

Über die Hefekatalase.

Von

W. Issajew.

(Mitteilung aus dem Laboratorium für Technologie der Kohlehydrate des Polytechnischen Instituts zu Warschau.)

(Der Redaktion zugegangen am 22. April 1905.)

Die unten beschriebenen Versuche ¹⁾ sind eine Ergänzung der in dieser Zeitschrift ²⁾ schon mitgeteilten. Sie berühren hauptsächlich die Frage nach der Wirkung einiger Substanzen auf die Reaktion der Wasserstoffsuperoxydzerersetzung. In der ersten Mitteilung wurden Versuche mit KH_2PO_4 und H_2SO_4 angeführt. Es zeigte sich, daß dieses Salz nur die Größe der Konstanten ändert, es wirkt also katalytisch, die Schwefelsäure dagegen den Gang der Konstanten und zwar deren Verminderung bewirkt. Die Ursache davon liegt in der allmählichen Vernichtung des Enzyms, wie weiter gezeigt werden soll.

Wie KH_2PO_4 verhalten sich andere Salze und Alkalien, wie H_2SO_4 — andere Säuren. Die Versuche wurden im allgemeinen in der früher beschriebenen Weise ausgeführt.

1. Einfluß der Salze.

Über den Einfluß von KH_2PO_4 auf die Reaktion wurden schon einige Daten mitgeteilt. Hier seien nur Mittelgrößen der Konstanten wiedergegeben.

KH_2PO_4 ^{1/136} bis ^{5/136} molar: H_2O_2 ^{1/147} molar.

	Ohne Zusatz	KH_2PO_4 ^{1/136} mol.	KH_2PO_4 ^{2/136} mol.	KH_2PO_4 ^{3/136} mol.	KH_2PO_4 ^{4/136} mol.	KH_2PO_4 ^{5/136} mol.
Kon- stante	0,01119	0,01161	0,01201	0,01169	0,01088	0,01063

¹⁾ Gemeinschaftlich mit Herrn stud. A. Lerman ausgeführt.

²⁾ Bd. XLII, S. 102, 1904.

Es ist interessant, daß dieses Salz ebenso wie NaH_2PO_4 ungeachtet deren saurer Natur für die Katalase ganz unschädlich ist, d. h. die letztere nicht zerstört, im Gegensatz zu starken Säuren.

Die Versuche mit K_2HPO_4 zeigen, daß dieses Salz auch bei stärkeren Konzentrationen günstig auf die Reaktion der Wasserstoffsuperoxydzerersetzung einwirkt, wahrscheinlich infolge der Abwesenheit von H-Ionen und größerer Menge von K-Ionen.

K_2HPO_4 $1/174$ bis $5/174$ molar; H_2O_2 $1/147$ molar.

Min.	Ohne Zusatz		$1/174$ K_2HPO_4		$2/174$ K_2HPO_4	
	KMnO_4	0,4343 K	KMnO_4	0,4343 K	KMnO_4	0,4343 K
0	27,2		27,2		27,2	
5	24,2	0,01015	23,5	0,01270	23,3	0,01344
10	21,0	0,01123	20,3	0,01270	20,4	0,01249
20	17,0	0,01021	15,5	0,01221	15,5	0,01221
30	13,4	0,01024	11,7	0,01224	11,6	0,01234
40	10,4	0,01043	9,0	0,01201	9,1	0,01188
60	6,5	0,01036	5,0	0,01226	4,9	0,01241
Mittelkonstante		0,01028		0,01235		0,01246

Min.	$2/174$ K_2HPO_4		$4/174$ K_2HPO_4		$5/174$ K_2HPO_4	
	KMnO_4	0,4343 K	KMnO_4	0,4343 K	KMnO_4	0,4343 K
0	27,2		27,2		27,2	
5	23,5	0,01270	23,8	0,01159	24,0	0,01087
10	20,6	0,01207	20,7	0,01186	20,9	0,01142
20	16,0	0,01152	16,3	0,01112	16,7	0,01059
30	12,0	0,01184	12,5	0,01125	13,0	0,01069
40	9,3	0,01165	9,6	0,01130	9,9	0,01097
60	5,4	0,01170	5,7	0,01131	6,0	0,01096
Mittelkonstante		0,01191		0,01140		0,01091

Man sieht, daß bei der stärksten der angewandten Konzentrationen — 0,5% — die Reaktion noch schneller verläuft, als ohne Salz, obgleich schon erheblich langsamer, als bei ge-

ringeren Konzentrationen. Die Optimalkonzentration liegt in unseren Bedingungen bei $0,2\% = \frac{2}{174}$ molar.

