

CHEMIK POLSKI

CZASOPISMO

POŚWIĘCONE WSZYSTKIM GAŁĘZIOM CHEMII

TEORETYCZNEJ I STOSOWANEJ

Nr 21.

1 listopada 1909.

Rok IX.

Przyczynek do znajomości wpływu soli na dializę peroksydazy¹⁾.

Komunikat pierwszy.

Przez **Jana Bieleckiego**.

Jedną z charakterystycznych własności enzymów jest to, że zachowują się, jak koloidy, między innymi, że bardzo trudno dializują. Ponieważ jednak w organizmach zarówno roślinnych, jak i zwierzęcych, enzymy są wszędzie obecne, muszą przeto istnieć pewne warunki, które mogą sprzyjać dializie lub ją powodować.

O ile mi wiadomo, dotychczas nie były przeprowadzone żadne badania, któreby miały za cel zbadanie warunków dializy enzymów. Opierając się na spostrzeżeniu, zakomunikowanym mi uprzejmie w prywatnej rozmowie przez p. A. Bacha, że roztwory peroksydazy dializują pod wpływem węglanów alkalicznych, postanowiłem, po porozumieniu się z p. Bachem, zbadać, czy ewentualnie też różne sole napotymane w organizmach roślinnych nie mogą wywierać wpływu na dializę peroksydazy.

Od czasów klasycznych badań Grahama nad dializą używano różnorodnych dializatorów pod względem formy, jako też i rodzaju błony przenikliwej.

Graham²⁾ stosował dializatory z dnem pergaminowym. Podobnie postępował Wittich i Kühne, dializując białko z jaja kurzego i oddzielając globuliny. Hoppe-Seyler używał pęcherza (świń), jako przegrody dializacyjnej. Botkin³⁾ używał, rozpuściwszy skorupę jaja za pomocą rozcieńzonego kwasu solnego, jako przegrody przenikliwej, powłoki jaja kurzego. Miecznikow⁴⁾ stosował bardzo delikatne i przedstawiające małe powierzchnie błonki z rdzenia trzciny (*Phragmites communis*). Chassin i Moussu⁵⁾

¹⁾ Por. „Zur Kenntniss des Einflusses der Salze auf die Dialyse der Peroxydase“ von Jan Bielecki. *Biochemische Zeitschrift*, tom 21, zeszyt 1 i 2, str. 103. ²⁾ *Lieb. Annal.* 121, 1862. ³⁾ *Virchows Archiv* 20, 39—42, 1861. ⁴⁾ *Annales de l'Inst. Pasteur* 1, 1887. ⁵⁾ *Compt. rend. Soc. biol.* 52, 694, 1900.

w badaniach swych nad przepuszczalnością ścian kiszek dla różnych toksyn bakteryjnych stosowali, jako przegrodę przenikliwą, różne części kiszek, a zwłaszcza tkankę kiszek cienkich. Różni badacze, jak Miecznikow, Roux i Taurelli-Salimbeni ¹⁾, Nocard, Rodet i Geszow ²⁾, Borrel, Malfitano i inni używali, jako błony przenikliwej, woreczków z kolodium. Aug. Wróblewski ³⁾ w celu oddzielania ciał koloidalnych od krystaloidów w roztworach eterowym lub ligroinowym używał przegrody gumowej. Pascucci ⁴⁾ przygotowywał błony przenikliwe w ten sposób, że nasyczał starannie tkaninę jedwabną cholesteryną lub lecytyną, albo też mieszaniną obu tych ciał. R. P. van Calcar ⁵⁾ zastosował, jako przegrodę przenikliwą, „amnion” człowieka i zwierząt wyższych. Wiechowski ⁶⁾ użył szybko dializujących błon z kiszek ślepej owiec.

Dializatory przygotowane przezemnie przedstawiały małe woreczki cylindryczne z pergaminu zwierzęcego, średnicy od 4 do 5 cm i około 100 cm³ objętości, a brzegi ich sfałdowane były przszyte naokoło obrączki szklanej. Dwa uszka szklane przytopione do obrączki służyły do zawieszenia dializatora na sznureczku.

