

Einwirkung von Stickoxyd auf Invertase.

VIII. Mitteilung.

Von

Theodor Panzer.

(Der Redaktion zugegangen am 10. Mai 1913.)

In derselben Absicht, in welcher die Versuche über die Einwirkung von Stickoxyd auf Diastase¹⁾ unternommen worden sind, habe ich auch analoge Versuche mit Invertase angestellt.

Das verwendete Präparat, welches schon mehrfach zu Versuchen benützt worden ist, enthielt:

Stickstoff	5,57%
Asche	22,21%
Amidstickstoff	2,30%
Formoltitrierbaren Stickstoff	3,17%

Acidität entsprechend 160,2 ccm Normallauge für 100 g Substanz.

Den bisher veröffentlichten Daten über Ausführung der Methoden und Darstellung der Resultate wäre nichts mehr hinzuzufügen.

Behandlung mit Stickoxyd.

Verwendete Menge des Invertasepräparates g	Aufgenommene Stickoxydmenge g	In Prozenten
0,2011	0,0090	4,48
0,5615	0,0121	2,15
0,5639	0,0181	3,21
0,4982	0,0159	3,19
0,4968	0,0157	3,16
0,5689	0,0133	2,34
0,5312	0,0184	3,46
0,5560	0,0325	5,85

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 85, S. 292.

Auspumpversuche.

In Gewichten (Grammen).

	I.	II.	III.
Verwendete Menge des Invertase- präparates	0,2011	0,5615	0,5639
Gewichtszunahme nach der Behandlung mit Stickoxyd	0,0090	0,0121	0,0181
Das Plus an Gewicht gegenüber dem ursprünglichen Präparate betrug:			
am 1. Tage	0,0093	0,0357	0,0237
» 2. »	0,0090	0,0343	—
» 3. »	konstant	0,0243	0,0222
» 4. »		—	0,0226
» 5. »		0,0205	0,0160
» 6. »		0,0192	0,0158
» 7. »		0,0180	0,0152
» 8. »		0,0164	—
» 9. »		0,0156	—
» 10. »		—	0,0145
» 11. »		—	konstant
» 12. »		0,0136	
» 13. »		0,0133	
» 14. »		0,0130	
» 15. »		0,0123	
» 16. »		0,0116	
» 17. »		0,0112	
» 18. »		0,0101	
» 19. »		0,0097	
» 20. »		0,0095	
» 21. »		konstant	

In prozentischer Berechnung.

	I.	II.	III.
Gewichtszunahme nach der Behandlung mit Stickoxyd	4,48	2,15	3,21
Das Plus an Gewicht gegenüber dem ursprünglichen Präparat betrug noch:			
am 1. Tage	4,62	6,36	4,20
» 2. »	4,48	6,11	—
» 3. »	konstant	4,33	3,94
» 4. »		—	4,01
» 5. »		3,65	2,84
» 6. »		3,42	2,80
» 7. »		3,21	2,70
» 8. »		2,92	—
» 9. »		2,78	—
» 10. »		—	2,57
» 11. »		—	konstant
» 12. »		2,42	
» 13. »		2,37	
» 14. »		2,32	
» 15. »		2,19	
» 16. »		2,07	
» 17. »		1,99	
» 18. »		1,80	
» 19. »		1,73	
» 20. »		1,69	
» 21. »		konstant	

Die Gewichtszunahmen der Präparate bei der Behandlung mit Stickoxyd sind nicht groß; sie sind nicht in allen Versuchen gleich.

Auffallende Resultate ergeben die Auspumpversuche. In all diesen Versuchen findet am ersten Tage eine weitere Gewichtszunahme statt. In den folgenden Tagen geht beim II. und III. Versuche das Gewicht wieder herunter bis auf ein Gewicht, das größer ist als das Ausgangsgewicht, und bleibt dann konstant.

Beim ersten Versuche ist die Gewichtszunahme am 1. Tage unbedeutend, das Gewicht bleibt schon von Anfang an nahezu konstant. Trotzdem sind auch hier Stickstoff-Sauerstoff-Verbindungen abgegeben worden. Dies konnte daraus ersehen werden, daß das in den Vakuumexsikkator eingestellte Gemisch aus Ferrosulfat und Natronkalk an einzelnen Stellen eine dunkelbraune Färbung angenommen hatte.

Dieses merkwürdige Verhalten läßt vermuten, daß zwar ein Teil des Stickoxydes an Bestandteile des Invertasepräparates chemisch gebunden worden ist, daß aber nachträglich, und zwar hauptsächlich in den ersten Tagen, Oxydation stattgefunden hat.

Bestimmung der Acidität.

Die mit «Auspumpversuche» überschriebenen Zahlen sind aus den evakuierten Präparaten der Auspumpversuche II und III gewonnen. Bei diesen Versuchen ist als Stickoxydgehalt das Plus an Gewicht nach dem Auspumpen zu verstehen.

Verwendete Menge des Invertasepräparates g	Stickoxyd- gehalt g	Normalflüssigkeit verbraucht	
		zur Neutralisation ccm	zur Formoltitrierung ccm
0,5689	0,0133	1,168	1,140
0,5312	0,0184	1,064	1,020
Auspumpversuche.			
0,5615	0,0095	0,608	1,115
0,5639	0,0145	1,149	1,079

In prozentischer Berechnung.

Stickoxyd- gehalt %	Acidität		Aciditäts- zunahme ccm
	des behandelten Präparates ccm	des ursprünglichen Präparates ccm	
2,34	205,3	160,2	45,1
3,46	200,3	160,2	40,3
Auspumpversuche.			
1,69	114,5	160,2	— 45,7
2,57	203,8	160,2	43,6

Formoltitrirung.

In prozentischer Berechnung.