Die Versuche mit NaH_2PO_4 und Na_2HPO_4 bestätigen den Satz von der Existenz einer Optimalkonzentration für jedes Salz und von der Erhaltung der ersten Ordnung der Reaktion. Es zeigte sich zugleich, daß NaH_2PO_4 überhaupt schädlich wirkt, denn bei allen angewandten Konzentrationen, sogar den schwächsten, verläuft die Reaktion langsamer, als ohne Salz. Im Falle von Na_2HPO_4 erscheint die Optimalkonzentration deutlich. Diese Tatsachen zeigen, daß die Abwesenheit von H-Ionen wichtig ist und daß Na-Ionen, wie auch andere Versuche beweisen, für die Reaktion nicht besonders günstig sind.

NaH_2PO_4 $\frac{1}{200}$ bis $\frac{1}{40}$ molar; H_2O_2 $\frac{1}{138}$ normal.

Min.	Ohne Zusatz		$\frac{1}{200}$ NaH_2PO_4		$\frac{1}{160}$ NaH_2PO_4	
	KMnO_4	0,4343 K	KMnO_4	0,4343 K	KMnO_4	0,4343 K
0	29,0		29,0		29,0	
5	24,4	0,01500	24,6	0,01429	25,0	0,01289
10	20,7	0,01464	21,2	0,01361	22,3	0,01141
20	14,5	0,01505	15,1	0,01417	17,3	0,01122
30	10,1	0,01526	10,8	0,01430	13,0	0,01161
40	7,0	0,01543	7,4	0,01483	10,4	0,01123
60	3,6	0,01510	4,0	0,01434	6,3	0,01105
Mittelkonstante		0,01508	0,01425		0,01139	

Min.	$\frac{1}{120}$ NaH_2PO_4		$\frac{1}{80}$ NaH_2PO_4		$\frac{1}{40}$ NaH_2PO_4	
	KMnO_4	0,4343 K	KMnO_4	0,4343 K	KMnO_4	0,4343 K
0	29,0		29,0		29,0	
5	24,8	0,01359	25,4	0,01151	26,3	0,00849
10	21,9	0,01220	22,5	0,01102	24,6	0,00715
20	16,9	0,01172	17,4	0,01109	19,5	0,00861
30	12,6	0,01206	13,2	0,01139	15,9	0,00870
40	9,9	0,01166	10,5	0,01103	13,2	0,00854
60	6,0	0,01140	6,3	0,01105	10,3	0,00749
Mittelkonstante		0,01210	0,01118		0,00836	

Na_2HPO_4 $\frac{1}{80}$ bis $\frac{1}{5}$ molar: H_2O_2 $\frac{1}{140}$ normal.

Min.	Ohne Zusatz		$\frac{1}{80}$ Na_2HPO_4		$\frac{1}{40}$ Na_2HPO_4	
	KMnO ₄	0,4343 K	KMnO ₄	0,4343 K	KMnO ₄	0,4343 K
0	28,5		28,5		28,5	
5	24,4	0,01349	23,3	0,01749	23,7	0,01601
10	20,8	0,01367	18,8	0,01807	19,4	0,01670
20	14,5	0,01467	12,0	0,01878	13,0	0,01704
30	11,1	0,01365	7,9	0,01857	9,0	0,01669
40	8,2	0,01352	5,3	0,01826	6,2	0,01656
60	4,4	0,01352	2,3	0,01822	3,0	0,01629
Mittelkonstante		0,01357	0,01823		0,01656	

Min.	$\frac{1}{20}$ Na_2HPO_4		$\frac{1}{10}$ Na_2HPO_4		$\frac{1}{5}$ Na_2HPO_4	
	KMnO ₄	0,4343 K	KMnO ₄	0,4343 K	KMnO ₄	0,4343 K
0	28,5		28,5		28,5	
5	24,1	0,01456	24,6	0,01278	25,0	0,01138
10	20,5	0,01431	21,3	0,01265	22,0	0,01124
20	14,3	0,01497	15,5	0,01322	16,9	0,01134
30	10,5	0,01445	11,5	0,01314	13,2	0,01114
40	7,5	0,01449	8,8	0,01276	10,3	0,01084
60	4,2	0,01386	5,1	0,01245	6,7	0,01048
Mittelkonstante		0,01446	0,01283		0,01107	

Man sieht, daß erst von der Konzentration $\frac{1}{20}$ molar an die Reaktion langsamer verläuft, als ohne Salz.

