

#### Literatúra:

1. Y. Takahashi, N. Yui, Bul. Inst. Phys. Chem. Res. Japan 20, 521 (1941) Brit. A. 1942, I, 297. — 2. A. Michaelis, J. Amanoff, Ber. 7. 1699 (1874), 8, 504 (1875), 30, 1003 (1897). — 3. B. Stehlik, Chem. zvesti 2, (1948). — 4. F. C. Palazzo, F. Maggiacomo, Atti R. Acad. Lincei 17, 423 (1908). — 5. A. Arbusow, Journ. russ. phys. chem. Ges. 38, 162, 293 (1906). — 6. J. Sperber, J. F. Bodmer, Ber. 69, 974 (1936). — 7. A. Simon, Z. Elektrochem. 49, 413 (1943). — 8. J. C. Ghosh, S. K. Das, J. phys. Chem, 36, 586 (1932). — 9. A. Simon, F. Fehér, Z. anorg. Chem. 230, 291 (1937). — 10. D. M. Yost, T. F. Anderson, J. chem. Physics 2, 624 (1934). — 11. N. Gopal Pai, Indian J. Physics Proc. 7, 285 (1932). — 12. B. Stehlik, Chem. zvesti, 252 (1947); Coll. 12, 516 (1947). — 13. B. Stehlik, Chem. listy 42, (1948), 14. L. Hunter, Ann. Rep. Progr. Chem. 43, 141, 1946.

## Príspevok k poznaniu rastliných amyláz

IMRICH STEIN

### *Složenie diastatických komplexov nevyklíčených obilín.*

Podľa diastatického obsahu, zisteného dnešnými skúšobnými metódami, dajú sa nevyklíčené obilniny zaradiť do skupiny s vysokým diastatickým obsahom ako pšenica, žito a jačmeň a do skupiny slabodiastaticky účinných obilnín ako proso, ovos a kukurica.

Proti takémuto, v technológii kvasného priemyslu všeobecne používanému triedeniu hovoria niektoré biochemické zjavy, ktoré dosiaľ z neznámych príčin zostali nepovšimnuté. Tak napr. zdá sa byť veľmi nepravdepodobným, aby takmer rovnaký škrobový obsah obilnín (56,38), bol pri klíčení odbúraný u jedných veľkým, u druhých nepatrným množstvom amylázy. Proti zisteným rozdielom v diastatickej mohutnosti (tab. 1, stĺp. 5), hovorí aj skutočnosť, že za primeraných a rovnakých pokusných podmienok pripravené výluhy z obilnín dávajú po sukrení rovnakú farebnú reakciu s jódovým roztokom. Úplná premena škrobu poukazuje vlastne na rovnaký diastatický obsah výluhov.

Okolnosti zdajú sa nasvedčovať tomu, že príčina tejto diskrepancie neleží len v neznalosti bližšieho složenia enzylmu a z toho vyplývajúcej nedokonalosti spôsobov jej určenia, ale aj v tom, že veľká väčšina našich vedomostí o rastlinných amylázach je aplikovaná z nálezov o amyláze nevyklíčeného jačmeňa a nepochádza z bezprostredných skúmaní.

Ú v o d.

Pôsobenie rastlinných amyláz na škrob prejavuje sa všeobecne troma charakteristickými zmenami substrátu, a to stekutením škrobového mazu, vznikom redukujúcich slúčenín, menovite maltózy

a redukujúcich dextrinov, a vznikom smesi slúčením tzv. dextrinov, ktoré jódomým roztokom dávajú rôzne zafarbenia (modré, fialové, červené, hnedé). Zdá sa byť veľmi pravdepodobné, že premena škrobu je výsledkom účinku viacerých vlastnosťami a aktívitou líšiacich sa enzýmov z ktorých dva typy môžeme považovať za bezpečne dokázané. Je to  $\alpha$  — alebo dextrinogenná amyláza a  $\beta$  — alebo saccharogenná amyláza.

Kým sa výskyt oboch amyláz vo vyklíčených semenách, resp. vo výluhoch pripravených zo sladov bezpečne zistil, bola prítomnosť  $\alpha$  - amylázy vedľa  $\beta$  - amylázy v nevyklíčených semenách, resp. vo výluhoch pripravených zo šrotov nevyklíčených obilnín dlho sporná. Nezistiteľnosť  $\alpha$  - amylázy v nevyklíčených obilninách, najmä v jačmeni viedla k domnienke, že  $\alpha$  - amyláza tvorí sa len za klíčenia (11, 32, 23,) alebo premenou častí  $\beta$  - amylázy v  $\alpha$  - amylázu (58). Od tejto teórie sa upustilo až keď Waldschmidt - Leitzovi a jeho spolupracovníkom (25) podarilo sa dokázať prítomnosť  $\alpha$  - amylázy vo výluhu pripraveného z nevyklíčeného jačmeňa. Na rozdiel od  $\beta$  - amylázy, ktorá sa v nevyklíčenom jačmeni vyskytuje v aktívnej forme, zistili spomínaní bádatelia, že  $\alpha$  - amyláza nachádza sa v jačmeni vo forme inaktívneho enzýmu.

Z tohto nálezu Waldschmidt-Leitzovho vyvodzuje odborná literatúra poznatok (24, 57), že nevyklíčené obilniny obsahujú síce  $\alpha$  - amylázu, ale táto vyskytuje sa v nich v inaktívnej forme. Aktívuje sa len za klíčenia zrna.

Takéto zovšeobecnenie jedného nálezu, jeho aplikáciu na nevyklíčené obilniny vôbec, resp. na vodné výluhy pripravené z nevyklíčených obilnín, nepozdávalo sa mi byť správnym. Preto preskúmal som vodné výluhy pripravené zo šrotov niektorých obilnín na prítomnosť  $\alpha$  - amylázy a  $\beta$  - amylázy a na formu, v akej sa  $\alpha$  - amyláza v niektorých obilninách vyskytuje.

### *Teória účinku amyláz a slozenie škrovej molekuly.*

Pôsobením amylázy vyklíčených obilnín za normálnych pokusných podmienok na stekutený škrob vzniká zo škrobu 75—80 % maltózy a 25—20 % smesi látok, zvaných dextríny. Pretože podosiahnutí týchto množstiev odbúranych produktov škrobu sa enzymatický pochod veľmi spomalí a prakticky je ukončený, považujeme výkon charakterizovaný vyššie uvedenými hodnotami za hranicu enzymaticky maximálne možného odbúrania škrobu (Grenzabbau), ktorý sa dosiahne vtedy, keď sa z roztoku neodstraňujú reakčné produkty, menovite maltóza. Z racionálnych príčin, o ktorých sa tu bližšie rozpisovať nepokladám za potrebné, množstvo maltózy vytvorené premenou 75 % škrobu považuje sa za 100 % teoretický výtazok docieliteľný amylázou.

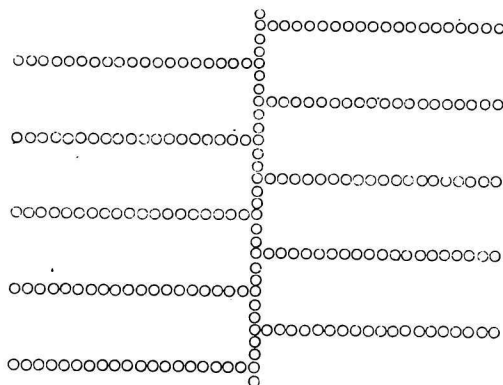
Popri maltóze vznikajú dextríny, ktoré sa účinkom amy-

lázy nerozkladajú (tzv. hraničné dextríny, Grenzdextrine), sú vlastne intermediárnymi produktmi odbúrania škrobu a predstavujú smes slúčenín, vystavaných pravdepodobne z molekúl glukózy; líšia sa od seba složením a molekulárnou váhou.

Pochody odohrávajúce sa v priebehu premeny škrobovej molekuly v maltózu, nie sú dodnes s určitosťou známe. Vytvárame si o nich obraz pomocou teórií, ktoré sa menia tak, ako sa naše vedomosti o štruktúrnom složení škrobu a amylázy prehlbujú, a budú sa meniť dotiaľ, kým sa nepodarí objaviť štruktúrne slozenie enzymu amylázy a škrobovej molekuly.

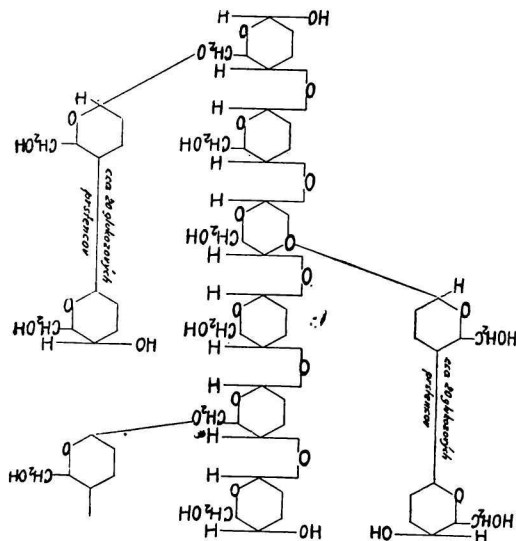
Dnešný názor na štruktúrne slozenie škrobovej molekuly vyplýva z viskozimetrického a osmotického chovania škrobu a jeho derivátov, z ktorého K. H. Meyer a H. Mark (60) usudzujú, že škrobová molekula nepozostáva, ako sa myslelo, z rovných a dlhých reťazí vytvorených molekulami maltózy, ale z  $\alpha$ -glukozydicky viazaných  $\alpha$ -glukózových prstencov, ktoré sú stéricky soskupené vo forme rozvetvenej reťaze. Z hlavnej reťaze vychádzajú bočné vetvy. Bočné reťaze vychádzajú z každého druhého až štvrtého glukózového prstenca hlavnej reťaze a pozostávajú približne z 20  $\alpha$ -glukózových prstencov.

Konfiguráciu glukózových molekúl v molekule škrobu pokúša sa reprodukovať schéma Frey-Wysslingove, v ktorom každý krúžok predstavuje jeden glukózový prsteň. (Vid' vyobrazenia.



