

Beiträge zur Kenntnis der Amylase in grünen Pflanzen

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät
der Hochschule zu Stockholm

vorgelegt von

Knut Sjöberg

lic. phil.

Die Verteidigung wird am 25. November 1922
10 Uhr vormittags im Hörsaale Nr. 1 stattfinden

Sonderdruck aus der Biochemischen Zeitschrift
Band 133, Heft 1/3

Springer-Verlag Berlin Heidelberg GmbH 1922

Beiträge zur Kenntnis der Amylase in grünen Pflanzen

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Mathematisch - Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Hochschule zu Stockholm

vorgelegt von

Knut Sjöberg

lic. phil.

Die Verteidigung wird am 25. November 1922
10 Uhr vormittags im Hörsaale Nr. 1 stattfinden

Sonderdruck aus der Biochemischen Zeitschrift
Band 133, Heft 1/3

Springer-Verlag Berlin Heidelberg GmbH 1922

ISBN 978-3-662-24474-6 ISBN 978-3-662-26618-2 (eBook)
DOI 10.1007/978-3-662-26618-2

I. Über die Bildung und das Verhalten der Amylase in lebenden Pflanzen.

Mit 12 Abbildungen im Text.

Inhalt.

	Seite
1. Einleitung	218
2. Frühere Arbeiten und Beobachtungen	219
3. Methodik	222
a) Historisches	222
b) Die Endprodukte	225
c) Die Ausführung der Amylasebestimmung	227
d) Der Einfluß der Azidität	230
4. Ergebnisse	233
a) Das Verhalten der Amylase in Keimlingen	233
b) Amylase in Knospen und Blättern einiger Bäume	241
c) Die Veränderung der Amylasewirkung im Laufe eines Tages	248
d) Das Verhältnis der Amylasebildung zum Nährsubstrat	251
e) Der Zusammenhang zwischen Amylasewirkung und Kohlehydrat- menge in Blättern	259
a) Methoden der Kohlehydratbestimmungen	259
β) Ergebnisse	263
5. Diskussion über die Wirkung der Amylase in der lebenden Pflanze	265
6. Zusammenfassung	268
Beilagen	270

1. Einleitung.

Die vorliegende Arbeit soll ein Beitrag zur Kenntnis der stärkespaltenden Enzyme in höher entwickelten Pflanzen sein. Zwar entdeckten *Payen* und *Persoz*¹⁾ vor ungefähr 100 Jahren und ziemlich zur selben Zeit auch *Saussure* ein zuckerbildendes Enzym in Malz; es dauerte jedoch sehr lange, ehe man fand, daß auch andere Pflanzenteile als Samen solche Enzyme enthalten. Amylase in Malz und anderen keimenden Getreidekörnern sind gleichfalls Gegenstand einer Reihe

¹⁾ *Payen* und *Persoz*, Ann. de Chim. et Phys. 53, 73, 1833.

mehr oder weniger umfangreicher Untersuchungen gewesen. Unsere Kenntnis der Amylase in anderen Pflanzen und Pflanzenteilen, was sowohl deren Wirkung wie auch die Voraussetzungen für ihre Bildung und Variation innerhalb der lebenden Pflanze anbetrifft, ist jedoch sehr mangelhaft. Untersuchungen über die quantitative Feststellung der Enzymmenge per Zelle oder Gramm Trockengewicht und die quantitative Veränderung der Enzymmenge wurden bisher nur mit niedrig entwickelten Organismen ausgeführt. Solche Untersuchungen sind in dem hiesigen Laboratorium mit Hefe¹⁾²⁾, Schimmelpilzen³⁾⁴⁾ und Algen⁵⁾ angestellt worden. Es erschien mir deshalb zweckmäßig, solche Feststellungen auch bei höher entwickelten Pflanzen zu machen. In dieser Arbeit werden Amylasen behandelt, unter welcher Bezeichnung die Zusammenfassung der Enzyme zu verstehen ist, welche zur Spaltung von Stärke zu niedrigeren Kohlehydraten, Maltose und eventuell Glykose beitragen. Der erste Teil dieser Arbeit behandelt das Verhältnis der Amylase innerhalb der lebenden Pflanzen in Hinblick auf sowohl deren Bildung sowie Veränderung unter verschiedenen Voraussetzungen. Im zweiten Teil ist ein Vergleich zwischen einer früher nicht näher untersuchten Pflanzenamylase und der Malzamylase betreffend ihrer Temperaturempfindlichkeiten angestellt worden.

2. Frühere Arbeiten und Beobachtungen.

Von älteren Arbeiten über stärke-spaltende Enzyme in Blättern und anderen Teilen höher entwickelter Pflanzen seien hier nur einige der wichtigsten genannt. Es war *Kosmann*⁶⁾, welcher entdeckte, daß Blätter einen Stoff enthalten, welcher auf die Stärke umbildend einwirkt. Er extrahierte sowohl frische wie getrocknete Blätter mit Wasser und fällte den Extrakt mit Alkohol aus. Die Fällung spaltete darauf in Wasserlösung sowohl Stärke wie Saccharose und Salicin und enthielt somit mehrere Enzyme. *Baranetzky* gab 1878 eine Arbeit über „Die stärkeumbildenden Fermente in den Pflanzen“ heraus. Er glaubte jedoch zu finden, daß Wasserextrakt von Blättern die Stärke nicht unmittelbar spaltete, sondern erst nach Verlauf von mehreren Tagen. *Brasse*⁷⁾ erbrachte vollgültige Beweise für die Existenz von Diastase in Blättern.

Die ersten größeren, mehr quantitativ vergleichenden Untersuchungen auf diesem Gebiete wurden von *Brown* und *Morris*⁸⁾ ausgeführt. Sie verfolgten mikroskopisch das Keimen von Roggen. Auf Grund ihrer Beob-

1) *Euler* und *Johansson*, Svenska Vet. Akad. Arkiv f. Kemi 4, Nr. 23, 1911.

2) *Euler* und *Svanberg*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 106, 201, 1919.

3) *Euler* und *Asarnoj*, Fermentf. 3, 318, 1920.

4) *Euler*, Fermentf. 4, 242, 1921.

5) *Sjöberg*, Fermentf. 4, 97, 1920.

6) *Kosmann*, Bull. de la soc. chem. de Paris 1877, S. 231.

7) *Brasse*, C. r. 99, 878, 1884.

8) *Brown* und *Morris*, Journ. Chem. Soc. 57, 458, 1890.

achtungen unterschieden sie zwischen zwei Diastasen, und zwar: Sekretionsdiastase, die beim Keimen auf Kosten des Protoplasmas und der Zellkerne entsteht und Translokationsdiastase, die sich in allen Blättern und vegetabilischen Organen vorfindet. *Wortmann*¹⁾ fand, daß alle Samen Diastase enthalten, stärkefreie jedoch nur wenig. Bei der Keimung vermehrt sich die Diastasemenge bedeutend. Die Blätter wurden auf folgende Weise untersucht: Die gesammelten Blätter wurden fein zerschnitten, dann mit etwas Wasser im Mörser fein zerrieben und darauf mit etwa gleichem Volumen Wassers extrahiert, die Auszüge filtriert und direkt verwendet. *Wortmann* fand jedoch, daß diese Extrakte keine Diastasewirkung hatten. Hieraus zog er folgenden Schlußsatz: „Wir müssen hiernach annehmen, daß die Auflösung der Stärke in den Blättern vom Protoplasma direkt besorgt wird und daß keine oder nicht genügend Mittel vorhanden sind, um die Blattstärke unabhängig vom Protoplasma in den Blattzellen in Lösung zu bringen.“ Zu demselben Resultat kam *Vines*²⁾. *Brown* und *Morris*³⁾ waren, wie gesagt, die ersten, welche versuchten, die Diastasemenge in verschiedenen Pflanzen und zu verschiedenen Zeiten quantitativ zu vergleichen. Im Gegensatz zu *Wortmanns* Annahme sagen sie: „So far from leaves containing, as a rule, little or no diastase, we have never found a single case, where diastase was not present in sufficient quantity to transform far more starch than the leaf can ever contain at any time“. *Wortmanns* Resultat war darauf zurückzuführen, daß Gerbstoffe, besonders Tannin, die Diastasewirkung verhinderten. Die Blätter müssen zuerst bei 30 bis 35° getrocknet werden. Behandelt man die Blätter sofort nach dem Pflücken mit Chloroformdampf, können sie ohne Veränderung der Amylasewirkung nachher getrocknet werden. Ferner müssen die fein pulverisierten Blätter bei der Ausführung der Reaktion zugegen sein, da nicht alle Amylase in den Wasserextrakt übergehen. Als Maßstab für die Amylasewirkung geben sie an: „The number of grams of maltose which the diastase of 10 grams of leaves is able to produce from soluble-starch by hydrolysis in 48 hours, at a temperature of 30°“. Sie haben auf diese Weise die Amylasewirkung in den Blättern einer Reihe von Pflanzen verschiedener Gattungen bestimmt. Besonders reich an Enzymen erwiesen sich Leguminosae, vor allem die Gattungen Phaseolus und Pisum. Ferner untersuchten sie die Amylasewirkung bei einigen Pflanzen zu verschiedenen Tageszeiten. Während der Nacht erhöhte sich dieselbe, um dann im Laufe des Tages wieder zu sinken. Ebenso erhöhte sich die Enzymwirkung bei abgepflückten Blättern, wenn dieselben im Dunkeln lagen. Die Verfasser meinten, daß dies darauf beruhe, daß das Enzym in dem Maße verbraucht wird, in welchem es Stärke hydrolysiert. Am Tage, wo die Stärkemenge groß ist, wird darum mehr als während der Nacht und im Dunkeln verbraucht, wo nicht viel Stärke umzubilden ist. *Brown* und *Morris* untersuchten auch im Zusammenhang hiermit die Veränderung der Stärke- und Zuckermenge in Blättern während des Verlaufs eines Tages. *Hansteen*⁴⁾ fand, daß sich in den Schildchen von Gras während der Keimung Amylase bildet. *Grüss*⁵⁾ hat die Frage betreffend das Verhalten des diastasischen

1) *Wortmann*, Bot. Zeitung 48, Nr. 37 u. f., 1890.

2) *Vines*, Brit. Assoc. Report 1891, S. 679.

3) *Brown* und *Morris*, Journ. Chem. Soc. 63, 604, 1893.

4) *Hansteen*, Flora 79, 419, 1894.

5) *Grüss*, Pringsheims Jahrb. f. wiss. Bot. 26, 379, 1894.

Enzyms in Keimpflanzen behandelt. Er extrahierte Pflanzenteile mit Glycerin und untersuchte darauf den Glycerinextrakt. Er diskutierte das Vermögen der Diastase, durch die Zellwände zu diffundieren, und kam zu dem Resultat, daß es zwei Enzyme gibt, von welchen das eine leicht durch die Wände der Zelle dringen kann, ohne sie zu zerstören, während das andere die Zellwände nur mit Schwierigkeit durchdringen kann und dieselben gleichzeitig zerstört. Interessant sind seine Untersuchungen mit Keimpflanzen von *Phaseolus multiflorus*. Er bestimmte die Diastasemenge in verschiedenen Teilen der Pflanze und fand, daß dieselbe am größten in der Spitze ist, sich nach den Kotelydonen zu vermindert, wo sie wieder groß ist. sich dann im Stiele verringert und in der Wurzel ganz verschwindet. Die Enzymwirkung steigt in den verschiedenen Teilen während des Keimens und der Entwicklung der Pflanze, bis dieselbe ein bestimmtes Stadium erreicht hat, worauf sie wieder abnimmt. In einer späteren Arbeit untersuchte *Grüss*¹⁾ den Inhalt verschiedener Zellen bei Keimpflanzen von *Zea Mays* auf Diastase und kam zu dem Resultat, daß in allen stärkeführenden Reservebehältern sich der Hauptbildungsherd der Diastase da findet, wo im allgemeinen die Stärke zuerst gelöst werden soll. Von *Linz*²⁾ stammt eine Untersuchung betreffend die Verteilung der Amylase in verschiedenen Teilen von Maissamen. Er fand die Diastasewirkung am größten in den Schildchen, und da vor allem in deren Epithel. *Effront*³⁾ hat die Amylasebildung bei der Keimung von Getreidekörnern untersucht und dabei gefunden, daß das Verzuckerungs- und das Verkleisterungsvermögen sich nicht parallel entwickeln. Das erstgenannte erreicht schnell einen Höhepunkt und sinkt darauf, während sich das letztere langsamer entwickelt und dann etwas länger auf einem maximalen Werte stehen bleibt. Eine größere Arbeit über die Bildung von Diastase bei Pflanzen ist auch von *Eisenberg*⁴⁾ geliefert worden. Zur Bestimmung der Amylasewirkung trocknete er zuerst das Material bei 42°, pulverisierte dasselbe, extrahierte mit einem bestimmten Volumen Wasser und filtrierte. Er bestimmte darauf, eine wie lange Zeit verstrich, bis daß eine 1proz. Stärkelösung durch Jod nicht mehr blau gefärbt wurde. Er wandte sich gegen *Browns* und *Morris'* Annahme, daß der Diastasegehalt im Verlaufe des Tages sinkt. Hierüber sagt er: „Durch meine Beobachtung konnte keine direkte Beeinflussung des Diastasegehaltes der Blätter (*Pisum sativum*) durch Beleuchtungsverhältnisse ermittelt werden.“ Er fand weiter, „mit fortschreitender Keimung wächst die Menge der in den Keimpflanzen vorhandenen Diastase... Im allgemeinen enthalten Blätter, die bei der Assimilation leicht Stärke speichern, viel Diastase, während Zuckerblätter arm an dem Enzym sind.“ *Butkewitsch*⁵⁾ hat in der Rinde, dem Holze und in den Blättern einer Reihe von Bäumen und Pflanzen Amylase nachgewiesen. *Blagowjeschtschenski*⁶⁾ untersuchte das Verhältnis zwischen Stärke und Amylasemenge in keimenden Samen von *Vicia Faba*. Die Amylasebestimmung wurde so ausgeführt, daß man zu 100 cem 0,5proz. Stärke-

1) *Grüss*, Ber. d. deutsch. bot. Ges. 13, 2, 1895.

2) *Linz*, Jahrb. wiss. Bot. 29, 367, 1896.

3) *Effront*, C. r. 141, 626, 1905.

4) *Eisenberg*, Flora 97, 347, 1907.

5) *Butkewitsch*, diese Zeitschr. 10, 314, 1908.

6) *Blagowjeschtschenski*, Journ. Russ. Phys. Chem. Ges. 47, 1529, 195; Chem. Zentralbl. 87, 2 A, 1916.

lösung 0,25 g Samen und 1 ccm Toluol mischte, worauf man die Menge reduzierenden Zuckers unmittelbar und nach 24 Stunden bestimmte. Er fand jedoch keinen Zusammenhang zwischen den Variationen der Stärke und der Amylase. *Daish*¹⁾ hat die kohlehydratspaltenden Enzyme in frischen Blättern bei einer Reihe von Pflanzen untersucht. Er fand, daß hauptsächlich Glykose gebildet wurde, weshalb er sagt, daß „there is therefore no doubt as to the present of maltose in this leaves, wether plucked at night or in the daytime“. Ein Wasserextrakt von Blättern spaltet jedoch Stärke nur zu Maltose, bei Anwesenheit des feinpulverisierten Präparates wird aber auch Glykose gebildet. Kürzlich haben *Palladin* und *Popoff*²⁾ eine Abhandlung veröffentlicht „Über die Entstehung der Amylase und Maltose in den Pflanzen“. Ihre Methode für die Bestimmung der Amylasewirkung ist folgende: Die frischen Blätter werden im Mörser zerrieben und dann mit Chloroform oder Toluol autolytisch. Nach einigen Tagen wird die Masse gepreßt, der Rückstand mit Wasser aufgeschlemmt und Stärke zugesetzt. Auf diese Weise werden die gelösten Diastase entfernt und nur das, was an die Protoplasten gebunden ist oder durch die Gerbstoffe gefällt wird, bleibt zurück. Das Reduktionsvermögen wird nach *Fehling* bestimmt und der Zucker als Glykose berechnet. Sie fanden: „in grünen und etiolierten Blättern verschiedener Pflanzen nach einer dauernden Autolyse (von 1 bis 23 Tagen) bei hoher Sommertemperatur und darauffolgendem sorgfältigen Durchwaschen in Wasser bleibt noch aktive, mit den Protoplasten verbundene Diastase. In jungen Blättern ist mehr gebundene Diastase als in alten... In Blättern befindet sich die Diastase beinahe ausschließlich in Verbindung mit den Protoplasten. Die Art dieser Verbindung ist unbekannt.“ Sie fügen jedoch hinzu, daß „während der Autolyse Diastase, die mit den Protoplasten verbunden ist, sich spaltet und in die Lösung übergeht“.

3. Methodik.

a) Historisches.

Wie aus der geschichtlichen Zusammenfassung hervorgeht, sind eine Reihe Verfasser zu der Auffassung gekommen, daß es bei der Bestimmung der Amylasewirkung notwendig ist, die feinpulverisierten Pflanzenteile in der Reaktionsmischung anwesend zu haben, um ein quantitativ richtiges Resultat zu erhalten. Besonders hervortretend in dieser Beziehung sind die von *Palladin* und *Popoff* ausgeführten Untersuchungen. Einige Verfasser, wie *Brown* und *Morris* und *Eisenberg*, haben zuerst ihr Material bei 30 bis 40° getrocknet. Ein solches Verfahren kann jedoch sehr leicht einen schädlichen Einfluß auf die Amylasewirkung haben. So hat z. B. Verfasser³⁾ dieser Arbeit gezeigt, daß Amylase von Grünalgen beim Trocknen bei gewöhnlicher Zimmer-

1) *Daish*, Biochem. Journ. 10, 49, 56, 1916.

2) *Palladin* und *Popoff*, diese Zeitschr. 128, 487, 1922.

3) *Sjöberg*, l. c.

temperatur etwas von ihrem Spaltungsvermögen verlieren. Um einen wirklichen Wert der Amylasewirkung gerade da, wenn die Proben entnommen werden, zu erhalten, ist es notwendig, dieselben unmittelbar zu behandeln.

Ein Wassereextrakt von Blättern ist hellgelb bis stark rotbraun gefärbt. Bei der Bestimmung der Amylasewirkung ist es darum notwendig, sich entweder einer Methode zu bedienen, die gleich gut in gefärbten Lösungen anwendbar ist, oder zuerst die Farbstoffe von dem Material zu extrahieren. Eine solche Extraktion muß folglich mit einem Lösungsmittel ausgeführt werden, welches weder die Amylase auflöst oder sonst irgendwelche schädliche Einwirkung auf dieselbe hat. Extraktionsversuche sind mit Alkohol und Aceton in verschiedenen Konzentrationen als Lösungsmittel ausgeführt worden. Diese Lösungsmittel extrahierten so gut wie vollständig das Chlorophyll, welches jedoch nicht wasserlöslich und darum bei der Bestimmung nicht hinderlich ist. Die wasserlöslichen rotbraunen Farbstoffe werden dagegen nicht extrahiert. Was den Einfluß des Extraktionsmittels auf die Amylasewirkung betrifft, so war ein solcher bei der Anwendung von 96proz. Alkohol fast gar nicht zu bemerken. Nach Extraktion mit 60proz. Alkohol und 80proz. Aceton war die Amylasewirkung bedeutend vermindert, dadurch verursacht, daß ein Teil des Enzyms in Lösung ging. Es erwies sich also als nicht zweckmäßig, durch eine vorbereitende Extraktion die Farbstoffe zu entfernen.

Für die Bestimmung der Amylasewirkung mußte darum eine Methode angewendet werden, welche unabhängig von der Farbe des Extraktes ist. Es dürfte unnötig sein, hier auf eine ausführliche Beschreibung aller Methoden einzugehen, welche ausgearbeitet worden sind. Ich möchte in diesem Zusammenhange nur auf die Arbeiten von *Sherman*¹⁾ und seinen Mitarbeitern und von *Euler* und *Svanberg*²⁾ hinweisen. Von den angewendeten Methoden kommt aus den oben genannten Gründen *Wohlgemuths*³⁾ kolorimetrische Methode nicht in Frage. Ebenso sind die Methoden, die sich auf die Bestimmung des Polarisationsvermögens gründen, unanwendbar, da die Lösungen viel zu stark gefärbt sind. Als praktisch anwendbar verbleibt die Reduktionsmethode, d. h. die Bestimmung des gebildeten Zuckers durch sein Vermögen, alkalische Kupferlösungen zu reduzieren.

Die Spaltung von Stärke zu Maltose geht in mehreren Stadien vor sich, und hierbei wirken wahrscheinlich mehrere Enzyme mit. Man kann jedoch die Spaltung in zwei größere Absätze einteilen, nämlich

1) *Sherman* und *Thomas*, Journ. Amer. Chem. Soc. **37**, 623, 1915.

2) *Euler* und *Svanberg*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **112**, 193, 1920.

3) *Wohlgemuth*, diese Zeitschr. **9**, 1, 1908.

die Verkleisterung der Stärke und die Spaltung der Zwischenprodukte in Zucker. Die verschiedenen Phasen sind natürlich mehr oder weniger voneinander abhängig. Im allgemeinen geht die Verkleisterung der Stärke bedeutend schneller vor sich als die Zuckerbildung. In 1proz. Stärkelösung z. B. wird sämtliche Stärke zu Dextrin umgebildet, d. h. die Lösung wird von Jod nicht länger blau gefärbt, auch wenn sich nur wenig Zucker gebildet hat. Will man daher den Verlauf der Spaltung vollständig untersuchen, ist es notwendig, diese beiden Reaktionen zu bestimmen. Da es sich jedoch in dieser Arbeit darum handeln soll, die Amylasewirkung bei Pflanzen zu untersuchen, sah ich es als ausreichend an, das Verzuckerungsvermögen zu bestimmen, da die Bildung des Schlußproduktes das wichtigste für die Pflanze ist, und die Zwischenprodukte nur Interesse als solche haben.

Bestimmungen des Verzuckerungsvermögens bei Pflanzenamylase mit Ausnahme von Malzamylase sind früher so ausgeführt worden, daß man das Enzympräparat während einer bestimmten Zeitdauer auf Stärkelösung einwirken ließ und dann bestimmte, wieviel Zucker sich gebildet hatte. Oder man hat auch die Zeit bestimmt, welche erforderlich ist, um eine gewisse Menge alkalische Kupferlösung ganz zu entfärben. Was die Malzamylase betrifft, liegen eine ganze Reihe genauer Untersuchungen über den Verlauf der Zuckerbildung vor. Mehrere Verfasser haben sehr exakte systematische Versuche darüber ausgeführt, inwieweit die Verzuckerung sich der Formel für monomolekulare Reaktionen anschließt. Indem ich von älteren Arbeiten auf diesem Gebiet auf *Eulers* und *Svanbergs* erwähnte Arbeit hinweise, will ich näher auf deren Untersuchungen eingehen. Diese Forscher haben gefunden, daß das erste Stadium der Verzuckerung eine beinahe monomolekulär verlaufende Reaktion ist, wobei aus 1 g Stärke, unabhängig von der Enzymmenge, annähernd 750 mg Maltose entsteht. Die Reaktionskonstante ist der Enzymkonzentration annähernd proportional. Nachdem sich 75% der theoretischen Menge Maltose gebildet hat, verläuft die Reaktion jedoch bedeutend langsamer. Wie bei der Rohrzuckerinversion treten auch hier lineare Beziehungen zwischen Substratmenge und Spaltungsgeschwindigkeit auf. Zur Angabe der Verzuckerungsfähigkeit Sf von Amylasepräparaten schlagen sie folgende Einheit vor, welche der früher für Saccharose eingeführten analog ist¹⁾:

$$Sf = \frac{k \cdot g \text{ Maltose}}{g \text{ Präparat}}.$$

Hier bedeutet k den Mittelwert des Reaktionskoeffizienten der monomolekularen Reaktion, nach welcher sich der erste, größte Teil

¹⁾ *Euler* und *Svanberg*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **106**, 201, 1919.

der Verzuckerung vollzieht, g Maltose die Anzahl g Maltose, welche durch diese Reaktion maximal gebildet werden können.

Unabhängig von *Euler* und *Svanberg* stellten *Lüers* und *Wasmund*¹⁾ ungefähr gleichzeitig einen ähnlichen Ausdruck als Maß für die Verzuckerungsfähigkeit auf:

$$F_z = \frac{k \cdot g \text{ Stärke}}{g \text{ Fermentpräparat}}$$

Der einzige Unterschied in diesen beiden Ausdrücken besteht darin, daß die letztgenannten Forscher an Stelle der Anzahl g Maltose, die gebildet wird, die Menge der Stärke setzen. Da von 1 g Stärke 1,056 g Maltose gebildet werden, wird der Wert auf Sf hierdurch nur unbedeutend vermindert, wenn alle Stärke mit ein und derselben Geschwindigkeit zu Maltose verwandelt wird. In dem Falle, wo nur 75% Maltose gebildet werden, dürfte es zweckmäßig sein, mit dem von *Euler* und *Svanberg* vorgeschlagenen Ausdruck zu rechnen.

Da keine näheren Untersuchungen darüber vorliegen, inwieweit auch andere Pflanzenamylasen ein ähnliches Verhalten bei der Zuckerbildung aufweisen, war es notwendig, dies zuerst zu untersuchen, ehe die obenstehende Anschauung geltend gemacht werden konnte.

Von großer Bedeutung bei der Bestimmung der Amylasewirkung ist die Beschaffenheit des Substrates. Nach *Wirth*²⁾ wiesen verschiedene Stärkesorten Unterschiede in ihrer Angreifbarkeit durch Diastase auf. *Sherman* und seine Mitarbeiter^{3) 4)} haben die Wirkung einer Reihe von Amylasepräparaten auf verschiedene Stärkesorten untersucht und gefunden, daß das Resultat mit der Stärke variiert. Auch *Euler* und *Myrbäck*⁵⁾ haben ähnliche Untersuchungen ausgeführt. Es ist daher von großer Wichtigkeit, daß man bei vergleichenden Versuchen dieselbe Stärke anwendet. In der vorliegenden Untersuchung ist die von *Merck* unter der Bezeichnung „lösliche Stärke“ im Handel geführte zur Anwendung gekommen.

b) Die Endprodukte.

Um die durch die Enzymwirkung gebildete Zuckermenge quantitativ zu bestimmen, muß man wissen, inwieweit die Reaktion mit der Bildung von Maltose aufhört oder ob dieselbe in Glykose übergeht. Was Malzamyase anbetrifft, rechnet man im allgemeinen damit, daß

¹⁾ *Lüers* und *Wasmund*, Fermentf. 5, 169, 1922.

²⁾ *Wirth*, Diss. München 1908.

³⁾ *Sherman* and *Baker*, Journ. Amer. Chem. Soc. 38, 1885, 1916.

⁴⁾ *Sherman*, *Walker* and *Cadwell*, Journ. Amer. Chem. Soc. 42, 1123 1919.

⁵⁾ *Euler* und *Myrbäck*, Svenska Vet. Akad. Arkiv f. Kemi 8, Nr. 9, 1921.

die Reaktion mit der Bildung von Maltose aufhört. *Sherman* und *Punnét*¹⁾, welche mehrere Amylasepräparate in dieser Hinsicht untersucht haben, sagen, daß jederzeit etwas Glykose gebildet wird. Unter den Voraussetzungen aber, unter welchen die Reaktion im allgemeinen ausgeführt wird, ist die Bildung von Maltose so überwiegend, daß man mit Fug damit rechnen kann, daß nur Maltose gebildet wird. Die Angaben sind jedoch recht schwankend, wie es sich damit verhält, wenn die Reaktion von anderen Pflanzenenzymen katalysiert wird. *Daish*²⁾, der die Produkte bei der Spaltung von Stärke durch Enzyme von einigen verschiedenen Pflanzen untersucht hat, kam zu dem Resultat, daß hauptsächlich Glykose gebildet wird, aber in kleineren Mengen auch Maltose. Wurde die Spaltung mit einem Wasserextrakt ohne Gegenwart des feinpulverisierten Präparats ausgeführt, so wurde jedoch nur Maltose gebildet. *Baker* und *Hulton*³⁾ haben Versuche mit Getreidekörnern ausgeführt. Wenn Amylase von ungekeimtem Roggen oder Gerste auf Kartoffelstärke einwirkt, so wurden α -Amylodextrin und Maltose gebildet. Amylase von keimendem Roggen ergibt unter denselben Voraussetzungen Dextrin und Maltose. *Palladin*⁴⁾ berechnet den reduzierenden Zucker, den er bei der Einwirkung der Amylase von Blättern verschiedener Pflanzen erhielt, als Glykose.

Auf Grund dieser variierenden Angaben habe ich die Produkte bei der Spaltung mit Enzymen von *Phaseolus vulgaris* untersucht. Eine Enzymlösung wurde von Blättern von *Phaseolus* bereitet und diese einer Lösung von 1 g Stärke zugesetzt ($p_H = 5,2$). Nach Verlauf von 24 Stunden war sämtliche Stärke so weit gespalten, daß die Lösung durch Jod nicht mehr gefärbt wurde. Die Lösung wurde filtriert und auf 150 ccm verdünnt.

Diese Lösung ergab in der 10-cm-Röhre eine Drehung von $1,00^{\circ}$ (18°C). Diese Drehung entspricht 0,73% Maltosehydrat = 0,69% Maltoseanhydrid, berechnet nach $[\alpha]_{180} = 137,3$. Hätte die Lösung nur Glykose enthalten, würde die Konzentration 1,91%, $[\alpha]_{200} = 52,5$, betragen haben. 5 ccm der Lösung wurden laut *Bertrands* Methode reduziert. Hierbei wurden 36,1 mg Cu reduziert, welches 32,5 mg Maltose oder 18,0 mg Glykose entspricht. Dies ergibt folgendes Konzentrationsverhältnis in der Lösung:

Maltose 0,65%, Glykose 0,36%.

Ein Teil der Lösung wurde 5 Stunden lang im Wasserbade mit verdünnter HCl hydrolysiert. Das Volumen wurde auf das ursprüngliche ergänzt. Die Drehung in der 10-cm-Röhre betrug nun $0,40^{\circ}$

1) *Sherman* and *Punnét*, Journ. Amer. Chem. Soc. **38**, 1877, 1916.

2) *Daish*, Biochem. Journ. **10**, 49, 1916.

3) *Baker* and *Hulton*, Journ. Chem. Soc. London **119**, 805, 1921.

4) *Palladin* und *Popoff*, diese Zeitschr. **128**, 487, 1922.

= 0,76% Glykose. 5 ccm reduzierten 66,0 mg Cu = 33,5 mg Glykose
= 0,67% Glykose oder 0,64% Maltose (Anhydrid).

Dieses Resultat zeigt deutlich, daß in diesem Falle nur Maltose gebildet wurde. Auf Grund dessen ist im folgenden der reduzierende Zucker stets als Maltose berechnet worden. Es hat sich auch in keinem Falle so viel reduzierender Zucker gebildet, daß derselbe, berechnet als Maltose, die Menge übersteigt, die sich theoretisch hätte bilden können. Dies hätte leicht eintreten können, wenn auch Glykose gebildet worden wäre.

c) Die Ausführung der Amylasebestimmung.

Die Bestimmung der Amylasewirkung wurde auf folgende Weise ausgeführt. Eine abgewogene Menge Blätter wurde in einem Porzellanmörser mit feinem Seesand und etwas Wasser zu einer gleichmäßigen, fein verteilten Masse zerrieben. Diese wurde in einen Meßkolben von 100 ccm gespült und teils Phosphatlösung bekannter Wasserstoffionenkonzentration und teils Stärkelösung zugesetzt. Außerdem wurde 1 ccm Toluol, welches keine Einwirkung auf die Amylasewirkung hat, zugesetzt, und zwar um die Infektion durch Mikroorganismen zu verhindern, was um so mehr erforderlich war, als die Versuche über mehrere Tage ausgedehnt werden mußten. Unmittelbar hierauf wurde eine Probe von 15 ccm entnommen, da die Pflanzenteile im allgemeinen Zucker und andere reduzierende Verbindungen enthalten und es darum notwendig ist, wegen dieser zu korrigieren. Darauf wurden nach verschiedenen langen Zeitabschnitten, je nach der Stärke der Amylase, Proben von 15 ccm entnommen. Diese ließ man in 20 ccm 4proz. Kupfersulfatlösung fließen, wobei die Enzymwirkung abgebrochen wurde. Die gebildete Maltose wurde nach *Bertrands* Methode bestimmt. Hierbei sollen 20 ccm der Zuckerlösung, 20 ccm Kupfersulfatlösung und 20 ccm alkalische Seignettesalzlösung angewendet werden. Weil 15 ccm von der Probe entnommen wurden, war es notwendig, die Amylasewirkung mit Kupferlösung abzubrechen, da das Volumen zu groß geworden wäre, wenn man z. B. Sodalösung angewandt hätte. Da die Versuche in Gegenwart der Pflanzenteile ausgeführt wurden, mußten die Proben filtriert werden, worauf mit 5 ccm Wasser gewaschen wurde. Hierauf wurde die Zuckerbestimmung auf gewöhnliche Weise ausgeführt. Die Versuche wurden in einem elektrisch geheizten Wasserthermostat bei einer Temperatur von $40^{\circ} \pm 0,2$ vorgenommen.

Im allgemeinen sind folgende Mengen angewandt worden:

Blätter	0,50 bis 1,00 g
1proz. Stärkelösung	25 „ 50 ccm
Etwa 4proz. Phosphatlösung	10 „
Ergänzt mit Wasser zu	100 „

Daß die angewandte Phosphatkonzentration ausreichend war, um einen konstanten p_H -Wert zu erhalten, wurde durch Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration auf elektrometrischem Wege kontrolliert.

Folgendes Beispiel (Tabelle 1), erhalten von drei verschiedenen Pflanzenpräparaten, zeigt den Verlauf der Verzuckerung. k ist berechnet aus der Formel für monomolekulare Reaktionen $k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$. Der Wert auf k ist zwar nicht ganz konstant, die Versuchsfehler sind

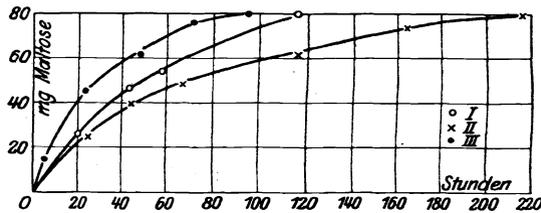


Abb. 1.

ziemlich groß, aber es zeigt sich jedenfalls, daß man praktisch damit rechnen kann, daß die Reaktion laut obengenannter Formel verläuft, wenn auch die Konstante etwas sinkt. Ferner geht aus der Tabelle und aus Abb. 1 hervor, daß die Reaktion monomolekular mit derselben Geschwindigkeit verläuft, bis sämtliche Stärke in Maltose umgebildet ist. In dieser Hinsicht unterscheidet sich also dieses Präparat von aus Malz hergestellten Amylase-lösungen.

Tabelle I.

I. Picea Abies			II. Pinus sil. estris			III. Phaseolus vulgaris		
Stunden	Maltose mg	k	Stunden	Maltose mg	k	Stunden	Maltose mg	k
20	26,0	0,0086	24	24,2	0,0066	5	15,0	0,018
43	46,7	0,0090	44	39,3	0,0065	23	45,3	0,016
58	54,5	0,0087	68	47,7	0,0058	47	60,7	0,014
116	79,4	—	116	61,2	0,0055	71	77,0	(0,022)
a	79,2	—	165	73,6	—	95	79,5	—
		0,0088	216	79,4	—	a	79,2	—
			a	79,2	—			0,018
					0,0061			

In den Tabellen II bis IV werden einige Versuche wiedergegeben, welche zeigen, wie die Reaktionskonstante sich mit variierender Enzymmenge verändert. Aus diesen drei Beispielen ist ersichtlich, daß die Zuckerbildungsfähigkeit in geradem Verhältnis zu der Enzymmenge, wenigstens innerhalb der Grenzen, um die es sich hier handelt, steht.

Mehrere andere Versuche mit Enzympräparaten von verschiedenen Pflanzen ergaben dasselbe Resultat. Dies steht, wie bereits erwähnt, in Übereinstimmung mit dem, was *Euler* und *Svanberg* betreffend Malzamylose innerhalb einer Konzentrationsveränderung von 0,2 bis 2,0 ccm Enzymlösung erhielten.

Tabelle II.
Picea Abies.

g Nadeln	1,00		1,50		2,00		
	Maltose mg	k	Maltose mg	k	Stunden	Maltose mg	k
21	13,4	0,0084	17,0	0,012	5	6,2	0,015
29	—	—	20,6	0,011	20	23,2	0,019
45	23,4	0,0086	29,5	0,013	25	25,9	0,018
69	28,6	0,0081	—	—	—	—	—
a	39,6	—	39,6	—	a	39,6	—
k Mittel	—	0,0084	—	0,012	—	—	0,017
$\frac{k}{g \text{ Nadeln}}$	—	0,0084	—	0,0080	—	—	0,0085

Tabelle III.
Pinus silvestris.

g Nadeln	1,00		1,50		2,00	
	Maltose mg	k	Maltose mg	k	Maltose mg	k
6	14,2	0,032	17,8	0,043	21,9	0,058
22	27,6	0,024	34,9	0,042	37,3	0,056
27	30,3	0,023	—	—	—	—
a	39,6	—	39,6	—	—	—
k Mittel	—	0,026	—	0,043	—	0,057
$\frac{k}{g \text{ Nadeln}}$	—	0,0260	—	0,0286	—	0,0285

Tabelle IV.
Phaseolus vulgaris.

1 ccm Enzymlösung			5 ccm Enzymlösung		
Stunden	Maltose mg	k	Stunden	Maltose mg	k
24	11,1	0,0020	7,5	15,7	0,0093
43	18,5	0,0019	23	41,2	0,0094
99	37,3	0,0019	31	46,8	0,0082
a	105,6	—	a	105,6	—
k Mittel	—	0,0019	—	—	0,0090
$\frac{k}{\text{ccm Enzymlös.}}$	—	0,0019	—	—	0,0018

Da die Enzymwirkung bei den von mir untersuchten Pflanzenteilen im allgemeinen sehr schwach war, konnten nur verhältnismäßig kleine Mengen Stärke umgewandelt werden, wenn die Versuche sich nicht über eine allzu lange Zeit erstrecken sollten. Deswegen sind auch die Stärkekonzentrationen während der Versuche schwächer als die gewesen, die im allgemeinen angewendet zu werden pflegen, wenn es die Bestimmung der Speichel- und Malzdiastase gilt. Die folgende Tabelle zeigt jedoch, daß bei diesen Konzentrationen ein gerades Verhältnis zwischen den erhaltenen Reaktionskonstanten und der Konzentration der Stärkelösung herrscht.

Tabelle V.

Fraxinus excelsior. Die Lösung = 100 ccm.

% Stärke	0,20		0,30		0,50	
	Maltose mg	k	Maltose mg	k	Maltose mg	k
24	11,5	0,0044	13,2	0,0033	13,2	0,0019
30	—	—	15,9	0,0032	16,0	0,0019
72	27,4	0,0044	24,9	0,0023	26,4	0,0013
<i>a</i>	52,8	—	79,2	—	132,0	—
<i>k</i> Mittel	—	0,0044	—	0,0029	—	0,0017
<i>k</i> × <i>g</i> Stärke	—	0,00088	—	0,00087	—	0,00085

Ähnlich wie es der Fall mit Malzamylase war, kann also die Verzuckerungsfähigkeit als Produkt der Reaktionskonstante für monomolekulare Reaktion und der Substratmenge angegeben werden, dividiert mit der Enzymmenge. Da man damit rechnen könnte, daß bei diesen Bestimmungen sämtliche Stärke zu Maltose umgewandelt wird, habe ich der Einfachheit wegen das Substrat als Stärke berechnet und erhielt folglich unter Beibehaltung der von *Euler* und *Svanberg* eingeführten Bezeichnungen:

$$Sf = \frac{k \cdot g \text{ Stärke}}{g \text{ Präparat}}$$

Es ist hier auch zu beachten, daß, weil die Versuche sich über eine längere Zeit erstrecken mußten, die Zeit in Stunden angegeben wird.

d) Der Einfluß der Azidität.

Bereits in einem sehr frühen Stadium der Enzymchemie ist der große Einfluß konstatiert worden, welchen Säuren und Basen auf die Enzyme ausüben. Es ist nicht nötig, hier frühere Arbeiten über dieses Gebiet zu erwähnen, da mehrere ausgezeichnete Zusammenfassungen hierüber vor-

handen sind. So haben z. B. *Sherman* und *Thomas*¹⁾ eine Literaturzusammenstellung in einer ihrer Arbeiten gemacht. Außer diesen haben *Michaelis* und *Pechstein*²⁾, *Adler*³⁾, *Euler* und *Svanberg*⁴⁾ u. a. sich mit der Abhängigkeit der Amylasewirkung von der Azidität beschäftigt. *Michaelis* und *Pechstein* geben für Speicheldiastase folgende Werte auf Wasserstoffionenkonzentration bei optimaler Wirkung des Enzyms an:

Chloridamylase	$p_H = 6,7$
Nitratamylase.	6,9
Phosphat-, Sulfat- und Acetatamylase	6,1 – 6,2

Malzamylyase hat ihre größte Wirkung bei etwas saurerer Reaktion, laut *Sherman* und *Thomas* zwischen $p_H = 4,2 - 4,6$. *Adler* hat das Optimum bei $p_H = 4,7 - 5,15$ gefunden, *Hahn* und *Harpuder*⁵⁾ bei $p_H = 4,7$ und *Euler* und *Svanberg* und auch *Ernstström*⁶⁾ in runden Zahlen bei $p_H = 5$. *Sjöberg*⁷⁾ hat für Amylase aus einer Reihe von Grünalgen das Optimum bei ungefähr $p_H = 4,2$ gefunden.