Formoltitrierbarer Stickstoff

bei mit Stickoxyd behandelten Präparaten	bei dem ursprünglichen Präparate
%	%
2,81	3,17
2,69	3,17
Auspumpversuche.	
2,78	3,17
2,68	3,17

Bestimmung des Amidstickstoffs.

0,4968 g Invertase hatten aufgenommen 0,0157 g = 3,16% Stickoxyd und lieferten 17,4 ccm Stickstoff bei 21,0° C. und 745,7 mm Barometerstand; entsprechend 1,95% Amidstickstoff. Das unveränderte Invertasepräparat hatte ergeben: 2,30% Amidstickstoff.

Prüfung der Fermentwirkung.

Ich führe nur einen Versuch an, welcher mit dem ausgepumpten Präparate des Auspumpversuches I angestellt wurde. 0,2011 g Invertase hatten aufgenommen 0,0090 g = 4,48% Stickoxyd und beim Auspumpen nicht an Gewicht abgenommen. Dieses Präparat wurde ohne Zusatz von Säure oder Lauge in Wasser gelöst, die Lösung auf 25 ccm aufgefüllt und mit Rohrzuckerlösung in der seinerzeit beschriebenen Weise geprüft.

Kontrolle: 0,2 g Invertase und 0,25 ccm Zehntelnormal-salzsäure auf 25 ccm mit Wasser aufgefüllt.

Dauer des Versuches	Kontrolle	Mit Stickoxyd behandeltes Präparat
Beginn	8,4	10,3
1/2 Stunde	6,7	8,7
1	5,3	7,0
1 1/2 Stunden	3,8	5,2
2	2,4	3,4

Im Anschluß hieran sei noch berichtet über den Versuch, in einem mit Stickoxyd behandelten Invertasepräparate Nitrosogruppen nachzuweisen, indem mit einem solchen Präparate Reaktionen angestellt wurden, welche den Nitrosoverbindungen zukommen.

0,5560 g Invertase hatten aufgenommen $0,0325 \text{ g} = 5,85\%$ Stickoxyd.

1. Eine Probe dieses Präparates in Wasser gelöst färbt eine mit Stärkelösung versetzte Jodkaliumlösung nicht blau.

2. Die filtrierte Lösung einer Probe des Präparates trübt Schwefelwasserstoffwasser nicht.

3. Eine Probe des Präparates in Wasser gelöst gibt beim Erwärmen mit salzsaurem Anilin keine besondere Färbung.

4. Eine Probe des Präparates in eine Auflösung von Diphenylamin in konzentrierte Schwefelsäure eingetragen färbt diese blau.

5. Das Präparat mit β -Naphthol und schwefelsaurem Hydroxylamin versetzt und mit sehr verdünnter Sodalösung vorsichtig neutralisiert gibt weder in wässriger noch in alkoholischer Flüssigkeit eine auffallende Färbung.

In den Versuchen über die Aufnahme von Stickoxyd durch das Invertasepräparat, sowie in den Auspumpversuchen wurde konstatiert, daß ein Teil des Stickoxyds chemisch gebunden wird, und es wurde dort die Vermutung ausgesprochen, daß nachträglich eine Oxydation durch den Luftsauerstoff stattgefunden hat. Diese Vermutung wird nun durch den Ausfall der Reaktionen auf Nitrosogruppen nahezu zur Gewißheit. Anderseits zeigt die Prüfung der Fermentwirkung, daß die chemische Bindung von Stickoxyd an Bestandteile des Invertasepräparates und die nachfolgende Oxydation sich nicht auf Atomgruppen beziehen, welche zum Zustandekommen der invertierenden Wirkung notwendig sind.

Die Oxydation des an das Invertasepräparat gebundenen Stickoxyds erschwert die Deutung der Versuche über Acidität, formoltitierbaren Stickstoff und Amidstickstoff und kompliziert

sie so, daß ich auf Grund der vorliegenden Versuche keine halbwegs verlässliche Erklärung geben kann. Ich zweifle nicht, daß sich durch Wiederholung und Modifizierung dieser Versuche mancher dunkle Punkt klären läßt. Da ich aber schon mit einer Knappheit des Invertasepräparates zu kämpfen hatte und da mir andererseits die Versuche über Acidität usw. nicht so belangreich schienen, weil die Behandlung mit Stickoxyd die Fermentwirkung nicht geschädigt hat, so habe ich dieses Kapitel vorläufig beiseite gestellt und fasse nur die diesbezüglichen Ergebnisse kurz zusammen.

Die Acidität des Invertasepräparates hat in drei Versuchen durch die Behandlung mit Stickoxyd eine Erhöhung erfahren, in einem Versuche aber eine auffallende Erniedrigung.

Die Menge des formoltitrierbaren Stickstoffs und des Amidstickstoffs ist durchwegs geringer gefunden worden als bei dem ursprünglichen Präparate. Diese Tatsache ist im vorliegenden Falle nicht eindeutig. Sie muß nicht auf eine Anhydridbildung hinweisen. Es könnte vielmehr durch Oxydation von chemisch gebundenem Stickoxyd sich eine chemische Verbindung gebildet haben, welche wie salpetrige Säure wirkt und demnach Aminogruppen unter Entbindung von elementarem Stickstoff zerstört hat. Auch ein solcher chemischer Prozeß würde sich in einer Abnahme des formoltitrierbaren Stickstoffs und des Amidstickstoffs ausdrücken.

Das Hauptergebnis der vorliegenden Untersuchung möchte ich aber dahin zusammenfassen, daß die Invertase auch bei der Behandlung mit Stickoxyd sich wesentlich von der untersuchten Diastase unterscheidet, was wohl zweifellos auf einschneidenden Unterschieden in der chemischen Konstitution beider Fermente beruht.
