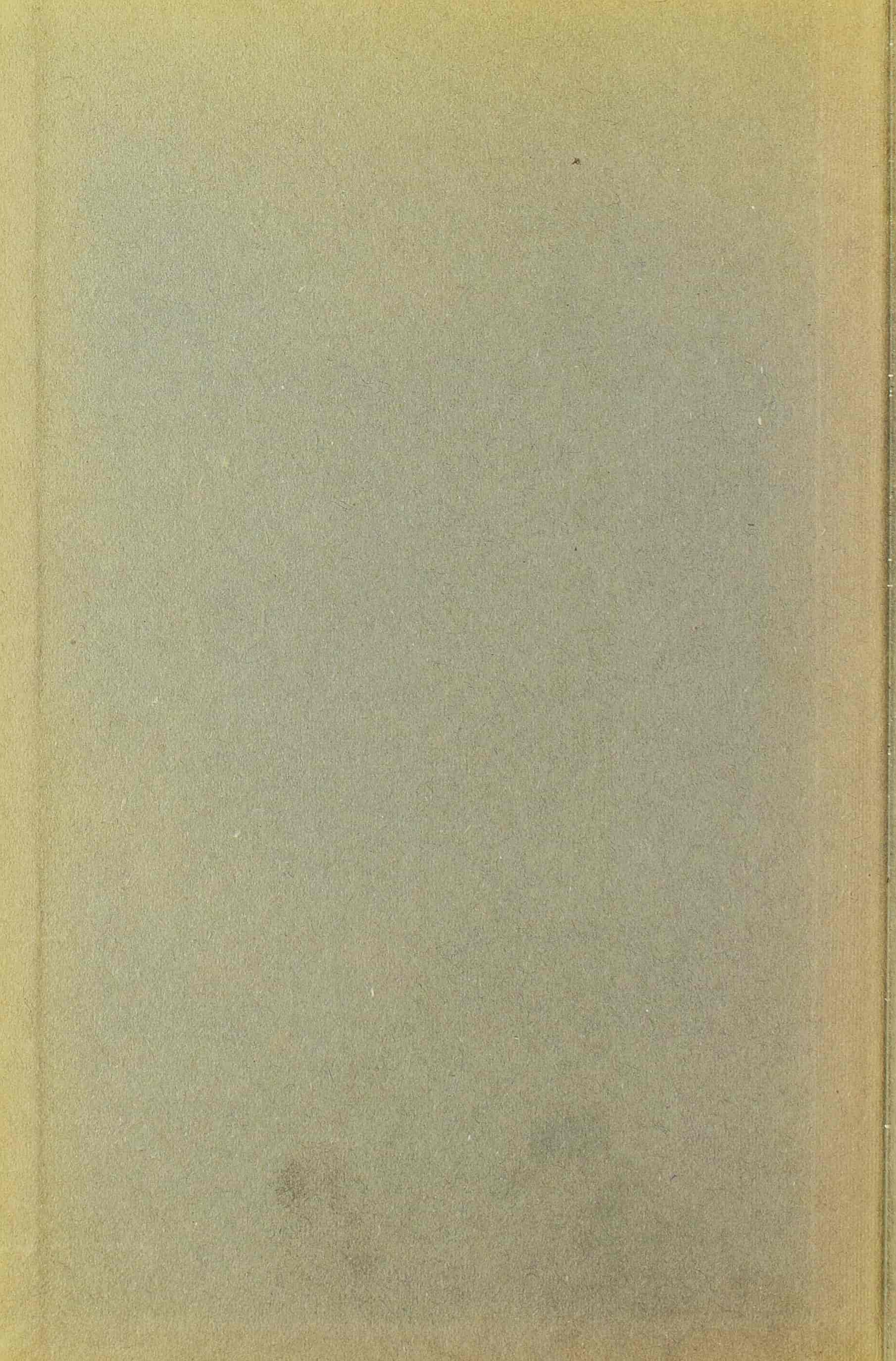


X 17



10=137037623
УНИВ. БИБЛИОТЕКА

И. Бр. 12904.

Д-Р ИВАН ЂАЈА

ДОЦЕНАТ НА УНИВЕРСИТЕТУ У БЕОГРАДУ

ФЕРМЕНТИ

И

ФИЗИОЛОГИЈА

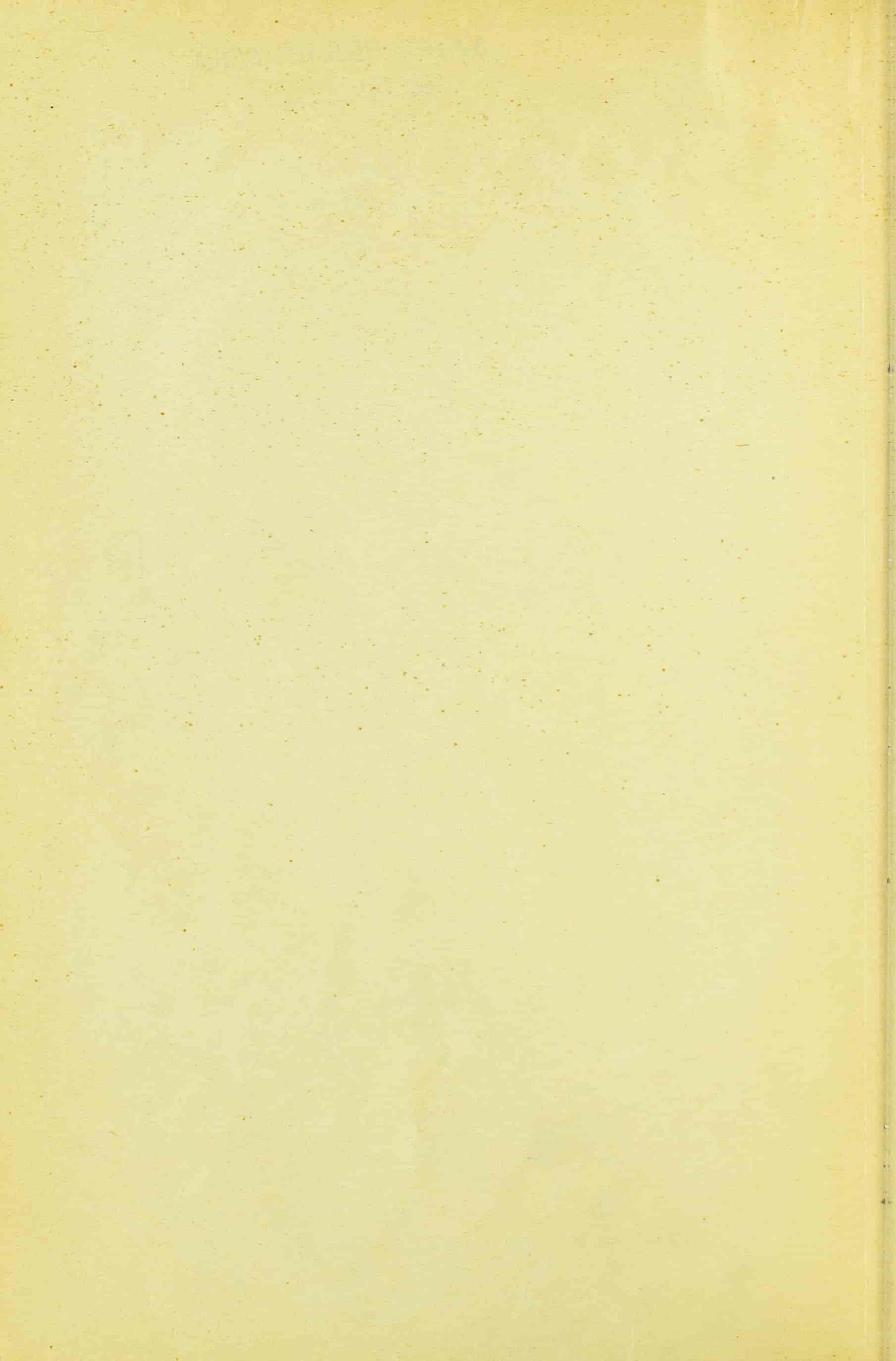
Четврта књига награђена из фонда Пере Н. Јанковића, бив. крагујевачног апотекара
(Из поштовања према оцу Кости Јанковићу, бившем окружном начелнику).



У БЕОГРАДУ

ШТАМПАНО У ДРЖАВНОЈ ШТАМПARIЈИ КРАЉЕВИНЕ СРБИЈЕ

1912.



У В О Д

Ферменти воде своје порекло из живе материје. Било да се појављују у једноме соку као производ лучења жлезде, било да се налазе имобилисани у унутрашњости ћелије (ендоцелуларни ферменти) у коме се случају разним вештачким средствима — (као што су Дастрова хлорофомска дијализа, мацерација органа, пресовање) — могу издвојити од њиховог живог субстратума, у једном и у другом случају ферменти произлазе од живе материје. Међутим ферменти нису више жива материја. То је у исто доба и најважнији податак који имамо у погледу природе фермената, и податак који даје ферментима изузетну вредност. Ферменти произлазе од живе материје, нису живи, а њихова је акција често истоветна са неким појавама којима је седиште жива материја или живи створ и које скупа сачињавају живот. Другим речима то значи, ферменти су носиоци неких особина живе материје, које су се оделиле и постоје за себе. Само по томе разумљиво је да се ферменти налазе данас у првоме реду међу питањима којима се баве биологија и физико-хемија.

Као материја, ферменти су нам непознати. Под именом фермената подразумевају се у ствари ферментске акције. Треба увек имати на уму да су нам само ове последње познате и да су оне једини знак помоћу којег можемо констатовати присутност фермената и разликовати их једне од других. Када се вели, на пример, да панкреасни сок садржи малтазу и амилазу, то значи да тај сок ферментски утиче на малтозу и штирак јер је то факат који се констатује. Да ли пак те две акције проузрокују два различна тела, т. ј. два фермента, вероватно је, али је то хипотеза. Другим речима, ферменти нам се не указују као тела већ као динамичне особине. Ми нисмо кадри да закључимо да једна течност садржи један извесан ферменат икојим другим

начином до констатовањем ферментске акције. То значи да је тело на које утиче ферменат једини реагенс помоћу кога се може констатовати присутност једнога фермента. Тако је на пример итирак *једини* реагенс амилазе. Немогуће је икојим другим средством констатовати присутност амилазе у једној средини. У случајевима када један ферменат утиче на више тела, тада се он може открити помоћу свих тих тела. На пример, хидролизе разних гликозида узима се да врши један ферменат, *емулсин*. Ако је то тачно, тада се емулсин може открити помоћу свих тих гликозида на које тај ферменат утиче.

Као што већ рекосмо ферменти имају нарочити интерес с тога што воде своје порекло из живе материје и што у одсутности организованог субстратума, подлоге, врше извесне хемијске појаве које се посматрају код живог створа. Сама природа тих хемијских појава нема ничега особитога, пошто су то махом најобичније хемијске појаве као што су оксидације, хидролизе или растављања. Али тај факат да се може одвојити од живе материје једна од њених особина, даје ферментима са филозофског гледишта особиту вредност. Ово је нарочито јасно за ендоцелуларне ферменте једноћелијских створова. Неоспорно је да се животна моћ једне квасне ћелије највише испољава у хемијској промени коју тај организам може да изврши над једним раствором шећера. Квас претвара извесне шећере у угљен-диоксид и етилалкохол (поред тога стварају се том приликом и мале количине глицерина и ћилибарске киселине). Та трансформација шећера јесте резултат метаболизма тог угљеног хидрата кроз ћелијски организам кваса. Знамо да се исхрана живе ћелије састоји поглавито у екзотермијским реакцијама које претрпи алименат у ткивима; на тај начин ослобођена потенцијална енергија алимената претвара се у механичан рад и у разне врсте енергија под којима се живот манифестује; топлота, електрицитет, светлост и т. д. Алименат није дакле само носилац материје него, и то нарочито, и носилац енергије. Један обед не треба мерити на кантару већ у калориметру. Створови који живе окољени атмосфером извлаче из алимената потребну енергију оксидишући их кисеоником који их окољава. Али у случају анаеробног живота, т. ј. у заклону од кисеоника, створови који могу да поднесу тај живот, а то је случај са квасом, извлаче из алимента потребну енергију екзотермијским *расгављањем* алимента. На пример, у случају кваса, шећер се раставља у угљен-диоксид и алкохол, и у тој екзотермијској реакцији квасна ћелија црпи енергију потребну за животне манифестације.

Спомињемо овај основни појам исхране да би се добро схватило да алкохолно врење није једна споредна појава у животу квасне ћелије — један епифеномен, — већ да је оно основа саме исхране тог организма у анаеробноме животу. Ако уопште једна животна особина треба да буде везана за организовани субстратум кваса то би требало

да буде особина коју квасна ћелија има да превире раствор шећера. Међутим, данас знамо да ту особину можемо да издвојимо од ћелије и да она може да постоји у одсутности живог субстратума. Другим речима, алкохолно је варење једна ферментска акција. Ферменат који претвара шећер у угљен-диоксид и алкохол, кога је Buchner издвојио, назива се *зимаза*.

Ето дакле један случај да се једна животна функција своди на једну ферментску акцију. А то не значи ништа друго до: једна животна појава своди се на физико-хемијску појаву. Та промена земљишта није пак ништа друго до један од главних циљева модерне биологије; премда, у овом посебном случају није се много добило том променом земљишта јер су за сада ферментске појаве обавијене готово тако исто тамом као и „животне појаве“.

Ово свођење неких особина живе материје на ферментске појаве нарочито је јасно у случајевима ендоцелуларних фермената. Али ако се посмотри ствар из близа, ендоцелуларни се ферменти не разликују у томе погледу од егзоцелуларних фермената. Узмимо на пример егзоцелуларне ферменте разних сокова под чијим се утицајем врши варење. Никоме не пада на памет да не сматра варење као једну животну функцију као што је на пример функционисање срца или бубрега. Међутим, хемијски део појаве варења може се извршити изван организма, ставивши разне сокове, које луче разне жлезде, у додир са алиментима, на сталној температури термостата која замењује исту температуру организма. Дакле и у овом случају једна животна, физиолошка појава, своди се на ферментску појаву.

После ових констатација да се неке особине живе материје и живог организма могу да отргну од свога организованог субстратума, разуме се да се следећа идеја намеће: све разне функције живе материје могле би се издвојити једне од других и свести на појаве физико-хемијског реда као што су већ неке сведене на ферментске акције. Отуда важно место које узимају ферменти у спекулацијама биолошке филозофије.

Са физиолошког гледишта ферменти су врло важни агенси, јер многе физиолошке функције ферментске су природе. На првоме месту долази варење које је у ствари један низ координисаних ферментских акција. Затим, врло је вероватно да ферменти играју извесну улогу у многобројним оксидацијама којима је седиште животињски или биљни организам. Најпосле у многобројним случајевима ферменти су узрок мењања физичних особина тела на која утичу (таложећи их, сирећи их) и у том погледу ферменти могу имати физиолошке важности; да напоменемо само сирење крви, које је ферментске природе, и које игра важну улогу у заштити створова од губитака те скупоцене органске течности.

Открићем фермената многе појаве којима је седиште жива материје падају у делокруг физико-хемије. Може се рећи да су управо ферменти врата на која је физико-хемија ступила у биологију.

Са хемијског гледишта важност фермената није мала. Истина је да у већини случајева ферментске акције немају ничега особенога са тог гледишта, пошто се исти резултати могу лако да добију хемијским агенсима. Али у доста многобројним случајевима ферментска реакција разликује се од реакције добивене хемијским средствима. Тако, на пример, дешава се да ферменат хидролизује на други начин једно тело него ли што га хидролизују киселине. Ферменти су много деликатнија средства за хидролизу него ли киселине. Док ове последње често рашчлањују цео молекул на који утичу, дотле ферменти утичу често селективно само на ову или ону тачку сложеног молекула. На тај начин добивене делимичне хидролизе угљених хидрата, гликозида и беланчевина, дозвољавају да се боље продре у састав тих тела. Неоспорно је да су ферменти много допринели у томе правцу. Они су заузели у лабораторији органске хемије место поред других средстава за хидролизу.

Затим, ферменти немају само значаја за чисту науку, већ и за примењену, т. ј. за индустрију. Многобројне су индустрије које употребљују ферментске акције било „фигурисаних фермената“ било „растворљивих фермената“. Да напоменемо само сирарство, пиварство, винарство, производњу сирћета.

Важност студије фермената указаће нам се у пуној светлости ако додамо још да многобројна тела која продукују организми, било у нормалним, било патолошким или експерименталним погодбама и на којима почивају серотерапија и имунитет, имају исте основне особине фермената. Може се слободно рећи да су исте природе. Међу тим, сваким даном многобројнијим телима да наведемо: токсине и анти-токсине, алексине, преципитине, коагулине, хемолизине, антиферменте и антителиа у опште.

Такав је главни значај предмета којим се бавимо у следећим странама. Мислимо да је доста и велик и многостран, да вреди о њему написати на нашем језику оно што је најважније.

I. Хемијски састав фермената

Најмрачнија страна у студији фермената, јесте њихов хемијски састав. Не само да не знамо тачно њихов хемијски састав, већ нам је и њихова хемијска природа непозната, тако да не знамо поуздано којој хемијској групи припадају. Arthus¹ чак мисли да ферменти и нису материјална тела, већ само особине као што су топлота, магнетизам, електрицитет, и т. д. које могу да приону за најразличнија тела.

¹ Arthus. La nature des enzymes. Thèse doct. médecine. Paris (1896).

Откуда та немогућност да се ферменти хемијски одреде? Не треба мислити да се је хемијска анализа, тако моћна у наше доба, показала у овоме случају немоћна. Не, јер хемичар није још никада имао у рукама ни приближно *чисте ферменте*. Разним начинима справљања ферменти се добивају у облику аморфних прашкова и у том се облику неки налазе у трговини и продају се на тежину. Међутим, ко зна колико има фермента у једном граму таквог препарата? Један милиграм, можда више, вероватно мање, т. ј. трагови. И тада какву вредност имају хемијске анализе таквих ферментских препарата, које су у осталом многобројне и пажљиво извршене. Нећемо нарочито изнети овде резултате елементарне анализе разних ферментских препарата, не стога што се из њих не би могао извући никакав закључак у погледу хемијског састава фермената, већ с тога што је несумњиво да те анализе нису анализе чистог фермента, већ многобројних тела која га пропраћају. У одсуству позитивних података боље је не излагати податке који су несумњиво без вредности. Да су елементарне анализе ферментских препарата без важности у погледу хемијског састава фермената, дошли су до тога сви они који се баве изучавањем фермената, тако да је тај правац истраживања потпуно напуштен у последње доба.

Пошто се ферментски препарати добивају таложењем помоћу реагенса који таложе многе беланчевине и угљене хидрате, природно је да се они на елементарној анализи указују као мешавине беланчевина и угљених хидрата у разним размерама, према томе да ли је средина из које је ферментски препарат извађен, богатија једном или другом од тих двеју врста тела. Тако у извесним случајевима анализа даје око 15—16% азота, дакле као за чисте беланчевине; док у другим случајевима азота има сразмерно врло мало. Тако се ферментски препарат *лаказе*, по Bertrand-у¹ понаша на елементарној анализи као какав конденсован угљени хидрат који хидролизом даје галактозу и арабинозу и може се према томе сматрати као арабо-галактана. Тако исто Hirschfeld² налази да амилаза из малта има састав угљеног хидрата.

Пред овом јасношћу да се резултати анализе ферментских препарата не могу применити и на ферменте, покушаји одређивања органског субстратума, као што рекосмо, напуштени су у ово последње доба и сва се пажња истраживалаца обратила на изучавање *неорганских* тела која редовно пропраћају ферменте. У овоме новоме правцу добивени су резултати од највећег значаја. Та неорганска тела која су пре сматрана као „нечистоте“ које пропраћају ферменте, показала су се као тела која имају врло важну улогу у ферментским акцијама. На тај начин, те „нечистоте“ постале су данас једини важан и познат материјалан фактор у механизму ферментских акција.

¹ Bertrand. C. R. Acad. Sciences (1894).

² Hirschfeld. Archiv f. g. Physiologie t. XXXIX. стр. 499. (1886).



Duclaux, 1899 године, доба када се је тек почела обраћати пажња на неорганска тела која попраћају ферменте, вели у својој Микробиологији (II стр. 116) на крају главе која се бави хемијским саставом фермената: „Глава, коју сам сада завршио и која се, као што се могло видети, своди на врло неодређене податке, биће сутра написана у једном другом много јаснијем облику у коме ће главна улога припадати солима које су до сада сматране као нечистоте“.

То се предвиђање Duclaux-а систематски остварује и сада ћемо изложити сва та најглавнија факта која су по речима Duclaux-а требала да у што скоријој будућности даду сасвим други изглед питању хемијског састава фермената.

II. Ко-ферменти

Највише је светлости бачено на ферменте открићем улога које играју извесна хемијски позната и махом проста тела, у ферментским процесима. Сваким су даном многобројнији примери о важности каквога минералнога тела, киселине, базе, соли, метала или металоида за ову или ону ферментску појаву. Данас је већ доста дугачак списак ферментских акција у којима је утврђена знатна улога коју играју извесна минерална тела. Њихова је важност у многим случајевима толика да је без њих ферменат потпуно неактиван, другим речима, да у њиховој одсућности ферменат није више ферменат. У тим случајевима, при нашем данашњем знању о ферментима, можемо с правом сматрати та тела, те *ко-ферменте*, од толике исте важности за ферментску акцију као и сам ферменат, пошто су и један и други неактивни када су сами, а не знамо шта припада коме у механизму њиховог удруженог утицаја. Да би управо ту идеју исеказао, Bertrand је дао име *ко-ферменти*, тим различним телима неопходно потребним за различне ферментске акције.

Од како се је изучавање фермената пренело од њиховог органског субстратума на неорганска тела која их попраћају, отворен је тиме један нов, плодан пут истраживања. Откриће ко-фермената је од двоструког значаја када се има у виду с једне стране важност њихове улоге у ферментским акцијама а са друге пак њихова проста и позната хемијска природа.

Изложићемо само разне случајеве у којима је доказана *неопходна потреба* ко-фермената у ферментским акцијама. Јер, када бисмо се позабавили и случајевима у којима извесна тела утичу само повољно на ферментску акцију, која може и без њиховог присуства да се врши, то би значило позабавити се свим познатим ферментима без изузетка.

Механизам утицаја ко-фермената није нам познат. У осталом, нема сумње да ко-ферменти не узимају учешћа у разним ферментским акцијама истим механизмом. Тако на пример, у извесним ферментским

процесима ко-ферментова је улога претварање профермента у ферменат; кад је једном то претварање извршено, присуство ко-фермента није више потребно. У другим пак ферментским процесима ко-ферменат је потребан докле год траје ферментска реакција и ова престаје чим се ко-ферменат удаљи.

Једна од првих познатих улога ко-фермената јесте улога кречних соли у сирењу крви. Arthus и Pagès¹ показали су да крв ослобођена својих растворљивих кречних соли губи моћ да се спонтано сире. То бива, на пример, када се дода крви при њеном излазу из крвних судова један растворљив оксалат (натријум - или амонијум-оксалат) те на тај начин сав калцијум који се налази у крви буде претворен у нерастворљив калцијум-оксалат. Спречавање сирења крви помоћу оксалата јесте средство које се свакодневно употребљује у физиолошкој лабораторији у многобројним случајевима када је корисно да се то сирење избегне ван организма. Ако се пак оксалатованој крви дода један мали вишак неке растворљиве калцијумове соли, крв се спонтано сире.

Да видимо сада у којој фази сложене појаве сирења крви, калцијумове соли одигравају своју важну улогу.

Сирење крви, као што ћемо видети даље, састоји се поглавито у претварању *фибриногена*, — беланчевинастог тела које се налази растворено у крвној пласми, — у нерастворљиву беланчевину, *фибрин*. То претварање врши се под утицајем једнога фермента који је назван: *фибринферменат*, или *тромбина* или још *пласмаза*. Ако се једноме раствору фибриногена, који не садржи никакве калцијумове соли, дода фибринферменат, тада се фибриноген згушњава прелазећи у фибрин и без присуства кречних соли. Тако исто крвна пласма, ослобођена растворљивих кречних соли, згушњава се, — сире се — када јој се дода фибринферменат који такође не садржи калцијума (огледи Hammarsten-a).

Значи дакле, да кречне соли нису потребне за претварање фибриногена у фибрин, у чему се поглавито и састоји сирење крви. Кречне соли играју дакле своју улогу у некој другој фази појаве сирења крви. Крв у тренутку када излази из својих природних судова не садржи фибринфермента; с тога се у нормалним приликама крв и не сире у организму. Али изван организма, фибринферменат се јавља у крви и проузрокује сирење. Калцијумове соли ту играју своју важну улогу у стварању фибринфермента. Када се крв находи изван својих природних судова, тада бела крвна зрна и хематобласти — крвне плочице, — под извесним још тачно не одређеним утицајима, дуче један *проферменат* који није кадар да проузрокује сирење крви. Тај

¹ Arthus et Pagès, Arch. de physiol. (5) II, 739 (1890).

