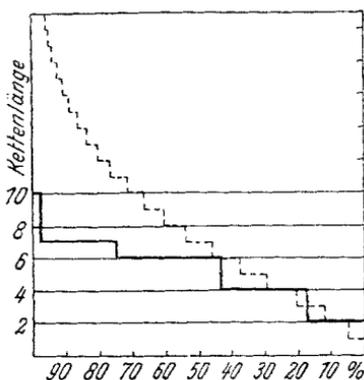


Abb. 7

Aber auch wenn wir die Dextrine mit 4—5 Glucoseeinheiten als primäre Spaltprodukte betrachten und also gar keine besondere Annahmen machen, so fragen wir uns, ob die gefundene Verteilung der Spaltprodukte auf verschiedene Kettenlängen unter der (u. a. von K. H. Meyer gemachten) Annahme möglich ist, daß das Enzym Glykosidbindungen im Inneren der Ketten wahllos spaltet. Wäre dies der Fall, so muß man, wie auch K. H. Meyer hervorhebt, die Verteilung der Spaltprodukte auf verschiedene Kettenlängen nach der schon erwähnten Formel von W. Kuhn berechnen können. Die so berechnete Verteilung ist in der Abb. 7 durch eine gestrichelte Kurve veranschaulicht. Die gefundene Verteilung ist aber eine ganz andere: Wir erhalten bei der Dextrinisierung fast keine Spaltprodukte mit Kettenlängen > 7 , während nach der Kuhnschen Formel nicht weniger als 45% entstehen sollten.

Umgekehrt finden wir 54% Spaltprodukte mit Kettenlängen von 6—7 Einheiten, während die nach der Formel berechnete Ausbeute nur 16% ist usw.

Diese und ähnliche Versuche scheinen also zu zeigen, daß die α -Dextrine nicht so gebildet werden, daß die Dextrinogenamylase mit derselben Wahrscheinlichkeit alle Bindungen im Inneren der Kettenmoleküle angreift. (Es ist zwar bekannt, daß Maltose und Maltotriose nicht angegriffen werden; dies ändert aber die Berechnung nicht wesentlich). Das Ergebnis ist im Gegenteil, daß das Enzym 15—20% der Glykosidbindungen, d. h. etwa jede sechste Bindung mit einer Geschwindigkeit löst, die 50—100mal größer ist, als die Spaltungsgeschwindigkeit der restlichen Bindungen.

Nimmt man nun an, daß alle Bindungen in der Amylose gleich sind (= Maltosebindungen), so muß man die Erklärung zu dieser Dextrinisierung entweder im Bau und Wirkungsweise des Enzyms oder aber in der Form des Amylosemoleküls suchen. Ist es dann denkbar, daß ein Enzym so beschaffen ist, daß es sich z. B. an die Endgruppe einer Kette anlagert und dann die sechste Glykosidbindung, von der Endgruppe aus gerechnet, sprengt? Zweifelsohne kann man sich vorstellen (es sei an die sogenannte Zweiaffinitätstheorie von Euler³⁶) erinnert), daß die „Haftgruppe“ des Enzyms, die in diesem Falle die Bindung des Enzyms an die Endgruppe des Substrats vermitteln sollte, und die eigentlich „wirksame“ Gruppe, die für die Spaltung direkt verantwortlich ist, einen solchen Abstand voneinander haben, daß bei der Wirkung des Enzyms auf die Amylose ein Kettenstück mit beispielsweise sechs Glucoseresten abgesprengt wird. Dabei muß aber unbedingt angenommen werden, entweder daß die Amylosemoleküle in der Lösung eine ganz bestimmte Form haben ohne willkürliche „Knäuelung“ der Ketten oder daß sie unter dem Einfluß des Enzyms eine bestimmte Form annehmen, und zwar so, daß der Abstand der 5., 6. oder 7. Bindung von der Endgruppe zum Abstand der Haftgruppe und der Wirkgruppe des Enzyms paßt („Schlüssel und Schloß“). Auf alle Fälle scheint notwendig anzunehmen, daß die Ketten der Amylose eine bestimmte Form haben oder in Verbindung mit dem Enzym annehmen können.

