

166. **H. v. Euler und K. Josephson: Saccharase (II.).**

[Aus d. Biochem. Laborat. d. Universität Stockholm.]

(Eingegangen am 26. März 1923.)

Untersuchungen über die chemische Zusammensetzung von Enzym-Präparaten kommt erst dann ein Wert zu, wenn es auf Grund genügender experimenteller Anhaltspunkte möglich wird, mit einiger Sicherheit zu entscheiden, welche Reaktionen der Präparate von Verunreinigungen und welche vom Enzym selbst herrühren. Wir müssen hier zwei zu lösende Aufgaben unterscheiden: Erstens ist der spezifisch aktive Enzymanteil, der Enzymkern, festzustellen, welcher zusammen mit anderen, die Eigenschaften des Enzyms (Stabilität usw.) bestimmenden Gruppen das natürliche Enzym bildet, und zweitens ist diese letztere Verbindung, also das Gesamtzym, von solchen Begleitern abzugrenzen und zu befreien, die nicht wesentlich zu ihm gehören und deren Anwesenheit in Präparat oder Lösung nur durch die Beschaffenheit des Ausgangsmaterials und die Art der Reinigungsarbeit bedingt ist.

Eine wesentliche Bedeutung gewinnen analytische Untersuchungen an Enzym-Präparaten dann, wenn gezeigt werden kann, daß ein darin analytisch nachgewiesenes Element oder eine organische Gruppe stets in bestimmter Menge in das Enzym-Präparat eingeht, insofern Proportionalität zwischen einem solchen Element usw. und der enzymatischen Aktivität besteht. Natürlich ist kaum zu erwarten, daß eine solche Proportionalität ganz scharf hervortritt, da ja immer ein Teil des Enzyms in inaktiviertem Zustand vorliegen kann. Immerhin scheint uns nur im Fall einer wenigstens angenäherten Proportionalität eine beachtenswerte Wahrscheinlichkeit dafür vorzuliegen, daß das betreffende Element dem Totalenzym selbst angehört. Falls der Enzymgehalt des Präparates nur einen Bruchteil der gesamten Substanzmenge ausmacht und die Verunreinigungen das gleiche Element enthalten, so kann offenbar die Annahme der Proportionalität nicht aufrecht erhalten werden.

Bei unseren Untersuchungen über das Enzym Saccharase haben wir in einigen Fällen eine derartige Proportionalität gefunden, nämlich hinsichtlich des Stickstoff- und Schwefel-Gehaltes der hochaktiven Saccharase-Präparate, worüber im Folgenden die Versuchsdaten mitgeteilt werden.

In zwei vorhergehenden Arbeiten¹⁾ sind die Methoden, welche zu unseren reinsten Präparaten geführt haben, beschrieben worden. Bei der erneuten Anwendung dieser Methoden haben wir neue Präparate vom gleich hohen Reinheitsgrad erhalten. Den Gang der Reinigung bei diesen neuen Versuchen stellen wir in gleicher Weise wie früher in Tabellen zusammen. Aus der Bezeichnung der Präparate kann im übrigen das in jedem Fall angewandte Reinigungsverfahren direkt entnommen werden²⁾.

Die Sorptionen wurden mit den auf 20—50 l verd. Enzymlösungen vorgenommen. Zur Elution wurde Arseniat + Ammoniak verwendet.

Mit diesen Methoden scheint man allgemein einen Reinheitsgrad der Saccharase erreichen zu können, welcher wenigstens dem tausendfachen Wert entspricht, in welchem die Saccharase in unserm Ausgangsmaterial, »Unterhefe H« vorkommt (Mittelwert von $I_f = 0.2$).

¹⁾ Euler und Josephson, B. 56, 446 und 453 [1923].²⁾ Josephson, Sv. Vt. Akad. Arkiv f. Kemi 8, Nr. 26 [1922/23].

Reinigung der Autolyse-Säfte XI und XII.

