

Über ein salicinspaltendes und ein arbutin- spaltendes Enzym

von

Dr. Wilhelm Sigmund,

k. k. Realschulprofessor, Privatdozent an der k. k. deutschen technischen Hochschule
in Prag.

(Vorgelegt in der Sitzung am 3. Dezember 1908.)

I. Das salicinspaltende Enzym.

Über ein salicinspaltendes Enzym liegen bisher, soweit mir bekannt, keine Literaturangaben vor.¹ Es ist mir gelungen, in einigen *Salix*- und *Populus*-Arten ein salicinspaltendes Enzym nachzuweisen.

Als Versuchsobjekte dienten einige der bekanntesten einheimischen Vertreter der Salicaceen. Von *Salix*-Arten die Sahlweide, *Salix caprea*, die Silberweide, *Salix alba*, und die Bruchweide, *Salix fragilis*; von *Populus*-Arten die Silberpappel, *Populus alba*, die Pyramidenpappel, *Populus pyramidalis*, und die Zitterpappel, *Populus tremula*.

Die beblätterten Zweige der genannten Pflanzen wurden zumeist in frisch gepflücktem Zustande, zum Teil auch lufttrocken, möglichst zerkleinert; dies geschah je nach der Beschaffenheit der Objekte durch Zerschneiden, Mahlen, Zerstoßen und Verreiben. Die möglichst zerkleinerten Pflanzenteile ließ man in Form eines Breies, zumeist aber in Form des isolierten Enzyms, auf Salicin einwirken. Das Enzym wurde in der Weise gewonnen, daß die zerkleinerten Pflanzenteile 20 bis 40 Stunden mit Wasser unter Chloroformzusatz extrahiert wurden; der erhaltene Auszug wurde mit Alkohol gefällt,

¹ Vgl. auch F. Czapek, Biochemie der Pflanzen, Bd. II, p. 550.

der Niederschlag rasch an der Saugpumpe filtriert, mit Alkohol gewaschen und bei 35° C. getrocknet; dieses das Enzym enthaltende Produkt wurde dann in wässriger Lösung auf Salicin wirken gelassen. Die Einwirkungsdauer betrug meist 8 bis 14 Tage bei 35° C., doch konnte auch schon am zweiten bis dritten Tage die Spaltung nachgewiesen werden.

Um die Mitwirkung von Mikroorganismen auszuschließen, wurden Chloroform und Toluol, zumeist aber das erstere verwendet; die Antiseptika wurden während der Versuchsdauer erneuert. Die mikroskopische Untersuchung ergab auch die Abwesenheit von Bakterien. Daß hier tatsächlich nicht Bakterien im Spiele waren, konnte auch in der Weise festgestellt werden, daß die in dem Versuchsmedium ohne Chloroform sich entwickelnden Bakterien auf den sterilisierten Organbrei oder auf die sterilisierte Enzymlösung überimpft wurden und die letzteren dann unter sonst gleichen Versuchsbedingungen auf Salicin wirkten; eine Spaltung des Salicins konnte nicht nachgewiesen werden.

Die enzymatische Spaltung wurde dadurch sichergestellt, daß außer mit dem normalen Organbrei, beziehungsweise mit dem durch Alkohol isolierten Enzym Kontrollversuche unter ganz gleichen Bedingungen mit dem gekochten Organbrei, beziehungsweise Enzym ausgeführt wurden.

Um die Spaltungsprodukte zu untersuchen, wurde nach Ablauf der Versuchsdauer der Gesamthalt des Versuchsgefäßes (meist Kölbchens) auf dem Wasserbad erhitzt, heiß filtriert, das Filtrat ebenfalls auf dem Wasserbade verdampft und der Rückstand mit Äther behandelt, wodurch bei erfolgter Spaltung das eine Spaltungsprodukt, das Saligenin, in Lösung ging, während das andere Spaltungsprodukt, die Glukose, als auch das nicht gespaltene Salicin ungelöst blieben. Die Lösung in Äther wurde verdunsten gelassen und der Rückstand auf Saligenin geprüft. Zum Nachweise des Saligenins wurde die Blaufärbung mit Eisenchlorid, die Sublimierbarkeit bei 100° C. als auch die Bestimmung des Schmelzpunktes herangezogen.

