

O przeszkodach utrudniających wykrycie diastazy w liściach i łodygach.

Przez

Stefana Jentysa.

Rzecz przedstawiona na posiedzeniu Wydz. mat.-przr. z d. 7 listopada 1892 r.;
referent czł. Godlewski.



I.

Poglądy na przemianę skrobi pod wpływem żywej plazmy.

Proces przemiany skrobi na cukry, odbywający się w organizmach roślinnych i zwierzęcych, dotychczas nierozpoznany należy pod względem chemicznym, stał się pod względem biologicznym daleko jaśniejszym w skutek wykrycia w tkankach roślinnych i zwierzęcych związków organicznych, obdarzonych zdolnością energicznego scukrzania skrobi, poza obrębem żyjącej komórki.

Odkrycie to bardzo ważne dla postępu wiedzy zrobione zostało jeszcze na początku bieżącego wieku przez Kirchhoffa, który pierwszy zauważył, że sproszkowany sód szybko rozpuszcza kłajster skrobiowy, zamieniając skrobię na cukier. Przez kilkanaście jednak lat następnych nie potrafiiono właściwie spożytkować tego ciekawego spostrzeżenia. Dopiero wyniki poszukiwań Payena i Persoza ¹⁾ przedsięwziętych w 1834 r.

¹⁾ Payen i Persoz, *Annales de chimie et de physique*, t. LIII, str. 73, t. LVI, str. 337, t. LX, str. 441.

pobudziły do pilniejszego zajęcia się sprawą tak nazwanych pierwotnie fermentów, wywołujących przemiany skrobi.

Payen i Persoz w badaniach swoich znacznie rozszerzyli wiadomości zdobyte przez Kirchoffa. Wielki postęp, wynikający z ich pracy, stanowi to spostrzeżenie, że materya nadająca słodowi zdolność przemieniania skrobi na cukier jest w wodzie rozpuszczalną i może być wskutek tego w wodnym wyciągu otrzymaną, a jako nierozpuszczalna w alkoholu daje się za pomocą tego środka strącić i oczyścić. Otrzymana w ten sposób substancya, działająca bardzo energicznie na skrobię, otrzymała nazwę diastazy.

Payen i Persoz znaleźli rozpuszczalną w wodzie diastatyczną enzymę w kiełkujących nasionach jęczmienia, owsa, pszenicy, kukurudzy i ryżu, a także w bulwach kartoflanych, w chwili rozpoczynającej się ich wegetacyi, jakoteż w pręcikach *Ailanthusa*. Badania późniejszych autorów nad obecnością diastazy w tkankach roślinnych w bardzo licznych przypadkach uwiecznione zostały dodatnim rezultatem. Tak Gorup Besanez ¹⁾ wykrył enzymę, działającą na skrobię w nasionach wyki, konopi i lnu. Baraniecki ²⁾, szukając w rozmaitych roślinach lub ich organach diastazy, znalazł ją w każdym materyale do badania użytym, z wyjątkiem nasienia dębu. Krauch ³⁾ wydzielił diastazę z drewna kasztana, oraz liści dębu i głogu. Detmer ⁴⁾ stwierdził jej obecność w liściach *Sedum maximum*, w pędach *Impatiens Balsamina*, oraz w dziewięciodniowych w ciemności wyrosłych kiełkach grochu. Brasse ⁵⁾ wykrył diastazę w liściach kilku roślin zielnych, jako to: ziemniaka, georginii, buraka, kukurudzy i t. d., jakoteż w dojrzewających nasionach maku, gwoździka, słonecznika i ricinusa.

W miarę stopniowego powiększania się liczby roślin lub też ich organów, w których zdołano wykryć enzymę diastatyczną, stawało się coraz pewniejszym przypuszczenie, że wszędzie, gdzie tylko w żywych komórkach roślinnych odbywa się przemiana skrobi, diastaza się znaj-

¹⁾ Gorup Besanez: Ueber das Vorkommen eines diastatischen und peptonisirenden Fermentes in den Wickensamen. Ber. der deutschen chem. Gesell. t. VII. 1874. str. 1478 i t. VIII. 1875, str. 1510.

²⁾ J. Baraniecki: Die Stärkeumbildenden Fermente in der Pflanze. 1878, str. 17.

³⁾ C. Krauch: Beiträge zur Kenntniss der ungeformten Fermente im Pflanzenreiche. Landw. Versuchst. t. XXIII. 1879. s. 103.

⁴⁾ W. Detmer: Ueber den Einfluss verschiedener Substanzen auf Pflanzenzellen. Landw. Jahrbücher. t. X. 1881, str. 775.

⁵⁾ L. Brasse. Sur la présence de l'amylase dans les feuilles. Comptes rendus. t. XCIX. 1884, str. 878.

duje i czynnie działa na tę przemianę. Przypuszczenie takie było już rozpowszechnione w pierwszej połowie bieżącego stulecia, gdy diastazę znaleziono tylko u niewielu roślin i to prawie wyłącznie w kiełkujących nasionach. Było to zupełnie naturalne, gdyż badacz powątpiewający o diastatycznej przemianie skrobi w pewnym przypadku, bez podania niezbitych doświadczalnych dowodów, niełatwo mógłby wyjaśnić, dla czego jeden i ten sam co do istoty proces u różnych roślin lub też w rozmaitych organach jednej i tej samej rośliny odbywa się pod wpływem zupełnie odmiennych czynników.

To też nawet w przypadkach, w których przy poszukiwaniach nie zdołano wykryć diastazy, zwykle nie odstępowano łatwo od przekonania, że w roślinie lub organie roślinnym, w którym napróżno szukano diastazy, mimo to skrobia doznaje przemiany pod jej wpływem. Tak n. p. Baraniecki, nie zdoławszy wykryć enzymy diastatycznej w nasionach dębu, nie orzekł stanowczo, że w nich diastazy wcale nie ma, lecz zupełnie słusznie przypuścił istnienie w tym przypadku pewnych, bliżej co do natury nierozpoznanych, czynników, niedopuszczających przejścia diastazy do wodnego wyciągu ¹⁾.

Fakt jednakże, że diastaza nie wszędzie może być w obfitej ilości wykryta, uważany był przez niektórych autorów za pewną wskazówkę, iż zamiana skrobi na cukry nie zawsze w tkankach roślinnych odbywa się pod wpływem diastazy. Tak Krauch ²⁾, nie znalazłszy diastazy w gałązkach i starem drewnie brzozy, sądzi, że w pewnych przypadkach skrobia bywa rozpuszczaną w roślinach przez kwasy organiczne. Pfeffer ³⁾, omawiając w swym podręczniku fizjologii przemiany skrobi, zwraca uwagę na potrzebę zbadania, czy podczas rozpuszczania się skrobi w komórkach roślinnych nie działają oprócz diastazy jeszcze inne czynniki. Sachs ⁴⁾ podaje jako rzecz zupełnie nieznaną, czy skrobia rozpuszcza się w ciątkach zieleni pod wpływem diastazy, czy też skutek działania samych żywych ciątek zieleni.

Pomimo pojawiających się takich powątpiewań, prawie powszechnie przyjęto, że skrobia ulega w organizmach roślinnych przemianie wyłącznie pod wpływem enzymowych substancji. Zapatrywania przeciwne znalazły dopiero gorącego zwolennika w Wortmannie, który w pracy ogłoszonej

¹⁾ l. c. str. 17.

²⁾ l. c. str. 104.

³⁾ W. Pfeffer: Pflanzenphysiologie t. I. 1882, s. 281.

⁴⁾ J. Sachs: Ein Beitrag zur Kenntniss der Ernährungsthätigkeit der Blätter. Arbeiten des botan. Inst. in Würzburg. t. III. 1888, str. 18.

przed niespełna dwoma laty¹⁾ stara się obalić podstawy rozpowszechnionych poglądów, monopolizujących dla diastazy zdolność fizyologicznej przemiany skrobi na cukier. Według wymienionego autora, który się opierał na wynikach własnych doświadczeń, gałeczki skrobi w asymilujących liściach, jakoteż w przeprowadzających skrobię łądygach są rozpuszczane bezpośrednio pod wpływem żyjącej protoplazmy. Podług Wortmanna, w liściach produkujących skrobię diastazy albo wcale nie ma, albo też ta enzyma znajduje się w tak minimalnej ilości, że dla szczególnie energicznej przemiany skrobi w ciątkach zieleni nie ma ona żadnego lub prawie żadnego znaczenia²⁾. W pewnych tylko szczególnych przypadkach produkcya diastazy u roślin jest tak obfitą, że przemiany skrobi mogą być wyłącznie enzymatycznie dokonane bez współudziału bezpośredniego wpływu żywej protoplazmy. Tu należą, zdaniem Wortmanna, tylko: nasiona, bulwy, kłącza i t. p. organa, zawierające skrobię jako materiał zapasowy, oraz grzyby i bakterye. Przypadki takie mają jednak być wyjątkami, za regułę zaś uważa Wortmann fakt, że diastaza w rozpuszczaniu skrobi nie odgrywa żadnej, lub tylko nie nieznaczającą rolę.

Te poglądy Wortmanna wypowiedziane w formie dosyć stanowczej, nie trafiają jednak łatwo do przekonania. Przedewszystkiem uderzyć musi, że Wortmann, wśród obszernych rozumowań, zupełnie nie wyjaśnia, dlaczego roślina zamieniałaby wielkie ilości skrobi w liściach i łądygach na cukier przez bezpośrednie działanie plazmy, podczas gdy rozpuszczanie skrobi w budzących się do nowego życia organach, odbywające się rzekomo na daleko mniejszą skalę, nie mogłoby być przez plazmę dokonane, lecz wymagałoby obfitej produkcyi specjalnej enzymy. Skeptycyzm w obec nowych poglądów Wortmanna jest zupełnie uzasadnionym, gdyż w obec istnienia chemicznych związków, które mogą zamieniać skrobię na cukry, a są wytwarzane przez żywe komórki, bardzo trudno wyrzec się bez ważnych powodów przekonania, że roślina nie potrzebuje do wykonywania tej ważnej fizyologicznej czynności żadnych innych środków hypotetycznej natury.

Odkrycie w plazmie zdolności produkowania tak diastazy jak i wszelkich innych enzym można uważać za wielki postęp w dziedzinie wiedzy biologicznej. Jest to do pewnego stopnia uchylene zasłony, ukrywającej przed okiem badacza szczegóły funkcji plazmy w żyjących komórkach.

¹⁾ J. Wortmann: Ueber den Nachweis, das Vorkommen und die Bedeutung des diastatischen Enzyms in den Pflanzen. Botan. Ztg. s. XLVIII. 1890, str. 581.

²⁾ l. c. s. 663.

Twierdzenie zaś w obecnej chwili, że przemiana skrobi na cukier odbywa się w roślinie nie pod wpływem enzymy diastatycznej, lecz bezpośrednio przez plazmę, której ani istota ani też sposób działania nie są znane, może być uważane za cofnięcie się do pewnego stopnia w postępie. Jeżeli nie można z góry uważać takiego stanu rzeczy za zupełnie niemożliwy, to w każdym razie za pewnik można go przyjąć dopiero po uzyskaniu na drodze doświadczalnej niezbitych dowodów, że enzymy diastatyczne nie są produkowane i czynne wszędzie, gdzie tylko w organizmie roślinnym proces seukrzania skrobi się odbywa. A już bezwarunkowo porzucenia rozpowszechnionych i na słusznej podstawie opartych poglądów nie usprawiedliwiają dostatecznie wyniki doświadczeń, które w przeważnej liczbie sam autor uważa za tak dalece niepewne, iż nie stanowczego nie pozwalają wywnioskować ¹⁾.

Uwaga ta wprawdzie, o ile się zdaje, odnosi się tylko do pewnej seryi prób, przez które badano enzymatyczny wpływ wyciągów roślinnych co do rozgotowanej w wodzie skrobi. Niedogodności jednakże i niepewność wyników, jakie użycie tego materiału odczynnikowego za sobą pociąga, nie zostały zupełnie usunięte w innych próbach, których wyniki uważa autor za więcej przekonywające, a w których zamiast klajstru skrobiowego używano, jako odczynnika na diastazę, tak nazwanego przez Wortmanna roztworu skrobi (StärkeLösung), będącego rzekomo rozpuszczoną w wodzie amylodekstryną ²⁾.

Według twierdzenia samego Wortmanna, ów rozczyń amylodekstryny przybierał po dodaniu jodu barwę ciemno-niebieską, ponieważ zawierał w znaczniejszej ilości rozpuszczalną w wodzie skrobię. Tymczasem w wodnych wyciągach z liści, zmieszanych ze znaczną ilością roztworu amylodekstrynowego, jod dodany nigdy nie wywoływał niebieskiego zabarwienia charakterystycznego dla substancji nazywanej skrobią, lecz dawał czerwone, czerwono-brunatne, fioletowo-czerwone i t. p. Wortmann, jak się zdaje, był przekonany, że przyczyną niewystępowania czysto niebieskiej barwy były pewne związki, przechodzące do roztworu podczas ługowania wodą rozmiądzonych liści. Jest to możliwem i wielce nawet prawdopodobnem, ale, wobec braku w pracy Wortmanna właściwych dowodów wiarygodności tego mniemania, nie jest wykluczone jeszcze inne przypuszczenie. Można by mianowicie zrobić zarzut, że w wyciągach z liści znajdowała się w znaczniejszej ilości enzyma, która szybko przeprowadzała rozpuszczalną skrobię, zawartą w pewnej ilości

¹⁾ l. c. s. 591.

²⁾ l. c. s. 606.

w domieszonym roztworze amylodekstryny na t. z. dekstryny, barwiące się wobec jodu czerwono i brunatno, dalsze zaś działanie enzymy na dekstryny, znajdujące się w roztworze, było niemożliwe w skutek obecności w wyciągu roślinnym związków, wpływających ujemnie na przemianę dekstryn na cukier. Zarzut taki nie pozostawałby wcale w sprzeczności z faktami stwierdzonymi w dotychczasowych badaniach nad działaniem diastatycznej enzymy. Wyniki zatem wszystkich prób Wortmanna, przy których posługiwano się owym preparatem amylodekstrynowym, mogłyby być zupełnie pewne dopiero po stanowczym wykazaniu, za pomocą łatwych do przeprowadzenia doświadczeń, że zarzut powyższy nie jest słuszny. Będę miał poniżej sposobność wykazać inne jeszcze ujemne strony metody doświadczalnej, stosowanej przez Wortmanna. Tu wypada mi tylko jeszcze wyrazić pewne zdziwienie, że w wywodach tego autora tak mało zostały uwzględnione wyniki poszukiwań Brassea, które bynajmniej nie popierają poglądów, ogłoszonych w pracy Wortmanna. Wprawdzie w bardzo krótkim komunikacie Brassea, przedstawionym paryskiej Akademii, nie znajdujemy wszystkich szczegółów metody, jaką się posługiwał, a przedewszystkiem brak wszelkiej wzmianki o długości czasu, w jakim wyciągi wodne, uzyskane z rozmaitych liści, były zdolne scukrzyć 0.5 gm. skrobi rozgotowanej na kłajster. W każdym jednak razie porównując zalety metody doświadczeń Wortmanna i Brassea, należy bez wachania przyznać ostatniemu pierwszeństwo pod względem ścisłości.

Z bardzo licznych ustępów pracy Wortmanna widać, że do zupełnego prawie odrzucenia enzymatycznej przemiany skrobi w tkankach roślinnych, tworzących i przeprowadzających materię organiczną, skłoniło go spostrzeżenie, że z kiełkujących nasion lub bulw można łatwo otrzymać wyciągi wodne, działające bardzo energicznie na skrobię, podczas gdy wyciągi wodne otrzymane z liści lub pędów, nie wywierają zgoła żadnego lub przynajmniej wybitnego wpływu.

