

52. A. Bach: Zur Theorie der Oxydasewirkung.

I. Mangan- und eisenfreie Oxydasen.

(Eingeg. am 17. Januar 1910; mitgeteilt i. d. Sitzung v. Hrn. G. Lockemann.)

Nach der von G. Bertrand¹⁾ aufgestellten Theorie sind Oxydasen als organische Manganverbindungen anzusehen, aus denen nach der Gleichung $R''Mn + H_2O = R''H_2 + MnO$ Manganoxydul hydrolytisch leicht abspaltbar ist. Die Oxydasewirkung kommt in der Weise zustande, daß das inerte Sauerstoffmolekül durch das Manganoxydul unter Entbindung von atomistischem Sauerstoff einerseits und Bildung von Mangandioxyd andererseits aufgespalten wird. Letzteres gibt seinen disponiblen Sauerstoff unter Regenerierung der ursprünglichen Manganverbindung an oxydierbare Stoffe ab. Das Manganoxydul ist also das wirksame Agens der Oxydasen (Laccasen), indem es zugleich die Sauerstoff-Aktivierung und die Sauerstoff-Übertragung herbeiführt.

In den letzten Jahren sind Tatsachen bekannt geworden, die mit der obigen Auffassung nicht gut vereinbar sind. In seiner ersten Mitteilung äußerte Bertrand²⁾ die Ansicht, daß bei dem Zustandekommen der Oxydasewirkung das Mangan durch kein anderes Metall ersetzbar sei. Nun wurden von Slowtzow³⁾, Sarthou⁴⁾ und Issajew⁵⁾ völlig manganfreie, aber eisenhaltige Oxydasen dargestellt, deren Wirkung mit der der Bertrandschen manganhaltigen Oxydasen identisch war. Nach Issajew wird die Wirksamkeit der manganfreien Oxydase durch Zusatz von Mangansalzen nicht erhöht. Es wurde weiter von Rosenfeld⁶⁾, de Stöcklin⁷⁾, sowie Bach und Tscherniack⁸⁾ festgestellt, daß die Peroxydase, deren nahe Beziehung zu den Oxydasen unverkennbar ist, weder Mangan noch Eisen

¹⁾ G. Bertrand, Sur l'action oxydante des sels manganieux et sur la constitution chimique des oxydases. Compt. rend. **124**, 1855 [1897].

²⁾ G. Bertrand, Sur l'intervention du manganèse dans les oxydations provoquées par la laccase. Compt. rend. **124**, 1032 [1897].

³⁾ Slowtzow, Zur Kenntnis der pflanzlichen Oxydasen, Ztschr. für physiol. Chem. **31**, 227 [1900].

⁴⁾ Sarthou, Sur une oxydase retirée du Schinus Molle, Journ. Pharm. et Chimie **11**, 482.

⁵⁾ Issajew, Über die Malzoxydase, Ztschr. für physiol. Chem. **45**, 331 [1905].

⁶⁾ Rosenfeld, Oxydase aus Rettichwurzel, St. Petersburg 1906, Dissert.

⁷⁾ Stöcklin, Contribution à l'étude de la peroxydase, Genève 1907, Dissert.

⁸⁾ Bach und Tscherniack, diese Berichte **41**, 2345 [1908].

enthält. Auf Grund obiger Tatsachen ist man wohl zu der Frage berechtigt, ob überhaupt die genannten Metalle an der eigentlichen Oxydasewirkung beteiligt sind. Die experimentale Entscheidung der Frage scheiterte aber an großen Schwierigkeiten, die ich erst durch die Anwendung der in voranstehender Mitteilung beschriebenen Methode überwinden konnte: es ist mir gelungen, aus Pilzen sehr wirksame Oxydasepräparate darzustellen, die völlig mangans- und eisenfrei sind.

Als Versuchsmaterial wurden Pilze (*Lactarius vellereus*) wegen der großen Beständigkeit der darin enthaltenen Oxydasen gewählt. Im Herbst 1908 wurden von mir 12 kg Pilze auf Oxydasen verarbeitet, wobei die Präparate durch wiederholtes Auflösen in Wasser und Ausfällen mit Alkohol gereinigt wurden. Die Untersuchung der unlöslichen Rückstände, die bei den auf einander folgenden Operationen erhalten wurden, ergab, daß der 1. Rückstand leicht nachweisbare Mengen Mangans und große Mengen Eisens enthielt, in den 2. und 3. Rückständen war Mangan nur spurenweise vorhanden, der 5. Rückstand war völlig mangansfrei, aber noch stark eisenhaltig. Ein Anteil des dem letzteren Rückstand entsprechenden löslichen Präparates wurde verascht und auf Mangan und Eisen untersucht. Er erwies sich ebenfalls als völlig mangansfrei und stark eisenhaltig. Die Reinigung wurde fortgesetzt, aber in dem Maße wie diese fortschritt, verringerte sich die Fällbarkeit der Präparate durch Alkohol. Beim Vermischen der wäßrigen Lösungen der reinen Präparate mit Alkohol entstanden feine Emulsionen, aus denen die Oxydasen sich erst nach längerem Stehenlassen (2–4 Wochen) in Form einer zarten, flockigen Masse abschieden. In dieser Weise wurden 0.987 g (Trockensubstanz) sehr aktive Oxydase erhalten, die bei der Veraschung 0.0791 g = 8.01 % Asche lieferte. Letztere war völlig mangansfrei, aber noch eisenhaltig.

