

297. A. Bach: Purpurogallin-Ausbeuten bei der Oxydation des Pyrogallols mittels Peroxydase und Hydroperoxyd.

(Eingegangen am 10. Juni 1914.)

Nierenstein und Spiers¹⁾ haben vor kurzem die Darstellung des Purpurogallins aus Pyrogallol nach sämtlichen bisher bekannten Methoden, darunter auch mittels Peroxydase und Hydroperoxyd, ausgeführt und gefunden, daß die Ausbeuten zwischen 10 und 16 % schwanken. Bach und Chodat²⁾ haben die Wirkung der Peroxydase bei der Oxydation des Pyrogallols mittels Hydroperoxyd an dem entstehenden Purpurogallin messend verfolgt und dabei festgestellt, daß bei konstanter und überschüssiger Hydroperoxydmenge die Purpurogallin-Ausbeuten den Peroxydasemengen, bei konstanter und überschüssiger Peroxydasemenge den Hydroperoxydmengen genau direkt proportional sind. Diese Proportionalität gilt nur bis zu einer gewissen Grenze, oberhalb welcher weitere Peroxydase- bzw. Hydroperoxyd-Zusätze kein Ansteigen der Purpurogallin-Mengen herbeiführen. Diese Grenze entspricht also der vollen Ausnutzung des Substrates und zeigt die maximale Ausbeute an Purpurogallin. Die von Bach und Chodat bei 6 Versuchen erhaltenen Ausbeuten schwanken zwischen 16.2 und 16.8 % und stehen den maximalen Ausbeuten von Nierenstein und Spiers nahe. E. de Stöcklin³⁾ will aus 1 g Pyrogallol, 0.1 g Peroxydase und 20 ccm einprozentiger Hydroperoxydlösung 0.50 g, also 50 % Purpurogallin erhalten haben. Daß Bach und Chodat bei weitem geringere Ausbeuten erzielten, erklärt er dadurch, daß sie zu hohe Hydroperoxyd-Konzentrationen anwandten und mit einer weniger reinen Peroxydase arbeiteten. Mit Rücksicht auf diese Angaben schien es mir von Interesse, die durch Ultrafiltration weitgehend gereinigte Peroxydase (vergl. voranstehende Mitteilung) auf ihr Verhalten bei der Oxydation des Pyrogallols mittels Hydroperoxyd näher zu prüfen.

Die Versuche wurden mit je 1 g Pyrogallol, 15 ccm einprozentiger Hydroperoxydlösung und steigenden Peroxydasemengen a) in 50 ccm und b) in 200 ccm gleichzeitig ausgeführt. Das entstandene Purpurogallin wurde nach 24 Stunden langem Stehenlassen auf tarierte Filter gesammelt, mit 100 ccm nachgewaschen, bei 105° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und gewogen. Zur Ausgleichung der Lösungsverhältnisse wurden zu den Proben der a-Reihe 1 Stunde vor dem Filtrieren 150 ccm Wasser gegeben. Die erhaltenen Resultate sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

¹⁾ B. 46, 3151 [1913]. ²⁾ B. 37, 1342 [1904].

³⁾ Contribution à l'étude de la peroxydase. Genève 1907 (Dissert.).

mg Peroxydase	1		2		3		4		5		6	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
mg Purpurogallin:	94	98	201	206	261	258	252	260	249	262	267	258

Zur Ergänzung wurde noch ein Versuch mit großem Peroxydase- und Hydroperoxyd-Überschuß, nämlich mit 6 mg Peroxydase und 0.3 g Hydroperoxyd a) in 50 ccm und b) in 200 ccm angestellt.

Erhalten: a) 261, b) 264 mg Purpurogallin.

Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß der Reinheitsgrad der Peroxydase nicht für die Höhe der Purpurogallin-Ausbeute ausschlaggebend ist. Meine Peroxydase war etwa 20-mal wirksamer, als die Stöcklinsche, und doch konnte ich nur etwa die Hälfte der von de Stöcklin angegebenen Ausbeute erzielen. Die Konzentration des Hydroperoxyds ist ebenfalls auf die Wirksamkeit der Peroxydase und die Höhe der Purpurogallin-Ausbeute ohne merklichen Einfluß: unter sonst gleichen Bedingungen wurden in 50 ccm praktisch die gleichen Ausbeuten wie in 200 ccm erhalten. Zu bemerken ist allerdings, daß in letzterem Falle das Purpurogallin als voluminöser, stark wasserhaltiger Niederschlag erscheint und beim Trocknen viel langsamer als in ersterem zur Gewichtskonstanz gebracht wird.

Zum Schlusse sei noch hier eine sehr empfindliche Reaktion des Purpurogallins erwähnt. Wird Purpurogallin in Alkohol oder Aceton gelöst, die Lösung mit dem 3-fachen Volumen Wasser verdünnt und mit Peroxydase und Hydroperoxyd versetzt, so nimmt das Gemisch eine prachtvolle, violette Färbung an, die allmählich verschwindet und durch eine braune ersetzt wird. Diese Reaktion gestattet, 1 Tl. Purpurogallin in 500000 Tln. Flüssigkeit zu erkennen. Die gleiche Reaktion wird auch durch die Phenolase bewirkt, was nochmals die vielfach betonte Gleichwertigkeit der Phenolase und des Systems Peroxydase + Hydroperoxyd bestätigt.

Die erwähnte Erscheinung läßt sich auch beim Behandeln einer wäßrigen Aufschlammung von Purpurogallin mit Phenolase oder Peroxydase und Hydroperoxyd beobachten. Daraus ergibt sich, daß das bei der Oxydation des Pyrogallols entstehende Purpurogallin nur insofern der Oxydation entgeht, als es sich in unlöslichem Zustande ausscheidet. Für die Ausbeuten ist daher in erster Linie die Geschwindigkeit der Ausscheidung des Purpurogallins maßgebend.