Tabelle VI.
k, relativ (k bei opt. $p_H = 100$).

p_H	<i>Fraxinus excelsior</i>	<i>Picea Abies</i>	<i>Pinus silvestris</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>	<i>Phaseolus multiflorus</i>
4,50	82,1	85,0	75,7	88,4	80,3
4,67	—	—	87,1	—	—
5,00	100	100	100	97,0	98,1
5,20	87,3	—	100	100	100
5,40	—	—	98,2	100	100
5,60	70,8	92,3	94,5	—	—
5,80	—	—	—	96,5	—
6,00	62,9	70,7	81,5	—	91,0
6,25	57,1	—	—	87,7	81,8
6,60	—	50,8	55,8	—	—
6,67	41,1	—	—	—	—
7,00	22,6	—	43,0	67,7	65,6
7,39	11,7	—	27,3	—	56,0
8,00	—	—	—	36,5	31,2
9,00	0	—	—	—	0

Es besteht also ein bedeutender Unterschied in Frage der Wasserstoffionenkonzentration, welche am günstigsten ist, wenn die Amylase von Tier- oder Pflanzenorganismen her stammt. An anderen Pflanzenamylasen ist der Einfluß der Azidität nicht untersucht worden.

1) *Sherman* and *Thomas*, Journ. Amer. Chem. Soc. **37**, 623, 1915.

2) *Michaelis* und *Pechstein*, diese Zeitschr. **59**, 77, 1914.

3) *Adler*, Ebendasselbst **77**, 146, 1916.

4) *Euler* und *Svanberg*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **110**, 99, 1920.

5) *Hahn* und *Harpuder*, Zeitschr. f. Biol. **71**, 287 u. 302, 1919.

6) *Ernstström*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **119**, 190, 1922.

7) *Sjöberg*, Fermentf. **4**, 97, 1921.

Es war darum notwendig zu bestimmen, bei welcher Wasserstoffionenkonzentration meine Amylasepräparate ihre maximale Wirkung erreichten. Wie aus Tabelle VI ersichtlich, lag das Wirkungsoptimum für sämtliche untersuchten Pflanzen zwischen $p_H = 5,0$ und $5,4$, also bei ungefähr derselben Wasserstoffionenkonzentration, welche die optimale für die Malzamyase ist.

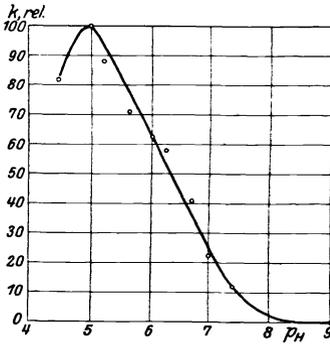


Abb. 2. Fraxinus excelsior.

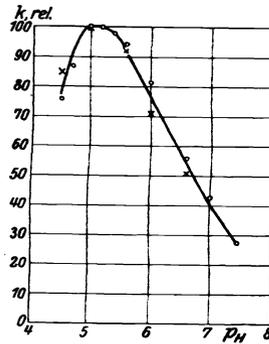


Abb. 3. Pinus silvestris o. Picea abies x.

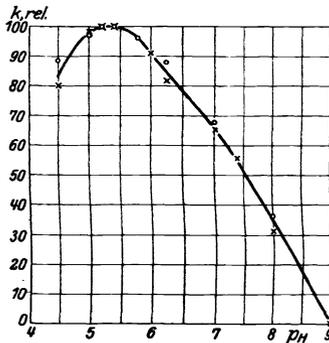


Abb. 4. Phaseolus vulgaris o. Phaseolus multiflorus x.

Diese Resultate sind erhalten worden bei der Anwendung von Phosphat als Puffer. Die gewünschte Wasserstoffionenkonzentration wurde erreicht durch Mischung von bestimmten Teilen primären Kaliumphosphats und sekundären Natriumphosphats (0,29 normal), laut des von Sørensen aufgestellten Diagramms.

Aus den Kurven (Abb. 2 bis 4) geht hervor, daß die Enzymwirkung sehr abhängig von der Wasserstoffionenkonzentration ist. Es ist ein sehr kleines Gebiet, innerhalb welchen das Enzym seine volle Wirkung entfalten kann. In keinem Falle ist eine nennenswerte Enzymwirkung in neutraler oder alkalischer Lösung zu verzeichnen.

4. Ergebnisse.

a) Das Verhalten der Amylase in Keimlingen.

Wenn ein Samen zu keimen beginnt, findet eine überaus große Neubildung von Zellen statt. Ehe die Keimung so weit vorgeschritten ist, daß Wurzeln und Blätter entwickelt sind, ist der Keimling zum größten Teil auf die Vorratsstoffe angewiesen, die sich im Samen befinden. Von Kohlehydraten kommt in größter Menge Stärke vor. Da diese zuerst zu einem niedrigeren Kohlehydrat umgewandelt werden muß, ehe sie von der Pflanze angewendet werden kann, ist anzunehmen, daß bei der Keimung die Amylase eine große Rolle spielt.

Bereits *Wortmann*¹⁾ fand, und zwar in allen von ihm untersuchten Fällen, daß Samenkörner Diastase enthalten, nicht oder nur schwach stärkehaltige jedoch nur sehr wenig; stärkehaltige ursprünglich wenig, daß sich aber bei der Keimung die Diastasemenge bedeutend erhöhte. Diese Resultate sind später von anderen Forschern bestätigt worden.

In dieser Arbeit sind diese Umstände mehr quantitativ untersucht worden. Es galt da zuerst eine Pflanze zu finden, welche verhältnismäßig große Samenkörner hatte, schnell wuchs und vor allem eine große Amylasewirkung besaß. Hierbei erwiesen sich Bohnenpflanzen, *Phaseolus*arten, besonders zweckentsprechend. Zwei Arten sind näher untersucht worden, nämlich *Ph. vulgaris* und *Ph. multiflorus*.

Für die Bestimmung der Amylasewirkung wurden Proben zuerst von ungekeimten Bohnen, nachher von Keimlingen in verschiedenen Entwicklungsstadien entnommen. Es ist natürlich nicht möglich gewesen, Proben von ein und derselben Pflanze zu entnehmen. Dies wäre am besten gewesen, da, weil man es hier mit lebendem Material zu tun hat, leicht die verschiedenen Individuen variieren können. Es wurden jedoch mehrere Bohnen in einen und denselben Topf gesteckt, und dieselben konnten also, was Nahrung, Licht, Wasser usw. anbetrifft, unter gleichen Verhältnissen wachsen und variierten darum nur unbedeutend. Die eine oder andere Pflanze, die bei der Keimung zurückblieb, wurde von der Untersuchung ausgeschlossen. Wenn die Pflanze so weit gekommen war, daß Wurzeln, Stiel und Blätter sich entwickelt hatten, wurde jeder Pflanzenteil je für sich untersucht.

In untenstehenden Tabellen (VII bis IX) werden die bei den verschiedenen Entwicklungsstadien auf *Sf* erhaltenen Werte angegeben. Dieselben sind stets per 1 g Trockengewicht berechnet. In Beilagen nach dem Text finden sich die Versuchsziffern verzeichnet, nach welchen die Berechnung von *Sf* gemacht wurde.

¹⁾ *Wortmann*, Bot. Zeitung 48, Nr. 37 bis 41, 1890.

Tabelle VII.

Phaseolus vulgaris, im Gewächshaus bei Sonnenlicht von März bis April gewachsen. Proben vormittags 9 Uhr entnommen. (Beilagen 1 bis 49.)

Anzahl der Tage nach dem Pflanzen der Bohnen	Die Bohne. Später die von der Bohne gebildeten Schildchen	Endosperme	Stiel	Erste	Zweite	Dritte	Entwicklungsstadium
				Blattanlage bzw. Blatt			
0	0,0054	—	—	—	—	—	Die ungekeimte Bohne.
8	0,0253	—	—	—	—	—	1–2 cm langer Wurzelansatz. Die ganze Pflanze.
14	0,0844	—	—	—	—	—	Der Keim ist eben aus der Erde hervorgekommen. Die Blattanlage noch nicht außerhalb den Schildchen. Die ganze Pflanze.
—	0,110	—	—	—	—	—	Die Schildchen ganz über der Erde.
16	0,252	0,492	—	1,56	—	—	Länge der Pflanze 10 cm. 1. Blattpaar entwickelt. Blätter 2,5 cm.
17	0,350	0,703	—	1,01	—	—	
22	0,586	—	1,46	2,76	—	—	
28	1,39	—	1,45	4,42	4,40	—	Länge der Pflanze 12 cm. 1. Blattpaar voll entwickelt, 5 × 4 cm. Eine neue Blattknospe. Die Schildchen fangen an zu verwelken.
31	—	—	—	4,92	—	—	
32	1,45	—	1,16	1,31	2,76	—	Länge der Pflanze 13 cm. Blätter 4 × 3,5 cm.
36	—	—	—	2,12	—	—	Länge der Pflanze 22 bis 25 cm. 2. Blattpaar voll entwickelt.
38	—	—	0,916	1,28	1,49	—	
42	—	—	1,69	1,11	1,32	2,22	Länge der Pflanze 35 bis 40 cm.
44	—	—	—	1,14	—	—	
46	—	—	—	1,07	—	—	
—	—	—	—	1,18	—	—	Nach 14 Tagen in eine etwas kältere Temperatur gebracht.
47	—	—	—	1,66	—	—	
40	—	—	1,77	2,01	3,82	—	Länge der Pflanze 11 cm. Nur das 1. Blattpaar entwickelt.
44	—	—	—	3,14	—	—	Blätter 4,5 × 4,5 cm.
Nach 14 Tagen wurden die Pflanzen an einen Ort gestellt, wo sie nicht direktem Sonnenlicht ausgesetzt waren.							
22	0,663	—	1,58	3,28	—	—	Länge der Pflanze 10 cm. 1. Blattpaar 3 cm.
32	2,09	—	0,876	1,31	2,30	—	Länge der Pflanze 18 cm. 1. Blattpaar 5,5 × 5 cm.
39	—	—	0,681	0,865	1,21	2,55	Länge der Pflanze 38 cm. 1. Blattpaar 7 × 6 cm. 2. „ „ entwickelt.

Eine Serie, einen Monat später als die in Tabelle VII gepflanzt, wurde nach 10 Tagen untersucht. Die Pflanzen kamen da gerade aus der Erde hervor. Blatt- und Stielanlage wurde je für sich untersucht.

Folgende Werte wurden erhalten:

	<i>Sf</i>	Beilagen
Schildchen	0,468	50
Stielanlage	1,73	51
Blattanlage	5,58	52

Tabelle VIII.

Phaseolus vulgaris, bei gewöhnlicher Zimmertemperatur gezogen. August bis September. (Beilagen 56 bis 65.)

Anzahl der Tage nach dem Pflanzen der Bohnen	Die Bohne. Später die von der Bohne gebildeten Schildchen	Stiel	Erstes	Zweites	Entwicklungsstadium
			Blatt		
0	0,0027	—	—	—	Die ungekeimte Bohne.
11	1,27	0,770	2,72	—	Pflanze 9 cm lang. Erstes Blatt-paar entwickelt. Blätter 1,5 cm.
19	0,738	0,308	1,70	—	Pflanze 25 cm lang. Blätter 3 × 3 cm.
27	—	0,575	0,620	0,601	Pflanze 41 cm lang. 1. Blatt 4 × 4 cm. 2. Blatt-paar ent-wickelt.

Wie aus dieser Tabelle ersichtlich, findet eine sehr starke Amylase-bildung zuerst bei der Keimung und dann während der ersten Ent-wicklung der Pflanze statt bis zu einem Werte, der ungefähr 1000 mal größer als der ursprüngliche in der Bohne ist. Bereits eine Woche nach dem Pflanzen der Bohne, wenn sie gerade angefangen hat, sich zu erweichen und der Keim sich zu entwickeln beginnt, ist die Amylase-wirkung auf den fünffachen Wert gestiegen und steigt dann weiter sehr schnell. Die höchsten Werte wurden bei den jungen Blättern er-halten, welche im Begriff waren, sich voll zu entwickeln. Darauf ging die Amylase-wirkung wieder etwas zurück. Daß etwaige größere Varia-tionen bei verschiedenen Exemplaren nicht vorkommen, geht aus den Werten vom 38. bis 47. Tage (Tabelle VII) hervor, die sich nicht wesentlich voneinander unterscheiden. Exakt gleiche Werte darf man natürlich nicht erwarten. Die Amylase-wirkung ist, wie deutlich ersichtlich, nicht nur auf die Blätter und Blattknospen lokalisiert, sondern sie erstreckt sich auch auf die Stiele und Wurzeln. Besonders in den Stielen erreicht sie einen recht hohen Wert, aber der Stiel wächst ja auch beständig.

Mit einem Wert auf $S_f = 1,0$ ist die Amylasewirkung so groß, daß ein Blatt in 24 Stunden sein eigenes Gewicht in Stärke umwandeln könnte. Da ein so großer Umsatz sicher nicht in Frage kommt, ist es recht eigentümlich, daß noch größere Werte in vielen Fällen erhalten werden. Diese sind andererseits jedoch mit löslicher Stärke erreicht worden. Um unlösliche Formen von Stärke zu verkleistern und zu spalten, ist eine längere Zeit erforderlich. Es spielt außerdem eine Rolle, in welchen Teilen des Gewebes sich die Stärke und das Enzym befinden und wie sie in Berührung miteinander kommen können. Ferner ist zu beachten, daß die Temperatur innerhalb der Pflanze nicht dieselbe wie die ist, welche ich bei meinen Versuchen angewendet habe.

Es sind auch einige Versuche mit Pflanzen ausgeführt worden, die bei Tageslicht gewachsen, jedoch direktem Sonnenlicht nicht ausgesetzt waren. Wie aus der Tabelle VII ersichtlich, wuchsen diese Exemplare schneller, und hier war die Amylasewirkung anfangs größer als bei den Sonnenpflanzen. Etwas später ergaben sich aber niedrigere Werte bei den Schattenpflanzen.

Die in Tabelle IX angegebenen Resultate wurden mit *Phaseolus multiflorus* erhalten.

Auch in diesen Keimversuchen findet eine starke Amylasebildung statt und erreicht ihren höchsten Wert in den Blattknospen und den neu entfalteten Blättern. Aus den vergleichenden Bestimmungen für Blätter, die sich zu verschiedenen Zeiten entwickelt hatten, ist ersichtlich, daß die Amylasewirkung am größten in den jüngsten ist. Wenn die Pflanze über die erste kräftige Wachstumsperiode hinaus ist und sich etwas mehr stabilisiert hat, findet eine gleichmäßigere Amylasewirkung in den verschiedenen Blättern statt. Nach 55 Tagen ist die Amylasewirkung ein und derselben Größenordnung in allen Blättern, wenn auch hier die Werte in den jüngsten Blättern etwas höher sind.

In den Abb. 5 bis 8 sind die Werte für die beiden längeren Versuchsserien eingezeichnet. Aus diesen Kurven ist noch deutlicher ersichtlich, daß gerade bei der Bildung einer Blattknospe die Amylasewirkung unerhört ansteigt, um danach, wenn das Blatt mehr entwickelt ist, bald wieder schnell zu sinken und nach und nach in einen verhältnismäßig konstanten Zustand einzutreten.

Ich gebe hier auch einige Werte für die Amylasewirkung bei einer *Phaseolus vulgaris*-Pflanze an, die bei der Keimung zurückgeblieben war und sich bedeutend später als die übrigen entwickelt hatte. Sie wurde zu gleicher Zeit wie die in Tabelle VII gepflanzt und ist deshalb mit diesen vergleichbar. Nach 24 Tagen war die Pflanze so weit, daß nur der Keim und die Schildchen über der Erde entwickelt waren,

Tabelle IX.

Phaseolus multiflorus, im Gewächshaus bei Sonnenlicht von August bis Oktober gewachsen. Proben vormittags 9 Uhr entnommen. (Beilagen 66 bis 114).

Anzahl der Tage nach dem Pflanzen der Bohnen	Die Bohne. Später die von der Bohne gebildeten Schildchen	Stiel	Erstes	Zweites	Drittes	Viertes	Fünftes	Sechstes	Entwicklungsstadium
			Blatt						
0	0,0014	—	—	—	—	—	—	—	Am 25. August gepflanzt. Die ungekeimte Bohne.
6	0,0074 0,0095	—	0,0770	—	—	—	—	—	Der Keim hat angefangen sich etwas zu entwickeln.
11	0,0298	0,204	1,70	—	—	—	—	—	Der Keim schaut etwas aus der Erde heraus.
13	0,0876	0,357	1,82	—	—	—	—	—	Länge der Pflanze 12 cm. 1. Blattpaar 3 × 2,5 cm.
15	0,373	0,515	0,641	6,25	—	—	—	—	Länge der Pflanze 25 cm. 1. Blattpaar 6,5 × 6,5 cm.
18	—	—	0,810	1,36	—	—	—	—	1. Blattpaar 14 × 12 cm.
25	—	—	0,535	—	—	—	—	—	2. „ 3 × 2 „
26	—	—	0,475	—	—	—	—	—	1. „ 16 × 13 „
34	—	—	0,262	0,429	0,565	1,15	—	—	
35	—	—	0,158	0,624	0,664	—	2,20	—	
36	—	—	0,309	0,448	—	—	—	—	
37	—	—	0,342	0,540	—	—	—	—	
55	—	—	0,394	0,440	0,511	0,505	0,541	0,615	
5	0,0038	—	0,148	—	—	—	—	—	Am 12. Sept. gepflanzt. Der Keim hat angefangen sich etwas zu entwickeln.
5	0,0025	—	—	—	—	—	—	—	Am 21. September gepflanzt. Die Bohne hat angefangen sich zu erweichen, aber der Keim ist noch nicht entwickelt.
6	0,0076	—	0,172	—	—	—	—	—	Am 5. Okt. gepflanzt. Keim 4,5 cm.
8	0,0081	—	0,0651	—	—	—	—	—	Dasselbe.
13	0,0371	0,292	3,39	—	—	—	—	—	Keim ohne Wurzel 5 cm. Blattansatz 1,5 cm.
19	0,0595	0,114	1,00	—	—	—	—	—	Schaut etwas aus der Erde heraus.

d. h. sie befand sich im selben Stadium, welches normale Keime nach 16 bis 17 Tagen erreichten. Folgende Werte auf Sf wurden erhalten:

	Sf	Beilagen
Schildchen	0,447	53
Stiele	1,51	54
Blattansatz	6,05	55

Aus diesen Resultaten geht hervor, daß die Amylasewirkung nicht gleich in den verschiedenen Teilen der Pflanze ist. Betrachtet

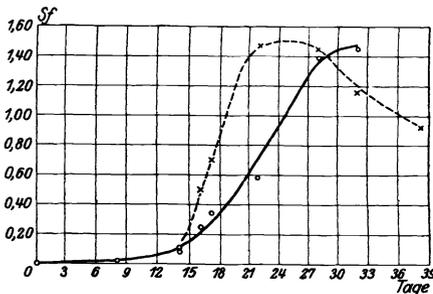


Abb. 5. Phaseolus vulgaris (Kotyledone \circ , Stiel \times).

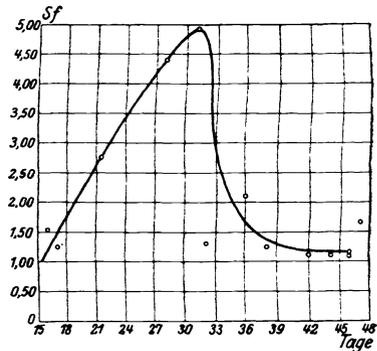


Abb. 6. Phaseolus vulgaris (Blätter).

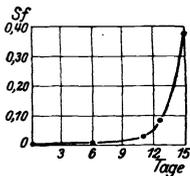


Abb. 7.
Phaseolus multiflorus
(Kotyledone).

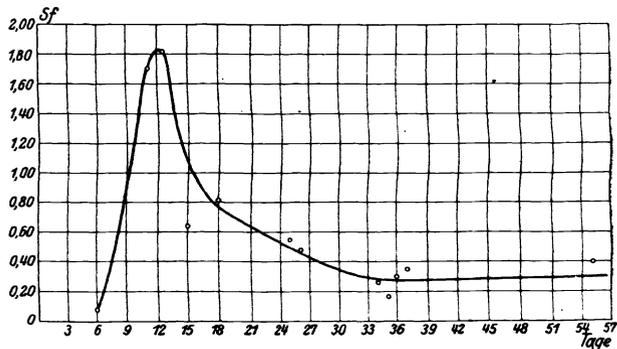


Abb. 8. Phaseolus multiflorus (Blätter).

man zuerst die kleinen Keimpflanzen, bei denen Stiel und Wurzel noch nicht entwickelt sind, so sieht man, daß die Amylasewirkung, berechnet auf das Trockengewicht, doppelt so groß in den Endospermen wie in den Schildchen ist. Moritz und Morris¹⁾ haben die Verteilung

¹⁾ Moritz und Morris, Handb. d. Brauwiss. 1893.

der Diastasewirkung in viertägigen Roggenkeimlingen untersucht. Sie kamen zu folgendem Resultat:

In 50 Hälften des Endosperms (beim Embryo)	9,7970
„ 50 „ „ „ „ (das andere Ende)	3,5310
„ Wurzeln der 50 Keimlinge	0,0681
„ Blättern der 50 Keimlinge	0,0456
„ Schildchen der 50 Keimlinge	0,5469

Betreffend diese Werte ist jedoch zu bemerken, daß sie nicht für ein und dasselbe Gewicht berechnet sind, und daß die verschiedenen Pflanzenteile in diesen Entwicklungsstadien ganz verschiedene Größen haben. Man kann daher aus diesen Angaben nicht sicher bestimmen, in welchem Teil die Zellen am reichsten an Enzymen sind, mit Ausnahme der Endosperme, welche bedeutend mehr als die übrigen Teile enthalten.

Grüss¹⁾ hat auf ähnliche Weise die Keimpflanzen von *Zea Mays* untersucht. Die Amylasewirkung war folgendermaßen verteilt:

Schildchen	0,122 g	Maltose
Aleuronschichten	0,063 g	„
Endosperme	0,073 g	„

Hier ist die Wirkung bedeutend größer in den Schildchen als in den Endospermen. Dies stimmt auch überein mit den Resultaten, die Linz²⁾ erhielt, welcher ebenfalls Maissamen untersuchte. Die hier angegebenen Werte sind auf 1 g Trockengewicht berechnet und können deswegen besser verglichen werden.

Embryonen ohne Schildchen	26
Schildchen	134
Endosperm	10,1

Betrachtet man nun, wie sich die Verhältnisse bei etwas mehr entwickelten Pflanzen gestalten, so zeigen die von mir erhaltenen Resultate, wie bereits darauf hingewiesen, daß die Amylasewirkung dort am größten ist, wo die größte Neubildung von Zellen stattfindet, d. h. in den Blattknospen. Im folgenden werden einige Versuche angegeben, welche die Verteilung der Amylase in den Blättern, Stielen und Schildchen näher zeigen.

Die Versuche wurden mit *Phaseolus vulgaris* ausgeführt. In einem früheren Entwicklungsstadium wurde die Amylasewirkung in jedem Pflanzenteil einzeln bestimmt. Die Länge der Wurzel betrug 2,5 bis 3,5 cm, des Stiels 1,5 bis 2 cm und der Blätter 0,7 bis 0,8 cm. Für die Bestimmung wurden acht Keimpflanzen verwendet. Folgende Werte auf *Sf* ergaben sich:

	<i>Sf</i>	Beilagen
Blätter	0,795	115
Stiele	0,234	116
Wurzel	0,0775	117

¹⁾ Grüss, Ber. d. deutsch. bot. Ges. **13**, 2, 1895.

²⁾ Linz, Jahrb. f. wiss. Bot. **29**, 267, 1896.

Die Amylasewirkung wurde in verschiedenen Teilen des Stieles ein und desselben Exemplars bestimmt. Größe der Pflanze 10 cm.

I. Stiel oberhalb der Kotyledone	3,0 cm
II. Obere Hälfte des Stieles unter den Kotyledonen	2,5 „
III. Untere Hälfte des Stieles unter den Kotyledonen	2,5 „
IV. Wurzel.	—

	<i>k</i>	<i>Sf</i>	Beilagen
I.	0,0255	0,481	118
II.	0,0235	0,376	119
III.	0,0147	0,240	120
IV.	0,000	0	121

Die Amylasewirkung ist also am stärksten im oberen Teile des Stieles und nimmt gegen die Wurzel zu ab, wo sie in diesem Entwicklungsstadium gleich Null ist. In dem vorher angegebenen Versuch war jedoch auch in der Wurzel Amylase enthalten.

In den folgenden Versuchen wurde die Verteilung der Amylase in den Kotyledonen untersucht. Die Kotyledone wurden in drei Teile eingeteilt: I. das basale Kotyledonstück, II. das mittlere Kotyledonstück, III. das Endstück.

Tabelle X. Beilagen 122 bis 127.

	Länge der Pflanze 8 cm		Länge der Pflanze 10 cm. Die Kotyledone fangen an zu verwelken	
	<i>k</i>	<i>Sf</i>	<i>k</i>	<i>Sf</i>
I.	0,24	1,69	0,162	1,46
II.	0,173	0,96	0,150	0,87
III.	0,120	1,05	0,158	1,04

Die Verteilung der Amylase ist folglich hier so, daß die Wirkung am stärksten in der nächsten Nähe des Stieles und am schwächsten in der Mitte ist.

Ähnliche Versuche sind von *Grüss*¹⁾ ausgeführt worden, wenn zwar seine Versuchsmethode eine andere war. Er extrahierte nämlich mit Glycerin und bestimmte darauf die reduzierende Fähigkeit des Glycerinextraktes. Seine Werte sind nicht auf ein gleichmäßiges Gewicht berechnet, sondern er gibt an, wieviel CuO durch den Extrakt aus den verschiedenen Pflanzenteilen reduziert wird. Die Versuchspflanze war auch hier *Phaseolus*. Er fand die Amylase so verteilt, daß der obere Teil des Stieles am meisten enthielt, die Menge sank in den Kotyledonen, und im Stiele unter den Kotyledonen war am wenigsten vorhanden. Was die Verteilung innerhalb der Kotyledone selbst anbetrifft, seien folgende Resultate erwähnt:

	Junge Pflanzen	Ältere Pflanzen
das basale Kotyledonenstück	0,042 g CuO	0,046 g CuO
„ mittlere	0,064 g „	0,074 g „
„ Endstück	0,034 g „	0,088 g „

¹⁾ *Grüss*, Pringsheims Jahrb. f. wiss. Bot. 26, 379, 1894.

Er fand im Gegenteil zu meinem Resultat, daß die Amylasewirkung bei jungen Pflanzen am größten in dem mittleren Teile des Kotyledons war. Weil seine Werte nicht auf ein gleichmäßiges Gewicht berechnet sind, hängen sie von den verschiedenen Größen der Kotyledonenteile ab. Den Umstand, daß in älteren Pflanzen die Enzymwirkung im basalen Teil im Verhältnis zu den übrigen Teilen sich vermindert, erklärt er so, daß das Enzym in diesem Teile, welcher in direkter Verbindung mit den übrigen Teilen der Pflanze steht, zuerst verbraucht wird.

b) Amylase in Knospen und Blättern einiger Bäume.

Bei den vorhergehenden Untersuchungen handelt es sich um das Verhalten der Amylasewirkung während der Keimung und der darauf eintretenden kräftigen Wachstumsperiode. Inwieweit der Amylasegehalt später während längerer Zeitabschnitte größeren Veränderungen unterworfen ist, war nicht früher der Gegenstand von Untersuchungen gewesen, mit Ausnahme solcher, bei denen es sich um den Einfluß durch den Lichtwechsel im Laufe des Tages auf die Amylasewirkung handelte und welche später beschrieben werden sollen.

Da man von verschiedenen Exemplaren ein und derselben Art, welche unter verschiedenen äußeren Voraussetzungen wachsen, annehmen kann, daß sie variierenden Enzymgehalt haben, wäre es wünschenswert, stets Blätter von ein und demselben Exemplar zu vergleichen. Da kleinere Pflänzchen nicht einer größeren Menge ihrer Blätter beraubt werden können, ohne daß sie Schaden nehmen, war es notwendig, mit größeren Pflanzen zu arbeiten. Auf Grund dessen sind Untersuchungen über die Amylasewirkung in Blättern einer Reihe von Laub- und Nadelbäumen ausgeführt worden.

Um zu untersuchen, inwiefern die Amylasewirkung in Blättern, die sich an verschiedenen Teilen des Baumes befinden und folglich verschieden starker Beleuchtung ausgesetzt sind, einigermaßen gleich verteilt ist, wurden nachstehende Versuche mit *Ulmus scabra* ausgeführt.

Am 5. Juli wurden Blätter von verschiedenen Teilen des Baumes entnommen. Ein Teil war stark besonnt gewesen, ein Teil halbbesonnt, und der dritte Teil war in vollständigem Schatten gewachsen. Trotzdem wurden beinahe exakt gleiche Werte auf *Sf* von allen drei Proben erhalten, nämlich:

	<i>Sf</i>	Beilagen
vollbesonnte Blätter	0,0088	512
halbbesonnte „	0,0088	513
Schattenblätter	0,0091	514

Nachstehend werden die mit verschiedenen Bäumen erhaltenen Resultate angegeben. Die Untersuchungen bezogen sich sowohl auf die Amylasewirkung in Blattknospen und den jungen Blättern, wie auch in fertig entwickelten Blättern zu verschiedenen Zeitpunkten während des Sommers.

			Beilagen
<i>Populus tremula</i> L.			
27. VI.	<i>Sf</i> = 0,0195	Voll entwickelte Blätter	128
26. IX.	0,0279	„ „ „	129
10. X.	0,0055	Die Blätter haben angefangen gelb zu werden	130
<i>Salix caprea</i> L.			
19. IX.	<i>Sf</i> = 0,0026	Blütenknospen	131
6. X.	0,0094	Blattknospen	132
27. VI.	0,0063	Voll entwickelte Blätter	134
19. IX.	0,0071	„ „ „	133
<i>Corylus avellana</i> L.			
5. XII.	<i>Sf</i> = 0,00049	Männliche Blütenkätzchen, 1 bis 2 cm lang	140
28. I.	0,0020	„ „ „ 2 cm „	141
12. V.	0,0010	„ „ „ 3 bis 4 cm „	135
		Als die zwei ersten Proben entnommen wurden, war die Temperatur unter 0° C.	
12. V.	0,0027	Blattknospen, 1 cm lang	136
20. VI.	0,0022	Voll entwickelte Blätter	137
22. IX.	0,0051	„ „ „	138
14. X.	0,0025	Die Blätter haben angefangen gelb zu werden	139
<i>Betula alba</i> L.			
27. VI.	<i>Sf</i> = 0,0041	Voll entwickelte Blätter	142
19. IX.	0,0058	„ „ „	143
<i>Alnus glutinosa</i> Gaertn.			
23. I.	<i>Sf</i> = 0,0128	Kätzchen, Temperatur unter 0° C.	144
<i>Fagus silvatica</i> L.			
12. V.	<i>Sf</i> = 0,0025	Blattknospen, 2 bis 2,5 cm lang	145
27. VI.	0,0028	Voll entwickelte Blätter	146
26. IX.	0,0050	„ „ „	147
10. X.	0,0047	„ „ „	148
18. X.	0,0028	Die Blätter haben angefangen gelb zu werden	149
<i>Quercus robur</i> L.			
27. VI.	<i>Sf</i> = 0,0016	Voll entwickelte Blätter	150
26. IX.	0,0081	„ „ „	151
18. X.	0,0015	Die Blätter haben angefangen gelb zu werden	152
<i>Ulmus scabra</i> Mill.			
8. V.	<i>Sf</i> = 0,0577	Blattknospen, 2 bis 2,5 cm lang	153
16. V.	0,0604	Blätter, 2,5 bis 3,5 cm lang	154
29. V.	0,0227	Voll entwickelte Blätter	155
8. VI.	0,0133	„ „ „	156
22. IX.	0,0130	„ „ „	157
27. IX.	0,0056	„ „ „	158
30. IX.	0,0098	„ „ „	159
14. X.	0,0026	Die Blätter haben angefangen gelb zu werden	160
<i>Sorbus suecica</i> Krok			
22. V.	<i>Sf</i> = 0,0076	Blätter, 2,5 bis 3,5 cm lang	161
29. V.	0,0072	Voll entwickelte Blätter	162
22. IX.	0,0043	„ „ „	163
<i>Sorbus aucuparia</i> L.			
12. V.	<i>Sf</i> = 0,0246	Blätter, 2,5 cm lang	164
27. VI.	0,0037	Voll entwickelte Blätter	165
8. IX.	0,0071	„ „ „	166

<i>Prunus padus</i> L.		
11 V.	$Sf = 0,0068$	Blattknospen, 2 cm lang 168
	0,0064	Blätter bei den Blütendolden, 2 cm lang. 169
	0,0357	Blütenknospen 167
16. V.	0,0077	Blätter, 2,5 bis 3 cm lang 170
29. V.	0,0025	Voll entwickelte Blätter 171

<i>Acer platanoides</i> L.		
22. V.	$Sf = 0,0000$	Blüten 172
	0,0034	Blätter, 3 bis 3,5 cm lang 173
8. VI.	0,0038	Voll entwickelte Blätter 174
14. IX.	0,0019	„ „ „ 175

Aesculus hippocastanum L.

In diesen Beispielen sind die Proben nicht nach der Zeit geordnet, nach welcher sie entnommen sind, sondern nach dem Entwicklungsstadium. Auf diese Weise wird eine bessere Übersicht gewonnen.

12. IV. 21	$Sf = 0,0185$	Blattknospen, 1 cm lang, 0,5 cm breit, noch nicht entfaltet 176
19. IV. 21	0,0140	Blattknospen, 2 cm lang, die Blätter beginnen sich zu entfalten 177
12. IV. 21	0,0202	Blattknospen wie vorher 178
25. IV. 21	0,0203	„ 3 cm lang. 179
12. IV. 21	0,0236	„ 4 cm „ 180
12. IV. 21	0,0069	Dieselbe Knospe wie vorher, aber nur die Knospenhülle 181
19. IV. 21	0,0158	Blätter, jeder Zipfel 3 bis 4,5 cm lang 182
25. IV. 21	0,0151	Blätter, jeder Zipfel im Durchschnitt 3,5 cm lang. 183
25. IV. 21	0,0176	Blätter, jeder Zipfel im Durchschnitt 5 cm lang. 184
19. IV. 21	0,0341	Blütenknospen, ganze Dolden 3 cm 185
7. IX. 21	0,0019	Voll entwickelte Blätter 186
27. IX. 21	0,0037	„ „ „ 187
30. IX. 21	0,00099	Die Blätter haben angefangen gelb zu werden 188
27. IX. 21	0,0034	Knospen, 1,5 bis 2 cm lang 189
30. IX. 21	0,00077	„ 1,5 bis 2 cm „ 190
8. V. 22	0,0123	Blattknospen, 2,5 cm lang 191
22. V. 22	0,0063	Blätter, jeder Zipfel 5,5 bis 10 cm lang 192
29. V. 22	0,0034	Voll entwickelte Blätter 193
8. VI. 22	0,0031	„ „ „ 194
19. VI. 22	0,0011	Die Proben wurden zu verschiedenen
	-0,0016	Zeiten des Tages entnommen 195—197
8. VI. 22	0,0048	Blüten 198

Tilia europea L.

27. VI.	$Sf = 0,0097$	Voll entwickelte Blätter 199
26. IX.	0,0232	„ „ „ 200

Fraxinus excelsior L.

27. IV.	$Sf = 0,0066$	Blütenknospen, 1,5 cm lang 201
17. IV.	0,0261	Blattknospen. 202
14. VI.	0,0031	Voll entwickelte Blätter 203
1. IX.	0,0079	„ „ „ 204

Fraxinus excelsior L. (Fortsetzung).

13. IX.	<i>Sf</i> = 0,0012	Voll entwickelte Blätter	205
15. IX.	0,0016	„ „ „	206
26. IX.	0,0072	„ „ „	207
30. IX.	0,0086	„ „ „	208
5. X.	0,0036	Die Blätter haben angefangen gelb zu werden	209
10. X.	0,0050	„ „ „ „ „ „ „	210
17. X.	0,0018	„ „ „ „ „ „ „	211
21. X.	0,0024	„ „ „ „ „ „ „	212
25. X.	0,0033	„ „ „ „ „ „ „	213

Zum Vergleich mit diesen Resultaten sei erwähnt, daß *Sf* bei *Malz* = 0,50 bis 3,50 ist. Die Stärke der Amylasewirkung ist sehr variierend bei den verschiedenen Baumarten. Der Wert von *Sf* variiert bei den untersuchten Arten in voll entwickelten frischen Blättern von 0,0012 (*Fraxinus excelsior*) bis 0,0279 (*Populus tremula*). Das Verhalten der Enzymwirkung in den Knospen und jungen Blättern erinnert an die Resultate, die mit Keimpflanzen von den Phaseolusarten erhalten wurden. Während des Winters, wenn die Knospen ruhen, ist die Amylasewirkung recht unbedeutend, wenngleich sich auch da Amylase vorfindet (*Corylus*, *Aesculus*). Auch wenn die Temperatur unter 0° C war, wurde eine Wirkung beobachtet. Die Kätzchen von *Alnus* wiesen sogar eine ungewöhnlich kräftige Amylasewirkung an einem solchen Tage auf. Wenn die Knospen in ihre Wachstumsperiode kommen, beginnt auch die Amylasewirkung zu steigen und fährt damit fort, bis die Blätter eine gewisse Größe erreicht haben. Dann nimmt die Enzymmenge wieder etwas ab. In einigen der untersuchten Fälle ist dann wieder eine kleine Steigerung gegen den Herbst zu bemerkbar. *Fraxinus excelsior*, dessen Amylasewirkung während der Monate September und Oktober untersucht wurde, zeigt, daß diese an verschiedenen Tagen bedeutend variieren kann, ohne irgendwelchen bemerkbaren äußeren Anlaß. Wenn die Blätter später im Herbst anfangen zu verwelken und gelb zu werden, nimmt der Enzymgehalt wieder ab.

Auch in Blüten und Blütenknospen findet sich Amylase vor. Diese verändert sich während des Ausschlagens der Knospen auf dieselbe Art wie in den Blättern.

Ein besonderes Interesse er bieten die Nadelbäume, deren Nadeln das ganze Jahr hindurch am Baume bleiben und man also bei diesen die Amylasewirkung auch während des Winters untersuchen kann. Bei niedriger Temperatur wird die Glykosemenge in den Blättern sehr gesteigert. Dies steht im Zusammenhang damit, daß Zucker, besonders Glykose, die Widerstandskraft der Pflanzenzellen gegen Kälte erhöht. Eine solche Schutzwirkung ist abhängig von der Lage des eutektischen Punktes des in Frage kommenden Stoffes. Diese Glykose wird zum

großen Teil von der Stärke, die in der Pflanze vorhanden ist, gebildet. Darum hat die Amylase während des Winters eine große Aufgabe bei den Nadelbäumen zu erfüllen. Die Nadeln können im Winter sehr oft ganz und gar eingefroren sein, ohne daß sie den kleinsten Schaden erleiden.

Um das Verhalten der Amylase in Nadelbäumen zu untersuchen, sind einige längere Versuchsserien mit *Picea abies* und *Pinus silvestris* ausgeführt worden. Die Resultate sind in den nachstehenden Tabellen XI bis XV zusammengestellt. Um die Variationen in der Enzymwirkung besser zu veranschaulichen, sind die Resultate auch graphisch aufgezeichnet (Abb. 9 bis 11). Es ist jedoch zu bemerken, daß diese Kurven nicht alle eintretenden Veränderungen aufweisen, da die Proben im allgemeinen periodisch mit je einer Woche Zwischenzeit entnommen wurden. Sie wurden jedesmal zur selben Tageszeit entnommen und jede Tabelle bezieht sich auf ein und denselben Baum. Ferner stammen die Proben von ein und demselben Teil des Baumes, um Variationen, die auf verschiedenen äußeren Umständen beruhen, möglichst auszuschließen.

Tabelle XI.

Picea abies I (9^h30' vorm.). (Beilagen 214 bis 241).

