

155 544 2 - Dem hochverehrten Herrn
Prof. Dr. Karl Schiv

unser
Verfasser

къ вопросу

О ХОДѢ ИНВЕРСИИ

1938

подъ

вліяніемъ инвертина.

ДИССЕРТАЦІЯ

на степень

МАГИСТРА ФАРМАЦІИ

Д. А. Киккана.



ЮРЬЕВЪ.

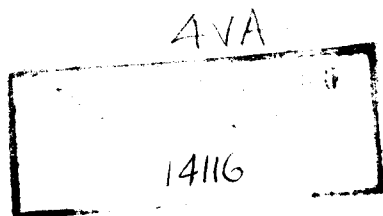
Печатано въ типо-литографіи Г. Лаакмана.

1903.

Печатано съ разрѣшенія Медицинскаго Факультета Императорскаго
Юрьевскаго Университета.

Юрьевъ, 1 Мая 1903 года.
№ 532.

Декаль : В. Курчинскій.



Введение и краткій литературный очеркъ.

Инвертинъ («инвертаза» — Invertase, «сукраза» — Sukrase) принадлежитъ къ классу веществъ, носящихъ названіе «безформенныхъ ферментовъ» или «энзимовъ».

Достаточно точное и легко понятное изложеніе того, что подразумѣвается подъ названіемъ безформенныхъ ферментовъ или энзимовъ, дано многочисленными подробными работами проф. Г. А. Таммана¹⁾, относящимися къ вопросу о ходѣ реакцій этихъ веществъ при различныхъ физическихъ условіяхъ. По воззрѣнію этого изслѣдователя безформенные ферменты представляютъ группу органическихъ соединений, не вполне опредѣленнаго до сихъ поръ химическаго состава, въ присутствіи которыхъ нѣкоторыя реакціи, совершающіяся ужъ сами по себѣ въ водныхъ растворахъ, значительно ускоряются.

Всѣ безформенные ферменты являются продуктами жизнедѣятельности живыхъ клѣтокъ; синтетическимъ путемъ они еще не получены. Въ жизнедѣятельности организмовъ, а особенно при обмѣнѣ веществъ, они имѣютъ огромное значеніе. Ферменты встрѣчаются

1) G. Tammann, Zeitschr. f. physikal. Chem. III p. 25 — 1889 XVIII p. 426 — 1895. Zeitschr. f. physiol. Chem. XVI p. 271 — 1891. Журналъ Р. Ф. Х. О. томъ XXIV p. 698 — 1892.

какъ у простѣйшихъ, одноклѣточныхъ, такъ и самыхъ высшихъ представителей животнаго и растительнаго царствъ. Изслѣдованіе химическаго состава ферментовъ мало способствовало ближайшей характеристикѣ этихъ веществъ. Единственнымъ критеріемъ ферментнаго характера какого-нибудь вещества является его своеобразное дѣйствіе.

Въ виду фізіологическаго значенія ферментовъ старались поставить разныя гипотезы о механизмѣ ихъ реакцій уже за долго до начала болѣе подробнаго изслѣдованія законовъ этихъ реакцій. Но такъ какъ до настоящаго времени еще не существуетъ достаточно понятнаго объясненія механизма ускореній реакцій, вызываемыхъ веществами точно извѣстнаго химическаго состава, на примѣръ ускоренія гидролитическихъ реакцій разведенными кислотами, то всѣ существующія гипотезы, относительно механизма ферментныхъ реакцій преждевременны.

Если какая-нибудь реакція отъ прибавленія какого-нибудь посторонняго вещества ускоряется или замедляется, то такія реакціи называются по Berzelius'у «каталитическими», а вещество, производящее означенное измѣненіе скорости реакціи, «катализаторомъ.» Такъ какъ сущность реакцій болѣе подробно въ настоящее время изслѣдованныхъ ферментовъ состоитъ въ ускореніи гидролиза, то съ перваго взгляда они могутъ быть отнесены къ группѣ каталитическихъ реакцій.