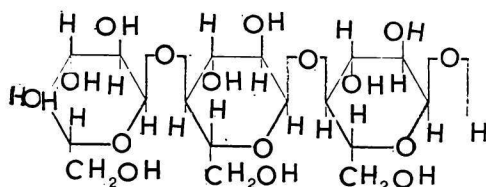
Obr. 1. Škrob. Každý krúžok predstavuje jeden glukózový prsteň.

Myrbäck predpokladá, že škrobová molekula nepozostáva len zo zvyškov molekúl maltózy, ale že sa v nej vyskytujú aj inak stavané časti molekúl. Amylázy majú však podľa Myrbäcka odštepovať zo škrobu také molekulárne časti, ktoré konfiguráciou odpovedajú Haworthovému vzorcu.

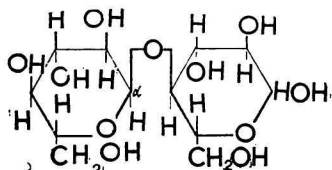


Štruktúrálly vzorec škrobu podľa Staudingera (61).

Podľa Hawortha pozostáva škrobová molekula z  $\alpha$ -glukozidicky v 4-ej polohe viazaných pyramoidných glukózových prstencov:



Premena škrobu v maltózu je podľa tohto vzorca porozumiteľná, pretože za sebou nasledujúce 2 glukózové zbytky predstavujú molekulu maltózy, ktorú Haworth identifikoval ako  $\alpha$ -glykozido-4-glukózu, kde oba glukózové zbytky sú normálne pyranózy.



glukozidný zvyšok

glukózový zvyšok

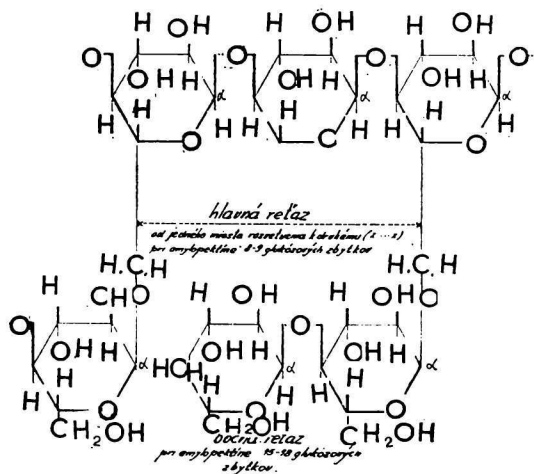
maltóza

$\beta$  - amyláza je schopná napadnúť škrobovú molekulu len na voľných koncoch reťaze, stred reťaze medzi dvoma anomáliami  $\beta$ -amyláza nerozkladá. Odštiepuje zo škrobu jednu molekulu maltózy za druhou tak dlho, kým neprenikne k anomáliam vo väzbe molekúl, pri ktorých následkom zmeny v sterickom rozpoložení molekuly stráca funkcionálnu schopnosť. Takto rozloží  $\beta$  - amyláza okolo 60 % škrobu v maltózu a zvyšok 40 % ostáva ako vysokomolekulárny, škrobu sa podobajúci hraničný dextrín.

Naproti tomu  $\alpha$  - amyláza napadá škrobovú molekulu vo strede reťaze medzi anomáliami. Zmena v sterickom rozpoložení molekuly nie je pre  $\alpha$  - amylázu prekážkou.  $\alpha$  - amyláza rozkladá škrob primárne v dextríny o strednej molekulárnej veľkosti (1000—4000), sekundárne sú tieto dextríny  $\alpha$  - amylázou rozložené v maltózu a v nízkomolekulárne, tzv. pravé dextríny, ktoré sa složením nepodobajú škrobu.

Vznik hraničných dextrínov, t. j. takých dextrínov, ktoré amyláza už nie je schopná rozložiť v maltózu, vysvetľujeme si novšou teóriou o stavbe škrobovej molekuly.

Ako je známe, škrobové zrno skladá sa z dvoch, vlastnosťami sa líšiacich frakcií, a to z amylozy, ktorá tvorí 80 % škrobového zrna a tvorí akési jadro zrna a z amylopektínu, tvoriaceho obal škrobového zrna. Amylóza rozpúšťa sa v teplej vode bez bobtnania hladko a dáva jódmodré zafarbenia, kým amylopektín nabobtnáva vo vode a tvorí maz (škrobový), ktorý ochladením želatínuje. Jódmodré dáva fialové až hnedé zafarbenie. Amylopektín obsahuje soli Ca, K a menovite esterovite viazanú kyselinu fosforečnú.



Schématický vzorec výstavby amylopektínu.

(Podľa: Lehnartz, Einführung in die chem. Physiologie, Berlin, 1943, str. 28)

Výsledky pokusov novšieho dáta poskytly opodstatnenie pre náhľad, že amyulóza pozostáva z glukózových molekúl uložených vo forme nerozvetvenej reťaze (ako celulóza), naproti tomu amylopektín je vystavený z glukózových molekúl uložených vo forme rozvetvenej reťaze (ako glykogén). Následkom toho smes molekúl týchto polysaccharídov má trojdimenzionálnu stavbu. Rozvetvenie molekúl nastáva vznikom  $\alpha$ -glykozidicky 1,6 — väzieb medzi C-atómom 6 jednej glukózovej molekuly hlavnej reťaze a C-atómom jedného glukózového zvyšku bočnej reťaze. Potom vzniká štruktúra podľa tohto vzorca:

Zdá sa, že hraničné dextríny majú okrem  $\alpha$ -glykozidickej 1,4-väzby maltózy prevažne  $\alpha$ -glykozidické 1,6-väzby, okrem toho nachádza sa v nich aj kyselina fosforečná.

Premena hraničných dextrínov v maltózu a tým vlastne úplné enzymatické odbúranie škrobu v maltózu, uskutočňuje sa len za zvláštnych podmienok a to alebo za prítomnosti zvláštnych glykozidáz schopných rozkladať  $\alpha$ -glykozidické 1,6-väzby, aké sa môžu vyskytovať v preparátoch  $\alpha$ -amylázy (tým sa vysvetľuje občas pozorované odbúranie hraničných dextrínov  $\alpha$ -amylázou v maltózu), alebo za súčasnej prítomnosti amylázy a kvasníc, ako napr. pri alkoholovom kvasení v liehovarskom priemysle.

#### *Vlastnosti amyláz.*

Rozdiel v priebehu hydrolyzy škrobu medzi účinkom amyláz, ktoré sa od seba líšia pôvodom, napr. medzi odbúraním škrobu amylázou sladu a amylázou z nevyklíčeného jačmeňa, alebo medzi účinkom amylázy bakteriálneho pôvodu (Taka-amyláza) a medzi amylázou sladu, opodstatňoval názor bádateľov, že amyláza predstavuje v podstate komplex, pozostávajúci podľa jedných z dvoch enzýmov (stekutujúceho a scukrujúceho), podľa iných z troch enzýmov, (stekutujúceho, dextrinujúceho a scukrujúceho enzýmu). Nedostatočnosť dôkazov o existencii predpokladaných komponentov amylázy nemohla však dlho presvedčiť zastáncov názoru o jednotnosti enzýmu amylázy. Názory sa rozchádzaly až po objav Kuhnov (3), ktorý pri polarimetrickom porovnaní odbúrania škrobu amylázou z pankreasu a amylázou z aspergillus oryzae zistili, že vniklá labilná forma maltózy mutarotuje smerom dolu, t. j. uhol otáčivosti je vyšší  $[\alpha]_{D^{20}} = +158^{\circ} \pm 5^{\circ}$ , ako špecifický uhol otáčivosti stabilnej formy maltózy  $[\alpha]_{D^{20}} = +137.5^{\circ}$ . Stabilný uhol otáčivosti dosiahol sa klesaním stupňa mutarotácie. Amylázou sladu vytvorená maltóza vykazovala opačné vlastnosti. Uhol otáčivosti vzniklej labilnej formy maltózy bol nižší  $[\alpha]_{D^{20}} = +112^{\circ}$  ako stabilnej maltózy, t. j. špecifický uhol otáčivosti stabilnej formy maltózy dosiahol sa stúpaním pôvodných hodnôt polarizácie. Uvoľnenie maltózy zo škrobovej molekuly v  $\alpha$ - a v  $\beta$ -modifikácii dokazuje, že analogicky existujú aj dve rôzne amylázy, a to  $\alpha$ -amyláza, ktorá zo škrobovej molekuly uvoľňuje maltózu v  $\alpha$ -forme a  $\beta$ -amyláza, ktorá uvoľňuje zo škrobovej molekuly mal-

tózu v  $\beta$ -forme. Existencia dvoch typov amyláz pokladá sa dnes už za dokázanú. (12, 24, 8, 32).

Na výskyt dvoch druhov amyláz v slade poukázal už Wijsmann (2), ktorého „maltóza“ by mohla byť identickou s  $\beta$ -amylázou a „dextrináza“ s  $\alpha$ -amylázou. Aj Syniewského (4) „ $\alpha$ -amyláza“ je termolabilná a podobá sa dnešnej  $\beta$ -amyláze a jeho „ $\beta$ -amyláza“ svojou termostabilitnosťou zdá sa byť blízka našej  $\alpha$ -amyláze. Až Ohlssonovi (5) sa podarilo rozložiť amylázu sladu na dve komponenty a dokázať, že vyklíčené obilniny obsahujú dve vlastnosťami sa líšiace komponenty, z ktorých jednu pomenoval sacharogennou =  $\beta$ -amyláza a druhú dextrinogennou amylázou, =  $\alpha$ -amyláza. Po ňom Waldschmidt-Leitz a jeho spolupracovníci a iní (25), 7, 9) izolovali z amylázy sladu  $\alpha$ - a  $\beta$ -amylázu.

