

URZĄD PATENTOWY



C12 d 13/10

RZECZYPOSPOLITEJ POLSKIEJ

OPIŚ PATENTOWY

Nr 14554.

Kl. 6 b 3.

Friedrich Franz Nord
(Berlin, Niemcy).

Sposób zwiększania szybkości przebiegu reakcyj enzymatycznych.

Zgłoszono 4 maja 1928 r.

Udzielono 16 września 1931 r.

Pierwszeństwo: 3 czerwca 1927 r. (Niemcy).

Przy przeprowadzaniu przemian chemicznych za pomocą enzymów, szybkość przebiegu reakcyj zależy od koncentracji enzymu danego substratu.

Stwierdzono, że działanie roztworu enzymowego po zamrożeniu, wskutek zwiększenia się powierzchni zawartych w roztworze koloidów, znacznie się zwiększa przy równoczesnej odpowiedniej zmianie ich wrażliwości wobec produktów pośrednich i końcowych.

Okazało się, że jeśli roztwory takich ciał, które posiadają właściwości koloidów liofilowych, po zamrożeniu lub bez zamrażania, ewentualnie jeśli komórki, zawiera-

jące enzymy, poddaje się działaniu związków, które przez komórki te łatwo zostają absorbowane, to ich zdolność reakcyjna zostaje utrzymana w ciągu dłuższego czasu, szkodliwy zaś wpływ pośrednich produktów reakcyjnych jak również końcowych, zostaje usunięty.

Substancje te powodują, nie biorąc przytem udziału w reakcji chemicznej, zwiększenie przepuszczalności błony komórkowej oraz tworzą na czynnej powierzchni aktora warstwę adsorbcyjną, a w obecności substratu wskutek zmiany powierzchni enzymu, w miarę postępowania reakcji, wspólną warstwę adsorbcyjną po-

między aktorem i substratem, dzięki czemu po pierwsze zwiększa się szybkość reakcji, a powtórnie wytwarza się ochrona tej powierzchni przed szkodliwym działaniem ze strony pośrednich i końcowych produktów reakcji.

W ten sposób można, dzięki tak wytworzonym „ochraniaczom” (protektorom), np. w zaczynach mącznych, spowodować szybszą djastatyczną przemianę, jak również tworzenie się twardej powłoki (krupty) przy pieczeniu ciasta. Zymazy drożdżowe, które podczas fermentacji zostały silnie osłabione, np. przez kwas pyrogronowy, mogą dzięki obecności takiego „ochraniacza” służyć do normalnej fermentacji związków o sześciu atomach węgla. Substancje te działają na komórki liści tytoniowych przede wszystkim w znaczeniu podniesienia przepuszczalności błony komórkowej, co się przejawia w przyspieszonym rozkładzie wody utlenionej, spowodowanym obecnością katalazy.

Wykonanie niniejszego sposobu polega na tem, że komórki, zawierające enzymy, lub roztwory enzymowe poddaje się w ciągu krótkiego czasu, w temperaturze pokojowej, działaniu łatwo absorbujących związków, jak np. tlenku azotawego, acetyleny, etylenu, propylenu, butylenu, amylenu lub ich mieszanin, przyczem tlenek azotawy działa najslabiej, acetylen o wiele silniej.

Przykład I. 50 g suchych piwnych drożdży dolnofermentacyjnych miesza się dokładnie z 150 cm³ wody wodociągowej, nasyconej bezwodnikiem węglowym, i poddaje macerowaniu w ciągu 6—7 godzin w temperaturze 25—26°C. Wyciąg ten, celem oddzielenia go od stałych składników komórkowych, odwirowuje się dwukrotnie, a następnie oznacza jego napięcie powierzchniowe, względnie lepkość. Otrzymany roztwór zymazy, przechowywany w temperaturze —10°C zachowuje swą aktywność w ciągu szeregu tygodni. Przez 20 cm³

tego roztworu przepuszcza się w ciągu 5—15 minut umiarkowany strumień etylenu handlowego, poczem płyn ten pozostawia się w spokoju przez kilkanaście godzin w zamkniętym naczyniu, w chłodnym miejscu. Następnie dodaje się do roztworu tego 1 g glukozy, a wytwarzającą się przy 30°C ilość kwasu węglowego usuwa się za pomocą nasyconego kwasem węglowym roztworu soli kuchennej i wprowadza do biurety z podziałką co $\frac{1}{10}$ stopnia, w celu dokonania pomiarów. Do kontroli służy identyczny, jednak uprzednio niespreparowany roztwór zymazy. Różnicę w szybkości reakcji uwidocznia para krzywych a na fig. 1.

