

Zur Kenntnis der Oxydasewirkung.

II. Mitteilung.

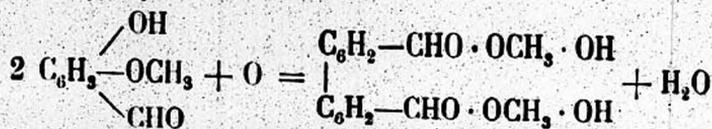
Von

R. O. Herzog und A. Meier.

(Aus dem chemischen Institut der Technischen Hochschule in Karlsruhe.)

(Der Redaktion zugegangen am 22. Juni 1911.)

Die für die folgenden Versuche angewandte Oxydase stammte aus Meerrettichwurzeln. Diese wurden fein zerrieben, 24 Stunden mit Wasser unter Zusatz von Toluol ausgelaugt, dann durch ein Koliertuch und schließlich durch Filter klar filtriert. Zur Analyse diente die Methode der Oxydation des Vanillins zu Dehydrodivanillin:



In einen Meßkolben wurden zunächst je 150 ccm einer 0,96%igen Vanillinlösung gebracht, zuerst die entsprechende Wasserstoffsperoxydmenge und dann die Fermentmenge zugesetzt, schließlich auf 400 ccm aufgefüllt. Der sich bald bildende Niederschlag von Dehydrodivanillin hatte sich nach 12 Stunden abgeschieden und wurde in trockenen, gewogenen Barytfiltern aufgefangen, gut gewaschen, hierauf im Trockenschrank bei 100° getrocknet und schließlich gewogen.

Die nachstehende Tabelle gibt die Mengen der gefundenen Niederschläge bei der Anwendung wechselnder Mengen an Peroxydase und H_2O_2 an.

Aus den Zahlen geht hervor, daß bei nicht zu großen H_2O_2 -Mengen die Quantität des ausgeschiedenen Niederschlags in erster Annäherung unabhängig ist von der zugesetzten Peroxydase, wie die Versuchsreihen b und c deutlich zeigen.

Eine genauere Betrachtung der Zahlen lehrt aber, daß in jeder Horizontalreihe, wenn genügend H_2O_2 vorhanden ist, (also von e an) ein Maximum der Ausbeute auftritt.

Sind die Konzentrationen an Wasserstoffsperoxyd gegen-

über denen der Peroxydase zu stark, so wird die letztere deutlich angegriffen.

Tabelle I.

Peroxydase- zusatz ccm	1	2 $\frac{1}{2}$	5	10	20	40
H ₂ O ₂ (in 400 ccm)						
0,00188	—	—	(a ₁) 0,0026	(a ₂) 0,0055	(a ₃) 0,0067	—
0,0036	—	—	(b ₁) 0,0194	(b ₂) 0,017	(b ₃) 0,0255	(b ₄) 0,021
0,0072	(c ₁) 0,055	(c ₂) 0,050	(c ₃) 0,055	(c ₄) 0,054	(c ₅) 0,060	(c ₆) 0,059
0,0144	(d ₁) 0,088	(d ₂) 0,088	(d ₃) 0,115	(d ₄) 0,114	(d ₅) 0,111	(d ₆) 0,116
0,0288	—	(e ₁) 0,176	(e ₂) 0,248	(e ₃) 0,239	(e ₄) 0,219	(e ₅) 0,218
0,0576	—	—	—	—	—	(f ₁) 0,481
0,125	(g ₁) 0,366	(g ₂) 0,831	(g ₃) 0,980	(g ₄) 0,946	(g ₅) 0,907	(g ₆) 0,902
0,1877	(h ₁) 0,248	(h ₂) 0,524	(h ₃) 1,175	(h ₄) 1,300	(h ₅) 1,220	(h ₆) 1,218

Um diese Verhältnisse genauer kennen zu lernen, wurde in folgender Weise vorgegangen. Das Filtrat wurde (ohne Verdünnung durch Waschwasser) auf Peroxydase untersucht, wobei sich zeigte, daß in den Fällen, in denen nur wenig Peroxydase im Verhältnis zu großen H₂O₂-Mengen zur Anwendung gelangt war, dieses wirklich völlig zerstört worden war. Eine Probe des Filtrats wurde einmal mit Guajacin und H₂O₂ versetzt; trat eine Blaufärbung ein, so war noch wirksame Peroxydase vorhanden. Das andere Mal wurde zu einer Probe des Filtrats frische Peroxydase zugesetzt; eventuell auftretende Trübung lehrte, daß die ursprünglich zugesetzte Peroxydase zerstört worden war und die Oxydation noch unveränderten Vanillins erst durch die frisch hinzugefügte Peroxydase bewirkt wurde.