проферменат, назван *профибринферменат* или *тромбоген* јесте само претходник фибринфермента. Улога кречних соли састоји се у претварању *профибринфермента* у *фибринферменат*. Без кречних соли то је претварање немогуће. Али кад је оно једном извршено, сирење крви бива и у њиховој потпуној одсутности. У овоме случају калцијумове су соли коферменат нарочите врсте који не узима удела у самој ферментској акцији као што то бива за праве ко-ферменте, већ у стварању самога фермента.

Кречне су соли специфичне у тој улози. Само их извесне соли стронцијума могу да замене, докле соли магнезијума и баријума не могу то да учине.

У акцији *панкреаснога трипсина* доказана је такође важна улога једног ко-фермента. Панкреасни сок који се добива катетеризмом *Wirsung*-овог канала, потпуно је без утицаја на скувану беланчевину јајета. Ако се томе неактивном соку дода мала количина цревнога сока, тада постаје врло активан наспрам истог тела. То су показали Павлов, Шеновалников,¹ Delezenne и Frouin². Ако при своме излазу из *Wirsung*-овог канала панкреасни сок дође у додир са оближњом цревном слузокожом, тада постаје активан. Дакле, чист панкреасни сок не вари скувану беланчевину јајета, — нема протеолитичне моћи. Такав сок, асептично узет, може у одсутности микроорганизама остати више месеца у додиру са коцком скуване беланчевине јајета а да ову не свари. Павлов приписује моћ коју има цревни сок да изазове протеолитичну акцију панкреаснога сока, једноме телу ферментске природе које би се налазило у цревном соку и које је назвао *ентерокиназа*.

Данас је ферментска природа ентоерокиназе постала сумњива пошто је Larguier des Bancels³ констатовао да се мацерација цревне слузокоже, која садржи ентоерокиназу, може да прокува, а да ова не изгуби своју моћ наспрам панкреаснога сока. Тражећи хемијске податке о ентоерокинази, Stassano и Billon⁴ су нашли да нуклеопротеиде цревне слузокоже утичу као ентоерокиназа на панкреасни сок. Ово питање активовања панкреаснога трипсина постаје нарочито интересантно од кад се нашло да се оно може да изврши помоћу неких минералних соли. Тако је Larguier des Bancels⁵ показао да се ентоерокиназа може да замени сагласним утицајем колоида и електролита; протеолитична се моћ даје панкреасном соку ако му се додају извесне соли: баријум-нитрат, калцијум-нитрат, магнезијум-нитрат и ако се коцке беланчевине које ће се изложити утицају панкреаснога сока претходно натопе толундинским плаветнилом или магдалским црвенилом.

¹ Pawlow. Le travail des glandes digestives. Trad. Pachon et Sabrazès. Paris (1901).

² Delezenne et Frouin C. R. Soc. Biol. стр. 692 (1902).

³ Larguier des Bancels. C. R. Soc. Biol. 54. стр. 651 (1902).

⁴ Stassano et Billon. C. R. Soc. Biol. 54. стр. 623 (1902).

⁵ Larguier des Bancels C. R. Soc. Biol. (1905).

Доцније је Delezenne¹ показао да је присуство тих колоида излишно и да извесне соли могу саме да утичу на трипсин панкреаснога сока као и ентерокиназа, и то нарочито неке соли калцијума (CaCl^2 , CaI^2). Огледи Frouin-а и Compton-а² извршени пре краткога времена, утврђују да су извесне соли неопходно потребне и у активовању панкреаснога трипсина помоћу ентерокиназе, јер панкреасни сок који је активован помоћу ентерокиназе губи потпуно своју протеолитичну моћ ако му се помоћу дијализе одузму соли које нормално садржи. Соку који је на тај начин изгубио своју протеолитичну моћ ова му се враћа додавањем извесних соли као што су хлориди Са, Mg, K и Na; натријум-фосфат, магнезијум-сулфат; бромиди, јодиди и флуориди натријума и калијума. Na — цитрат, борат и ацетат. Хлорид и бромид амонијума, хлориди баријума, стронцијума и мангана. На исти начин утичу и базе NaOH и Ba (OH)².

Из ових најновијих огледа можемо закључити да су соли неопходно потребне за активовање панкреаснога трипсина и онда када се ово врши помоћу ентерокиназе. Присуство извесних соли потребно је докле год траје ферментска акција. Ако се оне удаље, акција престаје. Те су соли дакле према панкреасноме соку, *прави ко-ферменти*.

Слична се факта налазе и за друга два фермента панкреаснога сока, за амилазу и малтазу. Bierry, V. Henri и Ђаја³ показали су да панкреасни сок ослобођен својих соли помоћу дијализе, постаје потпуно неактиван према штирку и малтози. Таквоме неактивном соку довољно је додати малу количину хлорида: Na Cl, K Cl, Ca Cl², NH⁴ Cl, Ba Cl², Sr Cl², Mg Cl², Mn Cl², или бромида. Јодиди и нитрати — Na, — K и Ca кадри су такође да врате активност дијализованом панкреасном соку, али у слабој мери, докле сулфати, карбонати, бикарбонати, ацетати, оксалати и фосфати, — Ca — K и — Na, нису кадри да то учине. Из свега тога може се закључити да су нарочито јони — Cl и — Br кадри да активују амилазу и малтазу панкреаснога сока.

Исто се тако понашају и цревни ферменти амилаза и инвертин који су неактивни у одсутности соли. Иста су факта утврђена и за амилазу и малтазу цревнога сока једног морског мекушца: *Aplysia punctata*.

Изложена факта о неактивности амилазе панкреаснога сока и о њеном активовању помоћу соли потврђена су од Preti-а⁴, Wohlgemuth-а⁵ и Lisbonne-а⁶.

¹ Delezenne. C. R. Soc. Biol 59 стр. 476. (1905).

² Frouin et Compton C. R. Acad. Sc. 153. стр. 1031 (1911).

³ Bierry, Giaja et Victor Henri. C. R. Soc. Biol. 60. стр. 479 (1906).

⁴ Preti. Biochem. Zeitschrift 4, стр. 1. (1907).

⁵ Wohlgemuth. Biochem. Z. 9. стр. 10,44.

⁶ Lisbonne C. R. Soc. Biol. 11 fevr. 1911.

Пепсин има такође свој ко-ферменат, а то је хлороводонична киселина. У неутралној средини пепсин нема никакве активности. HCl је природни ко-ферменат пепсина, али њега могу да замене све киселине уопште, када су узете у извесним сразмерама различне за разне киселине. Хлороводонична и млечна киселина активују врло добро пепсин; сирћетна киселина слабо, али ипак боље од пропионске киселине. Са тачке гледишта на којој се находимо, главно је да је једна киселина неопходно потребна за акцију пепсина. Без киселине пепсин нема никакве ферменске моћи, докле киселина без пепсина може у извесним погодбама концентрације и температуре да хидролизује беланчевине као што то врши активан пепсин. Другим речима, киселина је потребнија пепсину него ли што је пепсин киселини; тачније је рећи да пепсин активује киселину, него ли обратно како се обично вели. У овоме је случају дакле улога ко-фермента од највеће важности за саму ферментску акцију пепсина. Али киселине имају још једну другу важност за пепсин и то по уделу који узимају у стварању самога пепсина. У желудачној слузокожи нема пепсина, већ његов проферменат *пропепсин*. Тај се проферменат претвара у ферменат пепсин, под утицајем једне киселине (HCl у физиолошким погодбама). У овоме случају HCl игра сличну улогу са оном коју играју соли калцијума у претварању профибринфермента у фибринферменат.

За оксидишући ферменат *лаказу* имамо леп пример важности ко-фермента за ферментску акцију. Bertrand¹, који је пронашао *лаказу*, опазио је да у пепелу препарата тога фермента има редовно *мангана* и дошао је на ту мисао да тај метал игра извесну улогу у механизму оксидације помоћу *лаказе*. Делимичним таложењем једног ферментског препарата *лаказе*, Bertrand² је добио два препарата од којих је један садржавао више мангана од другог; од та два препарата активнији је био онај који је садржавао више мангана. Затим је Bertrand нашао код *луцерне (Medicago sativa)* *лаказу* која је била попраћена само траговима мангана (мање од $\frac{1}{50.000}$) и која је врло мало активна; ако јој се пак дода мала количина мангана, у облику сулфата на пример, иста *лаказа* постаје врло активна. У томе случају манган не може бити замењен ни једним од следећих метала: гвожђе, алуминијум, бакар, цинк, церијум, калцијум, магнезијум и калијум. Напоменимо да манган сам може да оксидише хидрокинону и у одсутности *лаказе*, али тада је његова моћ, у случају сулфата, 100 до 200 пута слабија.

Пектаза је ферменат под чијим се утицајем згушњавају воћни сокови који садрже *пектина*. Тај је ферменат неактиван у одсутности

¹ Bertrand. Bull. Soc. Chim. 13. стр. 362 (1895).

² Bertrand. Bull. Soc. Chim. 17 стр. 619 (1897).

кречних соли, као што су то показали Bertrand и Mallèvre.¹ У овоме случају ко-ферменат игра једну улогу која је различна од свих улога ко-фермената с којима смо се до сада упознали. Ко-ферменат је овде потребан с тога што се згушњавање пектина под утицајем пектазе састоји у грађењу једног калцијумовог јединења. Соли калцијума дају са пектином, под утицајем пектазе, једно јединење које се згушњава (коагулише). Овде је улога ко-фермента чисто хемијске природе.

Сличну улогу играју соли калцијума и у сирењу млека. У одсућности растворљивих кречних соли, млеко се не сири под утицајем фермента *лаба*. То бива на пр. када се млеку дода довољна количина амонијум-оксалата, те сав калцијум пређе у нерастворљив калцијум-оксалат. Сирење млека састоји се поглавито у претварању млечнога *казеина* у *параказеин*. У том претварању изгледа да кречне соли не узимају учешћа. Јер та се промена може да изврши и без калцијумових соли, али у томе случају параказеин се не таложи. Ако после утицаја *лаба* на млеко које је ослобођено калцијумових соли, разоримо тај ферменат топлотом, довољно је додати малу количину једне калцијумове соли па да се то млеко усири. То сирење не проузрокују калцијумове соли над казеином који није био претходно изложен утицају *лаба*. Али под утицајем врло великих количина калцијумових соли сирење може се извршити и без *лаба*. У сирењу млека ко-ферменат не игра дакле улогу у самој ферментској акцији, већ после ове у појави под којом се испољава ферментска акција.

Поред соли, и киселине су важне за ферменат *лаб* и то на исти начин као и за пепсин; јер се *лаб* у слузокожи желуца налази у облику профермента и овај се претвара у ферменат *лаб* под утицајем киселина. Код преживара *лаб* се налази у слузокожи сиришта у облику фермента. Све су киселине кадре да претворе проферменат *лаба* („*прохимозин*“) у *лаб*, али су за то нарочито угодне хлороводонична и сумпорна киселина; млечна је киселина такође кадре да изврши ту промену. Harden и Young² нашли су да *зимаза* није активна без једног ко-фермента који се налази у соку који се добива пресовањем кваса. Филтровањем кроз желатин може се тај ко-ферменат одвојити од *зимазе* која је тада неактивна. По Harden-у и Young-у тај је ко-ферменат један алкалан фосфат, докле Buchner и Antoni³ мисле да је једно фосфорно органско јединење.

Напоследку наведимо још један случај ко-ферментске акције. *Амилсалицилаза*, ферменат који хидролизује салицилат амила, а који се налази у панкреасу, јетри, цреву и желуцу, потпуно губи своју

¹ Bertrand et Mallèvre. Bull. Soc. Chim. стр. 77 (1895).

² Harden and Young. Proc. Roy. Soc. 78 стр. 368. (1905).

³ Buchner und Antoni. Zeitsch. f. physiol. Chemie 47, стр. 136 (1905).

ферментску моћ ако се ослободи соли помоћу дијализе. Ако му се дода једна жучна со, постаје понова активним.

Навели смо доста примера важних улога ко-фермената. И без дубљег продирања у предмет јасно је да ко-ферменти узимају учешћа на различне начине у механизму ферментских акција, и да је према томе њихова улога од веће или мање важности. С тога није могућно установити једну теорију њихових акција која би обухватила све познате случајеве. Затим треба и то рећи да није сигурно да ко-ферменти постоје за све ферменте. Словцов је нашао у кромпиру оксидазу која не садржи ни мало мангана. То је исто констатовао и Wash за једну оксидазу другог порекла.

Ослањајући се на неке случајеве у којима је ко-ферменат неопходно потребан за ферментску акцију и у којима је ко-ферменат такве природе да и он сам у извесним погодбама може да произведе исту ферментску акцију, Bertrand је оцртао једну теорију по којој би ко-ферменат био главни фактор у ферментској акцији а ферменат само његов подстрекач. У систему ферменат — ко-ферменат, Bertrand назива ко-фермента: *complémentaire active*, а фермента: *complémentaire activante*. На пример, лаказа је неактивна без мангана; међутим манган (односно његове соли) може и сам да произведе разне оксидације као год и лаказа удружена с њим, само несразмерно много лакше. Тако исто и кречне соли без којих је пектаза неактивна могу саме да у извесним погодбама проузрокују згушњавање пектина, али тада морају бити у много већој количини него ли када су удружене са ферментом пектазом. Хлороводонична киселина може и у одсутности пепсина да хидролизује беланчевине, али се тада она мора употребити око 100 пута концентрисанија него ли што је у желудачном соку. Lawrow је упоредно утицај пепсина помешана са HCl 5‰ на беланчевине, са утицајем саме те киселине исте концентрације. Вршећи огледе на 37°, Lawrow је констатовао да се у оба случаја долази до истих продуката хидролизе, само што иста реакција уз присуство пепсина траје неколико часова, а са самом киселином неколико месеца.

У овим случајевима може се узети да је ко-ферменат главни фактор у ферментској акцији а ферменат тело које повећава његову активност тако да мале количине ко-фермента, које може да поднесе организам, добивају тиме велику активност. Када би слична факта била нађена за све ферментске акције, ове би се свеле на појаве познате у хемији под именом *каталигичних појава*, а ферменти би били подстрекачи катализе.

Овај начин схватања губи много од своје опште важности пред фактима да постоје ко-ферменти који нису никако кадри да изазову

сами ону ферментску акцију за коју су неопходно потребни. То је на пр. случај са солима које су ко-ферменат панкреасне амилазе и малтазе.

III. Утицај температуре на ферменте

Начин на који се ферменти понашају према топлоти јесте једна од њихових најкарактеристичнијих особина, и она најчешће служи као критеријум ферментске природе једне појаве. Када се констатује да једна течност (физиолошки сок, мацерација итд.) производи неку хемијску реакцију на извесном телу, решава се одмах да ли је та реакција извршена под утицајем фермента, утицајем топлоте на ту реакцију. Ако та активна течност губи ту своју активност пошто је загрејана неколико тренутака на 100° , тада је ова ферментске природе. Јер се сви ферменти разоравају у воденом раствору на температури која не прелази 80° . Та особина разоравања топлотом ушла је у саму дефиницију фермената. Једно тело које би имало све опште особине фермената али које не би изгубило своју активну моћ на 100° , не може се назвати ферментом према данашњој дефиницији фермената.

Температура на којој један ферменат губи потпуно своју ферментску моћ јесте *смртна температура* тог фермента. Треба одмах рећи да не постоји за један дати ферменат једна једина смртна температура, јер је ова зависна од многих околности. На првоме месту она зависи од дужине времена за које је ферменат изложен извесној температури. У колико је то излагање дуже у толико је нижа смртна температура. Чак и ниске температуре, које могу бити погодне за ферментску акцију, разоравају полако ферменте (огледи Miquel-а на уреазу) тако да се теоријски може узети да свака температура, бар за извесне ферменте, може да буде смртна. Затим, састав средине у којој се налази ферменат има утицаја на смртну температуру. Ова је различна за један исти ферменат према томе да ли се он налази у киселој, неутралној или алкалној средини и да ли ова садржи соли или не. С тога је тражење доказа о истоветности или различности двају фермената различног порекла, у њиховим смртним температурама, ствар без вредности пошто се не зна да ли су обе ферментске средине истоветне.

Смртна је температура дакле функција времена. Када је то време подуже тада се посматра да се за време утицаја температуре, интензитет ферментске моћи све више смањује док се не сведе на нулу. Следећи пример показује за ферменат уреазу како разне температуре утичући за исто време на тај ферменат смањују његову активност.

Температура загревање уреазе за 10 мин.: 64° , 66° , 70° , 75° .

Активност уреазе према уреу: 13,6, 6,1, 3,6, 0.

Температура од 75° смртна је у овоме случају после 10 минута.

Ако посматрамо како утиче температура на саму ферментску акцију, тада долазимо до закључка да за сваку ферментску акцију у датим погодбама постоји једна температура на којој се ова врши најбрже. То је *оптимум температуре*. Тако је по O'Sullivan-у и Tompson-у тај оптимум око $+ 52^{\circ}$ за активност квасног инвертина, а крајње границе температуре на којој је тај ферменат активан 0° и $+ 70^{\circ}$.

Оптимум температуре за ферментске акције не само да није исти за исте ферменте различног порекла (на пример амилаза животињска и биљна) него је различан и за један исти ферменат према околностима у којима се врши његова акција. У одређивању тога оптимума утиче нарочито брзина ферментске акције; према количини употребљенога фермента може се иста ферментска реакција, квалитативно и квантитативно постићи у различним размацама времена. Али тада је и оптимум температуре различан за сваки од тих случајева. На пример, Bertrand и Compton¹ су показали да је за акцију емулгина оптимум око $+ 40^{\circ}$ када се овај ферменат употреби у толикој количини да он хидролизује око 60% амигдалина (у раствору од 1 гр. 865%) за 15 часова. Ако се пак употреби 3 пута више емулгина иста квантитативна реакција буде извршена за 2 часа, али је се у овом случају оптимум попео на $56^{\circ} - 58^{\circ}$.

Ово мењање оптимума температуре према дужини трајања реакције, вероватно је у вези с оним што смо рекли о зависности смртне температуре од времена. Када реакција дуже траје тада је једна иста температура ближа смртној температури него ли када се та квантитативно и квалитативно иста реакција изврши за краће време. Отуда се разоравајућа моћ исте температуре више осећа када реакција дуже траје и у томе случају оптимум температуре је нижи него ли када се реакција брже врши.

IV. Утицај разних тела на ферменте.

Видели смо већ од које су важности разна тела за ферменте када играју према овима улоге ко-фермената. Ако издвојимо те случајеве у којима је неко тело неопходно потребно за ферментску активност па посмотримо утицај тела без којих може да се врши ферментска акција, тада се опажа да тај утицај може бити двојак: повољан или неповољан за ферментску акцију. Према начину на који утичу на један ферменат, разна се тела могу према томе поделити у *активаторе* и *парализаторе* те ферментске акције. Пре свега треба рећи да та подела нема ничега апсолутнога, јер једно исто тело може бити и активатор и парализатор према количини у којој је употребљено. Тако, на пример, киселине које убрзавају многе ферментске акције, спречавају их када се налазе у већој сразмери. Затим та подела не вреди за све ферменте, јер су познати примери да је једно тело активатор за једну ферментску акцију а парализатор за другу. Тако, на пример, исте количине $BaCl^2$

убрзавају акцију лаба а коче акцију инвертина; у јачим сразмерама та је со парализатор за обе те ферментске акције. Ако изузмемо тела која очигледно разоравају или таложе органски субстратум фермената, остала тела не утичу на ферменте ни по каквом општем правилу. Алкохол, који таложи праве беланчевине, таложи и ферменте. Најзад, требало би разликовати утицај на *ферменат* од утицаја на *ферментску акцију*, ствар која није до сада довољно узимана у обзир.

V. Електричан пренос фермената.

Linder и Picton показали су да се колоиди, стављени у једно електрично поље, преносе ка једноме од два пола. Према томе се колоиди деле на позитивне — који иду ка катоди, и негативне — који иду ка аноди. Ферменти у овоме погледу као и у многим другим, понашају се као колоидна тела. Када се кроз једну ферментску течност пусти електрична струја складне јачине, посматра се да се ферменти преносе ка једноме или другоме полу. Victor Henri, Bierry и Schaeffer¹ показали су да следећи ферменти иду ка аноди: амилаза из малта, амилаза цревнога сока *Helix-a*, амилаза Така, инвертин из кваса, инвертин *Helix-a*, емулсин бадема, емулсин *Helix-a*, лактаза *Helix-a*, лаб и јетрина каталаза. При електричном преносу фермената треба најпре пажљиво ослободити ферментске течности од електролита помоћу дијализе тако, да њихова специфична преносна моћ не буде већа од $12 \cdot 10^{-6}$. На тај се начин спречава промена реакције средине електролизом.

VI. Ферменти и дијализа.

И према дијализи се ферменти понашају као колоидна тела. То не значи да они не дијализују ни мало, већ да се у томе погледу јасно разликују од кристалоида по брзини којом дијализују. Ако ставимо у једну кесу од колодијума неку ферментску течност, на пр: панкреасни сок или сок *Helix-a*, па је дијализујемо наспрам дистиловане воде, тада констатујемо да је ферменат после краткога времена већ прошао кроз дуваре од колодијума и да се налази у дистилованој води. Електролити који попраћају ферменте дијализују много брже од њих, тако да се ови могу на тај начин потпуно ослободити од електролита. Стога се дијализа употребљује као средство за одвајање фермената од соли које их попраћају, што је од особите важности у изучавању ко-фермената. На основу факта да разни ферменти не дијализују истом брзином, дијализа је средство за одвајање фермената једних од других. Тако, када се панкреасни сок дуго дијализује он се потпуно ослободи малтазе док садржи још амилазу; Schaeffer и Terroine² помоћу дијализе

¹ Bierry, V. Henri et Schaeffer C. R. Soc. Biol. p. 226 (1907).

² Schaeffer et Terroine. Journal de Physiologie (1910).

издвојили су трипсин од ерепсина у панкреасноме соку. Служећи се дијализом издвојио сам из сока *Helix*-а амилазу и малтазу од лактазе и рафино-левулазе.

Кад год се изучава утицај каквога тела или агенса на ферменте, требало би најпре дијализовати ферментске течности те их тако ослободити кристалоида да се на тај начин избегну секундарне акције које могу да врше тела и агенси који се изучавају, посредовањем тих кристалоида. Видели смо приликом електричног преноса фермената зашто је претходна дијализа ферментских течности потребна.

VII. Филтровање фермената

Филтровање ферментских течности кроз порозна тела врши се често у циљу њиховог стерилизовања. При изучавању ферментских акција, прва је погодба да би се избегли лажни резултати, да се оне врше у асептичној средини; јер иначе може се десити да се припишу ферментима акције које у ствари производе микроорганизми. Извесни се природни ферментски сокови могу да добију непосредно асептични. То је случај са панкреасним соком, цревним садржајем фетуса, (меконијум), који су у нормалним приликама стерилни, те се са извесном пажљивошћу могу такви да добију и очувају и изван организма. Али у већини других случајева, ферментске течности нису асептичне и махом су врло повољне средине за развиће микроорганизама, нарочито на температури на којој се обично изучавају ферментске акције. Топлота, најбоље средство за стерилизовање, не може се применити на ферментске течности из узрока што се ферменти потпуно разоравају на температури која је потребна за стерилизовање. Филтровање кроз порозна тела јесте за сада једино средство које имамо за стерилизовање ферментских течности.¹ За филтровање фермената употребљују се разне „свеће“ од порцелана које се употребљују и за филтровање воде, као што су свеће Berkfeld и Chamberland.

Филтровање фермената може се затим употребити, као год и дијализа, за одвајање фермената једних од других.

Разне погодбе утичу на филтровање фермената, а нарочито реакција средине. Са тог је гледишта у последње доба М. Holderer² изучио филтровање разних фермената кроз свећу Chamberland F. Његови се резултати у главном свде на следеће: када је течност неутрална према фенолфталеини, већина фермената пролази кроз свећу; када

¹ Према ономе што знамо о утицају ултра-љубичастих зракова на ферменте и микроорганизме, изгледа да би се они могли с успехом употребити за стерилизовање ферментских течности. Ти зраци разоравају врло енергично микроорганизме, док у истим погодбама утичу врло споро на ферменте.

² М. Holderer. Recherches sur la filtration des diastases. Thèse doct. Sciences. Paris 1911.