Nie będąc bardzo skłonny do zbyt pospiesznego porzucenia dawnych zapatrywań na przemianę skrobi w żyjących organizmach, w pierwszej chwili, po dokładnem poznaniu rozprawy Wortmanna, powziąłem myśl, że diastaza nie tworzy się w każdej porze dnia w tkankach liści i łodyg w obfitej i łatwej do wykrycia ilości. Wydało mi się mianowicie dosyć prawdopodobnem przypuszczenie, iż diastazę można w znaczniejszej ilości wyługować wodą z liści tylko wówczas, gdy odpływ skrobi z ciałek zieleni jest najbardziej energiczny, lub też w chwili, w której, z powodu wyczerpania materiału, następuje zastój w tym fizyologicznym procesie. Ponieważ Wortmann nie podał, w jakiej porze doby zbierał liście do doświadczeń, uważałem za najwięcej prawdopo-

dobne, że je zbierał za dnia. Wobec tego było wskazaniem zbadać, czy z liści zbieranych pod wieczór lub też o świetle, nie da się diastaza otrzymać w wodnym wyciągu w większej ilości.

Pierwsze doświadczenie robiłem z liśćmi, zebranych około godziny 10-ej w nocy z krzaków bzu i leszczyny, zatem z roślin, z których i Wortmann zbierał materiał do swoich badań. W celu wykrycia obecności diastazy, używałem skrobi mocno w wodzie rozgotowanej. Przygotowawszy z drobno posiekanych liści wyciągi wodne, napotkałem w dalszych obserwacjach nad ich zachowaniem się wobec skrobi wszystkie trudności, jakie Wortmann w swej pracy opisuje.

Wypadki uzyskane mogłyby, po wykonaniu znaczniejszej liczby prób, doprowadzić do uznania twierdzeń Wortmanna za zupełnie słuszne, gdybym zaraz z początku nie spostrzegł faktów, które mię rychło skłoniły do poszukiwania diastazy w liściach w zupełnie odmienny sposób. Przekonałem się mianowicie z pierwszych prób, że jeżeli pragnie się otrzymać z liści diastazę w warunkach, w których jej obecność można łatwo i pewnie stwierdzić, to cel ten nie da się żadną miarą osiągnąć przez proste ługowanie wodą rozdrobnionych tkanek liściowych.

O ile się zdaje, zapatrywania Wortmanna nie zdołały pozyskać sobie wielu zwolenników, tak, że przeciwne poglądy można i teraz jeszcze uważać za więcej rozpowszechnione. Pomimo tego, widzę pewien pożytek w ściślejszej a krytycznej ocenie badań Wortmanna, jako też w obszerniejszem przedstawieniu moich własnych przeciwnych spostrzeżeń. Mam tu na oku potrzebę tak zupełnego wyjaśnienia, jak największej liczby kwestyj fizjologicznych, aby ostateczne konkluzje mogły być powszechnie uznane za wiarogodne i bezsporne przynajmniej co do głównych punktów.

II.

O pożytku ilościowego oznaczania diastazy w organach roślinnych.

Główną podstawą poglądów Wortmanna, przedstawionych w streszczeniu w poprzednim rozdziale, jest mniemanie, że w tkankach liści znajdują się tylko ślady diastazy, niemające żadnego znaczenia dla fizjologicznego procesu przemiany skrobi, albo też, że nie ma w nich wcale enzymy diastatycznej. Poniżej przedstawię uzyskane z własnych doświadczeń dowody, że diastaza znajdująca się nawet w obfitej ilości w organach roślinnych nie zawsze może być z łatwością za pomocą wody

wyługowaną. Tu wypada wprzód zastanowić się nad kwestyą, o ile przekonanie się o istnieniu diastazy w pewnych tkankach roślinnych w bardzo nieznacznej ilości uprawnia do wysnucia stąd wniosku, iż wyłączna przemiana skrobi w badanym organie roślinnym pod wpływem diastazy jest niemożliwą.

Dla uniknięcia nieporozumień, zaznaczam tu z góry, że przez nazwę diastazy pojmuję każdą enzymatyczną substancję, działającą na skrobię. Wobec bowiem niezajomości chemicznej budowy drobin enzym, wywołujących przemianę skrobi, specyfikacja ich rozmaitych odmian przedstawiałaby niewielką korzyść.

Na podstawie własnych spostrzeżeń, Wortmann bez wachania skłonił się do przyjęcia bezpośredniego wpływu żywej plazmy na przemianę skrobi w roślinach, jako faktu niepodlegającego wątpliwości. Do takiego wniosku doprowadziło tego autora przeświadczenie, że dla zamiany w niezbyt długim przeciągu czasu, stosunkowo znacznej ilości skrobi, musi koniecznie znajdować się w komórkach roślinnych diastaza obficie i to w formie, która pozwala na wyługowanie jej zimną wodą po zniszczeniu tkanek roślinnych. Mniemanie to jednak, jak to zaraz postaram się wykazać, nie da się wcale oprzeć na pewnych podstawach.

Wykrycie w jakimś organie, czyto roślinnym, czy też zwierzęcym, obecności diastazy, nawet w nader małej ilości, świadczy wymownie o tem, że plazma znajdująca się w komórkach owego organu jest zdolna do produkcji diastatycznej enzymy. Temu przypuszczeniu, że produkcja diastazy odbywać się może bezustannie w miarę zużycia i potrzeby, nie sprzeciwia się żaden ze znanych faktów fizjologicznych. Skoro więc dla danego organu zostanie wykrytą zdolność wytwarzania diastazy, to nie tylko można, ale trzeba uznać za wielce prawdopodobne, że cała przemiana skrobi w nim się odbywająca jest procesem enzymatycznym, nawet w przypadku, w którym nie można wykryć obfitszego zapasu diastazy.

Wywód powyższego ustępu jest całkiem logiczny, a słuszności nie powinien mu odmówić sam Wortmann, który wykrył u bakteryi zdolność wstrzymywania produkcji diastazy na czas, w którym ta substancja jest dla procesu odżywiania się owych organizmów zupełnie zbyteczną, a wszczynania na nowo tego procesu w chwili, kiedy skrobia musi stanowić wyłącznie pożywienie tych bakteryi ¹⁾. Najzupełniejsze po-

¹⁾ J. Wortmann: Untersuchungen über das diastatische Ferment der Bacterien. Zeitschrift für physiol. Chemie. t. VI. 1882 s. 320.

parcie dają również spostrzeżenia Darwina ¹⁾ i innych badaczy nad przerywanem wydzielaniem enzym z gruczołów roślin mięsożernych.

Jak widzimy zatem, możliwość przemiany nawet bardzo znacznych ilości skrobi w tkankach roślinnych, przez diastazę wytwarzaną w czasie trwania procesu scukrzania, bezustannie w bardzo niewielkich ilościach, nie może być wprost odrzuconą jako zupełnie nieprawdopodobne przypuszczenie ²⁾. W takim zaś razie uznać należy za nieuzasadnione zapatrywanie się Wortmanna ³⁾, że ilość diastazy, jaką można znanymi środkami z organizmu roślinnego wydzielić i w działaniu na skrobię na zewnątrz komórek obserwować, może służyć choćby za przybliżoną miarę działania diastazy w żywych tkankach roślinnych. Chcąc to zapatrywanie utrzymać, trzeba by udowodnić:

1) że wydatna działalność enzymy diastatycznej jest możliwą tylko wówczas, gdy znajduje się ona w żywych komórkach w większym zapasie i w formie umożliwiającej łatwe przejście do wodnego roztworu;

2) że stosowane powszechnie środki w celu wydzielenia diastazy z tkanek organicznych nigdy nie zawodzą, co znaczy innymi słowami, że diastaza zawsze wodą lub też gliceryną może być wyługowana;

3) że praktykowana zwykle metoda w celu wykrycia diastazy, umożliwia zawsze, choćby tylko w przybliżeniu, dokładne ilościowe oznaczenie tej enzymy;

4) że otrzymana w wyciągach wodnych diastaza nigdy nie napotyka w nich warunków, w których jej działanie na skrobię może być w znacznym stopniu osłabione lub nawet zupełnie uniemożliwione.

Nie potrzeba chyba obszernie udowadniać, że niektóre z powyższych postulatów, już w obec faktów dostatecznie zbadanych i sprawdzonych, są wprost niemożliwe. Co do innych, to przed wyjaśnieniem istotnego stanu rzeczy na podstawie specjalnych poszukiwań nie o nich orzec napewno nie można. Skoro zaś Wortmann nie zbadał sprawy w odpowiedni sposób, to niepodobna zgodzić się na to jego twierdzenie, że przypisywanie diastazie ważnej roli w przemianie skrobi w liściach i łodygach byłoby tylko wtedy uzasadnione, gdyby można było tę enzymę wyługować z owych organów wodą w obfitej ilości.

¹⁾ C. Darwin: Insectenfressende Pflanzen. 1876.

²⁾ W pracy Baranieckiego spotykamy wyraz tych samych zapatrywań w ustępie: „Można zatem słusznie przypuścić, że w pewnych przypadkach produkcya enzymy odbywa się tak powolnie, że wytworzona diastaza zostaje natychmiast zużyta i nie zbiera się w takiej ilości, aby obecność jej dała się wykryć.” (l. c. s. 62).

³⁾ l. c. s. 583 i 584.

To samo można też powiedzieć i o tem mniemaniu Wortmanna, że wobec istnienia diastazy w organach roślinnych, które nie zawierają wcale skrobi, należy uważać niewielkie ilości diastazy, jakie można wykryć w liściach lub łodygach roślin tworzących skrobię za fizyologicznie zupełnie bezużyteczne.

Jak wiadomo, enzymy diastatyczne zostały znalezione przez Gorup Besaneza, Baranieckiego i Kraucha i w nasionach bezskrobiowych. To samo spostrzegł Wortmann i fakt ten uważa za wyraźny dowód, że diastaza bywa produkowana w ilościach dających się łatwo wykryć, tam, gdzie nie może być wcale fizyologicznie czynną¹⁾. W takich przypadkach, wpływ uzyskanego wodnego wyciągu na skrobię bywa bardzo słaby, a samą enzymę przedstawia Wortmann jako produkt bez żadnego znaczenia dla rośliny²⁾.

Wysnuwając takie wnioski, odmawia Wortmann zupełnie nieślusnie zawartej w bezskrobiowych nasionach enzymatycznej substancji, posiadającej własność przemiany skrobi na cukier, zdolności wywoływania ważnych fizyologicznie chemicznych przemian w innych związkach, odgrywających w tych nasionach rolę materiału rezerwowego. A przecież nie można tego wcale uważać za dostatecznie udowodnione, że w organach roślinnych niezawierających skrobi nie znajdują się substancje, do przeprowadzenia których w stan rozpuszczalny potrzebne są enzymy.

Nie powinno wcale wydawać się dziwnem, że owe enzymy równocześnie posiadałyby zdolność oddziaływania na skrobię w sposób charakterystyczny dla enzymy nazwanej diastazą. Wiadomo bowiem dobrze, że działanie rozmaitych wyciągów enzymowych nie zawsze ogranicza się wyłącznie do przemiany jakiegos jednego tylko związku, lecz może być wszechstronniejsze. Pomijam tu niepotwierdzone w późniejszych badaniach Hansena spostrzeżenie Gorup Besaneza, że substancja dająca się wydzielić z nasion lnu i konopi niezawierających skrobi nie tylko seukrza skrobię, lecz prócz tego peptonizuje białko z jaja i włóknik zwierzęcy, a opieram się na wynikach badań wielu innych autorów. Tak Hansen³⁾ w soku mlecznym z *Ficus Carica* stwierdził działanie pepto-

¹⁾ l. c. str. 583.

²⁾ l. c. str. 626. W odpisie dosłownym odnośny ustęp brzmi: „Die in ihnen (t. j. stärkefreien Samen) producirte Diastase ist so schwach, dass sie auf feste Stärke ohne bemerkbaren Einfluss ist, und ohne Frage können wir wohl annehmen, dass diese, in stärkefreien Samen enthaltenen Spuren von Diastase ohne jegliche physiologische Bedeutung und einfach Producte sind, auf welche, wenn ich so sagen darf, die Pflanze keinen Werth legt“.

³⁾ A. Hansen: Ueber Fermente und Enzyme. Arbeiten des botan. Inst. in Würzburg. t. III. 1888.

nizujące i diastatyczne. Według Melsena ¹⁾ pepsyna może wywoływać przemianę skrobi na cukier. Krauch ²⁾ skonstatował enzymatyczny wpływ wyciągów ze słodu, kukurudzy, cebuli i dyni na arabinozę, a wyciągów ze słodu, dyni oraz głogowych i dębowych liści na salicynę; liście dębowe posiadały enzymę rozszczepiającą obok tego i amygdalinę. Wprawdzie Bourquelot ³⁾ zaprzecza podaniu Kraucha, że diastaza może rozszczepiać salicynę, lecz doświadczeniom, na których opiera swe sprzeczne wnioski, można zrobić zarzut, iż przy filtrowaniu wyciągu słodowego przez niewypaloną porcelanę zostały zatrzymane części enzymowej substancji działające na salicynę. Erlenmeyer ⁴⁾ otrzymał z pyłku kwiatowego sosny wodny wyciąg, który przemieniał skrobię na glukozę, a cukier trzcinowy energicznie inwertował.

W obec tych spostrzeżeń pewne fizyologiczne znaczenie enzymy, zawartej w nasionach niezawierających wcale skrobi, w czasie procesu kiełkowania, jest wielce prawdopodobne. Gdyby jednak nawet przypuszczenie to okazało się niewiarogodne, to i w takim razie orzeczenie, że komórki roślinne mogą wytwarzać enzymy jako produkt niemający dla rośliny żadnej wartości, nie byłoby dostatecznie usprawiedliwione. W nasionach bowiem bezskrobiowych enzyma diastatyczna miała do spełnienia ważną fizyologiczną rolę podczas peryodu dojrzewania i diastazę zawartą w dojrzałych nasionach należałoby uważać jako pozostałą resztę poprzednio nieużyta.

Wortmann odmawia diastazie ważnej roli w rozpuszczaniu gałeczek skrobi w ciałkach zieleni wskutek zbyt przesadnego wyobrażenia o energii procesu przemiany skrobi na glukozę, jaki się odbywa w liściach. Badacz ten sądzi mianowicie, że wodne wyciągi przygotowane z silnie asymilujących liści powinny w bardzo wybitny sposób działać na mąkę skrobiową, oraz że liście powinnyby być najlepszym materiałem do otrzymania diastazy. Według Wortmanna bowiem, przemiany skrobi w liściach zielonych asymilujących, odbywają się na bardzo wielką skalę i wymagałyby nader obfitych ilości diastazy ⁵⁾.

¹⁾ Cyt. u C. Naegeliego: Ueber die chemische Zusammensetzung der Stärkekörner und Zellmembranen Bot. Mit t. I. 1863, s. 389.

²⁾ l. c. s. 99.

³⁾ Em. Bourquelot. Sur l'identité de la diastase. Comptes rendus de la Societé biolog. 1885. s. 73. Ber. der deutsch. chem. Gesell. t. XX. Ref. s. 294.

⁴⁾ Erlenmeyer: Sitzber. der Münchener Akademie 1874. II. s. 204. Cyt. u Kraucha l. c. s. 81.

⁵⁾ l. c. str. 585.

Zapatrywania Wortmanna co do tej kwestyi są również nieuzasadnione. Wyciągi bowiem wodne z liści zielonych, zawierające diastazę, niekoniecznie muszą energicznie scukrzać rozgotowaną w wodzie skrobię, z liści zaś nawet obfitujących w diastatyczną enzymę trudno jest wydzielić diastazę w takich ilościach, aby jej intensywny wpływ na skrobię dał się łatwo stwierdzić. Dowody na to wynikające z moich własnych badań podam poniżej przy opisie wykonanych doświadczeń. Na tem miejscu wykazać mi tylko wypada, że Wortmann zupełnie niesłusznie uważa przemianę skrobi w kiełkujących nasionach za proces nieznaczący w porównaniu z bezustanną przemianą tego związku, jaka się odbywa w gałeczkach zieleni liści.