Um K- und Na-Ionen in ihrer Wirkung zu vergleichen, war es zweckmäßiger zwei Neutralsalze mit einem gemeinschaftlichen Anion zu wählen, z. B. KCl und NaCl.

H_2O_2 $\frac{1}{137}$ normal.

Min.	Ohne Zusatz		KCl $\frac{1}{40}$ molar		NaCl $\frac{1}{40}$ molar	
	KMnO ₄	0,4343 K	KMnO ₄	0,4343 K	KMnO ₄	0,4343 K
0	29,2		29,2		29,2	
5	26,0	0,01008	25,6	0,01142	26,8	0,00745
10	23,2	0,00999	22,7	0,01093	24,6	0,00744
20	17,8	0,01075	17,4	0,01124	19,3	0,00899
30	14,4	0,01023	13,5	0,01117	17,0	0,00783
40	11,1	0,01050	10,8	0,01080	13,0	0,00879
60	6,9	0,01044	6,4	0,01099	8,4	0,00901
Mittelkonstante		0,01033		0,01099		0,00826

Min.	Ohne Zusatz		KCl $\frac{1}{20}$ molar		NaCl $\frac{1}{20}$ molar	
	KMnO ₄	0,4343 K	KMnO ₄	0,4343 K	KMnO ₄	0,4343 K
0	29,2		29,2		29,2	
5	25,9	0,01041	25,8	0,01075	26,8	0,00745
10	22,7	0,01093	22,5	0,01132	24,7	0,00727
20	18,1	0,01039	17,6	0,01099	19,4	0,00888
30	14,3	0,01033	13,8	0,01085	17,2	0,00766
40	11,2	0,01041	11,0	0,01059	13,4	0,00845
60	6,8	0,01054	6,6	0,01076	8,6	0,00885
Mittelkonstante		0,01050		0,01087		0,00809

Aus diesen Versuchen folgt, daß Na-Ion auf die Reaktion ungünstig wirkt.

2. Einfluß der Alkalien.

Die Wirkung dieser Reagentien zu verfolgen war schon deshalb interessant, weil die Alkalien die Zersetzung des Wasserstoffsuperoxyds beschleunigen. Die Alkalien wurden zu H_2O_2 in solcher Quantität zugesetzt, daß nach dem Zusatz von Enzymlösung die gewünschte Konzentration erreicht wurde. Die zersetzende Wirkung der Alkalien selbst konnte unter unseren Bedingungen, wie spezielle Versuche zeigten, vernachlässigt werden.

KOH $1/4000$ bis $1/100$ normal: H_2O_2 $1/130$ normal.

Min.	Ohne Zusatz		$1/4000$ KOH		$1/2000$ KOH	
	KMnO ₄	0,4343 K	KMnO ₄	0,4343 K	KMnO ₄	0,4343 K
0	31,2		31,2		31,2	
5	27,2	0,01191	27,0	0,01255	26,8	0,01320
10	24,0	0,01134	23,5	0,01231	23,1	0,01305
20	17,9	0,01206	17,5	0,01255	17,0	0,01318
30	13,8	0,01181	13,3	0,01234	12,9	0,01278
40	10,6	0,01172	9,9	0,01246	9,3	0,01314
60	6,1	0,01181	5,6	0,01243	5,2	0,01297
Mittelkonstante		0,01177			0,01246	0,01305

Min.	$1/1500$ KOH		$1/1000$ KOH		$1/500$ KOH	
	KMnO ₄	0,4343 K	KMnO ₄	0,4343 K	KMnO ₄	0,4343 K
0	31,2		31,2		31,2	
5	26,4	0,01451	25,9	0,01617	25,6	0,01718
10	22,2	0,01478	21,7	0,01577	21,4	0,01637
20	16,0	0,01450	15,0	0,01590	14,6	0,01649
30	11,5	0,01445	10,3	0,01604	9,6	0,01706
40	8,4	0,01425	7,1	0,01607	6,5	0,01703
60	4,2	0,01451	3,5	0,01583	3,2	0,01648
Mittelkonstante		0,01450			0,01596	0,01673