је пак ферментска течност неутрална према метил-оранжу, ферменти су готово потпуно задржани од истог филтра. Између те две реакције ферменти филтрују у разним размерама. Holderer је то констатовао за следеће ферменте: инвертин, емулсин, целазу и малтазу *Aspergillus*-а; за амилазу, декстриназу, пероксидазу из малта, пепсин, трипсин и каталазу. Дакле, слабо алкална реакција најпогоднија је за филтровање фермената. Пошто се екстракција ендоцелуларних фермената помоћу мацерација своди у ствари на филтровање кроз ћелијине дуваре, то је Holderer изучио како се врши та екстракција у срединама разних реакција. Инвертин *Aspergillus*-а много брже ступа у слабо алкалну средину (неутралну на фенолфталеини) него ли у киселу или неутралну на метил-оранжу. То је исто констатовао и Colin¹ за инвертин *Botrytis cinerea*. Дакле, ти се податци могу употребити у пракцици за екстракцију ендоцелуларних фермената.

На кој начин реакција средине утиче на филтровање фермената? Пре свега, ферменти као и микроби нису задржани од порозних филтара као што су зрна задржана на решету, јер су поре много веће од микроба тако да ови могу, као што вели Duclaux, проћи кроз њих као што вагон пролази кроз тунел. А пошто су колоидни делићи који вероватно представљају субстратум фермената, сличних димензија као и микроби, то ни они нису задржани због својих димензија, већ због афинитета који дувари пора имају за њих. Тај афинитет може се упоредити с афинитетом који имају извесна тела према бојама. Узрок промене филтровања фермената под утицајем промене реакције средине, треба тражити у промени тог афинитета између порознога тела и фермената. Holderer даје један факат који слажно подупире овај начин схватања: када се кроз једну свећу Chamberland F. најпре профильтрује раствор беланчевине јајета, тада се констатује да та свећа не задржава више ферменте па *ма каква била реакција средине*. Међутим, беланчевина је вероватно смањила димензије пора обложивши њихове дуваре, али је у исто време тиме спречен непосредни додир фермената са тим дуварима који их на тај начин не могу више да *адсорбују*. „Беланчевинасте свеће“ могу се употребити у пракцици када је потребно филтровати ферменте у киселој средини.

Све ово што претходи односи се на ферменте који су растворени; у случају када су ферменти непотпуно растворени, разумљиво је да их филтар не пропушта и због димензија делића који их представљају.

VIII. Ферменти и стереохемијска грађа.

Од знаменитих огледа Pasteur-а зна се да се оптични изомери једнога тела не понашају подједнако према живој материји. Тако, ми-

¹ Colin. Hydrolyse de quelques polysaccharides par le *Botrytis cinerea*. Paris 1911.

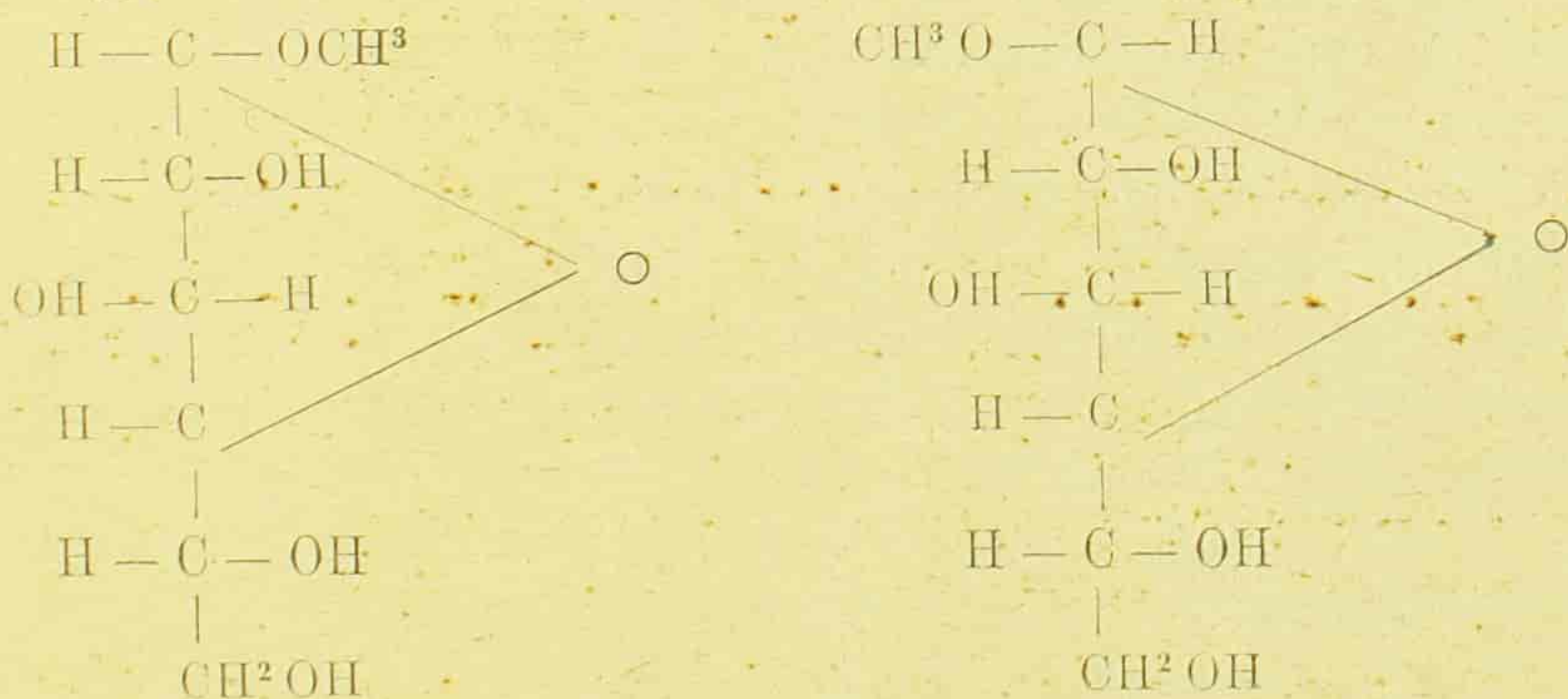
кроорганизми често разоравају само једно од два оптична изомера који се налазе у синтетичним рацематима, и то онај који се налази у природи. Код виших створова оптични изомери понашају се такође неједнако у организму; на пример, l-маноза убачена у вену једнога зеца прелази брже и потпуније у мокраћу него ли d-маноза. E. Fischer је показао многобројним примерима да се и ферменти различно понашају према оптичним изомерима. Ферменти су осетљиви према стереохемијској грађи молекула; о томе има довољно јасних доказа. Како објаснити друкчије тај факат до предпоставком да и ферменат мора имати стереохемијску грађу, и да ферменат може утицати на једно тело само ако постоји извесан однос између грађе једнога и другога, као год што, по поређењу Fischer-а, један кључ може да отвара браву ако је његов облик у извесном односу са унутрашњим обликом механизма који покреће. Докле нам је стереохемијска конфигурација тела на која утичу ферменти махом позната, дотле нам је конфигурација фермената најпотпуније непозната. С тога та факта која утврђују да постоји извесан однос између фермената и конфигурације тела на која утичу, нису ништа допринела познавању механизма ферментских акција, јер се тај однос није могао да одреди из простог разлога што је један од његових двају фактора потпуно непознат.

Пре него што изнесемо данас већ класичне примере зависности ферментских акција од оптичне конфигурације, да напоменемо нешто о изомерији. Тела, као што су угљени хидрати, која имају више асиметричних угљеникових атома, могу имати две врсте изомера. Најпре, свако од тих тела има своју оптичну антиподу т. ј. изомерно тело које има исту стереохемијску грађу с том разликом што је ова: *слика у огледалу* стереохемијске грађе изомернога тела. Такви се изомери називају *енанциоморфни изомери*. Такви изомери имају исте особине физичне и хемијске; исту растворљивост, исту густину, дају исте реакције и т. д. само што је њихова оптична моћ једнака али *супротна правца*. Докле један од та два изомера скреће поларизовану светлост на десно дотле је други скреће на лево за исту апсолутну вредност. Поред те особине која их разликује једно од другог треба додати и начин на који се понашају према ферментима: *један се ферменат не понаша на исти начин према енанциоморфним изомерима*. На пример зимаза не превире l-гликозу, l-манозу и l-фруктозу а превире d-гликозу, d-манозу и d-фруктозу.

Поред енанциоморфне изомерије, постоји и *стереохемијска изомерија*. Два стереохемијска изомера имају исте хемијске функције на исти начин поређане и према томе истоветну хемијску формулу у једној равни. Али пројекције њихових формула развијених у простору нису више симетричне једна према другој, или другим речима, један изомер не одговара слици другога у огледалу. Стереохемијски изомери не раз-

ликују се један од другог само по својој оптичној моћи према поларизованој светлости већ и по својим хемијским и физичним особинама. Тим пре се неједнако понашају и према ферментима. Али за стереохемијске изомере треба напоменути да се њихово неједнако понашање према ферментима не може приписати *једино* разлици у њиховој стереохемијској грађи, — као што то бива за енанциоморфне изомере, — већ и њиховим неједнаким физичним и хемијским особинама.

Да видимо како се понашају према ферментима синтетични гликозиди. После покушаја Schützenberger-а и Schiff-а на синтези гликозида, Em. Fischer¹ је пронашао једну методу помоћу које се могу шећери јединити с алкохолима, кетонима, меркаптанима, полифенолима и т. д. Принцип је те методе у овоме: оставе се подуже у додиру оба тела која треба да се сједине, у раствору засићеном гасовитом хлороводоничном киселином, или се раствор загреје у присуству врло разблажене хлороводоничне киселине.² На тај начин добивени гликозиди имају главне особине природних гликозида: не редукују Фелингову течност и не једине се фенилхидрацином, што значи да је алдехидна или кетонска функција шећера прикривена при прелазу у гликозидно јединење. Ти се гликозиди разликују од ацетала јер су ови производат јединења једног молекула шећера са два молекула алкохола, докле вештачки гликозиди садрже по један молекул тих компонената. Према томе Fischer³ приписује синтетичним гликозидима, који произлазе од алкохола и фенола, састав у коме је један алкохолан или фенолан остатак везан за шећер помоћу његове алдехидске функције. Последица је тога да угљеник те алдехидске функције постаје асиметричан и да према томе јединења те врсте могу постојати у два стереоизомерна облика. Тако би метил-*d*-гликозид имао два изомерна облика:



¹ Em. Fischer. Über die Glucoside der Alkohole. Ber. d. d. chem. Gesell. 29. стр. 2400 (1893).

² Fischer. Über die Verbindungen der Zucker.... Ber. d. d. chem. Gesell. 28. стр. 2145. (1895).

³ id. Synthesen in der Zuckergruppe. Ber. d. d. chem. Gesell. 27. стр. 3189 (1894).

И заиста та су два облика метил-гликозида позната и називају се: α -метил-d-гликозид и β -метил-d-гликозид. И други слични гликозиди постоје у облику α и β и за више њих оба су облика изолована.

Облици α и β једнога гликозида нису енанциоморфни изомери и с тога немају исте особине: растворљивост, тачку топљења и њихова оптична моћ није иста са супротним алгебарским знацима. Нас овде интересује како се они понашају према ферментима. Fischer је утврдио да има фермената који су активни само према једноме од два изомера истога гликозида. То је најјаснији доказ како су ферменти осетљиви према стереохемијској конфигурацији тела на која утичу. Тако, екстракт бадема хидролизује само β -гликозиде а не додирује α -гликозиде, док екстракт кваса на против хидролизује α -гликозиде а не β -гликозиде. Дакле, коначно је утврђено да један ферменат може бити активан само према једноме од два изомерна гликозида. Сада, који су то ферменти који су у именованим екстрактима активни на гликозиде, то је друго и у исто време споредније питање. Вероватно је да екстракт бадема утиче на β -гликозиде *емулсином*, ферментом који хидролизује и многобројне природне гликозиде, док по свој прилици екстракт кваса утиче својом малтазом¹ а не инвертином као што је Fischer раније мислио. Екстракт бадема не хидролизује све β -гликозиде већ само оне који деривују од d-гликозе, d-лактозе и d-фруктозе. Напоменимо најзад да екстракт кваса не хидролизује увек α дериват оних гликозида чији дериват β хидролизује емулсин бадема: тако су β -галактозиди хидролизоване од емулсина, док екстракт кваса нема утицаја на α -галактозиде. Утицај панкреаснога сока на полипептиде такође је јасан пример утицаја конфигурације на активност фермената.

Када панкреасни сок утиче на рацемичне полипептиде тада се њихов утицај ограничава само на један од изомера који их састављају. То је случај за рацемичне полипептиде: аланил-глицин, аланил-аланин, ананил-леуцин, леуцин-изоцерин, ананил-глицил-глицин, леуцил-глицил-глицин, глицил-леуцил-аланин, и аланил-леуцил-глицин.

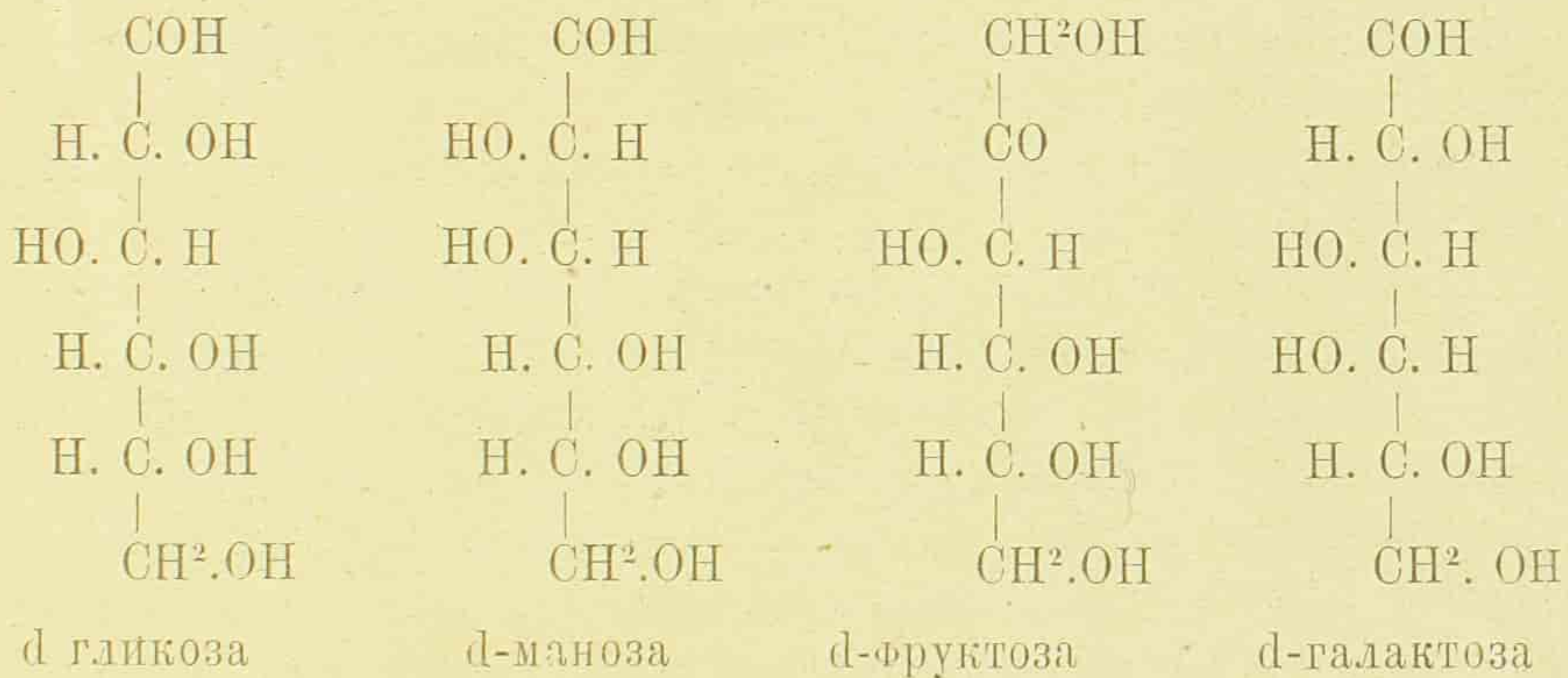
Зимаза, ферменат који производи алкохолно врење, такође је осетљива према стереохемијској грађи угљених хидрата. Од многобројних изомерних хексоза она превире само d-гликозу, d-галактозу, d-фруктозу и d-манозу. Међутим превире триозу: диоксиацетон (Jensen²) и угљени хидрат са 9 угљеника: манонозу, али је без утицаја на изомерно тело гликонозу. Агенс који производи алкохолно врење осетљивији је дакле према детаљима стереохемијске грађе него ли према целокупноме саставу. Fischer³ примећује да d-гликоза, d-маноза и d-

¹ Fischer. Ber. d. d. chem. Gesell. 27. стр. 3479 (1894).

² Jensen. Ber. bot. Ges. 26a, стр. 666 (1908).

³ Fischer. Ber. d. d. chem. Gesell. 26. стр. 60 (1898).

Фруктоза имају врло сличну стереохемијску грађу; у исто време те три хегзоze превиру врло лако, док галактоза, која има доста различну грађу од њихове, превире тешко, а неке врсте квасова и не могу да изазову њено превирање. Из следећих развијених формула тих хегзоza види се да фруктоза има иста три асиметрична угљеникова атома у истоме реду као год и гликоза и маноза, докле код галактозе други асиметрични угљеник има свој хидроксил на супротној страни.



IX. Специфичност фермената.

Када се констатује да једна ферментска течност може вршити више ферментских акција, питање се намеће да ли све те акције припадају једноме јединоме ферменту или су пак подељене међу више фермената на један извесан начин. У томе се састоји већа или мања специфичност фермената. Један ферменат који је кадар да утиче на једно једино тело јесте строго специфичан ферменат. Уколико један ферменат простире своју акцију на више тела, утолико је његова специфичност мање строга. Због тога се вели за минералне киселине, које су кадре да хидролизују безброј тела, да су то катализатори који нису специфични, док су ферменти сви више или мање специфични.

Питање специфичности фермената састоји се у ствари у односу између ферментских акција и фермената као тела; али пошто су нам ова последња непозната, то је схватљиво да решење тога питања не може да се изврши непосредним путем.

Тачно познавање ступња специфичности фермената од велика је значаја. Јер, ако знамо да тај и тај ферменат утиче на та и та тела, тада у познавању хемијскога састава тих тела, у њиховој стереохемијској грађи, у начину како се понашају према поларизованој светлости и у опште у свима особинама тих тела, имамо података за познавање закона који владају специфичношћу. Када бисмо знали да изолујемо чисте ферменте, тада би лако било одредити ступањ њихове специфич-

ности; у исто доба њихов хемијски састав јамачно би бацио светлости на узрок те специфичности, те бисмо схватили зашто ферменат утиче само на извесно тело као што кључ отвара једну браву, по изразу Fischer-а. Пошто се специфичност фермената не може одредити непосредним путем, то се она одређује заобилазним путем помоћу разних метода које немају апсолутне вредности и које подлежу критици. Шта више, употребом тих разних метода не долази се увек до истих закључака а неки пут се долази и до супротних закључака. С тога треба имати на уму да специфичност фермената како је данас утврђена не почива на чврстој основи.

Промотрићемо разне методе помоћу којих се одређује специфичност фермената.

I Метода раздвајања. Непосредан би доказ био да две ферментске акције једне ферментске течности припадају различним ферментима, када би се из те течности могла издвојити два тела од којих би свако имало по једну од двеју ферментски акција. То је раздвајање фермената остало до данас неостварено и то из више узрока. Пре свега, ферменти су веома осетљиви према хемијским и физичним агенсима који их у већини случајева разоравају. Затим, ако додамо да су ферменти колоидне природе, да према томе не кристализују, да се налазе у малим количинама према осталим телима која их попраћају и да нам је њихова хемијска природа непозната, тада ће бити јасно да је издвајање фермената далеко тежи проблем од издвајања ретких земаља и радиоактивних тела.

Многобројна су средства употребљавана у циљу раздвајања фермената једних од других, као што су фракционо таложење, дифузија, повлачење фермената разним талозима, абсорбујућа моћ неких тела, дијализа и т. д. Та је разна средства употребио К. Glaessner¹ у циљу одвајања пепсина од лаба, без стварних резултата. Ни у коме случају не могу се јасно одвојити две ферментске акције једна од друге. Или се једна од њих уништава или се опет налазе обе заједно али у другим размерама. Пошто је немогућно одвојити ферментске акције једне од других, тражи се доказа о њиховој независности у промени размера њихових интензитета под разним утицајима. На пример, филтровањем ферментских течности кроз порозна тела може се констатовати да је нека ферментска акција јача или слабија према једној другој ферментској акцији у профилираној течности, него ли што је била у тој течности пре филтровања. У том се случају закључује да те две ферментске акције треба приписати различним ферментима. На тај су начин Bertrand и Holderer утврдили да хидролиза целозе и амигдалина не припада истом ферменту. Поред филтровања могу се у истој

¹ К. Glaessner. Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie, I. (1902.)

циљу употребити и друга средства, хемијска или физична. Закључци којима води та метода немају велике вредности, јер знајући како су ферментске акције осетљиве према промени средине, промене произведене филтровањем на ферментске акције могу се приписати промени средине, која би неједнако утицала на две ферментске акције једног истог фермента.

II Метода делимичнога разоравања. Док се у првој методи тражи да се ферментске акције очувају одвојене једне од других, дотле се у овој методи тражи да се једна ферментска функција потпуно уништи а да друга остане више или мање активна. То је метода која је прва и употребљавана за одређивање специфичности фермената. Обично се употребљује топлота за применивање те методе. Покушава се да ли је могућно, загревањем ферментске течности на извесној температури, уништити једну ферментску акцију а да друга преостане. Ако се успе у томе, закључује се да два различна фермента проузрокују те две ферментске акције. Поред топлоте могу се употребити и други физични или хемијски агенси. Тако је на пр. Врасћип нашао да сирћетна киселина у извесној дози спречава потпуно утицај екстракта горког бадема на млечни шећер али не спречава његов утицај на амигдалин.

Вредност принципа ове методе није неоспорљива. Јер је могућно замислити да под извесним утицајем један ферменат изгуби своју ферментску моћ према једноме телу а не према другоме. Затим, може се десити да се два фермента разоравају под утицајем истих погодаба, на пример под утицајем исте температуре. Најпосле и у примени те методе најлази се на тешкоће, јер се у многим случајевима дешава да она температура која уништава једну ферментску акцију ослабљава у толикој мери другу да се ова једва манифестује, тако да није могућно дати какав закључак, нарочито у случајевима када наше мере ферментске акције нису јако осетљиве. Тако се, на пример, акција лактазе може констатовати тек пошто је тај ферменат хидролизовао око 20% млечног шећера у 3% раствору, докле се акција емулсина на амигдалин може да констатује у самом почетку. И дијализа може да послужи у примењивању ове методе, јер смо видели да из сока који дијализује могу да ишчезну неке ферментске акције док друге преостају.

III Метода шоређења. Ова метода почива на следећем принципу. Да би се решило да ли две ферментске акције једне исте ферментске средине припадају једноме или двома ферментима, тражи се да ли је могућно наићи на једну ферментску средину која би поседовала само једну од двеју ферментских акција у питању. Ако се нађе таква ферментска средина, закључује се да су оне две ферментске акције прве течности произведене двома ферментима.

Узмимо један пример: Em. Fischer је констатовао да екстракт горкога бадема, емулсин, има особину да хидролизује и млечни шећер поред многобројних гликозида. Fischer приписије ту акцију на млечни шећер истоме ферменту који хидролизује и гликозиде, т. ј. емулсину. Међутим Bourquelot је приписује другоме ферменту, лактази, који је различан од емулсина; и то полођу ове *методе поређења*, јер је констатовао да се могу наћи ферментске средине које утичу било само на лактозу а не на гликозиде, било обратно. Тако, кефир хидролизује лактозу али не хидролизује гликозиде, докле ферментска течност *Aspergillus*-а хидролизује гликозиде али је без утицаја на лактозу. Не примењујући ову методу, Fischer долази до других закључака, узимајући да постоје *разне врсте фермената истог рода*, које су на разним ступњевима специфичне. Тако би емулсин *Aspergillus*-а био специфичнији од емулсина горкога бадема који поред гликозида хидролизује и лактозу. Тако исто по Fischer-у постоји више врста малтазе које утичу било само на малтозу било још и на α -метилгликозид и на мелибиозу (малтаза кваса, малтаза крви и т. д.)

Дакле, ова се метода поређења не мора употребљавати пошто се истим фактима која она употребљава може дати и друго објашњење које води ка супротним закључцима. Fischer претпоставља свој начин схватања с тога што мисли да се методом поређења долази до таквог мноштва специфичних фермената које изгледа невероватно. „Тада би требало, вели Fischer, претпоставити да у емулсину, који хидролизује: β -метил-гликозид, β -метил-галактозид, лактозу и амигдалин, постоје најмање 4 фермента, и да квасад, под чијим утицајем превире: d-маноза, d-гликоза, d-левулоза и d-галактоза садржи 4 зимазе“. Данас пак, треба рећи да се нико не устеже да прими да створови прости организације као што су квасови и *Aspergillus* садрже велики број специфичних фермената.