Účasť oboch komponentov diastatického komplexu na enzymatickom seukrení škrobu rastlinnými amylázami môžeme teda považovať za dokázanú. Kvalitatívny rozbor diastatického komplexu vyklíčených, alebo nevyklíčených obilnín je umožnený rôznymi vlastnosťami jednotlivých amyláz. Pretože popis týchto je roztrúsený po literatúre, shániením v krátkosti doterajšie poznatky.

#### Vlastnosti $\alpha$ -(dextrinogennej) amylázy.

Pôsobením  $\alpha$ -amylázy stráca škrob rýchle schopnosť farbiť sa jódovým roztokom, pričom je charakteristické, že zmena kolorimetrického chovania nastáva už pri vytvorení malého množstva maltózy (11—14%). (8, 11, 12, 13, 14). Zo škrovej molekuly uvoľňuje  $\alpha$ -maltózu (5). Po vytvorení 34—36% teoret. maltózy pochod odbúrania škrobu  $\alpha$ -amylázou sa spomalí, ale nezastaví. Zväčšením množstva  $\alpha$ -amylázy zvýši sa množstva vytvorenej maltózy na 43 až 78,5% t. m. (8, 13, 21, 20). Pretože hranica, pri ktorej pôsobení  $\alpha$ -amylázy na škrob sa zastavuje, je neurčitá, je stanovenie množstva amylázy metódami, ktoré sa zakladajú na určitom maximálnom výkone enzýmu, t. j. na určitej odbúracej hranici, napr. metóda Euler-Svanbergova (37, 43) nie vždy presné. Charakterizovanie roztokov  $\alpha$ -amylázy enzymatickými jednotkami vo forme diastatickej melutnosti (22), naráža na určité ťažkosti. Proti vyššej teplote je  $\alpha$ -amyláza rezistentná: keď sa zahreje sladový výluh pri pH = 6—7 na teplotu 70° po dobu 15 minút, ostáva z celého pôvodného obsahu  $\alpha$ -amylázy 75% neporušené, kým  $\beta$ -amyláza sa prakticky úplne inaktivuje. (5). Proti vyššej kyslosti je  $\alpha$ -amyláza veľmi citlivá. V sladových výluhoch okyslených na pH = 3,3 pri teplote 0°, alebo pri teplote 20° a pH = 4,2—4,3 (15) sa  $\alpha$ -amyláza prakticky inaktivuje. Optimálne pH  $\alpha$ -amylázy leží v úzkych medziach 5,5—6 (5).

$\alpha$ -amyláze pripisuje sa schopnosť stekutiť škrob a odbúrať hraničné dextríny. Z toho sa odvodzuje, že dosiaľ izolované preparáty  $\alpha$ -amylázy nie sú čisté. Zdá sa, že obsahujú amylofosfatázu (15, 16) a tiež nejaké glykozidázy.

### *Vlastnosti $\beta$ - (saccharogennej) amylázy.*

Pôsobením  $\beta$  - amylázy na škrobový roztok stráca škrob schopnosť farbiť sa jódovým roztokom až po takmer úplnom scukrení, t. j. až keď sa vytvorilo cca 64% maltózy. (12). Po vytvorení 60—67% maltózy zastaví sa účinok  $\beta$  - amylázy. Táto hranica odbúrania je na rozdiel od  $\alpha$  - amylázy definitívna, pretože ani zvýšením množstva  $\beta$  - amylázy nevytvorí sa zo škrobu viac maltózy (20). Zdá sa, že po dosiahnutí tejto hranice naráža enzým na nejakú anomáliu vo väzbe škrobovej molekuly a funkcionálna schopnosť  $\beta$  - amylázy stráca sa pre zmenu stérického rozpoloženia zvyšku škrobovej molekuly. Nezdá sa mať, resp. má len veľmi nepatrnú stekutujúcu schopnosť (14, 22), preto hydrolyzuje len chemicky, alebo biologicky stekutený škrob. Pre  $\beta$  - amylázu je charakteristická jej veľká citlivosť proti vyššej teplote. Pri teplote 60° sa za 20 minút inaktivuje (4). Vo sladovom výluhu zohriatom na 70° po dobu 15 minút sa ireverzibilne inaktivuje (5). Naproti tomu je vzdorná proti vyššej kyslosti. Okyslením sladového výluhu na pH = 3,3 pri teplote 0° po dobu 15 minút sa len 25% pôvodného obsahu inaktivuje. Optimálne pH  $\beta$  - amylázy leží v širších medziach 4,0—5,75 (5).

### *Vlastnosti $\alpha + \beta$ - (sladovej) amylázy.*

Sladová amyláza, ako prirodzená smes oboch druhov amyláz má vyššiu odbúraciu hranicu ako obe izolované komponenty zvlášť. Pôsobenie sladovej amylázy zastavuje sa pri dosiahnutí definitívnej odbúracej hranici, t. j. pri odbúrání 75—80% škrobu (= 100% t. m.). (20) Väčší amylytický účinok sladovej amylázy zdá sa byť zapríčinený jednak prítomnosťou viac-menej neznámych aktivátorov v sladovom výluhu (amylokynázou, 7,25) a tiež tým, že  $\alpha$  - amyláza odbúra ešte tie dextríny, ktoré  $\beta$  - amyláza nerozkladá. (27, 28). Z podobnosti priebehu pH krivky sladovej amylázy s pH krivkou  $\beta$  - amylázy možno usudzovať, že pri pôsobení sladovej amylázy vystupuje do popredia účinok  $\beta$  - amylázy;  $\alpha$  - amyláza vystupuje tiež pre tento enzým charakteristickým spôsobom. (8). Podľa Ohlssona leží maximálna stabilita sladovej amylázy pri opt. pH = 5,6—5,8. (5). Klíčením obilnín zväčšuje sa obsah amylázy, takže slady obsahujú väčšie množstvo  $\alpha$  - a  $\beta$  - amylázy ako nevyklíčené obilniny. Je známe, že celkový obsah amylázy v slade (tzv. diastatická mohutnosť) nie je konštantnou hodnotou, ale závisí v značnej miere od podmienok prípravy sladu (sladovaní). Zmena diastatickej mohutnosti sladu je v skutočnosti výsledkom zmeny v obsahu  $\alpha$  - a  $\beta$  - amylázy v slade, resp. vo výluhu a tiež výsledkom zmeny pomeru  $\alpha$  - amylázy k  $\beta$  - amyláze vo slade, resp. v sladovom výluhu. Enzymatické vlastnosti sladových výluhov sú samozrejme vo veľkej miere závislé od obsahu jednotlivých v nich sa vyskytujúcich amyláz a od ich vzájomného pomeru. Najmä chovanie sa sladovej amylázy proti vyšším teplotám a proti zmenám



kyslosti v značnej miere je závislé od množstva v sladovom výluhu sa nachádzajúcej termostabilnej, resp. --- labilnej a acidostabilnej, resp. --- labilnej komponenty amylázy. V staršej literatúre zapodie-  
vajúcej sa štúdiom vlastností sladovej amylázy nebral sa dostatoč-  
ný zreteľ na tieto vlastnosti. Preto sa stretávame v nej s veľmi  
značne sa rozchádzajúcimi údajmi o vplyve teploty a kyslosti na  
aktivitu sladovej amylázy, ako aj o optimálnej teplote a optimálnej  
pH účinku sladovej amylázy. Diferencie v údajoch zdajú sa byť  
zapríčinené tým, že skúmané sladové výluhy obsahovali rôzne  
množstvá  $\alpha$ - a  $\beta$ -amylázy. Preto údaje staršej literatúry o vlast-  
nostiach sladovej amylázy, menovite čo sa týka vplyvu pH a vyš-  
ších teplôt, majú len podmienenú hodnotu. (26 a iné).

### *Pracovná hypotéza.*

Pri vypracovaní experimentálneho postupu vychádzal som  
z nasledujúcej úvahy: pri vyklíčení sa odohrávajúce chemické a fy-  
zikálne-chemické pochody sú do istej miery analogické pochodom,  
ktoré sa odohrávajú pri vylúhovaní jemne rozomletého zrna vodou.  
V oboch prípadoch nabobtnáva obsah zrna vodou, aktivuje sa  
činnosť enzýmov a ich sprievodných látok (aktivátorov, paralyzá-  
torov), stekutí, rozpúšťa a odbúra (hydrolyzuje) v zrne uložený,  
resp. z neho vylúhovaný škrob. Enzymatickým pochodom nedo-  
tknutá amyláza ostáva ako nadbytočná v zrne, resp. vo výluhu.  
Rozdiel medzi biologickým pochodom, t. j. vyklíčením a vylúho-  
vaním vodou spočíva v podstate v tom, že pri vyklíčení uvoľňuje  
sa takmer celý diastatický obsah a ostatné biochemické princípy  
zrna, kdežto pri vylúhovaní vodou len vo vode rozpustené množ-  
stvo enzýmu a biochemických princíпов. Môžeme síce, ako sa do-  
kázalo, (29, 4, 30, 31, 16, 32, 33, 34, 38), za prítomnosti proteoly-  
ticky alebo osmoticky pôsobiacich látok vo vylúhovacej vode, prá-  
ve tak ako vyklíčením, celý diastatický komplex vylúhovať, ale sa  
ukázalo, že priebeh hydrolýzy škrobu amylázou, ktorá sa z nevyklí-  
čených obilnín takýmto umelým spôsobom vylúhovala, líši sa od  
priebehu hydrolýzy škrobu amylázou, ktorá sa získala klíčením.  
Zdá sa, že tento rozdiel v mechanizme pôsobenia amyláz je zaprí-  
činený tým, že sa vyklíčením uvoľňujú také aktivátori (efektori,  
kynázy), ktoré menia mechanizmus účinku amyláz a ktoré sa ni-  
jakým spôsobom umele zo zrna neuvoľňujú. Výluhy pripravené  
z obilnín reprodukovujú teda len tie diastatické stavy, ktoré sú zo  
zrna vylúhovateľné vodou, resp. sú vo vode rozpustné. Usudzovať  
z nich o složení obilnín znamená poznať enzymatické slozenie obil-  
nín už v stave neprirodzenom, akým sa nám javia po priebehu ur-  
čitých pochodov za vylúhovania. Predpokladám, že za vylúhovania  
nastalé zmeny v složení zrna nie sú také veľké, že by vo význačnej  
miere skreslili skutočné pomery panujúce v obilninách. Preto  
môžeme bez dopustenia sa väčších chýb z enzymatických vlastností  
výluhov usudzovať o složení diastatického komplexu vyklíčených  
a nevyklíčených obilnín.

