

Dietmar Possner

ENZYMOLOGIE DES AEPFELSAEUREABBAUS
IN TRAUBENBEEREN

Diplomarbeit Universität Zürich (1980)

ausgeführt unter der Leitung von

Herrn Dr. H.P. Ruffner

und

Frau Prof. Dr. D. Rast

INHALTSVERZEICHNIS

I. Einleitung	1
II. Material und Methoden	4
1. Beerenmaterial	4
2. Extraktion der Enzyme	4
3. Messung der Enzymaktivitäten	5
4. Reinigung des Malatenzyms	7
Fraktionierte Ammoniumsulfatfällung	7
Säulenchromatographie	7
Isoelektrofokussierung	8
5. Proteinbestimmung	11
6. Identifikation des Reaktionsprodukts	12
7. Dünnschicht-Gelfiltration	12
8. Stabilitätstests	13
	14
9. Applikation von Saccharose-U- C an grüne und reifende Beeren	13
10. Extraktion und Auftrennung der Stoffwechselprodukte	15
11. Radioaktivitätsbestimmungen	16
III. Resultate	18
A. Extraktion, Reinigung und Eigenschaften des NADP-Malatenzyms	18
1. Versuche zur Optimalisierung der Malatenzym-Extraktion aus Trauben- beeren	18
Puffer und Detergens	18
Detergenskonzentration	21
Schutz vor Oxidationsreaktionen	22
2. Reinigung des NADP-Malatenzyms	23
3. Eigenschaften des NADP-Malatenzyms	32
a) Identifikation	32
b) Verhalten gegenüber Ionen	34
c) Kinetische Untersuchungen am gereinig- ten Malatenzymextrakt	36

d) Einfluss des pH-Werts auf Aktivität und Affinität des Enzyms	42
e) Einfluss von Pyruvat auf die Malat- decarboxylierung	43
f) Molekulargewicht des NADP-Malatenzyms	44
g) Lagerfähigkeit des Enzymextrakts	45
h) Schematische Darstellung der Charak- teristika von NADP-Malatenzym aus Traubenbeeren	46
B. Physiologische Versuche zum Malatstoff- wechsel in Traubenbeeren	47
IV. Schlussfolgerungen und Diskussion	49
V. Zusammenfassung	53
VI. Literaturverzeichnis	55