У кратко рећи, ова метода поређења има добру страну што се може лако и сигурно примењивати, али као што рекосмо њен је принцип оспорљиве вредности, пошто се може другим тумачењем истих факата којима се она служи доћи до противних закључака. Избор између та два начина тумачења произвољан је, што одузима сваку апсолутну вредност методи поређења.

IV Метода брзине реакцијџа. Принципи на коме почива ова метода од стварне је вредности, јер овом се методом не покушава материјално оделивање фермената једних од других, — ствар до сада немогућна, — већ се квантитативним одређивањем утврђује да ли су ферментске акције динамички зависне или не једна од друге. Ову су методу изумели Larguier des Bancels и Victor Henri¹. Ево у чему се састоји: фер-

¹ Henri et Larguier des Bancels. Journ. de Physiol et Pathol. 6. стр. 261 (1904).

ментска се течност, која врши две ферментске акције чија се специфичност хоће да одреди, стави у додир у истој количини и у истим погодбама температуре и концентрације: 1. са једним од два тела на која утиче ферментска течност; 2. са другим телом; 3. са мешавином та два тела. И тада се упоредно посматра којом се брзином врши реакција у та три случаја. Ако се констатује да се у 3. реакција на оба тела врши истом брзином као када су та тела сама у 1. и 2., тада се закључује да су те две ферментске акције независне једна од друге и да се имају приписати двома ферментима. Јер би иначе било несхватљиво да један ферменат употребљен у истој количини може у 3. да изврши акцију једнаку са збиром акција у 1. и 2. Када се пак констатује да је се ферментска акција у 3 победила међу оба тела, тако да је реакција слабија за мешавину оба тела него ли за та тела усамљена, тада се закључује да те две ферментске акције врши један једини ферменат.

Када се помоћу ове методе добију резултати који говоре у смислу два фермента, мислимо да се методи нема шта пребацити јер се помоћу ње констатује да су те две ферментске акције динамички независне. А пошто се у ствари под именом фермената схвата њихова динамична моћ, то је јасно да ова метода даје непосредне закључке. Али у случају факата који говоре у прилог продукције двеју ферментских акција од стране једног фермента, ова метода нема исту вредност као у претходном случају. Јер се увек може учинити примедба да је у 3 (мешавина оба тела) ферментска акција слабија него ли у 1 и 2 не с тога што се ферменат дели међу два тела, већ што једно тело може својим присуством да спречава реакцију другога, што заиста врло често бива. С техничке стране налази се често на једну препреку при примењивању ове методе: често се има посла са таква два тела на која ферментска течност утиче са врло различном брзином, тако да је једно готово потпуно хидролизовано док је друго тек почело да се хидролизује. У овоме се случају не може ништа поуздано закључити.

Из овога прегледа метода којим располажемо за одређивање степена специфичности фермената, може се видети да то одређивање у већини случајева није поуздано и од неоспорљиве вредности. Можда је и то узрок што се у последње доба појавила тенденција ка све већој специфичности фермената и према томе и ка повећању броја фермената, јер методе помоћу којих се ово утврђује, као што смо видели, пре воде ка таквим резултатима у својој непоузданости него ли ка супротним.

Х. Еволуција ферментске функције.

Као што се праћењем једне физиолошке функције или једног органа кроз веће или мањи део серије живих створова може добити

појам о еволуцији те функције или тог органа, може ли се на исти начин из посматрања „*ферментске функције*“ у низу животињске и биљне серије извући извесан одређен појам о привидној еволуцији те функције, т. ј. о односу између те функције и ступња на коме се налази створ.

Да би овакав покушај био остварљив требало би да нам је ферментска функција добро позната, бар у својим главним цртама, у целој животињској, односно биљној серији, почевши од најнижих па до највиших представника. Тако се еволуција физиолошких функција и морфолошких особина могла утврдити тек пошто су упоредна физиологија и упоредна анатомија дале плод својих истраживања. Међутим то за ферментску функцију није случај. Она је упоредној физиологији недовољно позната, често и с тога што су нам многе ферментске акције недовољно познате па да би их упоредна физиологија могла с успехом прихватити. За сада, дакле, не може бити говора о једном покушају еволуције ферментске функције узете као целина. Међу ферментима најбоље су нам познати ферменти угљених хидрата и гликозида, нарочито с тога што су тела на која утичу хемијски махом добро позната; затим, ти су ферменти и у упоредној физиологији били много више предмет изучавања него ли остали ферменти. Стога ћемо наше неколике примедбе које се односе на тај покушај еволуције фермената ограничити на ферменте угљених хидрата и њихових деривата.

У изучавању фермената угљених хидрата код *виших створова*, животиња и биља, један факат пада одмах у очи: код тих створова ферменти угљених хидрата врло су малобројни. Отуда последица да од многобројних угљених хидрата који се налазе у природи, више животиње могу само један врло ограничен број да употребе као алиментат. Тако, човек и пас могу да варе само следеће угљене хидрате: штирак, гликоген, млечни шећер, сахарозу и трехалозу. Остале многобројне угљене хидрате, више животиње не могу да варе јер немају ферменте тих тела. Иста немаштина фермената налази се и код виших травоједа за које многобројни угљени хидрати немају алиментарне вредности. Ту спадају најраспрострањенији угљени хидрати: целулозе, пак манане и галактане, које састављају резервну храну многих биљних зрна; најзад многи више или мање распрострањени угљени хидрати као што су рафиноза, стахиоза, генцијаноза, маниотриоза и т. д.

У виших биљака ферменти се нарочито налазе у семени у коме се поред тела која сачињавају хранљиву резерву налазе и ферменти тих тела. Код њих су такође малобројни ферменти који се налазе код једне биљне врсте. Често се поред резервне материје налази њен ферменат и то је све. Поред штирка налазимо амилазу, поред маногалактана семиназу, поред инулина инулазу и т. д. Пошто код виших биљака једна биљна врста садржи махом своју угљенохидратску ре-

зерву у једном облику, то су и ферменти угљених хидрата код њих у јако ограниченом броју у свакој биљној врсти.

Укратко рећи, и код виших животиња и код виших биљака, ферменти угљених хидрата малобројни су код једног истог створа. То је правило које не трпи изузетака.

Код нижих пак створова, ствар стоји сасвим друкчије. Код њих пада одмах у очи необично велики број фермената које садржи један створ чија је организација често најпростија. То истраживање фермената код нижих створова, није до сада извршено систематски код довољна броја њихових представника па да би се добивени резултати могли поуздано проширити на све ниже створове у опште. Али до сада стечени резултати у том погледу, код извесна броја нижих биљака и нижих животиња, говоре сви у прилог многобројности фермената угљених хидрата и њихових деривата, код нижих створова уопште.

Од нижих биљака у том су погледу испитивани нарочито квасови и извесне гљиве. Код квасова су нађени многобројни ферменти угљених хидрата; али су још многобројнији код *Aspergillus niger-a*, гљиве која се развија редовно на многим предметима остављеним у влази. *Aspergillus* гајен на Raulin-овој течности развија се врло брзо, тако да после неколико дана површина течности ишчезава под кором састављеном од мицелијума *Aspergillus-a*. Ако се тада исцрпи Raulin-ова течност и замени дистилованом водом, многобројни ферменти пређу из гљиве у течну подлогу. Ту су течност Bourquelot и Herissey назвали *ферментском течношћу Aspergillus-a*, за коју можемо рећи да садржи без мало све познате ферменте угљених хидрата. А нема сумње да садржи још и непознате ферменте. Слични су резултати добивени и са другим гљивама: *Botrytis cinerea*, *Penicillium glaucum* и т. д.

Факта констатована код разних нижих животиња у погледу броја фермената које садрже, говоре такође у прилог многобројности фермената угљених хидрата, код тих створова. Та су факта констатована код инсеката, крустаца, мекушаца. Један мекушац, *Helix pomatia*, обични виноградски пуж, био је нарочито предмет истраживања фермената угљених хидрата и њихових деривата. Код тог мекушца нађени су, са неким врло ретким изузецима, сви до сада познати ферменти угљених хидрата и чак неколико нових фермената.

Из овога што претходи закључујемо: док су код виших створова ферменти угљених хидрата у необично скучену броју, тако да из тог узрока многи распрострањени угљени хидрати не могу им послужити као алимент, дотле су код нижих створова ти ферменти толико многобројни да физиолошка потреба многих није јасна. На пр. не видимо коју улогу може да игра лактаза, фермент млечног шећера,

код морских ракова и мекушаца, пошто је тај угљени хидрат, изгледа, готово искључиво локализован у млеку.

Обратимо овом приликом пажњу на несразмерност која постоји између морфолошке сложености и ступња на коме се налази ферментска функција код разних створова. *Aspergillus* који производи толико фермената, необично је прости грађе. Пре него што та гљива да споре, она се састоји из неколико истоветних ћелија нанизаних једна за другом. То је сав апарат *Aspergillus*-а који даје многобројне ферменте. Квасови, једноћелијски створови, представљају минимум морфолошке сложености. Код виших животиња пак, за производњу малог броја фермената служе сложени органи, жлезде.

Ослањајући се на изложена факта, можемо схватити на следећи начин еволуцију угљено-хидратске ферментске функције у живих створова.

У нижих створова налази се више фермената него ли у виших. Еволуција је дакле назадна, ретроградна, и иде од сложенијега ка простијему. Навешћемо неколико ствари које, мислимо, стоје у вези са тим правцем еволуције ферментске функције. У виших биљака са хлорофилом, ферменти угљених хидрата имају једну тако рећи искључиво унутрашњу улогу, која се састоји у хидролизису угљених хидрата које садржи та биљка; пошто су ти угљени хидрати малобројни код једне биљне врсте, схватљиво је да је ферментска функција сведена само на ферменте присутних угљених хидрата. Пошто се хлорофилне биљке могу да задовоље узимајући из спољашне средине само минералну храну, то је спољашња улога фермената код њих сведена на нулу. За доба клијања, када је млада биљчица без хлорофила, исхрана се врши на рачун резерва које се налазе у семени и које су увек исте за исту биљну врсту. За то кратко доба, млада се биљчица понаша као паразит албумена или котиледона, али је тај паразитизам увек исти за исту биљну врсту. За ниже пак биљке без хлорофила, које живе сапрофитски или паразитски, хемијска органска подлога на којој се развијају, различна је према случају који је довео клицу, спору, на ово или оно органско тело. Уколико та биљка садржи више фермената, уколико ће више тела моћи да јој послуже за подлогу на којој се може развијати. Потреба, или бар корист многобројних фермената јасна је у овоме случају. Створови без хлорофила, прилагођени на извесну одређену средину, као што је случај са многим микроорганизмима који се развијају у организму других створова немају потребу многобројних фермената као год и хлорофилне биљке; и заиста изгледа да је код њих ферментска функција знатно скучена, када се упореди са том функцијом нижих биљака које се могу развијати на врло различним срединама.

Код виших животиња које имају моћ да пробиру храну, ферментска угљено-хидратска функција своди се на неколико фермената

угљених хидрата који пружају највећу физиолошку брзу употребљивост. Али треба приметити да и већина нижих животиња имају моћ пробирања алимента, а ипак оне имају јако развијену ферментску функцију. Тај факат стоји вероватно у вези с тим што се спорија активност мишића хладнокрвних животиња може да задовољи и угљеним хидратима који, услед теже сварљивости, спорије постају употребљиви од мишићне ћелије.

Ова ретроградна еволуција ферментске функције изгледа у супротности са еволуцијом већине осталих функција које постају све сложеније. Али у ствари оне воде ка истој последици, која је: већа зависност створа од извесних погодаба и у исто доба његова већа савршеност. Као год што је у виших животиња које су постале хомеотермне, стална температура тела постала једна погодба *sine qua non* за манифестацију живота, тако и у случају еволуције ферментске функције којом смо се позабавили, угљено-хидратски алименат постаје јако ограничен и тиме створ постаје зависнији од њега, али и физиолошки савршенији, јер пробраним алиментом уздиже се на виши ступањ физиолошка функција којој служи.

ХI. Ферментско прилагођавање (адаптација)

Ово питање стоји у вези са претходним о еволуцији ферментске функције, јер је јасно да на ову мора утицати ферментско прилагођавање. Несумњиво је да су се створови ферментски прилагодили на алименат који је у њиховом домаћају, јер је то за њих једна животна погодба, једна погодба постанка. Питање је само да ли се створови могу *за краће време* прилагодити ферментски на једно хемијско тело, тако да то прилагођавање падне у експериментални делокруг, на супрот филогенијској адаптацији.

Рекли смо да извесне гљиве луче многобројне ферменте. Да ли то лучење зависи у неколико од средине или не? Лучи ли тај организам увек све многобројне ферменте и онда када ће према хемијском саставу средине многи остати без улоге? На ова питања одговарају неколико факата. Duclaux је констатовао ово: када се *Aspergillus*-у да таква средина да за његову исхрану није потребан ни један ферменат, — тада он не лучи ни лаб-ферменат, ни казеазу, ни инвертин, већ само амилазу. Ако се пак *Aspergillus glaucus* развија на раствору сахарозе, тада лучи инвертин али не лучи амилазу. Развијајући се на млеку *Aspergillus* лучи лаб-ферменат и казеазу. Друга гљива, *Penicillium glaucum*, на калцијум-лактату лучи само инвертин, на сахарози лучи инвертин али не лучи ни лаб-ферменат ни казеазу; на глицерину, *Penicillium* лучи опет инвертин али и амилазу. „Укратко речено, вели Duclaux, код ове две микроскопске гљиве, производња фермената у вези је са начином исхране“. То не значи да гљива лучи

само оне ферменте који према подлози на којој се ова развија могу да играју своју улогу, већ да лучење фермената није истоветно кад су подлоге различне. Треба и ово напоменути да су у овим огледима тражени ферменти које гљива *лучи* а не они које *продукује*, јер је могућно да промена средине утиче само на лучење а не на продукцију.

Гљива *Aspergillus niger*, изгледа да не држи рачуна о саставу подлоге, у погледу лучења фермената. Она лучи многобројне ферменте на Raulin-овој течности која садржи само један угљени хидрат, сахарозу. Али када се овој течности дода танина, тада *Aspergillus niger* лучи ферменат *таназу* којег она не лучи на нормалној Raulin-овој течности. У цревном соку, *Helix pomatia* нашао сам увек исте ферменте чак и онда када су животиње за време зиме постиле по неколико месеца.

Питање адаптације ферментске функције може се поставити код животиња на један начин који је непосредно приступачан огледима. То је питање: може ли се код једне животиње проузроковати појављивање једног фермента који она дотле није имала, *додајући храните животиње оно тело чији се ферменат жели да произведе*. На пример, данас је коначно утврђено да се код тица не налази ферменат млечног шећера, *лактаза*; може ли се, дајући тицама у храни млечни шећер, проузроковати појављивање тог фермента у соковима или ма где у органима и ткивима? Ово интересантно питање производње нових фермената код животиња под утицајем разних тела, није још решено ни у једном ни у другоме смислу и ако се више истраживача позабавило тим питањем. Portier и Bierry,¹ покушали су проузроковати појављивање *инулазе* код зеца и пса хранећи ове кртолама *Helianthus tuberosus-a* које садрже много инулина. Исте је огледе извршио Richaud² код вола, пса и патке. Резултати су у свим случајевима били негативни: инулаза није нигде нађена у организму.

Покушаје производње лактазе код животиња које не садрже тај ферменат, помоћу лактозе, извршили су Portier и Bierry хранећи патке млеком помешаним другом обичном храном. У једном случају ови су истраживачи нашли лактазу у цревној слузокожи код једне патке која је била подвргнута овоме режиму. Али у другим случајевима резултати су били увек негативни. Негативни су тако исто резултати по истоме предмету, које је добио Aders Plimmer.³ У најновије доба вршећи огледе код пилића, Pietro Sisto⁴ је дошао до позитивних резултата. Подвргавајући пилиће млечној храни одмах пошто су се излегли, лактаза се не налази у цреву после двадесет и два дана али се по-

¹ Portier et Bierry. C. R. Soc. Biol. 1900.

² Richaud. C. R. Soc. Biol. 1900.

³ Aders Plimmer Journal of Physiology књ. 34.

⁴ Pietro Sisto. Archivio di Fisiologia књ. IV (1909).

јављује после шездесет и три дана и налази се у изобиљу после 90—100 дана. Ако се тада укине млечна храна, лактаза ишчезне у року од 15 дана.

Као што се види из овога што претходи, резултати нису сагласни у свим случајевима. То разилажење резултата бива отуда можда, што животиње нису увек биле доста дуго подвргнуте режиму који треба да изазове ферменат. Дакле, не може се закључити да се ферменти не могу да појаве под утицајем алимента, очекујући да потпунији огледи реше коначно ово интересно питање.

ХИИ. Улога фермената у варењу.

Несумњиво је да ферменти узимају удела у многим физиолошким појавама којима је седиште жива материја. Ферменти, пре свега, играју важне улоге у метаболизму алимента кроз организам, који почиње у апарату за варење. Та прва мена алимента чисто је ферментска појава. Вероватно је да она није најглавнија улога коју играју ферменти у организму, али је сигурно да је она најбоље позната ферментска функција; с тога ћемо се мало даље само на њој задржати. У ткивима и органима распрострањени су разноврсни ферменти: оксидазе, пероксидазе, каталазе, ферменти хидролизе разних угљених хидрата, беланчевина и масти. Нема сумње да они играју извесне улоге у сложеној појави исхране. Тако исто јасно је да ферменти играју у неким случајевима одбранбену улогу; то је случај са фибрин-ферментом који сирећи крв заштићује створ од губитака те течности, и са протеолитичним ферментима белих крвних зрна, која помоћу њих могу да униште микроорганизме које савладају (*фагоцитоза*).

Варење се састоји у хемијским променама алимента, помоћу којих овај постаје кадар да буде употребљен од ткива. Варење је само претходан чин исхране, и ова може у извесним случајевима да бива и без варења. Узмимо један пример: Угљени хидрати могу да служе за исхрану ткива само ако су у облику гликозе, галактозе, фруктозе и манозе. Према томе могу да буду храна само они угљени хидрати који су кадри да се у апарату за варење претворе у именоване хегзоze. У тој хидролизе угљених хидрата састоји се њихово варење. Али ако створ узима као угљено-хидратску храну, непосредно те хегзоze које организам може да употреби, тада варење угљених хидрата не постоји више, пошто су ови кадри у облику у коме су дати да без икакве промене пређу у крв и тада — са или без даљих промена — да послуже као алименат. Значи, да би створ могао, с извесном пажњом на режим исхране, не служити се својим ферментима угљених хидрата¹. Теоријски могло би се то проширити и на масти и на беланчевине. То је

¹ Подразумевамо само ферменте који се налазе дуж апарата за варење.

све последица факта да је варење само предходан чин праве исхране која бива у ткивима. Тај претходни чин могао би се, теоријски говорећи, одиграти изван створа као год и у апарату за варење.

Код виших створова, дуж цеви за варење налази се на ферменте тела која састављају њихов алимент: ферменти беланчевина, масти и угљених хидрата. Храна, ступајући у апарат за варење налази пре свега на лучење саливарних жлезда. Ферментска је улога саливе незнатна. Истина је да мешовита салива, т. ј. мешавина лучења трију пара жлезда, има моћ да хидролизује штирак. Али пошто алименти бораве кратко време у устима и пошто је та амидолитична моћ саливе спречена у желуциу киселином те средине, то салива игра незнатну улогу у варењу. Успело је се да се код пса изврши аблација свих саливарних жлезда и животиња је живела без знатних поремећаја варења. У желуциу алимент налази на пепсин, лаб-фермент и липазу. Ту наступа претварање беланчевина у пептоне док се протеиди разрешавају у беланчевине и простетичне групе. Лаб-фермент и липаза утичу као што знамо једна на млеко друга на масти. Улога је желудачнога сока у варењу несумњива. У обичном се говору цела појава варења обично сматра као локализована у желуциу, што није тачно, јер најважније и најразноврсније ферментске појаве збивају се у самоме цреву. Дванаестопалачно црево са својим соком, ферментима својих дувара и панкреасним соком, то је главно седиште варења које може и само да задовољи потребе организма својим функционисањем. Видели смо да саливарне жлезде не играју знатну улогу у варењу и да ова функција није поремећена код пса када се те жлезде изваде; за желудкац и његов сок не можемо рећи да не играју знатну улогу у варењу, али њихова улога није неопходно потребна ствар. Код мачке и пса успело је се да се желудкац извади из организма и да се једњак састави са дванаестопалачним цревом. Такве животиње живе су више година у потпуну здрављу, храњене уситњеном храном, без поремећаја у исхрани. Није на њима посматрано ни мршављење, ни неупотребљивост хране. једном речју никакви поремећаји који би били у вези са поремећеном функцијом варења. Та могућност укидања желудачних функција разумљива је када се има на уму да панкреасни сок и црево садрже све потребне ферменте за потпуно варење трију врста тела која састављају алимент. Панкреасни сок трипсином и ерепсином деградује беланчевине до стадијума аминокиселина; његова липаза хидролизује масти, а малтаза и амилаза малтозу и штирак. Црево својим соком и ферментима који се налазе у његовој слузокожи, хидролизује сахарозу, трехалозу, млечни шећер. Црево садржи и друге ферменте: ерепсин, нуклеазе, аргиназу, липазу. Када се има на уму да су многи од ових фермената локализовани у самој слузокожи цревној и да се не налазе у цревном соку, тада не треба себи више пред-

ставити цревне дуваре као обичне преграде које пропуштају продукте варења које се извршило у цеви за варење, већ као места где се одигравају важни ферментски процеси и то не само деградације већ, као што доста факата то казују и процеси синтезе.

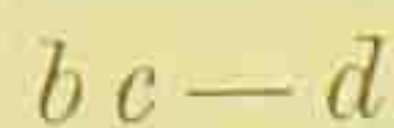
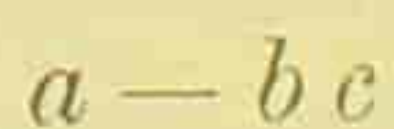
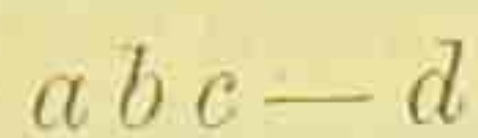
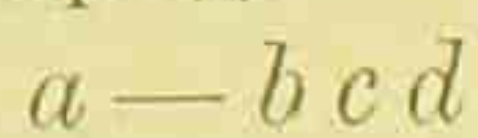
XIII. Покушај рационалне номенклатуре фермената

Први пронађени ферменти добили су имена у вези с каквом појавом која је њиховим проналазачима највише пала у очи и ако није ни мало карактеристична за ферментску акцију. Тако су Rayen и Persoz ферменту који су изоловали из проклијалога јечма, а који претвара штирак у шећер, дали име *диастаза* (од *διαστασις*, одвајање) с тога „што он има знатну моћ да брзо одвоји опну зрна штирка од тела које је унутра предругојачено, т. ј. од декстрине, која се лако раствара у води, док нерастворљиве опне пливају или се таложе, према кретањима течности“. Тако су исто Liebig и Wöhler дали ферменту који су открили у горком бадему име емулсин на основу неких физичних промена течности које немају никакве везе са ферментском акцијом. Од тог доба број познатих фермената растао је из дана у дан и њихов списак није још закључен. Рационална номенклатура у којој име фермента подсећа на неке његове најкарактеристичније особине данас постоји. Пре свега, треба имати на уму да је таква номенклатура могућна само за ферменте за које се тачно зна у чему се састоји њихова акција, т. ј. састав тела на која утичу и промене произведене тим утицајем. Она се дакле не може применити на извесне ферменте за које те две ствари нису одређене. Тај је случај за ферменте који утичу на разноврсне беланчевине које дају многобројне продукте ферментске акције. Отуда имена пепсин, трипсин, ерепсин за ферменте беланчевина, која су пре генерична имена него ли имена појединих фермената. Али у многобројним другим случајевима зна се тачно на шта се своди ферментска акција са хемијског гледишта. Тај је случај нарочито за ферменте угљених хидрата и гликозида. За те случајеве постоји номенклатура која по својој простоти и по принципу на коме почива, одговара потпуно своме циљу. Она се састоји у томе: ферменат узима корен имена тела на које утиче, са наставком *аза* (на француском, немачком, енглеском... *ase*). Према томе, ферменат који утиче на штирак — амилум — добива име *амилаза*; *малтаза* је ферменат малтозе, *лактаза* — лактозе, *аргиназа* — аргинина, *монобутириназа* — монобутирина и т. д. Име фермента показује одмах на које тело утиче ферменат, а знајући састав тог тела ферментска је акција у исто време назначена. То је све што се може захтевати од једне номенклатуре фермената. С тога номенклатура v. Lippmann-а¹ за диса-

¹ von Lippmann. Zur Nomenklatur der Enzyme, Ber. d. d. chem. Gesell. 36, стр. 331 (1903).