Predpokladal som, že amylytický účinok neporušeného diastatického komplexu prejaví sa jednak zmenou vlastností odbúraného škrobu a jednak tým, že obe aktívne komponenty budú prítomné v amylyze, ktorá po amylyze ostala vo výluhu neporušená. Zmena chemických vlastností škrobu dá sa zistiť z farebnej reakcie škrobu s jódovým roztokom a prítomnosť jednotlivých komponentov amylyzy, ktorá ostala vo výluhu procesom neporušená, dá sa dokázať pomocou kapilárnej analýzy. Z chemických vlastností  $\alpha$ - a  $\beta$ -amylyzy vyplývalo, že keď sa pôvodné složenie diastatického komplexu poruší inaktívaním  $\alpha$ - alebo  $\beta$ -amylyzy, následok prejaví sa v hydrolyze škrobu podľa toho, v akej miere bola príslušná amylyza na odbúraní makromolekúl škrobu zúčastnená. Keďže účasť závisí od množstva, resp. aktivity príslušnej amylyzy v diastatickom komplexe (celku), inaktívovanie jednej složky prejaví sa takým účinkom na škrobovej molekule, aký je charakteristický pre príslušnú složku. Tak napr. keď sa vo výluhu inaktivovala  $\beta$ -amylyza v roztoku ostávajúca  $\alpha$ -amylyza prejaví svoju prítomnosť, že ňou hydrolyzovaný škrob nezafarbí sa jódovým roztokom. Keď  $\alpha$ -amylyza vo výluhu prítomná nebola, chovanie škrobu sa proti jódovému roztoku nezmení. Z toho vyplývalo, že z výsledkov parciálnej analýzy diastatického komplexu prevedenej inaktívaním jednej z komponentov komplexu vhodným spôsobom môžeme aproximatívne zistiť složenie diastatického komplexu obilnín. Kapilárnou analýzou bude možno overiť si výsledky kvalitatívneho rozboru a kvantitatívnym stanovením účinku jednotlivých amylyz môžeme zistiť percentuálny obsah jednotlivých amylyz v diastatickom komplexe obilnín.

### *Složenie diastatického komplexu.*

#### *1. Stanovenie složenia na základe jódokolorimetrického sa chovania výluhov.*

Stanovenie zmien v chemickom složení škrobu obsaženého vo výluhoch pripravených pri rôznych vylúhovacích teplotách zo šrotov nevyklíčených obilnín slúžilo účelom orientačným. Rýchle prevediteľné pokusy mali informatívne zodpovedať otázkam, ktoré som si položil: či existujú badateľné rozdiely v složení diastatických komplexov rôznych obilnín a či  $\alpha$ -amylyza vyskytuje sa vo všetkých nevyklíčených obilninách v inaktívnej forme. Na tieto otázky nenašiel som v rozsiahlej literatúre o fytoamylyzách odpoveď. Zdá sa, že složení diastatického komplexu nevyklíčených obilnín nebolo ešte predmetom štúdia.

#### *Č a s ť p o k u s n á .*

Použitá metóda zakladá sa na inaktívaní  $\beta$ -amylyzy pri príprave výluhov z nevyklíčených alebo vyklíčených obilnín, zvyšovaním teploty vylúhovania obilného šrotu. Odstránením jednej a to obsahove najväčšej komponenty diastatického komplexu

prejavuje sa prítomnosť  $\alpha$  - amylázy scukrením makromolekúl škrobu obsiahnutého vo výluhu. Veľká citlivosť  $\beta$  - amylázy a pomerne veľká vzdornosť  $\alpha$  - amylázy proti vyšším teplotám umožníla jednoduchú a rýchlu prácu.

Enzymatický materiál pripravil sa jednoodhodinovým rmutovaním jemne rozomletých šrotov obilnín pochádzajúcich z maloobchodu, resp. na vzduchu sušených sladov s príslušne ohriatou vodou v temperovanej vodnej kúpeli; pripravily sa asi 10%-né výluhy, ktoré po rýchlom schladení dovážaním studenou vodou doplnily sa na uvedenú koncentráciu a sfiltravaly do číra. Kolorimetrický určené pH pohybovalo sa v medziach 5, 6--6,4.

Priebeh hyrolýzy škrobu posudzoval sa na základe zmeny zafarbenia n/100-jód-jódkaliumového roztoku vyvolaného čírym filtrátom výluhu opatrne pridávaného po stene skúmavky.

Pri voľbe vylúhovacej teploty vychádzal som z predpokladu, že teplota 37° a doba 60 minút podstatne neovplyvňuje prirodzené složenie diastatického komplexu. (37). Teplota 60° a doba 30 minút vystačí podľa Syniewského (4) na inaktivovanie  $\beta$ -amylázy. Teplota 50° a doba 60 minút mala za účel zachytiť istý prechod, t. j. čiastočné inaktivovanie  $\beta$  - amylázy.

Vzhľadom na to, že škrobový obsah skúšaných nevyklíčených obilnín je približne rovnaký (56) obnásajúci 50—65%, sladov 30—40% škrobu, sú výluhy z hľadiska obsahu škroboviny 5—6%, resp. 3—4%-né roztoky škrobu. Eventuálne sa vyskytujúce rozdiely v koncentracii škrobu sú pomerne malé a neovplyvňujú podstatne výsledky scukrenia škrobu.

Diastatická mohutnosť výluhov stanovila sa metódou Lintnerovou (38).

*P o k u s č. 1:*  $t^0$  = teplota,  $t$  = doba rmutovania v minútach, d. m. = diastatická mohutnosť v Lintnerových jednotkách.

Z výsledkov uvedených v tab. 1. dá sa konštatovať, že za vhodných vylúhovacích podmienok diastatický obsah výluhov vyklíčených i odpočívajúcich zrn obilnín úplne vystačí na premenu jódom sa farbících molekulárnych skupín vlastného škrobu do molekulárneho soslupenia, ktoré jódom nedáva farebnú reakciu.

Citlivosť výluhov nevyklíčených obilnín proti vyšším teplotám stúpa úmerne s diastatickou mohutnosťou. Najcitlivejším je diastatický komplex pšenice, najvzdornejším je komplex červeného prosa. Z toho sa dá usudzovať, že diastatické systémy nevyklíčených obilnín líšia sa od seba rôznym obsahom  $\beta$  - amylázy. Rozdiely v diastatickej mohutnosti výluhov nevyklíčených obilnín, vyjadrené v Lintnerových jednotkách, sú zapríčinené rôznym obsahom  $\beta$  - amylázy.

Pri teplote 50° a dobe 60 minút začína sa složenie diastatického komplexu meniť; u pšenice a raži následkom čiastočne sil-

Tabuľka č. 1.

| 10% -ný výluh                  | $t^0 = 37^0$<br>$t = 60'$ | $t^0 = 50^0$<br>$t = 60'$ | $t^0 = 60^0$<br>$t = 30'$ | d. m. |
|--------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|-------|
| pšenica                        | slabo hnedo-<br>červené   | hnedo-<br>červené         | tmavo-<br>červené         | 83,3  |
| raž                            | bezfarebné                | hnedo-<br>červené         |                           | 71,4  |
| jačmeň                         | bezfarebné                | bezfarebné                | hnedo-<br>červené         | 45,4  |
| ovos                           | bezfarebné                | bezfarebné                | slabo hnedo-<br>červené   | 2,74  |
| kukurica                       | bezfarebné                | bezfarebné                | slabo hnedo-<br>červené   | 1,0   |
| červené proso                  | bezfarebné                | bezfarebné                | bezfarebné                | 0,94  |
| sušený slad<br>liehovarský     | bezfarebné                | bezfarebné                | bezfarebné                | 97,4  |
| hvozdený slad<br>pívov. svetlý | bezfarebné                | bezfarebné                | bezfarebné                | 74,1  |

nejšieho inaktivovania  $\beta$  - amyláza, ako z jódokolorimetrického chovania sa výluhu plynie, nezúčastňuje sa alebo len malou mierou na odbúrání škrobu.

Pri teplote  $60^0$  a dobe 30 minút sa  $\beta$  - amyláza inaktívuje, takže sa prakticky nezúčastňuje na hydrolýze. Jódokolorimetrické chovanie sa výluhu je teda výsledkom účinku  $\alpha$  - amylázy.

Je známe, že vyklíčené obilniny, resp. slady obsahujú väčšie množstvo  $\alpha$  - amylázy ako obilniny odpočívajúce. (39). Jódokolorimetrické chovanie sa výluhu sladov pri vyššej teplote je výsledkom účinku väčšieho množstva  $\alpha$ -amylázy. Sladom podobné jódokolorimetrické chovanie vykazuje výluh z červeného prosa pripravený pri teplote  $60^0$  a doby 30 min. a o niečo horšie chovanie, slabšie zafarbenie, vykazuje výluh z nevyklíčenej kukurice a ovsu. Z toho vyplýva, že premena škrobovej molekuly jódovým roztokom nefarbiaceho sa (achroo-) soksúpenia je výsledkom účinku  $\alpha$  - amylázy.

Výsledky týchto orientačných pokusov poukazujú nielen na to, že relatívny obsah  $\alpha$ -amylázy vo výluhoch nevyklíčeného ovsu, kukurice a červeného prosa je väčší ako vo výluhoch pšenice, raže, jačmeňa, ale súčasne dokazujú, že v nevyklíčenom zrne ovsu, kukurice a červeného prosa je  $\alpha$ -amyláza prítomná v aktívnej forme. Složenie diastatického komplexu pšenice, raže a jačmeňa líši sa teda od

diastatického komplexu nevyklíčeného ovsu, kukurice a červeného prosa jednak väčším obsahom  $\alpha$  - amylázy a jednak formou v akej je táto prítomná.