W ustępie, w którym wyrażone jest to przekonanie, odwołuje się Wortmann do obliczenia Sachsa, że z liści słonecznika o powierzchni 1 m. kw. w nocnej porze w ciągu godziny przechodzi prawie 1 gm. skrobi do pędów. Odwołanie się jednak do tego faktu nie posiada bynajmniej siły przekonywującej, gdyż dla nabrania należytego wyobrażenia o różnicy energii w przemianie skrobi, jaka zachodzi z jednej strony w liściach a z drugiej w nasionach kiełkujących, trzeba koniecznie podanemu przez Sachsa obliczeniu przeciwstawić, choćby tylko przybliżony, obrachunek, ile skrobi musi rozpuszczać diastaza w ciągu krótkiego okresu kiełkowania nasion.

Liczby potrzebne do takiego porównania znajdziemy najłatwiej, obliczywszy, wiele skrobi ulega przemianie w przeciągu jednakowego czasu, w równych ilościach wagowych suchej masy z jednej strony w liściach asymilujących, a z drugiej w kiełkujących nasionach. Do takiego porównawczego obrachunku nie trzeba zbierać nowego materiału doświadczalnego. Wystarczające pod tym względem dane można zestawzić z badań Sachsa nad produkcją materji organicznej w liściach, jakoteż z chemicznych analiz nasion skrobiowych.

Według wżeń Sachsa ¹⁾, sucha masa zebranych wieczorem liści słonecznika o ogólnej powierzchni 1 m² wynosiła 80·44 gm., ilość zaś skrobi odprowadzoną w przeciągu 10 godzin nocnych oblicza Sachs na 9·64 gm. Na 100 gm. zatem suchej substancji liści przypada prawie 12 gm. skrobi odprowadzonej do łodyg w ciągu 10 godzin. Z nasion weźmy do porównania jęczmień, służący najczęściej jako materiał do produkcji słodu. W ziarnie tego zboża, według analitycznych wyników, skrobia i inne wyciągowe bezazotowe materje stanowią 75% suchej substancji. Podczas dosyć powolnego kiełkowania, przemiana związków ulegających

¹⁾ l. c. str. 22.

wpływowi diastazy trwa co najwyżej trzy doby. Liczę tu czas od chwili, w której rozwijający się kiełek zaczyna przerabiać rezerwowe materiały, a nie od chwili, w której rozpoczyna się pęcznienie. Na 100 gm. zatem suchej masy, 75 gm. węglowodanów (przeważnie skrobi) przechodzi w cukier w ciągu 72 godzin, czyli na 10 godzin przeszło 10 gm. Jak widzimy, jest to ilość bardzo zbliżona do ilości obliczonej, na podstawie wyników doświadczeń Sachsa, dla liści słonecznika. Wynik zaś obrachunku można uważać raczej za niski niż za wysoki, bo przy szybkim wzroście, w sprzyjających warunkach, łądźki i korzonków materiały rezerwowy złożony w nasieniu, musi być niezawodnie w związki rozpuszczalne rychlej przeprowadzony niż w przeciągu przyjętych w naszym obliczeniu 72 godzin.

Mając na oku powyższe wyniki porównawczego rachunku, musimy uznać za zupełnie mylny pogląd Wortmanna, że działalność diastazy w asymilujących liściach musiałaby być bez porównania większa niż w kiełkujących nasionach, gdyby w ciąłkach zieleni skrobia była przeprowadzana w związki rozpuszczalne wyłącznie pod wpływem diastatycznej enzymy¹⁾. Niezgodny z prawdą wniosek wynikł niewątpliwie stąd, że do porównania zestawiono niewłaściwie z jednej strony ilość skrobi, ulegającą w oznaczonym czasie scukrzeniu w liściach o znanej powierzchni, a z drugiej energiczną działalność wyciągu wodnego z kiełkujących nasion bez koniecznego uwzględnienia wagi materiału, z którego wyciąg był otrzymany, oraz ilości związków bezazotowych, którą diastaza w ciągu stosunkowo krótkiego czasu musi podczas kiełkowania przeprowadzać w rozpuszczalne materye plastyczne.

Gdyby jednakże wyniki porównawczych obliczeń były nawet więcej zgodne z zapatrywaniem Wortmanna, czyli wykazywały, że w jednakowym czasie w liściach muszą być scukrzane daleko większe ilości skrobi, niż w nasionach skrobiowych podczas okresu kiełkowania, to fakt ten jeszcze nie byłby wcale wystarczającym do stanowczego twierdzenia, iż w liściach musi koniecznie działać bez porównania większa ilość diastatycznej enzymy. Dopuszczalnem bowiem, a jak w innej pracy zamierzam wykazać, wielce prawdopodobnem jest przypuszczenie, że gałeczki skrobi w komórkach tkanek bielma lub liścieni nasion, jakkolwiek identyczne w zachowaniu się w obec jodu, mogą się różnić pod pewnym względem naturą chemiczną i odporniej zachowywać się wobec diastazy, niż szybko wytwarzane i rozpuszczane gałeczki skrobi w ciąłkach zieleni asymilujących liści. Różnica może zachodzić osobliwie co

¹⁾ l. c. str. 585.

do składu chemicznego warstw zewnętrznych. Mniejsze zresztą bez porównania rozmiary gałeczek skrobi znajdujących się w ciałkach zieleni, a co zatem idzie znaczniejszy stosunek pomiędzy wielkością powierzchni a objętością, muszą niezawodnie czynić je dostępniejszemi na wpływ diastazy, która podczas seukrzenia wżera się w gałeczki skrobiowe od powierzchni ku wewnątrz ¹⁾).

W obec okoliczności, przytoczonych w powyższych uwagach, nie można bynajmniej uznać wyników badań Wortmanna za zupełnie wystarczające do odrzucenia enzymatycznego rozpuszczania skrobi w organach roślinnych, produkujących i rozprowadzających tę substancję i do uważania tego procesu za fizyologiczną niemożliwość. Wnioski ostateczne są tem mniej przekonywające, że Wortmann pominął zupełnie zbadanie:

1) czy w wyciągach wodnych, otrzymywanych z posiekanych liści lub łodyg, nie ma związków działających szkodliwie na proces seukrzenia skrobi pod wpływem diastatycznych enzym ;

2) czy w organach roślinnych, obfitujących w skrobię i przerabiających w większej ilości ten związek, a w których nie można było dotychczas wykryć obfitszego zapasu diastazy, nie istnieją warunki, które uniemożliwiają wyługowanie diastazy czystą wodą.

Jak dalece przeprowadzenie pod tym względem szczegółowych badań było niezbędne, wskaże opis wyników moich własnych doświadczeń. Przemiany skrobi pod wpływem wyciągów roślinnych śledziłem w nich zawsze za pomocą próby jodowej. Ponieważ skrobia rozgotowana w wodzie, po zmieszaniu z wyciągami wodnymi z liści, bardzo często weale nie daje w obec jodu charakterystycznego niebieskiego zabarwienia, starałem się bliżej zbadać, jakim czynnikiem należy to przypisać. Osiągnięte co do tego wyniki muszą poprzedzić przedstawienie właściwych studyów nad przeszkodami utrudniającemi wykrycie diastazy w pędach. Sprawie tej poświęcam więc następny rozdział.

III.

Zmiany barwienia się skrobi jodem w wyciągach wodnych z liści.

Skrobia rozgotowana w wodzie przybiera, jak wiadomo, po dodaniu jodu charakterystyczną barwę niebieską z mniej lub więcej wyraźnym

¹⁾ Por. G. Krabbe: Untersuchungen über das Diastaseferment unter specieller Berücksichtigung seiner Wirkung auf Stärkekörner innerhalb der Pflanze. Pringsheim's Jahrb. t. XXI. 1890. s. 520.

odcieniem fioletowym, zależnie od ilości dodanego jodu. Reakcyja ta, tak powszechnie stosowana w badaniach chemicznych i fizyologicznych, może być uważaną za niezawodne kryterium obecności skrobi tylko wówczas, jeżeli nie ma czynników, które mogą to charakterystyczne zabarwienie zmodyfikować albo też zgoła go nie dopuścić.

W wyciągach wodnych z różnych organów roślinnych znajdują się, o czem bardzo łatwo można się przekonać, najczęściej właśnie takie warunki, niedopuszczające wobec jodu powstawania charakterystycznego dla skrobi zabarwienia. W roztworach, w których zawartość skrobi nie może podlegać żadnej wątpliwości, niebieska barwa bardzo często wcale nie występuje, albo też, jeżeli się pojawi, to tylko chwilowo i szybko znika. Zabarwienie, jakie się najczęściej utrzymuje przez czas dłuższy dopiero po dodaniu znaczniejszej ilości jodu, bywa ciemno fioletowe, podobne do barwy przybieranej wobec jodu przez roztwory niektórych odmian dekstryny. Stosunki te, jak się we własnych badaniach przekonałem, były zupełnie trafnie obserwowane przez Wortmanna. Szkoda tylko, że autor ten zadowolił się przypuszczeniem istnienia w wyciągach roślinnych licznych substancji, wpływających szkodliwie na reakcyę skrobi z jodem i nie próbował bliżej zbadać, jakimto właściwie składnikom komórek roślinnych należy przypisać ten wpływ niepożądany. Niewątpliwie byłby musiał swoje badania uzupełnić spostrzeżeniem, na które naprowadziło mnie właśnie poznanie natury chemicznej tych składników.

Na uczynione co do tego pytanie można bardzo łatwo zupełnie zadowolająco odpowiedzieć. Barwa wyciągów roślinnych, ich silny smak ściągający, ciemnienie po nadaniu alkalicznej reakcyi, redukcya tlenku miedziowego, a wreszcie zabarwienie wobec soli żelazowych wskazują wyraźnie, że wyciągi otrzymywane z liści obfitują w związki, zaliczane do grupy garbników. I tymto właśnie garbnikowym połączeniem należy przypisać przyczynę nienormalnego barwienia się wobec jodu mieszaniny wyciągów roślinnych z roztworami skrobiowymi.

Jak poucza przegląd odpowiedniej literatury, wpływ związków garbnikowych na barwienie się skrobi z jodem, jest już od dłuższego czasu znany. W. Naegeli ¹⁾ w pracy swej o materjach skrobiowych robi wzmiankę, że klajster zrobiony ze skrobi pszennej, zabarwiony jodem na niebiesko, po dodaniu taniny jaśnieje, przybiera barwę czerwoną, wreszcie zupełnie się odbarwia. Na skrobi kartoflanej nie zauważył Naegeli takiego wpływu taniny z niezrozumiałych zupełnie dla mnie powo-

¹⁾ W. Naegeli: Beiträge zur Kenntniss der Stärkegruppe. 1874. s. 60.

dów, gdyż przy własnych badaniach miałem niejednokrotnie sposobność do spostrzeżenia, że kilkanaście cm^3 ciemno-niebiesko zabarwionego jodem roztworu skrobi kartoflanej odbarwiało się natychmiast po dodaniu niewielkiej ilości słabego roztworu taniny. Z innych połączeń badałem jeszcze wpływ wyciągów z kory dębowej, kwasu gallusowego i quercitaninowego, pyrokatechiny, kwasu katechu i protokatechu garbnikowego, jakoteż waniliny i fluoroglucony. Roztwory lub zawiesiny w wodzie tych substancji dodawane do skrobi z wodą rozgotowanej i zabarwionej jodem na niebiesko wywoływały mniej lub więcej szybko jej odbarwienie. W mieszaninach z rozcieńczonym klajstrem skrobiowym mniejsze ilości jodu dawały zabarwienie niestałe; po dodaniu większych ilości, barwa przez czas dłuższy się utrzymywała.

Stwierdziwszy wogóle ujemny wpływ garbnikowych połączeń, starałem się następnie przekonać, w jakim stopniu zmniejsza się czułość reakcji jodu na skrobię w obecności garbników. W tym celu przygotowałem zupełnie przezroczysty po przesączeniu 2 $\frac{0}{10}$ roztwór taniny. Do 5 cm^3 tego roztworu dodawałem 1 $\frac{0}{10}$ rozczyń skrobi kartoflanej, silnie rozgotowanej, w ilości 0,1 do 1 cm^3 i obserwowałem barwienie się mieszaniny w obec tynktury jodowej, dolewanej kroplami z Gay Lussakowskiej biurety. Okazało się, że w obec mniejszych ilości skrobi, mianowicie w mieszaninach zawierających 0,1 — 0,7 cm^3 1 $\frac{0}{10}$ klajstru skrobiowego, charakterystyczne zabarwienie niebieskie albo wcale nie występowało, albo też przy stosunkowo większych ilościach skrobi pojawiało się wobec dodania pierwszych kropli jodu tylko chwilowo w postaci znikających mętów. Stałe ciemno-niebieskie zabarwienie występowało dopiero wówczas, gdy na 5 cm^3 2 $\frac{0}{10}$ roztworu taniny dodano 0,8 cm^3 1 $\frac{0}{10}$ klajstru skrobiowego, — zatem: gdy na 0,1 gm. taniny przypadało w mieszaninie 0,008 gm. substancji skrobiowej. Jeżeli stosunkowa ilość skrobi była mniejsza, występowało zabarwienie mniej lub więcej zielone. Dla lepszego uwydatnienia zauważonych różnic, podaję tu kilka wyjętych z dziennika zapisków:

a) w mieszaninie z 0,6 cm^3 1 $\frac{0}{10}$ roztworu skrobi po dodaniu jodu:

- 0 — 0,2 cm^3 męty niebieskie znikające; ciecz barwy jasno oliwkowej z drobnymi kłaczkami fioletowymi i czarnymi.
 0,2 — 0,4 „ ciecz zielona z niebieskawym odcieniem.
 0,4 — 0,6 „ ciecz ciemno zielona.
 0,6 — 1,0 „ barwa ta sama tylko ciemniejsza.

b) w mieszaninie z 0.7 cm^3 1% roztworu skrobi:

$0 - 0_2 \text{ cm}^3$ ciemno-niebieskie męty; barwa cieczy niebieska, po pewnym czasie zielonawa.

$0_2 - 0_4$ „ barwa ciemno-niebieska.

c) w mieszaninie z 0.8 cm^3 1% roztworu skrobi:

$0 - 0_4 \text{ cm}^3$ barwa niebieska początkowo znikająca, poczem stała ciemna.

d) w mieszaninie z 1 cm^3 1% roztworu skrobi:

$0 - 0_2 \text{ cm}^3$ po pierwszej kropli zabarwienie niebieskie krótkotrwałe następnie stałe ciemno-niebieskie.

Wyniki powyższej próby wykazują bardzo wyraźnie, że małe ilości substancji skrobiowej, barwiącej się charakterystycznie wobec jodu na niebiesko, nie dadzą się wcale wykryć w obecności związków garbnikowych, osobliwie, gdy roztwór jodu zostanie dodany odrazu w znaczniejszej ilości. Można też wogóle twierdzić, że przy badaniu roztworów zawierających taninę, a prawdopodobnie także i inne związki garbnikowe co do skrobi, można z daleko większą pewnością orzec o obecności tej substancji, aniżeli o zupełnej jej nieobecności, gdyż w takich warunkach niewielkie ilości skrobi mogą wobec jodu dawać zabarwienie nadzwyczaj łatwe do przeoczenia.

Dla objaśnienia, w jaki sposób tanina szkodliwie wpływa na barwienie się skrobi wobec jodu, W. Naegeli posiłkuje się twierdzeniem Griessmeyera, że tanina z dodawanego jodu tworzy szybko kwas jodowodorowy, który, zanim cały jod zostanie z wodorem połączony, sprawia wystąpienie przed zupełnym odbarwieniem czerwonej barwy. Pracy Griessmeyera w oryginale nie znam, i w tej chwili nie jestem w stanie orzec, o ile słuszne jest to twierdzenie. W każdym jednak razie, na podstawie własnych dotychczas wykonanych prób, mam prawo sądzić, że powstawanie jodowodoru nie jest wyłączną przyczyną nienormalnego barwienia się skrobi z jodem w obecności taniny i innych połączeń garbnikowych. Oprócz tego, a może głównie lub nawet wyłącznie, działa bezpośredni wpływ związków garbnikowych na skrobię, który się objawia przedewszystkiem powstawaniem kłaczkowatego osadu w roztworach skrobi po dodaniu n. p. taniny lub przeciwnie w roztworach taniny po dodaniu rozgotowanej skrobi. Osad ten nie jest bynajmniej czystą

skrobią, jakto twierdził Kalinowski ¹⁾, lecz połączeniem skrobi z taniną i zachowuje się w obec jodu zupełnie inaczej niż gałeczki skrobi, albo też kłajster skrobiowy.