Tag	Sf. 10 ⁴	Tag	Sf. 10 ⁴	Tag	Sf. 10 ⁴
Ältere Zweige		26. I. 21	35	26. IV. 21	39
31. X. 20	64	7. II.	48	19. IX.	28
7. XI.	53	14. II.	47	6. X.	31
16. XI.	36	21. II.	38	25. X.	31
23. XI.	61	1. III.	33	Knospen	
29. XI.	55	8. III.	41	26. IV. 21	16
6. XII.	47	15. III.	55	Jahressproßlinge	
16. XII.	33	21. III.	61	8. IX. 21	37
3. I. 21	54	1. IV.	25	19. IX.	20
12. I.	47	11. IV.	24	6. X.	20
20. I.	64				

Tabelle XII.

Picea abies II (1^h00' nachm.). (Beilagen 242 bis 258.)

Tag	Sf. 10 ⁴	Tag	Sf. 10 ⁴	Tag	Sf. 10 ⁴
Ältere Zweige		5. XII. 21	20	Knospen	
1. IX. 21	18	11. I. 22	22	24. V. 22	0
14. IX.	38	28. I.	15	Jahressproßlinge	
10. X.	42	13. II.	19	1. IX. 21	19
18. X.	24	24. V.	28	14. IX.	25
9. XI.	48	20. VI.	20	6. VI. 22	0
22. XI.	60			20. VI.	0

Picea abies III (8^h30' vorm.). 6. VI. 22.

	Sf	Beilagen
Ältere Zweige	0,0027	259
Jahressproßlinge (3 cm) . .	0	260

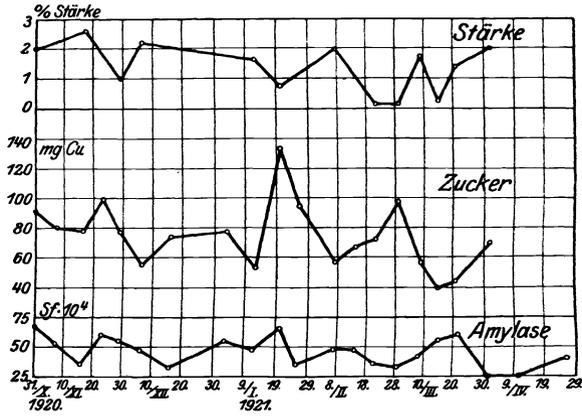


Abb. 9. *Picea abies* I.

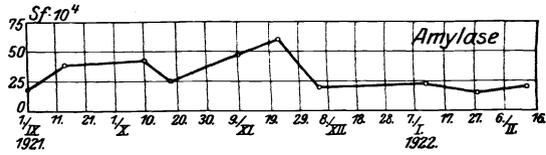


Abb. 10. *Picea abies* II.

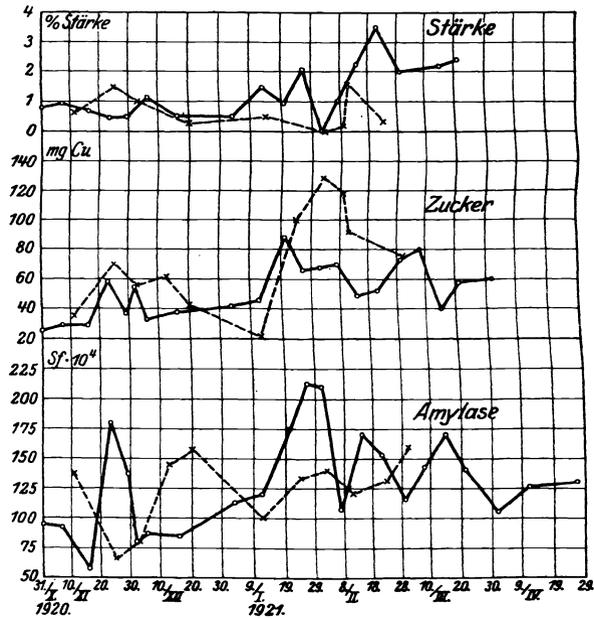


Abb. 11. *Pinus silvestris* (I ausgezogene Kurven, II gestrichelte Kurven).

Tabelle XIII.

Pinus silvestris I (9^h30' vorm.). (Beilagen 261 bis 293.)

Tag	Sf. 10 ⁴	Tag	Sf. 10 ⁴	Tag	Sf. 10 ⁴
Ältere Zweige		26. I. 21	212	8. IX. 21	101
31. X. 20	95	1. II.	209	6. X.	37
7. XI.	92	7. II.	107	25. X.	55
16. XI.	58	14. II.	171	7. XI.	73
23. XI.	179	21. II.	152	21. XI.	73
29. XI.	133	1. III.	115	23. I. 22	102
2. XII.	81	8. III.	142		
6. XII.	88	15. III.	170	Knospen	
16. XII.	86	21. III.	140	21. II. 21	23
3. I. 21	112	1. IV.	106	11. IV.	23
12. I.	121	11. IV.	126	26. IV.	19
20. I.	175	26. IV.	130	21. XI.	0

Tabelle XIV.

Pinus silvestris II (1^h00' nachm.). (Beilagen 294 bis 307.)

Tag	Sf. 10 ⁴	Tag	Sf. 10 ⁴	Tag	Sf. 10 ⁴
Ältere Zweige		12. I. 21	99	23. II. 21	131
11. XI. 20	137	24. I.	134	2. III.	160
25. XI.	66	2. II.	139	24. V. 22	43
3. XII.	79	9. II.	124		
13. XII.	145	11. II.	119	Knospen	
20. XII.	157			24. V. 22	0

Tabelle XV.

Pinus silvestris III (1^h00' nachm.). (Beilagen 308 bis 325.)

Tag	Sf. 10 ⁴	Tag	Sf. 10 ⁴	Tag	Sf. 10 ⁴
Ältere Zweige		14. IX. 21	18	6. VI. 22	27
7. III. 21	89	10. X.	19	20. VI.	22
14. III.	44	18. X.	13	Knospen	
31. III.	66	5. XII.	15	25. IV. 21	15
6. IV.	69	11. I. 22	32	Jahressprößlinge	
25. IV.	34	28. I.	22	6. VI. 22	0
1. IX.	19	13. II.	18	20. VI.	0

Pinus silvestris IV (8^h30' vorm.). 6. VI. 22.

	Sf	Beilagen
Ältere Zweige	0,0026	326
Blumen	0,0021	327

Die Variationen in der Amylasewirkung sind ziemlich groß, wenn auch für einige Bäume recht konstante Werte erhalten wurden. Ein wesentlicher Unterschied aber betreffend die Stärke der Amylasewirkung während verschiedener Jahreszeiten konnte nicht beobachtet

werden. Dieses könnte darauf hindeuten, daß der Umsatz von Stärke in den Nadeln im Durchschnitt während des ganzen Jahres gleichmäßig ist. Nicht einmal, wenn die Temperatur bedeutend unter 0° C sank, die Nadeln gefroren und mit einer Eisschicht bedeckt waren, wurde die Amylasewirkung herabgesetzt. Hierbei muß natürlich berücksichtigt werden, daß die Bestimmungen stets bei 40° ausgeführt wurden. Da die Enzymwirkung ziemlich von der Temperatur abhängt, ist die Wirkung in den Nadeln also nicht so groß. In diesem Zusammenhang sei ein Versuch erwähnt, welcher mit Amylasen von Kiefernadeln betreffend deren Temperaturempfindlichkeit ausgeführt wurde. Die Stärkespaltung wurde bei verschiedenen Temperaturen vorgenommen. Folgende Resultate ergaben sich:

Temperatur	17°	31°	40°	50°
k relativ	38,6	80,3	100	82,0

Diese Versuche zeigen, daß bei gewöhnlicher Zimmertemperatur die Amylasewirkung nur den dritten Teil des Wertes, der bei 40° erhalten wird, erreicht.

Betrachtet man die Amylasewirkung in den Knospen und den jungen Schößlingen, so ist die eigentümliche Tatsache vorhanden, daß hier die Wirkung bedeutend schwächer als in den älteren Nadeln ist. Zwar konnte in den Knospen während des Winters eine Wirkung beobachtet werden, in den jungen Schößlingen ist sie aber stets zu klein gewesen, als daß man sie hätte bestimmen können. Noch im September, wo man an den helleren Farbentönen die diesjährigen Schößlinge von den älteren Teilen unterscheiden kann, ist die Enzymwirkung etwas geringer in den erstgenannten. (Tab. XI und XII.)

c) Die Veränderung der Amylasewirkung im Laufe eines Tages.

Der Beweis ist leicht zu erbringen, daß energisch assimilierende Laubblätter bei genügender Lichtintensität und Temperatur im Laufe des Tages in ihren Chloroplasten oft relativ sehr große Stärkemengen ansammeln. Viele Pflanzen verbrauchen in den Nächten diese aufgespeicherte Stärke vollständig und die Blätter erscheinen früh am folgenden Morgen gänzlich stärkefrei. Es ist daher nicht schwer, die Überzeugung zu gewinnen, daß es sich bei der tagsüber stattfindenden Stärkeansammlung um einen Überschuß an assimiliertem Material handelt, welcher den bei Tag und Nacht stattfindenden Abfluß von Zucker stark überwiegt, und daß daher die Stärke als Reservestoff zu betrachten ist. Das Verschwinden der Stärke dürfte ganz und gar den Amylasen zugeschrieben werden können.

*Brown und Morris*¹⁾ haben die Veränderung der Amylasewirkung im Verlaufe eines Tages mit Blättern von *Tropaeolum majus* und *Hydrocharis morsus ranae* untersucht. Sie kamen zu dem Resultat, daß die Enzymwirkung während der Nacht größer als am Tage war. Ebenso wurde dieselbe erhöht, wenn die Blätter im Dunkeln aufbewahrt wurden. Sie erklärten diesen Umstand so, daß Neubildung und Verbrauch von Enzym ständig vor sich geht. Während des Tages, wo die Stärkemenge groß ist, wird mehr Enzym verbraucht als während der Nacht und nach einer Zeit der Aufbewahrung im Dunkeln, wo sämtliche Stärke sehr bald gespalten ist.

Diese Beobachtungen konnte *Eisenberg*²⁾ nicht bestätigen. Er beobachtete keinen direkten Einfluß durch die Lichtverhältnisse auf die Diastasemenge in Blättern von *Pisum sativum*. Dagegen fand er, daß stärkereiche, gut besonnte Blätter einer Pflanze diastasereich sind, während stärkefreie Schattenblätter desselben Pflanzenindividuums viel weniger Diastase führen.

Diese beiden Aussprüche stehen somit im direkten Gegensatz zueinander. Um dies näher zu untersuchen, sind folgende Versuche ausgeführt worden.

A. Versuche mit *Phaseolus vulgaris*.

Um sicher zu sein, daß nicht zufällige Ungleichheiten in verschiedenen Teilen ein und derselben Pflanze einwirken können, wurden für die Versuche entweder zwei gleichbelegene entgegengesetzte Blätter oder auch zwei Zipfel ein und desselben Blattes genommen.

Die mit vollbesonnten Pflanzen ausgeführten Versuche fielen recht ungleichmäßig aus. In einigen Fällen fand eine Steigerung während des Verlaufs des Tages statt, in anderen Fällen Verminderung oder keine nennenswerte Veränderung.

Tabelle XVI.

Direktem Sonnenlicht ausgesetzte Pflanzen. (Beilagen 328 bis 339.)

5. IV.		20. IV.				22. IV.				23. IV.	
Tageszeit	Sf										
vorm. 9h 30'	1,97	vorm. 10h 00'	1,14	vorm. 10h 00'	3,14	vorm. 10h 00'	1,07	vorm. 10h 00'	1,18	vorm. 9h 45'	1,66
nachm. 2h 30'	3,06	nachm. 4h 00'	0,57	nachm. 4h 00'	1,28	nachm. 2h 00'	1,33	nachm. 4h 00'	1,21	nachm. 2h 00'	1,85

¹⁾ *Brown und Morris*, Journ. Chem. Soc. **63**, 604, 1893.

²⁾ *Eisenberg*, Flora **97**, 347, 1907.

Tabelle XVII.

Nicht direktem Sonnenlicht ausgesetzte Pflanzen. (Beilagen 340 bis 343.)

20. IV.		23. IV.	
Tageszeit	Sf	Tageszeit	Sf
vorm. 10h 00'	0,94	vorm. 9h 45'	0,76
nachm. 4 00	0,78	nachm. 2 00	0,81

Tabelle XVIII.

Nachdem die erste Probe entnommen, wurden die Pflanzen vollständiger Dunkelheit ausgesetzt. (Beilagen 344 bis 347.)

Stunden	Sf	Stunden	Sf
0	1,95	0	2,75
5	1,96	24	2,52

Die nicht direktem Sonnenlicht ausgesetzten Pflanzen variierten nur ganz unbedeutend. In den Fällen, wo die Pflanzen in vollständiger Dunkelheit aufbewahrt wurden, fand streng genommen irgendwelche Veränderung der Amylasewirkung nicht einmal nach 24 Stunden statt.

B. Versuche mit *Phaseolus multiflorus*.

Diese Pflanzenart hatte größere Blätter, aus welchem Grunde man Teile ein und desselben Blattes zu verschiedenen Zeitpunkten entnehmen konnte. Dieses macht die Versuche sicherer und unabhängiger von anderen Umständen.

Tabelle XIX.

Besonnte Pflanzen. (Beilagen 348 bis 355.)

12. IX.		19. IX. bis 20. IX.		17. X.	
Tageszeit	Sf	Tageszeit	Sf	Tageszeit	Sf
vorm. 10h 30'	0,81	vorm. 10h 00'	0,54	vorm. 9h 30'	0,88
nachm. 4 00	0,59	nachm. 4 00	0,49	nachm. 2 00	0,79
		" 1 00	0,48	" 6 30	0,71

Tabelle XX.

Schattenpflanzen. (Beilagen 356 bis 363.)

12. IX.		19. IX. bis 20. IX.		17. X.	
Tageszeit	Sf	Tageszeit	Sf	Tageszeit	Sf
vorm. 10h 30'	0,90	vorm. 10 00'	0,68	vorm. 9h 30'	0,71
nachm. 4 00	0,90	nachm. 4 00	0,64	nachm. 2 00	0,75
		" 1 00	0,48	" 6 30	0,60

In diesen Beispielen sind die Variationen bedeutend kleiner als in den vorhergehenden. Sowohl in den Pflanzen, die dem Sonnenlicht ausgesetzt waren als in denen, die im Schatten gewachsen sind, ist die Amylasewirkung im großen und ganzen dieselbe während des ganzen Tages, wenn auch eine kleine Senkung beobachtet werden kann. Diese Versuche sind in einer dunklen Jahreszeit ausgeführt worden, wo es bereits nachmittags 5 Uhr vollkommen finster war, folglich hatte die Stärkebildung 6^{30} nachmittags, zu welcher Zeit die letzten Proben entnommen wurden, vollkommen aufgehört.

C. Versuche mit *Aesculus hippocastanum*.

Es wurden Proben zu drei verschiedenen Tageszeiten genommen (19. Juni). Jedesmal wurden zwei Blattzipfel genommen, welche alle sechs demselben Blatt angehörten.

Tabelle XXI.

(Beilagen 195 bis 197.)

Tageszeit	10h 00' vorm.	2h 00' nachm.	6h 00' nachm.
Sf	0,11	0,15	0,16

D. Versuche mit *Picea Abies*.

Die Proben wurden am 22. Februar genommen. Als die zweite Probe nachmittags 6 Uhr genommen wurde, war es bereits dunkel.

Tabelle XXII.

(Beilagen 227 bis 227 a.)

Tageszeit	9h 30' vorm.	6h 00' nachm.
Sf	0,0038	0,0036

Aus diesen Versuchen geht nicht hervor, daß die Lichtverhältnisse irgendwelchen Einfluß auf die Amylasewirkung haben. Die Erhöhung der Wirkung, welche *Brown* und *Morris* in der Dunkelheit erhielten, konnte in diesen Versuchen nicht beobachtet werden, sondern noch nach 24 Stunden im Dunkeln ist die Wirkung so gut wie unverändert.

d) Das Verhältnis der Amylasebildung zum Nährsubstrat.

Die Bildung von Enzymen bei niedrigen Organismen, wie Hefe, Schimmelpilzen und anderen ist sehr abhängig davon, welche organischen und anorganischen Nahrungsmittel zu Gebote stehen. Was die Bildung der Amylase anbetrifft, so bezieht sich die Mehrzahl der

älteren Arbeiten auf Bakterien, bei welchen es sich um die von *Wortmann*¹⁾ aufgeworfene, von *Beijerinck* und anderen untersuchte Frage handelte, ob sich Amylase überhaupt bildet, wenn keine Stärke als Nährmaterial dargeboten wird.

*Saito*²⁾ hat den Einfluß der Nahrung auf die Diastasebildung durch Schimmelpilze untersucht. Durch mit Kulturen von *Aspergillus Oryzae* vorgenommene Versuche stellte er fest, daß bei organischen N-Quellen stets Bildung von Diastase stattfand. Bei Glycerin bzw. Mannit + NH_4NO_3 wurde Diastase nur im Mycelbrei nachgewiesen. War $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ oder NH_4Cl die N-Quelle, so wurde Diastase nur dann gebildet, wenn Stärke die einzige C-Quelle war. Hiernach wirkt also die N-Quelle wesentlich auf die Bildung von Diastase ein. Nach *Kylin*³⁾ bildet *Penicillium glaucum* und *Aspergillus niger* Diastase, auch wenn die Kulturflüssigkeit keine Stärke enthält. Auf Stärke kultiviert wird die Diastasemenge in hohem Grade vergrößert. *Euler* und *Asarnoj*⁴⁾ haben Versuche mit *Aspergillus niger* ausgeführt. In stärkehaltigen Nährlösungen bildeten Schimmelpilze bedeutend mehr Amylase als in Rohrzuckerlösungen. Bei Zusatz von Pepton zu diesen C-Quellen erhöhte sich die Amylasemenge bedeutend.

In einer früheren Arbeit ist von mir⁵⁾ die Abhängigkeit der Amylasebildung von dem Nährmaterial an einigen Grünalgen untersucht worden. Die untersuchten Algen gehörten den Gattungen *Ulothrix*, *Cladophora* und *Spirogyra* an. Die Amylasewirkung wurde laut *Wohlgemuths* Methode bestimmt. Nachstehend werden die erhaltenen Resultate in Tabellen angegeben. Die Ziffern geben den Wert auf D_{24}^{50} , berechnet auf 1 g Trockengewicht an, d. h. wieviel Kubikzentimeter 1proz. Stärkelösung in 24 Stunden bei 50° so weit gespalten wird, daß die Lösung nicht mehr von Jod blau gefärbt wird.

Tabelle XXIII.

0,5% Stärke.

Tage	Ulothrix		Spirogyra	
	mit	ohne	mit	mit
0	5,4	5,4	< 3	< 2,5
1	14	—	—	—
2	22	5,0	4,5	< 3
3	—	—	8,8	—
4	19	5,0	18	—
6	—	—	—	9,3
7	—	—	22	12
8	—	—	—	11
9	—	—	—	17

¹⁾ *Wortmann*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 6, 319, 1882.

²⁾ *Saito*, Wochenschr. f. Brauw. 27, 181, 1910.

³⁾ *Kylin*, Jahrb. f. wiss. Bot. 53, 465, 1914.

⁴⁾ *Euler* und *Asarnoj*, Fermentf. 3, 318, 1920.

⁵⁾ *Sjöberg*, l. c.

Tabelle XXIV.

0,25% Stärke.

Tage	Ulothrix		Cladophora fracta		Spirogyra	
	mit	ohne	mit	ohne	mit	mit
0	5,4	5,4	9,8	9,8	< 2	< 3
1	5,0	—	—	—	—	—
2	5,5	5,0	8,6	12	< 2	—
4	5,7	5,0	—	—	< 2,5	4,6
5	—	—	—	—	2,9	—
6	—	—	14	14	4,2	7,6
10	—	—	—	—	10	—
11	—	—	20	12	25	15

Tabelle XXV.

0,5% Rohrzucker.

Tage	Ulothrix		Cladophora glomerata				Cl. fracta	
	mit	ohne	mit	ohne	mit	ohne	mit	ohne
0	8,1	8,1	29	29	30	30	11	11
1	3,3	—	—	—	—	—	10	12
2	3,6	—	< 1,8	28	9,6	24	8,9	11
3	3,4	14	< 1,5	27	3,3	—	4,2	11
4	—	—	—	—	< 1,5	—	—	—
5	2,8	—	—	—	—	—	4,1	—
6	3,3	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle XXVI.

0,5% Lactose.

Tage	Cladophora glomerata	
	mit	ohne
0	6,6	6,6
1	6,8	6,8
2	—	6,7
3	5,1	—
6	3,8	—
7	< 2	—

Tabelle XXVII.

0,5% Maltose.

Tage	Ulothrix mit	Cl. glomerata		Cl. fracta	
		mit	ohne	mit	ohne
0	110	30	30	11	11
1	—	22	—	10	10
2	—	14	30	—	11
3	49	—	—	3,7	11
4	40	6,8	24	—	—
5	13	< 2,5	—	—	—

Tabelle XXVIII.
0,5% Glykose.

Tage	Ulothrix		Cl. glomerata		Cl. fracta mit	Spirogyra mit
	mit	mit	mit	ohne		
0	11	23	29	29	20	15
1	9,3	18	—	—	—	—
2	7,2	13	< 2	28	—	13
3	3,5	—	< 2	27	—	—
4	2,9	4,9	—	—	7,1	—
7	—	—	—	—	—	5,1
9	—	—	—	—	—	1,6
10	—	—	—	—	—	< 1,6

Tabelle XXIX.
0,5% Galaktose.

Tage	Cl. glomerata	
	mit	ohne
0	6,8	6,8
1	5,7	6,7
2	5,7	—
5	3,7	—

Tabelle XXX.
0,1% Ca-Tartrat.

Tage	Ulothrix		Cl. glomerata		Spirogyra mit
	mit	ohne	mit	ohne	
0	29	29	5,5	5,5	< 2,2
1	32	—	—	—	—
2	71	31	5,4	5,8	—
3	140	—	5,3	4,4	< 2,2
4	160	65	—	—	—
5	310	105	6,6	—	< 2,2
7	500	240	7,1	—	2,2
9	500	—	—	—	—
10	—	—	—	—	4,0
14	—	—	—	—	3,9

Tabelle XXXI.
0,1% Ca-Lactat.

Tage	Cl. glomerata mit	Cl. fracta mit	Tage	Cl. glomerata mit	Cl. fracta mit
0	30	11	7	15	9,5
1	—	10	9	20	—
2	23	11	10	48	—
3	17	—	11	48	—
4	11	10			

Tabelle XXXII.
Kaliumphosphat.

Tage	Cladophora glomerata				Cl. fracta
	1 0/0 pH = 7,1	0, 0/0 pH = 7,4	0 0/0 pH = 7,0	1 0/0 pH = 7,3	0,5 0/0 pH = 7,4
0	7,2	7,2	7,2	6,6	10
1	—	8,4	7,9	6,5	10
2	7,2	8,1	7,0	—	9,3
3	8,4	—	—	—	9,5
4	8,9	8,2	—	7,2	—
5	—	7,6	—	—	—

Tabelle XXXIII.
Kaliumchlorid, pH = 7,0.

Tage	Cladophora glomerata			
	2 0/0	1 0/0	0,5 0/0	0 0/0
0	3,2	3,2	3,2	3,2
1	3,0	2,8	2,9	3,3
3	2,7	2,5	2,9	—
4	3,1	2,9	3,1	—
7	2,7	3,1	3,4	—

Tabelle XXXIV.
NH₄Cl, pH = 7,0.

Tage	Cl. glomerata 1 0/0	Tage	Cl. glomerata 1 0/0
0	3,3	3	2,7
2	3,4	6	2,9

Wenn die Algen in verschiedenen Nährlösungen wachsen, verändert sich die Enzymmenge höchst bedeutend. In Lösungen, welche Rohrzucker, Lactose, Maltose, Glykose oder Galaktose enthalten, vermindert sich die Amylasemenge. Nach vier Tagen ist sie in der Regel sehr klein. In Stärkelösungen dagegen nimmt die Amylase zu, welches auch nach früheren Untersuchungen zu erwarten war. Auch in Lösungen von Ca-Tartrat und Ca-Lactat wurde eine Steigerung der Amylasewirkung beobachtet. Kaliumchlorid, Kaliumphosphat und Ammoniumchlorid in der Nährlösung haben keinen Einfluß auf die Enzymbildung.

In diesem Zusammenhange kann auch eine Untersuchung von Euler und af Ugglas¹⁾ über die Amylasebildung in Gerstenkörnern erwähnt werden. Diese wurden in Sand zum Keimen gebracht, welcher teils mit Wasser und teils mit Phosphatlösungen befeuchtet wurde. Die Amylasebestimmung

¹⁾ Euler und af Ugglas, Svenska Vet. Akad. Ark. f. Kemi 3, Nr. 34, 1910.

wurde laut *Wohlgemuths* Methode ausgeführt. Diejenigen Körner, die unter der Einwirkung von $\frac{1}{10}$ n-Dinatriumphosphatlösung keimten, hatten eine 2,3mal so große Amylasewirkung wie die, welche keine Zufuhr von Phosphat hatten.

Wegen des großen Einflusses, den Stärke- und Zuckerarten auf die Amylasebildung in Grünalgen ausübten, sind einige Versuche mit diesen Nährsubstraten und höher entwickelten Pflanzen ausgeführt worden. Zu den Versuchen wurde *Phaseolus vulgaris* gewählt. Die Bohnen wurden in Sand, welcher mit der Nährlösung befeuchtet worden war, zum Keimen gebracht. Als die Pflanzen so groß geworden waren, daß Blätter und Stiel sich entwickelt hatten, wurden sie einzeln in Gefäße, enthaltend die Nährlösung, welche täglich erneuert wurde, überführt. Die Nährlösung enthielt von anorganischen Salzen auf 1000 ccm:

KNO ₃	0,2 g
(NH ₄) ₂ HPO ₄	0,2 g
MgSO ₄	0,2 g
CaSO ₄	0,2 g

Versuch 1. Als organische Nährmittel wurden Stärke, Rohrzucker, Maltose und Glykose in 1proz. Lösungen angewendet. Die Resultate, die Werte von *Sf*, sind in Tabelle XXXV angegeben. Als die ersten Proben nach vier Tagen entnommen wurden, waren die Keime deutlich entwickelt, außer in Fall I, welcher keine organische Substanz erhielt. Die Keimung und das Wachstum ging in den verschiedenen Nährlösungen nicht mit gleicher Geschwindigkeit vor sich, was man mit in Berechnung ziehen muß, wenn man die verschiedenen Werte auf die Enzymwirkung miteinander vergleicht. Die Pflanzen wuchsen im großen und ganzen in gleichem Tempo in den Fällen I bis III, aber etwas langsamer in Fall IV und V. Nachstehend folgt eine Beschreibung des Entwicklungsstadiums zu der Zeit, wo die entsprechenden Proben genommen wurden.

Nach 6 Tagen:	Nur die Wurzel entwickelt.	3 bis 4 cm.
„ 11 „	Die Pflanze ganz aus der Erde hervorgekommen. Der Blattansatz tritt eben aus den Schildchen heraus.	
„ 13 „	I bis III und V: 4 cm lange Pflanzen. IV: gleich den vorhergehend beschriebenen.	
„ 18 „	I bis III: 6,5 cm. Die Pflanzen werden in die Gefäße übergeführt.	
„ 22 „	I bis III: 9 bis 10 cm. IV bis V: 5 bis 6 cm.	
„ 26 „	I bis III: 11½ bis 12½ cm. V: 8 cm.	
„ 31 „	Wie vorher.	

Gleichwie in den Keimversuchen mit *Phaseolus vulgaris*, welche in einem früheren Teil dieser Arbeit beschrieben sind, die Amylasewirkung in den ersten Stadien der Entwicklung sich bedeutend erhöhte, um nachher etwas in den Blättern zu sinken, so herrschte in diesen Versuchen ein ähnliches Verhältnis. Im Anfang konnte in den verschiedenen Proben kein Unterschied in der Amylasebildung beobachtet werden. Die Variationen der Werte nach vier Tagen müssen nur dem Umstand zugeschrieben werden, daß die einzelnen Exemplare verschieden weit in der Entwicklung gekommen sind und gerade hier die Enzymmenge sehr schnell zunimmt. Die Keim-

Tabelle XXXV.
(Beilagen 364 bis 438.)

Nr.	I		II		III		IV		V	
	—		1 % Stärke		1 % Saccharose		1 % Maltose		1% Glykose	
Organ. Substanz										
Tag	Kotyledone	Endosperm	Kotyledone	Endosperm	Kotyledone	Endosperm	Kotyledone	Endosperm	Kotyledone	Endosperm
0	0,0027	—	0,0027	—	0,0027	—	0,0027	—	0,0027	—
4	0,0032	—	0,0200	—	0,0210	—	0,0068	—	0,0083	—
6	0,132	—	0,111	—	0,139	—	0,119	—	0,101	—
8	0,122	0,505	0,274	0,598	0,191	0,582	0,170	0,656	0,138	0,515
11	0,635	1,69	0,760	1,64	0,657	1,34	0,377	1,38	0,347	1,06
13	1,00	2,56	1,41	3,22	1,34	2,91	0,373	1,34	1,13	3,07
18	—	—	1,70	—	—	—	—	—	1,19	—
	Blatt	Stiel	Blatt	Stiel	Blatt	Stiel	Blatt	Stiel	Blatt	Stiel
18	2,74	0,981	2,53	1,59	1,47	0,765	—	—	1,52	0,730
22	3,02	1,32	3,05	1,39	2,89	0,805	2,72	0,730	2,66	1,07
26	1,48	0,638	1,75	0,950	2,10	0,955	—	—	1,29	0,646
31	1,56	0,460	1,73	0,663	—	—	2,06	1,03	—	—

pflanze ist überhaupt anfangs ganz und gar von den Vorratsstoffen abhängig, die sich in dem Samenkorn befinden, so daß eine Verschiedenheit eigentlich nicht erwartet werden kann. Nachdem die Wurzeln sich entwickelt haben und die Pflanze beginnt, sich Nahrungsstoffe von außen zuzuführen, könnte eine Variation in der Enzyymbildung eventuell auf den Stoffen beruhen, welche da zur Verfügung stehen. Hier kann man auch eine Verschiedenheit der Amylasemenge in den verschiedenen Fällen beobachten, aber die Variationen sind nicht groß. Die Pflanzen, die in Stärkelösung gewachsen waren und die, welche keinen organischen Nährstoff erhalten hatten, wiesen keinen Unterschied in der Amylasebildung in den Blättern auf. In den Stielen dagegen ist in dem ersten Falle die Wirkung etwas größer. Die Pflanzen, welche auf Zuckerarten angewiesen waren, haben eine etwas schwächere Amylasewirkung. Hier ist zwar zu bemerken, daß die Keimung und das Wachstum bei Gegenwart von Maltose und Glykose etwas langsamer vor sich ging, und auf Grund dessen die Werte im Anfang etwas niedriger sein können. Aber auch die höchsten Werte in diesen Fällen, ehe die Amylasewirkung wieder anfang zurückzugehen, sind niedriger als in Fall I und II. Man könnte also sagen, daß hier gleichwie bei den Grünalgen die Amylasebildung bei reichlicher Zufuhr von Stärke befördert wird, aber vermindert, wenn ein Überschuß an Zucker vorhanden ist. Jedoch sind, wie gesagt, die Variationen hier besonders gering, so daß irgend ein größerer Einfluß durch das den Pflanzen dargebotene Kohlehydrat nicht ausgeübt wird. Dies war auch zu erwarten, denn je höher entwickelt eine Pflanze ist, desto geringere Wirkung üben die dargebotenen Nahrungsstoffe auf sie aus.

Versuch 2. Bis die Pflanzen sich so weit entwickelt hatten, daß sie in die Gefäße überführt werden konnten, enthielt die Nährlösung keine organischen Stoffe. Dann wurde Glycerin in verschiedenen Konzentrationen zugesetzt. Glycerin kann kaum als ein chemischer Reizstoff angesehen werden, sondern dasselbe wirkt eher als osmotische Reizung. Durch Varia-

tion des osmotischen Druckes außerhalb der Pflanze wäre eine Verschiebung des Verhältnisses zwischen Stärke und Zucker innerhalb der Pflanze in der Richtung der Zuckerbildung denkbar. Dieses könnte wiederum eine Veränderung der Enzymwirkung verursachen. Die Resultate sind ersichtlich aus Tabelle XXXVI. Die Anzahl der Tage bezieht sich auf die Zeit nach der Überführung in die Nährlösungen mit Glycerin. Die Werte schwanken zwar etwas, jedoch nicht in einer bestimmten Richtung, so daß das Glycerin keinen Einfluß auf die Amylasebildung zu haben scheint. Die Stiele enthielten jedoch deutlich Glycerin.

Tabelle XXXVI. (Beilagen 439 bis 462.)

Organ. Substanz	—		1 0/0 Glycerin		2 0/0		3 0/0		5 0/0	
	Blatt	Stiel	Blatt	Stiel	Blatt	Stiel	Blatt	Stiel	Blatt	Stiel
2	1,23	0,845	—	—	—	—	1,92	1,00	—	—
3	2,75	1,06	2,47	0,959	2,84	0,892	3,51	1,04	—	—
4	3,94	0,865	—	—	3,77	1,02	3,29	0,825	3,17	1,03
5	1,52	0,669	—	—	—	—	1,37	0,825	—	—

In den folgenden Versuchen wurde die Nährlösung erst dann zugesetzt, wenn die Pflanzen ein wenig entwickelt waren, und die Anzahl der Tage wird hiervon berechnet.

Versuch 3. Als organische Nährsubstanz wurde KNa-Tartrat, Weinsäure, Milchsäure und Zitronensäure in 1proz. Lösungen angewendet. Der hohe Säuregrad verursachte, daß die Pflanzen bereits nach 1 bis 2 Tagen eingingen. Mit Seignettesalz als C-Quelle kann eine etwas höhere Amylasewirkung nach 4 bis 6 Tagen konstatiert werden. Auch Weinsäure und Milchsäure verursachen eine Erhöhung der Enzymwirkung, besonders ist dies der Fall bei der letztgenannten Säure. Die Amylasewirkung wurde deutlich erhöht in den Stielen der Pflanzen, die diese Säure in der Nährlösung erhielten. Zitronensäure hat dagegen keinen bemerkbaren Einfluß ausgeübt (Tabelle XXXVII und XXXVIII).

Tabelle XXXVII. (Beilagen 463 bis 486.)

Organische Substanz	—		1 0/0 K-Na-Tartrat		1 0/0 Weinsäure		1 0/0 Milchsäure	
	Blatt	Stiel	Blatt	Stiel	Blatt	Stiel	Blatt	Stiel
1	2,11	1,21	—	—	2,24	1,71	2,94	2,69
2	2,04	1,60	2,17	1,05	2,21	1,59	2,25	2,09
4	—	—	2,74	0,935	—	—	—	—
5	1,52	0,69	2,01	0,770	—	—	—	—
6	1,81	1,10	2,32	0,940	—	—	—	—

Tabelle XXXVIII. (Beilagen 487 bis 494.)

Organische Substanz	—		1 0/0 Zitronensäure	
	Blatt	Stiel	Blatt	Stiel
1	2,06	1,39	1,51	0,959
3	1,90	1,11	1,96	0,940

Versuch 4. Keine organische Substanz. Anorganische Salze in folgenden Konzentrationen. Auf 1000 ccm Wasser

KNO ₃	2 g
(NH ₄) ₂ HPO ₄	2 g
MgSO ₄	2 g
CaSO ₄	1 g

In beiden Fällen dieselbe Lösung mit Ausnahme dessen, daß in der einen Lösung Magnesiumsulfat weggelassen wurde. Im letzteren Falle war das Wachstum schneller und kräftiger, dessen ungeachtet war kein Unterschied in der Amylasewirkung vorhanden (Tabelle XXXIX).

Tabelle XXXIX.

(Beilagen 487 bis 490 und 495 bis 506.)

Tage	Mit MgSO ₄		Ohne MgSO ₄	
	Blatt	Stiel	Blatt	Stiel
1	2,06	1,39	2,10	0,981
3	1,90	1,11	1,83	1,11
5	1,36	1,03	1,48	0,765
7	1,12	0,865	1,43	0,640

Alle diese Versuche zeigen jedoch, daß die Amylasebildung ziemlich konstant und unabhängig von äußeren Umständen ist. In allen Versuchen wurde ein Maximum der Amylasewirkung erhalten, wenn die Pflanzen das gleiche Entwicklungsstadium erreicht hatten. Bei den Blättern liegt der maximale Wert auf *Sf* zwischen 2 und 3, und sinkt dann auf einen Wert zwischen 1 und 2.

e) Der Zusammenhang zwischen Amylasewirkung und Kohlehydratmenge in Blättern.

a) *Methoden der Kohlehydratbestimmungen.*

Durch die Einwirkung der Amylase wird die Stärke in niedrigere Kohlehydrate gespalten, doch, wie bereits vorher gesagt, nicht weiter als bis zu Maltose. Wo es sich darum handelt, dieses Enzym in den Pflanzenteilen zu studieren, ist es darum auch von Interesse, den Stärke- und Zuckergehalt und dessen Veränderungen kennen zu lernen.

Im Zusammenhang mit der Bestimmung der Amylasewirkung sind darum auch in einigen Fällen Bestimmungen der Zucker- und Stärkemenge gemacht worden. Die gewöhnlichen Zuckerarten in Pflanzen sind Saccharose, Maltose, Glykose und Fructose. Um jede einzelne von diesen quantitativ zu bestimmen, ist ein recht umfangreiches Material erforderlich, außerdem ist dies mit sehr großen Schwierigkeiten verbunden. Da in dieser Untersuchung solche Bestimmungen ein mehr untergeordnetes Interesse haben, sind im all-

gemeinen keine Bestimmungen mit Hinsicht auf die verschiedenen Zuckerarten ausgeführt, sondern nur Reduktionsproben gemacht worden. Durch die letzteren kann die Zuckermenge zwar nicht bestimmt werden, da Biose und Monose alkalische Kupferlösung nicht in demselben Maße reduzieren. Sie geben jedoch einen Begriff davon, ob eine Erhöhung oder Verminderung der Zuckermenge stattgefunden hat.

Feststellung von Zucker.

A. Unmittelbar nach dem Einsammeln der Blätter werden dieselben im Trockenschrank bei 100° getrocknet. Dies ist notwendig, weil die Enzymwirkung fortfährt, auch wenn die Blätter von der Pflanze entfernt worden sind und folglich eine Veränderung des Verhältnisses zwischen Stärke und die verschiedenen Zuckerarten auch dann stattfinden kann. Nach dem Trocknen werden die Blätter pulverisiert. 10,00 g werden abgewogen und zuerst mit Äther extrahiert, um Fette und Chlorophyll zu entfernen. Nachdem der Äther von den Blättern verdunstet war, wurden sie mit kochendem Wasser extrahiert. Der Wasserextrakt wurde zuerst mit 1 ccm Pb-Acetat und dann mit so viel Alkohol gefällt, daß eine 80 proz. Lösung entstand. Hierdurch wurden Eiweißstoffe und höhere Kohlehydrate, wie Stärke und Dextrine u. a. entfernt. Die Lösung wurde mit einigen Tropfen Ammoniak versetzt, um saure Reaktion zu verhindern, wodurch die Biose hätten gespalten werden können. Nun wurde auf 100 ccm eingedampft, hiervon 10 ccm entnommen und mit diesen laut *Bertrands* Methode reduziert. Dieses Volumen entsprach also 1,00 g Trockengewicht.

B. In den Fällen, wo die verschiedenen Zuckerarten jede einzeln für sich bestimmt werden sollte, wurde der gefällte und auf 100 ccm eingedampfte Wasserextrakt auf folgende Weise behandelt:

Ich ging davon aus, daß die Zuckerarten, die in solcher Menge vorkommen, daß man sie berücksichtigen muß, die vorerwähnten sind, nämlich Rohrzucker, Maltose, Glykose und Fructose. Von diesen haben die beiden letztgenannten im großen und ganzen dieselbe Reduktionsfähigkeit, während Maltose ungefähr halb so stark und Rohrzucker überhaupt nicht reduziert. Den Zuckergehalt durch das Drehungsvermögen der Lösung zu bestimmen, war nicht möglich, da die Lösung nicht genügend farblos erhalten werden konnte, nicht einmal nach wiederholter Behandlung mit Tierkohle oder Kaolin. Die Zuckermenge mußte deshalb mittels Reduktion bestimmt werden.

1. 10 ccm der ursprünglichen Lösung wurden zur Reduktion benutzt. Hierbei wurden a mg CuO gebildet.

2. 10 ccm wurden mit 0,5 ccm einer Invertaselösung versetzt, und nach einigen Stunden Einwirkung wurde reduziert. Hierbei wurden b mg CuO gebildet.

3. 10 ccm wurden mit Salzsäure im Wasserbad behandelt. Hierzu wurde 0,5 ccm konzentrierte Salzsäure genommen und nach 3 Stunden Einwirkung mit NaOH neutralisiert und auf die Reduktionsfähigkeit untersucht. Hierbei wurden c mg CuO gebildet.