Präparat ³⁾	Vol. ccm	k. 10 ⁴ pro ccm	Ausbeute bei der betreff. Methode	Ausbeute vom Saccharase- Gehalt des Autolyse- Saftes	If
			‰	‰	
Autolyse-Saft XI	7350	70	—	100	0.3
XIa	2100	226	92	92	2.8
XIaA nicht dialysiert	2300	137	66	61	—
XIaAA vor der Dialyse	1500	155	74	45	—
XIaAA 3½ Tage dialysiert	1500	146	94	42.5	108
XIaAAK nicht dialysiert	1850	55	47	20	—
XIaAAKA 6 Tage dialysiert	770	58	44	9	200— 210
Autolyse-Saft XII	14300	50	—	100	0.3
XIIa	2700	217	82	82	3.4
XIIaA vor der Dialyse	2050	203	70	57	—
XIIaA 14 Stdn. dialysiert	2050	196	97	55	—
XIIaAK nicht dialysiert	1850	104	47	26	—
XIIaAK 8 Tage dialysiert (720 ccm)	720	106	100	—	140
XIIaAK 1100 ccm mit Al(OH) ₃ adsorbiert	540	120	56	—	—
XIIaAKA vor der Dialyse	540	98	82	(12) ^{3a)}	220

Was die Berechnung des Reinheitsgrades (If bzw. Zeitwert) betrifft, so führen wir dieselbe stets auf Grund desjenigen Wertes der Inversionskonstanten aus, welche nach der Dialyse erhalten wird. Nach unseren Erfahrungen rührt nämlich eine verminderte Inversionsfähigkeit nach der Dialyse nicht immer von einer teilweisen Inaktivierung der Saccharase her, sondern beruht in manchen Fällen auch auf der Sorption des Enzyms in der Dialysier-Membran oder auf einem Verlust, welcher durch eine gewisse Durchlässigkeit der Hülse für Saccharase bedingt ist. Als das richtigste Maß für den Gehalt eines Präparats an Enzym müssen wir also (so lange nicht rein analytische Untersuchungen zur Anwendung kommen können) den Wert betrachten, welcher aus der Inversionsfähigkeit nach der Dialyse, aber vor dem Eindunsten erhalten wird⁴⁾.

Stabilität von Saccharase-Lösungen und Darstellung von Trockenpräparaten.

Die Saccharase-Lösung XIIaAKA (If = 220) zeigte während 3 Wochen keine Schwächung der Aktivität. Beim Eindunsten im Vakuum von 0.02% auf 0.6% zeigte die Aktivität keine Veränderung. Trotz des hohen Reinheitsgrades war das Enzym also vollständig stabil. Die Lösung XIIaAKA (ursprüngl. If = 140) wurde während 3 Wochen unter Toluol aufbewahrt und hierauf von 0.03% auf 0.56% eingedunstet, wobei If von 140 auf 117 sank. Hierauf wurde das Eindampfen der Lösung fortgesetzt, bis die Lösung 10-proz. war, hierauf auf 5% verdünnt, schließlich mit absol. Alkohol gefällt und mit absol. Alkohol einmal gewaschen; der Alkohol wurde durch Äther ersetzt und der Äther im Vakuum-Exsiccator entfernt. Das so erhaltene Trockenpräparat zeigte nach Wiederauflösung im Wasser If = 97. Die Schwächung der Aktivität bei der Ausfällung und der weiteren Behandlung war also nicht mehr erheblich.

³⁾ a = Alkoholfällung; A = Aluminiumhydroxyd; K = Kaolin-Adsorption.

^{3a)} Berechnet für 1850 ccm XIIaAK.

⁴⁾ vergl. hierzu Willstätter, Graser und Kuhn, H. 123, 1 u. zw. 37 [1922].

Es verdient vielleicht erwähnt zu werden, daß die 10-proz. Saccharase-Lösung schwach braun gefärbt, ein wenig trübe und dickflüssig war.

Die Ausfällung der Saccharase schien vollständig zu sein. Der Stickstoff-Gehalt im ausgefällten Präparat war beinahe identisch mit dem vor der Fällung.

Farbenreaktionen: Die durch die erwähnten Methoden gereinigten Präparate zeigten eine Molisch-Reaktion, welche an Intensität mit steigendem Reinheitsgrad deutlich abnahm. Hieraus könnte man den Schluß ziehen, daß die wesentlichste Verunreinigung, welche die verschiedenen Präparate ($If > 100$) unterschied, aus einem Kohlenhydrat bestand. Da im Folgenden gezeigt werden wird, daß der N-Gehalt mit dem Reinheitsgrad proportional ist, waren die Verunreinigungen höchstwahrscheinlich stickstoff-frei.