Bei sämtlichen normal verlaufenden Versuchen blieb ein verhältnismäßig reichlicher Ätherrückstand zurück, der nicht nur direkt in Wasser gelöst, sondern auch als wässrige

Lösung des bei 100° C. erhaltenen Sublimats mit Eisenchlorid eine intensive Blaufärbung zeigte; bei den Parallelversuchen dagegen, in welchen die enzymhaltigen Substanzen vorher gekocht wurden, war der Ätherrückstand durchwegs ein bedeutend geringerer, oft nur in Spuren vorhanden, niemals aber trat in der wässrigen Lösung mit Eisenchlorid Blaufärbung ein.

Der in Äther unlösliche Teil wurde auf Glukose geprüft, wobei die gebräuchlichen Reaktionen (nach Fehling, Nylander, die Phenylhydrazinprobe u. a.) benützt wurden. Während bei den Versuchen mit dem normalen Enzym die Reaktionen auf Glukose rasch und intensiv auftraten, blieben sie bei den Kontrollversuchen entweder gänzlich aus oder traten erst nach längerer Zeit und minimal zutage. Nur bei den Versuchen mit dem Organbrei traten die Reaktionen in beiden Parallelversuchen auf, doch konnte auch hier nach der Geschwindigkeit und Intensität der Reaktionen die Beobachtung gemacht werden, daß unter sonst gleichen Versuchsbedingungen beim normalen Versuche die Reaktion eine raschere und stärkere war als bei dem Kontrollversuche mit dem gekochten Organbrei.

Versuche

1. Versuche mittels Autolyse.

Gleiche Mengen der zerkleinerten Organe von *Salix caprea* wurden mit gleich viel Wasser zu einem Brei angerührt; der eine Teil wurde eine halbe Stunde siedend erhalten (unter entsprechender Ersetzung des Wasserverlustes). Beide Teile wurden dann mit je 0.5 g Salicin vermischt, mit gleich viel Chloroform versetzt und der Autolyse unterworfen. Nach 10 Tagen wurde der Versuch abgebrochen und wie oben beschrieben behandelt.

Der Ätherrückstand bei der normalen Autolyse war wesentlich größer als in dem gekochten Organbrei. Ein Teil des Ätherrückstandes wurde in gleichen Mengen in gleich viel Wasser gelöst und mit gleich viel Eisenchlorid versetzt; bei dem Kontrollversuche war die Flüssigkeit schwach gelblich gefärbt,

beim normalen Versuche dagegen trat eine intensive Blaufärbung ein; dieselbe Reaktion zeigte auch das bei 100° C. erhaltene Sublimat.

Ein analog mit *Salix alba* ausgeführter Versuch ergab das nämliche Resultat.

Ebenso wurden je gleiche Mengen des Organbreies von *Populus alba* (normal und gekocht) unter Zusatz von je 0·5 g Salicin der Autolyse unterworfen. Nach 13 Tagen betrug der Ätherrückstand beim normalen Versuche 0·2181 g, beim Kontrollversuche 0·0275 g; auf Saligenin geprüft, ergab der erstere eine entschieden positive, der letztere dagegen eine rein negative Reaktion.

2. Versuche mit dem isolierten Enzym.

Je 0·2 g des aus *Salix caprea* isolierten Enzyms wurden in je 15 cm^3 Wasser gelöst; die eine Lösung wurde eine halbe Stunde gekocht; zu beiden Lösungen wurden sodann je 0·3 g Salicin hinzugefügt. Nach 14tägiger Versuchsdauer wurde auf die Spaltungsprodukte des Salicins geprüft: beim normalen Versuche mit positivem, beim Kontrollversuche mit negativem Erfolge.

Es wurden sodann die Blätter und die Rinde von *Salix caprea* gesondert auf ein salicinspaltendes Enzym untersucht. Zu diesem Behufe wurde der wässerige Extrakt der Blätter und Rinde gesondert mit Alkohol gefällt. Die erhaltenen enzymhaltigen Produkte wurden jedes für sich auf Salicin einwirken gelassen. In beiden Fällen konnte die erfolgte Spaltung des Salicins sichergestellt werden; das salicinspaltende Enzym findet sich daher sowohl in den Blättern als auch in der Rinde.