Gdyby tanina, jak to twierdzi W. Naegeli, przeszkadzała występowaniu niebieskiej barwy po dodatku jodu tylko przez tworzenie jodowodoru, to niezależnie od ilości skrobi znajdującej się w roztworze, powinna być ciecz zawierająca, prócz skrobi, pewną ilość taniny, w miarę dodawania jodu, do pewnej granicy pozostać bezbarwną, a po przekroczeniu tej granicy musiałoby wystąpić na jaw stałe zabarwienie niebieskie, czerwone lub pośrednie fioletowe w różnych odcieniach, zależnie od stężenia wytworzonego jodowodoru. Tymczasem, jak to wyniki moich prób wykazują, jeżeli w równych ilościach roztworu taniny znajduje się stosunkowo więcej skrobi, zabarwienie niebieskie pojawia się natychmiast po dodaniu pierwszej kropli tynktury jodowej. Jeżeli zaś zawartość skrobi jest bardzo nieznaczna, to barwa czysto niebieska albo wcale się nie pojawia, albo też pojawia się tylko chwilowo i szybko znika, przy czem roztwór nie zawsze pozostaje bezbarwnym, jakby to być powinno, gdyby zniknięcie niebieskiej barwy było bezpośrednio skutkiem przemiany całkowitej ilości jodu na kwas jodowodorowy.

Nad przyczynami szkodliwego wpływu związków garbnikowych na przemianę skrobi nie potrzebuję się w tej pracy jeszcze obszerniej zastanawiać, gdyż ze względu na jej treść chodzi raczej o znajomość faktów niż o poznanie wywołujących je przyczyn. Poprzestaję więc tylko na zaznaczeniu, że do tych przyczyn należy zaliczyć, jak to już wyżej podniosłem, zarówno reakcję między substancją skrobi a kwasami garbnikowymi, jak i reakcję między jodem a temiż kwasami. Polegają one nie tylko na tworzeniu się jodowodoru, jak to twierdzi Griessmeyer, lecz są innej jeszcze natury. Do podobnego wniosku doszedł również Hlasiwetz ²⁾ na podstawie spostrzeżenia, że wodne roztwory rezorecyny, orcyny i fluoroglucyny rozpuszczają znaczniejsze ilości jodu, nie barwiąc się i nie tworząc wcale jodowodoru lub wytwarzając go w zaledwie dostrzegalnych ilościach.

¹⁾ Cyt. u W. Naegeliego l. c. str. 39.

²⁾ Cyt. u Sachssego: Die Chemie und Physiologie der Farbstoffe, Kohlenhydrate und Proteinsubstanzen. 1877. str. 99.

IV.

**O czynnikach wpływających ujemnie na działanie diastazy
w wyciągach roślinnych.**

Badania Wortmanna wykazały, że wodne wyciągi ze świeżych liści lub łądyg nie wywierają wybitniejszego diastatycznego wpływu. Przekonawszy się przedewszystkiem o zupełnej trafności pod tym względem spostrzeżeń wymienionego badacza, powziąłem zaraz myśl, że w wodnych wyciągach roślinnych, zawierających bardzo różnorodne związki, mogą istnieć warunki uniemożliwiające działanie diastazy, chociażby ona znajdowała się w nich nawet w obfitszej ilości. Odpowiednie co do tego doświadczenia wykazały jak najzupełniejszą słuszność zrobionego przypuszczenia. Jak się z ich wyników przekonałem, w wodnych wyciągach roślinnych mogą działać szkodliwe dla enzymatycznej przemiany skrobi wpływy rozmaitej natury, a w szczególności:

- a) tworzenie się ze skrobi połączeń, podlegających trudno diastatycznej przemianie;
- b) obecność związków, zaliczanych do tak zwanych substancji arbnikowych;
- c) przeprowadzanie diastazy w stan nierozpuszczalny.

W następujących ustępach podaję obszerniejszy opis doświadczeń, na podstawie których doszedłem do powyższych rezultatów.

1. Strącanie skrobi przez związki garbnikowe.

Przy poszukiwaniu diastazy w liściach zauważył Wortmann¹⁾, że wodne wyciągi, nawet dające zaraz po dodaniu kłajstru z jodem reakcyę skrobi, po krótkim czasie przy ponownej próbie, nie zdradzają obecności skrobi, jakkolwiek ten związek bez żadnej wątpliwości w nich się jeszcze znajduje. Przyczyn tego zjawiska dopatruje się Wortmann w następnych, uznanych za niewątpliwe faktach:

- a) Pierwszy produkt przemiany skrobi, amylodekstryna pozostaje w napeczniałych kłaczkach skrobiowych, jako w miejscu swego powstania. Kłaczki te są zatem zawsze przesycone amylodekstryną, która w czasie próby jodowej maskuje barwę przybieraną przez skrobię i wywołuje złudzenie, że ta substancja już zupełnie znikła z roztworu. Podczas gotowania amylodekstryna zostaje wyługowana i wówczas za do-

¹⁾ l. c. s. 597.

dawaniem jodu, nie otrzymuje się czerwonej barwy amylodekstryny, lecz występuje mniej lub więcej wyraźne niebieskie zabarwienie skrobi. Jeżeli wreszcie kłaczkki nasycone amylodekstryną pozostaną już tylko w nadzwyczaj małej ilości, to jod nie może wykazać obecności żadnej z obu substancji, gdyż maskuje ich zabarwienie swoją naturalną barwą ¹⁾.

b) Napęczniałe kłaczkki skrobiowe zostają porywane przez osady, tworzące się samoistnie w wyciągach wodnych, osobliwie z liści i zostają tak przez te ostatnie na powierzchni pokryte, że barwienie się wyciągów wobec jodu może nastąpić dopiero po odłączeniu przez zagotowanie cząsteczek osadu od skrobi ²⁾.

c) Mnożące się bardzo szybko w wyciągach roślinnych bakterye, czepiając się kłaczek skrobiowych, więżą je swemi śluzowatemi błonkami i nie dopuszczają przez to podczas próby jodowej bezpośredniego zetknięcia się skrobi z jodem ³⁾.

Wszystkie powyższe wyjaśnienia uznał Wortmann za zupełnie wiarogodne i wystarczające do wyjaśnienia zauważonych faktów, jakkolwiek żadne z nich nie jest, jak to zaraz zamierzam wykazać, trafne.

Przedewszystkiem niewłaściwem musi się wydać przedstawienie przygotowanej w wodzie mączki skrobiowej, w stosunku 0·5 na 100, jako cieczy zawierającej w zawieszeniu obfitą ilość kłaczek skrobiowych. Nietrudno bowiem sprawdzić, że skrobia zagotowana w tak małej stosunkowej ilości w wodzie, daje płyn bardzo słabo mętny, który po jednorazowym przesączeniu przez bibułę jest zupełnie przezroczysty. Owemu ukrywaniu zatem skrobi przez amylodekstrynę, jeżeli nawet uznamy je za istotne, przypisuje Wortmann zbyt przesadne znaczenie. Jeżeliby przy badaniu wyciągu co do zawartości diastazy, znaleziono w nim, z dodanej w znaczniejszej ilości skrobi po pewnym czasie, tylko tyle skrobi, ile jej było pierwotnie w 0·5% klajstrze w kłaczkach, to chyba nie możnaby wątpić, że wyciąg zawierał diastazę. Występowanie zresztą niebieskiej barwy po zagotowaniu można jeszcze w inny sposób objaśnić, mając na oku niezupełnie trafnie interpretowane lecz uznawane dotąd za wiarogodne spostrzeżenie W. Naegeliogo ⁴⁾, że stracona amylodekstryna jodowa, rozmącona w wodzie, daje zupełnie przezroczysty czysto niebieski płyn, który dopiero po pewnym czasie zmienia barwę na fioletową. Inaczej też możnaby wytłómaczyć ten fakt na podstawie twier-

¹⁾ l. c. str. 601.

²⁾ l. c. str. 604

³⁾ l. c. str. 605.

⁴⁾ l. c. str. 65.

dzenia Musculusa i Meyera ¹⁾, że amylodekstryna daje z jodem w roztworze rozcieńczonym zabarwienie czerwone, a w stężonym czysto niebieskie.

Co do owego porywania kłaczków skrobi przez tworzące się samoistnie w wyciągach roślinnych osady, to dziwić się trzeba, jakim sposobem Wortmann zapoznał zachodzące tu istotnie okoliczności. Skoro, jak sam słusznie zauważył ²⁾, osady takie tworzą się w zupełnie przezroczystych wyciągach z liści, często natychmiast po dodaniu rozcieńczonego klajstru skrobiowego, to zamiast przypisywać to zjawisko porywaniu skrobi przez tworzące się samoistnie w wyciągu roślinnym zawiesiny, należało wprzód zbadać wiarogodność o wiele prostszego przypuszczenia, że skrobia nie jest porywaną biernie, lecz wywołuje czynnie powstanie osadów, wskutek reakcyi ze składnikami wyciągu.

Nie lepiej uzasadnione jest też twierdzenie o ukrywaniu skrobi przez bakterye. Rozmiary tego procesu nie mogą być tak wiele znaczące, jak to sobie Wortmann wyobraża. Pogląd zresztą, że bakterye nie dopuszczają działania diastazy na skrobię, zostaje w pewnej sprzeczności z żywioną przez tegoż badacza obawą, iż mnożące się szybko w wodnych wyciągach roślinnych bakterye, scukrzając skrobię, mogą stać się nieraz przyczyną błędnego przekonania, jakoby w wyciągu znajdowała się i działała diastaza wyługowana z tkanek roślinnych ³⁾.

Do powyższych uwag mogę ograniczyć rozbiór słabych stron zapatrywania Wortmanna, na przyczyny utrudniające wykrycie skrobi, za pomocą reakcyi jodowej w wodnych wyciągach. Własne spostrzeżenia nad tą sprawą doprowadziły mię do zupełnie odmiennych poglądów, które teraz przedstawię.

Punktem wyjścia moich poszukiwań był niepodlegający wątpliwości fakt, że w wyciągach wodnych roślinnych powstają osady, zawierające w swym składzie substancję skrobiową. Aby mózł stanowczo orzec w takich warunkach, że nie ma w wyciągu obfitszej ilości diastazy, trzeba było przedewszystkiem upewnić się, że diastaza może ze zwykłą energią działać chemicznie na skrobię zawartą w osadzie.

Dla wyjaśnienia tej ważnej kwestyi potrzeba było zbadać bliżej naturę osadów, tworzących się w wyciągach po dodaniu rozgotowanej

¹⁾ Musculus i Arthur Meyer: Ueber Erythroextrin. Zeitschrift für physiol. Chemie, t. IV. 1880. s. 451.

²⁾ l. c. str. 603.

³⁾ l. c. str. 588.

skrobi, jakoteż zachowanie się tych osadów w cieczy, zawierającej silnie działającą diastazę.

Co do pierwszego punktu, to można go zupełnie zadowolająco i łatwo wyjaśnić. Wszystko bowiem prowadzi do przypuszczenia, że w strącaniu skrobi w wyciągach roślinnych odgrywają ważną rolę te same związki, które nie dopuszczają przybierania przez skrobię wobec jodu czysto niebieskiej barwy.

Oddawna znane jest powstawanie ze skrobi nierozpuszczalnych związków w obecności kwasu garbnikowego. Payen i Persoz ¹⁾ zauważyli jeszcze w 1834 r., że tanina, strącając w roztworach skrobię, tworzy osad rozpuszczalny podczas ogrzewania. Reakcyę tą służy w analitycznych badaniach do oddzielenia i wyróżnienia skrobi od dekstryn, których tanina nie strąca. Dziwić się jednak trzeba, że to spostrzeżenie nie zostało należycie wyzyskane w dotychczasowych poszukiwaniach nad chemią skrobi.

Własne spostrzeżenia przekonały mię, że istotnie liczne połączenia, mające charakter związków garbnikowych, posiadają własność przeprowadzania w stan nierozpuszczalny w zimnej wodzie substancyi organicznej, barwiącej się charakterystycznie niebiesko w zetknięciu się z jodem. Nie używam tu z umysłu nazwy skrobia, gdyż w tej chwili nie mam jeszcze pewności, czy działanie związków garbnikowych w tej reakcyi rozciąga się na całą masę gałeczek skrobi, czy też tylko na pewne jej części składowe. Otrzymane kłaczkowate osady, dawały, zupełnie tak samo jak zawiesiny, powstające w wodnych wyciągach roślinnych, dopiero podczas gotowania charakterystyczną reakcyę dla skrobi z jodem.

Szczegółowe opisywanie spostrzeżeń, zrobionych nad istotą chemiczną przemiany, zachodzącej w substancyi gałeczek skrobiowych pod wpływem związków garbnikowych wychodzi znacznie poza zakres niniejszej pracy. Badania pod tym względem jeszcze w zupełności niewykończone, zamierzam ogłosić wkrótce w oddzielnej rozprawie o budowie gałeczek skrobi. Na tem miejscu uważam za właściwe przedstawić tylko wyniki kilku doświadczeń, wskazujących oprócz faktu strącania skrobi przez związki garbnikowe, równocześnie trudności, jakich doznaje diastaza w działaniu na osady, powstające w wyciągach roślinnych po dodaniu klajstru skrobiowego.

Diastazy we wszystkich doświadczeniach używałem w postaci zawsze świeżego wyciągu wodnego z zielonego słodu, który z jęczmienia sam

¹⁾ p. W. Naegeli l. c. str. 40.

co kilka dni przysposabiałem. Użycie czyszczonej diastazy nie było wcale koniecznym. Wystarczało zawsze przekonanie się za pomocą prowadzonych współrzędnie spostrzeżeń, że surowy wyciąg słodowy zawierał istotnie enzymę silnie działającą na skrobię.

Przemiany skrobi wykrywałem za pomocą próby jodowej. Jodu używałem zawsze w postaci 1⁰/₀ roztworu alkoholowego. Bez oznaczeń cukru, żmudnych i w wyciągach roślinnych nie dosyć dokładnych, metodą Fehlinga, można się było w próbach w tej pracy opisanych obejść.

Doświadczenie I.

Doświadczenie to zrobiłem w celu zbadania, jak wpływa obecność taniny na enzymatyczną przemianę skrobi. Diastazę otrzymałem ze słodu świeżo przygotowanego. Na 50 gm. wilgotnych skiełkowanych ziarn jęczmienia nalałem 100 cm³ wody przepędzonej, po 3 ch godzinach ciecz enzymową wycisnąłem na małej prasce i po przesączeniu przez bibułę natychmiast do prób użyłem, dodając na 50 cm³ wody lub roztworu taniny 5 cm³ świeżego przesączu. Odczynnikami do oceny energii diastatycznego działania był 1⁰/₀ rozczyzn rozgotowanej mocno skrobi dodany, w celu rychłego wykrycia różnic, w ilości tylko 5 cm³. Nasamprzód dodawano skrobię, a natępnie dopiero wyciąg wodny ze słodu. Osad utworzony dopiero po dodaniu diastazy w roztworach zawierających taninę, w jednej próbie pozostawiłem w cieczy w zawieszeniu, a w dwóch innych natychmiast odcodziłem przez bibułę. Ponieważ przesącze wskutek stracenia skrobi nie barwiły się wcale z jodem przy natychmiastowej próbie, dodawałem do nich na nowo po 5 cm³ 1⁰/₀ rozczyznu skrobi. Wyciąg słodowy rozcieńczony czystą wodą bardzo szybko na skrobię działał, po upływie zatem pierwszych 3-ch godzin dodałem mu jeszcze 10 cm³ skrobiowego rozczyznu. Następna tabliczka wskazuje, jakie różnice zauważono po upływie pewnego czasu w reakcyi z jodem.

