

Über die Verbreitung der Urease bei höheren Pflanzen.

Von
Dr. Géza Zemplén.

(Aus dem chemischen Institut der Hochschule für Forstwesen zu Selmeczbánya.)
(Der Redaktion zugegangen am 28. April 1912.)

Bis auf die letzten Zeiten war das Vorkommen der Urease nur bei den Bakterien,¹⁾ bei dem japanischen Hutpilze *Corticium edodes*²⁾ und bei *Aspergillus niger*³⁾ bekannt. Neuerdings fand Takeuchi das Enzym in größeren Mengen in der Sojabohne und berichtete bald über eine technische Verwendung der Urease, durch Überführung des im Harne enthaltenen Carbamids mit Hilfe der Sojabohne in Ammoniumcarbonat, und fabrikmäßige Darstellung von Ammoniumpräparaten. A. Kiesel⁵⁾ fand Urease in etiolierten Keimpflanzen der blauen Lupine und in Weizenkeimen.

Bei Gelegenheit einer Untersuchung über die Samen der in Ungarn außerordentlich verbreiteten *Robinia Pseudacacia* fand ich das Enzym ebenfalls. Über die technische Verwertung dieser Urease werde ich bald an einem anderen Orte näheres berichten. Hier mögen die Resultate einer vergleichenden Ureasebestimmungsreihe veröffentlicht werden, die ich angestellt habe, um über die Verbreitung des Enzyms, besonders bei den Samen der landwirtschaftlich wichtigen Pflanzen, Erfahrungen zu sammeln.

Je 1 g der fein zermahlenden Samen wurde mit 200 ccm

¹⁾ W. von Laube, Virchows Archiv, Bd. 100, S. 540—570 (1885); M. W. Beijerinck, Zentrablatt f. Bakteriolog. u. Parasitenk., II. Abt., Bd. 7, S. 33—61 (1901).

²⁾ T. Kikkoji, Diese Zeitschrift, Bd. 51, S. 201—207 (1907).

³⁾ K. Shibata, Hofmeisters Beiträge, Bd. 5, S. 384 (1904).

⁴⁾ T. Takeuchi, Journal, College of Agriculture, Tokyo, Bd. 1, S. 1—14 (1909); Chemiker-Zeitung, Bd. 35, S. 408 (1911).

⁵⁾ A. Kiesel, Diese Zeitschrift, Bd. 75, S. 169—196 (1911).

einer 1%igen Harnstofflösung unter Zusatz von 2 ccm Toluol 4—5 Tage bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Nach Zusatz von 25 ccm Kalkmilch wurden jetzt die Proben der Destillation unterworfen, wobei das übergegangene Ammoniak in titrierter Schwefelsäure aufgefangen und der Überschuß der Säure mit n-Natronlauge zurücktitriert wurde.

Da Harnstofflösungen allein bei der Destillation mit Kalkmilch Ammoniak abspalten, so wurde die Menge des letzteren wiederholt empirisch festgestellt. Zahlreiche Versuche ergaben, daß 200 ccm der 2%igen Harnstofflösung, die 4—5 Tage in Gegenwart von Toluol aufbewahrt war, unter den bei den übrigen Proben eingehaltenen Bedingungen 4—6 ccm n-Ammoniak bildete. Der Wert von rund 0,1 g Ammoniak muß demnach von den erhaltenen Zahlen abgezogen werden, um die wahre, der Enzymwirkung zuzuschreibende Ammoniakbildung zu erfahren.

Bei der Destillation mit Kalkmilch mußte eine Abspaltung von Ammoniak aus den in den Samen befindlichen Proteinen ebenfalls in Rechnung gezogen werden. Demnach wurden Kontrollproben (1 g Samenpulver + 200 ccm Wasser + 2 ccm Toluol) angesetzt, und nach Ablauf der 4—5 Tage mit Kalkmilch destilliert. Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe befinden sich in der letzten Kolumne der nachfolgenden Tabellen. Aus den Daten ist ersichtlich, daß die Ammoniakabspaltung aus den Samen so gering ist, daß sie, ohne einen merklichen Fehler zu begehen, vernachlässigt werden kann.

Die Versuchsergebnisse sind in den folgenden Tabellen zusammengestellt. Die Zahlen sind nach einer absteigenden Reihe der Ammoniakmengen geordnet und erlauben, den relativen Ureasegehalt der untersuchten Samen zu vergleichen. Die Proben, bei denen die enzymatische Ammoniakbildung nach den Ergebnissen der Analyse deutlich zutage tritt, färbten Lackmuspapier wegen der Gegenwart von Ammoniumcarbonat deutlich blau, während die Auszüge der Samenreihe, deren Anfangsglied der Goldregen-Hafer ist, in Gegenwart von Harnstoff und Toluol neutral blieben. Damit stimmen die Ammoniakbestimmungen überein, die in den letzteren Proben nie mehr als 0,1 g Ammoniak ergaben.