Daß selbst geringe Mengen des Enzyms eine Spaltung bewirkten, ergaben folgende Versuche:

Je 0·06 g der aus *Salix alba* isolierten enzymhaltigen Substanz wurden in 10 cm^3 Wasser gelöst; beide Lösungen, normal und gekocht, wirkten 10 Tage auf je 0·2 g Salicin. Nach Ablauf der Versuchsdauer untersucht, betrug der Ätherrückstand beim normalen Versuche 0·0154 g; beim Kontrollversuche blieb überhaupt kein Ätherrückstand zurück. Im Ätherrückstande des normalen Versuches wurde Saligenin

nachgewiesen. Der in Äther unlösliche Teil reagierte nur beim normalen Versuch auf Glukose.

Ein ähnliches Resultat ergab auch ein mit 0·06 g des aus *Populus pyramidalis* isolierten enzymhaltigen Körpers analog ausgeführter Versuch.

Je 10 cm^3 einer 0·5prozentigen Lösung der aus *Populus alba* isolierten enzymhaltigen Substanz, normal und gekocht, wirkte auf je 0·12 g Salicin. Die nach 14 Tagen erfolgte Prüfung auf die Spaltungsprodukte ergab beim normalen Versuch einen Ätherrückstand im Betrage von 0·0066 g, beim Kontrollversuche von 0·0015 g; die gleich konzentrierten Lösungen der beiden Ätherrückstände in Wasser mit gleich viel Eisenchlorid versetzt, erschienen in der normalen Probe blau, in der Kontrollprobe hellgelb. Wurden gleiche Mengen des in Äther unlöslichen Teiles in gleich viel Wasser gelöst, mit gleich viel Fehling'scher Lösung versetzt und gleich stark erwärmt, so bildete sich in der normalen Probe in kurzer Zeit rotes Kuproxyd, während die Kontrollprobe in derselben Zeit nicht die geringste Veränderung zeigte.

Durch Einwirkung von 0·04 g Enzym aus *Populus pyramidalis* auf 0·05 g Salicin wurde nach 12tägiger Versuchsdauer 0·0100 g Ätherrückstand in Form von weißen, glänzenden Blättchen erhalten, die selbst in geringer Menge in Wasser gelöst, mit Eisenchlorid eine Blaufärbung zeigten.

Je 0·2 g des aus *Populus tremula* isolierten Enzyms in je 10 cm^3 Wasser gelöst, normal und gekocht, wirkten durch 12 Tage auf je 0·3 g Salicin. Nach Ablauf der Versuchsdauer wurde auf die Spaltungsprodukte geprüft. Der Ätherrückstand betrug beim normalen Versuche 0·0310 g, beim Kontrollversuche 0·0035 g; aus dem ersteren konnten 0·0116 g reines Saligenin erhalten werden, entsprechend 0·0267 g gespaltenen Salicins. Der Ätherrückstand beim Kontrollversuch enthielt kein Saligenin, seine wässerige Lösung gab mit Eisenchlorid keine Spur von Blaufärbung.

0·2 g des aus *Salix caprea* isolierten Enzyms lieferte in 4prozentiger Lösung nach 12tägiger Einwirkung auf 0·2 g Salicin 0·0140 g gereinigtes Saligenin, entsprechend 0·0322 g gespaltenen Salicins.

0·15 g Enzym, isoliert aus *Salix fragilis*, wirkte in 3prozentiger Lösung auf 0·15 g Salicin durch 12 Tage. Die positiven Reaktionen auf Glukose und auf Saligenin bewiesen die erfolgte Spaltung. Es wurden 0·0112 g Saligenin erhalten, entsprechend 0·0258 g gespaltenen Salicins.

0·4 g Enzym, isoliert aus *Salix alba*, in 12 cm³ Wasser gelöst, wirkte durch 12 Tage auf 0·4 g Salicin; es wurden 0·0257 g Saligenin erhalten, entsprechend einer Spaltung von 0·0592 g Salicin.

