

PERJODAT-ZAHL VON EIWEISSSTOFFE

Hamada, Matsukichiro

Maekawa, Kazuyuki

<https://doi.org/10.15017/21219>

出版情報：九州大学農学部学藝雑誌. 13 (1/4), pp.180-184, 1951-11. 九州大学農学部
バージョン：
権利関係：



PERJODAT-ZAHL VON EIWEISSSTOFFE

Matsukichiro Hamada

und

Kazuyuki Maekawa

Glykol-Spaltung sind erfolgreich auf mannigfaltige Forschungen vor allem auf Zuckerverchemie angewandt worden.

Falls eine der an Kohlenstoff angeknüpfen OH-Gruppe oder beide durch NH_2 - oder R-NH- umgesetzt wurden, konnte auch sog. Glykol-Spaltung stattfinden.

Nicolet und Shinn^{1, 2)} zersetzten solcherweise Serin, Threonin und bestimmten jede für sich als Form- und Acetaldehyd aus Aminosäuren Gemische. Van Slyke und Mitarb.³⁾ fanden, dass KJO_4 in der konzentrierten K_2CO_3 Lösung aus β -Oxyaminosäuren seine NH_2 -Gruppe als Ammoniak trennen liess, und sie dazu behaupteten, dass Oxylysin, σ -Oxy- α , ϵ -diaminohexonsäure existieren sollte.⁴⁾ Martin und Syngé⁵⁾ bestimmten Aldehyd und Ammoniak, welche durch Perjodat-Oxydation aus dem Gemische von Aminosäuren und Eiweisshydrolysat entstanden. Um Oxyaminosäure in der Proteinhydrolysat zu untersuchen, wird nun Perjodat⁶⁾ gern benutzt.

Noch jetzt wird jedoch über Eiweissstoffe an und für sich nicht studiert, ob es sich um solch eine Spaltung zwischen der OH-Gruppe, die sich in der Seitenkette der Peptide-Bindung befindet, und der der OH-Gruppe nahestehenden NH-Gruppe der Peptide handelt.

Die Verfasser untersuchten dann über die Oxydation von gebundenen Oxyaminosäuren in dem Eiweissstoffe. Zwar reagiert jede Aminosäure bei freiem Zustande gewissermassen an verschiedenen Verhältnissen mit NaJO_4 , aber man kann aus Oxydant-Verbrauche für Aminosäuren Gemische etwas Beträchtliches nicht gewinnen, weil die oxydative Zersetzung durch Perjodat immer zwischen der α -Aminogruppe und COOH stattfinden mag. Andererseits dünkt uns leicht, dass Tryptophan, Cystin, Oxylysin usw., sei es im freien Zustand oder im gebundenen wie im Eiweissstoffe, abgesehen von α -Amino und Carboxy-Stelle, durch NaJO_4 ähnliche oxydative Zersetzung erleiden werden. Obwohl freie OH-Gruppen sich befinden, falls sie der Wasserstoff-Bindung teilhaft sind, mögen sie vor Oxydation gehütet werden. Anderfalls verbinden sich die OH-Gruppen teilweise mit Säuren, wie Serin in Casein, und erleiden keine Oxy-

dation. Also lässt sich der Perjodat-Verbrauch von Eiweiss nur wenig mit der Zusammensetzung der Aminosäuren erklären.

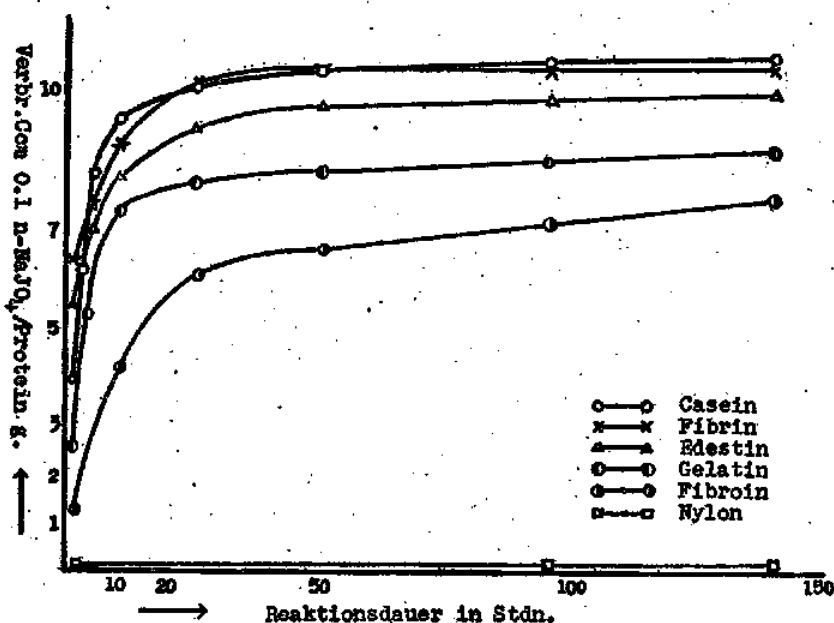
Es lässt sich dieser Wert vielmehr für ein Merkmal von Eiweissstoffe halten. Die Verfasser wollen daher diesen eine Perjodat-Zahl von Eiweissstoffe nennen.