Barwa	I	II	III	IV
w obec jodu otrzymana po upływie:	50 cm ³ wody destylow.	50 cm ³ roztworu 0·4 ⁰ / ₀ taniny osad nieodczodzony	50 cm ³ roztworu 0·4 ⁰ / ₀ taniny osad odsączony	50 cm ³ roztworu 0·8 ⁰ / ₀ taniny osad odsączony
15 minut	b. blade różowa	brudno niebieska	niebieska	brudno niebieska
3 godzin	żółta	"	"	"
5 "	"	w płynie z wierzchu różowa, po skłóceniu ciemno-niebieskie kłaczkowate w różowawej cieczy	w płynie zlanym niebieska; po skłóceniu ciemno-niebieska, potem zielona	w płynie z wierzchu niebieska; po skłóceniu ciemno-niebieska, potem ciemno-zielona.
17 "	"			
27 "	"			

W ciągu następnej doby nie zauważyłem żadnej wybitniejszej zmiany w reakcyi z jodem. Pozyskałem więc z tego doświadczenia wyraźną wskazówkę, że tanina wywiera bardzo szkodliwy wpływ na obecność diastazy.

W próbie, w której osad utworzony w mieszaninie utrzymywał się przez czas jakiś w zawieszeniu a potem osiadł na dnie, można było nieczynność diastazy przypisać, bądź przeprowadzeniu tej enzymy w stan nierozpuszczalny, bądź też jej niemocy oddziaływania na strąconą skrobię. Chcąc wyjaśnić tę sprawę, dodałem na nowo 5 cm³ bardzo silnie działającego wyciągu diastatycznego ze słodu, który, jak oddzielna próba wykazała, pozbawiał zupełnie znaczne ilości kłajstru skrobiowego zdolności barwienia się z jodem. Pomimo tego, że tanina, w skutek strącenia, już się w roztworze nie znajdowała, można było w ciągu kilku dni następnych za pomocą jodu wykryć obecność niebiesko barwiącej się substancyi skrobiowej, jak to wskazują następane obserwacye:

	A.	B.	
	roztwór diastazy bez taniny	roztwór diastazy wobec taniny	
zabarwienie po upływie:		przed skłóce- niem:	po skłó- ceni:
15 minut	żółte	niebieskie	niebieskie
3 godzin	"	różowo-fioletowe	"
6 "	"	blado-różowe	"
48 "	"	"	brudno-fioletowe, po ogrzaniu niebieskie.

Diastaza działała zatem w obecności taniny na skrobię znajdującą się w roztworze, ale znacznie słabiej niż w nieobecności taniny. Natomiast na skrobię znajdującą się w osadzie wpływ diastazy był bardzo nieznaczny.

Mieszaniny z próby III i IV badałem jeszcze przez dwa dni następne co do zawartości skrobi i zawsze ją w sposób nieprzedstawiający wątpliwości wykrywałem. Ponieważ w tych próbach osad utworzony po dodaniu wyciągu słodowego został odcedzony, można z wielkiem prawdopodobieństwem przypuścić, że dodana do przesączu skrobia, już tylko w stosunkowo nieznacznej części strącona, nie mogła uleść enzymatycznej przemianie, w skutek nieobecności diastazy zatrzymanej w odsączonym osadzie. Że tak jest istotnie, wykażę na właściwem miejscu.

Doświadczenie II.

W celu uzyskania większej ilości strąconej taniny skrobi wlałem cienkim strumieniem do $2\frac{1}{2}$ litrów 4⁰/₀ roztworu taniny, około 750 cm. mocno rozgotowanego gorącego 2⁰/₀ klajstru ze skrobi kartoflanej. Część powstałego osadu zbiła się szybko i osiadła na dnie, w postaci brudno-białej gąbczastej masy. Znaczna ilość drobnych kłaczków pozostała w zawieszeniu i dopiero po kilkunastu dniach osiadła. Odłączony od zawiesiny białej przesącz dawał z chlorkiem żelazowym bardzo wyraźną reakcyę kwasu garbnikowego, a z jodem żółto-czerwone zabarwienie.

Zbitą gąbczastą masę, nadzwyczaj lepką po wydobyciu z cieczy, w celu wypłukania taniny rozcierałem w wodzie, którą zlewałem zaraz po osadzeniu się masy stałej. Czynność taką powtórzyłem sześć razy, płyn pochodzący z pierwszej dekantacji z jodem wcale się nie barwił. Następne spluczki, po dodaniu niewielkiej ilości jodu, przybierały barwę blade różową, przechodzącą w zielonawą, a wobec większej ilości jodu, utrzymywała się barwa oliwkowa. Ostatni odlany płyn za dodawaniem tynktury jodowej przybierał stopniowo zabarwienie różowe, fioletowe, wiśniowe i ciemno wiśniowe. Po dodaniu znacznej ilości jodu przybrała ta ostatnia barwa zielonawy odcień. Obecność taniny wykazywały sole żelazowe we wszystkich roztworach.

Różnice, zauważone w barwieniu się płynów zlewanych wobec jodu, dadzą się wytłumaczyć tylko w ten sposób, że póki ciecz znajdująca się w zetknięciu z osadem zawierała wiele taniny, skrobia się nie rozpuszczała, gdy zaś niewiele taniny pozostało, substancya skrobiowa przechodziła do roztworu. Świadczyłoby to, że słabe rozczyzny taniny nie strącają łatwo skrobi, co zresztą inne próby również wskazywały. Wypłukana masa barwy trochę bielszej, zagotowana w wodzie rozpuszczała się, dając roztwór przyjmujący po dodaniu jodu barwę czyste niebieską. Wysychając masa ta ciemniała i po kilku dniach zmieniała się w nadzwyczaj kruchą, lekką substancyę, koloru ciemnego zielonawo-brunatnego.

W celu przekonania się, o ile diastaza może działać na ten związek, czy też poprostu na mieszaninę taniny ze skrobią, rozmaciłem pewną ilość świeżej jeszcze substancji w 50 cm³ wody przepędzonej, i do mętnej cieczy, zawierającej łatwo opadającą zawiesinę dodałem 2 cm³ silnie działającego wodnego wyciągu ze słodu. Chcąc uzyskać słabą kwaśną reakcyę, wpuściłem małą kropelkę rozcieńczonego kwasu solnego. Jod zabarwiał ciecz natychmiast po dodaniu diastazy na niebiesko. Po upływie pierwszej godziny nie zauważyłem żadnej zmiany

w reakcyi z jodem, dodałem więc znowu 2 cm³ diastatycznego wyciągu i przez kilka dni następných obserwowałem zachowanie się wobec jodu mętnawej cieczy zbierającej się po każdym skłóceniu, dosyć prędko nad brudno-białym osadem. Zauważyłem następujące zmiany w barwie, za dodawaniem kroplami tynktury jodowej:

po upływie	1 1/2	godziny	barwa	brudno - fioletowa
"	"	14	"	" jasno - fioletowa, ciemno - fioletowa, zielonawa, ciemno - oliwkowa.
"	"	26	"	" różowa, fioletowa, oliwkowo - brunatna.

Po upływie jednej doby, za skłóceniem mieszanina okazywała przed zagotowaniem zabarwienie brudno - fioletowe, a po zagotowaniu niebieskie. W ciągu następnej doby w reakcyi z jodem ani przed, ani po skłóceniu cieczy, żadnej zmiany nie zauważyłem.

Na podstawie powyższych obserwacyj możnaby przypuścić, że dodany w większej ilości wyciąg słodowy zdołał w tem doświadczeniu pewną ilość skrobi chemicznie przemienić, gdyż pierwotne niebieskie zabarwienie cieczy wobec jodu po pewnym czasie już się wcale nie pojawiało. Wskazywałoby to, że diastaza może działać w obecności taniny na skrobię znajdującą się w roztworze. W takim razie, gdyby się w miarę dokonanej przemiany coraz to nowe ilości osadu rozpuszczały, mogłaby, jakkolwiek powoli, znaczniejsza ilość skrobi uleść diastatycznemu wpływowi. Wniosku tego nie popiera jednak spostrzeżenie, że ilość wytworzonego cukru była bardzo nieznaczna. Przesączona mianowicie po kilku dniach przez bibułę ciecz, zredukowała po usunięciu taniny za pomocą węgla zwierzęcego bardzo słabo alkaliczny roztwór soli miedziowej. Trudno także spodziewać się w tych warunkach wybitniejszego wpływu diastazy na skrobię, z powodu, że w miarę rozpuszczania się z osadu skrobi musiałyby przechodzić do roztworu i kwas garbnikowy, który gromadząc się mógłby przeszkadzać albo rozpuszczaniu się skrobi, albo też działaniu na nią diastazy. O mało znaczącym zresztą rozmiarze procesu świadczy i fakt, że ilość osadu, nawet po kilkunastu dniach, nie zmniejszyła się w sposób widoczny.

Streszczenie zrobionych w doświadczeniach spostrzeżeń.

Rezultaty osiągnięte w opisanych powyżej doświadczeniach prowadzą do następnych wniosków, ważnych dla przyszłych badań nad obecnością diastazy w organach roślinnych:

1) Skrobia w wyciągach wodnych tworzy z zawartymi w nich związkami garbnikowymi nierozpuszczalne osady.

2) Substancja skrobiowa w tych osadach zawarta podlega bardzo trudno działaniu diastatycznej enzymy; jeżeli przemiana jest w ogóle możliwą, to w każdym razie odbywa się nadzwyczaj powolnie.

W obec powyższych faktów można uważać za nieuzasadnione twierdzenie Wortmanna ¹⁾, że najbardziej pewne kryterium obecności diastazy daje dopiero zupełne zniknięcie skrobi. Może się ono bowiem odnosić tylko do warunków, w których diastaza ma do przemiany na cukier niezmienioną skrobię, a nie, jak to bywa najczęściej w wyciągach wodnych roślinnych, trudno dostępne wpływom diastatycznej enzymy połączenia, czy też mieszaniny skrobiowej substancji. Mogłyby one, o ile się zdaje, doznawać wybitniejszej przemiany tylko w obecności bardzo znacznych ilości diastazy.

2. Przeszkody w przemianie niestrąconej skrobi pod wpływem diastazy w wyciągach roślinnych.

Jak się przekonano z licznych doświadczeń, diastaza nie jest wcale substancją niezależną co do swego chemicznego działania od postronnych wpływów. Dość tu wspomnieć o zależności przemiany skrobi pod wpływem enzymy diastatycznej od temperatury, oraz od reakcyi kwaśnej lub alkalicznej. Mając na oku odnoszące się do tej kwestyi fakty, niepodobna było w obec braku energicznego diastatycznego działania w wyciągach z liści, nie zadać sobie pytania, czy w tych wyciągach nie działają jakiegokolwiek szkodliwe dla diastazy wpływy.

Zbadanie tej ważnej kwestyi nie przedstawiało trudności. Trzeba tylko było obserwować zachowanie się skrobi w wyciągach z liści niewątpliwie zawierających diastazę. Warunki zaś takie można było łatwo uzyskać, dodając do otrzymanych z ługowania pociętych liści przesączów wodnego wyciągu ze świeżego słodu. Tą też drogą w zamierzonych badaniach poszedłem.

Diastaza dodawana była w ilościach stosunkowo niewielkich, zawsze jednakże w tak znacznych, aby w rozcieńczonym wodą dystylowaną kłajstrze skrobiowym, działanie jej mogło być stwierdzone szybko i pewnie. Dodatek w podobnych doświadczeniach w większej ilości diastazy, jak się o tem przekonałem, nie jest uzasadniony, gdyż w takim razie

¹⁾ l. c. s. 592.

ujemne wpływy mogą o wiele słabiej oddziaływać albo może i zupełnie ustąpić.

Doświadczenie I.

Na 100 gm. świeżo zerwanych, bardzo drobno pociętych liści z bzu, przeważnie starszych, nalano 100 cm³ wody przepędzonej. Z wyciągu odparowanego po kilku godzinach otrzymano po jednorazowym przesączeniu przez bibułę zupełnie przezroczysty płyn żółto-brunatny. Wyciąg diastazy uzyskano przez parogodzinne ługowanie w 100 cm³ wody destylowanej 40 gm. surowego słodu jęczmiennego rozgniecionego. Skrobię dodawano do rozcieńczonego wodą lub wyciągiem płynu diastatycznego w postaci 1% mocno rozgotowanego klajstru. W wyciągu roślinnym nie można było odrazu otrzymać wyraźnej reakcji skrobi. Podczas dodawania jodu powstawały niebieskie męty rychło znikające, a w końcu ciecz przybrała zabarwienie brunatno-zielone. Różnice w działaniu diastazy okazały się następujące:

	A.	B.
	50 cm ³ wody dystylowanej	50 cm ³ wyciągu z liści
	1 cm ³ wyciągu słodowego	1 cm ³ wyciągu słodowego
	5 cm ³ klajstru	5 cm ³ klajstru
barwa z jodem:		
po 3-ch godzinach	żółta	bez zmiany
po dodaniu nowych		
5 cm ³ 1% klajstru:		
po 10 minutach	różowo-fioletowa	"
" 20 "	"	"
" 2 godzinach	bladło-różowa	"
" 14 "	żółta	"

Wyciąg z liści po zmieszaniu z roztworem diastazy oraz skrobi z początku pozostał przezroczysty. Dopiero po jakimś czasie zauważono nasamprzód zmętnienie a następnie utworzenie się słabego osadu. Próbę jodową wykonywano jeszcze przez cztery dni i otrzymywano zawsze w wyciągu z liści zabarwienie charakterystyczne dla skrobi wobec garbnikowych połączeń.

Doświadczenie II.

W doświadczeniu tem zamierzono zbadać, o ile stopień rozcieńczenia wyciągu działa łagodząco na wpływy szkodzące diastatycznym działaniami. Użyto takich samych wyciągów z liści bzu i ze słodcu, jakie służyły do doświadczenia I. Wyciągu słodowego dodawano po 5 cm³.

	A.	B.	C.
	50 cm ³ wody	40 cm ³ wody	40 cm ³ wody
		10 cm ³ wyciągu z liści	20 cm ³ wyciągu z liści
a) po dodaniu 5 cm ³ 1% klajstru :			
w 3 godziny	żółta	nie ma wyraźnej reakcyi skrobi przed zagotowaniem	
b) po dodaniu nowych 5 cm ³ klajstru :			
w 2 godziny	"	przed zagotowaniem reakcyi nie ma	
w 14 godzin	"	"	jest
c) po dodaniu nowych 5 cm ³ klajstru :			
w 1/2 godziny	fioletowo- różowa	fioletowo- niebieska	niebiesko- zielona
" 2 "	żółta	fioletowa, przedtem niebieskie męty	"
" 7 godzin	"	brudno-fioletowa	brudno-fioletowa

W doświadczeniu powyższem, pomimo użycia rozcieńczonych wyciągów z liści, trudno było otrzymać w mieszaninach zupełnie wyraźną reakcyę skrobi. Ponieważ pewne, choć nie dosyć pochwytne, różnice w zabarwieniu dały się zauważyć, możnaby sądzić, osobliwie co do pierwszej dodanej porcyi skrobi, że działanie diastazy zupełnie nie było powstrzymane. W każdym jednak razie wpływ był znacznie osłabiony, gdyż przez następnych kilka dni wobec próby jodowej już dalszej zmiany w barwie nie zauważono.

Doświadczenie III.