Die Versuche wurden im November des vergangenen Jahres mit einem vorrätigen Pilzsaft (Gemisch von *Lactarius vellereus* und *Russula delica*) unter Benutzung der inzwischen ausgearbeiteten, in voranstehender Mitteilung beschriebenen Fraktionierungsmethode fortgesetzt. Von den vereinigten oxydasereichsten Fraktionen, die bei einem Alkoholgehalt von 65–75 % erhalten wurden und sich als mangansfrei und eisenhaltig erwiesen, wurden ca. 8 g durch dreifaches Fraktionieren in 3 Anteile (50, 70 und 75 % Alkohol) zerlegt. Die letzte Fraktion (75 % Alkohol) erwies sich wiederum als die oxydasereichste. Sie oxydierte rasch Tyrosin, Pyrogallol, Phenol und *p*-Kresol, langsamer Hydrochinon. Auf Jodwasserstoffsäure und aromatische Amine übte sie keine Einwirkung aus. Durch Erhitzen auf 80° konnten die Oxydasereaktionen völlig aufgehoben werden. Von dieser Fraktion wurden 1.68 g (Trockensubstanz) verascht, wobei 0.631 g = 36.99 % schneeweisse Asche erhalten wurden. Letztere wurde unter Zusatz von Salzsäure in Wasser gelöst und auf Eisen untersucht. Die Kaliumferrocyanidprobe fiel völlig negativ ans. Mit Kaliumrhodanat wurde eine äußerst schwache, unbestimmbare Färbung erhalten, die colorimetrisch von der Kontrollflüssigkeit (Reagenzien für sich in Wasser) kaum zu unterscheiden war. Die Asche der

2. Fraktion (70 % Alkohol) gab eine sehr schwache, aber noch deutliche Reaktion auf Eisen.

Aus obigen Versuchen ergibt sich, daß die Anwesenheit von Mangan- und Eisenverbindungen für das Zustandekommen der Oxydasewirkung keineswegs ausschlaggebend ist. Dieser Befund, der die Bertrandsche Auffassung hinfällig macht, stimmt dagegen mit der von mir¹⁾ vor 13 Jahren zuerst aufgestellten und jetzt von mehreren Forschern vertretenen Peroxydtheorie der Oxydasen vollkommen überein. Schon damals betonte ich, daß in der Oxydation des Indigoblaus durch den Luftsauerstoff in Gegenwart von Benzaldehyd das Bild der Oxydasewirkung vorliegt. Damit ist aber nicht gesagt, daß die im Pflanzen- und Tierkörper vorkommenden Metallverbindungen auf die Oxydasewirkung keinen Einfluß ausüben. Wie in nachstehender Mitteilung bewiesen wird, beschleunigen sie die weitere Umwandlung der primär entstehenden Oxydationsprodukte, wodurch indirekt die Oxydasewirkung beschleunigt werden kann.

Genf, Privatlaboratorium.

53. A. Bach: Zur Theorie der Oxydasewirkung.

II. Einfluß der Metallsalze auf die weitere Umwandlung der Produkte der Oxydasewirkung.

(Eingeg. am 17. Jan. 1910; mitget. in der Sitzung von Hrn. G. Lockemann.)

Wir verdanken G. Bertrand²⁾ die ersten Beobachtungen über den Einfluß der Metallsalze auf die Oxydasewirkung. Er fand, daß die Wirkung der mangauarmen Luzerne-Oxydase durch Zusatz von Mangansalzen beträchtlich erhöht werden kann. Da er das Mangan als das einzige wirksame Agens der Oxydasen ansah, so konnte er natürlicherweise diesen Befund nur im Sinne seiner Ansicht deuten. Viel klarer und wichtiger sind die von C. Gessard³⁾ gemachten Beobachtungen über den Einfluß der Metallsalze auf die Wirkung der Tyrosinase. Bekanntlich entstehen bei der Einwirkung von Tyrosinase auf Tyrosin rot gefärbte Produkte, die sich allmählich in schwarze, melaninartige Körper umwandeln. Gessard fand nun, daß bei ge-

¹⁾ A. Bach, Du rôle des peroxydes dans les phénomènes d'oxydation lente, Compt. rend. 124, 951 [1897]; Moniteur Scientifique 11, 479 [1897].

²⁾ G. Bertrand, Compt. rend. 124, 1032 [1897].

³⁾ C. Gessard, Sur la tyrosinase. Compt. rend. 130, 1327 [1900].