Gegen die erhaltenen Versuchsergebnisse könnte eventuell der Einwand erhoben werden, daß es sich hierbei um die Wirkung eines schon bekannten Enzyms, und zwar des Emulsins handelt, indem einerseits Emulsin, beziehungsweise amygdalinspaltende Enzyme in vielen Pflanzen vorkommen, andererseits, weil das Emulsin die Fähigkeit besitzt, Salicin in Traubenzucker und Saligenin zu spalten (Piria, 1845). Um diese Frage zu entscheiden, ließ ich das von mir isolierte salicinspaltende Enzym unter denselben Versuchsbedingungen, wie oben angegeben wurde, auf Amygdalin einwirken; als Kontrollversuch ließ ich Emulsin¹ in gleicher Menge und Konzentration auf gleich viel Amygdalin wirken. Während beim Versuche mit Emulsin bereits in 1 bis 2 Tagen der Geruch nach Blausäure auftrat und diese auch durch Überführung in Berlinerblau und in Sulfocyaneisen nachgewiesen werden konnte, wurde bei dem Versuche mit dem salicinspaltenden Enzym selbst nach der drei- bis vierfachen Versuchsdauer weder der Geruch nach Blausäure wahrgenommen, noch konnte dieselbe nach den genannten Methoden erkannt werden; es liegt mithin ein von Emulsin verschiedenes Enzym vor.

Die angeführten Versuche weisen sämtlich darauf hin, daß in den untersuchten Salicaceen ein salicinspaltendes Enzym vorkommt; ich schlage für dieses Enzym den Namen »Salikase«² vor.

Ob die Salikase nicht nur abbauend, sondern auch aufbauend zu wirken vermag, soll durch Versuche einer

¹ Von E. Merck, Darmstadt.

² Nicht zu verwechseln mit der »Salicylase«, welchen Namen Abelous einer tierischen Oxydase gab, die Salicylaldehyd zu Salicylsäure oxydiert.

enzymatischen Synthese des Salicins aus seinen Komponenten mittels Salikase untersucht werden.

II. Das arbutinspaltende Enzym.

Die ersten Angaben über eine auf Arbutin wirkende Substanz machte Kawalier in einer im Jahre 1852 erschienenen Abhandlung: »Untersuchung der Blätter von *Arctostaphylos uva ursi*«. ¹ In dieser Arbeit findet sich folgende Bemerkung: »In den Blättern der Bärentraube ist eine Substanz enthalten, die, ähnlich dem Emulsin, die Fähigkeit besitzt, das Arbutin in Zucker und Arctuin ² zerfallen zu machen. Aus einer Mutterlauge, aus welcher Arbutin auskrystallisiert war, ließen sich, nach mehrere Wochen langem Stehen, Krystalle von Arctuin erhalten, die früher in der Flüssigkeit nicht nachgewiesen werden konnten.«

Czapek vermutet ein auf Arbutin wirksames Enzym in den Ericaceen und verwandten Gruppen. ³ Ich konnte tatsächlich aus den von mir untersuchten Ericaceen ein arbutinspaltendes Enzym isolieren.

Von den Ericaceen standen mir nur die Heidelbeere, *Vaccinium Myrtillus*, und insbesondere das gemeine Heidekraut, *Calluna vulgaris*, in größerer Menge zur Verfügung; es konnten daher nur mit den genannten Pflanzen wiederholte und entscheidende Versuche ausgeführt werden.

Die Versuchsanordnung war im wesentlichen dieselbe wie bei den Versuchen mit dem salicinspaltenden Enzym (siehe oben). Auch hier ergaben die mikroskopische Untersuchung und die Impfversuche, daß die Mitwirkung von Bakterien bei der Spaltung des Arbutins ausgeschlossen war. Die Untersuchung der Spaltungsprodukte des Arbutins war zunächst eine ähnliche wie die bei der Salicinspaltung angegebene, da die Löslichkeitsverhältnisse analoge sind, indem das Arbutin

¹ A. Kawalier, Sitzungsber. der kaiserl. Akad. der Wissensch. in Wien, math.-naturw. Kl., Bd. IX (1852), p. 290; Liebig's Ann. der Chemie u. Pharm., Bd. LXXXIV (1852), p. 56; Journal für prakt. Chemie, Bd. LVIII (1853), p. 193.

² Das »Arctuin« wurde von Strecker als Hydrochinon erkannt.

³ F. Czapek, Biochemie der Pflanzen, Bd. II, p. 543.

und die Glukose in Äther unlöslich sind, während das Hydrochinon darin löslich ist.