Bei der Untersuchung der Eiweißreaktionen wurden folgende Resultate erhalten: Das Präparat XIaAKA ($If = 200$) gab bei der Untersuchung der 0.25-proz. Lösung eine gelbbraune Färbung mit Millons Reagens. Die Biuret-Reaktion war nicht deutlich zu beobachten. Die 2.5-proz. Lösung gab dagegen eine vollkommen deutliche Biuret-Reaktion, während Millons Reagens auch jetzt noch nur eine gelbbraune Färbung hervorrief. Das Präparat XIIaAKA ($If = 220$) gab bei der Untersuchung der 0.6-proz. Lösung mit Millons Reagens gelbbraune Färbung; die Xanthoprotein-Reaktion, die Biuret-Reaktion und die Ninhydrin-Reaktion fielen alle positiv aus.

In hinreichend konz. Lösungen gaben somit auch diese Präparate die typischen Eiweiß-Reaktionen.

Reaktion des Saccharase-Präparates mit Diazoniumsalz: Benzoldiazoniumchlorid gab mit dem Präparat XIIaAKA ($If = 140$) bei Zusatz von Soda eine rote Färbung, die mit Äther nicht extrahierbar war. Von anderen untersuchten Stoffen zeigte Witte-Pepton eine ähnliche Färbung, welche beim Schütteln mit Äther ebenfalls nicht in die Ätherschicht ging.

2.4-Dichlor-benzoldiazoniumchlorid gab mit gleichem Präparat Orangefärbung. Beim Ansäuern mit Salzsäure blieb die Färbung unverändert. Nach Schütteln mit Äther trat in der Grenzschicht zwischen der wäßrigen und der ätherischen Lösung ein roter oder orangefarbener Ring auf. Falls die Färbung auf einer Verunreinigung beruht, scheint der gebildete Farbstoff von der kolloiden Saccharase stark adsorbiert zu werden und kann dadurch nicht in die Ätherschicht übergehen. Pepton gab eine orangefarbene bis rote Färbung und beim Ansäuern mit Salzsäure fiel ein roter Farbstoff aus. Worauf diese Farbenreaktion beruht, können wir vorläufig noch nicht angeben.

Stickstoff-Gehalt der Saccharase-Präparate.

Folgende Tabelle enthält eine Zusammenstellung des N-Gehaltes einiger Saccharase-Präparate mit $If > 100$. Die N-Bestimmungen wurden nach der Mikromethode von Kjeldahl-Bang ausgeführt.

Präparat	If	Zeitwert = $\frac{58.6}{If}$	N %	$\frac{If}{\% N}$
IVaAKA	107	0.55	5.0	21.4
XIIaAK	140	0.42	6.7	20.9
XaAA	180	0.325	7.8	23.1
XIaAKA	200	0.29	8.4	23.8
XIIaAKA	220	0.265	10.6	20.8

Wie aus der Reihe $If/\%N$ hervorgeht, besteht eine beinahe vollständige Proportionalität zwischen If und $\%N$, nur die früher⁵⁾ erwähnten

⁵⁾ B. 56, 446 [1923].

Präparate zeigten ein etwas niedrigeres Verhältnis zwischen If und dem N-Gehalt, nämlich ca. 17. Diese Präparate besaßen somit einen etwas höheren N-Gehalt als die Proportionalitätsregel fordert. Von einem gewissen Reinheitsgrade (If etwa 100) an scheint somit der N-Gehalt unserer Saccharase-Präparate ziemlich konstant zu sein, indem eine gewisse Aktivität einem gewissen N-Gehalt entspricht. Der höhere N-Gehalt der abweichenden Präparate kann auf eine ungewöhnlich große Inaktivierung des Enzyms zurückgeführt werden. Falls die Annahme gestattet ist, daß ein Präparat von beispielsweise If = 220 (das beste, welches wir bisher erhalten haben) von der reinen Saccharase nicht allzu weit entfernt ist, könnte man den Schluß ziehen, daß dieser konstante N-Gehalt wenigstens zum größten Teil wirklich dem Ezym selbst zukommt. Der N-Gehalt (möglicherweise auch der S-Gehalt, siehe unten) könnte in diesem Fall ein Maß für den wirklichen Gehalt eines Invertin-Präparates an aktiver oder inaktiver Saccharase abgeben.