Der Rohrzucker kann bestimmt werden als der Unterschied in der Reduktionsfähigkeit in 1. und 2., also entspricht dies $b - a$ mg CuO.

Durch Einwirkung von Salzsäure wurde sowohl Rohrzucker wie Maltose gespalten. Die Maltose kann berechnet werden aus dem Unterschied zwischen 2. und 3. Dieser beträgt $c - b$ mg CuO, welches also die Erhöhung in der Reduktion darstellt; Maltose reduziert jedoch auch als solche, ehe sie zu Glykose gespalten ist. Von 1,000 g Maltose erhält man bei Hydrolyse 1,052 g Glykose. Schlägt man in den von *Bertrand* aufgestellten Tabellen über die Reduktionsfähigkeit der Zuckerarten nach, so findet man, daß 1 g Maltose etwas mehr als die Hälfte Cu (berechnet aus dem gebildeten CuO) als Glykose bildet. Aber dieser Unterschied ist nicht genau derselbe für die verschiedenen Mengen. In nachstehender Tabelle XL wird angegeben, wieviel mg Cu einer gewissen Menge Maltose bzw. Glykose entsprechen. Hieraus kann entnommen werden, wieviel Maltose einer bestimmten erhaltenen Differenz in Cu vor und nach der Hydrolyse mit Salzsäure entspricht.

Tabelle XL.

I	II	III	IV	V
mg Maltose	mg Cu nach Glykose berechnet	mg Cu nach Maltose berechnet	II-III	$\frac{III}{IV}$
30	61,2	33,3	27,9	1,19
40	81,1	44,1	37,0	1,19
50	99,2	55,0	44,2	1,25
60	118,0	65,7	52,3	1,25
70	135,0	76,5	58,5	1,31
80	152,6	87,2	64,4	1,33
90	168,6	98,0	70,6	1,39
100	185,7	108,4	77,3	1,40

Das Verhältnis zwischen der Menge Cu, die der wirklichen Maltosemenge entspricht und der Menge, die als Differenz nach Hydrolyse (Kolumne V) erhalten wird, steigt also etwas mit steigender Maltosemenge. Als Durchschnittswert kann man jedoch 1,30 annehmen. Multipliziert man also die erhaltene Differenz $c - b$ mit 1,30, so erhält man die Menge Cu, welche der Maltosemenge entspricht.

Um die Werte für Glykose und Fructose zu erhalten, braucht man folglich nur a um 1,30 ($c - b$) zu vermindern.

Um die Methode auf ihre Zuverlässigkeit hin zu untersuchen, wurde eine Bestimmung mit bekannten Mengen Rohrzucker, Maltose und Glykose gemacht. Wie aus Tabelle XLI ersichtlich, ist die Übereinstimmung zwischen den gefundenen und den wirklichen Werten eine recht gute.

Tabelle XLI.

Zuckerart	Abgewogen g	Gefunden g	Unterschied
Rohrzucker	0,250	0,259	+ 0,009
Maltose	0,250	0,242	- 0,008
Glykose	0,230	0,223	- 0,007
Summe Zucker	0,730	0,724	- 0,006

Bestimmung von Stärke.

Die getrockneten und pulverisierten Blätter wurden wie vorher zuerst mit Äther extrahiert, darauf mit kochendem Wasser behandelt und nach dem Erkalten dem Aufguß 1 ccm einer Malzamyaselösung zugesetzt. Nach Einwirkung bei 40° während eines Zeitraumes von 24 Stunden wurde filtriert und der Rückstand noch einmal mit Wasser extrahiert. In einer Parallelprobe wurde auf dieselbe Weise verfahren, nur daß hier keine Amyaselösung zugesetzt wurde. Der Unterschied in der Reduktionsfähigkeit in beiden Fällen ergab die Stärkemenge.

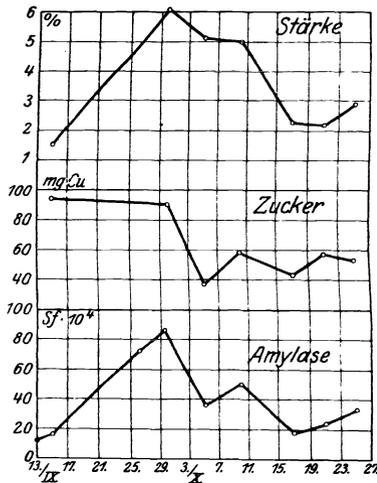


Abb. 12. Fraxinus excelsior.

β) Ergebnisse.

In Abb. 10 bis 12 sind meine Resultate aus den Tabellen XLII, XLIII, XLV und XLVII oberhalb der Amylasekurven graphisch eingezeichnet. Wie ersichtlich, ist es ziemlich unsicher, aus der Form der Kurven irgend eine Schlußfolgerung zu ziehen. In vielen Fällen entspricht eine Erhöhung der Amylasemenge auch einer Erhöhung der Stärke- und Zuckermenge. Aber dies ist nicht immer der Fall. Bei Versuchen mit Fraxinus excelsior ist jedoch die Übereinstimmung zwischen den verschiedenen Kurven eine recht gute. Der Amylasegehalt ist also nicht direkt abhängig von der Stärke- und Zuckermenge in den Blättern. Dies ging auch schon aus den Untersuchungen betreffend die Veränderung der Amylase im Verlaufe eines Tages hervor.

Tabelle XLII. Fraxinus excelsior.

Tag	mg Cu pro 1 g Trockengewicht	‰ Stärke	Tag	mg Cu pro 1 g Trockengewicht	‰ Stärke
15. IX. 20	93,8	1,5	17. X. 20	43,4	2,3
30. IX.	89,9	6,1	21. X.	57,3	2,2
5. X.	37,0	5,1	25. X.	53,3	2,9
10. X.	57,9	5,0			

Tabelle XLIII. Picea abies I.

Tag	mg Cu pro 1 g Trockengewicht	‰ Stärke	Tag	mg Cu pro 1 g Trockengewicht	‰ Stärke
31. X. 20	89,9	1,97	14. II. 21	67,4	—
7. XI.	79,8	—	21. II.	72,3	0,18
16. XI.	78,9	2,70	21. II. *)	104,0	0,41
23. XI.	99,4	—	1. III.	97,6	0,18
29. XI.	77,0	1,00	8. III.	56,5	1,80
6. XII.	54,8	2,24	15. III.	40,0	0,27
16. XII.	74,0	—	21. III.	44,4	1,44
3. I. 21	76,9	—	1. IV.	70,0	2,02
12. I.	52,7	1,70	19. IX.	30,6	0,97
20. I.	132,5	0,71	6. X.	105,0	1,14
26. I.	93,6	—	25. X.	119,4	0,53
7. II.	57,3	2,02			

*) Um 6 Uhr nachm.

Tabelle XLIV. Picea abies II.

Tag	‰ Rohr- zucker	‰ Maltose	‰ Glukose	Summa ‰ Zucker	‰ Stärke	Wasser- gehalt
22. XI. 21	1,10	3,12	2,22	6,44	—	56,7
5. XII.	1,58	1,92	3,60	7,10	0,53	46,7
11. I. 22	0,40	3,14	2,34	5,88	2,80	55,5
28. I.	1,22	4,36	1,48	7,06	—	55,7
13. II.	0,62	2,02	4,66	7,30	1,07	53,0

Tabelle XLV. Pinus silvestris I.

Tag	mg Cu pro 1 g Trockengewicht	‰ Stärke	Tag	mg Cu pro 1 g Trockengewicht	‰ Stärke
31. X. 20	25,3	0,79	1. II. 21	68,4	0,00
7. XI.	28,5	0,94	7. II.	70,1	1,01
16. XI.	28,8	0,67	14. II.	49,1	2,25
23. XI.	58,5	0,44	21. II.	52,2	3,53
29. XI.	37,2	0,50	1. III.	72,0	2,01
2. XII.	54,5	—	8. III.	80,4	—
6. XII.	32,7	1,15	15. III.	38,8	2,19
16. XII.	37,6	0,52	21. III.	57,6	2,42
3. I. 21	41,5	0,53	1. IV.	59,8	6,09
12. I.	45,5	1,49	6. X.	65,7	0,31
20. I.	87,6	0,96	25. X.	63,6	3,44
26. I.	65,6	2,12			

Tabelle XLVI. *Pinus silvestris* I.

Tag	% Rohrzucker	% Maltose	% Glukose	Summa % Zucker	% Stärke	Wassergehalt
7. XI. 21	3,02	3,63	0,43	7,08	2,64	54,5
21. XI.	2,42	3,28	2,50	8,20	2,98	51,7
23. I. 22	5,12	2,80	1,06	9,66	1,61	52,0

Tabelle XLVII. *Pinus silvestris* II.

Tag	mg u pro 1 g Trockengewicht	% Stärke	Tag	mg Cu pro 1 g Trockengewicht	% Stärke
11. XI. 20	35,9	0,59	24. I. 21	100,0	—
25. XI.	69,5	1,48	2. II.	129,2	0,00
3. XII.	55,5	1,04	9. II.	118,1	0,18
13. XII.	62,0	—	11. II.	91,6	1,63
20. XII.	42,6	0,29	23. II.	—	0,36
12. I. 21	22,3	0,50	2. III.	74,7	—

Tabelle XLVIII. *Pinus silvestris* III.

Tag	mg Cu pro 1 g Trockengewicht	% Stärke	Tag	mg Cu pro 1 g Trockengewicht	% Stärke
7. III. 21	96,3	—	6. IV. 21	88,5	2,56
14. III.	96,2	2,61	1. IX.	49,4	—
31. III.	84,1	7,29	18. X.	67,4	0,00

Tabelle XLIX. *Pinus silvestris* III.

Tag	% Rohrzucker	% Maltose	% Glukose	Summa % Zucker	% Stärke	Wassergehalt
5. XII. 21	2,80	0,36	3,74	6,90	—	48,4
11. I. 22	1,34	0,00	4,56	5,88	0,00	55,5
28. I.	2,46	1,84	2,76	7,04	0,00	54,4
13. II.	0,10	2,96	2,86	5,92	—	54,4

*Lidforss*¹⁾ hat gezeigt, daß die winterüberdauernden Laubblätter sich in unseren Breitengraden von Anfang Dezember an völlig stärkefrei erweisen. Wie aus meinen Bestimmungen der Stärke in den Nadelbäumen hervorgeht, ist auch hier während des Winters keine oder nur wenig Stärke vorhanden, während die Zuckermenge da größer ist. Dies stimmt auch mit Untersuchungen von *Lundegårdh*²⁾. Er hat gefunden, daß die Stärke verschwindet, wenn stärkehaltige Blätter bei Temperaturen nahe 0°C gehalten werden. Nach *Czapek*³⁾ beruht das Verschwinden der Stärke im Winter darauf, daß die Zuckerkonzentration

¹⁾ *Lidforss*, Bot. Zentralbl. **67**, 33, 1896.

²⁾ *Lundegårdh*, Jahrb. f. wiss. Bot. **53**, 421, 1914.

³⁾ *Czapek*, Ber. d. deutsch. bot. Ges. **19**, 120, 1901.

in den Zellen, um Stärkebildung eintreten zu lassen, bei niedriger Temperatur größer als bei höherer Temperatur sein muß. Nach *Brown* und *Morris* entspricht eine größere Stärkemenge einer schwächeren Amylasewirkung. Andere Verfasser haben die Amylasewirkung dort am größten gefunden, wo die meiste Stärke zu finden ist. *Blagewjeschtschenski* hat die Amylasewirkung und die Stärkemenge in keimenden Samen von *Vicia Faba* bestimmt, ohne jedoch einen Zusammenhang zwischen diesen zu finden.

Die Frage, wie sich das Verhältnis Zucker \rightleftharpoons Stärke in Blättern und Samen gestaltet, ist von mehreren Verfassern behandelt worden, z. B. *Lundegårdh*, *Molisch*¹⁾, *Schroeder* und *Horn*²⁾ u. a. Es war seitlangem bekannt, daß die Stärke beim Welken und Trocknen der Blätter im Dunkeln verschwindet. Die beiden letztgenannten Verfasser haben das gegenseitige Mengenverhältnis der Kohlehydrate im Laubblatt in seiner Abhängigkeit vom Wassergehalt untersucht. Sie kamen zu dem Schluß, daß in verdunkelten detachierten Blättern, falls Stärke anwesend ist, der Rohrzuckeranteil bei fallendem Wassergehalt steigt und bei steigendem Wassergehalt fällt, oder er ist groß bei geringem und klein bei hohem Wassergehalt. Sie halten für wahrscheinlich, daß diese Regeln gleicherweise für Blätter in situ an der Pflanze gelten. Es kann von Interesse sein zu sehen, wie meine Zuckerbestimmungen an Nadeln mit diesen Annahmen stimmen. Freilich zeigt der Wassergehalt in den verschiedenen Fällen nur kleine Variationen auf, und die Proben sind mit ziemlich langen Zeitabschnitten genommen, welches das Resultat unsicher macht. In Tabelle XLIV ist der Wassergehalt am niedrigsten am 5. Dezember, und da erreicht auch die Rohrzucker- menge einen maximalen Wert. Dies ist auch das Verhalten in Tabelle XLIX, wo der kleinste Wassergehalt der größten Rohrzucker- menge entspricht. In den anderen Fällen läßt sich die Beziehung zwischen Rohrzucker und Wassergehalt nicht deutlich erkennen. Die Resultate sprechen aber auch nicht der Annahme *Schroeders* entgegen. Aus Tabelle XLIV und XLVI ist auch ersichtlich, daß Rohrzucker und Stärke stets im umgekehrten Verhältnis zueinander stehen, welches auch mit *Schroeders* Annahme, daß Rohrzucker aus Stärke gebildet wird, in Übereinstimmung steht.

5. Diskussion über die Wirkung der Amylase in der lebenden Pflanze.

Die Fähigkeit der Amylase, in der Pflanze die Stärke zu spalten, ist natürlich von einer Reihe von Umständen abhängig. Stärke wird gebildet und kommt in den Blättern in den Chloroplasten, aber

¹⁾ *Molisch*, Ber. d. deutsch. bot. Ges. **39**, 339, 1921.

²⁾ *Schroeder* und *Horn*, diese Zeitschr. **130**, 165, 1922.

auch als Vorratsnahrung an anderen Stellen in der Pflanze vor. Eine Hauptbedingung dafür, daß die Stärke von den Amylasen gespalten wird, ist, daß die letztere mit der Stärke in Berührung kommen kann. Nach *Palladin* soll die Amylase zum größten Teil an den Protoplasten gebunden sein, aber sie kann sich auch von diesen freimachen und unabhängig davon wirken. Ist die Amylase an den Protoplasten gebunden, so ist es nicht denkbar, daß sie sich in der Pflanze fortbewegen oder diffundieren kann. *Grüss* hat die Diffusionsfähigkeit der Diastase durch die Zellenwände untersucht. Er sagt, daß als Resultat dieser Untersuchungen sich ergebe, daß die Diastase durch die Zellhaut zu diffundieren vermöge. Er unterscheidet jedoch zwischen zwei amylolytischen Enzymen, von welchen das eine leicht durch die Zellenwände dringen kann, ohne dieselben zu zerstören, während das andere dies nur mit Schwierigkeit und unter gleichzeitiger Zerstörung der Zellulose vermag. Das letztere Enzym kann darum sehr wohl als Zellulase angesehen werden.

Nach *Effront*¹⁾ hat es nicht den Anschein, als ob Wanderungsvorgänge bei der Ausbreitung der Enzymwirkung wesentlich in Betracht kämen. Doch scheint nach verschiedenen Angaben Diastase in gereinigten Lösungen nicht unbeträchtlich zu diffundieren. *Brown* und *Morris* zeigten die Diffusion in Gelatine. Durch Kollodiumhülsen findet jedoch keine bemerkbare Diffusion statt. Das Eindringen des Ferments in feste Stärkekörner stößt oft auf große Schwierigkeiten, worauf die früher häufig vertretene Ansicht, daß unverkleisterte Stärkekörner nicht angegriffen werden können, zurückzuführen ist.

Wenn Pflanzen abgeschnitten werden und der abgeschnittene Teil ins Wasser gestellt wird, diffundieren nach und nach die Glykose und andere niedrige Kohlehydrate durch den Stiel. Wenn auch die Amylase in der Pflanze diffundieren könnte, sollte man dies daran beobachten können, daß sich die Amylasewirkung in dem Stiel vermindert, sofern die Neubildung nicht ebenso groß wie der Verlust ist.

Ein in diese Richtung gehender Versuch ist mit *Phaseolus vulgaris* ausgeführt worden. Zwei 9 cm lange Pflanzen wurden genau an der Wurzel abgeschnitten und in ein Gefäß mit Wasser gestellt. Bei zwei anderen Exemplaren, die sich in ganz demselben Entwicklungsstadium befanden, wurde die Amylasewirkung in den vier untersten Centimetern des Stiels bestimmt. Nach Verlauf von 24 Stunden wurde die Amylasebestimmung in dem entsprechenden Teile des Stiels der abgeschnittenen Pflanzen und in dem Wasser vorgenommen. Wie aus Tabelle L ersichtlich, ist die Amylasewirkung vollkommen dieselbe in allen Exemplaren, sowohl den abgeschnittenen wie den anderen. Im Wasser konnte

¹⁾ *Effront*, Bull. Assoc. Chim. Suer. **23**, 508, 1905.

kein Enzym nachgewiesen werden. Dies spricht dafür, daß eine Diffusion nicht stattfindet. Der Versuch ist jedoch, wie gesagt, nicht vollkommen einwandfrei, da eine Neubildung des Enzyms stattgefunden haben kann. Daß dies in gleich großem Maße wie der Verlust der Fall gewesen ist, kann man jedoch kaum als glaubhaft ansehen.

Tabelle L.

(Beilagen 507—511.)

	Nicht abgeschnittene Pflanzen		Abgeschnittene Pflanzen		Wasser
<i>k</i>	0,050	0,043	0,053	0,052	0
<i>Sj</i>	0,427	0,423	0,478	0,440	0

Ein anderer wichtiger Faktor für die Wirkung der Amylase ist die Wasserstoffionenkonzentration. Der Zellsaft hat stets eine schwach saure Reaktion. Diese wird von sowohl anorganischen wie organischen Säuren verursacht. Bei Einwirkung von Tageslicht nimmt die Menge der organischen Säuren ab. Dies ist auch der Fall bei steigender Temperatur.

Im Zusammenhang mit der Keimung von *Phaseolus vulgaris* wurde auch die Wasserstoffionenkonzentration im Pflanzensaft bestimmt. Dünne Schnitte von den Kotyledonen und dem Stiel, welche fast farblos sind, wurden mit einem Tropfen eines Indikators befeuchtet und die Farbe beobachtet. In allen untersuchten Fällen, Keimpflanzen von 2 bis 10 cm, wurden die gleichen Werte auf die Wasserstoffionenkonzentration erhalten. Nachstehende Indikatoren mit in der Tabelle LI angegebenen Umschlagspunkten kamen zur Anwendung.

Tabelle LI.

Indikator:	Methylorange	Lackmoid	Kresolpurpur	Di-brom-sulpho-phthalein
Farbumschlag	rot-gelb	rot-blau	gelb-violett	gelb-blau
Umschlagspunkt p_H . .	3,1—4,4	4,65	4,2—6,8	6,8—7,6
erhaltene Farbe	gelb	blau	rotviolett	gelb

Die Wasserstoffionenkonzentration entsprach somit einem p_H -Wert zwischen 4,7 und 6,8. In anderen Versuchen wurden die Pflanzen unter Zusatz von etwas Wasser gepreßt. In dem so erhaltenen Preßsaft wurde die Wasserstoffionenkonzentration auf elektrometrischem Wege bestimmt. Der Wert auf p_H wurde zu 5,5 ermittelt, eine Wasserstoffionenkonzentration, welche für die Wirkung der Amylase am günstigsten ist.

Besteht eine Beziehung zwischen Amylasewirkung und Wassergehalt in den verschiedenen Teilen der Pflanzen? Bei der Keimung

nimmt sowohl der Wassergehalt¹⁾ wie die Amylasewirkung kräftig zu. Die letztere setzt noch zu steigen fort, auch seitdem der Wassergehalt sein Maximum erreicht hat. Werden die Blätter bei gewöhnlicher Zimmertemperatur getrocknet, so wird die Amylasewirkung freilich vermindert, doch können getrocknete Blätter monatelang aufbewahrt werden, ohne daß die Amylasewirkung ganz verschwindet. Auch in ruhenden Samen, z. B. Bohnen, ist Amylase nachgewiesen worden. Sieht man nach, wie sich die Verhältnisse in Blättern und Nadeln der Bäume gestalten, so besteht hier zwischen Wassergehalt und Amylasewirkung keine direkte Beziehung. Die verschiedenen Werte der Amylasewirkung bei verschiedenen Zeiten können nicht dem Wassergehalt zugeschrieben werden. In den Knospen ist ja die Amylasewirkung bedeutend höher als in den voll entwickelten Blättern, der Wassergehalt aber ist größer in den letztgenannten.

6. Zusammenfassung.

1. Zur Angabe der Wirksamkeit verschiedener Pflanzenamylase (der Verzuckerungsfähigkeit) ist die von *Euler* und *Svanberg* vorgeschlagene Einheit $Sf = \frac{k \cdot g \text{ Substrat}}{g \text{ Präparat}}$ innerhalb weiter Grenzen gültig.

2. Das Optimum der Azidität einer Reihe Pflanzenamylasen ist durch Kurven festgestellt worden; es liegt für sämtliche untersuchten Amylasen zwischen p_H 5,0 bis 5,4.

3. Bei der Keimung von Samen (*Phaseolus*) und während der ersten Entwicklung der Pflanze findet eine sehr starke Amylasebildung in allen Teilen der Pflanze statt bis zu einem Werte, der ungefähr 1000mal größer als der ursprüngliche ist. Die höchsten Werte wurden in den Knospen und den jungen Blättern gefunden. Auch die Verteilung der Amylase in verschiedenen Teilen der Keimpflanzen ist festgestellt worden.

4. Die Amylasewirkung in Knospen und Blättern einer Reihe von Bäumen bei verschiedenen Jahreszeiten ist quantitativ bestimmt worden (S. 242). Die Enzymwirkung ist auch hier am größten in den jungen Blättern. Die Veränderungen der Amylasewirkung ist besonders an Nadelbäumen untersucht worden (S. 245). Die Amylasewirkung kann in ein und demselben Baume stark variieren. In den jungen Schößlingen ist die Amylasewirkung zu klein, als daß man sie bestimmen kann.

¹⁾ Das Trockengewicht ist in den Beilagen angegeben.

5. Die Amylasewirkung ist während des Verlaufs eines Tages in Blättern *in situ* an der Pflanze keiner regelmäßigen Veränderung unterworfen.

6. Wenn Algen in Nährlösungen kultiviert werden, welche Stärke, Ca-Tartrat und Ca-Lactat enthalten, nimmt die Amylasemenge zu. In Lösungen von Rohrzucker, Lactose, Maltose, Glykose und Galaktose vermindert sich die Amylase dagegen. Enthält die Nährlösung nur anorganische Verbindungen, so übt dieselbe keinen Einfluß auf die Amylasewirkung aus.

7. Phaseoluspflanzen, welche in Nährlösungen kultiviert werden, zeigen nur sehr kleine Veränderungen in ihrer Amylasewirkung auf.

8. Zwischen Amylasewirkung und Stärke- bzw. Zuckermenge besteht keine deutliche Beziehung.

Präparat	Stunden	mg Maltose	k	Sf	Nr.	Präparat	Stunden	mg Maltose	k	Sf		
Blätter. 0,3605 g. Trockengew. 14,5.	0,5	14,7	0,176	1,31	32	46 Tagen. 0,6564 g. Trockengew. 9,45.	0,5	12,4	0,148	1,07		
	1	21,4	140				1	21,8	140			
	2	32,0	112				2	32,0	112			
	4	57,0	138									
			0,137					0,133				
Knospen. 0,0417 g. Trockengew. 19,1.	2	15,5	0,047	2,76	33	0,5963 g. Trocken- gewicht 9,55.	0,5	13,2	0,158	1,18		
	4	26,5	44				1	20,3	129			
	5,5	32,7	42				2	32,9	116			
							0,044				0,134	
36 Tagen. 0,4561 g. Trockengew. 9,70.	0,5	17,9	0,22	2,12	34	47 Tagen. 0,5297 g. Trockengew. 10,7,	0,5	17,2	0,210	1,66		
	1	30,5	21				1,5	34,5	165			
	2	41,6	16				2	40,0	153			
							0,20				0,176	
38 Tagen. Stiel. 0,7004g. Trocken- gewicht 8,18.	0,5	10,0	0,116	0,916	35	40 Tagen. Stiel. 0,6568g. Trocken- gewicht 9,89.	0,5	21,1	0,27	1,77		
	1	18,2	113				1	34,5	25			
	2	28,8	96				2	42,4	17			
	4	45,7	93						0,23			
			0,105					0,27				
Das erste Blattpaar. 0,6590g. Trocken- gewicht 9,68.	0,5	14,1	0,170	1,28	36	Blätter. 0,6015 g. Trockengew. 11,6.	0,5	21,1	0,27	2,01		
	1	26,5	177				2	37,5	28			
	2	37,5	149				1	58,4	29			
	4	59,5	151						0,28			
			0,162					0,116				
Das zweite Blattpaar. 0,2068g. Trocken- gewicht 16,2.	0,5	9,3	0,108	1,49	37	Knospen. 0,0531 g. Trockengew. 13,8.	1	9,3	0,116	3,82		
	1	18,7	117				2	15,5	108			
	2	28,1	95						0,112			
	4	41,6	81						0,22			
			0,100					0,22				
42 Tagen. Stiel. 0,4226g. Trocken- gewicht 7,83.	0,5	10,8	0,128	1,69	38	44 Tagen. 0,3180 g. Trockengew. 10,0.	0,5	17,8	0,22	3,14		
	2	30,4	105				1	35,3	26			
	3	40,0	102				2	42,4	17			
							0,112				0,20	
			0,128					0,33				
Das erste Blattpaar. 0,573 ⁰ g. Trocken- gewicht 9,66.	0,5	14,6	0,136	1,11	39	22 Tagen. Koty- ledonen. 0,7496 g. Trockengew. 27,2.	1	41,8	0,33	0,663		
	2	34,5	124				2	58,1	29			
	3	41,6	108				4	66,6	20			
							0,123				0,27	
			0,136					0,15				
Das zweite Blatt. 0,2957g. Trocken- gewicht 13,3.	0,5	10,0	0,108	1,32	40	Stiel. 0,5089 g. Trockengew. 9,32.	1	23,4	0,15	1,58		
	2	29,6	101				2	41,8	16			
	3	40,0	102				4	57,0	17			
							0,104				0,15	
			0,108					0,15				
Knospen. 0,0663 g. Trockengew. 17,0.	2	14,7	0,101	2,22	41	Blätter. 0,1154 g. Trockengew. 18,5.	1	23,4	0,15	3,28		
	3	19,5	98				2	36,7	13			
	a	39,6	—				4	55,3	13			
							0,100				0,14	
			0,101					0,26				
44 Tagen. 0,5105 g. Trockengew. 8,69.	0,5	10,1	0,117	1,14	42	32 Tagen. Koty- ledonen 0,2173 g. Trockengew. 22,5.	0,5	20,3	0,26	2,09		
	1	16,4	101				1	32,0	22			
	2	28,8	98				2	44,7	18			
	4	43,2	86				4	59,3	15			
			0,101					0,20				

Nr.	Präparat	Stunden	mg Ma.lose	k	Sf	Nr.	Präparat	Stunden	mg Ma.lose	k	Sf
43	Stiel. 1,1563 g. Trockengew. 8,40.	0,5	15,5	0,19	0,876	54	Stiel und Wurzel. 0,5550 g. Trocken- gewicht 7,66.	1	21,6	0,138	1,5
		1	29,6	20				2,5	43,5	138	
		2	37,5	14				4	49,5	107	
		4	59,3	15						0,128	
				0,17							
44	Blätter. 0,4134 g. Trockengew. 13,8.	0,5	14,1	0,17	1,31	55	Blätter. 0,0847 g. Trockengew. 15,6.	1	28,3	0,19	6,0
		1	21,4	14				2,5	47,0	16	
		2	33,6	12				4	52,9	12	
		4	59,3	15						0,16	
				0,15							
<i>Versuchsreihe 2.</i>											
Phaseolus vulgaris. a = 79,2.											
45	Knospen. 0,0929 g. Trockengew. 19,0.	2	28,1	0,095	2,30	56	0 Tagen. 1,000 g. Trockengew. 89,3.	22	15,4	0,0043	0,0
		4	39,3	75				47	31,7	47	
		5	44,7	72				71	47,5	56	
				0,081							
46	39 Tagen. Stiel. 0,7585 g. Trocken- gewicht 7,07.	0,5	7,1	0,080	0,681	57	11 Tagen. Koty- ledonen. 0,3330 g. Trockengew. 30,4.	0,5	23,1	0,315	1,2
		1,5	19,5	81				1	35,3	256	
		3	29,6	68				2	54,6	254	
		5	40,8	63				3	59,8	203	
				0,073							
47	Erstes Blattpaar. 0,7366 g. Trocken- gewicht 8,30.	0,5	9,3	0,108	0,865	58	Stiel. 0,4925 g. Trockengew. 8,45.	0,5	5,1	0,056	0,77
		1,5	25,8	114				1	11,1	65	
		3	38,5	96				2	19,7	62	
				0,106.							
48	Das zweite Blatt. 0,2958 g. Trocken- gewicht 13,8.	0,5	8,7	0,100	1,21	59	Blätter. 0,0510 g. Trockengew. 19,5.	0,5	5,1	0,056	2,72
		1,5	25,0	109				2	18,0	56	
		3	35,2	85				3	23,1	50	
				0,098							
49	Knospen. 0,0242 g. Trockengew. 17,0.	1,5	3,1	0,024	2,55	60	19 Tagen. Koty- ledonen. 0,1885 g. Trockengew. 28,8.	1	11,9	0,071	0,73
		5	9,3	23				2	25,7	85	
		23	22,5	16				3	35,3	85	
		a	39,6	—				4	41,4	80	
									0,021		
50	10 Tagen. Koty- ledonen. 0,8446 g. Trockengew. 27,0.	2	51,1	0,225	0,468	61	Stiel. 1,1655 g. Trockengew. 7,23.	1	7,8	0,046	0,303
		3	59,3	200				2	18,8	59	
		4	68,1	213				3	23,1	50	
										0,052	
				0,067							
51	Stiel und Wurzel. 0,2188 g. Trocken- gewicht 8,85.	2	23,5	0,076	1,73	62	Blätter. 0,1655 g. Trockengew. 19,0.	1	17,9	0,111	1,70
		3	28,1	63				2	30,8	107	
		4	34,5	62				3	40,5	104	
										0,107	
				0,074							
52	Blättchen. 0,0510 g. Trockengew. 13,0.	2	23,5	0,076	5,58	63	27 Tagen. Stiel. 1,2688 g. Trocken- gewicht 5,56.	1	13,6	0,082	0,57
		3	32,0	75				2	24,9	82	
		4	37,5	70				4	41,4	80	
										0,081	
				0,074							

Nr.	Präparat	Stunden	mg Maltose	k	Sf	Nr.	Präparat	Stunden	mg Maltose	k	Sf
64	Erstes Blattpaar. 0,2850 g. Trockengewicht 13,3.	1	7,0	0,040	0,620	75	Blätter. 0,1265 g. Trockengew. 26,0.	1	23,1	0,150	1,82
		2	16,2	50				2	32,5	110	
		4	30,0	52				3	39,6	100	
				0,047						0,120	
65	Zweites Blatt. 0,0581 g. Trockengewicht 19,6.	1	2,6	0,0140	0,601	76	15 Tagen. Kotedonen. 1,4985 g. Trockengew. 17,3.	1	31,7	0,22	0,373
		4	9,2	134				2	45,8	19	
				0,0137				3	54,5	17	
										0,19	
Versuchsreihe 3.											
Phaseolus multiflorus a = 79,2.											
66	0 Tagen. 1,000 g. Trockengew. 89,9.	19	7,8	0,0024	0,0014	77	Stiel. 1,302 g. Trockengew. 6,85.	1	15,4	0,094	0,515
		43	17,1	25				2	29,1	99	
		67	25,7	25				3	34,4	83	
				0,0025						0,092	
67	6 Tagen. Kotedonen. 1,3135 g. Trockengew. 35,7.	23	29,9	0,0090	0,0095	78	Blätter. 0,7305 g. Trockengew. 14,4.	1	24,9	0,164	0,641
		47	47,5	84				2	36,1	132	
		71	61,5	92				3	42,2	110	
				0,0089						0,135	
68	Kotedonen. 1,1974 g. Trockengewicht 39,6.	23	24,0	0,0068	0,0074	79	Knospen. 0,0578 g. Trockengew. 8,57.	1	10,2	0,059	6,25
		47	43,1	72				2	21,5	69	
				0,0070				3	26,5	59	
				0,0077						0,062	
69	Endosperme. 0,3425 g. Trockengewicht 12,1.	23	26,5	0,0077	0,0770	80	18 Tagen. Erstes Blattpaar. 0,740 g. Trockengew. 10,0.	1	21,5	0,137	0,810
		47	38,8	62				2	32,5	115	
		71	46,7	54				3	41,4	107	
				0,0064						0,120	
70	11 Tagen. Kotedonen. 2,2045 g. Trockengew. 28,2.	0,5	4,3	0,048	0,0298	81	Zweites Blatt. 0,1930 g. Trockengewicht 15,8.	0,5	7,8	0,092	1,36
		2	10,2	30				2	25,7	85	
		3	16,3	33				3	30,8	71	
				0,037						0,083	
71	Stiel. 0,6215 g. Trockengew. 7,89.	0,5	2,6	0,016	0,204	82	25 Tagen. Erstes Blattpaar. 1,531 g. Trockengew. 8,66.	1	24,9	0,164	0,535
		2	7,0	20				2	33,5	119	
		3	11,9	24						0,142	
				0,020						0,077	
72	Blättchen. 0,1480 g. Trockengew. 11,9.	0,5	5,2	0,058	1,70	83	26 Tagen. Erstes Blattpaar. 1,121 g. Trockengew. 7,80.	1	12,8	0,077	0,475
		1	11,0	64				2	25,7	85	
		2	18,8	59				3	36,1	88	
				0,060						0,083	
73	13 Tagen. Kotedonen. 2,0255 g. Trockengew. 28,2.	1	13,6	0,082	0,0876	84	34 Tagen. Erstes Blattpaar. 1,056 g. Trockengew. 13,2.	1,5	16,3	0,067	0,262
		2	29,9	103				2	22,3	72	
		3	43,1	114				3	33,5	79	
				0,100						0,073	
74	Stiel. 1,011 g. Trockengew. 11,5.	1	13,6	0,082	0,357	85	Zweites Blatt. 0,6065 g. Trockengewicht 15,4.	1	13,6	0,081	0,429
		2	28,3	96				2	25,7	85	
		3	31,7	74				3	32,5	76	
				0,083						0,080	
74	Stiel. 1,011 g. Trockengew. 11,5.	1	13,6	0,082	0,357	86	Drittes Blatt. 0,3956 g. Trockengewicht 19,5.	1	14,5	0,088	0,565
		2	28,3	96				2	25,7	85	
		4	40,5	78						0,087	

Nr.	Präparat	Stunden	mg Maltose	k	Sf	Nr.	Präparat	Stunden	mg Maltose	k	Sf
87	Viertes Blatt. 0,1042 g. Trockengewicht 20,0.	1	8,7	0,050	1,15	99	Viertes Blatt. 0,6700 g. Trockengewicht 12,3.	1	13,9	0,084	0,505
		2	12,2	37				2	25,1	83	
		3	23,1	48				3	34,5	83	
		4	31,6	55						0,083	
				0,048		100	Fünftes Blatt. 0,1890 g. Trockengewicht 16,1.	1	5,6	0,031	0,541
88	35 Tagen. Erstes Blattpaar. 1,1235 g. Trockengewicht 9,03.	1	5,2	0,029	0,158			2	12,0	35	
		2	11,9	35				3	16,7	34	
				0,032						0,033	
89	Zweites Blatt. 0,4346 g. Trockengewicht 10,9.	1	9,3	0,054	0,624	101	Sechstes Blatt. 0,0391 g. Trockengewicht 13,5.	22	23,3	0,0069	0,615
		2	14,5	44				46	39,3	65	
				0,049				71	49,6	60	
										0,0065	
90	Drittes Blatt. 0,5360 g. Trockengewicht 15,9.	1	19,6	0,123	0,664	102	5 Tagen. Kotedonen. 2,688 g. Trockengew. 42,6.	48	48,5	0,0086	0,0038
		2	29,9	103				72	60,7	88	
				0,113				96	80,2	—	
										0,0087	
91	Fünftes Blatt. 0,0453 g. Trockengewicht 16,0.	1	6,0	0,034	2,20	103	Endosperme. 0,1265 g. Trockengewicht 12,0.	48	33,5	0,0050	0,148
		2	8,7	25				72	39,6	42	
		3	18,0	37				96	48,5	43	
				0,032						0,0045	
92	36 Tagen. Erstes Blattpaar. 0,8550 g. Trockengewicht 10,6.	2	19,6	0,062	0,309	104	5 Tagen. 1,5630 g. Trockengew. 44,1.	23	12,8	0,0033	0,0025
		4	33,5	60				48	22,3	30	
		8	45,8	47				71	37,0	38	
				0,056							
93	Zweites Blatt. 1,054 g. Trockengewicht 12,6.	2	33,5	0,12	0,448	105	6 Tagen. Kotedonen. 1,7432 g. Trockengew. 40,0.	17	28,7	0,0115	0,0076
		4	52,9	12				43	50,5	103	
				0,12				65	61,2	99	
										0,0106	
94	37 Tagen. Erstes Blattpaar. 1,3748 g. Trockengewicht 9,80.	1	15,6	0,095	0,342	106	Endosperme. 0,1567 g. Trockengewicht 13,2.	17	19,5	0,0072	0,172
		2	27,4	92				43	44,0	82	
		3	36,1	88				65	46,8	60	
				0,092						0,0071	
95	Zweites Blatt. 0,6914 g. Trockengewicht 13,0.	1	17,1	0,105	0,540	107	8 Tagen. Kotedonen. 2,2095 g. Trockengew. 37,1.	20	33,5	0,0119	0,0081
		2	30,0	103				43	60,3	145	
		3	36,1	88				70	77,5	—	
		4	45,0	91							
				0,097							
96	55 Tagen. Erstes Blattpaar. 1,715 g. Trockengew. 12,0.	1	24,2	0,158	0,394	108	Endosperme. 0,3010 g. Trockengewicht 13,0.	43	35,5	0,0060	0,0651
		2	42,1	165				70	43,1	49	
				0,162				92	47,7	43	
										0,0051	
97	Zweites Blatt. 0,9943 g. Trockengewicht 13,7.	1	21,4	0,137	0,440	109	13 Tagen. Kotedonen. 1,718 g. Trockengew. 31,4.	1	7,6	0,043	0,0371
		2	33,5	119				2	13,9	42	
		3	40,2	103				4	21,4	34	
				0,120						0,040	
98	Drittes Blatt. 0,9547 g. Trockengewicht 12,8.	1	21,4	0,137	0,511	110	Stiel. 0,6113 g. Trockengew. 8,70.	1	5,6	0,031	0,292
		2	35,5	129				2	10,2	30	
		3	42,2	110				4	19,5	31	
				0,125						0,031	