Dabei fällt sofort auf, daß die Stärkespaltung durch Dextrinogenamylase und die durch *Bacillus macerans* gemeinsame Züge aufweisen. Durch die schönen Untersuchungen Freudenberg's wurde, wie schon erwähnt, gezeigt, daß die Schardinger-Dextrine ringförmig gebaut sind mit 5 oder 6, in seltenen Fällen vielleicht auch 7 bzw. 8 Glucoseresten im Ring. Da solche Ringe zu einem Betrag, der der Ausbeute an Dextrinen entspricht (d. h. etwa 40%), in der Stärke unmöglich vorkommen können, so wird angenommen, daß sie bei der Stärkespaltung in der Weise gebildet werden, daß aus den Kettenmolekülen Spaltstücke von 5 oder 6 Glucoseresten abgelöst werden, wobei aber eine „Umglucosidierung“ eintritt, so daß die Enden der Spaltstücke zu Maltosebindungen zusammentreten [vgl. ²²].

Es dürfte angenommen werden können, daß die Bildung der Schardinger-Dextrine und die vorwiegende Bildung der Hexa- und Heptaosen bei der Dextrinisierung durch die Dextrinogenamylase eine gemeinsame Ursache haben. In beiden Fällen wird bevorzugt etwa jede sechste Bindung der Ketten gelöst. Der Unterschied ist, daß bei der Maceransamylase die Enden der Spaltstücke zu Maltosebindungen zusammentreten, während sie bei der Spaltung durch Dextrinogenamylase frei bleiben. Hält man nun an der Annahme fest, daß alle Bindungen in dem Amylosemolekül an sich gleich sind, so muß angenommen werden, daß die Substratmoleküle, jedenfalls in der Enzymsubstratverbindung, eine ganz bestimmte Form haben. Um die hohe Ausbeute an Schardinger-Dextrinen zu erklären, hat Freudenberg bekanntlich angenommen, daß die Kettenmoleküle der Stärke spiralig gewunden sind mit je 6 Glucoseresten pro Windung. Ähnliche Vorstellungen findet man schon früher bei Hanes³⁷). Die Modelle Freudenberg's zeigen, daß sich eine Kette von Glucoseresten mit lauter Maltosebindungen zwanglos zu einer Spirale mit je sechs Einheiten pro Windung zusammenwickeln läßt. Die Hydroxyle der Glucosereste haben dabei eine solche Stellung, daß Wasserstoffbrücken sehr wohl die Spiralwindungen in einer definierten Lage halten können. Das Modell gibt zweifelsohne ein anschauliches Bild von der Entstehung der Schardinger-Dextrine und sollte auch im Falle der Dextrinogenamylase eine Erklärung zur Entstehung der Hexaosen geben können.