хариде није ни у чему боља и ако сложенија. Данашња номенклатура фермената одговара потпуно потреби у случају фермената дисахарида. Али се она не може корисно да примени на ферменте трисахарида, и тетрасахарида, што у хидролизи тих сложених угљених хидрата узимају удела по неколико фермената. Узмимо један пример: рафиноза је трисахарид који хидролизом даје 1 мол. левулозе, 1 мол. гликозе и 1 мол. галактозе. Те се три хегзоze налазе спојене у том истом реду у молекулу рафинозе. У овоме случају ферменат рафинозе који би претварао тај шећер у левулозу, гликозу и галактозу требао би по номенклатури да добије име *рафиназа*. Међутим, у ствари у тој ферментској акцији узимају учешћа два фермента: први одваја само левулозу од молекула рафинозе и тиме ослобађа један дисахарид, мелибиозу; други ферменат хидролизује мелибиозу у гликозу и галактозу. Шта више постоји и трећи ферменат који одваја од рафинозе само галактозу и тиме ослобађа један дисахарид састављен од левулозе и гликозе (Neuberg). Претпоставимо да су сва та три фермента нови ферменти који нису већ добили име по каквом утицају на друго тело; тада, по данашњој номенклатури само онај ферменат који утиче на мелибиозу може да добије рационално име, а то је: *мелибиаза*. На друга два фермента не може се применити данашња номенклатура.

Узмимо сада за пример тетрасахарид стахиозу, који је састављен од остатака четири хегзоze нанизаних у његовом молекулу овим редом: левулоза—гликоза—галактоза—галактоза. Тај тетрасахарид, пак трисахарида и дисахарида који могу од њега *теоријски* да деривују, могу, опет теоријски, да буду хидролизоване на свега *десет* начина. Ако претставимо са *a b c d* она четири молекула хегзоze који се налазе у горе означеном реду у молекулу стахиозе, а цртицом место хидролизе, тада су следеће све могуће хидролизе стахиозе и њених деривата, трисахарида и дисахарида:



Сигурно је да више од тих могућних хидролиза изискују један исти ферменат. Али узмимо крајни случај да треба толико исто фермената колико има врста хидролиза. За такав случај једна ће номенклатура бити добра ако свако име фермента казује 1) на које тело

утиче ферменат и 2) који су продукти те ферментске акције. v. Лиршанп-ова номенклатура полисахарида, на извесан начин измењена, испуњава те две погодбе и у исто време није много сложенија од данашње номенклатуре дисахарида.

Пре свега за случајеве хидролиза $b-c$, $a-b$, $c-d$, примењује се садашња номенклатура: основа имена тела са наставком *аза*. За све остале случајеве номенклатура се управља по следећем правилу: Име фермента састоји се из две речи везане цртицом. Прва је реч састављена из корена имена тела на које ферменат утиче, са наставком *о* (за рафинозу: *рафино*; за стахиозу: *стахио*; за манинотриозу: *манино-трио*; за амигдалин: *амигдалино*). Друга је реч састављена од корена имена *хемијски простијег* тела којег одваја ферменат, са наставком *аза* (ако је то тело гликоза: *гликаза*; левулоза: *левулаза* и т. д.).

По тој номенклатури ферменат који одваја левулозу од рафинозе назива се *рафино-левулаза*, име које казује да ферменат утиче на рафинозу и да одваја од њега левулозу (знајући састав рафинозе закључује се да је тим одвајањем левулозе, ослобођен дисахарид мелибиоза) ферменат пак који одваја галактозу од рафинозе, назива се *рафино-галактаза*. Ферменат који одваја левулозу од стахиозе добива име *стахио-левулаза*, а непознати ферменат који би издвајао један молекул галактозе, назвао би се *стахио-галактаза*. У случају једног тетрасахарида који би под утицајем једног фермента дао два дисахарида, пошто су та два тела исте хемијске сложености, тада се произвољно узима један или други за састав друге речи фермента. Исто се поступа у случају када се има посла са два тела чија се хемијска сложеност не да упоредити. На пример, ферменат који хидролизује амигдалин у бензалдехидцијанид и дисахарид амигдалозу, може добити име амигдалино-бензалдехидцијаназа или име амигдалино-амигдалаза. Ферменат пак који је пронашао Fischer и који одваја само један молекул гликозе од амигдалина добива име амигдалино-гликаза.

По тој номенклатури дали смо име *рафино-левулаза*¹ ферменту који смо нашли у цревном соку Helix-а. То је име усвојио Colin² за један сличан ферменат који је нашао код Botrytis cinerea. Такође по тој номенклатури је Bierry³ назвао *рамнино-рамназа* ферменат који одваја рамнозу од рамнинозе.

¹ J. Giaja. Etude des ferments des glucosides et des hydrates de carbone.... Thèse de Doctorat Paris. 1909.

² Colin. *loc. cit.*

³ H. Bierry. Recherches sur les diastases.... Thèse de Doctorat. Paris. стр. 118, 1911.

У следећим странама поделили смо ферменте према природи њихове хемијске акције, на *хидролазе* (ферменти који хидролизују), *оксидазе* (ферменти који оксидишу), *кластазе* (ферменти који растављају) и *коагулазе* (ферменти који проузрокују коагулације, сирења, таложења).

Хидролазе

I Ферменти угљених хидрата.

Малтаза.

Малтоза је дисахарид који редукује Фелингову течност и који хидролизом даје гликозу. Та се хидролиза добива разблаженим загрејаним киселинама или једним ферментом: *малтазом*. Као год и млечни шећер и сахароза, малтоза није непосредно употребљива у животињском организму. Под утицајем малтазе она се претвара у гликозу која је физиолошки непосредно употребљив угљени хидрат. Малтаза је нађена код биља и животиња. *Aspergillus niger*, *Penicillium glaucum*, *Botrytis cinerea* и разни квасови, садрже малтазу. Тај је ферменат врло распрострањен и код нижих животиња код којих је нађен било у соковима било у мацерацијама разних органа.

Код виших животиња, малтаза је нарочито локализована на два места: у панкреасноме соку и у цревној слузокожи; у мањој количини налази се редовно и у крви. До скоро се држало да панкреасни сок не садржи малтазу и да према томе нема утицаја на малтозу. Данас је пак утврђено да се тај ферменат налази редовно у панкреасноме соку код пса, зеца, коња, вола и човека. Његова присутност у панкреасноме соку није била опажена раније с тога, што је малтаза неактивна у алкалној средини панкреаснога сока. Довољно је неутрализовати или слабо закиселити панкреасни сок па да се његова јака акција наспрам малтозе укаже (Bierry и Terroine)¹. Малтаза и амилаза јесу два фермента који су потребни за варење штирка. Под утицајем амилазе штирак се претвара у малтозу



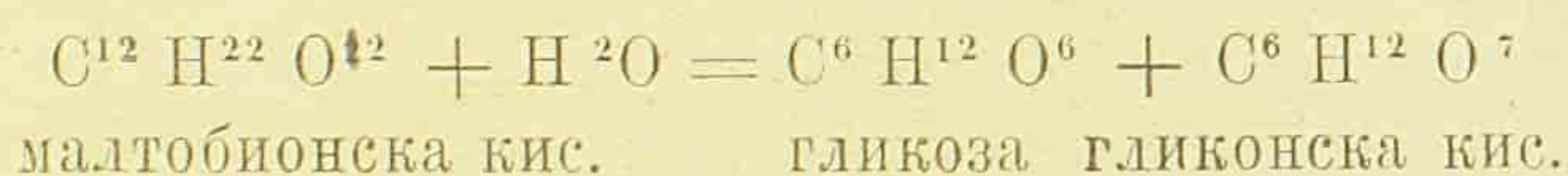
а малтоза се под утицајем малтазе претвара у гликозу.

¹ Bierry et Terroine. Le suc pancréatique contient — il de la maltase? C. R. Soc. Biol. 57. стр. 869 (1905).

Цревна је малтаза, бар код пса, ендоцелуларна, т. ј. налази се у ћелијама цревне слузокоже, а нема је у цревном соку који је ослобођен отпалих слузокожних ћелија. Панкреасна је малтаза потпуно неактивна у отсућности извесних соли.

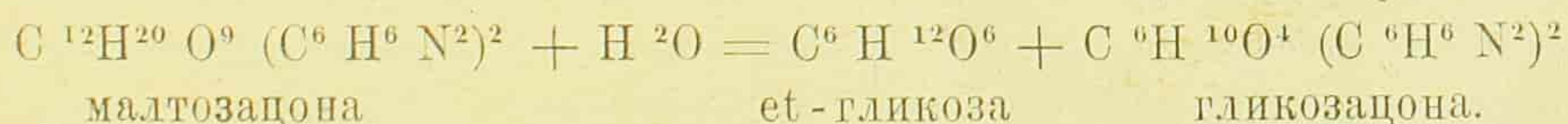
У начину понашања према извесним дериватима малтозе, малтаза бескичмењака разликује се од малтазе сисара у истом смислу као што ћемо видети да се и лактазе тих двају порекла разликују једна од друге према дериватима млечног шећера.

Малтобионска киселина која се добива умереном оксидацијом малтозе помоћу брома (Fischer и Meyer) има велике сличности са лактобионском киселином у толико, што је у оба случаја алдехидска функција ових дисахарида претворена оксидацијом у киселу функцију. Хидролизована разблаженим топлим киселинама, малтобионска киселина даје d-гликозу и гликонску киселину:



Такву исту хидролизу врши један ферменат који се налази у соку Helix-а (Bierry и Ђаја)¹ и који на исти начин хидролизује и лактону тог тела. Природно је приписати ту ферментску акцију малтази коју садржи сок о коме је реч. Међутим, малтазе сисара (цревна и панкреасна) без утицаја су на малтобионску киселину. Малтаза виших створова строго је специфична, док је малтаза Helix-а мање специфична и може да утиче не само на малтозу већ и на извесне деривате тог шећера као што су малтобионска киселина и фенилмалтозацона.

Фенил-малтозацона. Ово тело хидролизује се под утицајем једног фермента који се налази у соку Helix-а, у гликозу и гликозацону:



Ова је хидролиза у толико интересантна што се помоћу киселина, као што је показао Fischer, она не може добити. Под утицајем пушљиве хлороводоничне киселине, малтозацона губи своја два остатка фенилхидрацина и претвара се у малтозону, тело са кетонском и алдехидском функцијом.

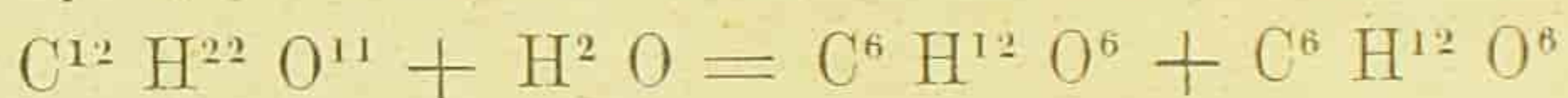
Fischer је констатовано да се то последње тело под утицајем једног фермента који се налази у пивском квасу, хидролизује у гликозу и гликозону.

Овај пример показује корист од фермената као средства за добивање хидролиза које се не могу добити хемијским агенсима.

¹ Bierry et Giaja C. R. Soc. Biol. 64 стр. 653 (1908).

Лактаза.

Ферменат који претвара млечни шећер у гликозу и галактозу по следећој формули, назива се *лактаза*:



Знало се одавно да млечни шећер не превире под утицајем обичних врста квасова. Duclaux¹ је 1887 године пронашао једну нову врсту кваса која претвара млечни шећер у алкохол и угљен диоксид. Данас знамо да ти квасови, под чијим је утицајем млечни шећер кадар да претрпи алкохолно врење, садрже сви један ферменат који хидролизује лактазу по горњој формули; тек кад је лактоза претворена у гликозу и галактозу под утицајем лактазе, наступа алкохолно врење. Обични квасови немају утицаја на млечни шећер с тога, што не садрже лактазе. Beyerinck² је посредним начином предвидео да извесни квасови садрже лактазу: светлеће бактерије не развијају се на раствору млечног шећера; али ако се том раствору дода претходно извесан квас, као што су на пример *Saccharomyces Kefir* и *S. Tyrocola*, тада се светлеће бактерије развијају на томе раствору, а то с тога што су поменути квасови били у стању да хидролизују млечни шећер, јер садрже лактазу. Fischer је дао коначан доказ присутности лактазе у извесним квасовима под чијим утицајем млечни шећер превире. Показао је, на име, да једна мацерација зрна кефира хидролизује лактозу; затим је успео да извади из кваса кефира, ферменат млечног шећера — лактазу. По Bourquelot-у и Herissey-у, печурке: *Penicillium glaucum*, *Aspergillus niger* и *Polyporus sulfureus* не садрже лактазу премда садрже многобројне ферменте угљених хидрата. Међутим, пре кратког времена, H. Colin је успео да из печурке, *Botrytis cinerea*, извади једну лактазу која је чврсто спојена за саму ћелију и која се може добити само туцањем осушеног мицелијума. Лактаза је нађена у зрневљу неколиких Розацеа, поред емулсина: у горком бадему, у зрну брескве и зрну крушке. Brachin је нашао код многобројних Круцифера.

Потребу фермента млечног шећера код сисара утврдио је Dastre 1878³ изучавајући физиологију тог угљеног хидрата. Да постоји такав фермента констатовали су Pantz и Vogel⁴ у мацерацијама црева новорођена детета. Мало доцније су Röhmann и Larpe нашли лактазу у цреву телета и пса. Fischer и Niebel нашли су је у цревној слузокожи вола и коња, али тај ферменат нису нашли код птица и риба. Утврђено је данас да панкреас и панкреасни сок сисара не садрже лактазу.

¹ Duclaux. Annales de l' Institut Pasteur 573, (1887).

² Beyerinck. Centralblatt f. Bacteriolog. und Parasitenkunde 6, стр. 14, (1889)

³ A. Dastre. Archives de Physiologie 22, стр. 103 (1890).

⁴ Pantz und Vogel. Z. f. Biologie 32, стр. 304 (1895).

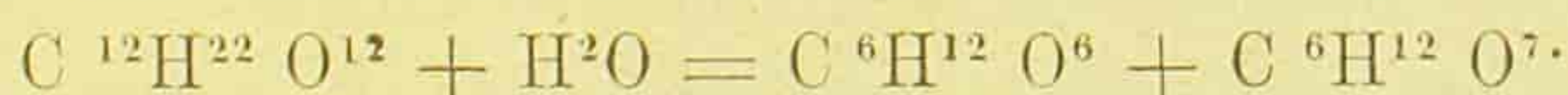
Овај је ферменат у изобиљу у цревној слузокожи код младих сисара. Тако је Portier¹ нашао да је лактаза у изобиљу код младих паса, да је код одраслих паса већ нема толико, а да може код старих паса потпуно и да изостане. Интересантно је напоменути да се лактаза не налази у цревном соку код пса са сталном цревном фистулом и ако се тај ферменат налази у цревним дуварима. Лактаза је дакле ендодуларан ферменат као год и малтаза.

Лактаза је нађена не само код сисара већ и код других животиња код којих улога таквог фермента није јасна када се има на уму да се млечни шећер налази готово једино у млеку. Bierry и Баја нашли су веома активну лактазу код многих мекушаца сувоземних и морских (*Helix pomatia*, *Arion rufus*, *Aplysia punctata*) и код ракова (*Astacus fluviatilis*, *Homarus vulgaris*, *Maja Squinado*). Најзад је Straus² нашао лактазу код неких диптера и лепидоптера.

Истовремена ферментска активност извесних течности на амигдалин и млечни шећер схватана је на два начина. Служећи се методом поређења, Fischer и Bourquelot дошли су до супротних закључака, и то с тога што се резултати добивени том методом могу, као што смо већ рекли, тумачити на два начина. Fischer приписује акцију коју извесне ферментске течности или ферментски препарати имају према амигдалину и млечном шећеру, једном једином ферменту, емулсину. Али пошто емулсини разног порекла немају сви особину да хидролизују млечни шећер, то према томе мора бити разних врста емулсина. Уосталом, може се и ферментска акција на млечни шећер наћи у одсутности акције на амигдалин (екстрат кефиновог кваса).

Рекли смо да сок *Helix*-а садржи врло активну лактазу. Исти је сок активан и према неким дериватима млечног шећера:

Лактобионска киселина која се добива лаганом оксидацијом млечног шећера помоћу брома, разликује се од лактозе у томе што је алдехидска функција овог последњег претворена у киселу функцију — COOH. Под утицајем врелих разблажених киселина, лактобионска киселина се раздваја и даје галактозу и гликонску киселину:



Иста се хидролиза добива утицајем једног фермента који се налази у соку *Helix*-а. Тај је ферменат вероватно лактаза; међутим лактаза сисара и лактаза горког бадема немају никаква утицаја на лактобионску киселину.

Фенил-лактозацона. Ово тело постаје јединењем двају молекула фенилхидрацина с једним молекулом млечног шећера. Под утицајем

¹ Portier. C. R. Soc. Biologie стр. 387 (1898).

² Straus. Z. f. Biologie 52, (1909).

сока *Helix*-а фенил лактозацона се претвара у галактозу и гликозацону, што је доказ да је фенилхидрацин спојен у лактозацони за један остатак гликозе и да према томе њему припада алдехидска функција млечног шећера. Лактаза извађена из црева овчијег фетуса нема утицаја на лактозацону.

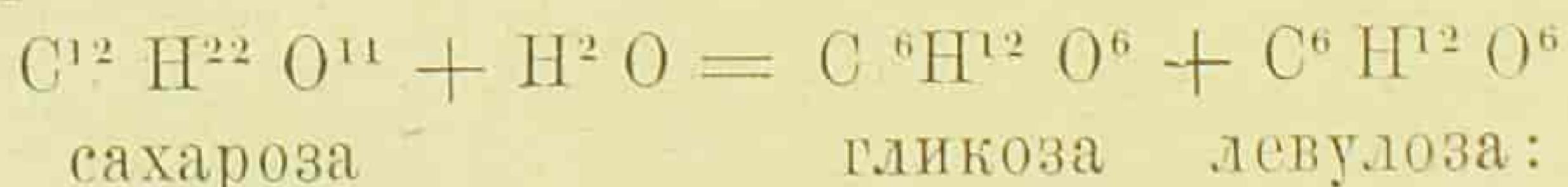
Лактоза-уре. Ово тело чији је састав $(C^{12}H^{22}O^{10})(N-CO-NH^2)$, H^2O , раставља се под утицајем врелих разблажених алкалија или киселина у лактозу и уре. Један ферменат који се налази у соку *Helix*-а раставља лактозу-уре на други начин и то у галактозу и гликозу-уре.

Лактоза-аминогуанидин-нитрат. $(C^{12}H^{22}O^{10})(CN^4H^4)$, NO^3H . Ово тело, које је по своме саставу доста слично малтоза-уреу, под утицајем једног фермента сока *Helix*-а распада се у галактозу и гликоза-аминогуанидин-нитрат.

Да ли исти ферменат хидролизује лактозу и све ове њене деривате? На ово се питање не може одговорити. Јер, као што смо рекли, лактаза сисара не утиче на деривате млечног шећера, а међутим утиче на саму лактозу. Опет долазимо до алтернативе: или постоје разне врсте лактаза у разним степенима специфичних, или постоје многобројни ферменти. Ова последња претпоставка изгледа нам у овом случају невероватна, јер је тешко замислити да сок пужа садржи специфичне ферменте тела која су производ вештачке синтезе и која се не налазе у природи.

Инвертин.

Инвертин је ферменат који хидролизује сахарозу и тиме је претвара у инвертовани шећера, мешавину гликозе и левулозе:



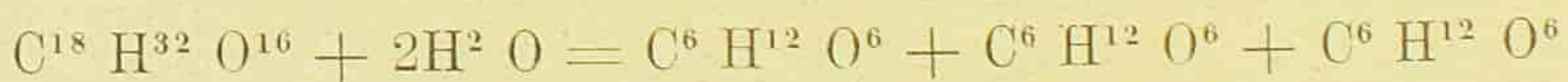
Први пут су инвертин нашли Döbereiner и Mitscherlich у квасу. Али сви квасови немају инвертина и због тога сви не могу да произведу алкохолно врење сахарозе. Обично квас дучи у спољашњу средину инвертин, али у неким случајевима, као што је то приметио Roux за *Monilia candida*, инверсија сахарозе бива у самој квасној ћелији под утицајем ендоцелуларног фермента који се уосталом може лако издвојити и добити у раствору. Инвертин је врло распрострањен ферменат у оба царства живих створова; а то је сасвим природна ствар када се узме у обзир велика распрострањеност сахарозе у биљном царству, која је један од најобичнијих облика у коме се налазе биљни угљени хидрати. Од кад је, проналаском сахарозе у репи, установљена шећерна индустрија која је достигла данас огромне размере, сахароза је поред штирка узела најважније место међу угљено-хидратске алименте човека. Као што смо већ видели, сахароза није непосредно физиолошки употребљив угљени хидрат, већ она мора најпре

Рамнино-рамназа.

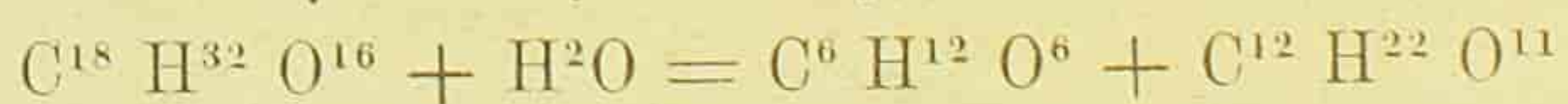
Рамниноза је трисахарид који се добива поред рамнетине као производ хидролизе једног гликозида: *ксанторамнине*. Под утицајем разблажених киселина рамниноза даје 2 мол. рамнозе и 1 мол галактозе. Поменуто хидролизу ксанторамнине добили су Ch. и G. Tanret једним ферментом који је нађен поред самог гликозида у плоду *Rhamnus infectoria*. Рамниноза редукује Фелингову течност. Не превире под утицајем разних квасова. Емулсин, инвертин и ферменти *Aspergillus niger-a* без утицаја су на рамнинозу. До данас фермент који утиче на тај трисахарид нађен је само код *Helix-a*. Bierry му је дао име *рамнино-рамназа*.

Рафино-левулаза и мелибиаза.

Рафиноза је трисахарид са C^{18} који потпуно хидролизован даје три молекула хексоза и то по један молекул галактозе, гликозе и левулозе:



Рафиноза не редукује Фелингову течност; према томе тај угљени хидрат нема слободне алдехидне или кетонске функције. Горе назначена хидролиза добива се када се рафиноза греје са разблаженим киселинама дотле, докле се редукујућа моћ повећава. Али, зауставивши хидролизу у угодном тренутку или употребљујући разблаженије киселине, рафиноза претрпи делимичну хидролизу која се састоји у продукцији једног молекула левулозе и једног молекула мелибиозе:



Мелибиоза је дисахарид који хидролизован даје по један молекул гликозе и галактозе. Овај дисахарид редукује и према томе једини се са хидрацима. Потпуна хидролиза молекула рафинозе, назива се *јака инверсија*, а делимична са продукцијом левулозе и мелибиозе, назива се *слаба инверсија*.

Познати су ферменти који врше било слабу било јаку инверсију рафинозе. Шта више, помоћу њих се може добити једна хидролиза рафинозе која се не може добити помоћу киселина, а то је одцепање једног молекула рафинозе са продукцијом једног дисахарида састављена од левулозе и гликозе.

Рафиноза превире под утицајем квасова, али неједнако према врсти кваса. Док под утицајем чистих култура *високих* квасова рафиноза даје само 18% алкохола, дотле под утицајем *ниских* даје око 40%. Та разлика у производњи алкохола долази отуда што високи квасови непотпуно хидролизују молекул рафинозе; у том случају имамо слабу инверсију и алкохол се ствара искључиво на рачун левулозе. Док под утицајем *ниских* квасова рафиноза претрпи јаку инверсију

и алкохол се ствара на рачун свих трију хегзоа. Fischer и Lindner и Bauer, показали су да инвертин из кваса проузрокује само слабу инверсију рафинозе а нема утицаја на мелибиозу. Хидролиза овог дисахарида приписује се једном другом ферменту, *мелибирази* коју садрже ниски квасови под чијим утицајем рафиноза потпуно превире.

Ферментска течност *Aspergillus-niger*-а хидролизује рафинозу и та хидролиза иде даље од ступња слабе инверсије (Bourquelot)¹. По Fischer-у емулсин горког бадема хидролизује мелибиозу, док је лактаза кефира без утицаја на тај шећер.