Min.	$1/400$ KOH		$1/200$ KOH		$1/100$ KOH	
	KMnO ₄	0,4343 K	KMnO ₄	0,4343 K	KMnO ₄	0,4343 K
0	31,2		31,2		31,2	
5	26,5	0,01418	27,7	0,01033	27,9	0,00971
10	22,5	0,01420	24,6	0,01032	24,9	0,00979
20	16,3	0,01410	19,6	0,01009	20,0	0,00966
30	11,8	0,01407	15,3	0,01031	16,2	0,00949
40	8,6	0,01399	11,9	0,01046	12,8	0,00967
60	4,3	0,01434	7,3	0,01051	8,0	0,00985
Mittelkonstante		0,01415			0,01033	0,00969

NaOH $\frac{1}{1000}$ bis $\frac{1}{25}$ normal: H₂O₂ $\frac{1}{153}$ normal.

Min.	Ohne Zusatz		$\frac{1}{1000}$ NaOH		$\frac{1}{500}$ NaOH	
	KMnO ₄	0,4343 K	KMnO ₄	0,4343 K	KMnO ₄	0,4343 K
0	25,7		25,7		25,7	
5	22,0	0,01350	21,9	0,01389	21,7	0,01469
10	18,9	0,01335	18,7	0,01381	18,3	0,01475
20	13,9	0,01334	13,6	0,01382	13,1	0,01463
30	10,3	0,01323	10,0	0,01366	9,3	0,01471
40	7,5	0,01337	7,2	0,01381	6,6	0,01476
60	4,1	0,01328	3,8	0,01384	3,4	0,01464
Mittelkonstante		0,01334	0,01380		0,01469	

Min.	$\frac{1}{400}$ NaOH		$\frac{1}{300}$ NaOH		$\frac{1}{200}$ NaOH	
	KMnO ₄	0,4343 K	KMnO ₄	0,4343 K	KMnO ₄	0,4343 K
0	25,7		25,7		25,7	
5	21,4	0,01590	20,8	0,01837	21,2	0,01671
10	17,8	0,01595	16,8	0,01846	17,5	0,01669
20	12,4	0,01582	11,0	0,01843	11,9	0,01672
30	8,6	0,01585	7,1	0,01862	8,2	0,01654
40	5,9	0,01598	4,7	0,01844	5,5	0,01674
60	2,9	0,01579	2,0	0,01815	2,6	0,01658
Mittelkonstante		0,01588	0,01841		0,01666	

Min.	$\frac{1}{100}$ NaOH		$\frac{1}{60}$ NaOH		$\frac{1}{25}$ NaOH	
	KMnO ₄	0,4343 K	KMnO ₄	0,4343 K	KMnO ₄	0,4343 K
0	25,7		25,7		25,7	
5	21,8	0,01429	22,9	0,01002	23,6	0,00740
10	18,5	0,01428	20,4	0,01003	21,6	0,00755
20	13,3	0,01430	16,1	0,01016	18,2	0,00749
30	9,7	0,01410	12,8	0,01009	15,3	0,00751
40	7,0	0,01412	10,1	0,01014	12,8	0,00757
60	3,6	0,01422	6,4	0,01006	9,1	0,00751
Mittelkonstante		0,01422	0,01008		0,00750	

Auch hier existiert also eine Optimalkonzentration: die Konstanten sind viel besser in Gegenwart von Alkalien, als sonst. Es zeigte sich noch, daß auch hier die K-Verbindung günstiger wirkt, wie folgende Versuche, bei der Optimalkonzentration beider Alkalien angestellt, zeigen.

Min.	Kontrollversuch		$\frac{1}{500}$ KOH		$\frac{1}{300}$ KOH	
	KMnO ₄	0,4343 K	KMnO ₄	0,4343 K	KMnO ₄	0,4343 K
0	28,4		28,4		28,4	
5	26,5	0,00601	25,0	0,01107	25,2	0,01048
10	24,6	0,00624	21,9	0,01129	22,3	0,01050
20	21,5	0,00604	17,1	0,01101	17,6	0,01039
30	18,5	0,00620	13,0	0,01131	13,4	0,01087
40	16,0	0,00623	9,8	0,01155	10,4	0,01090
60	12,0	0,00623	6,2	0,01102	6,7	0,01045
Mittelkonstante		0,00616		0,01121		0,01060

3. Einfluß der Säuren.

In der ersten Mitteilung wurde gezeigt, daß in Anwesenheit von H₂SO₄ die Konstanten im Laufe der Reaktion immer kleiner und kleiner werden. Am einfachsten ist die Annahme, daß das Enzym durch Säure allmählich vernichtet wird. Diese Annahme wird durch Versuche mit H₂SO₄, HCl und HJ vollkommen bestätigt.