Roztwór peroksydazy użyty do badań przygotowano w sposób następujący: 5 — 6 kg białej rzepy wymytej roztarto wieczorem w maszynie odpowiedniej, przez noc poddano autolizie, a następnego dnia wyciśnięto miążgę przez płótno. Sok otrzymany przefiltrowano, zadano czterokrotną na objętość ilością alkoholu 96%-owego, osad odsączono, nad chlorkiem wapnia w próżni wysuszono, następnie rozpuszczono w takiej objętości wody destylowanej, jaką była objętość pierwotnego soku, znów przesączono i w celu zapobieżenia działalności bakterii dodano 1% toluolu.

Zdolność aktywującą w powyższy sposób otrzymanego roztworu peroksydazy oznaczyłem według metody Bacha ⁷⁾, utleniając z jednej strony 1 gr pyrogallolu za pomocą 10 cm³ 1%-owego nadtlenu wodoru i 40 cm³ roztworu peroksydazy, a z drugiej — również 1 gr pyrogallolu za pomocą 40 cm³ 1%-owego nadtlenu wodoru i 10 cm³ roztworu peroksydazy. Otrzymałem 0,1664 gr i 0,0420 gr purpurogalliny, czyli zdolność aktywująca wynosiła 0,25.

Proces dializy odbywał się zawsze w sposób następujący:

Dializator napełniałem naprzód 10 cm³ roztworu peroksydazy i 16 cm³

¹⁾ Annales de l'Inst. Pasteur 1896. ²⁾ Compt. rend. Soc. biol. 52, 962, 1900. ³⁾ Chem. Zeitung 25, 222, 1901. Artykuł ten nie jest referowany w „Chem. Centralblatt“ i wskutek tego może być łatwo przeoczony. Temu właśnie losowi uległ, gdy opracowywał swój artykuł do „Biochemische Zeitschrift“. Dzięki szczęśliwemu przypadkowi napotkania artykułu p. W., miło mi niniejszem, ze względu na ścisłość i prawdę historyczną, zapobiedz całkowitemu przeoczeniu. ⁴⁾ Hofmeisters Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 6, 552, 1905. ⁵⁾ Berl. klin. Wochenschr. 1905, № 93. ⁶⁾ Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 9, 232, 1907. ⁷⁾ Berichte d. deutsch. chem. Ges. 37, 3787, 1904.

wody destylowanej i dializowałem to wszystko w ciągu 24 godzin w zlewce, zawierającej 100 cm³ wody destylowanej. Aby utrzymać podczas dializy temperaturę stałą, umieściłem zlewki, obciążone zzewnątrz pierścieniem ołowianym, w dużej wannie z blachy cynkowej, przez którą przepływał ciągle stały prąd wody. W ten sposób, pomimo zmiennej pogody miesięcy letnich, temperatura dializy utrzymywała się w granicach 14—16° C. Co 24 godziny odpipetowywałem ze zlewki 25 cm³ dializatu, dodawałem 10 cm³ n/10 roztworu jodku potasowego, 10 cm³ n/10 kwasu octowego i 10 cm³ n/10 nadtlenu wodoru i po 10 minutach trwania reakcji mianowałem n/100 roztworem tiosiarczanu sodowego. Odczynniki wszystkie przez umieszczenie ich w tejże wannie były sprowadzone do temperatury, w jakiej zachodziła dializa. Po dokonaniu mianowania, dializator wymywałem starannie i nastawiałem go ponownie, ale już z dodaniem coraz to wzrastających ilości różnych soli. Roztwory wszystkie soli były 1/10 normalne i ilości działających w dializie tych roztworów soli wynosiły 2, 4, 8 i 16 cm³. Na każde więc 10 cm³ roztworu peroksydazy przypadało w pierwszym doświadczeniu: 16 cm³ wody destylowanej; w drugim — 2 cm³ n/10 roztworu soli + 14 cm³ wody; w trzecim — 4 cm³ n/10 roztworu soli + 12 cm³ wody; w czwartym — 8 cm³ n/10 roztworu soli + 8 cm³ wody i w piątym — tylko 16 cm³ n/10 roztworu soli. Tym sposobem objętość cieczy poddanej w każdym doświadczeniu dializie wynosiła zawsze 26 cm³ (składając się z peroksydazy + roztworu soli + wody) i przenikała do 100 cm³ wody destylowanej.