Ускоряющимъ образомъ на гидролизъ дѣйствуютъ, какъ извѣстно, всѣ кислоты. Въ качественномъ отношеніи мы видимъ нѣкоторую параллель между дѣйствіемъ разведенныхъ кислотъ и безформенныхъ ферментовъ. Такъ, на примѣръ, тростниковый сахаръ подѣ

дѣйствіемъ разведенныхъ кислотъ скоро превращается въ инвертированный сахаръ; такое-же измѣненіе тростниковаго сахара происходитъ отъ прибавленія къ водному раствору его фермента инвертина. Глюкозиды, какъ извѣстно, расщепляются подѣ дѣйствіемъ разведенныхъ кислотъ на болѣе простыя соединенія; амигдалинъ, салицинъ, арбутинъ и еще нѣкоторые другіе глюкозиды качественно расщепляются подѣ дѣйствіемъ фермента эмульсина такимъ же путемъ, какъ подѣ влияніемъ разведенныхъ кислотъ. Крахмальный клейстеръ разжижается отъ дѣйствія на него кислотъ: то-же самое происходитъ отъ прибавленія фермента диастаза и т. д.

Несмотря на приведенные примѣры, указывающіе на нѣкоторое сходство ускоренія гидролитическихъ реакцій кислотами, съ одной стороны, и ферментами, съ другой, замѣчаются все-таки, при болѣе подробномъ сравненіи, значительныя различія между обѣими группами реакцій, какъ въ качественномъ, такъ и количественномъ отношеніи. Эти различія были впервые опредѣлены и указаны также проф. Г. А. Тамманомъ.

Качественныя различія.

По воззрѣнію проф. Г. А. Таммана¹⁾, «гидролитическое дѣйствіе кислотъ гораздо общѣе, чѣмъ ферментовъ. Между тѣмъ какъ любая кислота способна вызвать любую гидролитическую реакцію, каждый безформенный ферментъ въ состояніи замѣтно расщеплять всегда лишь только одно или нѣкоторыя опредѣленные

1) G. Tammann, Zeitschr. f. physiol. Chem. XVI p. 274 — 1892.

вещества.» Въ дальнѣйшемъ изложеніи о различіяхъ между дѣйствіемъ кислотъ и безформенныхъ ферментовъ проф. Г. А. Тамманъ выражается слѣдующимъ, болѣе опредѣленнымъ образомъ: «Смотря по способности къ реакціи, кислоты относятся къ ферментамъ какъ групповые реактивы къ частнымъ.»

Этотъ характеръ ферментовъ, какъ частныхъ реактивовъ, выражается иногда очень рѣзко. E. Fischer¹⁾ при изслѣдованіи дѣйствія разныхъ ферментовъ на синтетически полученные эфиры глюкозы, такъ называемые искусственные глюкозиды, констатировалъ, что эмульсинъ разлагаетъ лишь только β метиль-глюкозидъ, на α изомеръ этотъ ферментъ не дѣйствуетъ. Подъ дѣйствіемъ инвертина расщепляется α метиль-глюкозидъ, β изомеръ остается неизмѣненнымъ. J. Effront²⁾ приводитъ, что лакказа (Laccase), подъ дѣйствіемъ которой происходитъ быстрое окисленіе дифенила, его гомологовъ и продуктовъ замѣщенія, вліяетъ на измѣненіе этихъ веществъ только тогда, если обѣ окисляемыя группы находятся въ орто-положеніи, на пара и мета производныя она не дѣйствуетъ.

Инвертинъ ускоряетъ гидролизъ тростниковаго сахара, молочный же сахаръ онъ не измѣняетъ.

Количественныя различія.

Изслѣдуя количественно ходъ гидролиза подъ дѣйствіемъ кислотъ и ферментовъ, находятъ еще дальнѣйшія, болѣе важныя различія.

1) E. Fischer-Berlin, Ber. 27 p. 2987 u. 2990 -- 1893.