Nr.	Präparat	Stunden	mg Maltose	k	Sf	Nr.	Präparat	Stunden	mg Maltose	k	Sf
111	Knospen. 0,0971 g. Trockengew. 12,0.	1	12,9	0,078	3,39	<i>Versuchsreihe 6.</i> Phaseolus vulgaris. $\alpha = 79,2$.					
		2	25,9	86		122	Das basale Stück. 0,2535 g. Trocken- gewicht 28,0.	1	36,5	0,27	1,69
		4	38,4	72				2	52,4	24	
				0,079		3		60,8	21		
112	19 Tagen. Koty- ledonen. 1,120 g. Trockengew. 25,5.	1	6,6	0,037	0,0595				0,24		
		2	10,1	30		123	Das mittlere Stück. 0,2982 g. Trocken- gewicht 30,3.	1	26,4	0,176	0,957
		4	22,4	36				2	42,2	165	
				0,034		3		56,2	179		
113	Stiel und Wurzel. 0,4158 g. Trocken- gewicht 11,7.	2	3,7	0,0105	0,114				0,173		
		4	6,6	93		124	Das Endstück. 0,1832 g. Trocken- gewicht 30,4.	1	20,9	0,133	1,05
		23	40,3	134				2	31,9	112	
				0,0111		3		43,1	114		
114	Blättchen. 0,0830 g. Trockengew. 16,9.	1	4,7	0,026	1,00				0,120		
		2	10,1	30		125	Das basale Stück. 0,2295 g. Trocken- gewicht 24,2.	1,25	32,8	0,186	1,46
		4	18,5	29				2	41,3	162	
				0,028		3		48,6	138		
	<i>Versuchsreihe 4.</i> Phaseolus vulgaris. $\alpha = 79,2$.								0,162		
115	Blättchen. 0,1146 g. Trockengew. 22,0.	2	13,3	0,040	0,795	126	Das mittlere Stück. 0,2710 g. Trocken- gewicht 31,8.	1,25	31,0	0,172	0,870
		4	23,9	39				2	37,5	139	
						0,040			3	48,6	
116	Stiel. 0,7446 g. Trockengew. 14,6.	2	17,2	0,053	0,234				0,150		
		4	28,6	49		127	Das Endstück. 0,2380 g. Trocken- gewicht 32,0.	1	24,6	0,162	1,04
								2	43,1	171	
				0,051		3		49,5	142		
117	Wurzel. 0,2935 g. Trockengew. 14,3.	6	6,5	0,0062	0,0775				0,158		
		23	22,0	68		<i>Versuchsreihe 7.</i> Populus tremula. $\alpha = 79,2$. 1,00 g Blätter.					
		41	36,5	65		128	27. VI. Trocken- gewicht 46,1.	18	44,3	0,020	0,0195
					43	65,0		17			
				0,0065		70		74,7	18		
	<i>Versuchsreihe 5.</i> Phaseolus vulgaris. $\alpha = 79,2$.								0,018		
118	Oberer Teil d. Stiels. 0,412 g. Trocken- gewicht 6,43.	4	16,4	0,0250	0,481	129	26. IX. Trocken- gewicht 43,0.	21	49,2	0,020	0,0279
		8	30,1	259				26	64,4	28	
						0,0255					
119	Mittlerer Teil des Stiels. 0,532 g. Trockengew. 5,88.	4	14,5	0,0220	0,376	130	10. X. Trocken- gewicht 31,8.	43	25,9	0,0040	0,0055
		8	29,2	250				69	32,5	33	
						0,0235			91	38,4	
120	Unterer Teil des Stiels. 0,4965 g. Trockengew. 6,15.	4	9,9	0,0145	0,240	<i>Versuchsreihe 8.</i> Salix caprea.					
		8	19,1	149		131	19. IX. Blüten- knospen. 0,700 g. Trockengew. 66,0.	21	7,8	0,0021	0,0026
								68	26,9	26	
				0,0147		a		79,2	—		
121	Wurzel. 0,112 g. Trockengew. 15,3.	46	0	—	0				0,0024		

Nr.	Präparat	Stunden	mg Maltose	k	Sf	Nr.	Präparat	Stunden	mg Maltose	k	Sf
132	6. X. Knospen. 1,00 g. Trockengewicht 45,2.	20	24,0	0,020	0,0094	<i>Versuchsreihe 10.</i> Betula alba. a = 79,2.					
		44	30,0	14							
		92	39,5	—							
		a	39,6	—							
				0,017		142	27. VI. 2,00 g. Trockengew. 43,9.	7	8,5	0,0070	0,0041
						24	28,6	81			
						49	36,5	65			
									0,0072		
133	19. IX. Blätter. 1,00 g. Trockengewicht 71,8.	24	36,0	0,0109	0,0071	143	19. IX. 1,00 g. Trockengew. 38,7.	21	17,1	0,0050	0,0058
		44	50,1	99							
		69	62,5	98							
		a	79,2	—							
				0,0102					0,0045		
134	27. VI. 2,00 g. Trockengew. 40,8.	7	12,4	0,0106	0,0063	<i>Versuchsreihe 11.</i> Alnus glutinosa.					
		24	36,0	109							
		49	51,0	91							
		a	79,2	—							
				0,0102		144	23. I. Blumen. 2,00 g. Trockengewicht 48,6.	23	60,3	0,027	0,0128
						43	70,8	23			
						a	79,2	—			
									0,025		
<i>Versuchsreihe 9.</i> Corylus avellana. a = 79,2.						<i>Versuchsreihe 12.</i> Fagus silvatica. a = 79,2.					
135	12. V. Blumen. 1,00 g. Trockengewicht 68,5.	20	5,6	0,0016	0,0010	145	12. V. Knospen. 0,700 g. Trockengewicht 39,4.	20	5,6	0,0016	0,0025
		67	12,4	11							
				0,0014					13		
136	12. V. Knospen. 0,600 g. Trockengewicht 36,4.	20	5,6	0,0016	0,0027	146	27. VI. Blätter. 0,800 g. Trockengewicht 54,1.	18	8,5	0,0027	0,0028
		67	12,4	11							
		91	15,3	10							
				0,0012					20		
137	20. VI. Blätter. 1,00 g. Trockengewicht 40,6.	21	7,5	0,0020	0,0022	147	26. IX. 0,500 g. Trockengew. 50,0.	21	11,1	0,0031	0,0050
		46	12,4	16							
		72	20,1	18							
				0,0018					23		
138	22. IX. 1,00 g. Trockengew. 51,5.	23	20,5	0,0057	0,0051	148	10. X. 1,00 g. Trockengewicht 50,5.	43	33,5	0,0055	0,0047
		46	35,3	56							
		95	48,4	43							
				0,0052					46		
139	14. X. 1,00 g. Trockengew. 72,0.	20	14,8	0,0045	0,0025	149	18. X. 1,00 g. Trockengew. 48,3.	46	21,4	0,0030	0,0028
		46	22,4	31							
		69	32,5	33							
				0,0036					26		
140	5. XII. Blumenknospen. 2,00 g. Trockengew. 49,5.	44	7,3	0,00095	0,00049	<i>Versuchsreihe 13.</i> Quercus robur. a = 79,2. 1,00 g Blätter.					
		67	11,1	97							
				0,00096		150	27. VI. Trockengewicht 45,9.	43	11,4	0,0016	0,0016
141	28. I. 2,00 g. Trockengew. 49,5.	44	30,6	0,0048	0,0020			70	16,2	14	
		96	38,4	30							
				0,0039					0,0015		

Nr.	Präparat	Stunden	mg Maltose	k	Sf	Nr.	Präparat	Stunden	mg Maltose	k	Sf		
151	26. IX. Trockengewicht 52,0.	21	25,7	0,0081	0,0081	162	29. V. Trockengewicht 30,4.	23	17,2	0,0046	0,0072		
		46	44,9	.79				48	32,2	.47			
		69	60,7	.92				72	37,5	.39			
				0,0084						0,0044			
152	18. X. Trockengewicht 53,0.	22	6,6	0,0017	0,0015	163	22. IX. Trockengewicht 46,8.	23	16,3	0,0044	0,0043		
		46	11,1	.14				46	28,3	.42			
				0,0016				95	41,4	.34			
										0,0040			
<i>Versuchsreihe 14.</i>						<i>Versuchsreihe 16.</i>							
Ulmus scabra. $\alpha = 79,2$.						Sorbus aucuparia. $\alpha = 79,2$.							
153	8. V. Knospen. 0,500 g. Trockengewicht 24,6.	5	15,3	0,0188	0,0577	164	12. V. 1,00 g. Trockengew. 26,4.	20	37,4	0,014	0,0246		
		20	35,5	.129				42	54,1	.12			
		44	53,2	.110				67	69,0	.13			
				0,0142						0,013			
154	16. V. Blätter. 0,350 g. Trockengewicht 28,4.	19	44,3	0,0133	0,0604	165	27. VI. 2,00 g. Trockengew. 46,0.	7	8,5	0,0070	0,0037		
		43	57,0	.128				24	24,9	.68			
		66	62,0	.100				49	36,5	.65			
				0,0120						0,0068			
155	29. V. 1,00 g. Trockengew. 30,8.	8	22,9	0,019	0,0227	166	8. IX. 1,00 g. Trockengew. 53,5.	22	29,9	0,0094	0,0071		
		23	41,3	.14				46	40,5	.68			
		48	54,0	.10				74	58,1	.78			
				0,014						64			
156	8. VI. 1,00 g. Trockengew. 27,4.	20	23,0	0,0074	0,0133						0,0076		
		46	45,4	.80									
		93	59,1	.64									
				0,0073									
157	22. IX. 1,00 g. Trockengew. 35,8.	23	29,9	0,0089	0,0130	<i>Versuchsreihe 17.</i>							
		46	50,9	.97		Prunus padus. $\alpha = 79,2$.							
				0,0093		167	11. V. Blumen. 0,700 g. Trockengewicht 22,2.	20	37,4	0,0139	0,0357		
		0,0093	45	52,2	.104								
		0,0077	70	61,0	.91								
158	27. IX. 1,00 g. Trockengew. 38,8.	22	17,1	0,0077	0,0056						0,0111		
		44	27,4	.72		168	Blätter. 0,400 g. Trockengew. 23,8.	20	5,6	0,0016	0,0068		
		69	32,5	.60				45	9,5	.12			
93	39,6	.65	91	14,3	.10								
				0,0069						0,0013			
159	30. IX. 1,00 g. Trockengew. 41,9.	21	27,4	0,0088	0,0098	169	0,350 g. Trockengewicht 28,8.	20	5,6	0,0016	0,0064		
		46	44,9	.79				45	10,5	.14			
		69	56,4	.78				91	13,3	.09			
				0,0082						0,0013			
160	14. X. 1,00 g. Trockengew. 45,0.	20	7,6	0,0022	0,0026	170	16. V. Blätter. 1,00 g. Trockengewicht 23,9.	19	12,4	0,0039	0,0077		
		46	19,5	.27				43	23,9	.36			
		68	21,4	.20				66	33,5	.36			
				0,0023						0,0037			
<i>Versuchsreihe 15.</i>						171	29. V. 1,00 g. Trockengew. 36,0.	23	7,5	0,0019	0,0025		
Sorbus suecica. $\alpha = 79,2$. 1,00 g Blätter.													
161	22. V. Trockengewicht 24,9.	19	13,3	0,0042	0,0076								
		43	23,9	.36									
		91	42,3	.36									
				0,0038						0,0018			

Nr.	Präparat	Stunden	m/ Maltose	k	Sf	Nr.	Präparat	Stunden	mg Maltose	k	Sf
<i>Versuchsreihe 18.</i>											
Acer platanoides. $a = 79,2$. 1,00 g.											
172	22. V. Blüten. Trockengew. 17,3.	43	0	—	0	183	25. IV. 21. Knospen. 0,900 g. Trockengewicht 24,1.	24 51 a	21,1 30,4 39,6	0,0138 124 —	0,0151
173	Blätter. Trockengewicht 28,0.	19 43 91	6,5 12,4 22,0	0,0019 17 15	0,0034	184	25. IV. 21. Blätter. 0,600 g. Trockengewicht 24,8.	24 51 a	17,9 28,0 39,6	0,0105 105 —	0,0176
174	8. VI. Trockengewicht 27,8.	20 46 93	8,5 15,3 24,9	0,0025 20 18	0,0038	185	19. IV. 21. Blütenknospen. 1,00 g. Trockengew. 19,2.	20 22 43	37,5 41,6 52,0	0,0139 147 108	0,0341
175	14. IX. Trockengewicht 54,0.	19 42 67	8,6 12,8 18,8	0,0026 18 18	0,0019	186	7. IX. 21. Blätter. 1,00 g. Trockengewicht 36,8.	21 44 68	5,2 9,4 17,1	0,00143 125 155	0,0019
<i>Versuchsreihe 19.</i>											
Aesculus hippocastanum. $a = 79,2$ ¹⁾ .											
176	12. IV. 21. Knospen. 0,1220 g. Trockengewicht 25,0.	21 45	4,7 7,9	0,0012 10	0,0185	187	27. IX. 21. 1,00 g. Trockengew. 30,0.	22 44 69 a	7,0 9,3 13,6 52,8	0,0028 19 19 —	0,0037
177	19. IV. 21. Knospen. 0,7650 g. Trockengewicht 24,5.	20 43 a	15,5 25,0 39,6	0,0108 101 —	0,0140	188	30. IX. 21. 1,00 g. Trockengew. 38,6.	68 150 a	8,7 16,0 39,6	0,00156 150 —	0,00099
178	12. IV. 21. Knospen. 0,1830 g. Trockengewicht 23,5.	24 40	7,9 10,0	0,0019 18	0,0202	189	27. IX. 21. Knospen. 1,00 g. Trockengewicht 44,4.	22 44 a	8,7 12,0 52,8	0,0035 25 —	0,0034
179	25. IV. 21. Knospen. 0,500 g. Trockengewicht 21,7.	24 51 a	15,5 25,0 39,6	0,0090 85 —	0,0203	190	30. IX. 21. Knospen. 0,700 g. Trockengewicht 67,0.	69 150 a	7,8 16,0 39,6	0,00138 150 —	0,00077
180	12. IV. 21. Blätter. 0,4505 g. Trockengewicht 24,0.	21 45	17,1 33,0	0,0050 52	0,0236	191	11. V. 22. Knospen. 0,700 g. Trockengewicht 26,0.	20 45	16,2 26,7	0,0050 40	0,0123
181	12. IV. 21. Knospenhülle. 0,3700 g. Trockengew. 20,0.	21 45	3,9 7,9	0,00102 102	0,0069	192	22. V. 22. Blätter. 1,00 g. Trockengewicht 22,9.	19 43 91	8,5 21,0 36,5	0,0026 31 29	0,0063
182	19. IV. 21. Blätter. 1,00 g. Trockengewicht 23,5.	20 43 a	19,5 30,5 39,6	0,0147 149 —	0,0158	193	29. V. 22. 1,00 g. Trockengew. 24,8.	48 72	13,3 18,1	0,0017 16	0,0034
194	8. VI. 22. 1,00 g. Trockengew. 26,2.	46 93	10,5 24,9	0,0013 18	0,0031	194					

1) Wo nicht anderes angegeben ist.

Nr.	Präparat	Stunden	mg Maltose	k	Sf	Nr.	Präparat	Stunden	mg Maltose	k	Sf
195	19. VI. 22. Um 10 ^h vorm. 2,00 g. Trocken- gewicht 28,4.	48	9,5	0,0011	0,0011	206	15. IX. 1,00 g. Trockengew. 43,5.	20	5,6	0,0016	0,0016
		73	14,3	12				67	12,4	11	
		100	19,1	12				a	79,2	—	
				0,0012						0,0014	
196	Um 2 ^h nachm. 1,50 g. Trocken- gewicht 29,6.	44	8,5	0,0011	0,0015	207	26. IX. 1,00 g. Trockengew. 51,0.	22	21,5	0,0154	0,0072
		69	17,2	15				28	24,1	146	
		100	21,0	13				46	30,4	138	
				0,0013				a	39,6	—	
				0,0014						0,0146	
197	Um 6 ^h nachm. 1,50 g. Trocken- gewicht 29,0.	40	9,5	0,0014	0,0016	208	30. IX. 1,50 g. Trockengew. 39,5.	25	36,3	0,0106	0,0086
		65	14,3	14				40	47,0	98	
		85	19,1	14				a	79,2	—	
				0,0014						0,0102	
198	8. VI. 22. Blüten. 1,00 g. Trocken- gewicht 17,6.	46	12,4	0,0016	0,0048	209	5. X. 1,50 g. Trockengew. 41,4.	24	16,7	0,0043	0,0036
		93	24,9	18				48	32,2	47	
				0,0017				a	79,2	—	
										0,0045	
<i>Versuchsreihe 20.</i>											
Tilia europæa. a = 79,2. 1,00 g Blätter.											
199	27. VI. Trocken- gewicht 36,2.	18	22,0	0,0078	0,0097	210	10. X. 1,00 g. Trockengew. 50,3.	8	7,6	0,0115	0,0050
		43	38,5	67				24	16,4	97	
		70	51,0	64				48	25,2	92	
				0,0070				a	39,6	—	
										0,0101	
200	26. IX. Trocken- gewicht 38,4.	21	42,2	0,016	0,0232	211	17. X. 1,00 g. Trockengew. 45,4.	24	6,8	0,0034	0,0018
		46	69,5	20				44	11,1	32	
				0,018				a	39,6	—	
										0,0033	
<i>Versuchsreihe 21.</i>											
Fraxinus excelsior.											
201	27. IV. Blumen- knospen. 1,00 g. Trockengew. 17,9.	20	8,5	0,00245	0,0066	212	21. X. 1,00 g. Trockengew. 35,4.	72	17,1	0,0034	0,0024
		44	16,4	228				96	21,0	34	
		a	79,2	—				a	39,6	—	
				0,00237						0,0034	
202	17. IV. Knospen. 0,4037 g. Trocken- gewicht 66,5.	22	30,5	0,029	0,0261	213	25. X. 1,00 g. Trockengew. 39,2.	24	10,7	0,0057	0,0033
		28	32,0	26				31	11,8	50	
		a	39,6	—				46	16,0	49	
				0,028				a	39,6	—	
										0,0052	
203	14. VI. Blätter. 2,00 g. Trocken- gewicht 25,0.	48	24,9	0,0034	0,0031	<i>Versuchsreihe 22.</i>					
		27	32,5	32		Picea abies I. a = 39,6. 1,00 g Nadeln ¹⁾ .					
		20	41,4	27		214	31. X. 20. Trockengew. 43,0.	24	18,7	0,012	0,0064
a	79,2	—	52	26,7	9						
			71	34,9	13						
				0,0031						0,011	
204	1. IX. 1,00 g. Trockengew. 35,2.	21	17,1	0,0117	0,0079	215	7. XI. Trockengew. 43,0.	20	14,2	0,0096	0,0053
		51	23,0	0,0105				25	16,9	97	
		a	39,6	—				44	22,4	82	
				0,0111						0,0092	
205	13. IX. 1,00 g. Trockengew. 41,5.	44	7,3	0,00095	0,0012						
		67	11,1	97							
		a	79,2	—							
				0,00096							

¹⁾ Wo nicht anderes angegeben ist.

Nr.	Präparat	Stunden	mg Maltose	k	Sf	Nr.	Präparat	Stunden	mg Maltose	k	Sf
216	16. XI. Trockengew. 42,6.	23	12,4	0,0071	0,0036	226	14. II. Trockengew. 44,1.	19	15,9	0,0117	0,0047
		31	13,3	57				43	19,6	69	
		43	16,9	57				66	26,2	71	
				0,0062				91	31,0	73	
217	23. XI. Trockengew. 46,3.	5	5,4	0,0128	0,0061	227	21. II. Trockengew. 53,0.	27	16,8	0,0083	0,0038
		20	15,1	104				47	23,5	83	
		25	20,5	126				61	26,2	77	
		44	24,2	93				95	30,9	69	
				0,0113							
218	29. XI. Trockengew. 39,1.	23	15,1	0,0091	0,0055	227 a	21. II. 6 Uhr nachm. Trockengew. 45,5.	16	8,6	0,0066	0,0036
		47	23,2	81				24	13,1	73	
		53	24,1	77				39	20,9	71	
		71	31,3	96				63	23,5	62	
								87	27,2	58	
				0,0086							
219	6. XII. Trockengew. 42,7.	21	13,4	0,0084	0,0047	228	1. III. Trockengew. 43,6.	23	12,4	0,0071	0,0033
		29	14,3	67				47	18,3	59	
		45	23,4	86				71	21,7	49	
		69	28,6	81				95	27,5	54	
				0,0080							
220	16. XII. 1,500 g. Trockengew. 43,0.	7	5,4	0,0044	0,0033	229	8. III. Trockengew. 47,0.	23	13,3	0,0077	0,0041
		31	18,8	38				53	24,1	77	
		47	31,4	47							
				0,0043							
221	3. I. 21. Trockengew. 37,8.	23	14,3	0,0085	0,0054	230	15. III. Trockengew. 44,9.	21	14,9	0,0097	0,0055
		31	15,2	68				45	24,2	91	
		43	23,4	90				70	32,5	107	
				0,0081							
222	12. I. Trockengew. 39,5.	22	12,1	0,0072	0,0047	231	21. III. Trockengew. 42,8.	23	17,5	0,0110	0,0061
		29	14,9	71				47	25,8	98	
		47	20,6	68							
		70	30,0	88							
				0,0075							
223	20. I. Trockengew. 42,0.	24	18,7	0,0115	0,0064	233	11. IV. Trockengew. 46,1.	21	7,1	0,0041	0,0024
		29	20,6	110				45	15,5	48	
		42	24,4	100							
				0,0108							
224	26. I. Trockengew. 45,6.	20	13,1	0,0087	0,0035	234	26. IV. Trockengew. 55,7.	23	15,5	0,0094	0,0039
		44	16,8	55				39	20,3	80	
		68	24,4	61							
				0,0064							
225	7. II. Trockengew. 42,1.	24	14,0	0,0079	0,0048	235	19. IX. Trockengew. 40,5.	47	16,2	0,0049	0,0028
		47	22,5	78				71	19,6	42	
		71	28,1	76							
				0,0046							
225	7. II. Trockengew. 42,1.	24	14,0	0,0079	0,0048	236	6. X. Trockengew. 43,1.	21	8,7	0,0051	0,0031
		47	22,5	78				45	18,0	58	
		71	28,1	76				93	26,5	52	
				0,0081							
				0,0054							

Nr.	Präparat	Stunden	mg Maltose	k	Sf	Nr.	Präparat	Stunden	mg Maltose	k	Sf
<i>Versuchsreihe 24.</i>						<i>Picea abies III.</i>					
259	Ältere Zweige. 1,00 g. Trockengewicht 55,5.	23 46 a	10,5 23,0 79,2	0,0027 32 —	0,0027	270	12. I. Trockengew. 43,5.	20 27	25,4 28,1	0,022 20	0,0121
				0,0030		271	20. I. Trockengew. 44,4.	19 26	30,9 31,9	0,035 27	0,0175
260	Jahressprößlinge. 1,00 g. Trockengewicht 19,4.	46	0	—	0	272	26. I. Trockengew. 43,0.	19 25 43 a	45,5 52,1 63,6 79,2	0,0195 186 167 —	0,0212
<i>Versuchsreihe 25.</i>						<i>Pinus silvestris I. a = 39,6¹⁾. 1,00 g Nadeln¹⁾.</i>					
261	31. X. 20. Trockengew. 70,7.	5 20 25	12,5 25,9 29,5	0,033 23 24	0,0095	273	1. II. Trockengew. 43,7.	24 47 a	48,2 69,6 79,2	0,0170 195 —	0,0209
				0,027						0,0183	
262	7. XI. Trockengew. 49,0.	6 22 27 50	10,6 23,2 24,1 32,2	0,023 18 16 15	0,0092	274	7. II. Trockengew. 46,2.	23 47 62 94 a	36,7 51,1 57,0 68,5 79,2	0,0117 96 89 92 —	0,0107
				0,018						0,0099	
263	16. XI. Trockengew. 46,3.	21 29 45	18,7 19,6 24,1	0,0132 102 91	0,0058	275	14. II. Trockengew. 52,1.	20 29 44 67 a	54,1 62,6 71,4 90,1 118,8	0,0132 112 91 92 —	0,0171
				0,0108						0,0119	
264	23. XI. Trockengew. 44,6.	6 22	16,0 29,5	0,037 27	0,0179	276	21. II. Trockengew. 46,8.	24 32 47 71 91 a	46,4 53,0 60,7 68,5 75,3 79,2	0,0159 150 134 122 144 —	0,0152
				0,032						0,0142	
265	29. XI. 0,500 g. Trockengew. 40,9.	21 45 51 69	18,7 25,9 27,6 31,3	0,0132 102 102 98	0,0133					0,0145	0,0115
				0,0109						0,0142	
266	2. XII. Trockengew. 44,9.	22 28 46	21,5 24,1 30,4	0,0154 146 138	0,0081	277	1. III. Trockengew. 46,0.	23 47 62 94 a	36,7 51,1 57,0 68,5 79,2	0,0145 96 89 92 —	0,0115
				0,0146						0,0106	
267	6. XII. Trockengew. 47,1.	20 26	21,5 24,3	0,0170 159	0,0088	278	8. III. Trockengew. 45,1.	22 46 70 94 a	45,4 55,5 66,6 72,7 79,2	0,0168 114 114 115 —	0,0142
				0,0165						0,0128	
268	16. XII. Trockengew. 46,5.	29 50	26,0 32,2	0,016 15	0,0086						
				0,016							
269	3. I. 21. Trockengew. 44,6.	23 27	25,1 28,1	0,019 0,020	0,0112						
				0,020							

1) Wo nicht anderes angegeben ist.

Nr.	Präparat	Stunden	mg Maltose	k	Sf	Nr.	Präparat	Stunden	mg Maltose	k	Sf
279	15. III. 2,00 g. Trockengew. 47,0.	20	61,5	0,033	0,0170	288	21. XI. Trockengew. 48,3.	20	25,1	0,0083	0,0073
		29	68,4	30				44	40,2	70	
		a	79,2	—				68	51,5	67	
				0,032				91	55,5	58	
								a	79,2	—	
280	21. III. Trockengew. 45,7.	8	25,0	0,0206	0,0140	289	23. I. 22. Trockengew. 48,0.	23	37,3	0,0120	0,0102
		23	43,5	150				43	52,5	98	
		32	46,1	118				70	60,3	89	
		47	53,8	105				94	66,8	86	
		a	79,2	—				a	79,2	—	
				0,0128							
										0,0098	
281	1. IV. Trockengew. 48,0.	22	37,5	0,0126	0,0106	290	21. II. 21. Knospen. Trockengew. 56,8.	20	9,3	0,00270	0,0023
		49	53,5	100				43	17,8	258	
		70	63,3	100				67	26,2	260	
		95	65,8	81				a	79,2	—	
		a	79,2	—							
				0,0102						0,00263	
282	11. IV. Trockengew. 48,3.	21	36,0	0,0125	0,0126	291	11. IV. C,800 g. Trockengew. 61,7.	21	8,5	0,0050	0,0023
		44	55,2	118				44	13,2	40	
		a	79,2	—							
				0,0122						0,0045	
283	26. IV. Trockengew. 48,0.	23	38,5	0,0126	0,0130	292	26. IV. 0,270 g. Trockengew. 83,6.	23	3,9	0,00096	0,0019
		43	56,0	124				43	5,5	72	
		a	79,2	—				a	79,2	—	
				0,0125						0,00084	
284	8. IX. Trockengew. 49,0.	23	37,0	0,0118	0,0101	293	21. XI. 0,425 g. Trockengew. 65,0.	92	0	—	0
		47	49,2	90							
		62	57,0	89							
		a	79,2	—							
									0,0099		
285	6. X. Trockengew. 50,1.	20	15,4	0,0047	0,0037	<i>Versuchsreihe 26.</i>					
		44	24,9	37		Pinus silvestris II. a = 39,6 ¹⁾ . 1,00 g Nadeln ¹⁾ .					
		92	34,4	27		294	11. XI. 20. Trockengew. 45,5.	6	12,5	0,028	0,0137
		a	79,2	—		22	25,9	21			
			27	32,1	27						
						0,025					
286	25. X. Trockengew. 45,6.	22	19,5	0,0056	0,0055	295	25. XI. Trockengew. 41,8.	18	15,1	0,0116	0,0066
		46	32,5	50				24	17,8	108	
		71	38,4	41				48	25,9	110	
		a	79,2	—							
				0,0037						0,0110	
287	7. XI. Trockengew. 45,5.	22	19,5	0,0056	0,0055	296	3. XII. Trockengew. 45,6.	18	16,9	0,0134	0,0079
		46	32,5	50				23	22,3	156	
		71	38,4	41							
		a	79,2	—							
				0,0049						0,0145	
287	7. XI. Trockengew. 45,5.	20	24,2	0,0079	0,0073	297	13. XII. Trockengew. 39,8.	22	26,8	0,022	0,0145
		44	39,3	65				28	31,4	24	
		68	47,7	58							
		116	61,2	55							
		165	73,6	—							
		216	79,4	—							
		a	79,2	—							
				0,0067						0,023	
288	20. XII. Trockengew. 38,2.	6	12,5	0,028	0,0157	298	20. XII. Trockengew. 38,2.	6	12,5	0,028	0,0157
		22	26,8	22				22	26,8	22	
		31	30,5	21							
		a	79,2	—							
				0,024							

¹⁾ Wo nicht anderes angegeben ist.

Nr.	Präparat	Stunden	mg Maltose	k	Sf	Nr.	Präparat	Stunden	mg Maltose	k	Sf	
299	12. I. 21. Trockengew. 43,5.	20	22,5	0,0182	0,0099	309	14. III. Trockengew. 41,4.	20	14,1	0,0042	0,0044	
		27	24,4	154				44	24,2	36		
		45	36,7	—				68	33,4	35		
				0,0168				92	38,5	32		
300	24. I. Trockengew. 45,7.	22	28,1	0,0244	0,0134	310	31. III. Trockengew. 45,0.	20	22,5	0,0073	0,0066	
		29	31,9	245				43	35,9	59		
		46	40,5	—				70	46,1	54		
				0,0245				91	51,2	50		
301	2. II. Trockengew. 41,9.	20	33,8	0,0121	0,0139	311	6. IV. Trockengew. 45,0.	21	17,1	0,0117	0,0069	
		44	56,0	121				49	27,3	105		
		68	64,5	108				69	36,0	151		
				—				a	39,6	—		
				0,0117						0,0124		
302	9. II. Trockengew. 40,7.	23	37,0	0,0118	0,0124	312	25. IV. Trockengew. 53,5.	20	12,4	0,0037	0,0034	
		44	49,1	95				47	24,9	35		
		70	60,3	89								
				—				a	79,2	—		
				0,0101						0,0036		
303	11. II. Trockengew. 46,1.	20	33,8	0,0121	0,0119	313	1. IX. Trockengew. 48,6.	20	7,0	0,0042	0,0019	
		45	50,1	96				45	11,1	32		
		68	65,6	112				71	18,0	37		
				—				a	39,6	—		
				0,0110						0,0037		
304	23. II. Trockengew. 46,9.	21	39,6	0,0143	0,0131	314	14. IX. Trockengew. 46,6.	19	6,1	0,0018	0,0018	
		45	54,1	110				42	9,4	13		
		69	66,5	115				67	22,3	21		
				—				a	79,2	—		
				0,0123						0,0017		
305	2. III. Trockengew. 45,5.	21	39,4	0,0147	0,0160	315	10. X. Trockengew. 45,4.	20	8,7	0,0025	0,0019	
		45	55,5	116				44	10,1	13		
		69	74,3	175				69	18,5	17		
				—				a	79,2	—		
				0,0146						0,0017		
306	24. V. 22. Trockengew. 54,0.	23	15,5	0,0094	0,0043	316	18. X. Trockengew. 44,5.	22	3,7	0,0019	0,0013	
		41	23,9	92				46	9,2	25		
				0,0093				70	12,9	25		
				—				a	39,6	—		
				0,0023						0,0023		
307	24. V. 22. 0,400 g. Knospen. Trockengew. 41,3.	113	0	—	0	317	5. XII. Trockengew. 51,6.	19	5,7	0,00168	0,0015	
								44	11,1	148		
								67	16,5	151		
				—						0,00156		
				0,0023						0,0023		
				0,0094						0,0019		
				0,0093						0,0019		
				—						18		
				0,0073						0,0020		
<i>Versuchsreihe 27.</i>												
Pinus silvestris III. a = 79,2 ¹⁾ . 1,00 g Nadeln ¹⁾ .												
308	7. III. 21. Trockengew. 40,9.	21	25,8	0,0081	0,0089	318	11. I. 22. Trockengew. 44,5.	20	10,1	0,0295	0,0032	
		44	39,4	69				44	18,5	262		
		69	55,5	76				73	30,6	290		
				—						0,0282		
				0,0073						0,0019		
				0,0073		319	28. I. Trockengew. 45,6.	44	13,9	0,0019	0,0022	
				—					96	31,6		23
				—					144	35,5		18
				0,0073						0,0020		

1) Wo nicht anderes angegeben ist.

Nr.	Präparat	Stunden	mg Maltose	k	Sf	Nr.	Präparat	Stunden	mg Maltose	k	Sf
320	13. II. 2,00 g. Trockengew. 45,6.	45	21,4	0,0030	0,0018	331	4 ^h nachm. 0,6045 g. Trockengew. 13,4.	0,5	7,9	0,090	0,57
		70	33,5	34				2,5	33,6	95	
		93	41,1	34				3,5	40,8	90	
				0,0033						0,092	
321	6. VI. Trockengew. 48,5.	21	8,5	0,0023	0,0027	332	10 ^h vorm. 0,3180 g. Trockengew. 10,0.	0,5	17,8	0,22	3,14
		44	21,0	30				1	35,3	26	
		67	25,8	26				2	42,4	17	
				0,0026				4	61,1	16	
										0,20	
322	20. VI. Trockengew. 40,6.	21	7,5	0,0020	0,0022	333	4 ^h nachm. 0,3718 g. Trockengew. 10,0.	0,5	9,2	0,106	1,28
		46	12,4	16				2,5	32,9	93	
		72	20,1	18				3,5	39,2	85	
				0,0018						0,095	
323	25. IV. 21. Knospen. 0,530 g. Trocken- gewicht 30,6.	47	3,9	0,00096	0,0015	334	10 ^h vorm. 0,6564 g. Trockengew. 9,45.	0,5	12,4	0,148	1,07
		70	5,5	93				1	21,8	140	
		a	39,6	—				2	32,0	112	
				0,00095						0,133	
324	6. VI. 22. Jahressprößlinge. Trockengew. 27,8.	44	0	—	0	335	2 ^h nachm. 0,7810 g. Trockengew. 7,40.	0,5	15,5	0,188	1,33
					1			25,7	170		
					2			30,5	105		
										0,154	
325	20. VI. Trockengew. 30,0.	46	0	—	0	336	10 ^h vorm. 0,5963 g. Trockengew. 9,55.	0,5	13,2	0,158	1,18
					1			20,3	129		
					2			32,9	116		
										0,134	
326	Ältere Zweige. 1,00 g. Trocken- gewicht 51,5.	23	14,3	0,0037	0,0026	337	4 ^h nachm. 0,5955 g. Trockengew. 7,46.	0,5	9,3	0,108	1,21
		46	17,2	23				1	17,1	105	
		95	27,7	20				2,5	32,0	112	
				0,0027						0,108	
327	Blumen. 1,00 g. Trockengew. 35,3.	23	8,5	0,0021	0,0021	383	9 ^h 45' vorm. 0,5297 g. Trocken- gewicht 10,7.	0,5	17,2	0,210	1,66
		46	10,5	13				1,5	34,5	165	
		95	18,2	12				2	40,0	153	
				0,0015						0,176	
										0,176	
										0,18	
<i>Versuchsreihe 28.</i>											
Pinus silvestris IV. a = 79,2.											
328	9 ^h 30' vorm. 0,2775 g. Trocken- gewicht 7,50.	1,5	22,6	0,098	1,97	339	2 ^h nachm. 0,5236 g. Trockengew. 9,25.	0,5	17,9	0,22	1,85
		3	31,6	74				1,5	33,6	16	
		5	44,9	73				2	40,0	15	
				0,082						0,18	
										0,18	
<i>Versuchsreihe 29.</i>											
Phaseolus vulgaris. a = 79,2.											
328	9 ^h 30' vorm. 0,2775 g. Trocken- gewicht 7,50.	1,5	22,6	0,098	1,97	339	2 ^h nachm. 0,5236 g. Trockengew. 9,25.	0,5	17,9	0,22	1,85
		3	31,6	74				1,5	33,6	16	
		5	44,9	73				2	40,0	15	
				0,082						0,18	
										0,18	
<i>Versuchsreihe 30.</i>											
Phaseolus vulgaris. a = 79,2.											
329	2 ^h 30' nachm. 0,3440 g. Trocken- gewicht 7,50.	0,5	13,2	0,159	3,06	340	10 ^h vorm. 0,5951 g. Trockengew. 9,89.	0,5	10,8	0,128	0,94
		1	25,8	172				1	16,4	101	
		2	38,5	144				2	32,9	117	
				0,158				4	45,5	93	
										0,110	
330	10 ^h vorm. 0,5105 g. Trockengew. 8,69.	0,5	10,1	0,117	1,14	341	4 ^h nachm. 0,7577 g. Trockengew. 9,16.	0,5	10,1	0,117	0,78
		1	16,4	101				2,5	36,7	108	
		2	28,8	98				3,5	44,0	100	
				43,2						100	
				0,101						0,108	

Nr.	Präparat	Stunden	mg Maltose	k	Sf	Nr.	Präparat	Stunden	mg Maltose	k	Sf
342	9 ^h 45' vorm. 0,5628 g. Trockengewicht 9,64.	1,5	19,5	0,081	0,76	353	9 ^h 30' vorm. 0,4190 g. Trockengewicht 8,83.	1	12,0	0,071	0,88
		2	24,8	82				2	18,5	58	
343	2 ^h nachm. 0,5338 g. Trockengew. 8,59.	1,5	18,7	0,078	0,81	354	2 ^h nachm. 0,5410 g. Trockengew. 9,55.	3	28,8	65	0,065
		2	21,8	70				1	14,8	0,090	
				0,074				2	24,2	79	0,79
								3	32,5	76	
<i>Versuchsreihe 31.</i>											
Phaseolus vulgaris. $a = 79,2$.											
344	9 ^h 30' vorm. 0,3143 g. Trockengewicht 10,2.	0,5	10,8	0,128	1,95	355	6 ^h 30' nachm. 0,6630 g. Trockengewicht 9,20.	0,5	6,6	0,074	0,71
		1	20,3	130				1	14,8	90	
		2,5	38,5	116				1,5	22,3	96	
				0,125						0,082	
345	2 ^h 30' nachm. 0,4633 g. Trockengewicht 7,79.	0,5	12,4	0,148	1,96	<i>Versuchsreihe 33.</i>					
		1	23,4	152		Phaseolus multiflorus. $a = 79,2$.					
		2	34,5	124		356	10 ^h 30' vorm. 0,6365 g. Trockengewicht 10,0.	1	19,6	0,123	0,90
				0,141					2	31,7	
346	9 ^h 30' vorm. 0,3180 g. Trockengewicht 10,3.	0,5	17,1	0,21	2,75	357	4 ^h nachm. 0,6678 g. Trockengew. 9,46.	0,5	11,1	0,130	0,90
		1	26,5	18				2	31,7	111	
		2	40,0	15				3	39,6	100	
				0,18						0,114	
347	Nach 24 Stunden. 0,3905 g. Trockengewicht 9,15.	0,5	17,9	0,22	2,52	358	10 ^h vorm. 0,6836 g. Trockengew. 6,50.	1	10,2	0,060	0,68
		1	28,1	19				2	18,0	61	
		2	37,5	14				3	26,5	59	
				0,18						0,060	
<i>Versuchsreihe 32.</i>											
Phaseolus multiflorus $a = 79,2$.											
348	10 30' vorm. 0,7400 g. Trockengewicht 10,0.	1	21,5	0,137	0,81	359	4 ^h nachm. 0,6420 g. Trockengew. 6,50.	0,5	4,3	0,048	0,64
		2	32,5	115				2,5	20,5	52	
		3	41,4	107				3	26,5	59	
				0,120						0,053	
349	4 ^h nachm. 0,7934 g. Trockengew. 9,46.	0,5	7,0	0,080	0,59	360	1 ^h nachm. 0,8805 g. Trockengew. 7,80.	1	11,1	0,065	0,48
		2	29,1	99				2	21,5	69	
		3	36,1	88				3	28,2	64	
				0,089						0,066	
350	10 ^h vorm. 1,531 g. Trockengew. 8,66.	1	24,9	0,16	0,54	361	9 ^h 30' vorm. 0,4115 g. Trockengewicht 10,7.	1	11,1	0,065	0,71
		2	33,5	12				2	18,5	58	
				0,14				3	27,8	63	
										0,062	
351	4 ^h nachm. 1,049 g. Trockengew. 8,66.	0,5	7,8	0,090	0,49	362	2 ^h nachm. 0,5917 g. Trockengew. 9,54.	1	14,8	0,090	0,75
		2,5	29,1	79				2	25,1	83	
		3,0	38,7	97				3	33,5	79	
				0,089						0,084	
352	1 ^h nachm. 1,121 g. Trockengew. 7,80.	1	12,8	0,077	0,48	363	6 ^h 30' nachm. 0,4993 g. Trockengewicht 10,0.	0,5	5,6	0,062	0,60
		2	25,7	85				1	10,1	58	
		3	36,1	88				1,5	14,8	60	
				0,083						0,060	