Tento jednoduchý spôsob kvalitatívneho rozboru dosiaľ — podľa prístupnej odbornej literatúry — pre stanovenie složenía diastatického komplexu použitý nebol a predstavuje novinku na poli enzymatickej analytiky.

Výsledky týchto orientačných pokusov dávaly podnet na pokračovanie v práci a na vyšetrovanie složenía diastatických komplexov osvedčenými spôsobmi. Z týchto najvhodnejších zdal sa mi byť spôsob kapilárnej analytiky.

## 2. Stanovenia složenía diastatického komplexu, pomocou kapilárnej analytiky.

Princíp kapilárnej analytiky spočíva v rozdelení smesi látok na základe rôznej difúznej rýchlosti. Jednotlivé amylázy difundujú kapilármi želatino-škrobového gelu rozmanito rýchle a dostávajú sa tak do rôznych vzdialeností.  $\beta$  - amyláza difunduje rýchlejšie za jednotku časovú ako  $\alpha$  - amyláza, tým je rádius pôsobišťa väčší ako u  $\alpha$  - amylázy. Účinok difúznou cestou rozdelených amyláz prejaví sa na rôznych miestach želatino-škrobového gelu tým, že hydrolyzujú škrob im charakteristickým spôsobom. Z reakcie hydrolyzovaného škrobu s jódovým roztokom usudzujeme na druh účinnej amylázy.

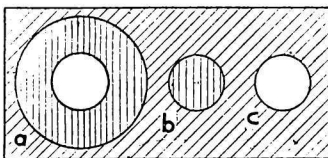
Túto metódu objavil Beyernick (1), a H. P. Wijsman ju použil ako prvý na kvalitatívne stanovenie obidvoch amyláz. Metódu zdokonalil Grüss (41).

Diastatické složenie prevážne vyklíčených semien študoval v poslednom čase van Klíngenbergr (8), ktorý uvádza aj výsledky Beyerinckových štúdií (42 cit. podľa 8), zaoberajúcej sa taktiež so složením diastatického komplexu vyklíčených semien. Vyklíčené zrná pšenice, raži, ovsu, kukurice, hrachu, fazule a viky obsahovali obe komponenty amylázy. Len u kukurici a hrachu bol obsah  $\beta$  - amylázy veľmi malý.

### Č a s ť p o k u s n á .

Enzymatický materiál pripravil sa vyššie popísaným spôsobom. Substrát pripravil sa takto: Smes pripravená rozpustením 8 gr. želatiny a 0,5 gr. rozpusteného škrobu Lintnerovho v 100 cm<sup>3</sup> vriacej destil. vody, naliala sa v tenkej vrstve do sterilných Petriho misiek, na ktorých v termostate stvrdla. Po privedení kvapky číreho filtrátu na tvrdú želatino-škrobovú dosičku uložily sa prikryté misky znovu do vyregulovaného termostatu, v ktorom pri teplote + 5<sup>0</sup> difundoval extrakt 4—5 dní. Potom sa obsah misky, predstavujúci 0,5% -ný škrobový roztok postriekal ústnym rozprašovačom n/10-roztokom jód-jódkaliumovým.

Výsledok amylolyzy javil sa na tmavo-belasej ploche alebo ako bezfarebný kruh obklopený purpúrovým prstencom ako dôkaz účinku  $\alpha$  a  $\beta$  - amylyázy, alebo ako bezfarebný kruh, t. j. účinok  $\alpha$  - amylyázy, resp. purpúrový kruh-účinok  $\beta$  - amylyázy.



Obraz difúzie jednotlivých amylyáz.

$a = \alpha + \beta$  amylyázy  $b = \beta$  amylyáza,  $c = \alpha$  amylyáza.

*Pokus č. 2:*  $t^0 =$  teplota,  $t =$  doba rmutovania v minútach.

Vysvetlenie značiek:  $\alpha\beta =$  prítomnosť,  $\alpha$  - a  $\beta$  - amylyázy.  $\alpha\beta_1 = \alpha$  - amylyáza prítomná v relatívne rovnakom  $\beta$  - amylyáza v pomerne menšom množstve ukazujúca sa ako fialový alebo hnedočervený okraj.  $\alpha\beta_2 = \alpha$  - amylyáza v relatívne rovnakom množstve,  $\beta$  - amylyáza javiaca sa v podobe veľmi slabého prúžku fialového, alebo hnedočerveného.

$\alpha = \alpha$  - amylyáza javiaca sa bez farebného okraja.

Tabuľka č. 2.

| 10%-ný výluh                       | $t^0 = 37^0$<br>$t = 60'$ | $t^0 = 50^0$<br>$t = 60'$ | $t^0 = 60^0$<br>$t = 30'$ | $t^0 = 60^0$<br>$t = 60'$ |
|------------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| pšenica                            | $\alpha\beta$             | $\alpha\beta_1$           | $\alpha\beta_2$           | $\alpha$                  |
| raž                                | $\alpha\beta$             | $\alpha\beta_1$           |                           |                           |
| jačmeň                             | $\alpha\beta$             | $\alpha\beta$             | $\alpha\beta_1$           | $\alpha$                  |
| ovos                               | $\alpha\beta$             | $\alpha$                  | $\alpha$                  | $\alpha$                  |
| kukurica                           | $\alpha\beta$             | $\alpha$                  | $\alpha$                  | $\alpha$                  |
| červené proso                      | $\alpha\beta_2$           | $\alpha$                  | $\alpha$                  | $\alpha$                  |
| suš. slad. liehov.                 | $\alpha\beta$             | $\alpha\beta$             | $\alpha$                  | $\alpha$                  |
| svetlý hvozdený<br>slad pivovarský | $\alpha\beta$             | $\alpha\beta$             | $\alpha$                  | $\alpha$                  |

Z uvedených výsledkov vyplýva, že:

1. výluhy nevyklíčených obilnín obsahujú ako  $\alpha$  - tak aj  $\beta$  - amylyázu,
2. Z veľkosti purpúrového krúžku obklopujúceho bezfarebný

kruh a z citlivosti proti vyšším teplotám dá sa súdiť na rozdielne veľký obsah  $\beta$  - amylázy v nevyklíčených obilninách.

### *Kvantitatívne stanovenia složenia diastatických komplexov nevyklíčených obilnín.*

Složenie diastatického komplexu jednotlivých nevyklíčených obilnín určilo sa na základe množstva maltózy, vytvoreného celým diastatickým komplexom a jeho jednotlivými komponentami zvlášť z 2%-ného roztoku škrobového. Množstvo maltózy stanovilo sa roztokom Fehlingovým. ( $5 \text{ cm}^3 = 36,82 \text{ mg}$  maltózy) (56).

*Príprava roztokov  $\alpha\beta$  - amylázy:* diala sa vyššiepopísaným spôsobom, t. j. 1 hodinovým rmutovaním pri teplote  $37^{\circ}$ .

*Príprava roztokov  $\alpha$  - amylázy:* roztok  $\alpha$  - amylázy pripravil sa zahrievaním číreho roztoku  $\alpha\beta$  - amylázy na teplotu  $70^{\circ}$  ( $\pm 0,5^{\circ}$ ) po dobu 15 minút (5). Vzniklá sraženina odstránila sa filtrovaním cez tvrdý filter.

Na rozdiel od Ohlssona (1. c. 5) pôvodný roztok  $\alpha\beta$  - amylázy sa neneutralizoval, aby sa pôvodné složenie diastatického komplexu vonkajším zásahom nezmenilo. Za týchto podmienok prípravy roztoky neobsahovali  $\alpha$  - glukozidázu (maltázu) (opt.  $t^{\circ} = 35-40^{\circ}$ ), (25), a skúška Barfoedovým činidlom na glukózu v škrobovom roztoku cukrenom  $\alpha$  - amylázou prebehla negatívne.

*Príprava roztoku  $\beta$  - amylázy* diala sa okyslením roztoku  $\alpha\beta$  - amylázy kyselinou soľnou na  $\text{pH} = 4,0-4,2$  (15) a po dobu 15 minútovom státi pri teplote  $20^{\circ}$ , neutralizovaním roztoku m/30 roztokom sekundárneho fosforečnanu sodného na pôvodné  $\text{pH}$ . Popis je uvedený pri jednotlivých tabuľkách. Výluhy neobsahovali  $\alpha$  - glukozidázu (opt.  $\text{pH} = 6,75-7,25$ ) (44).

*Príprava substrátu:* 2%-ný roztok rozpusteného škrobu (Merck) pripravený bol obvyklým spôsobom a pufrovaný octanovým regulátorom podľa Michaelisa (43),  $\text{pH}$  stanovil sa kolorimetricky.