Da etwa 60% der Stärke in der Form normaler α -Dextrine erscheinen, wäre zu schließen, daß nicht nur die Amylose, sondern auch die Seitenketten des Amylopektins Spiralforn haben. Da aber auch aus dem verzweigten Teil des Amylopektins α -Dextrine mit 8—12 Glucoseeinheiten entstehen, so müßte, wenn man die Spiralforn als einzige Erklärung für die Dextrinierung durch Dextrinogenamylase ansieht, das Amylopektin aus einer spiralförmigen Hauptkette mit spiralförmigen Seitenketten bestehen. Ob ein derartiges Molekül aus sterischen Gründen überhaupt denkbar ist, erscheint fraglich. Stellt man sich das Amylopektin wie K. H. Meyer vor, d. h. mit mehrmals verzweigten Ketten ohne eigentliche Hauptkette, dürfte es nicht möglich sein, eine geordnete Spiralforn anzunehmen. Aber auch aus folgendem Grunde erscheint es zweifelhaft, ob man die vorzugsweise Bildung der Hexaosen als eine Folge einer Spiralforn der Ketten annehmen kann: Man muß ja annehmen, daß der Angriff des Enzyms vom Kettenende aus erfolgt. Das Enzym lagert sich an die Endgruppe an und löst die Bindung, die im Raume am nächsten liegt. Stellen wir uns nun vor, daß wir die Dextrinogenamylase so lange auf Amylose einwirken lassen, daß 10% der Glykosidbindungen gelöst werden, dann müßte etwa 50% der Amylosemenge in der Form von Hexaosen abgespalten worden sein, während der Rest noch in Form einer Kette von Hunderten von Glucoseeinheiten vorliegen müßte. In solchen Versuchen fanden wir aber nie (vgl. z. B. die Versuche in der Abb. 4) ein hochmolekulares Spaltprodukt. Ein solches müßte ja unbedingt leicht von den Hexaosen getrennt werden können. Im Gegenteil: Die Kettenlängen der Spaltprodukte liegen immer in ziemlich engen Grenzen um den Mittelwert, den man direkt aus dem Spaltungsgrad berechnet. Es scheint deshalb nicht möglich, anzunehmen, daß das Enzym vom Kettenende aus angreift; es muß eine Endoamylase sein, die auch im Innern der Ketten Bindungen spalten kann. Vielleicht ist eine Erklärung trotzdem möglich²²); sonst ist ja selbstverständlich die Annahme die einfachste, daß die Bindungen, die von der Dextrinogenamylase (und von der Maceransamylase) primär gelöst werden, von den anderen verschieden sind. Sie sollten also keine Maltosebindungen sein, sie können aber auch keine 1,6-Bindungen sein, denn diese verbleiben in den Grenzdextrinen. Wenn es uns auch zweifelhaft erscheint, ob die Amylose ausschließlich Maltosebindungen enthält (vgl. oben), so muß doch zugestanden werden, daß bisher direkte Beweise dafür fehlen, daß z. B. jede 6. Bindung von den anderen verschieden sein sollte. Vielleicht könnte man sich beispielsweise vorstellen, daß zwar alle Bindungen an sich gleich sind, daß aber in einigen Glucoseeinheiten der Hydropyranring eine andere Form hat als in den anderen. Das Vorkommen von Furanringen muß man wohl als unwahrscheinlich betrachten.

Die Saccharogenamylase und die Dextrinogenamylase bilden zusammen die sogenannte Malzamylyase. Wenn diese auf Stärke einwirkt, so geschieht folgendes: Die Stärke wird zunächst total dextrinisiert, d. h. in α -Dextrine vom Molekulargewicht 1000—3000 zerlegt. Von diesen werden die normal

gebauten total verzuckert; die anormalen werden nur teilweise in Maltose übergeführt. Wenn wir die Verzweigungen als Beispiel der Anomalien wählen, so läßt sich die Spaltung verzweigter Moleküle folgendermaßen deuten (Abb. 8): Die Seitenketten werden als normale α -Dextrine bzw. Maltose abgespalten. Weiter werden zwischen den Anomalien von der Dextrinogenamylase Bindungen gelöst, wobei die anormalen α -Dextrine entstehen. Die Saccharogenamylase spaltet dann aus diesen Maltose ab bis dicht vor den Verzweigungspunkten. Als Rest

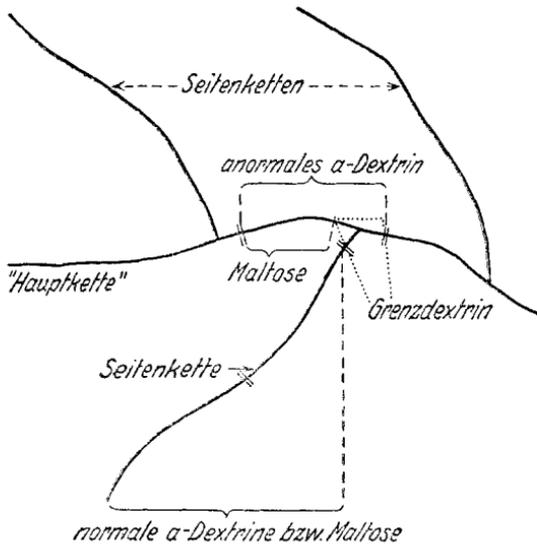


Abb. 8

bleiben die Grenz-dextrine zurück. (Eventuell erfolgt dann eine langsame Spaltung der Grenz-dextrine durch die erwähnten speziellen dextrinspaltenden Fermente.)