У новије доба Neuberg² је добио помоћу пречишћеног емулсина један нов начин хидролизе рафинозе, који се састоји у одвајању молекула галактозе од молекула рафинозе са продукцијом једног дисахарида који је сличан сахарози, јер као и овај даје хидролизом по један молекул гликозе и левулозе. Код животиња су тек скоро нађени ферменти рафинозе. Pautz и Vogel, Fischer и Niebel, добили су само негативне резултате тражећи код многобројних виших животиња те ферменте. Код нижих пак животиња Bierry и Ђаја³ су нашли ферменте који утичу на рафинозу и то код сувоземних мекушаца и слатководних ракова, док морски мекушци и ракови не садрже ферменте рафинозе. Сок *Helix*-а садржи ферменте који потпуно хидролизују рафинозу (јака инверсија). Под утицајем фермената тог сока рафиноза најпре претрпи слабу инверсију која је потпуна у току од 24—48 часова; затим почиње хидролиза ослобођене мелибиозе која је спора и тек после десетак дана јака је инверсија потпуна.

Из овога што претходи види се да ферменти могу да хидролизују рафинозу на сва три једино могућа начина. У тој хидролизи морају узимати учешћа најмање два фермента. Неки су истражиоци приписали инвертину слабу хидролизу рафинозе, с обзиром да у овом случају као год и код сахарозе ферменат одваја остатак левулозе од остатка гликозе. Али, многи су инвертини без утицаја на рафинозу (инвертин сисара, инвертин морских мекушаца и морских ракова). Дакле, опет долазимо до истог питања као и приликом фермента лактозе и њених деривата: постоје ли различни ферменти који хидролизују једни рафинозу (слаба инверсија) други сахарозу, или постоје две врсте инвертина, једна врста строго специфична хидролизује само сахарозу а друга мање специфична хидролизује сахарозу и рафинозу (слаба инверсија). Већ у више прилика смо рекли да се нема озбиљна разлога нагињати више ка једној од ових двеју хипотеза. С практичног погледа згодније је дати посебно име ферментима који хидро-

¹ Em. Bourquelot. Journ. de Pharmacie et de Chimie p. 398 (1896)

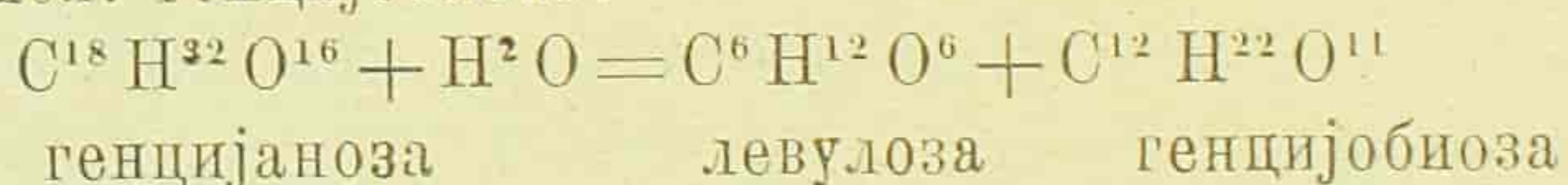
² Neuberg. Z. d. Ver. d. d. Zuckerindustrie (1907)

³ Bierry et Giaja C. R. Soc. Biol, 61, стр. 485 (1906)

лизују рафинозу него ли напомињати сваком приликом с којом се врстом инвертина или каквог другог фермента има посла. Рећи ћемо да се од рафинозе одваја левулоза под утицајем фермента *рафино-левулазе*, а да ферменат *мелибиаза* хидролизује мелибиозу.

Ферменти генцијанозе и генцијобиозе.

Генцијаноза, угљени хидрат нађен у корену *Gentiana lutea*, јесте трисахарид који не редукује. Потпуно хидролизован помоћу сумпорне киселине 3% даје 1 мол. левулозе и 2 мол. гликозе. То је јака инверсија генцијанозе. Јако разблажена сумпорна киселина 0,2% даје слабу инверсију генцијанозе која се састоји у продукцији једног мол. левулозе и 1 мол. генцијобиозе:

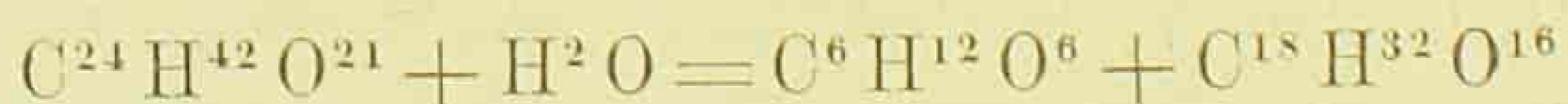


Помоћу фермента могу се такође добити те две инверсије. Слабу инверсију производе: инвертин кваса, а јаку инверсију: ферментска течност *Aspergillus niger*-а и емулсин бадема. Код виших животиња нису нађени ферменти генцијанозе, али је код нижих створова и то код *Helix*-а, констатовано да се налазе ферменти који хидролизују генцијанозу, и то производе јаку инверсију тог трисахарида. Исти су ферменти нађени и код других мекушаца и код ракова који хидролизују потпуно генцијанозу па према томе и генцијобиозу.

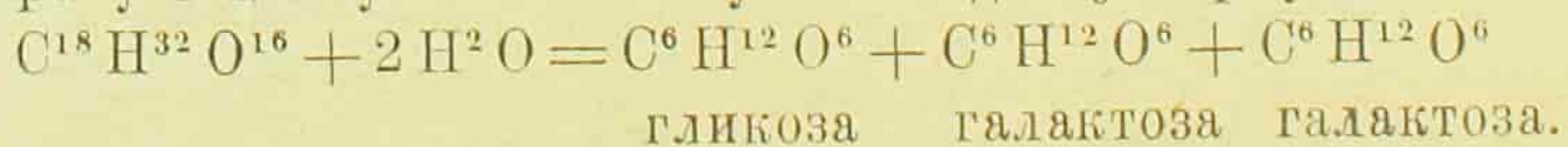
Ферменти стахиозе и манинотриозе.

Стахиоза је тетрасахарид који потпуно хидролизован даје 1 мол. левулозе, 1 мол. гликозе и 2 мол. галактозе. Не редукује Фелингову течност. А. von Planta и Е. Schulze нашли су га 1890 г. у кртоли *Stachys tuberifera*. Ј. Vintilesco нашао је стахиозу код многих биљака које припадају фамилији Уснатица.

Ако се стахиоза загреје са разблаженом сирћетном киселином тада се тај угљени хидрат претвара у левулозу и један трисахарид, *манинотриозу*:



Под утицајем разблажених минералних киселина, манинотриоза се претвара у гликозу и галактозу по следећој формули



И под утицајем разних фермената, стахиоза се хидролизује на разне начине. Инвертин из кваса, један ферменат *Aspergillus niger*-а и емулсин хидролизују стахиозу као што то чини сирћетна киселина: у левулозу и манинотриозу. По Tanret-у, емулсин бадема и ферментска течност *Aspergillus*-а могу да хидролизују и манинотриозу по горе назначеној формули, али то веома споро.

Код виших створова није до данас нађен ферменат који би утицао на стахиозу. Док, на против, код нижих животиња знамо да такав ферменат постоји. G. Barthet и Bierry констатовали су да цревни сокови Helix-а и Astacus-а хидролизују потпуно стахиозу као што то чине минералне киселине. Нема сумње да у тој сложеној ферментској акцији узимају удела више фермената. Рекли смо да продукти који се називају инвертин кваса и емулсин бадема, одвајају левулозу од стахиозе. Вероватно је да то чини један специјалан ферменат који се налази у тим продуктима и који није ни ферменат инвертин, ни ферменат емулсин а још мање ферменат амилаза који хидролизује штирак. Тај би ферменат био дакле *стахио-левулаза*, по напред изложеној номенклатури. Bierry мисли да одвајање левулозе од стахиозе, од рафинозе, и од генцијанозе врши исти ферменат коме даје име *левуло-полиазе*, да би тиме назначио да тај ферменат одваја левулозу од тих полиоза (полисахарида).

Рекли смо да сок Helix-а хидролизује и манинотриозу. Али та хидролиза не врши се одједном по горе изложеној формули у 1 мол. гликозе и 2 мол. галактозе, већ најпре се одваја само један молекул галактозе и тиме се ослобађа дисахарид састављен из гликозе и галактозе, чија је природа још непозната али који свакако није истоветан са млечним шећером. Тек пошто је ослобођен, тај је дисахарид хидролизован од једног фермента који се налази у соку Helix-а. Најпосле, Neuberg и Lachmann¹ мисле да су помоћу једног биљног емулсина добили један нов начин хидролизе манинотриозе у гликозу и један дисахарид састављен из 2 мол. галактозе.

Из овога се види да смо на путу остварења помоћу фермената свих могућних начина хидролизе стахиозе о којима је било речи приликом номенклатуре фермената.

Амилаза.

Данас се под именом амилазе подразумева ферменат који претвара штирак у малтозу. Напоменимо пре свега да се штирак налази код биља у облику зрна која имају извесну грађу и за која је лако опазити да нису једно хомогено тело. Отуда и није чудновато да штирак није једно једино хемијско тело већ мешавина бар двају тела која се разликују једно од другог по извесним особинама. То излази из најновијих резултата које су добили Maquenne, Roux и г-ђа Гружевска. По њима, штирак је једно хетерогено тело састављено из *амилозе* и *амилопектина*. *Амилоза* (или амилозе, јер је могућно да штирак садржи више таквих тела сличних међу собом) има следеће особине: не раствара се у хладној води; раствара се потпуно у води загревањем на 150° за 1 час, и тај је раствор беличаст и мутан („ора-

¹ Neuberg und Lachmann Biochem. Zeitsch. Стр. 166 (1910).

lescent“). Хлађењем таложи се временом. Боји се плаво јодом. Не даје декстрине. *Амилопектин* има ове особине: не раствара се у хладној води. У врелој води набубри и даје кашу. На 130° раствара се и тај се раствор не таложи хлађењем. Амилопектин садржи калцијума. Боји се љубичасто јодом. Претвара се у декстрине.

Из овога се види да су особине штирка подељене међу његовим саставним деловима: амилозом и амилопектином. Плаво бојење дугује штирак амилози као год и своју делимичну растворљивост и таложење хлађењем, после извесног времена (ретроградавање штирка). Особину набубравања и хватања у кашу дугује пак амилопектину. Ультрамикроскопским посматрањем, г-ђа Гружевска, Mayer и Schaeffer утврдили су да амилопектин саставља завојну опну зрна штирка, док је амилоза тело које се налази у зрну.

Према овом саставу штирка, Maquenne и Roux схватају на следећи начин ферментско претварање (сахарификовање) штирка у шећер. Та ферментска акција врши се у два времена: најпре се амилопектин под утицајем фермента *амилопектиназе* претвара у декстрине, а амилоза под утицајем *амилазе* претвара се непосредно у малтозу. Ове се две промене врше брзо и истовремено. Други део акције састоји се у претварању декстрина у малтозу под утицајем декстриназе. Та се акција врши полако а често и непотпуно када се употребљује малт, отуда се често посматра преостајање декстрина и после дуге акције малта на штирак („резидуалне декстрине“). Под утицајем панкреаснога сока претварање декстрина у малтозу врши се доста брзо.

И ако овај нов начин схватања ферментске акције у хидролизи штирка повазује да више фермената узимају учешћа, за сада се под именом *амилаза* подразумевају сви ти ферментски агенси скупа.

Амилаза је први пронађени ферменат. Рауен и Persoz пронашли су је 1832 године у малту и назвали је *диастаза*, име које је данас постало генерично и које је синоним са „ферменат“ и „енцим“. Данас се може рећи да је амилаза најраспрострањенији ферменат у оба жива царства. Код биљака се амилаза налази гдегод има штирка, са врло мало изузетака; у многим случајевима и у одсутности тог тела. Амилаза се налази у изобиљу у зрнима која садрже штирак, за време клијања. Ту су је Рауен и Persoz пронашли, у малту т. ј. у проклијалом јечму. Нађена је у млечном соку — латексу — смокве. Brown и Moris утврдили су њену присутност у зеленом лишћу. Амилаза је нађена код многих криптогама: Duclaux је нашао код *Aspergillus niger*-а а Bourquelot је показао да је исти ферменат врло распрострањен код печурака у опште. Квасови садрже амилазу и стога могу да изазову алкохолно врење над штирком. У трговини се налази један препарат амилазе под именом Такадиастаза, који води своје порекло из *Aspergillus oryzae*, печурке која удружена са квасом „Који“ служи за пре-

вираће пиринча у справљању јапанског пића „саке“. И код бактерија је нађена амилаза (*Bacterium termo*).

Код животиња је амилаза врло распрострањена. А то је сасвим природно када се узме у обзир да је штирак у већини случајева најважнији угљени хидрат њихове хране. Амилаза се налази код човека и код сисара у саливи, у панкреасноме и цревном соку; у крви, јетри, мокраћи и измецима. Њена редовна присутност у јетри од особито је значаја у гликогенској функцији тог органа. Амилаза је нађена код представника целе животињске серије. Вероватно је да не постоје животиње које немају амилазе.

Амилаза има особину да претвара гликоген у гликозу. Гликоген, назван још „животињски штирак“, јесте облик угљено-хидратске резерве у животињском организму. Налази се нарочито у јетри и мишићима. Гликоген постаје физиолошки употребљив тек пошто се претворио у гликозу; то и у овоме случају амилаза има велике физиолошке важности.

Инулаза.

Инулин је полисахарид који хидролизом даје левулозу (по Tanret-у не само левулозу већ и мало гликозе). Налази се код многих биљака код којих замењује штирак. Разликује се од штирка својом растворљивошћу у врућој води и тиме што се не боји јодом, а и по продукту хидролизе.

Green је нашао у кртоли *Helianthus tuberosus*-а ферменат који хидролизује инулин и назвао га *инулаза*. Та кртола садржи много инулина. Сличан је ферменат нашао Bourquelot код *Aspergillus niger*-а. Код животиња, инулаза није нађена. Међутим, нема сумње да инулин има алиментарне вредности и за човека и за многе животиње. Тако у неким крајевима западне Француске, кртоле *Helianthus*-а јесу у извесно доба године главна храна стоке. Команос је мислио да инулин прелази непосредно венем портом у јетру и да је ту хидролизован. То је нетачно. Инулин убачен у крв прелази у мокраћу. Тај угљени хидрат мора по општем правилу бити пре свега хидролизован да би био физиолошки употребљив; ту хидролизу код виших створова у одсутности фермента врши киселина желудачног сока на температури тела, јер се инулин необично лако хидролизује разблаженим киселинама. Тако да киселина желудачног сока која у нормалним приликама концентрације и температуре не може хидролизовати ни штирак ни остале главне угљене хидрате хране, може хидролизовати инулин.

Док је инулаза одсутна код виших створова, она се налази код *Helix*-а у цревном соку тог мекушца. Та инулаза *Helix*-а није врло активна, упоређена са другим ферментима истог сока, који брже хидроли-

зују маногалактане које се иначе тешко хидролизују киселина, него ли инулин кога и врло разблажене киселине необично брзо хидролизују.

Мананазе и галактаназе (цитазе).

У биљном царству налазе се конденсовани угљени хидрати који хидролизом дају хексозе манозу и галактозу. Пошто су те хексозе физиолошки употребљиве и од виших створова, ферменти манана и галактана имају велике важности јер од њихове присутности или одсутности зависи да ли ти полисахариди могу бити алимент или не.

Маногалактане, мешавине манана и галактана у разним сразмерама, састављају резервну храну зрна многих биљака. Прву је маногалактану извадио Müntz из зрна луцерне (*Medicago sativa*) и назвао је *галактина*. До данас су манане и галактане нађене код многих разнородних биљака. Плодови разних палма садрже манане. Тако је албумен (коштица) урме (*Phoenix dactylifera*) поглавито састављен од манана, тако исто албумен једне друге палме, *Phytelphas macrocarpa*, (који је услед своје тврдоће и великих димензија употребљаван за прављење дугмади и др.) даје хидролизом поглавито манозу. Албумен кафе садржи кондензоване угљене хидрате који дају хидролизом манозу. Албумен једне Легуминозе, *Ceratonia siliqua* (рокчић) садржи маногалактану сличну са Müntz-овом галактином, а коју је Effront назвао *карубина*. Агар-агар, врста алге (*Fucus amylaceus*) која се нарочито употребљава у бактериологији као чврста подлога за културе, састављен је поглавито од галактана. Напоменимо још само да кртоле многобројних Орхидеа садрже такође манане: салеи, који се справља у облику топлог пића, није ништа друго до осушене кртоле извесних Орхидеа.

Ферменти манана и галактана познати су у оба жива царства. Одавна се било приметило да чврсти албумени палма, као што је албумен урме, омекшају за време клијања и постепено смањују своје димензије. Данас се зна да то бива под утицајем фермената који хидролизују њихове конденсоване угљене хидрате. Тако је Effront¹ извадио из рокчића ферменат *карубиназу* који хидролизује маногалактану која се налази у истом плоду. Bourquelot и Herissey² нашли су сличан ферменат и у других рожатих албумена и у печурке *Aspergillus niger*. Тај су ферменат назвали *семиназа*. Исти су истраживачи нашли у зрну једне палме, *Phoenix canariensis*, један ферменат који хидролизује њен албумен дајући манозу; семиназа те палме хидролизује такође и маногалактану рокчића (*Ceratonia siliqua*), док на против семиназа луцерне нема утицаја на манане *Phoenix canariensis*-а. На-

¹ Effront. Journ. de Pharm. et de Chimie VI 210 (1897).

² Bourquelot et Herissey. Journal de Pharm. et de Chimie стр. 104 и 357 (1900).

водимо ова факта што показују да јамачно постоје разне врсте фермената манана и галактана који су у различним степенима специфични. У зрну јечма постоји ферменат који може полако да хидролизује маногалактану *Ceratoniae*.

Дакле, утврђено је да у биљном царству постоје ферменти манана и галактана. Да видимо укратко како стоји то питање код животиња. Виши створови (пас, зец, свињче, кокош) немају фермената којим би могли да хидролизују манане из салепе. То исто важи и за манане које се налазе у извесним животним намирницама које се употребљавају у Јапану. Затим, Саики¹ је показао да манане и галактане које се налазе у неким лишајима и алгама нису хидролизоване од фермената виших створова. Напоследку, Виеггу и Ђаја добили су такође негативне резултате тражећи код цса и зеца ферменте маногалактане из зрна луцерне.

Посматрајући на микроскопу утицај цревног сока *Helix*-а на танке пресеке албумена који садрже манане и галактане, Biedermann и Moritz² су опазили постепено распадање хелијиних дуварова и растварање њиховог садржаја уз продукцију хегзоза, и тиме су утврдили да сок *Helix*-а садржи ферменте који хидролизују манане и галактане и још друге конденсоване полисахариде. Хемијским је путем потврђено да тај сок садржи ферменте који хидролизују разне манане и галактане али су без утицаја на агар-агар. Желудачни сок разних ракова хидролизује само неке од оних манана и галактана које хидролизује сок *Helix*-а, што показује да сви ти ферменти који утичу на манане и галактане нису истоветни при различном пореклу.

Ксиланаза.

Ксилане и арабане јесу конденсовани угљени хидрати, главни представници пентозана, који хидролизом дају једну пентозу, шећер са C^5 , ксилозу или арабинозу. Ксилане се нарочито налазе редовно у дрвеном биљном ткиву а арабане у извесним смолама као што су на пр. смола трешње, брескве и шљиве.

Seillière³ је пронашао један ферменат који хидролизује ксилане разног порекла, у желудачном соку *Helix*-а, и назвао га по рационалној номенклатури фермената, *ксиланаза*. Исти је истраживач нашао ксиланазу и код других мекушаца сувоземних и морских, било у цревном соку било у хепато-панкреасу. Сви ти мекушци код којих је нађена ксиланаза јесу травоједи; тражећи тај ферменат код мекушаца месоједа, Seillière га није могао ни један пут наћи. Ксиланаза се налази

¹ Saiki. Journ. of biolog. chem. II. стр. 261 (1906).

² Biedermann und Moritz. Pflüger's Archiv 73 (1898).

³ Seillière. C. R. Soc. Biol. 58 стр. 409 (1905).]

и код инсеката, на име код једне ларве ксилофаге, на коју се налази често у дрвету за гориво, а која припада колеоптеру *Rhymatoda variabilis* L. Сви покушаји учињени у виду да се нађе једна ксиланаза код виших животиња (зец, кобај, пас) дали су само негативне резултате. Међутим, утврђено је да код травоједа и код човека извесни микроорганизми њихове цревне флоре имају моћ да хидролизују ксилане.

До данас ферменат *арабана* није нађен.

II. Ферменти гликозида.

Гликозиди су тела која под утицајем киселина или фермената дају као продукте хидролизе један шећер и једно или више других тела као што су алкохоли, алдехиди, феноли, меркаптани и т. д. Шећер је у већини случајева гликоза (отуда име „гликозиди“) али може бити представљен и другим хеизозама или пентозама као што су на пример галактоза, маноза, ксилоза, рамноза и т. д.

Гликозиди су јако распрострањена тела у биљном свету, нарочито код извесних биљних фамилија. Поред природних гликозида, хемијском су синтезом добивени многобројни гликозиди (Michael, Schiff, Schützenberger, Fischer) који су нарочито интересантни у погледу њиховог понашања према ферментима, које, као што смо већ видели, јасно показује да стереохемијска грађа има знатна утицаја на ферментске акције. Упознаћемо се са главним ферментима гликозида.

Емулсин.

Liebig и Wöhler 1837 године, извадили су из горког бадема једно беланчевинасто тело које је имало особину да хидролизује амигдалин — тело које су Robiquet и Boutron били открили неколико година раније — у гликозу, бензалдехиду и цијанводоник. То су тело назвали *емулсин*. Доцније, у току времена, констатовало се да то тело има особину да хидролизује многобројне гликозиде и све су те акције приписиване једноме и истоме ферменту. Данас пак, опрезније и тачније је, подразумевати под именом емулсина ферментски препарат бадема или другог порекла са сличним особинама, имајући у виду да је врло вероватно да је емулсин у ствари једна мешавина фермената и да све ферментске акције које он производи не припадају једном једином ферменту. Емулсин бадема хидролизује многе природне и синтетичне гликозиде.

Напоменули смо већ, говорећи о утицају стереохемијске грађе на акцију фермената, да је само један од два изомерна облика под којим су познати разни синтетични гликозиди, хидролизован од емулсина. Тај се облик назначује са β да би се разликовао од другог који се назначује са α и који, у случајевима у којима је познат, обично је

хидролизован од екстракта квасца (малтаза). Што се тиче природних гликозида које хидролизује емулсин, вредно је напоменути да сви без разлике скрећу поларизовану светлост *на лево*.

Ферменти слични емулсину бадема нађени су код многих биљака и животиња. Код виших биљака емулсин је нарочито нађен код многобројних Розацеа. Код нижих биљака, Bourquelot¹ је нашао емулсин код *Aspergillus niger*-а, Gerard² код *Penicillium glaucum*-а; налази се и код лишаја. Fischer и Niebel, Frouin и Thomas³, показали су да се емулсин налази у древној слузокожи разних животиња: коња, зеца, пса. Ни панкреасни сок, ни салива не садрже емулсина. Kobert је нашао емулсин код инсеката и паукова, Bierry и Ђаја код мекушаца и ракова.

Популиназа и флорициназа.

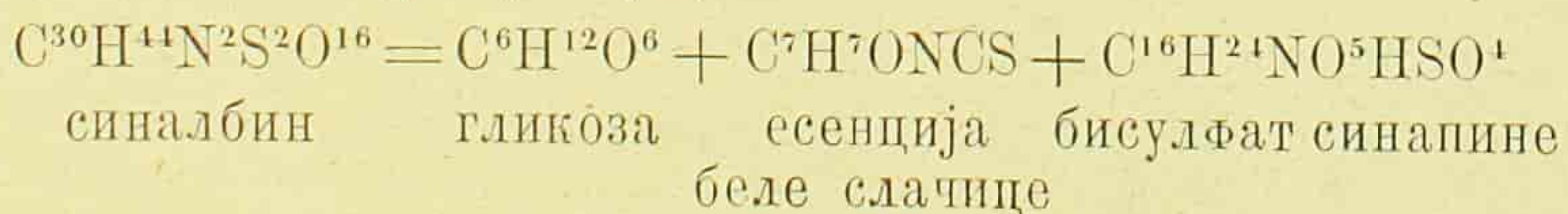
Популин и флорицин јесу два гликозида које емулсин бадема не хидролизује. У ферментској течности *Aspergillus*-а и у соку *Helix*-а налазе се пак ферменти који хидролизују та два гликозида. Ослањајући се на методе које се употребљују за разликовање фермената једних од других, долази се до закључка да су ферменти који хидролизују популин и флорицин различни од емулсина. Метода поређења говори у прилог те различности, пошто се може наћи емулсин (емулсин бадема) који не утиче на популин и флорицин. Метода делимичног разоравања даје резултате који говоре у истом смислу. Најпосле, метода брзина реакције говори такође у прилог фермената *популиназе* и *флорициназе*.

Мирозин.

Мирозин је ферменат који је нађен у семену црне слачице поред једног гликозида који је назван *синигрин*, или *миронат калијума*. Под утицајем мирозина, синигрин се претвара у гликозу, калијум-бисулфат и алилизосулфоцијанат.