*Stanovenie diastatického účinku:* pri prevedení cukrenia škrobového roztoku a stanovení vytvorenej maltózy menil sa postup práce podľa diastatickej účinnosti jednotlivých enzymatických roztokov, zistenéj orientačnými pokusmi. Pri diastaticky vysokoúčinných extraktov ( $\alpha\beta$  - a  $\beta$  - amylázy jačmeňa, pšenice, raži) pridávalo sa do konštantného množstva škrobového roztoku meniace sa množstvo enzymatického výluhu a po skončení amylolýzy použilo sa konštantného množstva Fehlingovho roztoku. Postupovalo sa takto: do rady skúmaviek nachádzajúcich sa v Reischauerovej hviezde, odpipetovalo sa  $10 \text{ cm}^3$  čerstve pripraveného regulovaného 2%-ného škrobového roztoku a toľko dest. vody, koľko sa spotrebovalo na dodržanie rovnakej koncentrácie roztokov vo všetkých skúmavkách. V presných, stopkami meraných časových intervaloch pridalo sa

jemne delenou pipetou v aritmetickej rade stupňovanej  $0,01 \text{ cm}^3$  také množstvo enzymatického roztoku, ktoré sa pri orientačných pokusoch ukázalo približne dostačujúce na redukciiu  $5 \text{ cm}^3$  Fehlingovho roztoku. Po zazátkovaní gumovými zátkami obsah skúmaviek sa po 20 a 40 minútach premiešal. Po 1 hodinovom scukrení pri teplote  $17,5^\circ$  prerušil sa proces pridaním  $5 \text{ cm}^3$  Fehlingovho roztoku a po premiešaní ponorily sa skúmavky na 10 minút do vriacej vodnej kúpele. Po ochladení na laboratórnu teplotu a usadení kysličníku mednatého posudzovala sa dokonalosť redukcie Fehlingovho roztoku zo zafarbenia obsahu skúmavky a prekontrolovala sa po okyslení bezfarebného filtrátu kyselinou octovou, ferrokyanidom draselným. V prípade slabého červeného zafarbenia, vzniklého následkom nedokonalnej redukcie, sa diastatickým výkonom enzymatického obsahu v pokusnej rade nasledujúcej skúmavky vytvorili  $36,82 \text{ mg}$  maltózy. Pri diastaticky slabou účinných roztokoch ( $\alpha\beta$  - amylázy ovsa, prosa a kukurice,  $\alpha$  - amyláza enzymatických materiálov) a pri vykonaní slepých pokusov (korekcie), pri dodržaní konštantného množstva škrobového a enzymatického roztoku variovalo sa množstvo pridávaného Fehlingovho roztoku, aby prílišným zriedením škrobového roztoku enzymatickým výluhom potrebným na redukciiu  $5 \text{ cm}^3$  Fehlingovej smesi zákonitosť priebehu hydrolýzy sa čo najmenej ovplyvnila. Postupovalo sa takto: do  $10 \text{ cm}^3$  regulovaného 2%-ného škrobového roztoku doplneného destil. vodou, potrebnou na dodržanie rovnakých koncentrácií obsahu skúmaviek, pridalo sa  $5 \text{ cm}^3$  enzymatického výluhu a scukrilo sa vyššie opísaným spôsobom. Proces prerušil sa pridaním v aritmetickej rade  $0,5 \text{ cm}^3$  ( $3,68 \text{ mg}$  maltózy) stupňovaným množstvom Fehlingovho roztoku.

Uvedený pomer enzemu a substrátu (1:2) a spôsob stanovenia reakčných produktov dodržal sa i pri predĺžení scukrovacej doby na 24 hodín.

*Stanovenie hodnoty korekcie:* obsahom enzymatických výluhov a 2%-ným škrobovým roztokom z Fehlingovej smesi vytvorené množstvom maltózy stanovilo sa slepými pokusmi vykonanými na spôsob hlavných pokusov. Stanovené hodnoty sa z nálezu odčítaly.

*Vyjadrenie diastatického účinku:* amylolytický účinok diastatického komplexu a jednotlivých komponentov je vyjadrený v mg maltózy, vytvorenej z 200 mg škrobu použitým váhovým množstvom enzymatického materiálu po odčítaní príslušných korekcií. Za účelom srovnania obsahu jednotlivých amyláz byly hodnoty prepočítané na 1 gr. šrotu a vzájomný pomer jednotlivých amyláz vyjadril sa %-uálne, pričom celkový účinok diastatického komplexu rovná sa 100%. Obsah  $\alpha$  - a  $\beta$  - amylázy je relatívnou hodnotou v pomere k celkovému obsahu  $\alpha\beta$  - amylázy.



Pri posudzovaní výkonu  $\alpha$  - alebo  $\beta$  - amylázy treba uvážiť, že zväčšenie výkonu jednej amylázy ovplyvnením druhej, ktoré by mohlo nastať v niektorých prípadoch prípadným neúplným oddelením jednej od druhej v jednotlivých roztokoch bude veľmi nepatrné. Vzhľadom na vysokú citlivosť  $\beta$  - amylázy voči teplote  $70^0$  a dobe 15 minút, pri ktorej aj časť  $\alpha$  - amylázy sa už inaktivuje, nie je pravdepodobné, že by eventuálne zostalé stopy  $\beta$  - amylázy výkon  $\alpha$  - amylázy podstatne ovplyvnili. Možný prehmat  $\alpha$  - amylázy pri stanovení  $\beta$  - amylázy eventuálne u niektorých na  $\alpha$  - amylázu bohatších výluhov bude sa javiť 100%-ov presahujúcim súčtom účinkov jednotlivých amyláz.

Výsledky sú uvedené v tabuľkách 3 až 8.

### P š e n i c a .

Použitá pšenica pochádzala z maloobchodu.

#### Tabuľka č. 3.

$\alpha\beta$  - amyláza: pripravený 20%-ný, použitý 10%-ný výluh; pH = 6,2.  $\beta$  - amyláza: 20 cm<sup>3</sup> 20%-ného výluhu okyslilo sa 2,4 cm<sup>3</sup> n/10-HCl + 17,6 cm<sup>3</sup> dest. vody — pH = 4,2; po 15 minútovom stáaní pri  $t^0 = 20^0$  pridala sa smes 7,0 cm<sup>3</sup> m/30 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> + 35 cm<sup>3</sup> dest. vody — pH = 6,0—6,1; koncentrácia roztoku 5%.

$\alpha$  - amyláza: 10%-ný výluh zohriaty po dobu 15 min. na  $t^0 = 70^0$  2%-ný škrobový roztok pufrovaný acetátovým regulátorom na pH = 5,5. Korekcia odčítaná.  $t^0 =$  teplota,  $t =$  doba v minútach, resp. hodinách.

| Druh amylázy           | množstvo šrotu použité pri stanovení gr | z 200 mg škrobu vytvorené množstvo maltózy pri $t^0 = 17,5^0$ $t = 60'$ mg | 1 gr. šrotu vytvorené množstvo maltózy mg | pomer jednotlivých amyláz % |
|------------------------|---|--|---|-----------------------------|
| $\alpha\beta$ -amyláza | 0,006                                   | 29,37  | 4,895,0                                   | 100                         |
| $\beta$ -amyláza       | 0,008                                   | 29,35  | 3,669,0                                   | 74,9                        |
| $\alpha$ -amyláza      | 0,760                                   | 18,28  | 24,0                                      | 0,49                        |
|                        |   | $t^0 = 17,5^0$<br>$t^0 = 24$ h   |   | 75,59 %                     |
| $\alpha$ -amyláza      | 0,760                                   | 0  | 0   | —                           |

Poznámka: pri príprave roztokov zničilo sa 24,61 % enzymu.

Použitá raž pochádzala z maloobchodu. Vzhľadom na zmazovanie pripravil sa výluh pri teplote 45<sup>0</sup>.

Tabuľka č. 4.

$\alpha\beta$  - amyláza: pripravený a použitý 10%-ný výluh; pH = 6,3  $\beta$  - amyláza: 20 cm<sup>3</sup> 10%-ného výluhu okysleného smesou 2,0 cm<sup>3</sup> n/10-HCl + 18,0 cm<sup>3</sup> dest. vody — pH = 4,1—4,2; po 15 min. stáni pri t<sup>0</sup> = 20<sup>0</sup> pridala sa smes 6,0 cm<sup>3</sup> m/30 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> + 34,0 cm<sup>3</sup> dest. vody, pH = 6,2—6,3; koncentrácia roztoku 2,5%.

$\alpha$  - amyláza: 10%-ný výluh zohriaty po dobu 15 min. t<sup>0</sup> — 70<sup>0</sup>. 2%-ný škrobový roztok pufrovaný acetátovým regulátorom na pH = 5,5. Korekcie odčítané. t<sup>0</sup> = teplota, t = doba v min., resp. hodinách.

| Druh amylázy           | množstvo šrotu použité pri stanovení<br>gr | z 200 mg škrobu vytvorené množstvo maltózy pri t <sup>0</sup> = 17,5 <sup>0</sup><br>t = 60'<br>mg | vytvorené množstvo maltózy<br>mg | pomer jednotlivých amyláz<br>% |
|------------------------|--|--|----------------------------------|--------------------------------|
| $\alpha\beta$ -amyláza | 0,007                                      | 29,36  | 4,194,0                          | 100                            |
| $\beta$ -amyláza       | 0,0095                                     | 29,32  | 3,086,0                          | 73,6                           |
| $\alpha$ -amyláza      | 0,9000                                     | 16,20  | 18,0                             | 0,43                           |
|                        |  | t <sup>0</sup> = 17,5 <sup>0</sup><br>t <sup>0</sup> = 24 h  |                                  | 74,03                          |
| $\alpha$ -amyláza      | 0,900                                      | 0  | 0                                | 0                              |

*Poznámka:* pri príprave roztokov zničilo sa 25,97% enzymu.

## J a č m e ň .

„zlató“ z veľkostatku Bučany.

Tabuľka č. 5.

$\alpha\beta$  - amyláza: pripravený 20%-ný použitý 10%-ný výluh pH = 6,1—6,2.

$\beta$  - amyláza: 30 cm<sup>3</sup> 20%-ného výluhu okysleného smesou 4,2 cm<sup>3</sup> n/10-HCl + 25,80 cm<sup>3</sup> dest. vody—pH = 4,1—4,2; po 15 min. stáni pri t<sup>0</sup> = 20<sup>0</sup> pridala sa smes 12 cm<sup>3</sup> m/30 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> + 48 cm<sup>3</sup> dest. vody, pH = 6,0; koncentrácia roztoku 5%.

$\alpha$  - amyláza: 20%-ný výluh zohriay po dobu 15 min. na t<sup>0</sup> = 70<sup>0</sup>. 2%-ný škrobový roztok pufrovaný acetátovým regulátorom na pH = 5,5. Korekcia odčítaná. t<sup>0</sup> = teplota; t = doba v min. resp. hodinách.

| Druh amylázy           | množstvo šrotu použité pri stanovení<br>gr | z 200 mg škrobu vytvorené množstvo maltózy pri $t^0 = 17,5^0$<br>$t = 60'$<br>mg | 1 gr. šrotu vytvorené množstvo maltózy<br>mg | omer jednotlivých amyláz<br>% |
|------------------------|--|--|--|-------------------------------|
| $\alpha\beta$ -amyláza | 0,011                                      | 29,30  | 2,664,0                                      | 100                           |
| $\beta$ -amyláza       | 0,0125                                     | 29,28  | 2,342,0                                      | 87,91                         |
| $\alpha$ -amyláza      | 1,00                                       | 14,92  | 14,92  | 0,56                          |
|                        |  | $t^0 = 17,5^0$ ;<br>$t^0 = 24$ h   |  | 88,47                         |
| $\alpha$ -amyláza      | 1,00                                       | 0  | 0  | —                             |

*Poznámka:* pri príprave roztokov zničilo sa 11,53 % enzýmu.