Prinzipiell ähnlich ist meiner Ansicht nach auch die Wirkung der anderen Amylasen. Diese sind α -Amylasen und es liegen jedenfalls bisher keine Beweise dafür vor, daß sie aus mehreren Amylasen bestehen sollten. (Dagegen enthalten sie oft Maltase und die dextrinspaltenden Fermente.) Sie sind also wahrscheinlich vom Typus der Dextrinogenamylase, haben aber die verzuckernde Fähigkeit stärker entwickelt. Deshalb zeigen die Spaltungskurven keinen deutlichen Knickpunkt.

Daß aber auch hier eine Dextrinisierung derselben Art wie bei der Dextrinogenamylase vorkommt, geht u. a. daraus hervor, daß Waldschmidt-Leitz³⁸⁾ nach unvollständiger Spaltung von Stärke mit Pankreasamylase große Mengen von Hexaosen isolieren konnte. Gegenüber der Dextrinogenamylase besteht jedenfalls ein Unterschied: Die anderen α -Amylasen geben primär keine Glucose.

Die Pankreasamylase und die anderen α -Amylasen geben wie es scheint, prinzipiell dieselben Grenzdextrine wie die Malzamyase. In Einzelheiten sind die Grenzdextrine vielleicht nicht identisch; es mag sein, daß Unterschiede dadurch ent-

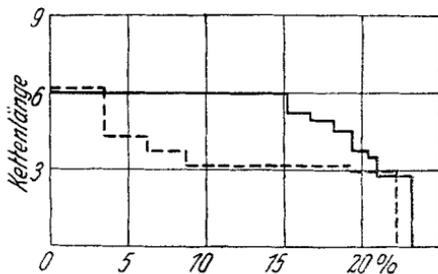


Abb. 9

stehen, daß die verschiedenen Amylasepräparate mehr oder weniger von den erwähnten grenzdextrinspaltenden Enzymen oder vielleicht von Phosphatasen enthalten. Im großen und ganzen erhält man aber mit Malzamyase, Takadiastase und den tierischen Amylasen dieselben Grenzdextrine. Eine Sonderstellung nimmt die Dextrinogenamylase insofern ein, als bei der Spaltung primär auch Glucose entsteht. Die Ursache dazu ist noch unbekannt.

Wenn man in einem Spaltungsversuch mit Malzamyase die Verzuckerung so weit wie möglich treibt, dann die vergärbaren Zucker entfernt und die Grenzdextrine fraktioniert, so erhält man z. B. ein Bild wie in der Abb. 9 (gestrichelte Kurve). Der Versuch wurde mit Maisstärke ausgeführt. Eine kleine Fraktion enthält hauptsächlich Hexasaccharide, Tetrasaccharide und besonders Trisaccharide sind in großen Mengen anwesend. Ähnliche Bilder erhält man mit anderen Stärkesorten und anderen Amylasepräparaten. In derselben Abb. 9

finden wir eine Übersicht über die Grenzextrine, die aus Maisstärke mit Takadiastase entstehen (ausgezogene Kurve). Hier treten also die Hexaosen sehr stark hervor. Vielleicht sind die von der Malzamyase erzeugten Tri- und Tetrasaccharide erst sekundär durch Ab-

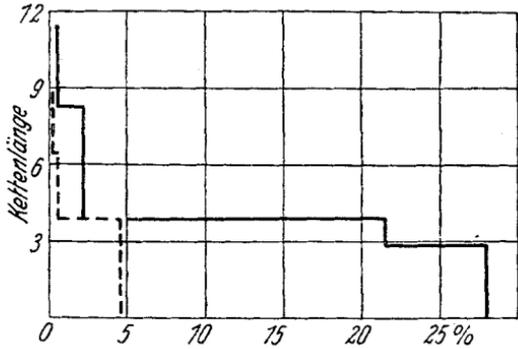


Abb. 10

spaltung von Glucose bzw. Maltose aus primär entstandenen Hexasacchariden hervorgegangen, so daß in Wirklichkeit vielleicht immer Hexasaccharide überwiegen. In der Abb. 10 sind Versuche mit Arrowstärke und Malzamyase (gestrichelt) bzw. Takadiastase (ausgezogen) zusammengefaßt. Die Tetrasaccharide sind stark hervortretend. Mit der Malzamyase beobachtet man starke Grenzextrinspaltung.