| Namen der Pflanzen | Gebildete Ammoniakmenge in n cem | Gebildete Ammoniakmenge in g | Die der Enzymwirkung zuzuschreibende Ammoniakbildung in g | Gebildete Ammoniakmenge bei den Kontrollversuchen in n cem |
|--|-------------------------------------|---------------------------------|--|---|
| Theoretische Ausbeute | 66,71 | 1,136 | — | — |
| Gewöhnliche Uniform (<i>Amorphe fruticosa</i>) | 56,40 | 0,961 | 0,861 | 0,35 |
| <i>Robinia pseudacacia</i> | 45,20 | 0,770 | 0,670 | 0,35 |
| Erbsenbaum (<i>Caragana arborescens</i>) | 38,25 | 0,651 | 0,551 | 0,30 |
| Weißer Lupine (<i>Lupinus albus</i>) | 27,75 | 0,473 | 0,373 | 0,35 |
| Gelber Lupine (<i>Lupinus luteus</i>) | 26,90 | 0,458 | 0,358 | 0,55 |
| Goldregen (<i>Cytisus Laburnum</i>) | 16,55 | 0,282 | 0,182 | 0,50 |
| Tannenklee (<i>Anthyllis vulneraria</i>) | 13,70 | 0,233 | 0,133 | 0,55 |
| Espartette (<i>Onobrychis sativa</i>) | 13,05 | 0,222 | 0,122 | 0,40 |
| <i>Morus alba</i> | 11,80 | 0,201 | 0,101 | 0,20 |
| Hanf (<i>Cannabis sativa</i>) | 11,45 | 0,195 | 0,095 | 0,10 |
| Pferdebohnen | 11,15 | 0,189 | 0,089 | 0,50 |
| Incarnatklee (<i>Trifolium incarnatum</i>) | 10,90 | 0,185 | 0,085 | 0,40 |
| Hopfenklee (<i>Medicago lupulina</i>) | 10,20 | 0,174 | 0,074 | 0,30 |
| Christusdorn (<i>Paliurus aculeatus</i>) | 10,20 | 0,174 | 0,074 | 0,40 |
| <i>Glycyrrhiza glabra</i> | 10,00 | 0,170 | 0,070 | 0,30 |
| Blasenstrauch (<i>Colutea arborescens</i>) | 9,75 | 0,166 | 0,066 | 0,40 |
| Schottenklee (<i>Lotus corniculatus</i>) | 9,65 | 0,164 | 0,064 | 0,30 |
| Stechginster (<i>Ulex europaeus</i>) | 9,55 | 0,162 | 0,062 | 0,50 |
| Meerkiefer (<i>Pinus maritima</i>) | 9,00 | 0,153 | 0,053 | 0,15 |
| Seradella (<i>Ornithopus sativus</i>) | 8,80 | 0,150 | 0,050 | 0,30 |
| Luzerne (<i>Medicago sativa</i>) | 8,80 | 0,150 | 0,050 | 0,40 |
| Besenstrauch (<i>Spartium scoparium</i>) | 8,75 | 0,149 | 0,049 | 0,20 |
| <i>Galega officinalis</i> | 8,30 | 0,141 | 0,041 | 0,10 |
| Käseklee (<i>Melilotus coeruleus</i>) | 7,55 | 0,129 | 0,029 | 0,50 |
| Erbse (<i>Pisum sativum</i>) | 7,30 | 0,124 | 0,024 | 0,20 |
| Eisenbaum (<i>Taxus braccata</i>) | 6,60 | 0,112 | 0,012 | — |
| <i>Capparis spinosa</i> | 6,35 | 0,108 | 0,008 | — |
| Buchweizen (<i>Polygonum fagopyrum</i>) | 6,30 | 0,107 | 0,007 | — |
| Goldregen-Hafer | 5,80 | 0,099 | — | — |
| Sommerweizen | 5,60 | 0,095 | — | — |

| Namen der Pflanzen | Gebildete Ammoniakmenge in n ccm | Gebildete Ammoniakmenge in g | Die der Enzymwirkung zuzuschreibende Ammoniakbildung in g | Gebildete Ammoniakmenge bei den Kontrollversuchen in n ccm |
|---|-------------------------------------|---------------------------------|--|---|
| Sommergerste | 5,25 | 0,089 | — | — |
| Judasbaum (<i>Cercis siliquastrum</i>) . . . | 5,25 | 0,089 | — | — |
| Lathyrus odoratus | 5,05 | 0,086 | — | — |
| Stoppelrübe | 5,00 | 0,085 | — | — |
| Mohn (blauer, mit geschlossenen Köpfen) | 4,70 | 0,080 | — | — |
| Senf (<i>Sinapis alba</i>) | 4,65 | 0,079 | — | — |
| Sonnenblume (<i>Helianthus annuus</i>) . . | 4,55 | 0,077 | — | — |
| Lein | 4,50 | 0,077 | — | — |
| Linse (<i>Ervum lens</i>) | 4,34 | 0,074 | — | — |
| Sommer-Roggen | 4,05 | 0,069 | — | — |
| Weißer Hirse (<i>Panicum album</i>) | 3,35 | 0,057 | — | — |
| Futterwicke (<i>Vicia sativa</i>) | 3,21 | 0,055 | — | — |
| Feldmais | 3,10 | 0,053 | — | — |
| Kontrollversuch mit Harnstofflösung allein | 4—6 | — | — | — |

Aus diesen Zahlen ist zu ersehen, daß die meisten Papilionaceen deutliche Ureasemengen enthalten, während bei den untersuchten Gramineen das Enzym in nachweisbaren Mengen nicht vorhanden ist.