1. 30 ccm neutralisierter Enzymlösung wurden mit 1 ccm n_{10} -H₂SO₄ versetzt, auf 100 ccm verdünnt und nach 10 Minuten mit n_{10} -KOH neutralisiert.

2. H₂SO₄ wurde nach 20 Minuten neutralisiert.

3. 30 ccm neutralisierter Enzymlösung wurden mit 1 ccm n_{10} -K₂SO₄ versetzt und auf 100 ccm verdünnt — Kontrollversuch.

Je 190 ccm H₂O₂ wurden mit 10 ccm so vorbereiteter Enzymlösungen versetzt.

Versuchstemperatur 25°: H_2O_2 $\frac{1}{174}$ normal.

Min.	1.		2.		3.	
	KMnO ₄	0,4343 K	KMnO ₄	0,4343 K	KMnO ₄	0,4343 K
0	44,08		44,08		44,08	
10	43,1	0,00098	43,3	0,00080	34,7	0,01039
20	41,9	0,00110	42,7	0,00069	27,4	0,01032
30	40,9	0,00108	42,2	0,00063	21,3	0,01053
40	40,2	0,00100	41,2	0,00073	17,1	0,01037
60	38,2	0,00103	40,0	0,00070	10,3	0,01052
Mittelkonstante	0,00104		0,00071		0,01042	

Man sieht, daß H_2SO_4 sogar in so geringer Konzentration wie $\frac{1}{1000}$ normal allmählich und zwar sehr rasch die Katalase zerstört. In dieser Vernichtung des Enzyms liegt also die Ursache des Ganges der Konstanten im Laufe der Reaktion in Anwesenheit freier Säuren, denn nach der Neutralisation derselben bleiben die Konstanten erhalten.

1. 200 ccm H_2O_2 wurden mit 0,5 ccm wässrigen Auszugs aus lufttrockener Hefe versetzt.

2. 200 ccm H_2O_2 wurden mit 0,5 ccm Auszugs und 0,2 ccm $\frac{1}{1}$ -HCl versetzt.

3. 200 ccm H_2O_2 wurden mit 0,5 ccm Auszugs und 0,4 ccm $\frac{1}{1}$ -HCl versetzt.

Nach bestimmten Zeitintervallen wurden Proben herausgenommen und mit $KMnO_4$ titriert. Versuchstemperatur 25°.

Min.	Ohne HCl KMnO ₄	$\frac{1}{1000}$ HCl KMnO ₄	$\frac{1}{500}$ HCl KMnO ₄
0	48,5	48,5	48,5
5	36,6	44,6	46,6
10	30,7	42,7	46,3
15	25,4	41,4	46,1
20	21,7	40,1	45,7
25	18,8	38,8	45,6
30	16,3	37,9	45,5

Die $\frac{1}{500}$ -HCl bringt also die Reaktion fast zum Stillstand. Dabei wird die Katalase zerstört, wie folgende Versuche zeigen.

1. 40 ccm Hefeauszuges wurden mit 0,5 ccm $n_{/1}$ -HCl und nach 20 Minuten mit 5 ccm $n_{/10}$ -NaOH versetzt.

2. 40 ccm Hefeauszuges wurden mit 1 ccm $n_{/1}$ -HCl und nach 20 Minuten mit 10 ccm $n_{/10}$ -NaOH versetzt.

3. 40 ccm Hefeauszuges wurden mit 1 ccm $n_{/1}$ -HCl und sofort mit 10 ccm $n_{/10}$ -NaOH versetzt.

10 ccm jeder Enzymlösung wurden mit 200 ccm H_2O_2 vermischt.

Min.	1. KMnO ₄	2. KMnO ₄	3. KMnO ₄
0	45.7	45.7	45.7
5	45.1	45.3	42.0
10	44.7	45.3	39.6
15	44.5	45.3	37.1

HCl zerstörte das Enzym vollständig.