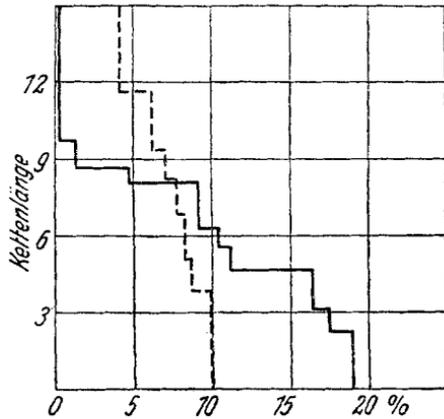


Abb. 11

Die Abb. 11 zeigt die Grenzextrine, die aus Gerstenstärke mit Malzamyase (gestrichelt) erhalten werden: Sie sind in bezug auf Kettenlänge wesentlich weniger einheitlich als die Dextrine aus Mais- und Arrowstärke und enthalten größere Mengen von Komponenten mit längeren Ketten. Dasselbe gilt den mit Takadiastase erhaltenen Dextrinen (ausgezogene Kurve). Es zeigt sich, daß dies für Gersten-, Weizen- und Kartoffelstärke charakteristisch ist, während Mais-, Arrow- und Reisstärke einheitlichere Grenzextringemische liefern. Es liegt nahe, dies damit in Beziehung zu setzen, daß die Kartoffel- und

Getreidestärken viel mehr Phosphorsäure enthalten als die anderen Stärkesorten. Die Phosphorsäure ist sicher eine Anomalie in den Stärkemolekülen, die bei der amylytischen Spaltung ähnlich wirkt wie die Verzweigungen. Dafür spricht, daß man unter Umständen den ganzen P-Gehalt der Stärke in den Grenzdextrinen wiederfindet, und zwar immer in den Fraktionen mit dem höchsten Molekulargewicht. Dementsprechend kommt die Phosphorsäure fast ganz in den anormalen α -Dextrinen vor (Tab. 3). Man dürfte annehmen können, daß eben die Substitution durch Phosphorsäure eine Ursache des höheren Molekulargewichts ist.

Tabelle 3
Phosphorgehalt von Dextrinen

α -Dextrine aus Kartoffelstärke		Grenzdextrine aus Kartoffelstärke mit Malzextrakt	
Mol.-Gew.	% P	Mol.-Gew.	% P
4100	0,27	1320	3,34
4100	0,14	1130	1,35
2940	0,11	930	1,26
2760	0,13	825	1,12
1150	0,05	700	0,80
1090	0,02	600	0,06
1100	0,02	600	0,05
900	0,03	600	0,03
1250	0,06		
1150	0,01		
1070	0,02		
970	0,01		

Der Phosphorsäuregehalt ist selbstverständlich zu gering als daß er einen sehr wesentlichen Einfluß auf die Grenzdextrinbildung haben sollte. Wir müssen also nach unserer eingangs erwähnten Arbeitshypothese annehmen, daß auch andere Anomalien in den Grenzdextrinen vorkommen. Die Untersuchung der Grenzdextrinfraktionen hat nun u. a. folgendes gezeigt: Sie sind offene Ketten mit je einer reduzierenden Gruppe. Die optischen Eigenschaften zeigen, daß sie keine β -glykosidischen Bindungen enthalten. Die Hydrolysegeschwindigkeit zeigt, daß keine furanosidischen Zuckerreste vorkommen. Aus mehreren Umständen geht aber hervor, daß sie nicht