Dotychczas zbadałem zachowanie się soli następujących: azotanów potasowego, amonowego i wapniowego, fosforanów jedno-, dwu- i trójpotasowego, siarczanu potasowego, chlorków potasowego i sodowego, octanu potasowego i mleczanu wapniowego. Z bardzo licznych doświadczeń wykonanych przytoczę tutaj tylko rezultaty, jakie otrzymałem z azotanami.

W tabelicy poniższej są zestawione ilości cm³ n/100 roztworu tiosiarczanu sodowego, zużyte do zmianowania jodu wydzielonego przez utlenienie jodowodoru. Liczby wzrastające wskazują, jak, pod wpływem coraz to większych ilości dodanych azotanów (2, 4, 8 i 16 cm³), ilości peroksydazy przedializowanej stawały się też większe.

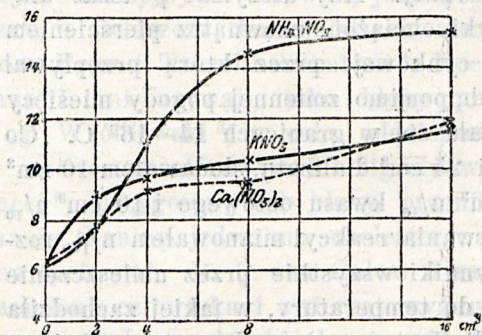
Roztwory soli w ilościach: 0 2 4 8 16 cm³

KNO₃ 6,1 8,9 9,7 10,3 11,6

NH₄NO₃ 6,1 7,6 11,1 14,5 15,4

Ca(NO₃)₂ 6,3 7,6 9,2 9,7 11,9

Rysunek zaś poniższy przedstawia graficznie otrzymane wyniki:



Ze azotany same przez się nie wywierają żadnego wpływu na utlenienie jodowodoru za pomocą nadtlenu wodoru, stwierdziłem drogą osobnych doświadczeń kontrolujących. Sole dodawałem umyślnie w tak drobnych ilościach, aby jaknajbardziej zbliżyć się do warunków koncentracji napotykanym w przyrodzie. Próby z jeszcze większą ilością soli wykazują, że osiąga się szybko koncentrację, powyżej której dalszy dodatek soli pozostaje bez wpływu na dializę peroksydazy.

Badania dotychczas przeprowadzone pozwalają już wyciągnąć pewne wnioski. Pomimo zachowania, o ile to możliwe, jednakowych warunków dializy, rezultaty można tylko wtedy między sobą porównywać, gdy doświadczenia były wykonane zawsze w tym samym dializatorze. Zjawisko bowiem dializy jest bardzo skomplikowane i zależy nie tylko od temperatury, od ciśnienia, pod jakim znajduje się ciecz dializująca, od trwania doświadczenia, lecz także w znacznym stopniu od rodzaju dializatora i rodzaju przenikającej cieczy. Czy w dializie peroksydazy pod wpływem azotanów mamy do czynienia z pewnym rodzajem specjalnego koenzymu nieorganicznego, czy też panują tu jeszcze bardziej skomplikowane warunki, to mogą rozstrzygnąć tylko dalsze badania, które zamierzam dalej prowadzić, a także rozciągnąć je i na inne enzymy.

Genewa—Uniwersytet i Laboratorium prywatne p. A. Bacha.

Badania nad odszczepianiem tlenku węgla ze związków organicznych¹⁾.

Przez D-ra Bolesława Siemiradzkiego.

W przeciągu ostatnich kilku lat stwierdził prof. A. Bistrzycki wraz ze swymi współpracownikami, że cały szereg kwasów trzeciorzędnych, przy rozpuszczaniu w stężonym kwasie siarczanym z nadzwyczajną łatwością odszczepia tlenek węgla. Odszczepianie to następuje częstokroć już w temperaturze pokojowej, niekiedy dopiero przy lekkim ogrzaniu. Spowodowa-

¹⁾ Porównaj: Bistrzycki i B. Siemiradzki, Berichte der D. chem. ges. 38, 63 (1906). i 41, 1665 (1908).