Beschreibung der Versuche

1. Direkte Oxydation von Eiweissstoffen durch Perjodat

Die überschüssige Menge von 0.05 n wässriger NaJO_4 -Lösung wurden zu den Proben zugesetzt. Nach gewisser Stehenlassung bei Zimmertemperatur wurde noch bleibendes NaJO_4 unter Anwendung von Arsenigsäure bestimmt.⁷⁾ Die dabei gefundenen Ergebnisse sind wie folgende:

Man kann aus der obigen Figur erkennen, dass jeder Eiweissstoff einen gewissen eigenartigen Verbrauch zeigt: die Reaktion geht anfangs einige Stunden lang sehr schnell fort und danach im Laufe der Zeit nimmt ihre Rate ab. Diese Tatsachen sind aus dem vorbereiteten Versuche darauf zurückzuführen, dass Tryptophan, Threonin anfänglich, schnell, Cystin, usw. erst nach ziemlicher Belassung angegriffen werden.



Figur 1.

Auf Grund weiter davon, dass Nylon (Peptide-Bindung befindet sich wie $\text{-NH-(CH}_2\text{)}_6\text{-NH-CO-(CH}_2\text{)}_4\text{-CO-}$) fast nicht angegriffen wird, kann man leicht erfassen, dass es sich um keine Peptide-Bindung handelt.

In der Tafel 1 wurden die Werte für Reaktionsdauer 24 Std. aufgeschrieben.

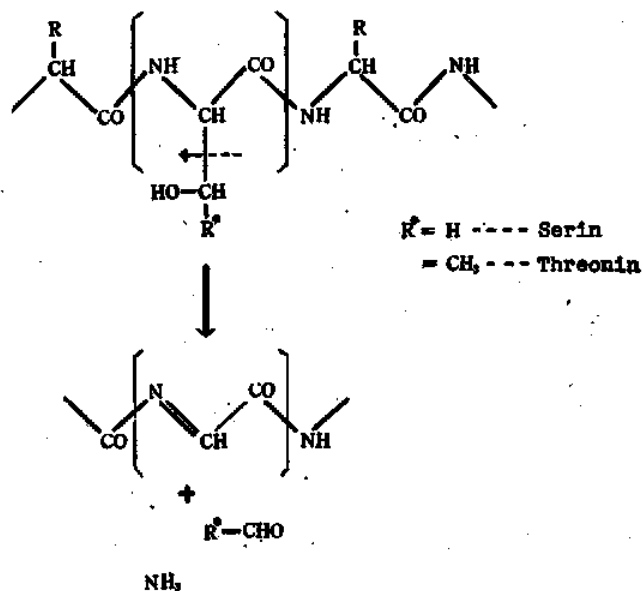
Tafel 1.

Probe	Ccm 0.1 NaJO ₄ n /g Subst.	D.A.R.	Mol NaJO ₄ /D. A.R.	Oxy A.S./ges. A.S.
Casein	11.48	135.7	0.0779	0.134*
Gelatin	8.25	91.7	0.0378	0.058
Fibroin	7.30	70.3	0.0257	0.131
Blutfibrin	10.35	120.0	0.0621	0.179*
Edestin	9.60	135.8	0.0652	0.134*
Nylon	0.14	(226)	0.0016	—

(* Einschliesslich des Tryptophan und Cystin.)

In der Tafel 1 ist D.A.R. der durchschnittliche Aminosäurerest.

Mol NaJO₄/D.A.R. rechnet sich aus den Titrationswerten um und zeigt die Frequenz von der oxydativen Zersetzung erleidenden Aminosäuren, wie Oxyaminosäuren, Tryptophan usw. Wie man aus der obigen Tafel erkennt, befindet sich die von Perjodat angegriffene Stelle durchschnittlich bei Casein im Verhältnis von 1 Stelle pro 13 Aminosäurerest (1/0.078), bei Gelatin 1 Stelle pro 26 Rest (1/0.038).



Figur 2.