Was speziell den Nachweis des für die Arbutinspaltung besonders charakteristischen Spaltungsproduktes, des Hydrochinons, betrifft, so wurde der Ätherrückstand durch Umkrystallisieren aus Wasser, Alkohol oder Äther, eventuell noch durch Behandlung mit schwefliger Säure und Tierkohle gereinigt und durch Bestimmung des Schmelzpunktes kontrolliert. Die Prüfung auf Hydrochinon geschah zumeist mit Eisenchlorid und den sich anschließenden Reaktionen; außerdem wurden aber auch noch die anderen bekannteren Reaktionen auf Hydrochinon herangezogen.

Versuche.

1. Autolysenversuche.

Diese wurden vorwiegend mit *Calluna vulgaris* ausgeführt, und zwar wurden sowohl die nur beblätterten, im Mai gepflückten, als auch die blühenden, zur Blütezeit gepflückten Stengel und diese wieder sowohl frisch als auch lufttrocken zu Versuchszwecken verwendet.

Je gleiche Mengen der fein zerkleinerten Stengel wurden mit gleich viel Wasser bis zur Breikonsistenz vermischt, beide Teile, normal und gekocht, mit gleich viel Arbutin umgerührt und unter Chloroformzusatz der Autolyse unterworfen.

In allen normal verlaufenden Versuchen konnte eine Spaltung des Arbutins durch die positiven Hydrochinonreaktionen nachgewiesen werden; in den Kontrollversuchen mit dem gekochten Organbrei blieben die Reaktionen auf Hydrochinon aus.

Bei einem Versuche, in welchem je 6 g der lufttrockenen, fein zerkleinerten, blühenden (am 11. August gepflückten) Stengel von *Calluna vulgaris* auf je 0·5 g Arbutin durch 14 Tage wirkten, ergab der normale Versuch einen Ätherrückstand von 0·0980 g, der Kontrollversuch 0·0175 g. Je gleiche Mengen der beiden Ätherrückstände wurden in gleich viel Wasser gelöst und mit gleich viel Eisenchlorid versetzt: die Lösung vom normalen Versuche wurde vorübergehend

blau, dann gelbbraun; mit Äther geschüttelt, wurde die Ätherschicht hellgelb, nach Verdunsten des Äthers blieb ein dunkelblauer Rückstand, der sich in konzentrierter Schwefelsäure unter vorübergehender Violettfärbung mit rötlichbrauner Farbe löste. Die Lösung beim Kontrollversuche dagegen gab mit Eisenchlorid keine vorübergehende Blaufärbung, die Ätherschicht blieb vollkommen farblos und hinterließ auch keinen blauen Rückstand. Der übrige Teil des normalen Ätherrückstandes wurde durch Umkrystallisieren aus Wasser und Alkohol gereinigt und mittels schwefliger Säure und Tierkohle entfärbt. In dem so gereinigten Produkt konnte wieder Hydrochinon nachgewiesen werden: durch die Reaktion mit Eisenchlorid, Bildung von Chinon, mit Chlorkalklösung, Chlorwasser u. a.

Ein ähnliches Resultat wurde auch bei der Einwirkung des filtrierten wässerigen Extraktes aus *Calluna vulgaris*, normal und gekocht, auf Arbutin erhalten. Auch hier konnte in dem relativ reichlichen Ätherrückstande des normalen Versuches Hydrochinon nachgewiesen werden, während der sehr geringe Ätherrückstand des Kontrollversuches kein Hydrochinon aufwies.

2. Versuche mit dem isolierten Enzym.

Das aus dem wässerigen Extrakt von *Calluna vulgaris* mittels Alkohol isolierte Enzym spaltete selbst in sehr verdünnter Lösung das zugesetzte Arbutin in die Komponenten Glukose und Hydrochinon.

Ebenso konnte durch die Einwirkung der aus *Vaccinium Myrtillus* isolierten enzymhaltigen Substanz auf Arbutin die erfolgte Spaltung derselben beobachtet werden.

Je 0.15 g Enzym, isoliert aus *Vaccinium Myrtillus*, in je 10 cm³ Wasser gelöst, normal und gekocht, wirkten auf je 0.1 g Arbutin. Nach 7 Tagen wurde auf die Spaltungsprodukte geprüft; es konnte nur im Ätherrückstande des normalen Versuches Hydrochinon nachgewiesen werden, beim Kontrollversuche verliefen die Reaktionen auf Hydrochinon negativ.