Nr.	Präparat	Stunden	mg Maltose	k	Sf	Nr.	Präparat	Stunden	mg Maltose	k	Sf
<i>Versuchsreihe 34.</i>											
Phaseolus vulgaris. $\alpha = 79,2$.											
364	I. 0 Tagen. Kotedonen. 1,00g. Trockengew. 92,0.	24	15,7	0,0040	0,0027	375	22 Tagen. Blatt. 0,0907g. Trockengewicht 17,9.	0,5	8,8	0,102	3,02
		48	37,3	57				1	17,3	107	
		72	46,9	54				2	25,5	84	
				0,0050					0,098		
365	4 Tagen. Kotedonen. 1,200g. Trockengew. 54,0.	23	12,0	0,0031	0,0032	376	Stiel. 0,4528g. Trockengew. 5,58.	0,5	5,8	0,066	1,32
		47	29,7	43				1	11,8	69	
		72	44,0	49				2	20,7	67	
				0,0041					0,067		
366	6 Tagen. 0,5345g. Trockengew. 43,4.	4	35,5	0,065	0,132	377	26 Tagen. Blatt. 0,1112g. Trockengewicht 19,1.	1	10,8	0,064	1,48
		7,5	49,5	57				2	20,9	57	
								0,061			
				0,061					0,063		
367	8 Tagen. Kotedonen. 0,3624g. Trockengew. 45,3.	2,5	13,9	0,034	0,122	378	Stiel. 0,7347g. Trockengew. 7,49.	1	12,6	0,075	0,638
		4	22,3	36				2	22,7	73	
		8	46,8	49				4,5	37,5	62	
				0,040					0,070		
368	Endosperme. 0,1222g. Trockengewicht 22,0.	2	10,1	0,0293	0,505	379	31 Tagen. Blatt. 0,0760g. Trockengewicht 23,2.	1	10,8	0,064	1,56
		4	18,5	289				2	16,4	50	
		8	27,8	235				4	29,1	50	
				0,0272					0,055		
369	11 Tagen. Kotedonen. 0,4540g. Trockengew. 29,1.	2	42,1	0,165	0,635	380	Stiel. 0,5464g. Trockengew. 8,15.	1	8,1	0,046	0,0460
		3	57,4	187				2	11,7	35	
		4	59,4	151				4	25,5	42	
				0,168					0,041		
370	Endosperme. 0,2465g. Trockengewicht 14,4.	1	23,3	0,151	1,69	381	II. 4 Tagen. 1,590g. Trockengewicht 44,9.	5,5	22,3	0,0258	0,0200
		2	32,5	114				23	59,5	262	
		4	45,9	94				29	67,7	289	
				0,120					0,0270		
371	13 Tagen. Kotedonen. 0,2404g. Trockengew. 48,0.	0,5	18,5	0,230	1,00	382	6 Tagen. 0,5440g. Trockengew. 43,1.	3	24,2	0,053	0,111
		1	33,5	238				7,5	46,0	50	
		2	51,5	228							
				0,232					0,086		
372	Endosperme. 0,1866g. Trockengewicht 11,1.	0,5	8,5	0,098	2,56	383	8 Tagen. Kotedonen. 0,4512g. Trockengew. 38,0.	2	25,7	0,086	0,274
		1	19,5	122				4	49,5	106	
		2	28,8	99				8	64,0	90	
				0,106					0,094		
373	18 Tagen. Blatt. 0,0522g. Trockengewicht 19,6.	0,5	4,6	0,051	2,74	384	Endosperme. 0,1850g. Trockengewicht 19,0.	4	23,7	0,049	0,598
		1,5	15,5	63				8	37,3	35	
		3	24,5	53							
				0,056					0,182		
374	Stiel. 0,2451g. Trockengew. 9,58.	0,5	4,6	0,051	0,981	385	11 Tagen. Kotedonen. 0,3768g. Trockengew. 33,0.	2	45,0	0,182	0,760
		1,5	10,8	43				3	59,4	201	
		3	20,9	45				5	69,8	185	
				0,046					0,189		
374	Stiel. 0,2451g. Trockengew. 9,58.	0,5	4,6	0,051	0,981	386	Endosperme. 0,2084g. Trockengewicht 16,5.	1	21,4	0,136	1,64
		1,5	10,8	43				2	33,5	119	
		3	20,9	45				4	43,0	85	
				0,046					0,113		

Nr.	Präparat	Stunden	mg Maltose	k	Sf	Nr.	Präparat	Stunden	mg Maltose	k	Sf
387	13 Tagen. Kotaldonen. 0,2063 g. Trockengew. 45,0.	0,5	23,3	0,304	1,41	399	6 Tagen. 0,5583 g. Trockengew. 38,1.	4	36,4	0,067	0,139
		1	34,5	248				7,5	46,0	50	
		2	52,6	237							
				0,263							
388	Endosperme. 0,1830 g. Trockengewicht 9,50.	0,5	9,2	0,108	3,22	400	8 Tagen. Kotaldonen. 0,4290 g. Trockengew. 38,4.	2,5	22,3	0,058	0,191
		1	19,5	122				4	34,5	62	
		2	30,6	106				8	56,5	68	
				0,112							
389	18 Tagen. Kotaldonen. 0,2249 g. Trockengew. 34,0.	1	37,5	0,28	1,70	401	Endosperme. 0,1160 g. Trockengewicht 19,0.	4	18,5	0,0289	0,582
		2	52,5	24				8	26,9	225	
				0,26						0,0257	
390	Blatt. 0,0557 g. Trockengew. 19,5.	1,5	14,5	0,058	2,53	402	11 Tagen. Kotaldonen. 0,4075 g. Trockengew. 33,8.	2	44,0	0,176	0,657
		3	27,3	61				3	56,4	180	
		5	32,8	46				4	64,9	186	
				0,055							
391	Stiel. 0,2332 g. Trockengew. 8,37.	0,5	4,6	0,051	1,59	403	Endosperme. 0,3255 g. Trockengewicht 14,6.	1	24,2	0,158	1,34
		1,5	16,4	67				2	34,5	124	
		3	30,1	69				4	47,7	100	
				0,062							
392	22 Tagen. Blatt. 0,0840 g. Trockengewicht 17,0.	0,5	7,8	0,091	3,05	404	13 Tagen. Kotaldonen. 0,2563 g. Trockengew. 43,7.	0,5	25,1	0,35	1,34
		1	15,5	94				1	37,3	28	
		2	23,7	77				2	56,4	27	
				0,087							
393	Stiel. 0,4116 g. Trockengew. 7,60.	0,5	7,8	0,091	1,39	405	Endosperme. 0,2449 g. Trockengewicht 8,55.	0,5	11,1	0,129	2,91
		1	15,5	94				1	21,4	137	
		2	23,7	77				2	28,8	99	
				0,087							
394	26 Tagen. Blatt. 0,0878 g. Trockengewicht 22,1.	1	12,6	0,075	1,75	406	18 Tagen. Blatt. 0,0575 g. Trockengewicht 32,0.	1	9,0	0,052	1,47
		2	20,9	67				2	18,2	57	
		4,5	37,5	62				5	35,6	52	
				0,068							
395	Stiel. 0,4887 g. Trockengew. 7,45.	1	12,6	0,075	0,950	407	Stiel. 0,3908 g. Trockengew. 9,35.	1	9,9	0,058	0,765
		2	21,8	70				5	36,5	54	
		4,5	37,5	62						0,056	
				0,069							
396	31 Tagen. Blatt. 0,1202 g. Trockengewicht 15,4.	1	12,6	0,075	1,73	408	22 Tagen. Blatt. 0,1036 g. Trockengewicht 18,2.	0,5	10,8	0,128	2,89
		2	19,1	60				1	17,3	107	
		4	31,9	56				2	27,3	92	
				0,064							
397	Stiel. 0,4427 g. Trockengew. 7,85.	1	7,1	0,040	0,663	409	Stiel. 0,4720 g. Trockengew. 7,89.	0,5	5,8	0,066	0,805
		2	15,5	47				1	9,8	58	
		4	29,1	50				2	18,2	57	
				0,046							
398	III. 4 Tagen. 1,400 g. Trockengewicht 51,1.	5,5	29,7	0,037	0,0210	410	26 Tagen. Blatt. 0,0570 g. Trockengewicht 24,2.	1	10,8	0,064	2,10
		23	65,0	32				2	20,0	63	
		47	70,7	21				4,5	30,0	46	
				0,030							
411	Stiel. 0,4675 g. Trockengew. 9,63.	1	14,5	0,088	0,955	411	Stiel. 0,4675 g. Trockengew. 9,63.	1	14,5	0,088	0,955
		2	25,5	84				2	25,5	84	
				0,086							

Nr.	Präparat	Stunden	mg Maltose	k	Sf	Nr.	Präparat	Stunden	mg Maltose	k	Sf
412	IV. 4 Tagen. 1,300g. Trockengewicht 46,1.	6	8,3	0,0080	0,0068	424	V. 4 Tagen. 1,400g. Trockengew. 47,1.	5,5	9,2	0,0098	0,0083
		47	47,7	85				23	38,3	125	
		72	58,4	81				47	54,5	108	
				0,0082						0,0110	
413	6 Tagen. 0,6020g. Trockengew. 41,7.	4	34,5	0,062	0,119	425	6 Tagen. 0,577Cg. Trockengew. 43,6.	4	30,6	0,056	0,101
		7,5	49,5	57				7,5	43,0	45	
				0,060						0,051	
414	8 Tagen. Kotaldonen. 0,3485g. Trockengew. 38,9.	2,5	17,6	0,043	0,170	426	8 Tagen. Kotaldonen. 0,3741g. Trockengew. 43,8.	2	11,8	0,035	0,138
		4	25,7	43				4	27,8	47	
		8	47,7	51				8	49,6	53	
				0,046						0,045	
415	Endosperme. 0,1854g. Trockengewicht 18,9.	2	14,8	0,045	0,656	427	Endosperme. 0,1327g. Trockengewicht 22,0.	4	16,6	0,026	0,515
		4	28,7	49				8,5	32,5	33	
		8	44,0	44						0,030	
				0,046						0,106	
416	11 Tagen. Kotaldonen. 0,4288g. Trockengew. 38,1.	2	32,5	0,114	0,377	428	11 Tagen. Kotaldonen. 0,4850g. Trockengew. 32,4.	2	30,6	0,106	0,347
		3	47,7	129				3	41,1	106	
		4	54,4	126				4	51,5	114	
				0,123						0,109	
417	Endosperme. 0,3175g. Trockengewicht 15,5.	1	25,1	0,165	1,38	429	Endosperme. 0,1990g. Trockengewicht 16,9.	1	12,9	0,075	1,06
		2	38,3	143				2	22,3	72	
		4	47,7	100				4	35,5	65	
				0,136						0,071	
418	13 Tagen. Kotaldonen. 0,2936g. Trockengew. 44,4.	0,5	9,2	0,108	0,373	430	13 Tagen. Kotaldonen. 0,2100g. Trockengew. 41,0.	0,5	15,7	0,192	1,13
		1	12,9	77				1	26,9	180	
		2	30,6	106				2	49,6	214	
				0,097						0,195	
419	Endosperme. 0,1463g. Trockengewicht 17,6.	0,5	6,6	0,076	1,34	431	Endosperme. 0,1773g. Trockengewicht 9,18.	0,5	8,5	0,098	3,07
		1	11,1	65				1	16,6	102	
		2	19,5	61				2	27,8	99	
				0,069						0,100	
420	22 Tagen. Blatt. 0,0518g. Trockengewicht 23,8.	1	11,7	0,069	2,72	432	18 Tagen. Kotaldonen. 0,2132g. Trockengew. 30,0.	1	23,7	0,155	1,19
		2	20,9	67				2	42,2	165	
		3	29,1	66				5	62,7	136	
				0,067						0,152	
421	Stiel. 0,4349g. Trockengew. 12,0.	1	12,6	0,075	0,730	433	Blatt. 0,0430g. Trockengew. 32,0.	1	6,5	0,037	1,52
		2	24,6	81				2	16,4	50	
		3	30,9	72				5	29,1	40	
				0,076						0,042	
422	31 Tagen. Blatt. 0,0295g. Trockengewicht 28,0.	1	6,2	0,035	2,06	434	Stiel. 0,2030g. Trockengew. 9,10.	1	4,6	0,026	0,730
		2	12,6	38				2	9,9	29	
		4	18,2	28				5	20,9	27	
				0,034						0,027	
423	Stiel. 0,3095g. Trockengew. 10,8.	1	10,8	0,064	1,03	435	22 Tagen. Blatt. 0,0518g. Trockengewicht 25,4.	1	12,6	0,075	2,66
		2	23,5	76				2	22,8	74	
		4	36,6	67				3	27,3	61	
				0,069						0,070	

Nr.	Präparat	Stunden	mg Maltose	k	Sf	Nr.	Präparat	Stunden	mg Maltose	k	Sf
436	Stiel. 0,3098 g. Trockengew. 12,2.	1	14,5	0,087	1,07	447	1% Glycerin. 3 Tagen. Blatt. 0,0463 g. Trocken- gewicht 22,8.	1	9,0	0,052	2,47
		2	24,6	81				2	18,2	57	
		3	31,9	75				4	27,3	46	
				0,081						0,052	
437	26 Tagen. Blatt. 0,4000 g. Trocken- gewicht 47,4.	1	9,0	0,052	1,29	448	Stiel. 0,3165 g. Trockengew. 12,7.	1	15,5	0,094	0,959
		2	16,4	50				2	21,8	70	
		4,5	30,0	46				4	36,5	67	
				0,049						0,077	
438	Stiel. 0,7588 g. Trockengew. 10,0.	1	12,6	0,055	0,646	449	2% Glycerin. 3 Tagen. Blatt. 0,0450 g. Trocken- gewicht 23,9.	1	10,8	0,064	2,84
		2	21,8	50				2	20,9	67	
		4,5	36,5	41				4	30,0	52	
				0,049						0,061	
<i>Versuchsreihe 35.</i>						450	Stiel. 0,3385 g. Trockengew. 14,9.	1	15,5	0,094	0,892
Phaseolus vulgaris. a = 79,2.								2	27,3	92	
					4			42,2	83		
439	0% Glycerin. 2 Tagen. Blatt. 0,1160 g. Trocken- gewicht 17,9.	1	8,5	0,049	1,23	451	4 Tagen. Blatt. 0,0285 g. Trocken- gewicht 17,2.	1	6,3	0,036	3,77
		2	18,2	57				2	12,6	38	
		4	27,7	47						0,037	
				0,051							
440	Stiel. 0,5400 g. Trockengew. 6,15.	1	9,5	0,055	0,845	452	Stiel. 0,2803 g. Trockengew. 12,1.	1	11,7	0,070	1,02
		2	19,1	60				2	20,9	67	
		4	30,5	53						0,069	
				0,056							
441	3 Tagen. Blatt. 0,0543 g. Trocken- gewicht 19,1.	1	10,8	0,064	2,75	453	3% Glycerin. 2 Tagen. Blatt. 0,0750 g. Trocken- gewicht 22,5.	1	12,4	0,074	1,92
		2	20,0	63				2	21,0	67	
		4	26,4	44				4	30,5	53	
				0,057						0,065	
442	Stiel. 0,3983 g. Trockengew. 8,43.	1	12,6	0,075	1,06	454	Stiel. 0,3385 g. Trockengew. 11,1.	1	14,3	0,086	1,00
		2	22,7	73				2	23,9	78	
		4	35,6	65				4	34,5	62	
				0,071						0,075	
443	4 Tagen. Blatt. 0,0597 g. Trocken- gewicht 14,0.	1	10,8	0,064	3,94	455	3 Tagen. Blatt. 0,0425 g. Trocken- gewicht 20,1.	1	10,8	0,064	3,51
		2	20,9	67				2	20,0	63	
				0,066				4	31,0	54	
										0,060	
444	Stiel. 0,5615 g. Trockengew. 7,61.	1	12,6	0,075	0,865	456	Stiel. 0,2925 g. Trockengew. 13,5.	1	14,5	0,088	1,04
		2	21,8	70				2	26,4	88	
				0,073				4	37,5	70	
										0,082	
445	5 Tagen. Blatt. 0,1370 g. Trocken- gewicht 20,2.	1	14,3	0,087	1,52	457	4 Tagen. Blatt. 0,0340 g. Trocken- gewicht 21,9.	1	9,9	0,058	3,29
		2	25,8	86				2	15,5	47	
		3	33,5	79				3	20,0	42	
				0,084						0,049	
446	Stiel. 0,6457 g. Trockengew. 8,43.	1	13,3	0,080	0,699	458	Stiel. 0,3160 g. Trockengew. 14,6.	1	13,5	0,081	0,825
		2	24,9	82				2	22,7	73	
		3	28,6	65				3	31,8	75	
				0,076						0,076	

Nr.	Präparat	Stunden	mg Maltose	k	Sf	Nr.	Präparat	Stunden	mg Maltose	k	Sf
459	5 Tagen. Blatt. 0,0650 g. Trockengewicht 33,1.	1	10,5	0,061	1,37	470	Stiel. 0,4740 g. Trockengew. 10,2.	1	19,1	0,119	1,10
		2	20,1	63				2	32,5	114	
		4	30,5	53				4	43,3	86	
				0,059						0,106	
460	Stiel. 0,4247 g. Trockengew. 13,3.	1	17,2	0,106	0,825	471	1 % Tartrat. 2 Tagen. Blatt. 0,0877 g. Trockengewicht 19,2.	1	13,3	0,080	2,17
		2	26,7	89				2	23,9	78	
		3	34,5	83				4	33,5	60	
				0,093						0,073	
461	5 % Glycerin. 4 Tagen. Blatt. 0,0520 g. Trockengewicht 17,6.	1	9,9	0,058	3,17	472	Stiel. 0,5145 g. Trockengew. 8,45.	1	16,2	0,099	1,05
		2	18,2	57				2	28,6	97	
				0,058				4	40,4	78	
										0,091	
462	Stiel. 0,4390 g. Trockengew. 11,0.	1	18,2	0,114	1,03	473	4 Tagen. Blatt. 0,0408 g. Trockengewicht 23,7.	1	10,5	0,062	2,74
		2	29,1	99				2	17,2	53	
		3	34,7	83				4	26,7	45	
				0,099						0,053	
<i>Versuchsreihe 36.</i>						474	Stiel. 0,4145 g. Trockengew. 10,6.	1	15,3	0,093	0,935
Phaseolus vulgaris. a = 79,2.								2	25,8	86	
								4	36,5	67	
										0,082	
463	1 Tag. Blatt. 0,0977 g. Trockengewicht 18,4.	1	13,3	0,080	2,11	475	5 Tagen. Blatt. 0,0590 g. Trockengewicht 20,2.	1	8,5	0,049	2,01
		2	24,9	82				2	16,2	50	
		4	35,5	65				4	23,9	44	
				0,076						0,048	
464	Stiel. 0,4188 g. Trockengew. 7,80.	1	14,3	0,086	1,21	476	Stiel. 0,4562 g. Trockengew. 10,4.	1	16,2	0,099	0,770
		2	22,9	74				2	25,2	86	
		4	40,4	78				3	34,5	83	
				0,079						0,089	
465	2 Tagen. Blatt. 0,0435 g. Trockengewicht 24,2.	1	7,5	0,043	2,04	477	6 Tagen. Blatt. 0,0813 g. Trockengewicht 21,7.	1	13,3	0,080	2,32
		2	14,3	43				3	34,5	83	
		4	25,8	43						0,082	
				0,043						0,082	
466	Stiel. 0,3715 g. Trockengew. 7,97.	1	18,1	0,112	1,60	478	Stiel. 0,4617 g. Trockengew. 10,7.	1	18,1	0,112	0,940
		2	26,7	89				2	24,9	82	
		3	34,5	83				3	35,5	86	
				0,095						0,093	
467	5 Tagen. Blatt. 0,1370 g. Trockengewicht 20,2.	1	14,3	0,087	1,52	479	1 % Weinsäure. 1 Tag. Blatt. 0,0417 g. Trockengewicht 31,1.	1	11,4	0,068	2,24
		2	25,8	86				2	19,1	60	
		3	33,5	79				4	26,7	45	
				0,084						0,058	
468	Stiel. 0,6457 g. Trockengew. 8,45.	1	13,3	0,080	0,69	480	Stiel. 0,2230 g. Trockengew. 7,06.	1	9,5	0,055	1,71
		2	24,9	82				2	18,1	56	
		3	28,6	65				4	29,6	51	
				0,076						0,054	
469	6 Tagen. Blatt. 0,1440 g. Trockengewicht 19,2.	1	19,1	0,119	1,81	481	2 Tagen. Blatt. 0,0420 g. Trockengewicht 36,1.	1	12,4	0,074	2,21
		2	28,6	97				2	22,9	74	
		4	42,4	83				4	30,5	53	
				0,100						0,067	

Nr.	Präparat	Stunden	mg Maltose	k	Sf	Nr.	Präparat	Stunden	mg Maltose	k	Sf	
482	Stiel. 0,2950 g. Trockengew. 7,97.	1	14,3	0,086	1,59	493	3 Tagen. Blatt. 0,1313 g. Trocken- gewicht 20,2.	1	19,1	0,120	1,96	
		2	23,9	78				2	28,6	97		
		4	34,5	62				3	38,5	96		
				0,075						0,104		
483	1% Milchsäure. 1 Tag. Blatt. 0,0433 g. Trocken- gewicht 24,8.	1	11,4	0,068	2,94	494	Stiel. 0,4740 g. Trockengew. 10,0.	1	17,2	0,106	0,940	
		2	19,1	60				2	25,8	86		
		4	34,5	62				3	32,5	76		
				0,063						0,089		
484	Stiel. 0,2520 g. Trockengew. 6,87.	1	18,1	0,112	2,69	<i>Versuchsreihe 38.</i> Phaseolus vulgaris. a = 79,2.						
		2	25,8	86		495	5 Tagen. Blatt. 0,1253 g. Trocken- gewicht 27,7.	1	17,2	0,106	1,36	
		4	41,4	80				2	28,6	97		
		0,093	3	33,5	79							
485	2 Tagen. Blatt. 0,0390 g. Trocken- gewicht 57,0.	1	17,2	0,106	2,25	496	Stiel. 0,4400 g. Trockengew. 7,85.	1	14,2	0,087	1,03	
		2	27,7	94				2	19,1	60		
				0,100						0,071		
486	Stiel. 0,3075 g. Trockengew. 6,70.	1	16,2	0,099	2,09	497	7 Tagen. 0,1405 g. Trockengew. 22,9.	1	12,4	0,074	1,12	
		2	25,8	86				2	22,0	70		
		3	31,5	73				3	31,5	73		
				0,086						0,072		
<i>Versuchsreihe 37.</i> Phaseolus vulgaris. a = 79,2.												
487	1 Tag. Blatt. 0,0940 g. Trocken- gewicht 24,3.	1	17,2	0,106	2,06	498	Stiel. 0,5240 g. Trockengew. 6,95.	1	11,4	0,068	0,865	
		2	29,6	101				2	20,1	64		
		3	32,5	76				3	25,8	57		
				0,094						0,063		
488	Stiel. 0,3445 g. Trockengew. 9,19.	1	18,1	0,112	1,39	499	1 Tag. Blatt. 0,1150 g. Trocken- gewicht 20,3.	1	18,1	0,112	2,10	
		2	23,9	78				2	28,6	97		
		3	34,5	83				3	35,5	86		
				0,088						0,098		
489	3 Tagen. Blatt. 0,1465 g. Trocken- gewicht 18,9.	1	19,1	0,120	1,90	500	Stiel. 0,7065 g. Trockengew. 7,76.	1	20,1	0,126	0,98	
		2	30,5	106				2	28,6	97		
		3	36,5	89				3	39,5	100		
				0,105						0,108		
490	Stiel. 0,5377 g. Trockengew. 7,90.	1	16,2	0,100	1,11	501	3 Tagen. 0,2170 g. Trockengew. 15,6.	1	22,0	0,142	1,83	
		2	28,6	97				2	34,5	124		
		3	35,5	86				3	41,4	107		
				0,094						0,124		
491	1% Zitronensäure. Blatt. 0,1505 g. Trockengew. 24,6.	1	21,0	0,133	1,51	502	Stiel. 0,6050 g. Trockengew. 7,67.	1	17,2	0,106	1,11	
		2	31,5	110				2	31,5	110		
		3	37,5	93				3	37,4	93		
				0,112						0,103		
492	Stiel. 0,6340 g. Trockengew. 7, 83.	1	16,2	0,099	0,959	503	5 Tagen. Blatt. 0,2583 g. Trocken- gewicht 14,5.	1	19,1	0,120	1,48	
		2	28,6	97				2	32,5	114		
		3	36,5	89				3	38,5	99		
				0,095						0,111		

Nr.	Präparat	Stunden	mg Maltose	k	Sf	Nr.	Präparat	Stunden	mg Maltose	k	Sf
504	Stiel. 0,7883 g. Trockengew. 7,56.	1	16,2	0,100	0,765	509	Abgeschnittene. 0,7463 g. Trocken- gewicht 7,43.	1	10,8	0,064	0,478
		2	26,7	88				2	16,4	50	
		3	35,5	86				4	27,3	46	
				0,091					0,053		
505	7 Tagen. Blatt. 0,3210 g. Trocken- gewicht 14,3.	1	23,9	0,156	1,43	510	0,9995 g. Trocken- gewicht 5,91.	1	9,8	0,057	0,440
		2	34,5	124				2	18,2	57	
		3	42,3	114				4	25,5	42	
				0,131					0,052		
506	Stiel. 0,8550 g. Trockengew. 7,95.	1	14,2	0,087	0,640	<i>Versuchsreihe 40.</i>					
		2	28,6	97		Ulmus scabra. $\alpha = 79,2$. 1,00 g Blätter.					
		3	32,5	76		512	Sonnenblätter. Trockengew. 36,9.	26	27,7	0,0072	0,0088
		0,087	47	38,5	61						
			70	50,1	62						
								0,0065			
507	Nichtabgeschnittene. 0,9112 g. Trocken- gewicht 6,43.	1	9,8	0,057	0,427	513	Halbsonne. Trockengew. 36,9.	26	28,6	0,0074	0,0088
		2	16,4	50				47	37,5	59	
		4	26,4	44				70	50,1	62	
				0,050				0,0065			
508	0,8064 g. Trocken- gewicht 6,30.	1	8,8	0,052	0,423	514	Schattenblätter. Trockengew. 36,9.	26	27,7	0,0072	0,0091
		2	14,5	44				47	40,4	66	
		4	20,9	33				70	50,1	62	
				0,043				0,0067			

II. Die Temperaturempfindlichkeit der Amylase von *Phaseolus vulgaris*.

Mit 14 Abbildungen im Text.

Inhalt:

1. Einleitung	294
2. Die Herstellung des Enzympräparates	295
3. Methodik	297
4. Das Verzuckerungsvermögen	299
a) Der Einfluß der Azidität	299
b) Bestimmung der Temperaturkoeffizienten	300
c) Die Abhängigkeit der Temperaturempfindlichkeit von der Azidität	302
d) Der zeitliche Verlauf der Inaktivierung	307
e) Die Abhängigkeit der Inaktivierungskoeffizienten von der Temperatur	309
f) Die Temperaturkoeffizienten der Inaktivierungskonstanten	310
g) Der Einfluß des Kochsalzes	311
5. Das Verschwinden der Stärkereaktion	312
a) Der Einfluß der Azidität	313
b) Bestimmung der Temperaturkoeffizienten	313
c) Die Abhängigkeit der Temperaturempfindlichkeit von der Azidität	314
d) Der zeitliche Verlauf der Inaktivierung	316
e) Die Abhängigkeit der Inaktivierungskoeffizienten von der Temperatur	317
f) Die Temperaturkoeffizienten der Inaktivierungskonstanten	317
g) Der Einfluß des Kochsalzes	317
6. Zusammenfassung	318
Beilagen	322

1. Einleitung.

Zwischen aus dem Tierreich stammenden stärkespaltenden Enzymen (Ptyalin, Pankreasdiastase) und solchen aus dem Pflanzenreich (Malzamylyase u. a.) herrscht in vielen Beziehungen ein großer Unterschied. Dieser zeigt sich z. B. in dem Verhalten der Enzyme zu der Wasserstoffionenkonzentration der Lösungen sowie zu anorganischen

Neutralsalzen usw. Besonders die obengenannten drei Amylasen sind in diesen Hinsichten Gegenstand eingehenden Studiums gewesen. Über die Voraussetzungen für die Wirkung der anderen Pflanzenamylasen liegen jedoch nur wenige Arbeiten vor. Es ist daher von großem Interesse, ein solches Enzym näher zu untersuchen, um festzustellen, ob es sich genau wie die Malzamylose verhält und ob alle Amylasen, die aus dem Pflanzenreiche stammen, als identisch angesehen werden können.

Der folgende Teil dieser Arbeit soll ein Versuch in dieser Richtung sein und wird hauptsächlich das Verhalten der Amylase bei verschiedenen Temperaturen behandeln.

Da es bei solchen Versuchen wünschenswert ist, ein möglichst reines und wirksames Präparat anzuwenden, lag es nahe, zu dieser Arbeit die aus den Phaseolusarten erhaltenen Amylase zu wählen, da es sich durch meine vorhergehenden Untersuchungen erwiesen hatte, daß diese Pflanzen ein besonders wirksames Enzym enthalten.

2. Die Herstellung des Enzympräparates.

Da, wie aus dem Vorhergehenden ersichtlich, der Amylasegehalt mit dem Entwicklungsstadium der Pflanzen bedeutend variiert, wurde ein Stadium gewählt, in welchem die Amylasewirkung besonders kräftig war. Dies ist bei Phaseolus der Fall, wenn die Pflanze eine Größe von 7 bis 10 cm erreicht hat. Keimpflanzen dieser Größe wurden oberhalb der Wurzel, welche keine nennenswerten Enzymmengen enthält, abgeschnitten und in einem Porzellanmörser mit feinem Seesand und der kleinstmöglichen Menge Wasser zerrieben, bis eine dicke Masse entstand. Zu 50 Pflanzen, welche ungefähr 100 g wiegen, wurden 50 ccm Wasser genommen. Die erhaltene Masse ließ man unter Zusatz von Toluol einige Tage stehen, wobei die Zellen zu autolysieren begannen und das Enzym leichter freigemacht wurde, preßte sie in einer Handpresse durch ein Tuch und filtrierte. Das Filtrat wurde 24 Stunden durch Kollodiumhülsen dialysiert und aufs neue filtriert. Aus der oben angegebenen Menge erhielt man ungefähr 100 ccm. Längere Dialysierung ergab zwar ein Präparat mit etwas geringerem Trockengewicht, gleichzeitig wurde aber die Amylasewirkung so bedeutend vermindert, daß es keinen Zweck hatte, mit der Reinigung des Enzyms auf diese Art fortzufahren. Auch Versuche betreffend Reinigung durch Absorption mit verschiedenen Stoffen ergaben als Resultat, daß die Enzymwirkung in allzu hohem Grade vermindert wurde. Deshalb wurde zu diesen Versuchen eine nach eintägiger Dialysierung erhaltene Lösung verwendet. In untenstehender Tabelle sind einige Konstanten angegeben, welche die verschiedenen Präparate charakterisieren. Die Art, auf welche die Konstanten erhalten wurden, wird im folgenden beschrieben.

Tabelle I.

Nummer des Präparats	$k =$ konstant bei der Verzuckerung	$d =$ konstant nach der Jodmethode	Trockengewicht %	Sf	d/k
I.	0,138	—	0,25	20,7	—
II.	0,165	—	0,25	24,8	—
III.	0,103	—	—	—	—
IV.	0,147	0,28	—	—	1,9
V.	0,31	0,62	—	—	2,0
VI.	0,209	0,42	0,32	24,5	2,0
VII.	0,052	—	—	—	—
VIII.	0,207	0,20	—	—	1,9
IX.	0,46	0,52	—	—	1,1
X.	0,183	0,36	0,27	25,4	2,0
XI.	0,229	0,30	0,22	39,0	1,3

Die Reaktionskonstanten für die Verzuckerung und das Verschwinden der Stärkereaktion sind in dieser Tabelle auf 1 cm Enzymlösung berechnet. Der Reinheitsgrad der verschiedenen Präparate ist im großen und ganzen gleich, da der Wert von Sf in den Fällen, wo er bestimmt wurde, nur unbedeutend variierte. Aus der letzten Kolonne, die das Verhalten der beiden Konstanten zueinander angibt, ist ersichtlich, daß die dort aufgeführten Werte mit Ausnahme von zwei Fällen (IX und XI) beinahe konstant sind. *Effront*¹⁾, der die Amylasebildung bei keimenden Getreidekörnern untersuchte, fand, daß sich das Verzuckerungs- und das Verkleisterungsvermögen nicht parallel entwickeln. Das erstere erreicht schneller ein Maximum und nimmt dann ab, während das letztere sich langsamer entwickelt und länger auf einem Maximumwert verweilt. *Chrzaszcz*²⁾, welcher auch das Verhältnis zwischen diesen beiden Stadien in der Stärkespaltung bei Gegenwart von Malzamyase untersuchte, gibt an, daß die stärkeverflüssigende und stärkeverzuckernde Kraft selbständig bestehende und wirkende Enzyme sind, deren Entwicklung voneinander unabhängig ist.

Durch Behandlung und Extraktion des Diastasepräparats mit verschiedenen Reagenzien erhielten *Chrzaszcz* und *Terlikowski*³⁾ nämlich ganz ungleiche Verhältnisse in bezug auf das Verkleisterungs-, Dextrinierungs- und Verzuckerungsvermögen. Diese verschiedenen Kräfte variieren auch untereinander sehr in ihrem Verhalten gegenüber den einzelnen Getreidearten⁴⁾. Ob das Verhältnis konstant für jede Art war, darüber sagt er nichts. Auf Grund seiner Beobachtungen meint er aber, daß man die Werte von allen drei obengenannten Reaktionen bestimmen muß, um einen richtigen Begriff von der Wirkung

1) *Effront*, C. r. 141, 626, 1905.

2) *Chrzaszcz* und *Joscht*, diese Zeitschr. 80, 211, 1917.

3) *Chrzaszcz* und *Terlikowski*, Wochenschr. f. Brauw. 29, 636, 1912.

4) *Chrzaszcz*, ebendasselbst 30, 538, 1913.

der stärke-spaltenden Enzyme zu erhalten. Das dextrinierende Enzym ist jedoch in hohem Grade von den stärke-lösenden und verzuckernden Enzymen abhängig.

3. Methodik.

Will man das Spaltungsvermögen der Amylase näher untersuchen, so ist es also wünschenswert, sowohl dem Verlauf der Verkleisterung wie dem der Verzuckerung folgen zu können. Die einzige Methode, mit welcher man den Verlauf der erstgenannten Reaktion messen kann, ist die, welche sich auf die Bestimmung der Viskositätsveränderung der Stärkelösung gründet. Eine solche Methode stößt jedoch auf große praktische Schwierigkeiten, vor allem stellt sie große Ansprüche an die Beschaffenheit des Substrates und eignet sich schon aus diesem Grunde nicht. Um das erste Stadium der Stärkespaltung zu untersuchen, kann jedoch die Jodmethode angewendet werden. Das Prinzip derselben ist, festzustellen, wann das Substrat unter den eingehaltenen Bedingungen verbraucht ist. Aber selbst wenn das Verschwinden der blauen Farbe ein hinreichend scharfes Anzeichen dafür ist, daß das gesamte Stärkesubstrat gespalten worden ist, so gestattet die Methode doch nur, einen „limes“-Wert zu ermitteln, während der Verlauf der Reaktion bis zum Eintritt dieses Wertes ungemessen bleiben muß. Da der erhaltene „limes“-Wert innerhalb gewisser Grenzen aber proportional der Enzymwirkung ist, kann er als ein Maßstab für dieselbe angesehen werden.

Für die Bestimmung des Verzuckerungsvermögens wird dieselbe Methode, wie im vorhergehenden Teil dieser Arbeit beschrieben, benutzt. Die Konzentrationen waren jedoch andere. Folgende Mengen sind stets angewendet worden:

2proz. Stärkelösung	25	ccm
Enzymlösung	0,5 bis 2	,,
4proz. Phosphatlösung	10	,,
mit destilliertem Wasser verdünnt zu . . .	50	ccm

Hiervon wurden für jede Zuckerbestimmung 10 ccm entnommen und zu 10 ccm Sodalösung gegeben.

Auch bei diesen gereinigten Enzymlösungen kann man damit rechnen, daß die Spaltung monomolekular verläuft. Dies gilt jedoch nur so lange, bis 75% der theoretischen Maltosemenge gebildet worden ist. Dies stimmt also überein mit den Resultaten, die mit Malzamyase erhalten worden sind. Die Verkleisterung der Stärke geht jedoch während der ganzen Zeit mit derselben Geschwindigkeit vor sich, und es ist nur die Maltosebildung, welche abnimmt, ehe die Reaktion zu Ende ist. Eine meßbare Menge Glykose kann während der Zeit, in der die Reaktion beobachtet und bestimmt wurde, nicht gebildet werden. Dies geht aus folgenden Versuchen hervor.

0,5 g Maltose wurden in 50 ccm Flüssigkeit, enthaltend Phosphat gewöhnlicher Konzentration ($p_H = 5,2$), aufgelöst und 1 ccm Enzymlösung, $k = 0,209$, zugesetzt. Die Reaktion wurde wie gewöhnlich bei 40^0 ausgeführt und die Bildung der Glykose durch Bestimmung des Reduktionsvermögens verfolgt. Folgende Resultate ergaben sich:

Tabelle II.

Stunden	K Mn O ₄ ccm	Maltose mg
0	9,8	95,7
19	11,3	111,0
43	12,0	112,0

In 43 Stunden ist das Reduktionsvermögen ganz unbedeutend verändert worden, die Bildung von Maltose wurde aber nur während 3 Stunden beobachtet.

Um das Verschwinden der Stärkereaktion zu bestimmen, wurde die von Wohlgemuth¹⁾ ausgearbeitete Methode, jedoch etwas modifiziert, angewendet. Da man, wenn man nicht eine große Anzahl Röhren zu der Bestimmung anwenden will, mit dieser Methode keine besondere Genauigkeit erreicht, habe ich durch Beobachtung der Farbentöne die zwischenliegenden Werte abgeschätzt. Da jedoch für eine solche Abschätzung eine Bestimmung nicht ausreichend ist, sind Proben nach verschiedenen langen Zeiten entnommen und die Farben nach Jodzusatz beobachtet worden.

Nachstehend wird die Ausführung der Bestimmung näher beschrieben. Fünf Reagenzgläser wurden laut untenstehender Tabelle beschickt.

Tabelle III.

Nummer	1	2	3	4	5
ccm 2 proz. Stärkelösung	2	4	6	8	10
„ Enzymlösung	1	1	1	1	1
„ 4 proz. Phosphatlösung	3	3	3	3	3
„ destillierten Wassers	14	12	10	8	6
Summa Volumen	20	20	20	20	20

Die Reagenzgläser wurden in einem Wasserthermostat (40^0) versenkt und nach bestimmten Zwischenräumen jedem 5 ccm entnommen, welche man in 2 ccm verdünnte Salzsäure fließen ließ. Jeder Röhre wurde die gleiche Menge verdünnte Jodlösung tropfenweise zugesetzt und die Farbe beobachtet. Wohlgemuth schreibt vor, daß als „limes“ die erste Probe, welche keine blaue Nüance hat, genommen wird, also die, welche rot oder gelb ist. Der Unterschied in der Stärkemenge

¹⁾ Wohlgemuth, diese Zeitschr. 9, 1, 1909.

zwischen zwei aufeinander folgenden Röhren beträgt in meinen Versuchen stets 2 ccm 2 proz. Lösung. Wenn die Anzahl Kubikzentimeter in zwei solchen Röhren mit *A* und *B* bezeichnet wird, geschieht die Abschätzung auf die in Tabelle IV veranschaulichte Weise, wo die einzelnen Möglichkeiten zu den Farbenübergängen skizziert sind. Nach *Wohlgemuth* ist „limes“ in allen Farbenübergängen durch den Wert auf *A* bestimmt. In der letzten Kolumne sind die Werte angegeben, die ich in den einzelnen Fällen auf „limes“ erteilt habe.

Tabelle IV.

A - 2	A	B	B + 2	ccm in „limes“
gelb	gelb	blau	blau	A + 0,5
"	"	blauviolett	"	A + 1,0
"	"	violett	"	A + 1,5
"	"	rotviolett	"	B
"	rot	blau	"	A
"	"	blauviolett	"	A + 0,5
"	"	violett	"	A + 1,0
"	"	rotviolett	"	A + 1,5

Wird der auf „limes“ erhaltene Wert mit der Anzahl Minuten, während welcher die Reaktion vor sich ging, dividiert, so erhält man fast konstante Werte. Diese sind mit *d* bezeichnet. Nachstehend ein Beispiel.

Tabelle V.

Minuten	2 ccm	4	6	8	10	ccm in „limes“	<i>d</i>
15	gelb	violett	blau	blau	blau	3,5	0,23
20	"	rot	blauviolett	"	"	4,5	0,23
30	"	gelb	rot	violett	"	7,0	0,23
40	"	"	gelb	rot	violett	9,0	0,23

Die Übereinstimmung ist jedoch nicht immer ganz so gut wie in diesem Falle, da aber drei bis vier Proben genommen worden sind, kann der Durchschnittswert als vollständig zufriedenstellend angesehen werden. *d* gibt also die Anzahl Kubikzentimeter 2 proz. Stärkelösung an, die innerhalb einer Minute von 1 ccm Enzymlösung gespalten wird. Eine Berechnung per Trockengewicht ist nicht gemacht worden, da es sich nur um relative Werte handelte und die Berechnung stets auf 1 ccm Enzymlösung ausgeführt wurde.

4. Das Verzuckerungsvermögen.

a) Der Einfluß der Azidität.