Na odprasowane liście z bzu, z których przygotowano wyciąg, jak w doświadczeniu I, nalano na nowo 100 cm³ wody. Po 15 godzinach odprasowano 75 cm³ wyciągu, który po rozcieńczeniu do 300 cm³ prze-filtrowano. Uzyskana ciecz miała barwę żółto-brunatną. Wyciąg diasta-tyczny otrzymany przez wyługowanie 50 gm. słodku rozcieńczono w 100 cm³ wody w stosunku 1 : 10. Wyciągu tego użyto 1 cm³ na 50 cm³ wody dystylowanej, a 1—5 cm³ na 50 cm³ wyciągu z liści. Skrobi dodano z początku po 10 cm³. Zabarwienie w obecności jodu znaleziono wszę-dzie niebieskie. Po upływie godziny, po dodaniu tynktury jodowej, oka-zały się następujące barwy :

w wodzie	z 1 cm ³ wyciągu słodowego	fioletowa
„ wyciągu z liści	„ „ „	ciemno-wiśniowa
„ „ „	2—5 cm ³ „ „	naturalna wyciągu

Za dodaniem na nowo po 10 cm³ tego samego klajstru znaleziono po godzinie znowu powyżej wymienione zabarwienie. Następnego dnia rano wpuszczono po 25 cm³ świeżego 1% klajstru i stwierdzono za-barwienie :

	po 3-ch godzinach	po 6-u godzinach	po 24 godzinach
a) woda i 1 cm ³ wyciągu słodowego	wiśniowe	b. blado-różowe	żółte
b) wyciąg z bzu i 1 cm ³ wyciągu słodowego	niebieskie	fioletowe	brunatno-wiśniowe
c) „ „ i 2 cm ³	fioletowe	wiśniowo-fioletowe	oliwkowo-brunatne
d) „ „ i 3 „	fioletowo-brunatne	wiśniowo-brunatne	dziko-zielone
e) „ „ i 4 „	fioletowo-brunatne	„	„
f) „ „ i 5 „	wiśniowo-brunatne	wiśniowo-brunatne	„

Doświadczenie IV.

Liście kasztana (*Aesculus hippocastanum*) bez ogonków w ilości 100 gm. drobno pocięte i rozmiażdżone zalano 300 cm³ wody przepę-dzonej. Po 4-ch godzinach wyciśnięto z gęstej masy ciecz lepka i ślu-zowatą, brunatnej mętnej barwy, bardzo trudno przesączającą się przez bibułę. Uzyskany przesącz był ciemno-czerwonobrnatny. Równocześnie przygotowano wyciąg ze świeżego słodku, ługując 50 gm. wykielkowa-nych nasion w 100 cm³ wody przez 4 godziny. Otrzymane po odpra-

sowaniu 100 cm³ wyciągu, rozcieńczono taką samą ilością wody. Jako odczynnika do wykrycia diastazy użyto 0.5% kłajstru skrobiowego w ilości po 25 cm³. Wyciąg słodowy zmieszano w różnych ilościach z wodą czystą i z wyciągiem z liści kasztana. Po dodaniu diastatycznego roztworu do wyciągu z ilości zauważono zmętnienie najsilniejsze w cieczy, do której dodano najwięcej diastazy. Domieszanie roztworu skrobiowego nie powiększyło na razie ilości zawiesiny. Dopiero po kilkunastu godzinach utworzył się słaby osad, najobfitszy tam, gdzie wyciąg ze słodu był dodany w najmniejszej ilości. Natychmiast po domieszaniu skrobi dodany jod barwił we wszystkich próbach ciecz na niebiesko. Wyciągi słodowe rozcieńczone wodą przepędzoną stały się zupełnie przezroczyste:

najwięcej stężony po upływie 1/2 godziny
 średnio " " " 1 "
 najmniej " " " 2 godzin.

Obserwowane za pomocą reakcyi jodowej postępy w diastatycznej przemianie skrobi zawiera następująca tabliczka:

Zabarwienie obserwowane po upływie:	I. 25 cm ³ wody 0.5 cm ³ wyciągu ze słodu	II. 25 cm ³ wody 0.25 cm ³ wyciągu ze słodu	III. 25 cm ³ wody 0.1 cm ³ wyciągu ze słodu	IV. 25 cm ³ wyciągu z liści 0.5 cm ³ wyciągu ze słodu	V. 25 cm ³ wyciągu z liści 0.25 cm ³ wyciągu ze słodu	VI. 25 cm ³ wyciągu z liści 0.1 cm ³ wyciągu ze słodu
1/2 godziny	fioletowoniebieskie	fioletowoniebieskie	niebieskie	niebieskie	niebieskie	niebieskie
1 "	wiśniowofioletowe	wiśniowofioletowe	fioletowoniebieskie	"	"	"
3 godzin	wiśniowe	wiśniowe	fioletowowiśniowe	fioletowoniebieskie	"	"
15 "	żółte	żółte	żółte	brunatnofioletowe	"	"
20 "	"	"	"	brunatnowiśniowe	fioletowe	"
24 "	"	"	"	"	wiśniowofioletowe	"
27 "	"	"	"	brunatnoczerwone	brudnowiśniowofioletowe	"
40 "	"	"	"	"	"	"
48 "	"	"	"	jasnobrunatnoczerwone	"	"
8 dni	"	"	"	żółte	wiśniowe	"

Doświadczenie V.

Zauważone w poprzednich doświadczeniach przeszkody energicznego działania diastazy w wyciągach z liści można było z największym prawdopodobieństwem przypisać obecności związków garbnikowych. W celu sprawdzenia, o ile to przypuszczenie jest słuszne, badałem zachowanie się diastazy w roztworach sodowej soli taniny różnego stężenia. Roztwór taki przygotowano rozpuściwszy 1 gm. taniny w 13 cm³ normalnego ługu sodowego i dopełniwszy go do 50 cm³ wodą dystylowaną. Po dodaniu kropli rozcieńczonego kwasu solnego osłabiano znacznie alkaliczną reakcję, przyczem ani osad ani zmętnienie nie pozostały. Diastatyczny wyciąg otrzymano w zwykły sposób i dodawano po 0.5 cm³. Po dodaniu diastazy roztwory pozostały przezroczyste. Po pewnym czasie, w skutek powolnego utleniania się kwasu garbnikowego, barwa wszystkich mieszanin ciemniała. Klajstru skrobiowego 0.5% użyto wszędzie po 25 cm³. Po dodaniu jodu zaraz wystąpiła wszędzie barwa niebieska, z wyjątkiem próby D, zawierającej najsilniejszy roztwór soli garbnikowej, która odrazu dawała zabarwienie brunatno wiśniowe. W ciągu kilku następnych dni za użyciem próby jodowej obserwowano barwy, jak następuje:

	A.	B.	C.	D.
po upływie: 25 cm ³ wody		22.5 cm ³ wody	12.5 cm ³ wody	25 cm ³ roztworu
		2.5 „ roztworu	12.5 „ roztworu	
15 minut	wiśniowo-fioletowa	niebieska	niebieska	brunatno-wiśniowa
1 godziny	brunatno-wiśniowa	niebiesko-fioletowa	„	„
4 godzin	czerwona	brudno-wiśniowo-fioletowa	brudno-fioletowa	„
15 „	żółta	brunatno-czerwona	wiśniowo-fioletowa	brudno-fioletowa
24 „	„	„	„	„
40 „	„	blado-różowa	„	„

Z prób tych wypada zatem, że z roztworów garbnikowych tylko w najsłabszym roztworze przemiana skrobi została ukończona. Ostateczna barwa różowawa była taką samą, jaką w obec jodu przybierał sam roztwór bez skrobi. Zawsze jednak i w najsłabszym roztworze działała

diastaza powolniej niż rozcieńczona czystą wodą dystalowaną. W silniejszych roztworach zmniejszenie energii działania było jeszcze wybitniejsze.

Zestawienie wypadków z doświadczeń.

Wszystkie opisane powyżej doświadczenia wykazują w zgodny sposób, że diastaza nie ma w wyciągach wodnych z liści dobrych warunków działania. Przemiana skrobi, pomimo dodania silnej diastazy, była albo zupełnie powstrzymana, albo też znacznie słabsza. Zyskano też pewne wskazówki, że substancja barwiąca się wobec jodu niebiesko, w tych warunkach często łatwiej podlega wpływowi diastazy i znika z roztworu, aniżeli pośrednie produkty diastatycznego działania, przybierające po dodaniu jodu zabarwienie czerwone.

Najważniejsze spostrzeżenia z tych doświadczeń dają się streścić w następujących wnioskach:

1) W wyciągach wodnych z liści znajdują się ciała wywierające szkodliwy wpływ na przemianę skrobi pod wpływem diastazy.

2) Stopień osłabienia działania diastazy zależy od stężenia wyciągu.

3) Szkodliwy wpływ składników wyciągu słabiej się objawia przy większej ilości działającej diastazy, niż przy mniejszej.

4) Działaniu diastazy na skrobię szkodzą w wodnych wyciągach roślinnych związki, należące do t. z. garbników.

5) Związki garbnikowe wywierają wpływ szkodliwy bądź przez strącanie diastazy, bądź też przez samą obecność, niesprawiającą strącenia.

Uważając przytoczone wyżej fakty za dostatecznie pewne, nie mogę tem samem zgodzić się na twierdzenie Wortmanna ¹⁾, że stwierdzenie dopiero po upływie kilku dni, słabej lub nawet wyraźnej zmiany w kłajstrze skrobiowym wskazuje na pewno, że wyciąg diastazy nie zawierał, a do zauważanej zmiany skrobi dały powód bakterye. Własne spostrzeżenia doprowadziły mnie bowiem przeciwnie do przekonania, że w wyciągach z liści, nawet wcale nie działających na skrobię, obecność enzymy diastatycznej jest możliwą, lecz trudną nieraz bardzo do wykrycia. Nieuzasadnionem mogę również nazwać mniemanie Baranieckiego, że gdzie tylko chodzi o stwierdzenie diastazy za pomocą obserwacji przemian w kłajstrze skrobiowym, można zawsze użyć surowego wodnego wyciągu, oraz, że jest to sposób postępowania zarówno prosty jak pewny.

¹⁾ l. c. s. 588.

3. Działanie enzymatyczne strąconej diastazy.

Podczas mieszania wyciągu słodowego z wodnym wyciągiem z liści, powstawały często osady jeszcze przed dodaniem skrobi. Jako wielce prawdopodobną przyczynę tego zjawiska należało uważać garbnikowe substancje, tworzące z diastazą nierozpuszczalne połączenia. Starałem się przeto zbadać za pomocą odpowiednich doświadczeń, jak działa na skrobię diastaza strącona przez związki garbnikowe.

Przeprowadzenie co do tego badania wydało mi się tem więcej potrzebne, że jak twierdzi Duclaux ¹⁾, enzymy mają zdolność czepiania się bardzo łatwo substancji strąconych w enzymowych roztworach. Tworzą się przytem osady, które mogą stanowić źródło, dostarczające w stanie czynnym enzymowych substancji, które się łatwo z osadów odszczepiają. Twierdzenie Dubrunfaut ²⁾, że nierozpuszczalny związek diastazy z taniną działa na skrobię tak samo, jak wolna diastaza, przemawiało również za wykonaniem odpowiednich doświadczeń.

W celu wyjaśnienia tej kwestyi dodano do 5% roztworu taniny około 15 cm³ przygotowanego w zwykły sposób wyciągu ze świeżego siodu. Utworzony kłaczkowaty osad szarej barwy zebrano na sączku i przemyto wodą aż do zaniknięcia reakcji garbnikowej. Pewną ilość świeżego osadu rozmacono w 25 cm³ wody. Dla pewności, że diastaza w osadzie się znajdowała, rozpuszczono drugą porcję, mniej więcej dzieśięć razy mniejszą w kilku kroplach 1/10 normalnego ługu sodowego, i rozcieńczono do 25 cm³ wodą. Do przygotowanych w ten sposób mieszanin dodano po 10 cm³ 0.5% klajstru skrobiowego. Oprócz tego, dla przekonania się, czy przy płukaniu osadu diastaza nie ulega łatwo wylugowaniu, zmieszano takąż samą ilość klajstru z kilkudziesięcioma cm³ ostatniego przesączu, otrzymanego podczas płukania diastazy. Zaraz po dodaniu skrobi tynktura jodowa barwiła wszystkie ciecze niebiesko. Zmiany w barwie w ciągu kilku następnych dni zauważono następujące:

	A.	B.	C.
	osad	osad	przesącz bez osadu
po upływie:	rozkłucony	rozpuszczony	niebieska
12 godzin	niebieska	brunatno-wiśniowa	
20 "	"	brunatno-czerwona	"
36 "	"	b. jasno-fioletowa	"
48 "	"	żółta	"
11 dni	fioletowa	"	"
14 "	"	"	"

¹⁾ M. Duclaux. Chimie biologique 1883, str. 157.

²⁾ Dubrunfaut, Dingler's polytechn. Journal. t. CLXXXIV. 1868, s. 491.

Próby powyższe wykazały zatem, że diastaza znajdowała się w osadzie, a w przesączu jej nie było. Słaba zmiana reakcyi w próbie, zauważona po dłuższym czasie pozwalałaby wnosić, że diastaza rozpuszczała się z osadu w małej ilości. Na karb bakteryi przemianę tę trudno złożyć, skoro przesącz C dawał zawsze wyraźną reakcyę skrobi. Powolną rozpuszczalność diastazy potwierdza również wykrycie pod koniec drugiego dnia za pomocą chlorku żelazowego w płynie, z rozmąconym osadem słabej reakcyi garbnikowej.

Słabe działanie diastazy strąconej czynnie lub też porwanej biernie przez osad powstający przy mieszaniu roztworu taniny z wyciągiem słodowym zostało jeszcze w inny sposób stwierdzone. Rozpuszczono mianowicie osady otrzymane w próbach III i IV opisanego już wyżej doświadczenia I, po uprzednim przemyciu ich wodą, w bardzo rozcieńczonym ługu sodowym. Otrzymano w ten sposób około 100 cm³ przesączu o barwie oliwkowej, do którego dodano 20 cm³ 1% roztworu skrobi. Mieszaninę podzielono na dwie równe porceje. Do jednej dodano kilkanaście kropli 1/10 normalnego kwasu siarkowego, co wywołało powstanie białego kłaczkowatego osadu. Zobojętniono następnie ciecz dodaniem kilku kropli 1/10 ługu sodowego tak ostrożnie, że kłaczkowate się nie rozpuściły. Drugą porcję wzięto do doświadczenia bez żadnego dalszego traktowania. Przy pierwszej próbie jodowej otrzymano w obu razach w miarę dodawania kroplami tynktury jodowej zabarwienie różowo-fioletowe, ciemno-fioletowe, wreszcie ciemno-niebieskie przy dalszych próbach otrzymano zabarwienie:

	I.	II.
	w roztworze zakwaszonym	w roztworze niezakwaszonym
po upływie:	niebieskie	fioletowe
4-ch godzin		
9-ia	"	brunatno-wiśniowe
26	"	oliwkowo-brunatne
30	"	"

Osad zatem rozpuszczony przemieniał powolnie skrobię, podczas gdy znajdujący się w zawieszeniu wcale nie działał. Wyniki zatem zgodne obu doświadczeń pozwalają wnosić, że znajdująca się w wyciągach roślinnych diastaza podczas tworzenia się osadów, n. p. po dodaniu kłajstru skrobiowego, może być przeprowadzona w stan, w którym działanie jej jest uniemożliwione lub tylko utrudnione. W dalszym ciągu postaram się udowodnić, że analogiczne przyczyny mogą nie dopuścić

wyługowania diastazy przez wodę nawet z tkanek zawierających ją w obfitości.

V.

Przeszkody w wyługowaniu diastazy z tkanek roślinnych.

Rozpuszczalność i zdolność do dyfuzji są według zdania Wortmanna charakterystycznymi przymiotami enzym a zarazem i bardzo ważnymi dla organizmów ¹⁾. Mając te przymioty na oku, jak również zdolność enzym wywoływania w małej ilości bardzo wielkich skutków, uważa wymieniony badacz za niezbędne przy badaniach nad obecnością diastazy w tkankach roślinnych zachowanie następujących ostrożności:

- 1) aby przemiana skrobi pod wpływem bakterji dokonana nie została przypisaną mylnie obecności diastazy;
- 2) użycie do ługowania niezbyt wielkich ilości wody, aby nie otrzymać zbyt rozcieńczonego wyciągu;
- 3) ograniczenie czasu trwania ługowania do możliwie najkrótszego okresu.