Je 0.35 g Enzym aus *Vaccinium Myrtillus* wurden in je 12 cm³ Wasser gelöst, normal und gekocht, mit je 0.2 g Arbutin versetzt und nach 14 Tagen die Spaltungsprodukte

untersucht. Während der Ätherrückstand beim normalen Versuch alle durchgeführten Hydrochinonreaktionen mit positivem Erfolge gab, blieben dieselben beim Kontrollversuche vollständig aus. Der in Äther unlösliche Anteil reagierte nur beim normalen Versuch auf Glukose, beim Kontrollversuche nicht.

Je 0·15 g Enzym, isoliert aus *Calluna vulgaris* (gepflückt im Mai), wurden in je 10 cm³ Wasser gelöst und beide Lösungen, normal und gekocht, mit je 0·15 g Arbutin versetzt. Nach achttägiger Einwirkung konnte nur beim normalen Versuch eine Spaltung des Arbutins festgestellt werden. Die Lösung in Äther hinterließ beim normalen Versuch einen Rückstand im Betrage von 0·0220 g, während der Ätherrückstand im Kontrollversuche nur in Spuren vorhanden war, 0·0003 g. Aus dem normalen Ätherrückstande konnten nach erfolgter Reinigung 0·0120 g nadelförmige Krystalle erhalten werden, welche deutlich auf Hydrochinon reagierten. Der erhaltenen Menge von 0·0120 g Hydrochinon entsprechen 0·0296 g gespaltenen Arbutins.

0·15 g Enzym, isoliert aus *Calluna vulgaris* (gepflückt im August), wirkte in 3prozentiger Lösung 12 Tage auf 0·1 g Arbutin. Es wurden 0·0318 g Ätherrückstand erhalten, aus welchem nach entsprechender Reinigung 0·0213 g reines Hydrochinon isoliert wurde, entsprechend 0·0526 g gespaltenen Arbutins. In dem in Äther unlöslichen Anteile wurde Glukose nachgewiesen.

Da Arbutin auch von Emulsin gespalten wird (Kawalier, l. c.), so wäre auch hier (vgl. p. 1218) die Möglichkeit vorhanden, daß die beobachtete Spaltung des Arbutins durch Emulsin, beziehungsweise ein amygdalinspaltendes Enzym erfolgte. Zur Entscheidung dieser Frage ließ ich das von mir isolierte arbutinspaltende Enzym unter denselben Versuchsbedingungen, wie sie beim salicinspaltenden Enzym angegeben sind (siehe oben), auf Amygdalin einwirken; eine Spaltung desselben konnte nicht nachgewiesen werden. Es liegt also ein von Emulsin verschiedenes Enzym vor.

Aus den Versuchsergebnissen ist wohl der Schluß berechtigt, daß in den untersuchten Ericaceen ein auf Arbutin

wirksames Enzym vorkommt; ich schlage für das arbutinspaltende Enzym den Namen »Arbutase« vor.

III. Zusammenfassung der Resultate.

Das salicinspaltende Enzym wurde in einigen *Salix*- und *Populus*-Arten nachgewiesen. Die erfolgte Spaltung des Salicins in Glukose und Saligenin wurde sowohl durch Autolysenversuche als auch durch die mittels Alkohol isolierte enzymhaltige Substanz sichergestellt. Die Mitwirkung von Bakterien war ausgeschlossen; das isolierte Enzym war nicht Emulsin. Verfasser schlägt für das salicinspaltende Enzym den Namen »Salikase« vor.

In ähnlicher Weise wurde in *Calluna vulgaris* und *Vaccinium Myrtillus* eine auf Arbutin wirksame Substanz nachgewiesen, welche Arbutin in Hydrochinon und Glukose spaltet. Für das arbutinspaltende Enzym wird der Name »Arbutase« vorgeschlagen.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Sitzungsberichte der Akademie der Wissenschaften mathematisch-naturwissenschaftliche Klasse](#)

Jahr/Year: 1908

Band/Volume: [117](#)

Autor(en)/Author(s): Sigmund Wilhelm

Artikel/Article: [Über ein salicinspaltendes und ein arbutinspaltendes Enzym 1213-1223](#)