Es galt zuerst zu untersuchen, inwiefern sich das Enzym in gereinigtem Zustande zu den Wasserstoffionenkonzentrationen genau so verhält wie in Gegenwart der Pflanzenteile. Es wäre sehr wohl denk-

bar, daß das reine Enzym empfindlicher gegen die Azidität bzw. Alkalität der Lösung ist. Nachstehende Tabelle VI und die Kurve (Abb. 1) zeigen jedoch, daß dies nicht der Fall ist. Die beiden Kurven fallen in allen Teilen zusammen; sowohl das Optimum wie die Neigung der

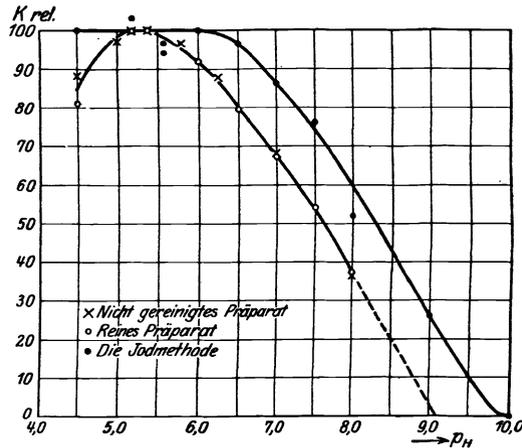


Abb. 1.

Kurve sind in beiden Fällen gleich. Die Wasserstoffionenkonzentration bei Optimum ist also auch hier ungefähr $p_H = 5,2$ und stimmt mit dem mit Malzamylase erhaltenen Werte überein. Die Werte der Reaktionskonstante bei $p_H = 5,2$ sind im folgenden = 100 gesetzt.

Tabelle VI.

Beilagen Nr.	p_H	k	k relativ
92	4,5	0,30	81,0
93	5,2	0,37	100
94	5,4	0,37	100
95	6,0	0,34	92,0
96	6,5	0,29	78,5
97	7,0	0,25	67,5
98	7,5	0,20	54,0
99	8,0	0,14	37,8

b) Bestimmung der Temperaturkoeffizienten.

Die Enzymreaktionen sind im allgemeinen von der Temperatur abhängig, bei welcher sie ausgeführt werden. Für Malzamylase ist 37 bis 40° als die Temperatur angegeben worden, bei der das Enzym das größte Spaltungsvermögen hat. Bei meinen früheren Untersuchungen mit Pflanzenpräparaten ist die Hydrolyse der Stärke stets bei 40° ausgeführt worden, ohne näher zu untersuchen, ob diese Tempe-

ratur die zweckentsprechendste oder wie groß der Temperaturkoeffizient ist. Dies ist darum bei dem reinen Präparat untersucht worden.

Laut einer von *Arrhenius* aufgestellten Formel kann die Reaktionskonstante k_2 bei Temperaturen T_2 aus der Reaktionskonstante k_1 berechnet werden, bei der Temperatur T_1

$$k_2 = k_1 e^{\frac{A(T_2 - T_1)}{R \cdot T_1 T_2}}$$

Hier bedeutet A eine Konstante, R die Gaskonstante, die hier gleich 2 gesetzt werden kann, und T die Temperatur in absolutem Maß.

Aus dieser Gleichung erhält man:

$$A = \frac{\log\left(\frac{k_2}{k_1}\right) \cdot T_1 \cdot T_2 \cdot 2}{M(T_2 - T_1)}$$

$M = \log e = 0,4343\dots$

Dadurch, daß man die Reaktionskonstante bei zwei verschiedenen Temperaturen bestimmt, kann man also A berechnen. Nach Untersuchungen von *Ernström*¹⁾ auf Malzamyase war der Wert für dieses Enzym nicht konstant, sondern der Wert des Verhältnisses $\frac{k_2}{k_1}$ sinkt mit steigender Temperatur, und folglich sinkt auch A . Zu demselben Resultat kamen *Lüers* und *Wasmund*²⁾. In Tabelle VII sind die von diesen Verfassern erhaltenen Werte von A angegeben worden.

Tabelle VII.

Temperaturzone	Ernström	Lüers und Wasmund
0 — 10	17 900	—
10 — 20	12 800	—
20 — 30	12 100	12 126
30 — 40	8 200	9 669
40 — 50	—	7 326

Bei meinen Untersuchungen von 0,5 bis 47° fand ich, wie Tabelle VIIIa und b zeigen, daß der Wert von A auch hier mit steigender Temperatur sinkt. Der absolute Wert ist jedoch bedeutend kleiner als für Malzamyase. Es ist ferner aus den erhaltenen Werten ersichtlich, daß das Reaktionsvermögen noch bei 0° recht groß ist und daß die Reaktionsgeschwindigkeit ein Maximum bei ungefähr 40° erreicht und dann wieder sinkt.

¹⁾ *Ernström*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 119, 190, 1922.

²⁾ *Lüers* und *Wasmund*, Fermentf. 5, 169, 1922.

Tabelle VIII a.

Beilagen Nr.	Temperatur	k relativ
40, a	0,5 ⁰	12,2
1	17,5	36,1
2	30,0	70,5
3	40,0	100
4	47,0	93,5

Tabelle VIII b.

Bei agen Nr.	Temperatur- zone	$\frac{k_1}{k_2}$	A
40, a, 1	0 — 20 ⁰	3,0	10 200
1 — 2	20 — 30	2,0	9 400
2 — 3	30 — 40	1,4	6 700

c) Die Abhängigkeit der Temperaturempfindlichkeit von der Azidität.

Euler und *Laurin*¹⁾ haben die Temperaturempfindlichkeit der Saccharase und ihre Abhängigkeit von der Azidität der Reaktionsmischung untersucht. Das Enzym wurde während einer bestimmten Zeit bei verschiedenen Temperaturen in Gegenwart von Phosphatlösung einer bestimmten Wasserstoffionenkonzentration erhitzt. Nach

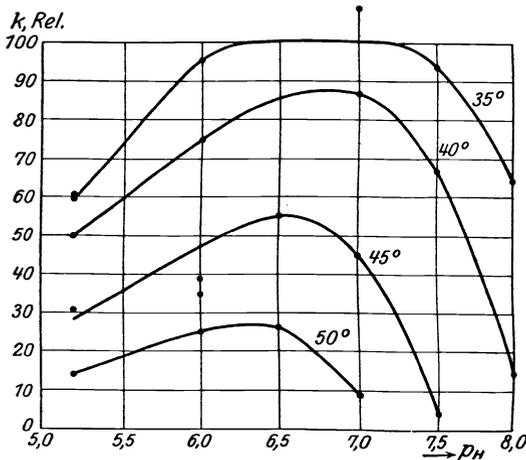


Abb. 2.

der Erhitzung wurde die Inversion auf gewöhnliche Weise ausgeführt. Als „Tötungstemperatur“ geben sie diejenige Temperatur an, bei welcher das Enzym 60 Minuten bei optimalem p_H erhitzt werden muß, um die Reaktion auf die Hälfte zu vermindern. *Ernström* hat diese Methode auf Malz-amylase angewendet. Er hat die Bestimmungen bei 50 und 55⁰ und einer Stunde Erhitzung ausgeführt und erhielt ein Stabilitätsmaximum bei $p_H = 6$, also nicht bei demselben p_H , wo die Wirkung ohne Erhitzung am größten ist. Wenn die sogenannte p_H -Kurve die Dissoziationsrestkurve für einen amphoteren Elektrolyt oder eine Säure bedeuten sollte, so wäre dies gleichbedeutend damit, daß durch Erhitzung des Enzyms seine Dissoziationskonstante verändert oder eine neue Verbindung gebildet wird.

Meine Versuche mit Bohnenamylase wurden auf folgende Weise ausgeführt. 1 bis 2 ccm Enzymlösung + 10 ccm 4proz. Phosphat-

¹⁾ *Euler* und *Laurin*, Zeitschr. f. physiol. Chem. 108, 64, 1919.

lösung bekannter Wasserstoffionenkonzentration wurden in geschlossener Röhre durch Einführung in den Wasserthermostat eine bestimmte Zeit erhitzt, nach Beendigung der Erhitzung unmittelbar auf 40° abgekühlt, worauf zu der Mischung 25 ccm 2proz. Stärkelösung und so viel Wasser, alles mit 40° Temperatur, zugesetzt wurde, daß das Volumen 50 ccm betrug, und die Reaktion darauf wie gewöhnlich ausgeführt. Die relativen Werte, die für die Reaktionskonstanten in Tabelle IX angegeben sind, wurden dadurch erhalten, daß die Reaktionskonstanten nach der Erhitzung mit den Konstanten bei gleichem p_H ohne Erhitzung dividiert wurden.

In den verschiedenen Versuchsserien sind die letztgenannten Werte nur für einen p_H -Wert bestimmt und die anderen aus der p_H -Kurve berechnet. Die Versuchsergebnisse sind in Tabelle IX und Abb. 2 angegeben. In diesen Versuchsserien betrug die Zeit der Erhitzung stets 60 Minuten.

Tabelle IX.

Beilagen N°.	p_H	Enzym-lösung	18°	35°	40°	45°	50°	5.0	60°
6—13	5,2	I	109	$\left. \begin{matrix} 59,0 \\ 60,0 \end{matrix} \right\}$	49,5	30,9	14,1	1,27	0
14—18	6,0	I	—	95,5	75,0	34,5	25,0	1,50	—
25	6,0	II	—	—	—	39,0	—	—	—
19	6,5	I	—	—	—	55,6	—	—	—
26	6,5	II	—	—	—	—	26,5	—	—
33	6,5	III	—	—	—	—	—	1,98	—
20—21	7,0	I	—	—	87,0	45,5	—	—	—
27—28	7,0	II	—	109	—	—	9,35	—	—
22—23	7,5	I	—	—	67,0	4,55	—	—	—
29	7,5	II	—	94,0	—	—	—	—	—
40, 34	8,0	III	—	64,1	15,0	—	—	—	—

Vollständige Kurven sind bei 35, 40, 45 und 50° konstruiert worden. Die Resultate zeigen, daß die Stabilität am größten bei $p_H = 6$ bis 7 ist, also auch hier eine Verschiebung nach der alkalischen Seite zu im Verhältnis zu dem p_H , bei welchem die Reaktion ein Maximum ohne Erhitzung erreicht. Ferner zeigen die erhaltenen Werte, daß dieses Enzym bedeutend empfindlicher gegen den Einfluß der Temperatur als Malzamyase ist. Bei Erhitzung auf 55 bis 60° wird das Enzym beinahe vollständig zerstört. Bereits bei 40° wird es deutlich bei allen Aziditäten geschwächt. Besonders empfindlich ist das Enzym gegen alkalische Reaktion.

In den Abb. 3 bis 6 sind die relativen Werte der Konstanten, die bei gleichem p_H , aber verschiedenen Temperaturen erhalten wurden, eingezeichnet. Aus diesen Abbildungen ist ersichtlich, daß die Inaktivierung bei steigender Temperatur sehr schnell und im großen und

ganzen linear vor sich geht. Bereits bei $p_H = 5,2$, wo die Reaktionskonstante ohne Erhitzung ein Maximum erreicht, ist die Temperaturempfindlichkeit besonders groß, wenn auch die Inaktivierung nicht

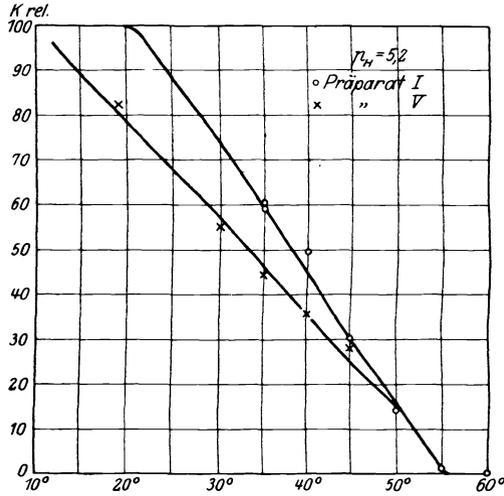


Abb. 3.

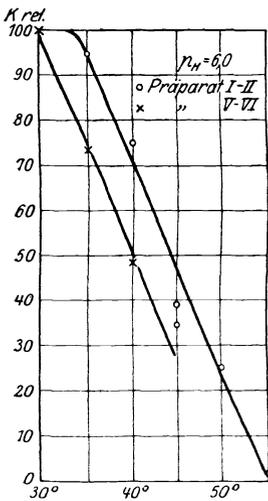


Abb. 4.

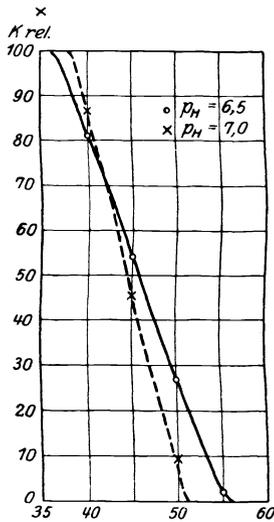


Abb. 5.

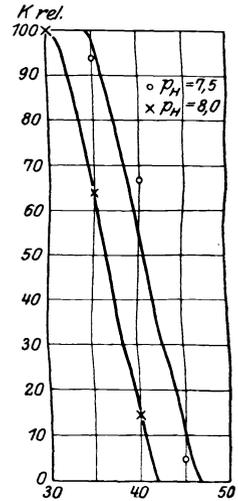


Abb. 6.

so schnell geschieht, wie bei den übrigen untersuchten Wasserstoffionenkonzentrationen. Laut *Ernströms* Untersuchungen auf Malz-amylase besteht bei diesem Enzym keine direkte Proportionalität

zwischen der Inaktivierung und der Temperatur. Die Inaktivierung geht zuerst langsam vor sich, wird aber bei steigender Temperatur erhöht.

Die oben beschriebenen Versuche wurden teilweise mit anderen Präparaten wiederholt, hierbei wurden aber etwas abweichende Werte erhalten (Tabelle X, Abb. 3 bis 4).

Tabelle X.

Beilagen Nr.	p_H	Enzym-lösung	19°	30°	35°	40°	45°
47—51	5,2	V	81,6	56,2	44,5	35,9	29,6
61	5,2	V	—	55,8	—	—	—
59	6,0	V	—	—	—	48,5	—
65, 72	6,0	VI	—	100	73,4	—	—
45	6,5	V	—	—	—	82,5	—
73	8,0	VI	—	100	—	—	—

Diese letzteren Lösungen erwiesen sich als noch empfindlicher gegen den Einfluß der Temperatur, so daß die Kurven in den Abbildungen etwas nach links verschoben werden. Die Konzentration und der Reinheitsgrad der verschiedenen Präparate variierte etwas, wie aus der Tabelle I ersichtlich. Es wurde jedoch von den schwächeren Lösungen, wie aus den Angaben in den Beilagen hervorgeht, 2 ccm und von den stärkeren 1 ccm genommen, so daß die Reaktionskonstanten bei $p_H = 5,2$ im allgemeinen der gleichen Größenordnung, ungefähr 0,2, waren. Was die Malzamylyase anbetrifft, so hat *Ernström* den großen Einfluß nachgewiesen, den die Enzymkonzentration während der Erhitzung auf die Inaktivierung ausübt.

Tabelle XI.

Beilagen Nr.	p_H	5 ccm Phosphatlösung	10 ccm Phosphatlösung	10 ccm 10 ccm Phosphatlösung	
				10 ccm 15 ccm Wasser	10 ccm
90—91	5,2	—	0,105	—	0,102
87—89	6,0	0,038	0,033	0,039	—

Es sind darum auch einige Versuche ausgeführt worden, um dieses Verhältnis mit Bohnenamylyase zu untersuchen. Das Enzym wurde 60 Minuten lang bei 40° in verschiedenen Konzentrationen erhitzt. Die Resultate sind in Tabelle XI angegeben. 1 ccm Enzym ist während der Erhitzung mit 5 bis 25 ccm Phosphatlösung verdünnt worden. Innerhalb dieser Grenzen kann kein Einfluß bemerkt werden, sondern der Wert der Reaktionskonstanten bleibt sich gleich. Die Bestimmungen sind für zwei verschiedene p_H ausgeführt, und die Werte auf die Kon-

stanten variierten in den beiden Versuchen. Es kann folglich nicht die Enzymkonzentration sein, welche die obengenannten verschiedenen Werte der Inaktivierung verursacht.

Besonders bemerkenswert ist die große Schutzwirkung der Stärke auf das Enzym. Diese ist für Malzamyrase von *Wohl* und *Glimm*¹⁾ untersucht worden. Die Spaltung der Stärke ist in meinen Versuchen stets bei 40° ausgeführt worden. Bei Abwesenheit der Stärke vermindert sich jedoch bei dieser Temperatur und bei allen Wasserstoffionenkonzentrationen die Amylasewirkung bedeutend. Man könnte aus diesem Grunde auch annehmen, daß das Phosphat, welches bei der Erhitzung in recht starker Konzentration vorhanden ist, zu der Inaktivierung beitragen könnte. Aus diesem Grunde sind Versuche mit schwächeren Phosphatkonzentrationen ausgeführt worden. In verschiedenen Proben wurden folgende Mengen 4proz. Phosphatlösung verwendet:

	I	II	III	IV
Phosphat	10 ccm	5 ccm	2,5 ccm	1 ccm
H ₂ O	—	5 ccm	7,5 ccm	9 ccm

Erhitzung während 60 Minuten bei 40°; nach Beendigung derselben wurde zu den einzelnen Proben so viel Phosphatlösung zugesetzt, daß die Menge in jeder Probe 10 ccm betrug, und darauf die Bestimmung der Amylasewirkung auf gewöhnliche Weise ausgeführt. Das in Tabelle XI angegebene Resultat zeigt, daß Phosphat keinen Einfluß auf die Amylasewirkung ausübt.

Tabelle XII.

Beilagen Nr.	p_H	k			
		I	II	III	IV
42—43	5,2	0,064	0,064	—	—
80, 83—85	6,5	0,12	0,12	0,13	0,12

Es wurde ferner folgender Versuch ausgeführt:

Das Enzym wurde mit 10 ccm Wasser ohne Phosphatzusatz erhitzt und erst nach der Erhitzung 10 ccm Phosphat — $p_H = 5,2$ — zugesetzt. Der Wert der Reaktionskonstante war 0,201 (Beilage 86); ohne vorhergehende Erhitzung wurde bei $p_H = 5,2$ der Wert 0,228 erhalten. Der relative Wert der Reaktionskonstante nach der Erhitzung ist 88,1. Die Wasserstoffionenkonzentration der verdünnten Enzymlösung wurde mit Indikatoren bestimmt und als vollkommen neutral befunden, nämlich $p_H = 7,0$. Dibromsulphophthalein, dessen Umschlagpunkt zwischen $p_H = 6,8$ bis 7,6 liegt, zeigte z. B. eine grüne Farbe. Betrachtet man Abb. 2 daraufhin, eine wie große Inaktivierung bei $p_H = 7,0$ und 40° eintritt, so erhält man den Wert 87,0, welcher

¹⁾ *Wohl* und *Glimm*, diese Zeitschr. 27, 365, 1910.

mit dem in diesem Versuch erhaltenen gut übereinstimmt. Dies bildet also eine weitere Stütze für die Annahme, daß Phosphat irgendwelchen Einfluß nicht ausübt. Die verschiedenen Werte auf die Inaktivierung dürften also einer Verunreinigung zuzuschreiben sein, die in sehr kleinen Mengen vorkommt.

Wenn man die Werte der „Tötungstemperatur“ in der von *Euler* vorgeschlagenen Weise bei 60 Minuten Erhitzung und optimalem p_H berechnet, so erhält man rund 45° . Als optimaler p_H ist da 6,5 angenommen, d. h. der Wert, welcher nach der Erhitzung Optimum ist.

d) Der zeitliche Verlauf der Inaktivierung.

Für einige Enzyme gilt, daß die Inaktivierung durch die Erhitzung monomolekular verläuft. Wenn E die ursprüngliche Konzentration des wirksamen Enzyms und y die während der Zeit t zerstörte Enzymmenge bezeichnet, so erhält man in diesem Falle

$$\frac{dy}{dx} = k_c (E - y),$$

welche Gleichung durch Integration

$$k_c = \frac{1}{t} \ln \frac{E}{E - y}$$

ergibt.

Nimmt man weiter an, daß die Geschwindigkeit der durch das Enzym katalysierten Reaktion proportional der Konzentration des wirksamen Enzymteiles ist, so ist E bestimmt durch die Reaktionskonstante k und man erhält

$$k_c = \frac{1}{t} \ln \frac{k_a}{k_t},$$

wo k_t = die Reaktionskonstante nach der Erhitzung während der Zeit t und k_a ohne vorhergehende Erhitzung ist. k_c bezeichnet den Inaktivierungskoeffizienten. Was Saccharase anbetrifft, so haben *Euler* und *Laurin*¹⁾ gefunden, daß die Inaktivierung bei steigender Erhitzungszeit langsamer als nach dieser Formel vor sich geht, d. h., daß der Wert auf k_c sinkt. Daß dies auch der Fall mit Malz- und Speichelamylase ist, haben *Ernströms* Untersuchungen bewiesen.

Was die Bohnenamylase anbetrifft, so stellen sich diese Verhältnisse etwas anders, wie aus den Tabellen XIII bis XV und Abb. 7 hervorgeht. Bei der nach der Erhitzung optimalen Wasserstoffionenkonzentration $p_H = 6,5$ sinkt die Inaktivierungskonstante bei verlängerter Erhitzung nach und nach wie in den vorhererwähnten Untersuchungen. Begibt man sich dagegen in etwas saurere Gebiete wie $p_H = 5,2$ bis $6,0$, so geschieht die Inaktivierung im Anfang sehr rasch.

¹⁾ *Euler* und *Laurin*, l. c.

Nach 20 bis 30 Minuten ist das Enzym bis auf einen bestimmten Wert inaktiviert, welcher jedoch nachher auch während einer längeren Erhitzung konstant bleibt. Dieser konstante Wert ist für jede Wasserstoffionenkonzentration verschieden.

Die im vorhergehenden erwähnten Untersuchungen an Saccharase, Malz- und Speichelamylase sind nur bei optimalem p_H ausgeführt.

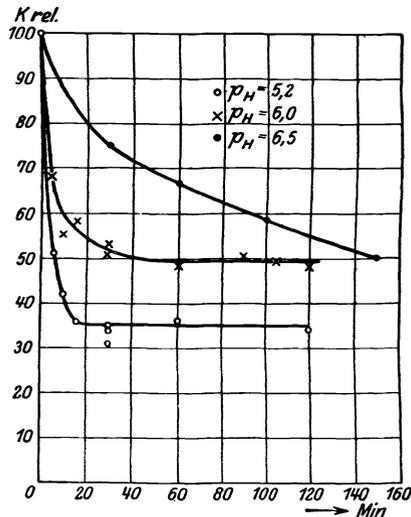


Abb. 7.

Es erübrigt also, zu bestimmen, inwiefern die Verhältnisse für diese Enzyme bei anderen Wasserstoffionenkonzentrationen denjenigen der Bohnenamylase gleichen. Die beiden von *Ernström* ausgeführten Versuchsreihen zwecks Bestimmung des k_e -Wertes für Malzamylase zeigen auch den großen Einfluß, den die Konzentration auf das Enzym hat.

Tabelle XIII.

 $p_H = 5,2.$

Beilagen Nr.	Minuten	k_d	k_t	$100 \frac{k_t}{k_a} = k \text{ rel.}$
—	0	—	—	100
46, 52	5	0,29	0,148	51,0
46, 53	10	0,29	0,121	41,7
35, 36	15	0,23	0,082	35,6
35, 37	30	0,23	0,071	30,8
35, 38	30	0,23	0,078	34,0
30, 31	30	0,103	0,036	35,0
46, 50	60	0,29	0,104	35,9
35, 39	120	0,23	0,079	34,3

Tabelle XIV.

$p_H = 6,0.$

Beilagen Nr.	Minuten	k_a	k_t	k rel.
—	0	—	—	100
55, 56	5	0,260	0,178	68,5
55, 57	10	0,260	0,144	55,4
54	15	0,263	0,151	58,0
32	30	0,094	0,050	53,2
55, 58	30	0,260	0,133	51,1
55, 59	60	0,260	0,126	48,5
66	90	0,190	0,096	50,5
67	105	0,190	0,094	49,5
55, 60	120	0,260	0,125	48,0

Tabelle XV.

$p_H = 6,5.$

Beilagen Nr.	Minuten	k	k rel.	$k_c \cdot 10^4$
78	0	0,172	100	—
79	30	0,129	75,0	41
80	60	0,115	66,9	29
81	100	0,101	58,7	23
82	150	0,085	49,5	20

e) Die Abhängigkeit des Inaktivierungskoeffizienten von der Temperatur.

Wie aus der vorhergehend erwähnten Formel $k_c = \frac{1}{t} \log \frac{k_a}{k^t}$ ersichtlich, ist der Inaktivierungskoeffizient in hohem Maße von der Temperatur abhängig. Steigende Temperatur veranlaßt ein sehr

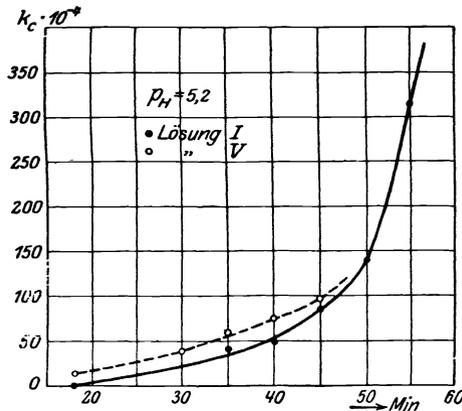


Abb. 8.

rasches Ansteigen, und bei der Temperatur, wo das Enzym vollständig zerstört ist, wird er unendlich groß. Solche Bestimmungen finden sich auch in den vorher angegebenen Arbeiten.

In Tabelle XVI sind die mit Bohnenamylase erhaltenen Werte zusammengestellt. In den Abb. 8 bis 10 sind die Werte der Inaktivierungskoeffizienten als Funktionen der Temperaturen eingezeichnet.

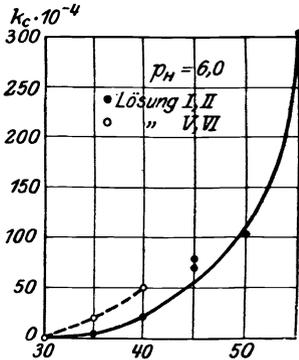


Abb. 9.

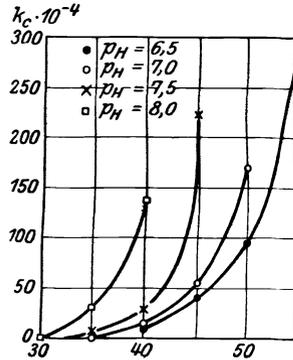


Abb. 10.

Bei über 50° steigt der Wert des Koeffizienten besonders rasch. Je größere alkalische Reaktion die Lösung hat, desto schneller steigt der Wert mit der Temperatur. Hier sind auch die etwas abweichenden Werte zu beachten, die mit den verschiedenen Präparaten erhalten wurden.

Tabelle XVI.

Beilagen Nr.	p _H	18—19°	30°	35°	40°	45°	50°	55°	60°	Enzym-lösung
6—13	5,2	0	—	0,0037	0,0051	0,0085	0,0142	0,0316	∞	I
	5,2	—	—	0,0038	—	—	—	—	—	
47—51	5,2	0,0014	0,0042	0,0059	0,0075	0,0088	—	—	—	V
61	5,2	—	0,0043	—	—	—	—	—	—	
14—18	6,0	—	—	0,0003	0,0021	0,0077	0,0103	0,0304	—	I
25	6,0	—	—	—	—	0,0068	—	—	—	II
65, 72, 59	6,0	—	0	0,0022	0,0052	—	—	—	—	V, VI
45, 19, 26, 33	6,5	—	—	—	0,0014	0,0042	0,0096	0,0284	—	V, I, II, III
27, 20, 21, 28	7,0	—	—	0	0,0010	0,0057	0,0171	—	—	I, II
29, 22, 23	7,5	—	—	0,0005	0,0029	0,0224	—	—	—	II, I
73, 40, 34	8,0	—	0	0,0031	0,0137	—	—	—	—	VI, III

f) Die Temperaturkoeffizienten der Inaktivierungskonstanten.

Euler und *Laurin* haben für Saccharase die *Arrheniussche* Konstante *A* der Inaktivierung, also die Temperaturkonstante des Koeffizienten *k*, für verschiedene p_H berechnet. Sie fanden die Werte zwischen

50000 und 111000 liegend. Temperaturkoeffizienten dieser Größe sind bei chemischen Reaktionen sehr selten. Die bestimmten A -Werte liegen im allgemeinen zwischen 10000 und 30000, diejenigen der enzymatischen Reaktionen zwischen 5000 und 20000. Sie haben weiter gefunden, daß die Temperaturkoeffizienten der Saccharaseinaktivierung bei der Azidität von $p_H = 4$ bis 5 ein ausgeprägtes Maximum der Stabilität aufweist. Dieses Maximum fällt fast vollkommen mit dem Aziditätsmaximum der Stabilität der Saccharase zusammen.

Tabelle XVII.

p_H	35 — 40°	40 — 45°	45 — 50°	50 — 55°
5,2	11 200	20 300	21 000	33 900
6,0	—	—	—	46 000
6,5	—	43 800	34 000	46 100
7,0	—	69 500	45 200	—
7,5	67 900	81 500	—	—
8,0	57 500	—	—	—

Berechnet man A aus den Werten von k_c in Tabelle XVI, so erhält man die Resultate, die in Tabelle XVII angegeben sind. Betreffend ihren Ziffernwert sind diese bedeutend kleiner als die, welche man mit Saccharase erhält. Während die Amylase ihre größte Temperaturstabilität bei $p_H = 6,5$ bis 7,0 hat, so erreicht A , also der Temperaturkoeffizient der Inaktivierungskonstante, seine höchsten Werte bei etwas verstärkter alkalischer Reaktion, nämlich bei $p_H = 7,5$, soweit es aus der Tabelle herauszulesen möglich war.

g) Der Einfluß des Kochsalzes.

Bereits sehr früh wurde die Entdeckung gemacht, daß anorganische Salze im höchsten Grade aktivierend auf Ptyalin einwirken. Laut *Michaelis* und *Pechstein*¹⁾ kann das Ptyalin nur bei Anwesenheit von Salzen wirken, mit welchen es Verbindungen eingeht. Besonders wirksam ist NaCl. Malzamyase wird dagegen von diesem Salz nicht

Tabelle XVIII.

 $p_H = 6,5.$

Beilagen Nr.	Na Cl %	k	k
62, 68	0	0,210	0,166
63	0,25	0,209	—
69	0,75	—	0,162
70	1,00	—	0,168

¹⁾ *Michaelis* und *Pechstein*, diese Zeitschr. 58, 77, 1914.

aktiviert. Bei Konzentrationen über 1% wird das Spaltungsvermögen allmählich herabgesetzt. Was Bohnenamylase anbelangt, so übt NaCl hier keinen Einfluß auf das Verzuckerungsvermögen aus. 1proz. NaCl

Tabelle XIX.

Beilagen Nr.	p_H	k ohne Na Cl	k mit 1 % Na Cl
74, 75	5,2	0,103	0,110
76	6,0	0,094	0,091
68, 70	6,5	0,166	0,168
77	7,0	0,068	0,069

hat keine Einwirkung auf den Wert der Reaktionskonstante unabhängig von der Azidität. Dies geht aus den Tabellen XVIII und XIX hervor.

5. Das Verschwinden der Stärkereaktion.

Bei der enzymatischen Spaltung von Stärke verläuft die erste Phase, die Verkleisterung, bedeutend rascher als die Zuckerbildung. Wenn 1 ccm Enzymlösung in einer halben Stunde die Stärke so weit spaltet, daß die Lösung mit Jod eine gelbe oder schwach rötliche Farbe erhält, so dauert es doch zehnmal so lange, ehe die gebildete Zuckermenge 75% der theoretischen Menge erreicht. Wie vorher erwähnt, hört die Zuckerbildung dann beinahe vollständig auf. Wenn man sich denkt, daß die Enzyme, die die Reaktion verursachen, unabhängig voneinander wirken, so sollte wegen der verschiedenen Geschwindigkeiten, mit welchen die Reaktionen verlaufen, eine kleine Änderung des Verkleisterungsvermögens eigentlich keinen Einfluß auf das Verzuckerungsvermögen haben.

Eine direkte Bestimmung der Verkleisterungsgeschwindigkeit ist von mir nicht ausgeführt worden, sondern es wurde nur die Zeit bestimmt, die benötigt wird, bis eine bestimmte Menge Stärke vollständig zu Dextrin oder niedrigem Kohlehydrat gespalten ist. Arbeitet man da bei einem p_H , bei dem z. B. nicht alle Stärke gespalten wird oder die Spaltung sehr langsam verläuft, so wird die obengenannte Methode ergeben, daß keine Reaktion vor sich geht, und man erhält irreführende Resultate. Dies muß bei dem Vergleich der beiden Spaltungsstadien beachtet werden.

Es ist auch zu bemerken, daß die Mengenverhältnisse zwischen Enzym und Stärke etwas verschieden bei der Bestimmung des Verschwindens der Stärkereaktion und des Verzuckerungsvermögens gewesen sind. In dem erstgenannten Falle kommt auf 0,04 bis 0,2 g Stärke 0,5 bis 1 ccm Enzym, im letzteren 0,5 bis 2 ccm Enzym auf 0,5 g Stärke.

a) Der Einfluß der Azidität.

Auch hier galt es zuerst zu bestimmen, innerhalb welcher Aziditätsgrenzen die Reaktion vor sich gehen kann. Die Resultate, die aus Tabelle XX ersichtlich sind, zeigen, daß das Optimum für die Reaktion bedeutend breiter als bei der Verzuckerung ist, aber in demselben Gebiet im Verhältnis zur Wasserstoffionenkonzentration liegt. Die Kurven für die beiden Reaktionen (Abb. 1) haben vollständig dieselbe Form im p_H -Diagramm, doch geht die mit der Jodmethode erhaltene außerhalb der, welche für die Verzuckerung gilt. Die erstgenannte Reaktion erreicht Null erst bei $p_H = 10$. Die Verschiebung nach der alkalischen Seite zu entspricht einer Toleranz von beinahe zehnmal so großer Hydroxyionenkonzentration.

Tabelle XX.

Beilagen Nr.	p_H	d	d rel.	d	d rel.
104	4,5	—	—	0,29	100
100	5,2	0,35	103	—	—
101, 105	5,6	0,32	94,0	0,28	96,5
102	6,0	0,34	100	—	—
103	6,5	0,33	97,0	—	—
106	7,0	—	—	0,25	86,2
107	7,5	—	—	0,22	76,0
108	8,0	—	—	0,15	51,7
109	9,0	—	—	0,075	25,8
110	10,0	—	—	0	0

Bei der Berechnung der Werte in folgenden Versuchen sind auch hier gleichwie bei der Verzuckerung die Konstanten für die verschiedenen p_H aus dieser Kurve berechnet und in jeder Versuchsserie nur die Konstante für einen p_H -Wert experimentell bestimmt.

b) Bestimmung der Temperaturkoeffizienten.

Die Geschwindigkeit, mit welcher die Stärke verschwindet, ist bei drei verschiedenen Temperaturen untersucht worden (Tab. XXI u. XXII). Berechnet man hieraus Arrhenius' Konstante A , so erhält man im großen und ganzen dieselben Werte für das Temperaturgebiet 20 bis 40°, nämlich 9500. Dieser Wert stimmt überein mit dem bei der Verzuckerung erhaltenen bei 20 bis 30°. Eine Erhöhung der Temperatur innerhalb dieser Grenzen um 10° macht den Wert auf die Konstante 1,65 mal größer.

Tabelle XXI.

Beilagen Nr.	Temperatur	d rel.
139	20,5°	36,6
140	30,0	61,0
141	40,0	100

Tabelle XXII.

Beilagen Nr.	Temperaturgebiet	$\frac{k_1}{k_2}$	A
139, 140	20—30	1,67	9600
140, 141	30—40	1,64	9400
139, 141	20—40	—	9500

c) Die Abhängigkeit der Temperaturempfindlichkeit von der Azidität.

Die Methodik ist im allgemeinen dieselbe wie vorher beschrieben. 5 ccm Enzym + 15 ccm 4proz. Phosphatlösung wurden zusammen bei der gewünschten Temperatur erhitzt, nach bestimmter Zeit abgekühlt und 4 ccm der obengenannten Mischung in je eine der fünf Reagenzröhren, welche bereits 16 ccm Stärkelösung verschiedener Konzentration enthielten, gegeben (s. S. 304).

Die Resultate sind in Tabelle XXIII und Abb. 11 enthalten. Die Zahlen geben die relativen Konstanten, d. h. das Verhältnis zwischen der Reaktionskonstante nach der Erhitzung und ohne Erhitzung wieder.

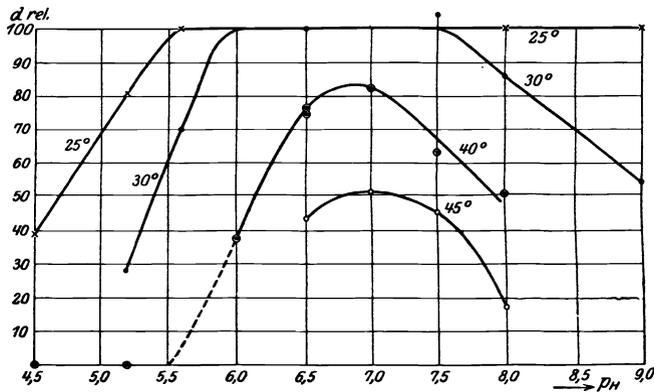


Abb. 11.

Die Erhitzung dauerte 60 Minuten. Auch hier liegt eine deutliche Verschiebung des Stabilitätsmaximums vor. Dieses liegt nach der Erhitzung bei $p_H = 6,5$ bis 7. Die Form der Kurven bei den beiden Reaktionen ist im allgemeinen dieselbe, doch ist zu beachten, daß die abwärtsgehenden Kurventeile auf der sauren Seite hier etwas steiler sind.

Tabelle XXIII.

Beilagen Nr.	p_H	25°	30°	35°	40°	45°	50°
127, 114	4,5	38,7	—	—	0	—	—
126, 112, 113	5,2	80,6	28,0	—	0	—	—
128, 158	5,6	100	70,0	—	—	—	—
148, 115	6,0	—	—	90,5	37,6	—	—
129	6,0	—	—	96,8	—	—	—
116, 117, 130	6,5	—	100	—	75,0	43,4	—
150	6,5	—	—	—	75,5	—	—
118, 131, 119	7,0	—	—	—	81,9	50,0	0
132, 159, 120, 133, 121	7,5	—	104	100	63,1	45,6	0
134, 122, 123, 160	8,0	100	85,6	—	50,6	18,2	—
135, 124	9,0	100	54,0	—	—	—	—

Zeichnet man die Kurven in einem System mit der Temperatur als Abszissen und die relativen Konstanten als Ordinaten (Abb. 12 und 13), so sieht man, daß diese Kurven bei fast allen Wasserstoffionenkonzentrationen dieselbe Neigung haben und sehr steil abfallen. Eine Erhöhung der Temperatur um 10° , gerechnet von der niedrigsten, die einen schädlichen Einfluß hat, zerstört das Enzym vollständig.

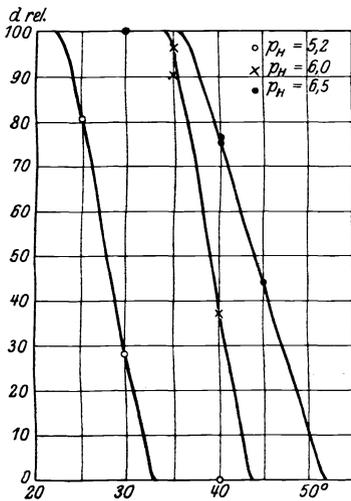


Abb. 12.

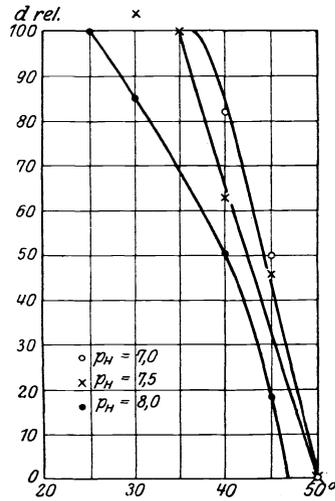


Abb. 13.

Die verschiedene Neigung, die die Kurven hier im Verhältnis zu denen bei der Verzuckerung bei z. B. $p_H = 5,2$ haben, dürfte aus den vorhererwähnten Gründen damit erklärt werden können, daß Zucker noch bei einer Temperatur gebildet wird, wo die Stärkespaltung nicht vollständig ist oder so langsam verläuft, daß sie mit den angewandten Methoden nicht bestimmt werden kann. Wird die „Tötungstemperatur“ für $p_H = 7,0$ berechnet, wo die Enzymwirkung nach der Erhitzung am größten ist, erhält man ungefähr 45° , also dieselbe Temperatur wie bei der Verzuckerung.

Auch hier ist ein Versuch ausgeführt worden, um festzustellen, einen wie großen Einfluß die Konzentrationen während der Erhitzung auf die Inaktivierung ausüben. Auf 1 cem Enzym wurden teils wie gewöhnlich 3 cem Phosphatlösung, teils 3 cem Phosphatlösung und 6 cem Wasser genommen und die Mischung 60 Minuten bei 40° erhitzt. $p_H = 6,5$. In beiden Fällen wurden exakt gleiche Werte auf d , nämlich 0,24 (Beilagen 169 und 170) erhalten. Die Konzentration des Enzyms während der Erhitzung kann also sehr variieren, ohne daß sich der Grad der Inaktivierung verändert.

d) Der zeitliche Verlauf der Inaktivierung.