Dies wird noch durch folgenden Versuch bewiesen. Wir wollten verfolgen, unter welchen Bedingungen die Katalase am besten aus der Hefe extrahiert wird. Wir stellten bei 25° drei Proben lufttrockener Hefe zu je 10 g : 1. mit 125 ccm $n_{/50}$ -NaOH, 2. mit 125 ccm $n_{/50}$ -HCl und 3. mit 125 ccm $n_{/50}$ -NaCl. Nach 2 Tagen wurden alle Auszüge filtriert, möglichst genau neutralisiert und von jeder Lösung 0,5 ccm mit 100 ccm H_2O_2 bei 25° vermischt. Nach 25 Minuten wurden Proben [25 ccm] herausgenommen und titriert.

H_2O_2	Lösung I	Lösung II	Lösung III
KMnO ₄	62.8	4.3	62.2
			20.8

Die Versuche mit HJ wurden eigentlich zu ganz anderem Zwecke angestellt. Die Bestimmung von H_2O_2 mittels KMnO₄ ist nicht immer bequem: eine gewisse Menge von KMnO₄ wird zur Oxydation der organischen Substanzen der Lösung verbraucht. Um diese Korrektur zu vermindern, arbeitet man gewöhnlich mit schwachen Enzymlösungen. Wir hofften, daß die Reaktion

zwischen H_2O_2 und HJ in Anwesenheit gewisser Katalysatoren, z. B. Molybdänsalze, vielleicht bessere Resultate geben würde. Diese Vermutung schien durch Versuche von Bach¹⁾ über den Verlauf dieser Reaktion in Anwesenheit von Peroxydase bestätigt zu werden. Unsere Versuche zeigten aber, daß nicht nur HJ , sondern auch Jod die Katalase zerstören. Die Versuche wurden in folgender Weise angestellt.

1. 10 ccm Enzymlösung wurden mit 1 ccm n_{10} -KJ und 1 ccm n_{10} Essigsäure versetzt, auf 200 ccm verdünnt und nach 10 Minuten mit KOH neutralisiert.

2. Die Flüssigkeit wurde neutralisiert sofort nach dem Zusatz von Essigsäure.

3. 10 ccm Enzymlösung wurden mit 1 ccm n_{10} -KJ und 1 ccm n_{10} Kaliumacetat versetzt und auf 200 ccm verdünnt.

20 ccm so behandelter Enzymlösungen wurden mit 180 ccm n_{190} - H_2O_2 vermischt.

Min.	1.		2.		3.	
	KMnO_4	0,4343 K	KMnO_4	0,4343 K	KMnO_4	0,4343 K
0	39,06		39,06		39,06	
5	33,0	0,01464	32,0	0,01731	31,7	0,01813
10	28,5	0,01369	26,0	0,01767	25,8	0,01801
15	25,4	0,01246	21,1	0,01783	20,8	0,01824
20	23,2	0,01131	17,4	0,01756	17,0	0,01806
30	19,0	0,01043	11,5	0,01770	11,2	0,01880
	Mittelkonstante			0,01761		0,01810

Wir sehen, daß n_{2000} - HJ die Katalase allmählich zerstört. Spezielle Versuche zeigten uns, daß weder Essigsäure noch KJ in den angewandten Konzentrationen zerstörend auf die Katalase einwirken.

1. 190 ccm H_2O_2 wurden mit 10 ccm Enzymlösung und 1 ccm H_2O versetzt.

2. 190 ccm wurden mit 10 ccm Enzymlösung und 1 ccm n_{10} -KJ versetzt.

3. 190 ccm wurden mit 10 ccm Enzymlösung und 1 ccm n_{10} - $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$ versetzt.

¹⁾ Ber., Bd. XXXVII, S. 2434, 1904.

Min.	1.		2.		3.	
	KMnO ₄	0,4343 K	KMnO ₄	0,4343 K	KMnO ₄	0,4343 K
0	28,4		28,4		28,4	
5	22,0	0,02218	23,0	0,01831	22,3	0,02100
10	17,3	0,02153	18,2	0,01932	17,5	0,02103
15	13,3	0,02196	14,4	0,01966	13,6	0,02131
20	10,4	0,02181	11,2	0,02020	10,6	0,02140
30	6,2	0,02203	7,2	0,01986	6,5	0,02134
Mittelkonstante		0,02190			0,01947	0,02121

Wir überzeugten uns weiter, daß das Jod, wie zu erwarten war, von organischen Substanzen der Enzymlösung absorbiert wird; gleichzeitig aber wird die Katalase zerstört.