Ako z výsledkov zostavených v tab. 3, 4, a 5 vyplýva diastaticky vysoko účinné obilniny obsahujú v pomere k  $\beta$  - amyláze mimoriadne množstvo  $\alpha$  - amylázy. Vzhľadom na to, že predĺžením scukrovacej doby na 24 hodín sa množstvo  $\alpha$  - amylázou vytvorenej maltózy nezmenilo, môže sa považovať za potvrdené, že  $\alpha$  - amyláza nachádza sa v inaktívnej forme nielen vo výluhu z jačmeňa, ale aj vo výluhu pšenice a raži. Následkom toho je odbúranie škrobového roztoku výluhmi pšenice, raži a jačmeňa výsledkom pôsobenia  $\beta$  - amylázy. Vysoká diastatická účinnosť týchto obilnín je vyvolaná pomerne veľkým množstvom  $\beta$  - amylázy; ich diastatický komplex pozostáva v podstate z  $\beta$  - amylázy a zo stôp inaktívnej  $\alpha$  - amylázy.

## O v o s .

„zlato“ z veľkostatku Bučany.

Tabuľka č. 6.

$\alpha\beta$  - amyláza: pripravený a použitý 20% -ný výluh; pH = 6,0–6,1.  $\beta$  - amyláza: 20 cm<sup>3</sup> 20%-ného roztoku okyslenej smesou 1,2 cm<sup>3</sup> n/10-HCl + 18,8 cm<sup>3</sup> destilovanej vody — pH = 4,2; po 15 min. stání pri  $t^0 = 20^0$  pridala sa smes 4,0 cm<sup>3</sup> m/30 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> + 36,0 cm<sup>3</sup> dest. vody; koncentrácia roztoku 5%. pH = 6,1–6,2.

$\alpha$  - amyláza: 20% -ný výluh zohrievaný po dobu 15. min. na  $t^0 = 70^0$ . 2% -ný škrobový roztok purifikovaný acetátovým regulátorom na pH = 5,5. Korekcia odčítaná.  $t^0 =$  teplota;  $t =$  doba v min. resp. hodinách.

| Druh amylázy           | množstvo šrotu použité pri stanovení<br>gr | z 200 mg škrobu vytvorené množstvo maltózy pri $t^0 = 17,5^0$<br>$t = 60'$<br>mg | 1 gr. šrotu vytvorené množstvo maltózy<br>mg | pomer jednotlivých amyláz<br>% |
|------------------------|--|--|--|--------------------------------|
| $\alpha\beta$ -amyláza | 0,184                                      | 2,33   | 116,0  | 100                            |
| $\beta$ -amyláza       | 0,190                                      | 21,07  | 110,9  | 95,6                           |
| $\alpha$ -amyláza      | 0,500                                      | 2,56   | 8,53   | 7,36                           |
|                        |  | $t^0 = 17,5^0$ ;<br>$t^0 = 24$ h   |  | 102,95                         |
| $\alpha$ -amyláza      | 0,170                                      | 8,69   | 51,10  | 31,0                           |
| $\alpha\beta$ -amyláza | 0,170                                      | 28,12  | 165,30                                       | 100,0                          |

*Poznámka:* prehmat 2,95%.

Ako z uvedeného zostavenia vyplýva, je diastatický obsah ovsu oveľa menší ako predchádzajúcich obilnín. Absolútny obsah  $\alpha$ -amylázy v diastatickom komplexe ovsu pohybuje sa zdanlivo v medziach obsahov vyššieuvedených obilnín, relatívny obsah vzhľadom na celkovo menšiu diastatickú účinnosť je väčší. Z toho možno usudzovať, že menší amylolytický výkon diastatického komplexu ovsu je zapríčinený menším obsahom  $\beta$ -amylázy vo výluhu, resp. v zrne.

Predĺžením doby hydrolýzy zväčší sa ako  $\alpha$  - tak aj  $\alpha\beta$  - amylázou vytvorené množstvo maltózy. Tento výsledok nasvedčuje tomu, že skutočný diastatický obsah ovsu je oveľa väčší, než akým sa ukazuje pri krátkodobej hydrolýze. Pri predĺžení hydrolýzy vytvorené väčšie množstvo maltózy nasvedčuje tomu, že diastatický komplex ovsu líši sa složením látok sprevádzajúcich aktívnu molekulu enzýmu od slozenia biokolloidov pšenice, raži a jačmeňa. Kým diastatický komplex vysoko diastatický účinných obilnín vylúhovaním nachádza sa ihneď v aktívnom stave, ktorý sa môže dobre charakterizovať rýchlosťou hydrolýzy, nachádza sa komplex ovsu v roztoku v takej podobe, ktorá nemôže byť podchytená, resp. vyjadrená reakčnou rýchlosťou, pretože aktivita (výkon) diastatického komplexu sa postupne zväčšuje a stáva sa až k dosiahnutiu odbúranej hranice funkciou trvania hydrolýzy. Prítomnosť  $\alpha$ -amylázy v aktívnej forme v nevyklíčenom zrne ovsu je dokázaná tým, že pri predĺžení doby hydrolýzy výkon  $\alpha$ -amylázy vyjadrený množstvom vytvorenej maltózy sa takmer 6násobne zväčší a odsehuje 31% celkového výkonu  $\alpha\beta$ -amylázy. Slozenie diastatického komplexu ovsu líši sa väčším obsahom  $\alpha$ - a menším množstvom  $\beta$ -amylázy od diastatického komplexu pšenice, raži a jačmeňa.

## K u k u r i c a .

Použil sa druh „Popping Korn” z maloobchodu.

Tabuľka č. 7.

$\alpha\beta$  - amylázy: pripravený a použitý 20%-ný výluh; pH = 6,2.  $\beta$  - amyláza: 20 cm<sup>3</sup> 20%-ného výluhu okyslilo sa smesou 1,6 cm<sup>3</sup> n/10-HCl + 18,4 cm<sup>3</sup> dest. vody, pH = 4,1—4,2; po 15 min. stání pri t<sup>0</sup> = 20<sup>0</sup> pridala sa smes 4,8 cm<sup>3</sup> m/30 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> + 35,2 cm<sup>3</sup> dest. vody; pH = 6,1—6,2; koncentrácia roztoku 5% .

$\alpha$  - amyláza: 20%-ný výluh zohrievaný po dobu 15 min. na t<sup>0</sup> = 70<sup>0</sup>. 2%-ný škrobový roztok pufrovaný acetátovým regulátorom na pH = 5,5. Korekcia odčítaná. t<sup>0</sup> = teplota; t = doba v min resp. v hodinách.

| Druh amylázy           | množstvo šrotu použité pri stanovení<br>gr | z 200 mg škrobu vytvorené množstvo maltózy pri<br>t <sup>0</sup> = 17,5 <sup>0</sup><br>t <sup>0</sup> = 60'<br>mg | 1 gr. šrotu vytvorené množstvo maltózy<br>mg | pomer jednotlivých amyláz<br>% |
|------------------------|--|--|--|--------------------------------|
| $\alpha\beta$ -amyláza | 0,500                                      | 14,73  | 29,46  | 100,0                          |
| $\beta$ -amyláza       | 0,600                                      | 7,37   | 12,30  | 41,7                           |
| $\alpha$ -amyláza      | 0,434                                      | 0  | 0  | —                              |
|                        |  | t <sup>0</sup> = 17,5 <sup>0</sup><br>t <sup>0</sup> = 24 h  |  | 41,70                          |
| $\alpha$ -amyláza      | 0,500                                      | 23,56  | 78,5   | 45,40                          |
| $\alpha\beta$ -amyláza | 0,170                                      | 29,34  | 172,60                                       | 100,0                          |

*Poznámka:* pri príprave roztokov zničilo sa 58,4% enzymu.

Diastatický účinok kukurice posúdený na základe rýchlosti hydrolýzy, resp. za 1 hod. vytvoreného množstva maltózy je veľmi slabý. V diastatickom komplexe obsažené množstvo  $\beta$  - amylázy nedá sa odhadnúť následkom pomerne veľkého množstva pri príprave výluhov zničeného enzymu. Obsah  $\alpha$  - amylázy je taký nepatrný, že použitou metódou nedal sa zistiť. Jej prítomnosť je však dokázaná kapilárne-analyticky (tab. 2) aj jódokolorimetricky (tab. 2).

Z kukurice vylúžený diastatický komplex pri 24 hodinovom trvaní hydrolýzy vykazuje podobné vlastnosti ako výluh ovsa. Zväčšenie množstva  $\alpha$  - amylázou vytvorenej maltózy nasvedčuje, že  $\alpha$  - amyláza nachádza sa vo výluhu v aktívnej podobe. Predĺžením doby hydrolýzy sa jej výkon 6-násobne zväčší a dosahuje 45%

výkonu celého komplexu. Diastatický komplex kukurice líši sa od pšenice, raži a jačmeňa väčším množstvom  $\alpha$  - amylázy a menším obsahom  $\beta$  - amylázy.

### P r o s o .

Použitý druh „červené proso“ pochádzal z veľkostatku Dubnica.

#### Tabuľka č. 8.

$\alpha\beta$  - amyláza: pripravený a použitý 20%-ný výluh pH = 6,1,6,2.  $\beta$  - amyláza: 20 cm<sup>3</sup> 20 %-ného výluhu okyselilo sa smesou 2,8 cm<sup>3</sup> n/10 HCl + 17,2 cm<sup>3</sup> dest. vody; pH = 4,2; po 15. min. stání pri t<sup>0</sup> = 20<sup>0</sup> pridala sa smes 7,6 cm<sup>3</sup> m/30 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> + 42,4 cm<sup>3</sup> dest. vody pH = 6,0—6,1. Koncentrácia roztoku 4,44 %.