Исти ферменат утиче и на *синалбин*, гликозид који се налази у белој слачици, по следећој формули:



У овој последњој реакцији нема фиксације воде, према томе у овом случају ферментска акција није хидролиза већ само рашчлањивање.

Код животиња ферменат мирозин није нађен до данас.

¹ Bourquelot. C. R. Soc. Biol. стр. 653 (1893).

² E. Gérard. C. R. Soc. Biol. 651 (1893).

³ Frouin et Thomas. Arch. internationales de Physiol. VII стр. 302 (1909).

Guignard је показао да су мирозин и синигрин локализовани засебно у извесним ћелијама биљним, тако да ферменат и тело на које овај утиче не долазе у додир један с другим у нормалним приликама. Али ако се биљно ткиво изгњечи, тада ферменат дође у додир са синигрином, и ферментска се реакција успоставља. Непозната је физиолошка улога тог фермента који је затворен у ћелији и чија се ферментска моћ не може манифестовати. Треба само констатовати једну ствар, а то је: када животиња једе биљна ткива која садрже мирозин и какав гликозид на који тај ферменат утиче, ферментска се акција успоставља и развијање љутих есенција при тој акцији узрок је те животиња оставља ту биљку. Могло би се према томе рећи да мирозин игра одбранбену улогу — кад овакво схватање не би било одвише финалистично.

III. Ферменти масти.

Липаза.

Хидролиза неутралних масти, са продукцијом глицерина и масних киселина, може се добити помоћу извесних фермената као год и помоћу водене паре прегрејане на 220° . Ако се на пример стави панкреасни сок у додир са обичним мастима које се налазе у организму (тристеарин, трипалмитин, триолеин) на згодној температури, та се тела хидролизују у глицерин и одговарајуће киселине (стеаринска, палмитинска, олеинска). Али ако се панкреасни сок претходно стави неколико тренутака на температуру од 100° , он губи своју моћ хидролизавања масти. Ферменат који хидролизује триглицериде назива се *липаза*. Панкреасни сок може да хидролизује поред триглицерида и разне ди- и моно-глицериде, и разне естере који се приближују у толико масним телима што су и ови у ствари естери триатомнога алкохола, глицерина. У те естере спадају: амил-салицилат, етил-бутират, фенил-сукцинат, метил-ацетат, салол и т. д. Али пошто има случајева да ферментске течности утичу на те простије естере а не на триглицериде, то се њихова хидролиза у неким случајевима приписује ферментима различним од липазе. Липазу је први пут нашао Claude Bernard у панкреасноме соку. Данас знамо да је тај ферменат јако распрострањен код животиња и да се слични ферменти налазе и код биља. Панкреасну је липазу у последње доба дубље изучио Е. Terroine. Оптимум температуре за њену акцију јесте око $+40^{\circ}$; на 0° њена је акција још знатна а ишчезава на $+56^{\circ}$. Загревањем на 60° за време од 5 минута, панкреасни сок губи своју липолитичну моћ; у присуству жучних соли смртна је температура знатно нижа. Панкреасна је липаза активна у неутралној, слабо киселој и слабо алкалној средини. Најугоднија је алкална реакција, једнака са $\text{Na OH} \frac{n}{150}$. Солитешких ме-

тала, алкални фосфати и карбонати, утичу на активност липазе мењајући реакцију средине. Друге пак соли (хлориди, бромиди и т. д.) убрзавају активност када се налазе у извесној концентрацији; изнад ове успоравају је. Један прави кофермент липазе није до данас нађен. Интересантно је да је оптимална концентрација NaCl за активност панкреасне липазе, од прилике она која се налази обично у цреву где је хлороводонична киселина желудачнога сока неутрализована. Жучне соли повећавају активност липазе.

У цревном соку налази се липаза слична панкреасној липази. И код нижих животиња (крустаца, мекушаца) налази се у цревном соку липолитичан фермент. Да ли постоји једна липаза желудачна, није утврђено; јер је вероватно да липаза нађена у желудачном соку није ништа друго до панкреасна или цревна липаза која би кроз пилорус доспела у желудац.

Код биља је липолитичан фермент нађен код *Aspergillus niger*-а, *Penicillium*-а и квасова. Када се истуцано зрно Рицинуса стави у додир са уљем, констатује се да ово претрпи хидролизу; Nicloux,¹ изучавајући ту појаву из близа нашао је да је цитопласма активни део зрна. Али, чудна ствар, када се тај цитопласма у одсутности уља метне у додир са водом, он губи тренутно особину да хидролизује уље и у опште своју липолитичну моћ. С тога Nicloux мисли да се у овом случају нема посла с једним правим ферментом, и дао је томе активном агенсу име *липазеидина*.

Монобутириназа.

Hanriot² је констатовао да се у крви налази један липолитичан фермент. Али у ствари, као што је показао Arthus³, то није једна права липаза, јер не утиче на неутралне масти, већ на монобутирин и неке естере нижих масних киселина (етил-формиат,...) Хидролиза ароматичних естера као што су салол, амилсалицилат, приписује се ферментима различним од липазе, али то не почива на озбиљним разлозима. Одређивање специфичности разних ферментских липолитичних акција није могуће, као год и за друге ферментне акције, да се изврши на солидној основи.

IV Ферменти беланчевина.

Пепсин.

Под утицајем фермената, као год и под утицајем киселина, протеини се могу свести на разна релативно проста тела која се веро-

¹ M. Nicloux. Contribution a l'étude de la saponification des corps gras. Paris (1906).

² Hanriot C. R. Acad. Sciences 123 стр. 753.

³ Arthus. Journal de physiologie IV 455 (1902).

ватно налазе у склопу протеинскога молекула; међу њима су најважније разне аминокиселине. У тој потпуној деградацији протеинскога молекула узимају учешћа неколико фермената који деле међу собом разне ступњеве те деградације, али чији број као год и границе њихове активности нису коначно утврђени. Ферменат који први приступа рушењу сложног протеинскога молекула, јесте *пепсин*. Њему припада желудачно варење које се врши у киселој средини желудачнога сока, и то је ферменат беланчевина на који прво налазе беланчевине. Рекли смо већ приликом ко-фермената, да је HCl прави ко-ферменат пепсина који је без те киселине неактиван, као год и да се пепсин ствара из профермента, пропепсина, под утицајем те исте киселине. Пепсин се налази у желудцу код свих виших животиња, код нижих пак има случајева да је желудачни ферменат активан само у алкалној средини, тако да се тај ферменат мора сматрати различним од пепсина. Затим, вероватно је да пепсин није истоветан код свих животиња, имајући у виду да се ти пепсини не понашају на исти начин према разним утицајима; тако на пример, оптимална концентрација HCl није иста за акцију разних пепсина. (И у нормалним приликама разни се пепсини не налазе у истој средини у погледу киселине; док је киселина желудачнога сока код човека 1,0—1,5 гр. HCl на литар, дотле сам нашао код једне морске рибе киселину 7,6 HCl на литар).

Крајни стадијум измена беланчевина под утицајем пепсина, јесу пептони. Подужим утицајем желудачнога сока на извесну беланчевину (фибрин, овалбумин итд.) констатује се да је се ова коначно претворила у продукте који се не таложе више топлотом, и који су представљени *протеозама и пептонама*. Вероватно је да су те протеозе, које се разликују од пептона по неким реакцијама таложења, заостао прелазан стадијум који може потпуно да ишчезне. У току акције пепсина посматрају се разна прелазна тела која се, напредовањем акције, све више разликују од правих беланчевина а приближују пептонама. Та се тела називају *протеозе*; међу њима се разликују: *хетеропротеозе, протопротеозе, деутеропротеозе*. Та је подела утврђена на различном понашању према агенсима таложења и могућно је да те протеозе и нису одређена хемијска тела већ мешавине више тела у разним сразмерама. Најпосле треба напоменути да се међу продуктима варења беланчевина под утицајем пепсина налази увек и извесна количина киселих беланчевина (ацидалбумина) које се таложе неутрализовањем и које су производ акције хлороводоничке киселине желудачнога сока на беланчевине. Под утицајем пепсина не ослобађају се аминокиселине.

Код биља је нађен ферменат сличан пепсину и то код такозваних биљака месождера, као што је *Drosera rotundifolia*; екстракт лишћа те биљке пептонизује беланчевине.

Трипсин.

Акција пепсина не иде никада даље од стадијума пептона, и она ни у ком случају не води ка продукцији абиуретских продуката као што су аминокиселине. Панкреасни протеолитични фермент *трипсин* утиче на исте беланчевине на које утиче и пепсин (фибрин, овалбумин итд.) и иде још даље у разоравању протеинскога молекула. Под његовим утицајем беланчевине, прошавши кроз стадијуме протеоза и пептона, разрешавају се у тела која не дају више опште беланчевинске реакције па ни биуретску. Међу тим абиуретним продуктима налазе се тирозин, триптофан, леуцин, хистидин, лизин, аргинин, аспартинска кис. глутаминска кис. итд. Kühne је мислио да се трипсином никако не могу потпуно да отклоне биуретска тела, већ да увек остају неки пептони на које трипсин не утиче, и који је назвао *антипептони*. Додније је Kutscher показао да активан трипсин може потпуно да хидролизује све пептоне и да под његовим утицајем биуретска тела потпуно ишчезавају. Fischer и Abderhalden су пак нашли да се при утицају трипсина на разне беланчевине стварају полипептиди, који су у ствари простији пептони који не дају више биуретску реакцију. Они садрже разне аминокиселине и сав фенилаланин и пролин који се налазе у молекулу беланчевине. Они одговарају антипептонима Kühne-а. Изгледа да њих трипсин није у стању да разори. Излажући их узастопце утицају пепсина и трипсина, ти се полипептиди бар делимично хидролизује уз продукцију фенилаланина и пролина (Fischer и Abderhalden).

Трипсин утиче дакле на беланчевине, протеозе и пептоне. Али је активан и на тела која су још простија од пептона, а то су синтетични полипептиди. Fischer и Abderhalden изучили су како се понашају према панкреасноме соку 29 полипептида. Као опште правило излази из те студије да су само они полипептиди хидролизоване панкреасним соком који су састављени из оптички активних аминокиселина које се налазе у природи. Затим, утичући на рацемичне полипептиде, панкреасни трипсин хидролизује само један од она два изомерна тела која састављају рацемично тело; дакле и у овоме случају, као год и за угљене хидрате, јасно је да конфигурација молекула у простору има велике важности за активност фермента. Најпосле, та је хидролиза зависна и од природе аминокиселина и од дужине ланца полипептидског молекула. „Јасно је дакле, вели Fischer, да је могућно помоћу панкреаснога сока поделити полипептиде у класе које се разликују једне од других са биолошкога гледишта“. Трипсин утиче и на парануклеопротеиде, на пр. желатин, дајући желатино-пептоне и аминокиселине; тако исто хидролизује, бар делимично, и нуклеопротеиде одвајајући протеинске молекуле и поступајући с њима на начин који смо изложили.

Акција пепсина поклапа се донекле с акцијом трипсина, пошто се беланчевине под утицајем једнога и другога фермента претварају у протеозе и пептоне. Претпоставивши да даље претварање пептона у аминокиселине врши један фермент различан од трипсина (претпоставка која вероватно одговара истини) тада би се могло посумњати у различност пепсина и трипсина чије су акције у ствари исте. Разна факта показују пак да та два фермента нису истоветна, а ту долази нарочито њихово понашање према реакцији средине. Док је пепсин активан само у киселој средини, дотле је трипсин активан у киселој, неутралној и алкалној средини, а најугоднија му је слабо алкална средина (0,5% $\text{Co}^3 \text{Na}^2$). Кисела средина од 2% HCl , врло угодна за пепсин, спречава потпуно акцију трипсина. Док је слабо алкална реакција најугоднија за први део утицаја трипсина на беланчевине, дотле је у другом делу, т. ј. у претварању пептона у аминокиселине, најугоднија неутрална средина каква је нађена у већем делу танкога црева (F. Kutscher). Тај би се факат могао узети у прилог гледишта да пептонирање беланчевина и претварање пептона у аминокиселине припада различним ферментима.

Огледи G. Schaeffer-a и Terroine-a извршени у последње доба утврђују непобитно да у панкреасном соку постоје два протеолитична фермента. Чист панкреасни сок, као што смо већ рекли, без утицаја је на праве беланчевине и постаје активан тек под утицајем ентерокиназе. Тај неактивни панкреасни сок хидролизује међутим пептоне. Затим, помоћу дијализе може се добити панкреасни сок који нема више утицаја на беланчевине чак и кад му се претходно дода ентерокиназа, док је активан на пептоне и без ентерокиназе. Према томе може се закључити да се у панкреасном соку налази један фермент сличан цревном *ерпсину*, који претвара пептоне у аминокиселине и који је активан у одсуству ентерокиназе. Тај је фермент различит од трипсина који је без утицаја у одсуству ентерокиназе.

Код биља, у проклијаноме или непроклијаноме семену, нађени су ферменти који су слични са трипсином у толико, што се под њиховим утицајем на беланчевине појављују иста тела као и под утицајем трипсина. Такви су ферменти нађени код квасова, бактерија, *Aspergillus niger*-а, *Penicillium*-а и т. д.

Папаин.

У млечном соку — латексу — *Carica papaya*-е — нађен је одавно један активан протеолитичан фермент назван *папаин*. Emmerling је показао да се под утицајем папаина фибрин претвара у албумозе, пептоне, тирозин, аргинин и разне аминокиселине: гликокол, аланин, леуцин, глутаминска кис. и аспарагинска кис. Папаин хидролизује и

синтетични глицил-1-тирозин. Једну интересантну особину акције папаина пронашао је Pozerski¹, која се састоји у овоме: када се нагло загреје до температуре кључања једна мешавина беланчевине јајета и папаина, констатује се да је за то кратко време беланчевина готово потпуно претворена у албумозе и пептоне. Та се брза акција врши у размаку температуре 80°—95°, температура која је у исто време и смртна за папаин после краткога времена.

Ерепсин.

У слузокожи танкога црева као год и у цревном соку налази се један ферменат који је без утицаја на праве беланчевине (фибрин, овалбумин, серум-глобулин и т. д.) али који хидролизује протеозе, пептоне и полипептиде као што би то учиниле вруће киселине; тај се ферменат назива *ерепсин*. Видели смо да и трипсин може да хидролизује та тела, али је његов утицај много спорији од утицаја *ерепсина*, који особично брзо претвара пептоне у абиуретске продукте. Ерепсин је активан према многобројним полипептидима, који распадањем дају аминокиселине које постоје у природним телима. Његов је утицај необично интензиван на пептоне, а слабији на протеозе; сложене беланчевине не дира као што рекосмо, али утиче на казеин и протамине.

Schaeffer и Terroine, као што смо већ напоменули, успели су да издвоје у панкреасном соку трипсин од једног фермента који по својој утицају личи на цревни ерепсин. Међутим, цревни и панкреасни ерепсин нису истовестни, судећи бар по овоме факту, да је цревни ерепсин неактиван у слабо киселој средини док је панкреасни сок у таквој истој средини знатно активан.

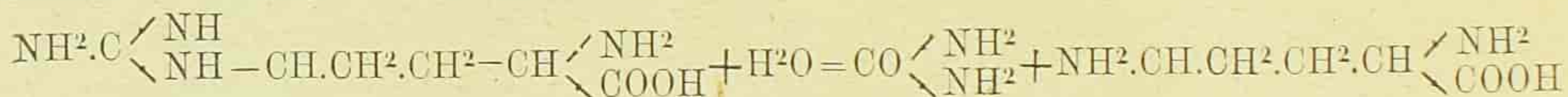
Ферменти слични цревном ерепсину, који хидролизују полипептиде, налазе се распрострањени по организму. Крвна плазма има моћ да хидролизује неколико трипептида и ди-пептид d-1-аланил-глицин. Црвена крвна зрнца могу да хидролизују неколико полипептида, док изгледа да та моћ недостаје белим зрнцима. Затим, сокови многих органа, — јетра, бубрег, мишићи, мозак, сочиво — хидролизују разне полипептиде. Код биља изгледа да су такви ферменти такође распрострањени. Сок кваса активан је према пептонима и полипептидима, тако исто и екстракт неких базидиомицета (Delezenne и Mouton). Папаин (или један ферменат који га прати) утиче на пептоне као ерепсин.

Аргиназа.

Међу продуктима распадања беланчевина под утицајем трипсина и ерепсина, налази се и *аргинин*, тело које се редовно налази као про-

¹ Pozerski. These doctorat es Sciences Paris (1908).

дукат хидролизе и простијих беланчевина као што су протамини и хистони. Под утицајем баријум хидрата, на температури кључања, аргинин се раставља у уре и диамино киселину *орнитин*. То исто врши и један ферменат *аргиназа*, доста распрострањен у организму, који су нашли Kossel и Dakin.¹ Аргиназа је нађена у цреву, јетри, бубрегу, мишићима. Реакција коју производи јесте следећа:



Као што се види, у овој ферментској акцији појављује се уре, а у томе облику највећа количина азота оставља организам. Под утицајем фермената: пепсина, трипсина, и ерепсина, беланчевине се деградују до стадијума аминокиселина. Под утицајем аргиназе појављује се чак и уре, који је један од крајњих продуката метаболизма беланчевина кроз организам и којег овај не може да употреби на своје енергетичне сврхе.

Уреаза.

У мокраћи изложеној ваздуху, уре се претвара у амонијак и CO_2 . У томе се састоји амонијакално превирање мокраће. Pasteur је показао да стерилна мокраћа не превире, већ да се то превирање успоставља тек пошто је мокраћа била изложена слободном ваздуху. Van Tieghem је утврдио да су тој појави узрок микроорганизми а нарочито *Micrococcus ureae*. Чисте културе тог микроорганизма претварају растворен уре у CO_2 и амонијак. Данас знамо да *Micrococcus ureae* врши ту реакцију помоћу једног фермента као год што квас превире алкохол.

Тај је ферменат, *уреазу*, нашао Musculus у мокраћи која је претрпела амонијакално превирање. Moll је изоловао тај ферменат из чистих култура *Micrococcus ureae* таложењем помоћу алкохола. Уреаза није од најбоље познатих фермената; зна се пак да је тај ферменат веома осетљив према топлоти и реагенсима која не разоравају већину фермената; толуол, хлороформ, кисеоник, алкохол, разоравају више или мање уреазу.

Нуклеазе.

Док пепсин и трипсин могу да издвоје од нуклеопротеида протеиде које ове садрже и да с њима поступају на начин на који смо већ видели да ти ферменти поступају са беланчевинама, дотле су они без утицаја на протетичну групу нуклеопротеида — на нуклеинске киселине. Један ферменат, можда и више фермената, који су названи *нуклеазе*, и који су различни од пепсина, трипсина и ерепсина, активни су према нуклеинским киселинама. Нуклеаза је нађена код кваса (Béchamps)² и у екстракту разних органа. Под њеним утицајем

¹ Kossel und Dakin, Z. f. phys. Chem. 41, 321, (1904).

² Béchamps. C. R. (1865).

нуклеинска се киселина разрешава у више тела међу којима се налазе нарочито пуринске базе и фосфорна киселина, које су карактеристичне за нуклеинске киселине. Изгледа да се нуклеазе не налазе у соковима већ само у ткивима; тако на пр. панкреасни сок не садржи нуклеаза али се такав ферменат налази у панкреасноме ткиву као год и у цревној слузокожи. Према томе јасно је да се њихова акција манифестује нарочито при аутолизи органа када ферменти ткива, ослобођени, играју своју улогу на рачун самог ткива који их је садржавао.

Оксидазе.

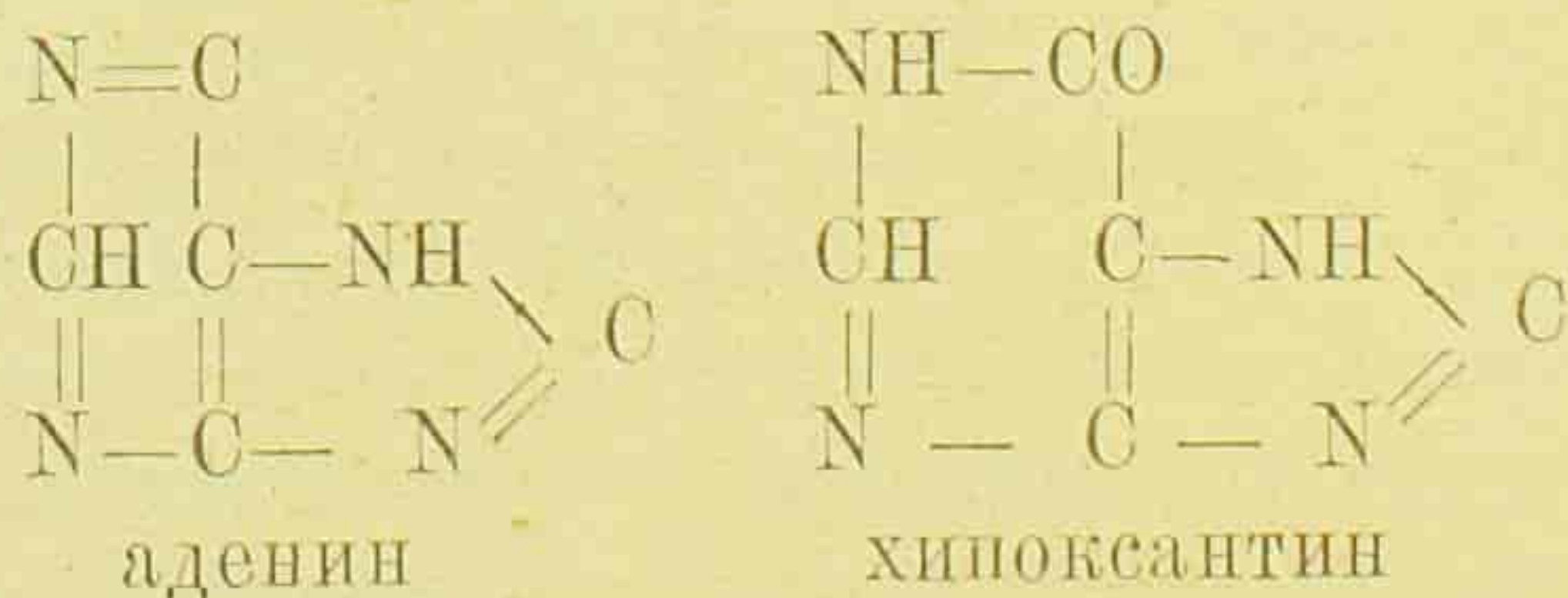
Под именом *оксидаза*, груписани су разни ферменти који по својој ферментској акцији свакако не представљају једну целину као што то чине ферменти који хидролизују — *хидролазе*. Док код ових последњих акција се своди на један исти процес, а то је хемијска реакција позната под именом хидролизе, дотле код оксидаза изгледа да се у разним случајевима слични резултати постижу различним процесима. Код правих оксидаза ферменат оксидише помоћу ваздушног кисеоника; код других оксидаза, *пероксидаза*, оксидисање се врши само посредно преко једног пероксида који даје „*активни кисеоник*“ и који једини служи за оксидацију у тим случајевима. Мисао коју су изложили Bach и Chodat да и праве оксидазе дејствују помоћу неког непознатог органског пероксида, није нашла довољно потврде у експерименталним фактима, тако да за сада бар морамо имати у виду два механизма у акцијама оксидишућих фермената: непосредно оксидисање на рачун ваздушног кисеоника и оксидисање на рачун пероксидног кисеоника. У овом последњем случају, оксидаза је у исто време и редукујући ферменат пошто редукује пероксид, а можда се једино у томе и састоји њена ферментска акција. Треба затим и ово напоменути, пре него што приступимо кратком излагању факата која се односе на оксидазе, да је за више оксидаза ферментска природа јако оспорљива. У многим случајевима добива се помоћу неорганских катализатора квалитативно иста реакција која се добива помоћу фермената у истим погодбама, тако да се често питање намеће да ли су оксидазе прави ферменти или су само подстрекачи једне каталитичне реакције. Ово је последње мишљење Bertrand-а који сматра да у ферментској акцији једног оксидишућег фермента, *лаказе*, главну улогу игра манган, док би ферменат, т. ј. органско тело које се разорава топлотом, допуњавао само улогу првога. О томе смо већ говорили приликом ко-фермената. Када би се неке ферментске акције могле свести на чисто каталитичне акције, не би требало закључити из тога да оне нису ферментске природе и одвојити их од оних које носе то име, само с тога што нам је

њихова природа непозната. Већ на против, требало би циљати да се и остале ферментске акције сведу на исти начин. То је у ствари учинио Bertrand откривши велику важност неорганских катализатора у акцијама оксидаза. Данас знамо да су разна неорганска тела од неопходне потребе за функционисање многобројних фермената. Само што у многим случајевима не може се приписати том неорганском телу већу важност него ли органској материји фермената, као што се то може учинити за неке оксидазе, из узрока, што то тело само, не поседује ни у најмањој мери карактеристичну особину фермента. На пример, панкреасна је амилаза активна само уз присуство натријум-хлорида. Овај јој је неопходно потребан али се ипак не може он сматрати као главни фактор у хидролизи штирка под утицајем амилазе, јер натријум хлорид сам без икаквог је утицаја на штирак у том погледу. И ако је до данас студија оксидаза дала многе појмове који су пренети на схватање фермената у опште, не треба заборавити да та врста фермената садржи представнике који се знатно удаљују од правог типа фермента, као што су на пр. ферменти који у одсутности киселина хидролизују тела која се често тешко хидролизују и под утицајем самих киселина (манане, галактане и т. д.).