normal, d. h. nach dem Maltoseschema aufgebaut sind. Sie geben z. B. mit Acetylbromid nach Karrer viel weniger (in einigen Fällen überhaupt keine) Acetobrommaltose als die Stärke. Wichtiger sind die Versuche aus welchen hervorgeht, daß die Geschwindigkeit der Säurehydrolyse bei allen bisher untersuchten Grendextrinen sehr niedrig ist³⁹⁾ (vgl. Tab. 2). Sie ist nicht nur viel niedriger als die der Maltose, sondern wie schon oben erwähnt wurde, niedriger als die der Stärke. Dies kann nur so erklärt werden, daß sie wenigstens eine andere und schwerer hydrolysierbare Bindung als die Maltosebindung enthalten. Es fällt auf, daß die Hydrolysegeschwindigkeit der Isomaltose [6-(α -Glucosido)-glucose], nicht mehr als ein Drittel von der der Maltose beträgt. Weiter zeigen Versuche über die Oxydation der Grendextrine mit Perjodsäure und Bleitetraacetat³⁵⁾, daß sie nicht nur Maltosebindungen enthalten. Die Versuche stehen mit der Annahme im Einklang, daß auch Isomaltosebindungen vorkommen. In den Fällen, in welchen wir eine vollständige Konstitutionsbestimmung der Grendextrine haben durchführen können, hat sich gezeigt, daß die anormalen Bindungen jedenfalls zum allergrößten Teil Isomaltosebindungen sind. Wir haben z. B. eine aus Maisstärke gewonnene Trisaccharidfraktion methyliert und durch Hochvakuumdestillation eine reine Undecamethyl-trisaccharidfraktion gewonnen⁴⁰⁾. Nach Hydrolyse und Glucosidierung erhielten wir je ein Mol 2,3,4,6-Tetramethyl-, 2,3,6-Trimethyl- und 2,3,4-Trimethyl-methylglucosid. Das Trisaccharid enthält also je eine Maltose- und eine Isomaltosebindung (Formel in der Abb. 12). Dies dürfte der erste Fall sein, in dem die Konstitution eines Amylasegrendextrins aufgeklärt wurde. Es kann angenommen werden, daß das isolierte Trisaccharid im Stärkemolekül den in der Abb. 12 markierten Platz eingenommen hat.

Weiter haben wir durch langdauernde Einwirkung von Amylasepräparaten auf Grendextrine Disaccharidfraktionen erhalten, die sehr langsam goren, sehr langsam mit Säure hydrolysiert wurden und wie die Methylierungsversuche zeigen, größtenteils aus Isomaltose bestanden⁴¹⁾. Da die Isomaltose durch Säure so langsam hydrolysiert wird, so kann der Zucker auch durch Säurehydrolyse von Stärke gewonnen werden. So konnten wir nach unvollständiger Säurehydrolyse von Stärke,

Vergärung von Glucose und Maltose und Beseitigung höhermolekularer Spaltprodukte durch Alkoholfällung Präparate erhalten, die ein Disaccharid nebst kleinen Mengen höherer Dextrine enthielten. Durch Methylierung und Destillation ließ sich das Disaccharid rein gewinnen. Es bestand aus Isomaltose, wobei jedoch nicht ausgeschlossen ist, daß auch kleinere Mengen

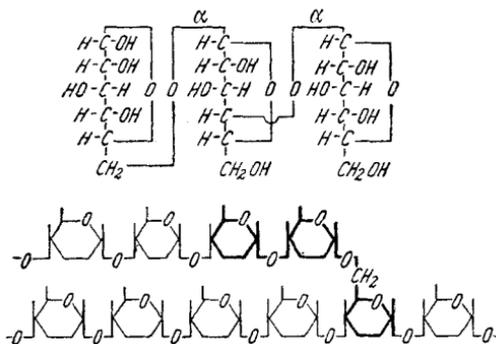


Abb. 12

eines anderen Disaccharids (jedoch nicht Maltose) anwesend waren. Ob also außer der Isomaltosebindung in Stärke und Grenzextrinen noch eine andere anormale Bindung vorkommt, kann nicht mit völliger Bestimmtheit gesagt werden. Es ist sehr wohl möglich, daß die Isomaltosebindung die einzige normale Bindung ist; sie ist jedenfalls die weitaus häufigste.