Was die Präparate ähnlicher Reinheitsgrade von Willstätter und seinen Mitarbeitern betrifft, so zeigen diese nicht die erwähnte Proportionalitätsregel hinsichtlich des N-Gehaltes. Die von Willstätter, Graser und Kuhn (l. c.) durch fraktionierte Fällung mit Bleiacetat erhaltenen Präparate zeigen im allgemeinen einen etwas höheren N-Gehalt als unsere Präparate von entsprechendem Reinheitsgrad. Dies kann ja auf eine größere Inaktivierung zurückgeführt werden, zum größten Teil dürfte indessen dieser Umstand auf dem Material beruhen, welches Willstätter und seine Mitarbeiter zur Dialyse verwendet haben, welche ja bis jetzt immer den Schluß des Reinigungsprozesses bildet. Die sogenannten Fischblasen enthalten nämlich Stickstoff in solcher Form gebunden, daß bei einer eventuellen Spaltung dieses Materials stickstoff-haltige Stoffe in die Enzymlösungen übergehen und sie verunreinigen: »die Proteinsubstanz dieser Häute unterliegt Zersetzungen, ihre stickstoff-haltigen Abbauprodukte gehen in die Enzymlösungen über« (Willstätter, Graser und Kuhn, l. c., S. 32).

Aus diesem Grunde ziehen wir Kollodiumhülsen bei der Dialyse vor, umso mehr als die Enzymverluste bei Anwendung derselben meist unbedeutend und oft = 0 sind (vergl. die Tabelle S. 1098 über die Reindarstellung). Die genannten Forscher scheinen auch selbst davon überzeugt zu sein, daß der Stickstoff-Gehalt in ihrem Präparat nicht demjenigen des Enzyms entspricht: »namentlich die Stickstoff-Gehalte des Invertins sind noch wesentlich gefälscht durch Beimischungen, die bei der Fortsetzung der Versuche vermieden werden müssen« (l. c., S. 39). Was die übrigen bereits besprochenen N-haltigen Verunreinigungen betrifft, welche während der Reinigungsarbeit eingeführt werden, so kommen die Ammoniumsalze in Betracht, welche bei den Elutionen aus $\text{Al}(\text{OH})_3$ -Adsorbaten eingeführt werden. Man hat jedoch Grund anzunehmen, daß diese kleinen Moleküle bei der Dialyse entfernt werden.

Bindungsart des Stickstoffs im Saccharase-Komplex.

Zur Bestimmung des Amino-Stickstoffs in unserem Saccharase-Präparat haben wir die Mikromethode nach van Slyke⁶⁾ verwendet. Es zeigte sich, daß der leicht abspaltbare Amino-Stickstoff (10 Min. Reaktionszeit) nur unbedeutend war.

1. 9.11 mg XIIaAK gaben 0.058 ccm N (17.5°, 773 mm). — 2. 5.23 mg XIaAKA gaben 0.050 ccm N (20°, 748 mm). — 3. 4.56 mg XIIaAKA gaben 0.060 ccm N (17.5°, 773 mm).

Gef. 1. 0.37 %; 2. 0.54 %; 3. 0.77 % Amino-Stickstoff.

⁶⁾ D. D. van Slyke, J. biol. Chem. 9, 185 [1911—1912], 275 [1912]; 16, 121 [1913]; 23, 407 [1915].

In der folgenden Tabelle werden die Werte von If. des Total-Stickstoffs und des Amino-Stickstoffs mit dem Verhältnis zwischen den beiden letztgenannten zusammengestellt:

Präparat	If	Total-N %	Amino-N %	<u>Total-N</u> <u>Amino-N</u>
XIIaAK	140	6.7	0.37	18
XIaAAKA	200	8.4	0.54	16
XIIaAKA	220	10.6	0.77	14

Der Amino-N steigt also wie auch der Total-N mit dem Reinheitsgrad. Wegen der kleinen N-Volumen sind natürlich die Fehler verhältnismäßig groß. Die Werte der letzten Reihe sind ja auch nicht genau konstant, die Abweichungen übersteigen aber nicht die Fehlergrenzen.

Es war von Interesse, zum Vergleich das Verhältnis des Total-N zum Amino-N unter den gleichen Bedingungen in nativen Eiweißkörpern zu untersuchen. Als Vergleichsobjekt haben wir Serum-Albumin und Eier-Albumin gewählt.

1. 5.64 mg Serum-Albumin gaben 0.100 ccm N (19°, 763 mm). — 2. 6.42 mg Eier-Albumin gaben 0.095 ccm N (19°, 762 mm).

Gef. 1. 1.15 %; 2. 0.89 % Amino-N.

Der Gehalt an Amino-N wurde hier also etwas höher gefunden als gewöhnlich für Eiweißstoffe angegeben wird (1—2 % des Total-N).