I. Оксидазе ксантијских тела.

Оксидазе ксантијских тела (пуринских база) јесу ферменти који оксидишу разна ксантијска тела као што су аденин, гуанин, ксантин, хипоксантин, урска киселина и т. д. Видели смо већ да су ксантијска тела главни саставни део нуклеинских киселина. Ферменти ксантијских тела интересантна су нарочито са физиолошког гледишта, јер се помоћу њих мање оксидисана ксантијска тела претварају у урску киселину, претварање које бива и у организму.

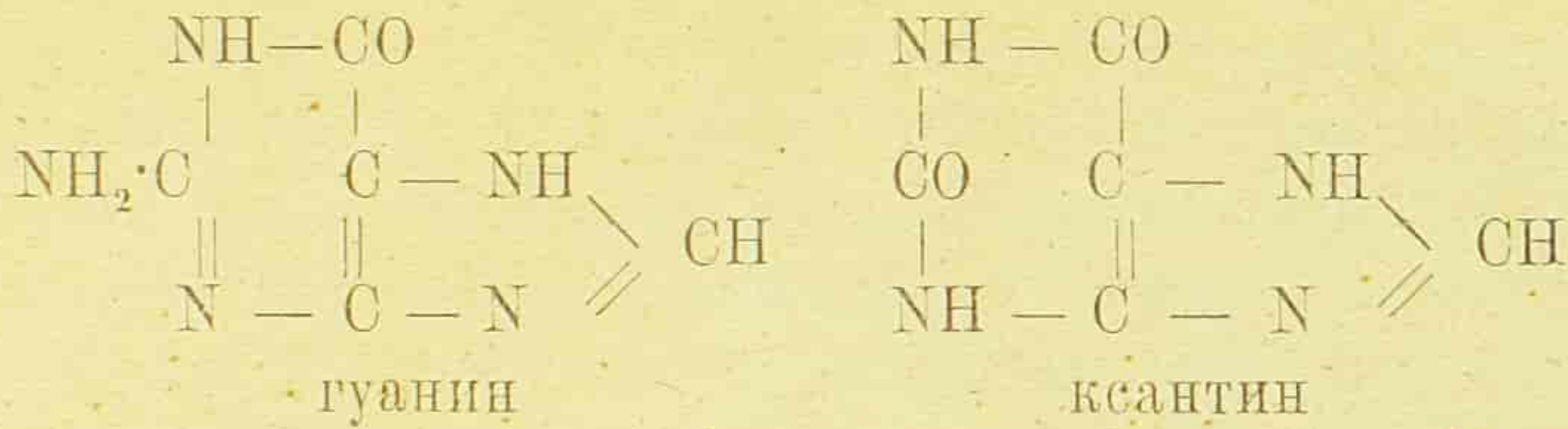
Аденаза је ксанто-оксидаза аденина кога претвара оксидисањем у хипоксантин.



Аденазу је нашао Schittenhelm¹ у слезини; данас пак утврђено је да се такав фермент налази готово у свима организмима.

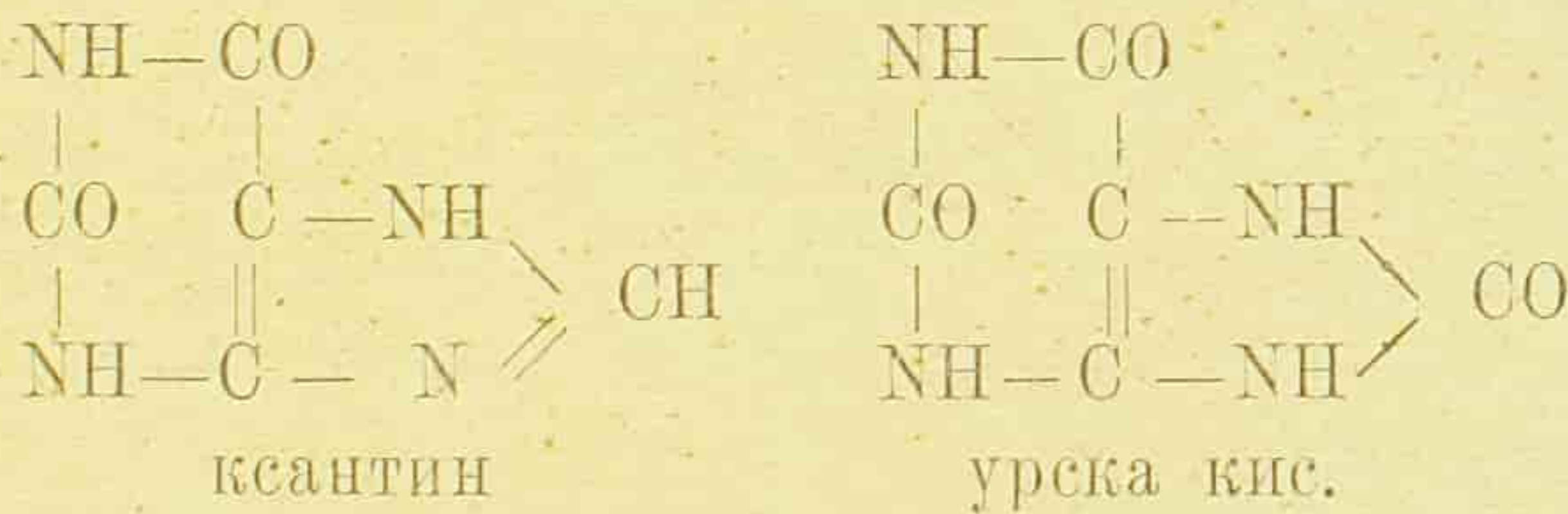
Гуаназа је фермент који оксидише гуанин и претвара га у ксантин:

¹ Schittenhelm phys. Ch. 42, 251 (1904).



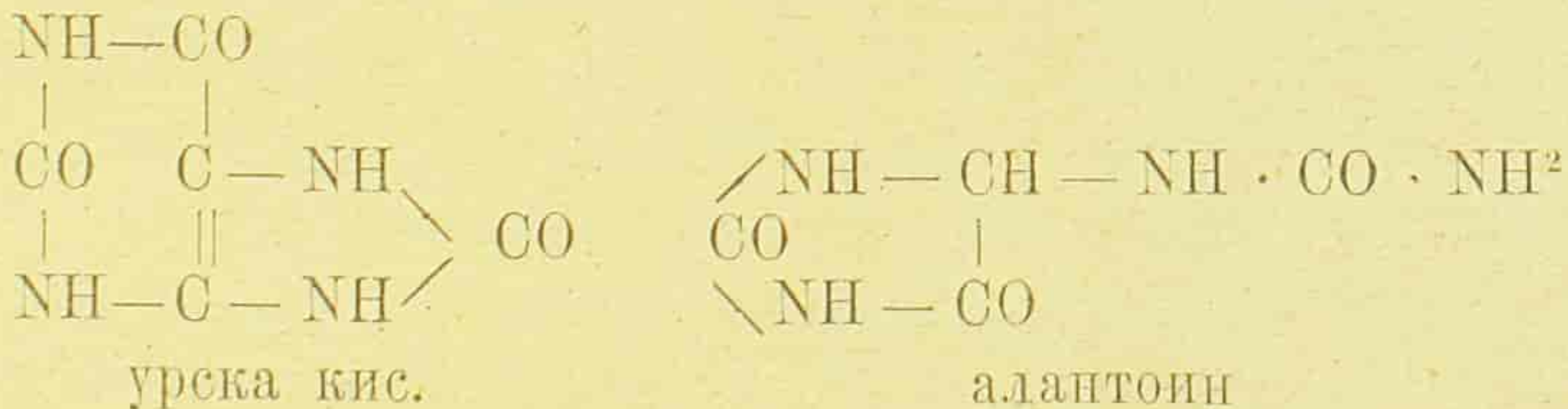
Гуаназа се обично налази поред аденазе и Schittenhelm мисли да је то у ствари један исти ферменат. Међутим Jones је нашао у слезини свињчета аденазу без гуаназе, а у јетри пса гуаназу без аденазе. По истоме истраживачу, гуаназа, аденаза и ксантооксидаза, јављају се једна за другом код ембриона свињчета и према томе биле би специфични ферменти.

Ксантооксидаза претвара ксантин и хиноксантин у урску киселину.



Налази се обично поред аденазе и гуаназе (изузевши у горенаведеним случајевима) у многим органима и ткивима.

Уриказа. Jacoby, Wiener и Wieschowski показали су да постоји један ферменат који је кадар да претвори урску киселину у алантоин, тело које нема карактеристично хемијско језгро пуринских база.



Уриказа се налази нарочито у јетри и слезини коња и вола, али се налази у мањим количинама и у осталим органима. Не налази се у бубрезима зеца али у бубрезима човека и коња налази се уриказа.

II Фенолске оксидазе.

У ову класу спадају оксидазе које оксидишу тела са фенолним језгром. Те се оксидазе могу поделити у две групе, према томе да ли утичу на моно — или на дифеноле.

Дифенолске оксидазе. Њихово се присуство констатује на пример помоћу гуајака кога боје плаво; под њиховим утицајем гуајакол (монометилетер пирокатехина $\text{C}_6\text{H}_4 \begin{array}{l} \diagup \text{OCH}^3 \\ \diagdown \text{OH} \end{array}$) се претвара у тетрагуајакокинон који се таложи у облику црвенкастих кристала. Фенолфталин под утицајем оксидаза претвара се у фенолфтален,

пирогалол у пурпурогалин, хидрокинон у кинон и кинхидрон. На основу неких од ових реакција, оксидазе су нађене у крви и то у леукоцитима (Portier), у човечјој саливи, у крви мекушаца итд. Помоћу индофенолске реакције (оксидација мешавине α -нафтола и *p*-фенилендиаминa, попраћена плавим бојењем) Schultze је нашао оксидазе у ткивима само онде где су се налазили леукоцити. Оксидазе дифенола нађене су у више случајева код биља, али је само у једном случају такав ферменат дубље испитан. *Лаказа*, оксидишући ферменат дифенола, био је предмет свестраног изучавања, и на тим резултатима су основани извесни нови погледи не само на оксидишуће ферменте, већ на ферментске акције у опште (ко-ферменти Bertrand-a). Лаказу је пронашао Bertrand¹ у биљном соку, латексу, дрвета *Rhus succedanea*. Тај сок чим дође у додир са ваздухом, потамни и на његовој површини начини се тврда кора која штити остатак латекса. Из тог латекса може се одвојити једно зелтинасто тело које се раствара у алкохолу али се не раствара у води, које одаје од себе надражљиву и опасну пару. То је тело *лакол*. У води, у облику емулсије, *лакол* је беле боје и остаје непроменљив у додиру са ваздухом. Али ако му се дода врло мала количина талогa добивена помоћу алкохола из латекса, тада оно одмах мења боју, потамни и поцрни и то нарочито брзо ако се меша у присуству ваздуха. У одсуству пак ваздуха нема никакве промене боје. Најзад, ако се онај алкохолни талог прокува у воденом раствору пре него што се дода *лаколу*, овај не мења боју у његовом додиру. Из тога је Bertrand закључио да се промена посматрана на *лаколу* састоји из једне оксидације и да ова бива под утицајем једног фермента, који је назвао *лаказа*. Поменули смо већ приликом ко-ферментата, да је Bertrand констатовао да *лаказа* садржи редовно мангана, и да је њена активност сразмерна са количином тог метала. Код неких оксидаза манган је замењен гвожђем; то је случај за оксидазу из *Schinus molle* и за оксидазу кромпира. *Лаказа* утиче нарочито на полифеноле, пирогалол, хидрокинон и т. д. док је њен утицај на монофеноле слаб. Док су орто и парафеноли лако оксидисани од *лаказе* дотле је тај ферменат без утицаја на мета-феноле, као што су флороглицин и метамидофенол.

Тирозиназа.

Код биљака и животиња нађен је ферменат који оксидише тирозин и друга многобројна тела која поседују једно фенолно ОН. Тај су ферменат Bertrand и Bourquelot назвали *тирозиназа*, а нашли су га код неких печурака као што су *Russula delica* и *Agaricus melleus*. Тирозиназа се налази и у мекињама и она је узрок карактеристичне боје „црног“ хлеба. Многи биљни сокови имају особину да поцрне

¹ Bertrand, Bull. soc. chim. XIII 362 (1895).

у додиру са ваздухом (сок репе, кромпира итд. *Russula nigricans*). Та промена боје бива под утицајем тирозиназе која се може из њих издвојити таложењем помоћу алкохола. Више факата говоре у прилог различности тирозиназе и лаказе. Докле је тирозиназа потпуно разорена грејањем на 60—70° већ после 10 минута, дотле је лаказа још активна после 20 часова грејања на истој температури. Затим, лаказа је без утицаја на тирозин.

Црна обојеност хемолимфе лепидоптера, у додиру са ваздухом, јесте по v. Fürth-у и Schneider-у резултат акције једне тирозиназе. Сличан је ферменат нађен код *Sepia officinalis* у кеси која садржи црну течност „мастило“, код *Astacus*-а и код лутке *Deliphila*. Изгледа да тирозиназе играју знатну улогу у произвођењу животињских пигмената и меланина.

Кластазе.

Зимаза.

Алкохолно вреће које је дуго времена сматрано као једна витална појава чврсто скопчана са животом квасне ћелије, сведено је на једну чисту ферментску акцију онога дана када је Buchner успео да из кваса извади сок који не садржи квасних ћелија а под чијим утицајем шећер превире у CO² и алкохол. Ранији покушаји да се из кваса извади такав ферменат, нису били успешни из узрока што је тај ферменат чврсто везан за свој живи субстратум од којег се не може одвојити употребом обичних средстава за одвајање фермената. Buchner је извадио из кваса ферменат алкохолнога врећа, *зимазу*, подвргнувши квас који је претходно истуцан уз присуство кварцног песка и Kieselgur-а, притиску од 400-500 атмосфера. Добивена се течност потпуно ослободи ћелија филтровањем кроз свећу Chamberland, и из ње се сталожил зимаза мешавином алкохола и етера.

Зимаза је врло осетљив ферменат и брзо се разорава у воденом раствору. Оптимум температуре за њену акцију јесте око 30°. На температури од 45° разорава се врло брзо.

Рекли смо већ да зимаза потребује за своју акцију један коферменат којег топлота не разорава и који је по свој прилици један фосфат или можда органско јединење које садржи фосфора. Зимаза превире само извесне шећере: на првом месту хегзозе: d-гликозу d-фруктозу, d-манозу и d-галактозу, затим диоксиацетону (Jensen) и шећер са девет угљеника манонозу. Без утицаја је на пентозе и остале хегзозе. Сложени сахариди могу да превире само пошто су претходно хидролизоване у хегзозе на које зимаза утиче.

Главна хемијска појава алкохолног врећа може се представити следећом формулом



Она исказује само крајњи резултат акције зимазе али је несумњиво да се та реакција не врши тако просто и од једном, већ преко посредних ступњева. Зна се одавна да се поред CO^2 и алкохола стварају и знатне количине глицерина и ђилибарске киселине за време превирања шећера под утицајем квасова. Међутим, изгледа да је данас утврђено да ти продукти не стоје у вези са акцијом зимазе већ се надовезују за какав други процес коме је седиште жива квасна ћелија.

По Buchner-у и Meisenheimer-у¹, под утицајем зимазе, шећер се најпре претвара у млечну киселину пак тек ова у CO^2 и алкохол. По Стокласи само би ова друга реакција припадала зимази а прву би проузроковао други ферменат *лактолаза*. По Jensen-у главни би посредни производ у алкохолноме врењу био диоксиацетон $\text{CH}^2 \text{OH} - \text{CO} - \text{CH}^2\text{O}$ који би се затим разрешавао у CO^2 и алкохол.

Зимаза је врло распрострањен ферменат нарочито код нижих биљака, квасова и гљива. Код виших биљака, Стокласа је нашао у разним биљним органима ферменат који необично брзо превире глицозу и фруктозу. Није утврђено да ли такав ферменат постоји и код животиња.

Пероксидазе.

Многа ткива, биљна и животињска или њихови екстракти, имају особину да проузрокују оксидације које смо видели да проузрокује лаказа, али само у присуству водоникпероксида (H^2O^2). Док лаказа оксидише разна тела ваздушним кисеоником, дотле *пероксидазе* могу да оксидишу само кисеоником каквог пероксида. Према томе, пероксидазе су пре редукујући ферменти јер се њихова ферментска акција састоји у редукцији пероксида а оксидације бивају тек под утицајем тог ослобођеног *активног кисеоника*. С тога смо их уврстили у кластезе т. ј. у ферменте који растављају. Када се хоће дакле да констатује присутност или одсутност једне пероксидазе у каквој течности, треба додати извесну количину пероксида ($\text{H}^2 \text{O}^2$) и фенолско тело на коме треба да се изврши оксидисање (обично се употребљује свеж раствор гујакове смоле). Пероксидазе се разликују управо по тој потреби пероксида, од правих оксидаза, као што су лаказа и тирозиназа које су активне и у одсутности пероксида. Ако напоменемо да се алкохолан раствор гујака временом сам пероксидише, тада је јасно да се употребом таквих раствора гујака може закључити у извесним случајевима да постоји права *оксидаза*, док се у ствари има посла са једном *пероксидазом*.

Пероксидазе су веома распрострањене у биљном свету. Налазе се без мало у свим ткивима. Код животиња су такође врло распрострањене пероксидазе. Помоћу реакције оксидисања мравље кисе-

¹ Buchner und Meisenheimer Chem. Ber. 37, 417; 39,3201. (1906).

лине, Battelli и Stern су нашли пероксидазе у свим органима, али је пероксидаза нарочито активна у ткиву јетре и бубрега. Држало је се да и крв садржи пероксидазу јер у присуству водоникпероксида даје са гујаком плаву боју. Међутим, по von Fürth-у и Czychlarz-у и по Battelli-у и Stern-у, ту би оксидацију проузроковао сам хемоглобин или хематин.

Пероксидазе се разликују од правих оксидаза и по томе што се теже разоравају топлотом. Затим су пероксидазе мање осетљиве према киселинама од оксидаза. Таложе се алкохолом из водених раствора.

Каталазе.

Екстракти извесних животињских ткива и органа имају моћ да претварају водоникпероксид у воду и молекуларни кисеоник. Та је акција ферментске природе и ферменти који је проузрокују називају се *каталазе*. Ти ферменти разликују се од пероксидаза у томе што нису оксидишући ферменти; при њиховом утицају на пероксид развија се молекуларан, неактиван кисеоник.

Сва свежа биљна и животињска ткива имају особину да редукују водоникпероксид у извесној мери, према томе може се рећи да се каталаза налази у свим ткивима. Међутим, извесна се ткива и органи истичу међу осталим, својом нарочито јаком акцијом према водоникпероксиду. На првоме месту долази масно ткиво, сало свињчета, чији водени екстракт нагло раставља H_2O_2 . Затим, каталаза се налази и у јетри у знатним размерама. Мозак је орган међу најсиромашнијим у погледу каталазе.

Код биљака је каталаза нађена код најразличнијих представника тог царства. Нађена је код квасова и код многобројних бактерија.

Коагулазе.

У ову се групу увршћују ферменти који производе коагулисање — сирење, згушњавање, — разних тела; ти ферменти имају заједничкога само тај крајњи резултат њихове акције која може бити различне природе. Акција лаб-фермента и фибрин-фермента јесу у ствари хидролизе. Према томе та би два фермента била такође на своме месту међу хидролазама. Позабавићемо се овим коагулазама: лаб-ферменат, фибрин-ферменат и пектаза.

Лаб-ферменат.

Налази се у сиршћу младих преживара, у желудачноме соку осталих сисара и код неких биљака (сок смокве, *Galium vegetum*-а итд.). Под његовим утицајем млеко се издваја у два дела: у усирену масу и у водњикаву течност, лактосерум. Сирење млека под утицајем лаб-

фермента различно је од згушњавања које се добива помоћу киселина. Оно се нарочито састоји у промени казеиногена, беланчевине млека, под утицајем лаб-фермента. Усирена маса не садржи казеиногена, већ једну беланчевину која се не налази у млеку, сличну казеиногену али која се од ове битно разликује поглавито по томе што редовно садржи калцијума. У лактосеруму пак нема казеиногена али има поред лактальбумине и лактоглобулине које се налазе у млеку, једна беланчевина карактеристична лактосерума, која има особине протеоза и која се назива *лактосерумпротеоза*. То је тело један од производа растављања казеиногена под утицајем лаба, а други је усирена беланчевина. — У томе растављању састоји се улога лаб-фермента, али оно пак није довољно да проузрокује сирење. Јер, ако се млеко ослободи својих растворених кречних соли помоћу амонијум оксалата, тада се под утицајем лаба млеко не сире и ако је казеиноген претрпио распадање у лактосерум-глобулин и беланчевину карактеристичну усирене масе, — параказеин. Ако се таквом „оксалатованом“ млеку који је био изложен утицају лаба дода вишак једне растворене кречне соли, оно се спонтано сире, чак и кад је лаб претходно разорен топлотом. Дакле из овога излази да лаб-ферменат не игра непосредну улогу у сирењу млека. Његова се улога састоји у претварању казеиногена у параказеин и лактосерумглобулин. Под утицајем кречних соли, вероватно јединећи се с њима, параказеин се претвара у сир; за ову последњу промену лаб-ферменат није потребан.

Фибрин-Ферменат.

Тај ферменат, који се појављује у крви када се ова течност не налази више у својој физиолошкој средини, узрок је појави познатој под именом сирења крви. У овој појави као код и у сирењу млека ферментска се акција састоји у хемиској промени једне беланчевине. Под утицајем фибрин-фермента, *фибриноген*, глобулина растворена у крви претвара се у нерастворљиву беланчевину *фибрин*, која у мрежу својих конаца повуче крвна зрна. У томе се поглавито састоји сирење крви. Ферментска се акција састоји дакле у претварању фибриногена у фибрин. Несумњиво је да се та промена, као год и у сирењу млека, састоји у једном раздвајању беланчевине на коју утиче ферменат; јер се мање налази фибрина од несталог фибриногена и у исто се доба појављује једна беланчевина, *фибриноглобулина*, која се није налазила у крви пре сирења. (У последње доба ово је последње порицано). Из свега тога јасно је да постоји извесна сличност између сирења крви и млека; али постоји и једна битна разлика, а то је да лаб-ферменат не може да произведе сирење млека без кречних соли, док ове нису потребне за акцију фибрин-фермента. Међутим, кречне су соли ипак неопходно потребне и за сирење крви, само што играју своју улогу

на другоме месту а то је у стварању самога фермента на рачун про-фермента, као што смо то изложили приликом ко-фермената. Про-ферменат фибрин-фермента, има своје порекло у крвним плочицама и белим зрнима. Када се крв налази у анормалној средини, ти крвни елементи луче профибрин-ферменат који се под утицајем калцијумових соли које се налазе у крвноме пласми, претвара у фибрин-ферменат. Да би објаснили факат да се крв брже сире када је била у додиру са ткивима ране и да у опште екстракти свих органа убрзавају сирење крви, Morawitz,¹ Fuld и Spiro дају места још једноме фактору у сирењу крви кога називају *тромбокиназа* или *цитозим*. Тромбокиназа би поред кречних соли била неопходно потребна за претварање профибринфер-мента у ферменат; то тело би се налазило у фигурисаним крвним еле-ментима и у екстракту разних органа.

Пектаза.

Под утицајем пектазе, пектини се згушњавају. Тај је ферменат нашао Fremy код разнога воћа. Хемијска природа његове акције није добро позната. Добро је утврђено да пектаза није активна без кречних соли (Bertrand и Mallèvre).



¹ Morawitz. Ergebnisse der Physiologic (1905).

САДРЖАЈ

	СТРАНА
Увод	
I Хемијски састав фермената	6
II Ко-ферменти	8
III Утицај температуре на ферменте	15
IV Утицај разних тела на ферменте	16
V Електричан пренос фермената	17
VI Ферменти и дијализа	17
VII Филтровање фермената	18
VIII Ферменти и стереохемијска грађа	19
IX Специфичност фермената	23
X Еволуција ферментске функције	27
XI Ферментско прилагођавање (адаптација)	31
XII Улога фермената у варењу	33
XIII Покушај рационалне номенклатуре фермената	35
Хидролазе	38
Оксидазе	61
Кластазе	65
Коагулазе	67