Co do tych w kilkunastu ustępach omawianych postulatów, przede wszystkim muszę zaznaczyć, że obawy Wortmanna o współdziałanie bakterji są bardzo przesadne. Wiadomo bowiem dobrze: popierwsze, że roztwory rozgotowanej skrobi mogą dosyć długo pozostawać w stanie niewyjałowionym bez zmiany, a powtóre, że za pomocą środków antyseptycznych, nieszkodliwych dla diastatycznego działania, można rozmnażaniu się bakterji w zupełności zapobiedz. Ale co ważniejsza, można stanowczo twierdzić, że zachowanie warunków przez Wortmanna wymaganych nie zapewnia jeszcze dostatecznie przejścia diastazy z tkanek roślinnych do wodnego wyciągu.

Diastaza jest wprawdzie istotnie substancją w wodzie zimnej rozpuszczalną. Fakt ten nie dowodzi jednak wcale, że diastaza nigdy w tkankach roślinnych nie może się znajdować w stanie nierozpuszczalnym, ani też, że z powodu pewnych własności tkanek lub zawartości komórek nie może być trudną do wyługowania po ich zniszczeniu, chociaż zachowuje w żywych komórkach formę rozpuszczalną.

Powziąwszy rychło poważne wątpliwości co do owej nieograniczonej łatwości, z jaką znajdująca się w komórkach roślinnych diastaza ma ulegać wyługowaniu wodą, starałem się nieco głębiej w tę kwestję wejrzeć i sądzę, iż w bardzo licznych przypadkach wyługowaniu enzym

¹⁾ l. c. s. 586.

rozpuszczalnych z tkanek roślinnych stają na przeszkodzie wpływu rozmaitej natury.

Już na podstawie faktów stwierdzonych przez kilku badaczy, można tu przedewszystkiem zaliczyć trudność, z jaką diastaza przechodzi przez drobnoporowate substancje. Badania Browna i Herona ¹⁾ wykazały przed kilkunastu laty, że wyciąg słodowy przefiltrowany przez rurki z porowatej porcelany traci zdolność działania na skrobię, w skutek trudności, jakie napotyka diastaza przy przejściu przez drobne pory. Chomjakow ²⁾ twierdzi, że przecięnięcie się diastazy przez takie rurki możliwe jest dopiero przy wyższem ciśnieniu. Hirschfeld ³⁾ zauważył, że diastaza nie jest w stanie przejść przez pory papieru pergaminowego. Krabbe ⁴⁾ stwierdził słuszność podań Herona i Browna oraz Chomjakowa, natomiast sprzecznie z podaniem Hirschfelda znalazł słabą przepuszczalność diastazy przez papier pergaminowy, co może się da wytlómaczyć różnicą w gatunku papieru. Oprócz tego przekonał się on, że diastaza tylko z wielką trudnością przechodziła pod ciśnieniem przez błony komórkowe drzewa jodłowego.

Mając na uwadze wszystkie powyższe spostrzeżenia, można z wielkiem prawdopodobieństwem przypuścić, że z liści, które nie dadzą się dokładnie rozetrzeć, diastaza podczas ługowania nie łatwo wydostaje się z wnętrza nieuszkodzonych komórek i tylko stosunkowo mała jej ilość przechodzi z porozdzieranych tkanek do wody. Popiera to zapatrywanie w zupełności spostrzeżenie, że n. p. z pociętych na kawałki liścieni kiełkującej fasoli diastaza nie da się wyługować, podczas gdy to łatwo następuje po dokładnem roztarciu tkanek, albo też, że bielmo nieskiełkowanych nasion pszenicy, żyta lub jęczmienia, włożone po odcięciu zarodka do świeżego diastatycznego wyciągu, pęcznieje, lecz w komórkach nieuszkodzonych zachowuje nienaruszone gałeczki skrobi nawet po kilkumiesięcznem macerowaniu ⁵⁾.

Spostrzeżenia powyższe prowadzą do przekonania, że jeżeli z wielu kiełkujących nasion skrobiowych można diastazę w większej ilości wyługować, to tylko dzięki temu, że zawierające ją komórki mogą być

¹⁾ H. Brown i J. Heron: Beiträge zur Geschichte der Stärke und der Verwandlungen derselben. Annalen der Chemie. 1879, t. 199, s. 251.

²⁾ Ob. Pfeffer. Pflanzenphysiologie, t. I, 1881. s. 282.

³⁾ E. Hirschfeld. Ueber die chemische Natur der vegetabilischen Diastase. Pflüger's Archiv für Physiologie 1886. t. XXXIX, s. 513.

⁴⁾ l. c. s. 584.

⁵⁾ p. G. Krabbe l. c. s. 597.

przy rozgniataniu lub mieleniu łatwo porozdzierane. Wskazują one również, że wykryciu obecności diastazy w wielu organach roślinnych, z których dotąd tej enzymy nie udało się otrzymać w większej ilości, mogą stać na przeszkodzie zaznaczone w poprzednim ustępie czynniki fizycznej natury.

Ale nie tylko mamy wszelkie prawo liczyć się przy szukaniu diastazy z trudnością, z jaką ta enzyma przechodzi przez nienaruszone błony komórkowe. Jest wielce prawdopodobnem, że w wielu przypadkach i z komórek bardzo dokładnie porozrywanych, wyługowanie diastazy jest niemożliwe lub bardzo trudne.

Obserwacya nad zachowaniem się wyciągów słodowych wobec roztworów garbników a także badania nad sposobem działania diastazy przy przemianie skrobi, doprowadziły mię do przekonania, że diastaza jest substancją, łączącą się łatwo z pewnymi związkami. Czy to się dzieje w skutek bardzo wielkiej fizycznej przyczepności, czy też pod wpływem chemicznego powinowactwa, tego nie myślę w tej chwili stanowczo rozstrzygać. Mniemam tylko, że Hirschfeld¹⁾ weale trafnie dopatrywał w diastazie przymiótów, jakie cechują ciała nazywane gumami, chociaż niewłaściwie zaliczył diastazę do grupy bezazotowych gum.

W opisanych już powyżej doświadczeniach zdarzała mi się zwykle sposobność zrobienia spostrzeżeń, że wyciągi z liści wywołują w roztworach zawierających diastazę tworzenie się osadów. Obecność w tych wyciągach związków garbnikowych, wobec uzyskanej pewności, że np. tanina bardzo łatwo diastazę przeprowadza w stan nierozpuszczalny, wskazuje, że tak samo jak skrobia tak i diastaza jest strącaną w wyciągach z liści przez związki garbnikowe. Badając dokładniej tę rzecz, miałem sposobność przekonać się, że nawet bardzo rozcieńczone roztwory taniny tworzą w wyciągu słodowym osad, zawierający diastazę i w ten sposób pozbawiają go zdolności scukrzania skrobi. Jedno z odpowiednich doświadczeń uważam za właściwe dokładniej tu opisać. Do słabych roztworów taniny o różnem stężeniu dodano silnego wyciągu diastatycznego, przygotowanego ze świeżego słodu. W najszlubszym roztworze, dopiero po upływie pewnego czasu, znaleziono na dnie małą ilość białych kłaczków i zmetnienie nadające roztworowi własność opalizacyi. Po dodaniu wyciągu słodowego tylko 0.1%, roztwór taniny dawał wobec chlorku żelazowego reakcyę garbnikową. W celu przekonania się, czy we wszystkich roztworach diastaza zupełnie została strącona, dodano po

¹⁾ l. c.

25 cm³ 0.5% klajstru skrobiowego i przez czas jakiś za pomocą próby jodowej śledzono przemiany skrobi:

	A.	B.	C.
	50 cm ³ 0.1% roz- tworu taniny	50 cm ³ 0.01% roz- tworu taniny	50 cm ³ 0.001% roztworu taniny
barwa	2 cm ³ wyciągu słodowego	1 cm ³ wyciągu słodowego	1 cm ³ wyciągu słodowego
po upływie:			
1 godziny	niebieska	niebieska	brunatno-różowa
3 "	"	"	blado-różowa
7 "	"	"	żółta
30 "	"	"	"

Okazało się zatem, że 0.005 gm. taniny wystarczyło do strącenia diastazy, zawartej w 1 cm³ silnie działającego wodnego wyciągu. Fakt ten wskazuje, że diastaza musi przez związki garbnikowe ulegać bardzo łatwo strąceniu ¹⁾.

Zachowanie się diastatycznej enzymy wobec połączeń garbnikowych dotąd prawie wcale w badaniach nad obecnością diastazy w organach roślinnych nie było uwzględniane. Tylko Baraniecki ²⁾ nie znalazłszy diastazy w nasionach dębu przypuszcza, że przy rozcieraniu tych nasion tworzy się połączenie z kwasem garbnikowym, które wyługowanie diastazy wodą uniemożliwia. Przypuszczenie to zupełnie jest trafne i dziwnem mi się wydaje, że wspomniany badacz wcale nie próbował posłużyć się niem dla wyjaśnienia, dla czego w jego własnych doświadczeniach wyciągi wodne z liści lub łodyg działały enzymatycznie na skrobię daleko słabiej niż wyciągi z nasion, głąbi lub korzeni ³⁾. W późniejszych badaniach o spostrzeżonym po raz pierwszy przez Dubrunfauta wpływie kwasu garbnikowego na diastazę zdaje się zupełnie zapomniano.

Tymczasem jest to bardzo możliwe, że strącenie diastazy przez związki garbnikowe stanowi główną przeszkodę w wykryciu diastazy w wielu organach. Przy przygotowaniu materiału do odpowiednich poszukiwań staramy się o możliwie najdokładniejsze porozdzieranie tkanek.

¹⁾ Sprawdziwszy zachowanie się diastazy wobec taniny, nie pojmuję, na jakiej podstawie Duclaux twierdzi (Chimie biologique, p. 149) że tanina diastazy nie strąca, skoro Dubrunfaut jeszcze w 1868 r. ogłosił swe spostrzeżenia o powstawaniu z diastazy i kwasu garbnikowego, nierozpuszczalnego połączenia.

²⁾ l. c. s. 15.

³⁾ l. c. s. 18.

Przytem związki garbnikowe, które tworzyły w komórkach wodniczki, dostają się do wody użytej do ługowania, a jeżeli w niej z diastazą się spotkają, zamieniają ją na nierozpuszczalną substancję. Nie więc dziwnego, że wyciągi w ten sposób uzyskane z organów, zawierających obficie połączenia garbnikowe, do jakich należą n. p. liście drzew, nie wykazują w doświadczeniach diastatycznego wpływu. Prędzej należałoby się dziwić, gdyby zawierały diastazę w większej ilości.

Jeżeli w istocie związki garbnikowe nie dopuszczają wyługowania diastazy, to łatwość, z jaką ta enzyma z pewnych organów roślinnych da się uzyskać, każe mniemać, że w tych organach kwasy garbnikowe nie tworzą przeszkód. I tak jest, o ile sądzić mogę, rzeczywiście. Wyciągi słodowe o silnem enzymatycznym działaniu, otrzymuje się ze świeżego, młodego słodu i są one prawie bezbarwne, co najwyżej słabo-żółto zabarwione. Stary słód suszony daje podczas ługowania w zimnej wodzie wyciągi ciemno-brunatne i słabiej daleko działające. Przez strącanie alkoholem trudno uzyskać z nich diastazę czystą białawą, wolną od garbnikowych połączeń. Moznaby sądzić, że starszy słód mniej diastazy zawiera. Tak chyba jednak nie jest. Daleko łatwiej da się trudniejsze ługowanie diastazy ze starszego jęczmienia objaśnić tem, że w czasie rozrostu kielka tworzą się obficie związki garbnikowe. Fakt ten stwierdził Sachs w wielu nasionach, które w bielmie lub zarodku wcale garbników nie zawierają¹⁾.

Zwróciwszy uwagę na zachowanie się diastazy wobec związków garbnikowych, nie potrzebuję obszernie udowadniać, jak dalece śmiałym jest wniosek Wortmanna, że wykrycie w organach roślinnych (w których przemiana skrobi odbywa się na wielką skalę) małych ilości diastazy, przez jej działanie na kłajster skrobiowy, po kilkudniowych oczekiwaniach daje z góry wskazówkę, iż w tych organach rozpuszczanie skrobi odbywa się w inny sposób²⁾.

Wortmann zalicza do bardzo wyjątkowych te tkanki, w których przemiana skrobi odbywa się za pomocą diastazy. Z tem zapatrywaniem trudno się zgodzić. Można tylko uważać, że w tkankach roślinnych takie warunki są stosunkowo rzadsze, w których nie przeszkadza wydobyciu diastazy i obserwowaniu jej działania w wyciągach.

¹⁾ J. Sachs. Handbuch der Experimental-Physiologie der Pflanzen. 1865. s. 360.

²⁾ l. c. s. 584.

VI.

O nierozpuszczalnej enzymie diastatycznej i zależności powstawania diastazy od obecności tlenu.

Poznanie przyczyn utrudniających wykrycie diastazy w liściach, daje możliwość obmyślenia środków, które należałoby stosować w celu wykrycia w nich diastatycznej enzymy. Z zebranych spostrzeżeń korzystałem też już we własnych badaniach, które jednak z powodu nadejścia jesiennej pory musiałem przerwać i odłożyć na rok przyszły.

Nie mając zamiaru już obecnie ogłaszać otrzymanych wyników, zaznaczam tylko z góry, że nawet w razie, gdyby obmyślane dotychczas środki zawiodły, nie uważałbym jeszcze ujemnych rezultatów, otrzymanych w poszukiwaniach nad obecnością diastazy w liściach za niewątpliwy dowód, że proces przemiany skrobi w tych organach nie jest enzymatyczny, lecz odbywa się w skutek bezpośredniego działania plazmy.

Już powyżej zazaczyłem, że wykrycie, choćby najmniejszych, śladów diastazy może być uważane za wyraźny dowód, że plazma zdolna jest wytwarzać tę enzymę. W takim więc przypadku nie nie zmusza do przyjęcia niezrozumiałego dostatecznie współdziałania żywej plazmy podczas przemiany skrobi wewnątrz komórek śródliścia.

Ale nawet tam, gdzie po najzupełniej pewnym usunięciu nieprzyjaznego działania związków garbnikowych, możnaby z całą stanowczością wnosić o nieobecności łatwo w wodzie rozpuszczalnej enzymy diastatycznej, nie byłoby jeszcze wcale dostatecznie uzasadnionem twierdzenie, iż skrobia zostaje zamienioną na glukozę bezpośrednio przez plazmę. W takim przypadku przed przyjęciem protoplazmatycznej przemiany skrobi (jeżeli już z góry odrzuci się jako wprost nieprawdopodobne powstawanie diastazy bezustanne, lecz w ilościach niemożliwych do wykrycia po zniszczeniu tkanek) należałoby koniecznie udowodnić w sposób niezbity, że enzyma diastatyczna nie może znajdować się w komórkach roślinnych w postaci substancji nierozpuszczalnych w wodzie i nieulegających rozszczepieniu na produkty rozpuszczalne pod wpływem tych odczynników, które zostały zastosowane w celu wykrycia obecności diastazy.

W tej chwili nie zamierzam bynajmniej obszernie się nad tą kwestią rozwinąć, bo nie posiadam jeszcze zebranego dostatecznego materiału doświadczalnego. Ograniczę się tylko do przytoczenia kilku spostrzeżeń, które w zupełności uzasadniają postawienie kwestyi istnienia w tkankach roślinnych nierozpuszczalnej formy enzymy, działającej na

skrobię, niezałatwionej i wymagającej dokładniejszych badań. Spostrzeżenia te odnoszą się zarówno do organizmów zwierzęcych jak i roślinnych. Tak Béchamp¹⁾ wykrył w wielu gruczołach i sokach trawiących przewodu pokarmowego nierozpuszczalną w wodzie ciałka, obdarzone w wysokim stopniu enzymatycznymi własnościami, które niewłaściwie uważał za żywe istoty, obdarzone zdolnością tworzenia i wydzielania enzym. Gautier²⁾ zdołał oddzielić z pepsyny masę ziarnistą w wodzie nierozpuszczalną, która roztała w rozcieńczonym kwasie solnym, peptonizowała znacznie silniej niż sama pepsyna włóknik zwierzęcy. Działanie to przypisuje Gautier zdolności przechodzenia owej masy ziarnistej w wodzie czystej lub zakwaszonej nadzwyczaj powolnie w rozpuszczalną pepsynę.