Versuche betreffend die Geschwindigkeit, mit welcher die Inaktivierung vor sich geht, sind nach der Erhitzung bei 40° bei optimalem p_H -Wert = 6,5 und bei 30° bei $p_H = 5,2$ ausgeführt worden (Tabelle XXIV u. XXV, Abb. 14). Die Kurven erreichen hier innerhalb der Versuchszeit keinen konstanten Wert. Berechnet man den Wert von k nach der Gleichung

$$k_c = \frac{1}{t} \log \frac{k_a}{k_t},$$

so wird dieser recht konstant für $p_H = 6,5$, ausgenommen den ersten Wert. Hier scheint die Inaktivierung also im großen und ganzen monomolekular zu verlaufen. Bei $p_H = 5,2$ ist der Wert von k_c mit Ausnahme des ersten auch ziemlich konstant, wenn auch die Übereinstimmung nicht so gut ist.

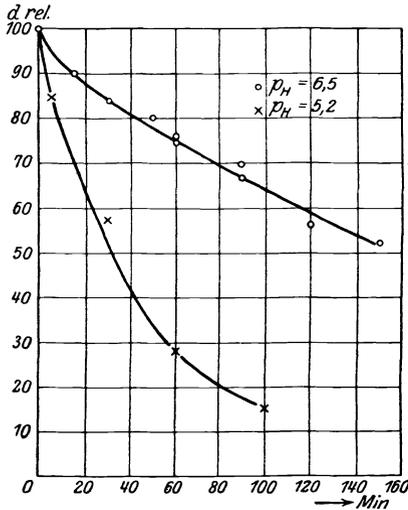


Abb. 14.

Tabelle XXIV.

 $p_H = 6,5.$

Beilagen Nr.	Minuten	k_a	k_t	$\frac{k_t}{k_a} \cdot 100$	$k_c \cdot 10^4$
136, 137	15	0,30	0,27	90,0	30
152, 153	30	0,36	0,30	83,4	21
136, 138	45	0,30	0,24	80,0	25
149, 150	60	0,41	0,31	75,5	20
	117	0,24	0,18	75,0	21
152, 154	90	0,36	0,24	66,6	20
152, 155	90	0,36	0,25	69,5	18
149, 151	120	0,41	0,23	56,1	21
152, 156	150	0,36	0,19	52,7	19

Tabelle XXV.

 $p_H = 5,2.$

Beilagen Nr.	Minuten	k_a	k_t	$\frac{k_t}{k_a} \cdot 100$	$k_c \cdot 10^4$
163, 164	5	0,26	0,22	84,5	144
163, 165	30	0,26	0,15	57,6	79
111, 112	60	0,25	0,070	28,0	92
163, 166	100	0,26	0,041	15,8	80

e) Die Abhängigkeit der Inaktivierungskoeffizienten von der Temperatur.

In Tabelle XXVI sind die Werte, die nach 60 Minuten Erhitzung auf k_c bei verschiedenen Temperaturen und Wasserstoffionenkonzentrationen erhalten wurden, angegeben. Der Wert von k_c steigt besonders rasch mit steigender Temperatur. Der erste Teil der Stärkespaltung ist etwas empfindlicher gegen den Einfluß der Temperatur als das Verzuckerungsvermögen. Bereits bei 50° ist die Enzymwirkung bei allen Wasserstoffionenkonzentrationen vollständig aufgehoben.

Tabelle XXVI.

Beilagen Nr.	p_H	25°	30°	35°	40°	45°	50°
126, 112, 113	5,2	0,0016	0,0092	—	∞	—	—
148, 115	6,0	—	—	0,0007	0,0071	—	—
129	6,0	—	—	0,0002	—	—	—
116, 117, 130	6,5	—	0	—	0,0021	0,0061	—
150	6,5	—	—	—	0,0020	—	—
118, 131, 119	7,0	—	—	—	0,0015	0,0050	∞
132, 159, 120, 133, 121	7,5	—	0	0	0,0033	0,0057	∞
134, 122, 123, 160	8,0	0	0,0011	—	0,0048	0,0123	—

f) Die Temperaturkoeffizienten der Inaktivierungskonstanten.

Wird der Wert von A in der *Arrheniusschen* Temperaturformel für die Inaktivierungskonstante k_c innerhalb der Temperaturgrenze 40 bis 45° bei verschiedenen p_H berechnet, so erhält man die untenstehenden Werte.

Tabelle XXVII.

p_H	A
6,5	44 500
7,0	48 000
8,0	37 600

A ist hier derselben Größenordnung wie bei der Bestimmung des Verzuckerungsvermögens. Die Werte variieren etwas mit den Wasserstoffionenkonzentrationen. Bei $p_H = 7$ erreicht A seinen höchsten Wert.

g) Der Einfluß des Kochsalzes.

Wenn auch NaCl in 1proz. Lösungen keinen Einfluß auf das Verzuckerungsvermögen hat, so konnte doch ein solcher bei der Anwendung der Jodmethode beobachtet werden. Bei $p_H = 5,2$ ist bereits

ein Einfluß von 0,125proz. NaCl deutlich, derselbe steigt dann mit erhöhtem Natriumchloridgehalt (Tabelle XXVIII) und verhält sich hier ebenso wie es der Fall war bei Malzamyrase in inaktivierender Richtung. In Tabelle XXIX sind die Werte, die mit 1proz. NaCl bei verschiedenen Wasserstoffionenkonzentrationen erhalten wurden, angegeben. Dieser Einfluß ist sichtlich etwas abhängig von der Azidität und scheint ein Minimum bei $p_H = 7$ zu haben, demselben p_H , wo das Enzym am stabilsten gegen Erhitzung ist.

Tabelle XXVIII.

 $p_H = 5,2.$

Beilagen Nr.	Na Cl %	k	k, rel.	Beilagen Nr.	Na Cl %	k	k, rel.
142	0	0,42	100	145	0,500	0,34	81,0
143	0,125	0,41	97,6	146	0,750	0,32	76,1
144	0,250	0,39	93,0	147	1,00	0,29	69,0

Tabelle XXIX.

Beilagen Nr.	p_H	k ohne Na Cl	k 1 % Na ' 1	k, rel.
142, 147	5,2	0,42	0,29	69,0
157, 161	6,0	0,20	0,15	75,0
167	6,5	0,25	0,19	76,0
162	7,0	0,17	0,14	82,5

6. Zusammenfassung.

Vergleicht man die beiden Phasen der Stärkebildung miteinander, so findet man eine Reihe von Verschiedenheiten in deren Verhalten bei verschiedenen Behandlungen. War es ein und dasselbe Enzym, welches sowohl die Stärkeverkleisterung wie die Verzuckerung katalysierte, so sollte eigentlich das Verhältnis zwischen den Geschwindigkeiten der beiden Reaktionen stets dasselbe sein. Wie aus Tabelle I ersichtlich, ist in fünf der untersuchten Präparate der Wert auf das Verhältnis $d/k = 2$. In den zwei übrigen Fällen wurden andere Werte erhalten. Daß in so vielen Fällen eine Übereinstimmung vorhanden war, kann darauf beruhen, daß die Enzymlösung aus Keimpflanzen bereitet wurde, die sich im allgemeinen im gleichen Entwicklungsstadium befanden. Die Variationen, die die einzelnen Exemplare in der Enzymwirkung aufweisen, sind dadurch ausgeglichen worden, daß eine große Anzahl von Pflanzen zu jeder Lösung genommen wurde. Das Verhältnis des Verkleisterungsvermögens während der Keimung ist nicht untersucht worden, es ist aber glaubhaft, daß dasselbe sich im allgemeinen wie das Verzuckerungsvermögen verhält,

wenn es sich auch nicht vollkommen parallel demselben entwickelt. Hierauf deuten die vorher erwähnten Arbeiten von *Chrzaszcz.* In gleichalten Keimpflanzen sollte folglich das Verhältnis zwischen Verkleisterungs- und Verzuckerungsvermögen im allgemeinen gleich sein. Daß in einigen Fällen doch ganz andere Werte auf das Verhältnis der Reaktionskonstante erreicht wurden, deutet darauf hin, daß diese beiden Reaktionen jede von ihrem speziellen Enzym katalysiert werden.

Diese beiden Enzyme haben ein Optimum der Wirkung bei gleicher Wasserstoffionenkonzentration, was auch ganz natürlich ist, da sie ständig ihre Wirkung gleichzeitig in derselben Lösung ausüben. Vollkommen übereinstimmend sind sie jedoch nicht in ihrem Verhältnis zur Azidität.

Die Temperaturkonstante A in *Arrhenius'* Formel ist für beide Enzyme von derselben Größenordnung. Im ersten Stadium der Stärkespaltung ist sie jedoch innerhalb größerer Temperaturgrenzen konstant.

Wie aus dem Vorhergehenden ersichtlich, sind die beiden Enzyme bei Abwesenheit der Schutzsubstanzen besonders empfindlich gegen Erwärmung. Für beide ändert sich die Wasserstoffionenkonzentration, wo die Wirkung am größten ist, durch Erhitzung nach der alkalischen Seite zu. Die in Abb. 2 und 10 dargestellten Kurven haben im großen und ganzen den gleichen Verlauf, aber, besonders wenn man sich nach den Wasserstoffionenkonzentrationen zu ein Stück vom Optimum entfernt, ist das Verhältnis d/k nicht mehr konstant. Auf der sauren Seite ist es kleiner als 2 und auf der alkalischen größer. Dies dürfte jedoch teilweise der verschieden guten Genauigkeit der Methoden zugeschrieben werden können. Diese kann wiederum auch die Ursache davon sein, daß die Resultate mit der Jodmethode empfindlicher für die Temperatur als die mit Reduktionsmethode erscheinen. Bei $p_H = 5,2$ erreicht man z. B. mit der Jodmethode nach einer Stunde Erhitzung auf 40° keine Reaktion. Dagegen beträgt das Verzuckerungsvermögen 35% des ursprünglichen. Dies muß darauf beruhen, daß ein Teil Stärke gespalten wird, daß aber die Reaktion so langsam verläuft, daß nicht sämtliche Stärke während der Versuchszeit gespalten wird. Die Geschwindigkeit, mit welcher die Inaktivierung, veranlaßt durch die Erhitzung, vor sich geht, ist auch für beide Reaktionen verschieden. Während die Inaktivierung des Verkleisterungsvermögens im allgemeinen monomolekular verläuft, geht die Inaktivierung des Verzuckerungsvermögens im Anfang recht rasch vor sich und erreicht dann einen konstanten Wert. Die „Tötungstemperatur“ ist für beide Reaktionen gleich und liegt bei 45° .

Das Verhältnis des Inaktivierungskoeffizienten zu Temperatur und Azidität ist abhängig von den gleichen Ursachen, wie sie für die Temperaturrempfindlichkeit besprochen wurden.

Schließlich ist der Einfluß des Kochsalzes auf die beiden Reaktionen verschieden. Die Verkleisterung wird bei kleinen Mengen NaCl inaktiviert, während die Verzuckerung keine Empfindlichkeit gegen den Einfluß des Kochsalzes in 1 proz. Lösungen aufweist.

Auf Grund dieser Umstände dürfte man glauben können, daß die Verkleisterung und die Verzuckerung von verschiedenen Enzymen katalysiert werden, welche jedoch in vielen Hinsichten die gleichen Eigenschaften aufweisen. Ein Vergleich mit Malzamylase ergibt große Unterschiede, besonders in der Temperaturempfindlichkeit. Bei optimalem p_H liegt die „Tötungstemperatur“ für Malzamylase etwa 10° höher als für Bohnenamylase.

Nachstehend folgt eine Zusammenfassung der erhaltenen Resultate:

1. Bei der Bestimmung der Bohnenamylasewirkung im Phosphatgemisch bei 40° wurde die Lage der optimalen Reaktion zu $p_H = 5$ gefunden. Die optimale Zone erstreckte sich für das Verzuckerungsvermögen von $p_H = 5,0$ bis $5,5$, für das Stärkeverschwinden von etwa $p_H = 4$ bis 6 .

2. Die Amylase behält einen Teil ihrer Wirksamkeit noch bei 0° C. Für das Verzuckerungsvermögen sinkt der Wert des Temperaturkoeffizienten bei Erhöhung der Temperatur. Der Koeffizient A der Arrheniusschen Temperaturformel hat im Gebiet von 0 bis 20° einen Wert von etwa 10000 , 20 bis 30° 9400 und 30 bis 40° 6700 . Für das Stärkeverschwinden ist der Temperaturkoeffizient zwischen 20 und 40° ziemlich konstant. Der Wert von A ist zwischen 20 bis 30° 9600 und 30 bis 40° 9400 .

3. Die Amylase ist im Phosphatgemisch als Puffer gegen Erhitzung am stabilsten bei $p_H = 6,5$ bis $7,0$, also in etwas mehr alkalischer Lösung als der maximalen Wirkung entspricht.

4. Die Inaktivierung der Amylase ist bei optimalem p_H nach einer 60 Minuten langen Erhitzung auf 35° sehr gering. Nach einer einstündigen Erhitzung auf 55° ist die Aktivität auf Null gesunken. Bei anderen Wasserstoffionenkonzentrationen beginnt die Inaktivierung bei niedrigeren Temperaturen und wird früher vollständig.

5. Die Inaktivierung des Verzuckerungsvermögens verläuft nicht als monomolekulare Reaktion. Die Inaktivierung geht zuerst sehr schnell vor sich, bis sie einen gewissen Wert erreicht hat, wonach die Amylasewirkung nicht mehr verändert wird. Die Inaktivierung des Stärkeverschwindens verläuft aber im großen und ganzen nach der Formel für monomolekulare Reaktionen.

6. Eine Veränderung der Enzymkonzentration während der Erhitzung auf den fünffachen Wert übt keine Einwirkung auf die Inaktivierung aus. Die Phosphatkonzentration ist auch ohne Einfluß.

7. Der Wert der *Arrheniusschen* Temperaturkonstante A für die Temperaturkoeffizienten k_c liegt im Gebiet von 35 bis 55° zwischen 11000 und 80000. Er ist von der Wasserstoffionenkonzentration sehr abhängig und erreicht ein Maximum bei $p_H = 7,5$.

8. Die Tötungstemperatur der Amylase liegt bei optimalem p_H bei 45° .

9. Die Amylasewirkung ist von Kochsalz in niedrigen Konzentrationen nicht abhängig. In einer 0,25proz. Kochsalzlösung nimmt die Wirkung ein wenig ab und wird bei höheren Konzentrationen mehr und mehr vermindert. Dies betrifft das Verschwinden der Stärkereaktion; 1proz. Kochsalzlösung übt auf das Verzuckerungsvermögen keinen Einfluß aus.

Zum Schluß ist es mir eine angenehme Pflicht, meinem Lehrer, Herrn Prof. *H. v. Euler*, der mir sowohl die Anregung zu dieser Arbeit gegeben, als mir auch bei der Ausführung mit seinem Rat beigestanden hat, meinen ergebensten Dank auszusprechen. Auch Herrn Prof. *N. G. Lagerheim* erlaube ich mir meinen Dank abzustatten für das freundliche Entgegenkommen und die Erlaubnis, im Gewächshause des Botanischen Instituts meine Kulturen ausführen zu dürfen.

Literatur.

(Größere Arbeiten, die nicht im Text angegeben sind.)

Aberhalden, Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden. Berlin 1912. — *Czapek*, Biochemie der Pflanzen, I und II. Jena 1913. — *Euler*, Chemie der Enzyme, I. München 1920. Verlag von Julius Springer. — *Euler*, Pflanzenchemie, I bis III. Braunschweig 1908/09. Verlag von Friedr. Vieweg & Sohn. — *Michaelis*, Die Wasserstoffionenkonzentration. Berlin 1914 und 1922. Verlag von Julius Springer. — *Palladin*, Pflanzenphysiologie. Berlin 1911. — *Wohlgemuth*, Grundriß der Fermentmethoden. Berlin 1913. Verlag von Julius Springer. — *Ylppö*, Ph-Tabellen. Berlin 1917. Verlag von Julius Springer.

Beilagen.

Nr.	Vorbehandlung	Stunden	mg Maltose	k	Berechnungen	Nr.	Vorbehandlung	Stunden	mg Maltose	k	Berechnungen
$a = 80,0$.						11	60 Minuten auf 50° erhitzt. $p_H = 5,2$.	1 2,5 5	5,4 14,5 21,8	0,030 35 28	Rel. 14,1 $k_c = 0,0142$
<i>Versuchsreihe 1.</i>											
Amylase-Lösung I. 2 ccm. $p_H = 5,2$.											
1	Reaktionstemper. 17,5°.	2 3 4	27,3 43,1 46,8	0,091 112 096	Rel. 36,1	12	60 Minuten auf 55° erhitzt. $p_H = 5,2$.	4,5 21 43	2,5 9,0 20,9	0,0030 25 30	Rel. 1,27 $k_c = 0,0316$
				0,100						0,031	
2	30,0°.	1 2 3	27,3 49,5 59,0	0,181 209 194	Rel. 70,5	13	60 Minuten auf 60° erhitzt. $p_H = 5,2$.	43	0	0	Rel. 0 $k_c = \infty$
				0,195		14	60 Minuten auf 35° erhitzt. $p_H = 6,0$.	1 2 3	28,2 47,7 58,1	0,189 197 187	Rel. 95,5 $k_c = 0,0003$
3	40,0°.	0,5 1 2	22,7 39,5 54,2	0,290 296 246	Rel. 100					0,191	
				0,277		15	60 Minuten auf 40° erhitzt. $p_H = 6,0$.	1 2 3	20,0 37,5 58,1	0,125 138 188	Rel. 75,0 $k_c = 0,0021$
4	47,0°.	1 2 3	36,6 57,1 64,7	0,266 272 239	Rel. 93,5					0,150	
				0,259		16	60 Minuten auf 45° erhitzt. $p_H = 6,0$.	1 2,5 5	12,6 26,4 41,3	0,074 70 63	Rel. 34,5 $k_c = 0,0077$
<i>Versuchsreihe 2.</i>											
Amylase-Lösung I. 2 ccm.											
5	Nicht erhitzt. $p_H = 5,2$.	1 2 3	30,0 50,5 64,6	0,204 217 239	Rel. 100	17	60 Minuten auf 50° erhitzt. $p_H = 6,0$.	1 2,5 5	9,0 20,0 34,7	0,052 50 49	Rel. 25,0 $k_c = 0,0103$
				0,220						0,050	
6	60 Minuten auf 18° erhitzt. $p_H = 5,2$.	1 2 3	31,0 53,3 67,4	0,213 238 268	Rel. 109 $k_c = 0$	18	60 Minuten auf 55° erhitzt. $p_H = 6,0$.	20,5 45	10,8 20,0	0,0031 28	Rel. 1,50 $k_c = 0,0304$
				0,240						0,0030	
7	60 Minuten auf 35° erhitzt. $p_H = 5,2$.	1 2 3	21,8 36,6 46,8	0,136 133 127	Rel. 60,0 $k_c = 0,0037$	19	60 Minuten auf 45° erhitzt. $p_H = 6,5$.	1 2	15,5 29,2	0,094 99	Rel. 55,6 $k_c = 0,0042$
				0,132						0,097	
8	60 Minuten auf 35° erhitzt. $p_H = 5,2$.	1 2 3	20,9 35,6 47,7	0,130 128 131	Rel. 59,0 $k_c = 0,0038$	20	60 Minuten auf 40° erhitzt. $p_H = 7,0$.	1 2 3	19,1 33,8 49,5	0,118 119 140	Rel. 87,0 $k_c = 0,0010$
				0,130						0,126	
9	60 Minuten auf 40° erhitzt. $p_H = 5,2$.	1 2	18,2 31,0	0,112 106	Rel. 49,5 $k_c = 0,0051$	21	60 Minuten auf 45° erhitzt. $p_H = 7,0$.	1 2	10,8 21,8	0,063 69	Rel. 45,5 $k_c = 0,0057$
				0,109						0,066	
10	60 Minuten auf 45° erhitzt. $p_H = 5,2$.	1 2,5 5	12,6 25,5 41,3	0,074 66 63	Rel. 30,9 $k_c = 0,0085$	22	60 Minuten auf 40° erhitzt. $p_H = 7,5$.	1 2 3	13,6 21,8 31,9	0,081 69 74	Rel. 67,0 $k_c = 0,0029$
				0,068						0,075	
						23	60 Minuten auf 45° erhitzt. $p_H = 7,5$.	20,5 45	18,2 31,0	0,0055 47	Rel. 4,55 $k_c = 0,0224$
										0,0051	

Temperaturempfindlichkeit der Amylase von Phaseolus vulgaris. 323

Nr.	Vorbehandlung	Stunden	mg Maltose	k	Berechnungen	Nr.	Vorbehandlung	Stunden	mg Maltose	k	Berechnungen
Versuchsreihe 3. AmylaseLösung II. 2 ccm.						Versuchsreihe 5. AmylaseLösung III. 2 ccm.					
24	Nicht erhitzt. $p_H = 5,2$.	1 2 3	38,5 51,4 67,0	0,285 223 268	Rel. 100	35	Nicht erhitzt. $p_H = 5,2$.	1 2 3	35,5 52,4 59,0	0,27 23 19	Rel. 100
				0,259						0,23	
25	60 Minuten auf 45° erhitzt. $p_H = 6,0$.	1 2 4	17,3 25,5 44,0	0,106 83 87	Rel. 39,0 $k_c = 0,0068$	36	15 Minuten auf 40° erhitzt. $p_H = 5,2$.	1 2 3	13,6 23,7 36,5	0,081 76 88	Rel. 35,6
				0,092						0,082	
26	60 Minuten auf 50° erhitzt. $p_H = 6,5$.	2 4	17,3 31,9	0,053 55	Rel. 26,5 $k_c = 0,0096$	37	30 Minuten auf 40° erhitzt. $p_H = 5,2$.	1 2 3	13,6 20,9 29,1	0,081 65 66	Rel. 30,8
				0,054						0,071	
27	60 Minuten auf 35° erhitzt. $p_H = 7,0$.	1 2 3	28,2 49,5 53,4	0,189 209 159	Rel. 109 $k_c = 0$	38	30 Minuten auf 40° erhitzt. $p_H = 5,2$.	1 2 3	13,6 23,7 32,8	0,081 76 76	Rel. 34,0
				0,186						0,078	
28	60 Minuten auf 50° erhitzt. $p_H = 7,0$.	4 7 21	13,5 16,4 39,5	0,020 14 14	Rel. 9,35 $k_c = 0,0171$	39	120 Minuten auf 40° erhitzt. $p_H = 5,2$.	2 3 7	26,4 35,6 52,4	0,087 85 66	Rel. 34,3
				0,016						0,079	
29	60 Minuten auf 35° erhitzt. $p_H = 7,5$.	1 2 3	20,0 36,5 44,0	0,125 132 116	Rel. 94,0 $k_c = 0,0005$	40	60 Minuten auf 35° erhitzt. $p_H = 8,0$.	2 3	16,4 24,6	0,050 53	Rel. 64,1 $k_c = 0,0031$
				0,124						0,052	
Versuchsreihe 4. AmylaseLösung III. 1 ccm.						Versuchsreihe 6. AmylaseLösung III. 2 ccm.					
30	Nicht erhitzt. $p_H = 5,2$.	1 1/4 2	20,0 31,0	0,100 106	Rel. 100	40	Reaktionstemper. a 0,50°. $p_H = 5,2$.	1 2,5 5	5,4 13,6 18,2	0,029 32 22	Rel. 12,2
				0,103						0,028	
31	30 Minuten auf 40° erhitzt. $p_H = 5,2$.	1 2 4	6,3 11,7 22,8	0,036 34 37	Rel. 35,0	41	Nicht erhitzt. $p_H = 5,2$.	1 2 3	29,2 39,3 44,0	0,197 147 115	Rel. 100
				0,036						0,153	
32	30 Minuten auf 40° erhitzt. $p_H = 6,0$.	1 2 4	9,0 16,4 28,2	0,052 50 47	Rel. 53,2	42	60 Minuten auf 40° erhitzt. $p_H = 5,2$.	1 2 3	11,7 21,8 25,3	0,068 69 55	Rel. 41,8
				0,050						0,064	
33	60 Minuten auf 55° erhitzt. $p_H = 6,5$.	22 44	6,3 12,0	0,0016 16	Rel. 1,98 $k_c = 0,0284$	43	60 Minuten auf 40° erhitzt. $p_H = 5,2$.	1 2 3	11,7 20,9 27,3	0,068 65 60	Rel. 41,8
				0,0016						0,064	
34	60 Minuten auf 40° erhitzt. $p_H = 8,0$.	22 52	19,1 38,0	0,0054 54	Rel. 15,0 $k_c = 0,0137$		5 ccm Phosphat- lösung.				
				0,0054						0,064	

Nr.	Vorbehandlung	Stunden	mg Maltose	k	Berechnungen	Nr.	Vorbehandlung	Stunden	mg Maltose	k	Berechnungen
<i>Versuchsreihe 7.</i> AmylaseLösung V. 1 ccm.						<i>Versuchsreihe 9.</i> AmylaseLösung V. 1 ccm.					
44	Nicht erhitzt. $p_H = 5,2$.	0,5 1 2	23,9 38,5 64,0	0,31 28 35	Rel. 100	54	15 Minuten auf 40° erhitzt. $p_H = 6,0$.	0,5 1 2	13,3 21,0 42,3	0,158 132 163	Rel. 58,0
45	60 Minuten auf 40° erhitzt. $p_H = 6,5$.	0,5 1 2	15,3 31,5 50,1	0,184 208 214	Rel. 82,5 $k_c = 0,0014$						
<i>Versuchsreihe 8.</i> AmylaseLösung V. 1 ccm.						<i>Versuchsreihe 9.</i> AmylaseLösung V. 1 ccm.					
46	Nicht erhitzt. $p_H = 5,2$.	0,5 1 2	20,1 39,5 62,0	0,25 30 32	Rel. 100	55	Nicht erhitzt. $p_H = 6,0$.	0,5 1 2	19,1 36,5 59,0	0,236 264 290	Rel. 100
47	60 Minuten auf 19° erhitzt. $p_H = 5,2$.	0,5 1 2	18,1 32,5 55,7	0,224 227 259	Rel. 81,6 $k_c = 0,0014$	56	5 Minuten auf 40° erhitzt. $p_H = 6,0$.	0,5 1 2	13,3 26,7 48,2	0,158 176 200	Rel. 68,5
48	60 Minuten auf 30° erhitzt. $p_H = 5,2$.	1 2 3	22,0 40,4 59,4	0,140 153 196	Rel. 56,2 $k_c = 0,0042$	57	10 Minuten auf 40° erhitzt. $p_H = 6,0$.	0,5 1 2	11,4 23,9 39,5	0,132 153 148	Rel. 55,4
49	60 Minuten auf 35° erhitzt. $p_H = 5,2$.	1 2 3	18,1 35,5 49,1	0,112 127 147	Rel. 44,5 $k_c = 0,0059$	58	30 Minuten auf 40° erhitzt. $p_H = 6,0$.	1 2	19,1 39,5	0,118 148	Rel. 51,1
50	60 Minuten auf 40° erhitzt. $p_H = 5,2$.	1 2 3	16,2 33,5 38,5	0,098 118 95	Rel. 35,9 $k_c = 0,0075$	59	60 Minuten auf 40° erhitzt. $p_H = 6,0$.	0,5 1 2 4	9,5 18,1 36,5 60,1	0,110 112 132 151	Rel. 48,5 $k_c = 0,0052$
51	60 Minuten auf 45° erhitzt. $p_H = 5,2$.	1 2 3	15,3 25,8 35,5	0,092 84 83	Rel. 29,6 $k_c = 0,0088$	60	120 Minuten auf 40° erhitzt. $p_H = 6,0$.	0,5 1	9,5 22,0	0,110 140	Rel. 48,0
52	5 Minuten auf 40° erhitzt. $p_H = 5,2$.	0,5 1 2 23	10,5 22,0 45,4 78,7	0,122 140 182 —	Rel. 51,0	61	60 Minuten auf 30° erhitzt. $p_H = 5,2$.	0,5 1 2	9,5 25,8 44,3	0,110 140 175	Rel. 48,0
53	10 Minuten auf 40° erhitzt. $p_H = 5,2$.	0,5 1 2	9,5 20,1 35,5	0,110 126 127	Rel. 41,7	62	Nicht erhitzt. $p_H = 6,5$.	0,5 1 2	18,1 29,6 49,1	0,224 201 206	Rel. 100
				0,121		63	Nichterhitzt. 0,25% Na Cl. $p_H = 6,5$.	0,5 1 2	18,1 29,6 48,2	0,224 201 201	Rel. 99,5

Temperaturempfindlichkeit der Amylase von *Phaseolus vulgaris*. 325

Nr.	Vorbehandlung	Stunden	mg Maltose	k	Berechnungen	Nr.	Vorbehandlung	Stunden	mg Maltose	k	Berechnungen
Versuchsreihe 11. AmylaseLösung VI. 1 ccm.						Versuchsreihe 13. AmylaseLösung VII. 2 ccm.					
64	Nicht erhitzt. $p_H = 5,2$.	0,5 1 2	16,3 29,6 52,2	0,198 201 229	Rel. 100	74	Nicht erhitzt. $p_H = 5,2$.	2 3,5 5	27,6 45,4 58,1	0,092 104 112	Rel. 100
				0,209						0,103	
65	60 Minuten auf 30° erhitzt. $p_H = 6,0$.	0,5 1 2	16,3 29,6 44,3	0,198 201 175	Rel. 100 $k_c = 0$	75	Nicht erhitzt. 1°/o Na Cl. $p_H = 5,2$.	2 3,5 5	31,5 46,4 58,1	0,109 108 112	Rel. 107
				0,191						0,110	
66	90 Minuten auf 40° erhitzt. $p_H = 6,0$.	0,5 1 3	7,5 15,3 43,3	0,084 92 113	Rel. 50,5	76	Nicht erhitzt. 1°/o Na Cl. $p_H = 6,0$.	2 3,5 5	25,0 43,3 53,1	0,081 97 95	Rel. 96,9
				0,096						0,091	
67	105 Minuten auf 40° erhitzt. $p_H = 6,0$.	0,5 1 1,5	8,5 16,2 26,7	0,096 98 88	Rel. 49,5	77	Nicht erhitzt. 1°/o Na Cl. $p_H = 7,0$.	1 2 3,5	10,5 22,9 35,5	0,061 73 73	Rel. 101
				0,094						0,069	
68	Nicht erhitzt. $p_H = 6,5$.	0,5 1 2	14,3 23,9 43,3	0,172 158 169	Rel. 100	Versuchsreihe 14. AmylaseLösung IX. 0,5 ccm.					
				0,166		78	Nicht erhitzt. $p_H = 6,5$.	1 2 3	24,9 41,4 58,1	0,162 158 187	Rel. 100
69	Nicht erhitzt. 0,75% Na Cl. $p_H = 6,5$.	0,5 1 1,5	15,3 23,9 31,5	0,184 158 145	Rel. 97,6					0,172	
				0,162		79	30 Minuten auf 40° erhitzt. $p_H = 6,5$.	1 2 3	19,1 35,5 50,1	0,119 127 142	Rel. 75,0 $k_c = 0,0041$
70	Nicht erhitzt. 1°/o Na Cl. $p_H = 6,5$.	1 2 3	23,9 41,4 59,0	0,154 158 193	Rel. 101					0,129	
				0,168		80	60 Minuten auf 40° erhitzt. $p_H = 6,5$.	2 2,5 3	31,5 38,5 45,4	0,109 114 121	Rel. 66,9 $k_c = 0,0029$
										0,115	
Versuchsreihe 12. AmylaseLösung VI. 1 ccm.						81	100 Minuten auf 40° erhitzt. $p_H = 6,5$.	0,5 1 2	10,5 15,3 26,7	0,122 92 88	Rel. 58,7 $k_c = 0,0023$
71	Nicht erhitzt. $p_H = 5,2$.	0,5 1 2	9,5 19,1 33,5	0,110 118 118	Rel. 100					0,101	
				0,115		82	150 Minuten auf 40° erhitzt. $p_H = 6,5$.	0,5 1 2	6,5 14,3 28,6	0,074 86 96	Rel. 49,5 $k_c = 0,0020$
72	60 Minuten auf 35° erhitzt. $p_H = 6,0$.	1 2 3	14,3 22,9 31,5	0,085 73 72	Rel. 73,4 $k_c = 0,0022$					0,085	
				0,077		83	60 Minuten auf 40° erhitzt. 5 ccm Phosphatlösung. $p_H = 6,5$.	1,5 2 3	26,7 35,5 45,4	0,118 128 121	—
73	60 Minuten auf 30° erhitzt. $p_H = 8,0$.	2 3,5 6,5	16,2 20,1 32,5	0,049 36 35	Rel. 100 $k_c = 0$					0,122	
				0,040							

Nr.	Vorbehandlung	Minuten	ccm Stärkelös. in limes	d	Berechnungen	Nr.	Vorbehandlung	Minuten	ccm Stärkelös. in limes	d	Berechnungen
127	60 Minuten auf 25° erhitzt. $p_H = 4,5$.	15	4,0	0,27	Rel. 38,7	138	45 Minuten auf 40° erhitzt. $p_H = 6,5$.	15	3,5	0,23	Rel. 80,0 $k_c = 0,0025$
		20	5,0	25				20	4,5	23	
		30	6,5	22				30	7,5	25	
		40	9,0	23				40	9,0	23	
				0,24							0,24
128	60 Minuten auf 25° erhitzt. $p_H = 5,6$.	10	6,0	0,60	Rel. 100 $k_c = 0$	<i>Versuchsreihe 23.</i> Amylase-lösung V. 1 ccm.					
		15	9,5	63							
129	60 Minuten auf 35° erhitzt. $p_H = 6,0$.	10	6,0	0,60	Rel. 96,8 $k_c = 0,0002$	139	Reaktionstemper. 20,5°. $p_H = 5,6$.	15	2,0	0,13	Rel. 36,6
		15	9,0	60				20	3,0	15	
			0,60	30	5,0			17			
			0,20	40	6,0			15			
130	60 Minuten auf 45° erhitzt. $p_H = 6,5$.	10	2,0	0,20	Rel. 43,4 $k_c = 0,0061$	140	30,0°. $p_H = 5,6$.	10	2,0	0,20	Rel. 61,0
		15	4,0	27				15	4,0	27	
		20	5,0	25				20	5,5	28	
		30	9,5	32						0,25	
			0,26								
131	60 Minuten auf 45° erhitzt. $p_H = 7,0$.	10	2,0	0,20	Rel. 50,0 $k_c = 0,0050$	141	40,0°. $p_H = 5,6$.	5	2,0	0,40	Rel. 100
		15	4,0	27				10	4,0	40	
		20	6,0	30				15	6,0	40	
		25	8,0	32				20	9,0	45	
			0,27							0,41	
132	60 Minuten auf 30° erhitzt. $p_H = 7,5$.	10	4,5	0,45	Rel. 104 $k_c = 0$	<i>Versuchsreihe 24.</i> Amylase-lösung VI. 1 ccm.					
		15	7,5	50		142	Nicht erhitzt. $p_H = 5,2$.	10	4,0	0,40	Rel. 100
		20	9,5	48				15	6,0	40	
		0,48	20	9,0	45						
			0,18							0,42	
133	60 Minuten auf 45° erhitzt. $p_H = 7,5$.	20	3,5	0,18	Rel. 45,6 $k_c = 0,0057$	143	0,125% Na Cl. $p_H = 5,2$.	10	4,0	0,40	Rel. 97,6
		30	7,0	23				15	5,5	37	
		40	9,0	23				20	9,0	45	
			0,21							0,41	
134	60 Minuten auf 25° erhitzt. $p_H = 8,0$.	15	5,0	0,33	Rel. 100 $k_c = 0$	144	0,25% Na Cl. $p_H = 5,2$.	10	3,5	0,35	Rel. 93,0
		20	7,5	38				15	6,0	40	
		25	9,0	36				20	8,5	43	
			0,35							0,39	
135	60 Minuten auf 25° erhitzt. $p_H = 9,0$.	15	2,0	0,13	Rel. 100 $k_c = 0$	145	0,50% Na Cl. $p_H = 5,2$.	10	3,0	0,30	Rel. 81,0
		20	3,0	15				15	3,5	23	
		30	5,0	17				20	7,5	38	
		40	7,0	18						0,34	
			0,16								
<i>Versuchsreihe 22.</i> Amylase-lösung V. 0,5 ccm.											
136	Nicht erhitzt. $p_H = 6,5$.	10	3,0	0,30	Rel. 100	146	0,75% Na Cl. $p_H = 5,2$.	10	3,0	0,30	Rel. 76,1
		15	4,5	30				15	5,0	33	
		20	6,0	30				20	6,5	33	
			0,30							0,32	
137	15 Minuten auf 40° erhitzt. $p_H = 6,5$.	15	4,0	0,27	Rel. 90,0 $k_c = 0,0030$						
		20	5,5	28							
		30	7,5	25							
			0,27								

Temperaturempfindlichkeit der Amylase von Phaseolus vulgaris. 329

Nr.	Vorbehandlung	Minuten	ccm Stärkelös. in limes	d	Berechnungen	Nr.	Vorbehandlung	Minuten	ccm Stärkelös. in limes	d	Berechnungen				
147	1,00% Na Cl. $p_H = 5,2$.	10	2,5	0,25	Rel. 69,0	156	150 Minuten auf 40° erhitzt, $p_H = 6,5$.	15	3,0	0,20	Rel. 52,7 $k_c = 0,0019$				
		15	4,0	27				20	3,5	18					
		20	6,0	30				30	5,5	18					
		30	9,5	32						0,19					
				0,29											
148	60 Minuten auf 35° erhitzt. $p_H = 6,0$.	10	4,0	0,40	Rel. 90,5 $k_c = 0,0007$	<i>Versuchsreihe 26.</i> AmylaseLösung VIII. 1 ccm.									
		15	5,5	38		157	Nicht erhitzt. $p_H = 5,6$.	15	2,0	0,13	Rel. 100				
		20	7,0	35				20	4,0	20					
		0,38	25	5,5	22										
149	Nicht erhitzt. $p_H = 6,5$.	10	4,0	0,40	Rel. 100	30	7,0	23	0,20	158	60 Minuten auf 30° erhitzt. $p_H = 5,6$.	20	2,5	0,13	Rel. 70,0
		15	6,0	40				25				3,5	14		
		20	8,5	43				30				4,5	15		
				0,41				0,14							
150	60 Minuten auf 40° erhitzt. $p_H = 6,5$.	10	3,0	0,30	Rel. 75,5 $k_c = 0,0020$	159	60 Minuten auf 35° erhitzt. $p_H = 7,5$.	20	2,5	0,13	Rel. 100 $k_c = 0$				
		15	4,5	30				25	4,0	16					
		20	6,5	33				30	5,0	17					
		30	9,5	32						0,15					
				0,31											
151	120 Minuten auf 40° erhitzt. $p_H = 6,5$.	10	2,0	0,20	Rel. 56,1 $k_c = 0,0021$	160	60 Minuten auf 45° erhitzt. $p_H = 8,0$.	120	2,0	0,017	Rel. 18,2 $k_c = 0,0123$				
		15	3,5	23				150	3,0	20					
		20	5,0	25				180	4,0	22					
		25	6,0	24						0,020					
				0,23											
<i>Versuchsreihe 25.</i> AmylaseLösung VI. 1 ccm.															
152	Nicht erhitzt. $p_H = 6,5$.	10	3,5	0,35	Rel. 100	161	Nicht erhitzt. 1,00% Na Cl. $p_H = 6,0$.	20	3,0	0,15	Rel. 75,0				
		15	5,5	37				25	3,5	14					
		20	7,0	35				30	4,5	15					
		25	9,5	38				40	6,5	16					
				0,36						0,15					
153	30 Minuten auf 40° erhitzt. $p_H = 6,5$.	10	2,5	0,25	Rel. 83,4 $k_c = 0,0021$	162	1,00% Na Cl. $p_H = 7,0$.	20	2,0	0,10	Rel. 82,5				
		15	4,5	30				25	3,5	14					
		20	7,0	25				35	5,0	14					
				0,30			50	8,5	17						
154	90 Minuten auf 40° erhitzt. $p_H = 6,5$.	10	2,0	0,20	Rel. 66,6 $k_c = 0,0020$						0,14				
		15	4,0	27											
		20	5,0	25											
		30	7,0	23											
				0,24											
<i>Versuchsreihe 27.</i> AmylaseLösung IX. 0,5 ccm.															
155	90 Minuten auf 40° erhitzt. $p_H = 6,5$.	10	2,5	0,25	Rel. 69,5 $k_c = 0,0018$	163	Nicht erhitzt. $p_H = 5,2$.	10	2,0	0,20	Rel. 100				
		15	4,0	27				15	4,0	27					
		20	5,0	25				20	5,5	28					
		30	7,0	23				30	8,0	27					
				0,25						0,26					