Dies kann möglicherweise in denjenigen Fällen, in welchen, wie hier, ein sehr kleines Volumen N gemessen werden mußte, auf einem konstanten Fehler beruhen. Möglicherweise sind somit auch die gefundenen Mengen Amino-N in den Saccharase-Präparaten zu hoch. Daß in anderen Fällen, wo ein größeres N-Volumen entwickelt wurde, die Genauigkeit unserer Bestimmungen befriedigend war, wird durch Kontrollanalysen bewiesen, welche wir mit Alanin angestellt haben; wir geben hier ein Beispiel an:

2.624 mg Alanin gaben 0.740 ccm N (20°, 748 mm).

Ber. N 15.73. Gef. N 15.79.

Die gute Übereinstimmung zwischen den Saccharase-Präparaten und den untersuchten Eiweißstoffen hinsichtlich des Amino-N geht deutlich aus der folgenden Tabelle hervor:

Protein	Total-N %	Amino-N %	<u>Total-N</u> <u>Amino-N</u>
Serum-Albumin	16.0	1.15	14
Eier-Albumin	15.3	0.89	17

Das experimentell gefundene Verhältnis zwischen Total-N und Amino-N steht hier in vollständiger Übereinstimmung mit dem an Saccharase festgestellten.

Hydrolyse der Saccharase: Auf Grund dieser Übereinstimmung und da es auch sonst von erheblichem Interesse war zu wissen, ob der Stickstoff der Saccharase teilweise in Form von Peptid-Bindungen vorhanden ist, haben wir eine Untersuchung über die Hydrolyse der Saccharase angestellt. Wegen der kleinen Menge Präparat, welche uns für diese Untersuchung zur Verfügung stand, haben wir nur konstatieren können, ob die Anzahl freier Aminogruppen bei der Hydrolyse wesentlich gesteigert wird und ein wie großer Teil des Total-N-Gehaltes der Saccharase auf diese Weise hinsichtlich seiner Bindungsart charakterisiert werden konnte.

Zum Vergleich wurde mit der gleichen Methode eine Hydrolyse von Serum-Albumin ausgeführt. Dazu wurde eine Salzsäure von spez.

Gew. 1.19 angewandt; Hydrolysezeit 6 Stdn. Zur quantitativen Bestimmung des Amino-N nach der Hydrolyse wurde folgendermaßen verfahren:

In einem kleinen 10-ccm-Rundkolben aus Jenaglas mit einer Marke am Hals wurde die auf der Mikrowage abgewogene Substanz eingeführt. Hierauf wurden mit der Pipette 2 ccm Salzsäure zugesetzt. Der Kolben wurde hierauf mit einem Rückflußkühler versehen und zuerst etwa 1 Stde. auf dem Wasserbad erhitzt und dann weitere 6 Stdn. gekocht. Nachdem die Hydrolyse abgeschlossen war, wurde bis zur Marke mit destilliertem Wasser verdünnt, nach Umschütteln mit einer 2-ccm-Pipette eine Probe entnommen, welche eine für die Amino-N-Bestimmung geeignete Menge Substanz enthielt.

Bei der Hydrolyse trat eine starke Verkohlung der Substanz ein, besonders bei den Versuchen mit dem Saccharase-Präparat.

23.99 mg Serum-Albumin wurden in oben beschriebener Weise hydrolysiert. — 2 ccm entsprechend 4.79 mg Serum-Albumin gaben 0.785 ccm N (18.5° , 771 mm).

Gef. 9.43% Amino-N.

28.70 mg Saccharase-Präparat XIIaAK (If = 140) wurden in oben beschriebener Weise hydrolysiert. Zwei Proben je zu 2 ccm wurden entnommen.

5.74 mg Präparat: 1. 0.425 ccm N (17.5° , 777 mm). — 2. 0.432 ccm N (17.5° , 777 mm).

Gef. 1. 4.36%; 2. 4.42% Amino-N.

Zunahme des Amino-Stickstoffs bei der Hydrolyse von Serum-Albumin und Saccharase.

Präparat	Total-N	% Amino-N		Amino-N nach Hydrolyse in Prozenten von Total-N
		vor der Hydrolyse	nach der Hydrolyse	
Serumalbumin	16.0	1.15	9.53	60
Saccharase If = 140	6.7	0.37	4.39	66

Auch hier ist somit die Übereinstimmung zwischen dem Saccharase-Präparat und dem Albumin auffallend.