$\alpha$  - amyláza: 20 %-ný výluh zohriaty po dobu 15 min. na t<sup>0</sup> = 70<sup>0</sup>. 2 %-ný škrobový roztok pufrovaný acetátovým regulátorom na pH = 5,5. Korekcia odčítaná. t<sup>0</sup> = teplota; t = doba v min. resp. hodinách.

| Druh amylázy           | množstvo šrotu použité pri stanovení<br>gr | z 200 mg škrobu vytvorené množstvo maltózy pri t <sup>0</sup> = 17,5 <sup>0</sup> ; t = 60' mg | 1 gr. šrotu vytvorené množstvo maltózy<br>mg | pomer jednotlivých amyláz<br>% |
|------------------------|--|--|--|--------------------------------|
| $\alpha\beta$ -amyláza | 0,530                                      | 25,56  | 48,20  | 100,0                          |
| $\beta$ -amyláza       | 0,682                                      | 24,44  | 35,80  | 74,20                          |
| $\alpha$ -amyláza      | 1,000                                      | 22,10  | 22,10  | 43,80                          |
| $\alpha$ -amyláza      | —  | t <sup>0</sup> = 17,5 <sup>0</sup> ;<br>t <sup>0</sup> = 24 h                                  | —  | 118,0                          |
| $\alpha\beta$ -amyláza | 0,160                                      | 117,30   | 735,0  | 100,0                          |

*Poznámka:* prehmat 18 %.

Z celej rady skúmaných druhov prosa vykazuje táto odruda najväčšiu diastatickú mohutnosť, hoci aj táto je v porovnaní s diastatickou účinnosťou pšenice, raži a jačmeňa veľmi malá.

Výluh prosa vlastnosťami sa podobá ovsu a kukurici, líši sa však tým, že  $\alpha$  - amyláza je v aktívnejšom stave, nakoľko už po 1-hodinovom pôsobení vytvára pomerne značné množstvo maltózy. Následkom toho zdalo sa zbytočným jej aktivitu zisťovať 24-hodinovým sušením. Prehmat jednotlivých amyláz, pravdepodobne  $\beta$  - amyláz, nie je taký veľký, že by znehodnotil zistené výsledky.

Výluh obsahuje aktívnu  $\alpha$  - amylázu; diastatický komplex červeného prosa líši sa od diastatických komplexov vysokodiastaticky účinných obilnín väčším obsahom  $\alpha$  - amylázy a menším množstvom  $\beta$  - amylázy v nevyklíčenom zrne.

#### S ú h r n .

1. Nevyklíčené obilniny obsahujú tak  $\alpha$  - ako aj  $\beta$  - amylázu.
2. Narozdiel od pšenice, raži a jačmeňa, ktoré obsahujú inaktívnu  $\alpha$  - amylázu, nevyklíčené zrná ovsá, prosa a kukurice obsahujú aktívnu  $\alpha$  - amylázu.
3. Diastatický komplex nevyklíčenej pšenice, raži a jačmeňa skladá sa z veľkého množstva aktívnej  $\beta$  - a zo stôp inaktívnej  $\alpha$  - amylázy. V diastatickom komplexe nevyklíčeného ovsá, kukurice a červeného prosa vyskytujú sa oba komponenty amylázy v aktívnej forme.

#### S u m m a r y .

##### *A contribution to the recognition of vegetable amylases I.*

The ungerminated cerealia contain both the  $\alpha$  - and the  $\beta$  - amylases. In contradistinction to wheat, rye and barley, which contain the inactive  $\alpha$  - amylase, the ungerminated grains of oats, millet and maize contain the active  $\alpha$  - amylase.

The diastatic complex of ungerminated wheat, rye and barley consists of a great quantity of active  $\beta$  - amylase, and of traces of inactive  $\alpha$  - amylase. In the diastatic complex of ungerminated oats, maize and red millet occur both components of amylase in active form.

#### L i t e r a t ú r a :

1. **Beyernick**, Zentrbl. Bakter. 1. 1889.
2. **Wijsmann**, Rec. 9. 1890.
3. **Kuhn**, Liebigs Ann. d. Chem. 443, 1925.
4. **Syniewsky**, Biochemische Zeitschrift, 158, 162/1925, 192/1928 (skratka Bio. Z.)
5. **Ohlsson**, Hoppe-Seylers Zeitschrift für physiolog. Chemie 189, 1930.
6. **Edtfeld-Nordh-Swaetichin**, Bio. Z. 223, 1930.
7. **Waldschmidt-Leitz-Purr**, Z. f. physiolog. Chem. 205, 1931, 213, 1932.
8. **Klinkenberg**, Z. f. physiolog. Chem. 209, 212, 1932.
9. **Holmberg**, Bio. Z. 258, 266, 1933. (Chem. Zentralblatt I. 2078, 1933).
10. **Lüers-Rümmler**, Wochschr. f. Brauerei, 50, 1933.
11. **Ohlsson-Nordh**, Z. f. physiolog. Chem. 204, 1932.
12. **Waldschmidt-Leitz-Purr**, Böhmische Bierbrauer 60, 1933.
13. **Freemaun-Hopkins**, Biochem. Journal, 30, 1936 (angl.).
14. **K. Mayer-M. Klinga-Mayer**, Z. f. physiolog. Chem. 267, 1940.
15. **Blom-Back-Braere**, Z. f. physiolog. Chem. 250, 1937.
16. **Lüers-Rümmler**, Wochschr. f. Brauerei, 50, 1933.
20. **Blom. Back-Braae**, Z. f. physiolog. Chem. 241, 1936.
21. **Samec-Waldschmidt-Leitz**, Z. f. physiolog. Chem. 248, 1936.
22. **Willstätter-Waldschmidt-Leitz**, Z. f. phys. Chem. 126/1922—23..
23. **Lüers-Lochner**-Wochschr. Brauerei, 50, 1933.
24. **Weidenhagen-Nordh**, Handbuch d. Enzymologie, Leipzig 1940 I. sv. str. 562
25. **Waldschmidt-Leitz-Reichel.Purr**, Naturwissenschaften, 20. 1932.

26. Hesse, Enzymatische Technologie d. Gärungsindustrien. I. sv. Technologie der Fermente, Verl. Thieme, Leipzig 1929, str. 56—62.
27. Th. Sabalitschka, Abderhaldens Handb. d. bioch. Arbeitsmethoden, Abt. IV., Teil ½, str. 2470, 1936.
28. K. Myrbäck, Bio. Z. 285, 1936.
29. Blise-Sandtaedt-Keen, Cereal Chem. 15, 1938.
30. Ford-Guthrie, Journal Industrie Brewing, 14, 1908.
31. Baker-Hulton, J. chem. Soc. London, 121, 1932.
32. Weichherz-Asmus, Bio. Z. 237, 1951.
33. K. a S. Myrbäck, Bio. Z. 258, 1933.
34. Chrzaszcz-Janicki, Bio. Z. 260, 263—4, 5, 1930, 272, 274, 1934, 278, 1935.
35. K. Myrbäck, Bio. Z. 285, 1936.
36. Myrbeck-Oertenblad, Enzymologia, 2, 305, 1937.
37. Jozsa-Gore, Ind Eng. Chem., 24, 1932.
38. Euler-Svanberg, Z. f. physiol. Chem. 112, 1921.
39. Foth, Hand. d. Spiritusfabrikation, Berlin, 1929.
40. Ohlsson-Udenberg, Z. f. physiol. Chem. 221, 1933.
41. Ohlsson-Edtfeld, Z. f. physiol. Chem. 221, 1933.
42. Bourquelot, Compl. Rend. Acad. Science, 1887.
43. Grüss, Nachweis d. Fermente in biologischen Objekten. Capilarisation der Fermente, Oppenheimer — Pincussen Die Fermente u. ihre Wirkungen. III. sv. Thieme, Leipzig 1929.
44. Beyrerneck, Ztbl. Bakter. 1, 1895.
56. Bamann-Salzer, Erg. der. Enzymforsch. sv. 6, 1938.
57. Willstätter-Rhodewald, Z. f. physiol. Chem. 229, 1934.
58. Syniewski, Bio. Z. 253, 1932.
59. Illustrierter Brennerlexikon Parey. Berlin 1915.
60. Handbuch der Katalyse, G. M. Schvab, III. sv. Biokatalyse str. 118, Springer, Wien 1941.
61. Polak-Tychowsky, Bio. Z. 1929, 1928.
62. Atti X Cong. int. Chim. Roma 5 (1938) 129.
63. K. H. Meyer u. N. Mark: Der Aufbau der hochpolymeren organischen Naturstoffe, S. 212, 213, Leipzig, 1930.
64. Staudinger, Ber. dtsh. chem. Ges. 69/3, 1936, Liebigs Ann. Chem. 527, 1973.

## NOVÉ KNIHY A ČASOPISY

*CHEMICAL ABSTRACTS*, odborná periodická publikácia, ktorú vydáva *The American Chemical Society*. Vychádza dva razy do mesiaca. Formát 190×250 mm. Ročné predplatné pre nečlenov Kčs 936.— (\$ 12.00 + poštovné \$ 2.40).

Orientovať sa v súčasnej chemickej literatúre je práca veľmi namáhavá a obťažná. Veď odborných časopisov a iných publikácií, zaoberajúcich sa či už sústavne alebo iba príležitostne chémiou, vychádza na celom svete takmer neprehľadné množstvo. Zaoberať všetky tieto publikácie, ktoré sú niekedy vonkoncom neprístupné, alebo dochádzajú iba s veľkým oneskorením, je úloha veľmi nákladná, a nepodariť sa ju často splniť ani mnohým neobyčajne bohato dotovaným knižniciam.

Avšak nie je ani možné, aby si každý chemický pracovník všetky tieto či už v dávnejšej minulosti, alebo v súčasnej dobe vydané publikácie prečítal, aby zistil, čo všetko sa už na probléme,