In welcher Stelle der Oxydant-Verbrauch sich verhielt, d. h. ob es in der Stelle von Oxyaminosäure war, oder in der End-Gruppe, kann nicht ohne weiteres entschieden werden. Spalte 5 zeigt Mol-Rate derartiger Moleküle, die Serin, Threonin, Oxylysin und, aus vorbereiteten Versuchen angesehen, Tryptophan (berechnet als 3 Mol-Verbrauch), enthalten, gegen gesamte moleküle Zahl des Eiweissstoffes. Also besitzt die endlich mit dem Werte von Spalte 4 die gleiche Bedeutung.

Wenn man derartige Spaltung annimmt, wie in der Figur 2 gezeigt wurde, abspaltend von Aldehyd, so könnte der Unterschied beider Ziffern darauf beruhen, dass nur die Hälfte von Oxyaminosäure bei Casein frei wäre.

2. Bestimmungen von Aldehyd und Ammoniak, die aus Eiweissstoffe durch Perjodat entstanden

a), Bestimmung von Aldehyd.

Aldehyd, das aus Eiweissstoffe durch Perjodat entstanden sei, wurde durch Lüftung in die vorbereitete Wässr. Lösung, die aus Natriumnitroprussid, Piperidin und Natriumcarbonat entstehen,²⁹ eingeleitet. Die dabei entstandene purpurrote Farbe wurde mit Standard verglichen. Wenn die Menge des Aldehyds zu gering ist, werden die Reagenzien auf der bestimmten Menge von reagiertem Gemische direkt zugesetzt und die dabei entstandene Färbung mit Standard verglichen. Andernfalls wurde auch Aldehyd mit Dimedon niedergeschlagen. Das Resultat wird sich in der Tafel 2 gefunden.

Tafel 2.

	mg Ald.† / g Subst.	Ber. aus NaJO ₄ -Verbr.* (mg Ald.†/g Subst.)	Ber. aus	
			Serin	Threonin
Casein	5.01	10.54	1.22	12.94
Gelatin	3.52	7.06	7.41	6.15

† Ber. als Acetaldehyd.

* Wenn man annimmt, dass es für Aldehyd-Spaltung allein benutzt würde.

b), Bestimmung von Ammoniak.

Je 1 gr. von Casein oder Gelatin wird in den Kolben³⁰ abgewogen, der zu nachheriger Lüftung rüstet worden ist, hierzu zuerst 5 ccm 1 n-NaJO₄ Lösung und nach weiter 60 Minuten 10 ccm von 5 %ige K₂CrO₃ Lösung versetzt werden. An Zimmertemperatur lässt sich Ammoniak in die vorbereitete 0.05 n-H₂SO₄ einleiten.

In der Tafel 3 werden die Resultate gefunden werden.

Tafel 3.

	mg NH ₃ /g Subst.	Ber. aus NaJO ₄ - Verdr.*	Ber. aus	
			Oxylysin	Tryptophan
Casein	1.7	4.02	0.34	1.39
Gelatin	1.3	2.69	0.93	

* Wenn man annimmt, dass es für NH₃-Spaltung allein benutzt würde.

Wie in diesen Experimenten gezeigt wird, ersieht man, dass Ammoniak und Aldehyd aus Casein oder Gelatin durch NaJO₄-Oxydation entstehen. Es gäbe also irgend eine OH-Gruppe von Oxyaminosäuren in Eiweissstoffe im Freizustand und doch würde erwartungsgemäss als Aldehyd oxydativ abgeschnitten werden.

Die Arbeit wurde auf Kosten der Ausgaben des Unterrichtsministeriums für wissenschaftliche Forschung ausgeführt.

Literatur

- 1) B. H. Nicolet u. L. A. Shinn; J. biol. Chem., 138 (1941), 91. ibid., 139 (1941), 687.
- 2) B. H. Nicolet u. L. A. Shinn; Am., 63 (1941), 1456.
- 3) D. D. Van Slyke et al.; J. biol. Chem., 133 (1940), 287.
- 4) D. D. Van Slyke et al.; (Proc. Soc. Exp. Biol., N. Y., 38 (1938), 548)*; Biol. Abst., 12 (1938), 706.
- 5) A. J. P. Martin u. R. L. M. Synge; Biochem. J., 35 (1941), 294.
- 6) G. R. Tristram; Adv. in Protein Chemistry, 5 (1949), 88.
- 6b) M. W. Rees; Biochem. J., 40 (1946), 632.
- 7) M. Hamada u. K. Maekawa; J. Fac. Agr. Kyushu Univ., 9 (1950), 311.
- 8) F. Feigl; Qual. Analyse mit Tüpfelreaktionen (1938), S. 412.
- 9) F. Haurowitz; Progress in Biochemistry (New York, 1950), S. 101.