1. 20 ccm. Enzymlösung wurden mit 40 ccm n_{768} Jodlösung versetzt.

2. 20 ccm Enzymlösung wurden mit 40 ccm Wasser versetzt.

Nach 30 Minuten (die Jodreaktion zeigte sich nicht) wurden je 290 ccm n_{166} -H₂O₂ mit 10 ccm so behandelte Enzymlösungen vermischt.

Min.	1. Jod n_{1153} normal		2.	
	KMnO ₄	0,4343 K	KMnO ₄	0,4343 K
0	45,8		45,8	
10	31,9	0,01570	45,6	0,00018
20	22,1	0,01581	45,4	0,00013
30	15,4	0,01577	45,4	0,00009
40	11,2	0,01529	45,3	0,00011
60	5,3	0,01560	45,2	0,00009
Mittelkonstante		0,01565	0,00012	

Man darf daraus schließen, daß bei Versuchen mit HJ und H₂O₂ in Gegenwart von Katalase zum schädlichen Einfluß von HJ sich die Wirkung des abgeschiedenen Jods anschließt.

4. Einfluß der Enzymkonzentration.

Die in der ersten Mitteilung beschriebenen Versuche mit wachsenden Enzymkonzentrationen zeigten eine merkwürdige Erscheinung: nimmt man größere Mengen der Enzymlösung, so sinken die Konstanten im Laufe der Reaktion. Verschiedene Versuchsmodifikationen ließen nicht die Ursache davon finden. Wir suchten sie schließlich in der mit der Konzentration steigenden Acidität der Lösungen. Es ist uns wirklich gelungen, nach der genauen Neutralisation der Enzymlösung befriedigende Konstanten zu erhalten.

Es wurden 5, 10, 15 . . . ccm Enzymlösung zu 170 ccm H_2O_2 zugesetzt und mit Wasser auf 200 ccm ergänzt.

Min.	5 ccm		10 ccm		15 ccm	
	KMnO ₄	0,4343 K	KMnO ₄	0,4343 K	KMnO ₄	0,4343 K
0	31,2		31,2		31,2	
5	26,0	0,01583	24,9	0,01959	24,0	0,02274
10	21,1	0,01698	19,9	0,01953	18,5	0,02269
15	18,0	0,01592	15,9	0,01951	14,2	0,02279
20	15,1	0,01575	12,7	0,01951	10,9	0,02283
30	10,5	0,01576	8,1	0,01952	6,5	0,02271
	Mittelkonstante	0,01581		0,01955		0,02277

Min.	20 ccm		25 ccm		30 ccm	
	KMnO ₄	0,4343 K	KMnO ₄	0,4343 K	KMnO ₄	0,4343 K
0	31,2		31,2		31,2	
5	23,3	0,02536	22,4	0,02878	21,8	0,03114
10	17,3	0,02561	16,8	0,02688	16,0	0,02900
15	13,0	0,02535	12,5	0,02648	12,0	0,02766
20	9,7	0,02537	9,2	0,02651	8,5	0,02823
30	5,4	0,02539	5,0	0,02650	3,7	0,03086
	Mittelkonstante	0,02541		0,02659		0,02938

Die Reaktionsgeschwindigkeit steigt also mit der Konzentration der Katalase, aber bei weitem nicht proportional derselben, sondern viel langsamer. Diese Erscheinung wird, wie bekannt, bei Enzymreaktionen oft beobachtet.

Wir können also zu den früher gezogenen Schlüssen noch die folgenden hinzufügen.

1. Salze und Alkalien wirken auf die Reaktion katalytisch: es existiert für sie eine Optimalkonzentration.

2. K-Verbindungen wirken auf die Reaktion günstiger als Na-Verbindungen.

3. Schwache Alkalien extrahieren aus der Hefe mehr Katalase als Wasser.

4. Säuren und Jod zerstören die Katalase.

5. Die Wirkung der Katalase steigt mit deren Menge, aber viel langsamer, als die letztere.

Warschau, den 20. April 1905.