Tabelle II.

	g ₁	g ₂	g ₃	g ₄	g ₅	g ₆	h ₁	h ₂	h ₃	h ₄	h ₅	h ₆
Zusatz von Peroxydase	+	+	+	—	—	—	+	+	+	—	—	—
Zusatz von H ₂ O ₂ + Guajacin	—	—	+	+	+	+	—	—	+	+	+	+

Bei den Versuchen a bis f war die Reaktion auf Zusatz

von Peroxydase stets negativ, auf Zusatz von H_2O_2 + Guajacin stets positiv.

Bei der Versuchsreihe g zeigen die Filtrate g_1 und g_2 mit Guajacin und H_2O_2 keine Blaufärbung, dagegen auf Zusatz von frischer Peroxydase Niederschlagsbildung (bei g_2 allerdings nur Trübung). In diesen Versuchen ist also die Peroxydase durch die zu hohe Konzentration von H_2O_2 zerstört worden. g_3 bis g_6 geben mit Guajacin und H_2O_2 immer intensivere Blaufärbung, frische Peroxydase ruft keine Trübung mehr hervor; also ist in diesen Fällen noch genügend aktive Peroxydase vorhanden. Völlige Analogie zeigt die Versuchsreihe h, nur ist entsprechend der höheren Konzentration an H_2O_2 auch eine größere Menge Peroxydase inaktiviert worden.

Für die folgenden Versuche wurden 100 ccm einer 0,96%igen Vanillinlösung angewandt, die Konzentration an H_2O_2 wurde gegenüber der früheren Versuchsreihe gesteigert.

Tabelle III.

Per- oxydase ccm		1	2 $\frac{1}{2}$	5	10	20	40
%	H_2O_2 (in 400 ccm)						
1	0,0075	a_1 0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
5	0,0375	(b_1) 0,0422	(b_2) 0,04	(b_3) 0,0315	(b_4) 0,0326	(b_5) 0,0361	(b_6) 0,046
25	0,075	(c_1) 0,289	(c_2) 0,290	(c_3) 0,286	(c_4) 0,261	(c_5) 0,253	(c_6) 0,246
75	0,1125	(d_1) 0,19	(d_2) 0,36	(d_3) 0,586	(d_4) 0,585	(d_5) 0,565	(d_6) 0,545
125	0,2075	(e_1) 0,15	$(e_2?)$ 0,17	(e_3) 0,673	(e_4) 0,888	(e_5) 0,878	(e_6) 0,863

Im großen und ganzen zeigt die Tabelle dasselbe Bild wie Tabelle I. Die angewandte OxydaseLösung hatte mehrere Tage gestanden (dunkle Färbung).

Während Tabelle I daraufhinzuweisen scheint, daß die Menge des gebildeten Niederschlages der des zugesetzten H_2O_2 entspricht, zeigen die Zahlen von Tabelle II keine solche Proportionalität.

Auf Zusatz von Peroxydase, Guajacin und H_2O_2 zu je einer Probe der Filtrate ergaben sich folgende Resultate.

Tabelle IV.

Zusätze	Peroxydase	Guajacin	Guajacin + H ₂ O ₂
a ₁	—	+	++++
a ₂	—	+	++++
a ₃	—	+	+++
a ₄	—	++	++
a ₅	—	++	++
a ₆	—	+++	+
b ₁	—	+	++++
b ₂	—	+	++++
b ₃	—	+	++
b ₄	—	++	++
b ₅	—	++	+
b ₆	—	++	+
c ₁	—	—	++
c ₂	—	—	++
c ₃	—	—	++
c ₄	—	+	+
c ₅	—	+	+
c ₆	—	+	+
d ₁	++	—	—
d ₂	+	—	—
d ₃	—	—	+
d ₄	—	—	+
d ₅	—	—	+
d ₆	—	+	+
e ₁	++	—	—
e ₂	++	—	—
e ₃	+	—	—
e ₄	+	—	+
e ₅	—	—	+
e ₆	—	—	+

Das wesentliche Ergebnis der vorliegenden Versuche, die Abhängigkeit der Ausbeute an Niederschlag von der Menge jedes der Reaktionsbestandteile, weist auf eine stöchiometrische Beziehung zwischen ihnen¹⁾ hin, deren Auftreten die Reaktion von der einer typischen Katalyse unterscheidet. Wie die in der vorangegangenen Mitteilung enthaltenen Erfahrungen führen auch die vorstehenden Versuche zu dem Schlusse, daß die Peroxydasewirkung zu den sogenannten induzierten Reaktionen zu zählen ist.

¹⁾ Vgl. Bach u. Chodat B. B., Bd. 37, S. 1346, 3785 (1904). Bd. 38, S. 1878 (1905), Bd. 40, S. 3185 (1907).