Von Anomalien sind also mit Sicherheit die Isomaltosebindung und die Phosphorsäure nachgewiesen. Vielleicht sind sie auch die einzigen Anomalien. Die wesentliche Ursache zur Grenzextrinbildung sind zweifelsohne die Isomaltosebindungen, die wohl nach den Freudenberg'schen Arbeiten mit Verzweigungen gleichzusetzen sind. Wenn wir beachten, daß die wahre Grenzextrinausbeute bei etwa 30% liegt und daß die mittlere Kettenlänge dieser primären Grenzextrine etwa 6 ist, und wenn wir außerdem, was berechtigt erscheint, annehmen, daß jedes Grenzextrin je eine Isomaltosebindung enthält, so finden wir, daß die Stärke eine Isomaltosebindung pro etwa 20 Maltosebindungen enthalten muß. Es ist sicher kein Zufall, daß die Prozentzahl der anormalen Bindungen (also 5%), dieselbe ist, wie die Zahl der Endgruppen der Stärke.

Dies spricht ja dafür, daß die Isomaltosebindungen mit Verzweigungen der Stärkemoleküle gleichzusetzen sind.

Die Untersuchungen der Grenzdextrine bilden also eine sehr starke Stütze für die Auffassung, daß die Stärke ein Polysaccharid ist, das trotz eines sehr hohen Molekulargewichts wegen starker Verzweigung der Ketten gewisser Moleküle einen hohen Endgruppengehalt zeigt. Die Seitenketten nehmen wenigstens in der Regel die Stellung 6 ein. Bei der Spaltung durch die Amylasen werden die Isomaltosebindungen nicht angegriffen, sondern verbleiben in den Grenzdextrinen. Im scharfen Gegensatz zu älteren Anschauungen muß überhaupt festgestellt werden, daß die Ursache zur Bildung der Grenzdextrine und allgemein zu den auffallenden Besonderheiten im enzymatischen Abbau der Stärke durch den chemischen Bau der Stärkemoleküle gegeben ist. Die einfach (nach der Formel von Haworth) gebauten Teile der Stärkemoleküle werden von den Enzymen normal zu Maltose verzuckert, die Teile, die anders gebaut sind, bleiben als Grenzdextrine zurück.

Literatur

¹⁾ Vgl. die Zusammenfassung von M. Samec in Hdb. der Kolloidwissenschaft, Bd. VIII, 1941.

²⁾ H. Staudinger, *Organische Kolloidchemie*, Braunschweig 1941; H. Staudinger u. E. Husemann in *Fortschritte der Chemie, Physik und Technik der makromolekularen Stoffe*, Bd. II. Verlag Lehmann 1942.

³⁾ O. Lamm, *Nova Acta Reg. Soc. Sci. Upsaliensis*, Ser. IV, 10, Nr. 6.

⁴⁾ P. Karrer u. Mitarbeiter, *Helv. chim. acta* 4, 263, 678 (1921); 6, 402 (1923).

⁵⁾ K. Myrbäck, *Svensk. kem. Tidskr.* 49, 271 (1937).

⁶⁾ K. Freudenberg u. K. Soff, *Ber. dtsh. chem. Ges.* 69, 1252 (1936).

⁷⁾ E. L. Hirst, M. M. T. Plant u. M. D. Wilkinson, *J. chem. Soc. [London]* 1932, 2375; W. N. Haworth, E. L. Hirst u. M. D. Woolgar, ebenda 1935, 177; E. L. Hirst u. G. T. Young, ebenda 1939, 951.

⁸⁾ Vgl. Zusammenfassung in *Angew. Chem.* 60, 853, 875 (1936).

⁹⁾ K. Hess u. K. H. Lung, *Ber. dtsh. chem. Ges.* 71, 815 (1938).

¹⁰⁾ D. K. Baird, W. N. Haworth u. E. L. Hirst, *J. chem. Soc. [London]* 1935, 1201.

¹¹⁾ H. Staudinger u. E. Husemann, *Liebigs Ann. Chem.* 527, 195 (1937); *Ber. dtsh. chem. Ges.* 71, 1057 (1938).

¹²⁾ J. J. Bell, *Biochemic. J.* 31, 1683 (1937); W. Z. Hassid u. J. L. Chaikoff, *J. biol. Chemistry* 123, 755 (1938).