Der Ureasereichtum der Papilionaceensamen ist sehr verschieden. Um die Wirkung der an Urease reicheren Samen eingehender zu prüfen, stellte ich eine Versuchsreihe mit den Samen der *Robinia pseudacacia* an. Je 1 g des frischen Samenpulvers wurde mit je 200 ccm einer 1, 2 bzw. 3%igen Harnstofflösung angesetzt, und unter den bei Zimmertemperatur aufbewahrten Proben wurde täglich je eine auf die gebildete Ammoniakmenge untersucht. Die Resultate dieser Versuchsreihe sind in den folgenden Tabellen zusammengestellt.

| Dauer der Enzymwirkung in Tagen | Gebildete Ammoniakmenge in n ccm bzw. g | | | | | |
|--|---|-------|-----------------|-------|-----------------|-------|
| | 1%ige | | 2%ige | | 3%ige | |
| | Harnstofflösung | | Harnstofflösung | | Harnstofflösung | |
| | ccm | g | ccm | g | ccm | g |
| 1 | 17,69 | 0,301 | 20,23 | 0,344 | 22,87 | 0,389 |
| 2 | 26,43 | 0,449 | 29,98 | 0,509 | 31,12 | 0,529 |
| 3 | 32,60 | 0,554 | 39,40 | 0,669 | 41,19 | 0,700 |
| 4 | 39,75 | 0,676 | 44,50 | 0,756 | 49,75 | 0,846 |
| 5 | 50,10 | 0,852 | — | — | 79,80 | 1,357 |
| 6 | — | — | 79,05 | 1,344 | — | — |
| 7 | 61,15 | 1,039 | 116,20 | 1,975 | 138,0 | 2,346 |
| 8 | 63,10 | 1,073 | 117,50 | 1,997 | 186,8 | 3,176 |
| 9 | — | — | — | — | — | — |
| 10 | — | — | 117,80 | 2,003 | 187,0 | 3,179 |
| Die theoretisch erreichbare Ammoniakmenge | — | 1,136 | — | 2,268 | — | 3,402 |
| Kontrollversuch ohne Samenpulver nach 15 Tagen | 4,90 | 0,083 | 11,30 | 0,192 | 14,40 | 0,245 |

Aus den Zahlen ist zu ersehen, daß die Umwandlung der drei untersuchten Lösungen nahezu gleichzeitig ihren Endpunkt erreicht, wobei die umgesetzten Harnstoffmengen den theoretischen Werten nahe kommen. Bei den 2 und 3%igen Lösungen sieht man noch, daß die Reaktion nach der Erreichung einer gewissen Alkalinität beschleunigt wird.

Um zu sehen, ob die Enzymwirkung nach längerer Aufbewahrung des Samenpulvers im Exsikkator abnimmt, stellte ich Versuche mit Samen an, die in zermahlenem Zustande über sechs Wochen im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure gestanden hatten. Das Ergebnis der Versuchsreihe war ungefähr dasselbe wie das mit den frischen Samen angestellte.

| Dauer der Enzymwirkung in Tagen | Gebildete Ammoniakmenge in n ccm bzw. g | | | | | |
|---------------------------------|---|-------|---------------------|-------|---------------------|-------|
| | 1%ige | | 2%ige | | 3%ige | |
| | Harnstofflösung ccm | g | Harnstofflösung ccm | g | Harnstofflösung ccm | g |
| 1 | 18,80 | 0,322 | 19,30 | 0,328 | 22,80 | 0,388 |
| 2 | 30,55 | 0,519 | 26,28 | 0,447 | 30,25 | 0,514 |
| 3 | 35,75 | 0,608 | 39,00 | 0,663 | 37,10 | 0,631 |
| 4 | 43,65 | 0,742 | 53,90 | 0,916 | 56,80 | 0,966 |
| 5 | 54,25 | 0,922 | 60,80 | 1,034 | 69,40 | 1,180 |
| 6 | 57,20 | 0,972 | 84,20 | 1,431 | 91,90 | 1,562 |
| 7 | — | — | — | — | — | — |
| 8 | — | — | 133,20 | 2,264 | — | — |
| 9 | — | — | — | — | — | — |
| 10 | — | — | 134,00 | 2,278 | — | — |

Demnach schwächt das Aufbewahren der Samen im Exsikkator nach sechs Wochen noch nicht die Enzymwirkung.

Selmeczbanya, 25. IV. 1812.