Saccharase-Präparate von diesen Reinheitsgraden scheinen also Stickstoff zwischen 60 und 70% in solcher Form gebunden zu enthalten, daß nach 6-stündiger Hydrolyse mit Salzsäure vom spez. Gew. 1.19 dieser Stickstoff sich wie freier Amino-N verhält.

Schwefel-Gehalt der Saccharase.

In einer vorhergehenden Arbeit haben wir mitteilen können, daß ein Saccharase-Präparat von If = 180 (Präparat XaAA) Schwefel in so großer Menge enthält wie berechnet werden konnte, wenn ein Saccharase-Äquivalent 1 At. Schwefel enthält. Durch die Schwarzfärbung beim Kochen mit alkalischer Bleisalz-Lösung ging hervor, daß der Schwefel in einer auf diese Weise leicht abspaltbaren Form, evtl. als SH-Gruppe, vorhanden war. Bei der Analyse zweier neuer Präparate haben wir ebenfalls Schwefel gefunden und zwar in bestimmbarer Größenordnung:

26.60 mg Präparat XIIaAK (If = 140) gaben bei Verbrennung nach Pregl 0.51 mg BaSO₄.

Gef. 0.26% S.

16.13 mg Präparat XIaAaKA (If = 200) gaben bei Verbrennung nach Pregl 0.55 mg BaSO₄.

Gef. 0.47% S.

Die drei genannten Präparate ergaben somit folgenden S-Gehalt:

Präparat	If	S %	Ber. S im Präparat mit If = 230	
			If % S	%
XIIaAK	140	0.26	540	0.43
XaAA	180	0.38	470	0.49
XIaAAKA	200	0.47	430	0.54

Wie ersichtlich, steigt der S-Gehalt in ähnlicher Weise wie der N-Gehalt mit dem Reinheitsgrad. Die Regelmäßigkeit ist in bezug auf Schwefel jedoch weniger deutlich als bzgl. des Stickstoffs.

Die Schwierigkeiten, die kleineren S-Mengen, die hier in Betracht kommen, genau zu bestimmen, waren außerordentlich groß; in allen Fällen lag ja das Gewicht der erhaltenen Bariumsulfat-Fällungen unter 1 mg. Die prozentischen Fehler sind also hier größer als bei den übrigen Bestimmungen. Zu jeder Analyse wurde stets ein Blindversuch angestellt, wobei der ganze Analysengang in allen Einzelheiten unter den gleichen Bedingungen wie bei den Analysen verfolgt wurde. Die angegebenen Gewichte BaSO_4 sind wegen der kleinen Glührückstände, welche bei den Blindversuchen erhalten wurden, korrigiert.

Aus den mitgeteilten Versuchen geht zweifellos hervor, daß unsere reinsten Saccharase-Präparate ihrer chemischen Natur nach in hohem Grade an native Eiweißstoffe erinnern: Wir finden einen N-Gehalt, welcher mit dem Reinheitsgrad steigt und welcher der Größenordnung nach mit dem für Eiweißstoffe im Mittel gefundenen insofern übereinstimmt, als bei einer evtl. unbedeutenden Steigerung des Reinheitsgrades des Enzym-Präparates der Unterschied vollkommen verschwindet. Von diesem N-Gehalt bildet der Amino-N nur einen kleinen Bruchteil. Bei der Hydrolyse mit starken Säuren wird die Zahl der freien Aminogruppen im gleichen Grade vermehrt wie bei den nativen Eiweißkörpern. Schließlich kann mit großer Wahrscheinlichkeit angenommen werden, daß Saccharase-Präparate von diesen Reinheitsgraden auch einen S-Gehalt aufweisen, welcher mit dem Reinheitsgrade proportional ist. Der Größenordnung nach stimmt der S-Gehalt mit dem der untersuchten Eiweißstoffe überein. Die mit den angewandten Reinigungsmethoden erhaltenen Präparate (If = 100—230) scheinen also zum großen Teil Stoffe zu enthalten, welche den Proteinen nahestehen. Damit steht die Änderung der Thermostabilität mit der Temperatur (Temperatur-Koeffizient von k) in Übereinstimmung. Wir betrachten nun den enzymatischen oder nicht enzymatischen Abbau dieses Proteins unter möglichster Schonung der Aktivität der Saccharase als eine unserer nächsten Aufgaben. Auf Grund der hier mitgeteilten Versuche können wir natürlich über die chemische Natur der spezifisch rohrzucker-spaltenden Komponente der Saccharase noch keinerlei Angaben machen.