U roślin nierozpuszczalną formę enzymy po raz pierwszy spostrzegł Cuisinier³⁾, który w nasionach zboża wykrył trudno rozpuszczalną substancję, nierozpuszczającą kłajstru skrobiowego, lecz bardzo energicznie zamieniającą rozpuszczoną skrobię na dekstrynę. Osobliwie obficie ta enzyma nazwana glikazą występuje w nasionach kukurudzy. Odkrycie Cuisiniera zostało później potwierdzone w poszukiwaniach Gédulda⁴⁾ oraz Lintnera⁵⁾. Wedle Gédulda, glikaza przemieniająca skrobię na glukozę, znajduje się w nieskiełkowanych ziarnach zbóż, poczęści w formie rozpuszczalnej, a poczęści nierozpuszczalnej, w jęczmieniu zaś kiełkującym tylko w nierozpuszczalnej formie. Wedle Lintnera w słodzie istnieje oprócz nierozpuszczalnej, także i rozpuszczalna modyfikacja glikazy.

Co do objaśnienia sposobu powstawania nierozpuszczalnej formy enzymowych substancji, to nie chcę z góry przesadzać, czy można się przytem posłużyć spostrzeżeniem Würtza⁶⁾, że pepsyna i papaina mają zdolność czepiania się cząstek włóknika tak silnie, iż wyługować się nie

1) Béchamp. Comptes rendus t. XCIV. 1882, str. 582 i 879.

2) A. Gautier. Sur les modifications soluble et insoluble du ferment de la digestion gastrique. Comptes rendus, t. XCIV. 1882, s. 652. Sur la modification insoluble de la pepsine. Comptes rendus, t. XCIV. 1882, s. 1192.

3) L. Cuisinier. Die Glykase und die Verzuckerung des Stärkemehls. Orig. w La sucrerie indigène, t. XXVII, Nr. 9 cyt. z ref. w Chem. Centrblatt, 1886, s. 614.

4) R. Géduld. Ein neues Enzym, die Glykase. Wochenschrift für Brauerei t. VIII. 1891, s. 545.

5) C. J. Lintner. Entstehung von Dextröse aus Stärke. Zeitschrift für das ges. Brauwesen 15. 1892, s. 123.

6) Ad. Würtz. Sur la papaine. Comptes rendus, t. XCI. 1880, s. 787. — Sur le mode d'action des ferments solubles. Comptes rendus, t. XCIII. 1881, s. 1104.

dadzą za pomocą silnego przemywania wodą, czy też należy przyjąć istnienie nierozpuszczalnych micelarnych połączeń utworzonych z wielu drobiny enzymowej substancji. Podnoszę tu tylko jako bardzo prawdopodobne istnienie w tkankach roślinnych nierozpuszczalnej modyfikacji diastazy, z której pod wpływem plazmy może się tworzyć w miarę potrzeby enzyma czynna łatwo w wodzie rozpuszczalna i w skutek tego łatwa do przechodzenia w komórkach do miejsc zapotrzebowania.

Przy tem wprowadzaniu nierozpuszczalnej enzymy w stan czynny należy niezawodnie uznać wpływ plazmy, która bez żadnej wątpliwości przy przemianie skrobi w organizmie roślinnym bardzo ważną odgrywa rolę, tak jak w każdym fizyologicznym procesie. Współdziałaniu jednakże żywej plazmy nie uważam, tak jak Wortmann, za bezpośredni, lecz zaliczam do zakresu działań tej uorganizowanej substancji produkcję substancji enzymatycznych, mogących działać chemicznie na skrobię poza komórką żyjącą, a także kierownictwo zarówno co do czasu, jak i co do ilości całego procesu przemiany skrobi.

Tak streszczony pogląd nie pozostaje wcale w jakiegokolwiek sprzeczności z wynikami doświadczeń fizyologicznych, wykonanych przez Wortmanna, które autora doprowadziły do wniosku:

1) że rozpuszczanie galeczek skrobi w ciątkach zieleni liści jest zawisłem bezpośrednio od procesu odprowadzania tej substancji z miejsca produkcji do miejsca zużycia ¹⁾;

2) że przemiana skrobi w ciątkach zieleni na cukier możliwą jest tylko w obecności tlenu ²⁾.

Zaznaczyć tu przedewszystkiem należy, że spostrzeżenia te nie są wcale nowe. Jeszcze w 1887 r. dowiódł bowiem Bellucci za pomocą poszukiwań, do których zastosował metodę daleko ściślejszą i moźolniejszą niż Wortmann w swoich, że przemiana skrobi nie odbywa się w liściach trzymanyh w parach chloroformu lub eteru, albo też w atmosferze dwutlenku węgla. Natomiast zauważył Bellucci ³⁾, że w liściach odciętych może się odbywać w ciemności przemiana skrobi na cukier i to tem szybsza, im dostęp powietrza do liści jest łatwiejszy. Co do tego punktu uważam twierdzenie Belluciego za więcej wiarogodne, gdyż przemianę skrobi w swoich doświadczeniach wykazywał za pomocą ilościowego oznaczania wytworzonej glukozy.

¹⁾ l. c. s. 646.

²⁾ l. c. s. 649.

³⁾ G. Bellucci. Sulla formazione dell'amido nei granuli di clorofilla. Ann. di Chimica e di Farmacologia. 1887, s. 217 i Le Stazioni sperimentali agrarie italiane, t. XIV, 1888, s. 77.

W obec tych spostrzeżeń, potwierdzonych w głównych punktach przez doświadczenia Wortmanna, nie można w istocie wątpić, że powstawanie procesu przemiany skrobi w ciałkach zieleni jest w ścisłej zależności od żywej plazmy. Zależność jednak taka jest najzupełniej zrozumiała i prawdopodobną i wówczas, gdy przyjmiemy, że skrobię zmieniają substancje działające chemicznie, wytwarzane przez plazmę. Wortmann nie zwrócił na to uwagi, gdyż z góry był zanadto silnie uprzedzony przeciwko uznaniu jakiegokolwiek zawisłości pomiędzy działaniem enzymowych substancji a czynnościami żywej plazmy i to w skutek zupełnie nieuzasadnionego przeświadczenia, że w komórce, w której przemiana skrobi odbywa się pod wpływem diastatycznej enzymy, musiałoby rozpuszczanie się gałeczek skrobi być zupełnie niezależnym od warunków, w jakich się ta komórka znajduje, nawet niezależnym od tego, czy komórka jest żywa, czy też zamarła ¹⁾.

Z takim poglądem trudno się pogodzić. Wiadomo bardzo dobrze, że wiele procesów fizjologicznych żywych organizmów można już dziś objaśnić oddziaływaniem znanych sił chemicznych lub też fizycznych. Wielce pożądanym też celem każdego zadania fizjologicznego jest wynalezienie dla niego przyczyn, zgodnych ze stanem naszej wiedzy w dziedzinie chemii i fizyki. A przecie, znalazłszy zadowalające wyjaśnienie jakiejś sprawy życia, nie twierdzimy wcale, że w żywych istotach siły chemiczne lub też fizyczne działają zupełnie niezależnie od uorganizowanej substancji, posiadającej pewne osobliwe własności, których objawy nazywamy życiem. Zresztą gdyby należało istotnie, jak tego chce Wortmann, uważać tylko taki proces przemiany skrobi za enzymatyczny, który się odbywa bez wszelkiej zależności od żywej plazmy, to idąc drogą logicznego rozumowania, trzeba by dojść do wniosku, że w niektórych nasionach skrobiowych, n. p. jęczmienia, pszenicy i t. p., skrobię rozpuszcza bezpośrednio protoplazma. Wiadomo bowiem, że przemiana skrobi w bielmie tych nasion zależy od obecności tlenu, a także, jak to wykazali Sachs ²⁾ oraz Haberlandt ³⁾, od impulsu wywieranego przez budzący się do życia zarodek. Tymczasem, jakkolwiek i tu zależność przemiany skrobi od pewnych warunków fizjologicznych i od zdolności zarodka do rozwoju jest tak widoczna i niezaprzeczona, nikt

¹⁾ l. c. s. 645.

²⁾ J. Sachs. Vorlesungen über Pflanzenphysiologie 1887, s. 341.

³⁾ G. Haberlandt. Die Klebersehicht des Gras-Endosperms als Diastaseausscheidendes Drüsengewebe. Ber. der deutschen botan. Gesell. t. VIII 1890, s. 40.

nie będzie wątpli, że diastaza chemicznie tę przemianę dokonywa bez bezpośredniego wpływu pierwoszcza.

Wortmann przypuszcza, że diastatyczna przemiana skrobi powinna być zupełnie niezależną od obecności tlenu. Co do tego nadmienić trzeba, że to przypuszczenie nie jest zgodne z wielu bardzo prawdopodobnymi lecz dotąd niedostatecznie udowodnionymi poglądami, według których do wytwarzania enzym potrzebna jest koniecznie obecność tlenu. Co do wszystkich enzymatycznych substancji, wyraził to przypuszczenie pierwszy Hüfner ¹⁾, a co do diastazy Mulder, Baraniecki ²⁾, Detmer ³⁾, Lintner ⁴⁾ i inni. Detmer, na podstawie własnych doświadczeń, twierdzi, że w komórkach roślin wyższych w nieobecności wolnego tlenu nie może być wytwarzany żaden ferment działający na skrobię. Według tego autora, dostęp wolnego tlenu jest nieodzownym warunkiem powstawania diastazy, która niewątpliwie tworzy się za pośrednictwem wolnego tlenu z ciał białkowych plazmy.

W obec tego wyniki doświadczeń, w których umieszczenie liści w dwutlenku węgla powstrzymywało zupełnie wszelką przemianę skrobi w ciałkach zieleni, mogą być prosto objaśnione tem, że diastaza nie może się wytwarzać skutkiem zastoju, wywołanego w czynnościach żywotnych. U zwierzęcia trzymanego w warunkach, w których życie przez dłuższy czas jest niemożliwe, przerwa w przeróbce zadanego poprzednio pokarmu nie uprawnia wcale do wniosku, że trawienie nie odbywa się pod wpływem substancji enzymowych, to też w wyprowadzeniu podobnego wniosku z wyników analogicznych badań nad fizyologicznymi procesami roślin należy być bardzo ostrożnym.

Wortmann wcale nie zwrócił uwagi w ostatniej swej pracy na możliwą zależność wytwarzania się enzym od obecności tlenu. Wydawać się to musi tem dziwniejszem, że w dawniejszych poszukiwaniach nad wydzielaniem diastatycznej enzymy przez bakterye, zajął w tej kwestyi stanowisko, na które w zupełności można się godzić. Z faktu, że enzyma bakteryalna może działać na skrobię w nieobecności tlenu, podczas gdy bakterye rozkładają skrobię tylko wobec dostępu powietrza atmosferycznego, Wortmann nie wyprowadził wówczas wniosku, że

¹⁾ G. Hüfner. Ueber ungeformte Fermente und ihre Wirkungen. Jour. f. prakt. Chemie. t. V. 1872, s. 382.

²⁾ I. Baraniecki l. c. s. 19 i 59.

³⁾ W. Detmer. Pflanzenphysiologische Untersuchungen über Fermentbildung und fermentative Prozesse. 1884.

⁴⁾ C. J. Lintner. Studien über die Diastase. Journal f. prakt. Chemie, t. XXXIV, 1886, s. 378.

u bakteryi nie diastaza, lecz sama plazma działa na skrobię¹⁾. Przeciwnie, w ustępie końcowym tej pracy podaje takie objaśnienie powyższych spostrzeżeń: „gdy bakterye, jak prawdopodobnie i komórki wyższych organizmów, potrzebują do wytworzenia fermentów pomocy atmosferycznego tlenu, to wcale stąd nie należy wnosić, że działanie tlenu jest przytem bezpośrednie, lecz że tlen, biorąc udział w protoplasmacyjnych przekształceniach, uwalnia siły, które czynią plazmę zdolną do produkcyi enzym“²⁾. Dawniej więc Wortmann zupełnie słusznie odróżniał wpływ tlenu na produkcyę diastazy i wpływ tegoż gazu na przemianę skrobi, w nowszych zaś poszukiwaniach tej różnicy wcale nie uwzględnił.

Wortmann, kończąc swoje wywody o protoplasmacyjnym rozkładzie skrobi, wyraża jeszcze przekonanie, że jego nowe poglądy nie stoją wprost w sprzeczności z dotychczas powszechnie przyjętą enzymatyczną przemianą gałeczek skrobiowych. Dopatruje się bowiem niesłusznie pełnej znaczenia zgodności w sposobie działania nieżywej enzymy i żywej protoplazmy. Różnica ma leżeć tylko w tem, że w pierwszym razie czynnik wpływający na skrobię działa niezależnie od plazmy, w drugim zaś razie stanowi jej część składową. Oddzielenie enzymy i obserwowanie jej działania na zewnątrz ma być możliwem tylko wtedy, gdy z protoplazmy przesyconej enzymą mogą w znacznej ilości oderwać się cząstki (Splitter), działające wskutek zachowania protoplasmacyjnej natury samoistnie i niezależnie od plazmy komórki³⁾.

W całym tem rozumowaniu przebija niezupełnie wprawdzie jasno wypowiedziany pogląd autora, że w skład plazmy wchodzi substancye enzymatyczne. Co do tego punktu, to bezowocnym byłby spór, czy za plazmę należy uważać tylko to, co pomiędzy różnymi czynnościami spełnia funkcję wytwarzania enzymy, czy też i produkta tej funkcji—enzymatyczne substancye. Nie w tem zresztą leży punkt ciężkości sprawy. Głównie sporną kwestyą jest to, czy przemiana skrobi w gałeczkach zieleni jest wprost chemicznem zjawiskiem, odbywajacem się pod wpływem diastazy, czy też jest procesem życia, który plazma żywa bezpośrednio wykonywa. Dawniejsze poglądy, które podzielałam, przyjmują pierwsze stanowisko. Wortmann zaś przychyliła się do drugiego objaśnienia, oddali się więc zasadniczo w swoich zapatrywaniach od dawniejszych poglądów.

Według Wortmanna, przemianę skrobi w gałeczkach zieleni należałoby zaliczyć do takich procesów, jak oddychanie, przyswajanie, która

1) l. c. s. 318 i 319.

2) l. c. s. 668.

tylko żywemu organizmowi są właściwe i w których ciała ulegające przemianie według wszelkiego prawdopodobieństwa muszą wchodzić chwilowo w skład samej plazmy— według zaś dawnych poglądów, enzymatyczne scukrzanie skrobi jest jednym z procesów tej natury, co pobieranie wody, wytwarzanie turgoru podczas wzrostu, parowanie wody i t. p. Według Wortmanna, enzyma jest istotną częścią składową protoplazmy, działającą tylko za życia (biologicznie) na skrobię, wedle dawnych poglądów, które ten badacz zwala — substancją organiczną, zawdzięczającą swe powstanie czynnościom plazmy, lecz niezawisłą od niej zupełnie w swem chemicznym zachowaniu się wobec skrobi. Różnice więc w pojmowaniu sprawy nie są drobiazgowe, lecz zasadnicze. Do odstępstwa zaś od dawnych zapatrywań bez koniecznej potrzeby nie łatwo się nakłonić, gdyż, jak to już powyżej zaznaczyłem, przyjęcie teorii Wortmanna w obecnej chwili byłoby do pewnego stopnia dobrowolnem wyrzeczeniem się czegoś, co stanowi niezaprzeczony postęp wiedzy biologicznej.