- ¹³) K. Freudenberg u. H. Boppel, Ber. dtsh. chem. Ges. **73**, 609 (1940); Naturwiss. **28**, 264 (1940).
- ¹⁴) Vgl. z. B. K. Myrbäck u. K. Ahlborg, Svensk kem. Tidskr. **49**, 216 (1937).
- ¹⁵) K. H. Meyer, Naturwiss. **28**, 397 (1940); K. H. Meyer u. Mitarbeiter, Helv. chem. acta **23**, 845 und 1465 (1940); **24**, 50, 58, 212 (1941).
- ¹⁶) K. Hess u. Mitarbeiter, Ber. dtsh. chem. Ges. **73**, 976, 1069, 1076 (1940).
- ¹⁷) Vgl. z. B. K. Myrbäck, Biochem. Z. **307**, 140 (1940).
- ¹⁸) Vgl. H. Pringsheim, Die Polysaccharide, Berlin 1931.
- ¹⁹) F. Schardinger, Wien. klin. Wschr. **1904**, Nr. 8; Zbl. Bakteriolog., Parasitenkunde Infektionskrankh., Abt. II, **14**, 772, 2905; **19**, 161 (1907); **22**, 98 (1909); **29**, 188 (1911).
- ²⁰) Tilden u. C. S. Hudson, J. Amer. chem. Soc. **61**, 2900 (1939).
- ²¹) K. Freudenberg u. Mitarbeiter, Ber. dtsh. chem. Ges. **69**, 1258, 2041 (1936); Naturwiss. **27**, 850 (1939).
- ²²) Vgl. K. Myrbäck u. G. Stenlid, Svensk kem. Tidskr. **54**, 103 (1942).
- ²³) R. Kuhn, Liebigs Ann. Chem. **443**, 1 (1925).
- ²⁴) K. Myrbäck, Current Sci. **6**, 47 (1937); K. Myrbäck u. K. Ahlborg, Svensk kem. Tidskr. **49**, 216 (1937).
- ²⁵) Vgl. z. B. H. Pringsheim u. Mitarbeiter, Biochem. Z. **142**, 108 (1923); **148**, 336 (1924); **197**, 143 (1928); **203**, 88 (1928).
- ²⁶) K. Myrbäck u. K. Ahlborg, Biochem. Z. **311**, 213 (1942).
- ²⁷) Vgl. die Übersicht von H. Kraut in G. M. Schwab, Hdb. der Katalyse III, S. 85.
- ²⁸) K. Myrbäck u. W. Thorsell, Svensk kem. Tidskr. **54**, 50 (1942).
- ²⁹) K. Myrbäck u. G. Nycander, Biochem. Z. **311**, 234 (1942).
- ³⁰) W. N. Haworth, E. L. Hirst, H. Kitschen u. S. Peat, J. chem. Soc. [London] **1937**, 791.
- ³¹) K. H. Meyer u. Mitarbeiter, Helv. chim. acta **24**, 359, 1395, 1400, 1404, 1408 (1941).
- ³²) E. Ohlsson, C. R. Séances Soc. Biol. Filiales Associées **87**, 1183 (1922); Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **189**, 17 (1930).
- ³³) W. Kuhn, Ber. dtsh. chem. Ges. **63**, 1503 (1930).
- ³⁴) B. Örtenblad u. K. Myrbäck, Biochem. Z. **307**, 123 (1941); K. Myrbäck, ebenda **307**, 132, 140 (1941); **311**, 227, 242 (1942).
- ³⁵) K. Ahlborg, Svensk kem. Tidskr. **54**, 205 (1942).
- ³⁶) H. v. Euler, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **143**, 79 (1925).
- ³⁷) Ch. S. Hanes, New Phytologist **36**, 101, 189 (1937).
- ³⁸) E. Waldschmidt-Leitz u. M. Reichel, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **223**, 76 (1934).
- ³⁹) K. Myrbäck, B. Örtenblad u. K. Ahlborg, Biochem. Z. **307**, 53 (1940).
- ⁴⁰) K. Myrbäck u. K. Ahlborg, Biochem. Z. **307**, 69 (1940).
- ⁴¹) K. Ahlborg u. K. Myrbäck, Biochem. Z. **308**, 187 (1941).