Po zużyciu większej ilości cukru do roztworów dodaje się ponownie po 1 g glukozy i wówczas jeszcze jaskrawiej uwidacznia się działanie zymazy (krzywe b).

W celu dalszego uwidacznienia działania ochronnego, można do roztworu jeszcze dodać 0,5 g glukozy (krzywe c).

Część roztworu głównego, niez użytę do powyższego doświadczenia, pozostawia się przez 24 godzin w temperaturze około —10°C, a po odtajaniu używa do sfermentowania cukru (w wyżej podanym stosunku). W początkowym stadium reakcji można było stwierdzić 5,6 i więcej cm³ kwasu węglowego, wytworzonego w ciągu 1 sekundy, który to fakt zgadza się ze zmniejszeniem się lepkości z 80.80 sek (25° na 78,36 sek) 25°, względnie z wzrostem napięcia powierzchniowego z 41.45 dyn (25° na 45,89 dyn) 25°.

Przykład II. Przez 20 cm³ 10% zawiesiny górnofermentacyjnych drożdży piwnych w nasyconej bezwodnikiem węglowym wodzie wodociągowej przepuszcza się w ciągu 5 minut umiarkowany strumień (60—70 pęcherzyków przepływa na minutę) etylenu handlowego, poczem bezpośrednio przeprowadza się fermentację przy kilkakrotnym dodawaniu po 1 g glukozy (porówn. fig. 2).

Przykład III. Przez 20 cm³ zawiesiny górnofermentacyjnych drożdży przepuszcza się, jak wyżej, etylen i do zawiesiny tej, pozostawionej przez całą noc w zamkniętym naczyniu i w chłodnym miejscu, dodaje się 0,2 g świeżo destylowanego kwasu pyrogronowego. (Na fig. 3 przedstawia dolna para krzywych fermentację kwasu z „ochraniaczem” i bez niego). Reakcja zachodzi w ciągu mniej więcej 24 godzin. Następnie drożdże przemywa się kilkakrotnie wodą, dokładnie odwirowuje i jeszcze raz wytwarza z nich zawiesinę w wodzie wodociągowej, nasyconej kwasem węglowym. Po dodaniu każdorazowo 1 g glukozy, przeprowadza się fermentację, której przebieg przedstawia górna para krzywych (fig. 3).

Przykład IV. Przez zawiesinę 5 g krainki świeżo zebranego tytoniu w 60 cm³ wody przepuszcza się strumień etylenu, poczem rozcieńcza tę zawiesinę 15 cm³ 30% wody utlenionej w ten sposób, aby początkowa koncentracja wody utlenionej wynosiła około 6%. Przebieg wydzielania

się tlenu przez katalazę przedstawiają pary krzywych na fig. 4.

Zastrzeżenie patentowe.

Sposób zwiększania szybkości przebiegu reakcyj enzymatycznych, znamieny tem, że czynnik (aktor) lub substrat, lub też oba te ciała, poddaje się działaniu bądź tlenu azotawego, acetyleny, etylenu, propylenu, butylenu, amylenu lub innych nienasyconych węglowodorów, bądź ich mieszanin i roztworów, wskutek czego następuje zwiększenie przepuszczalności błony komórkowej, a na czynniku (aktorze) lub substracie, lub też na obu tych ciałach, wytwarza się ochronna warstwa adsorbcyjna, przyczem powierzchnia czynnika (aktora) przed zetknięciem się z substratem może ulec zwiększeniu.

Friedrich Franz Nord.
Zastępca: Dr. M. Goldwasser,
adwokat.

Fig. 1.

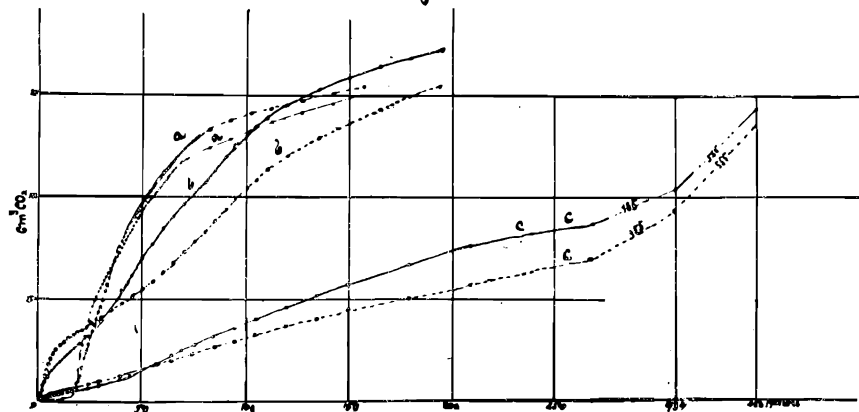


Fig. 3.