2) J. Effront. Die Diastasen und ihre Rolle in der Praxis 1900 p. 250.

Кислоты не измѣняются въ теченіе реакціи; количество ихъ остается во время всего хода реакціи постояннымъ. Ферменты, напротивъ, претерпѣваютъ въ теченіе реакціи, какъ и вообще въ водномъ растворѣ, измѣненія, результатомъ которыхъ является потеря способности къ дѣйствію. Ферменты разлагаются въ водномъ растворѣ на вещества, не обладающія специфическими свойствами ферментовъ, какъ сами по себѣ, такъ и въ присутствіи соотвѣствующихъ гидролизуемыхъ веществъ. Количество дѣйствующаго фермента уменьшается въ теченіе реакціи. Скорость этого уменьшенія прежде всего есть функція температуры.

Уменьшеніемъ количества дѣйствующаго фермента въ теченіе реакціи обуславливается неполнота гидролитическихъ реакцій подъ дѣйствіемъ ферментовъ. Не все количество вещества, подлежащаго дѣйствію фермента, гидролизуется, часть его должна всегда оставаться неизмѣненной, не смотря на то, что при сравнительно низкой температурѣ и большихъ количествахъ фермента эта часть становится часто неизмѣримо малой, такъ что даже посредствомъ самыхъ чувствительныхъ реактивовъ ее открыть оказывается невозможнымъ. Гидролизъ подъ дѣйствіемъ кислотъ для конечнаго времени тоже не доходитъ до теоретическаго конца, но по истеченіи безконечно долгаго времени сдѣлается законченнымъ. Реакціи ферментовъ не могутъ доходить до конца и при этомъ условіи, такъ какъ въ продолженіе безконечно долгаго времени все количество фермента потеряло свое дѣйствіе. Неполнота ферментныхъ реакцій является необходимымъ слѣдствіемъ разложенія ферментовъ въ теченіе гидролитической реакціи на недѣйствующіе продукты распада, какъ это видно изъ

слѣдующаго, даннаго профессоромъ Г. А. Тамманомъ¹⁾ уравненія.

Обозначимъ черезъ А первоначальное количество фермента, черезъ В количество гидролизуемаго вещества въ единицѣ объема, черезъ х количество фермента, сдѣлавшагося въ теченіе времени t не дѣйствующимъ, черезъ у количество превращеннаго въ теченіе времени t подлежащаго дѣйствию фермента вещества. Такъ какъ превращенное въ единицѣ времени количество гидролизуемаго вещества пропорціонально концентрации неизмѣнивагося вещества и количеству дѣйствующаго фермента, то ходъ гидролиза подѣ дѣйствіемъ ферментовъ можно выразить слѣдующимъ уравненіемъ.

$$\frac{dy}{dt} = k (A-x) (B-y). \quad (1)$$

Ослабленіе дѣйствія или разложеніе ферментовъ протекаетъ какъ мономолекулярная реакція котормъ, какъ извѣстно, слѣдуютъ уравненію.

$$r = \frac{1}{t} \log. \frac{A}{A-x},$$

гдѣ черезъ r обозначенъ коэффициентъ скорости этого разложенія. Изъ послѣдняго уравненія слѣдуетъ:

$$A-x = Ae^{-rt},$$

гдѣ черезъ e обозначено основаніе натуральныхъ логарифмовъ. Замѣстимъ теперь въ уравненіи (1) A-x найденнымъ выраженіемъ, то получимъ:

$$\frac{dy}{dt} = k. Ae^{-rt} (B-y)$$

или

$$\frac{dy}{B-y} = k. Ae^{-rt} dt.$$

1) G. Tammann, Zeitschr. f. physik. Chem. XVIII p. 437. 1895.

Послѣ интеграціи и введенія интегральной постоянной = log. nat. B $\frac{k}{r}$ A слѣдуетъ уравненіе

$$\log. nat. \frac{B-y}{B} = -\frac{k}{r} A (1-e^{-rt})$$

Положимъ теперь t = ∞, то есть, спросимъ, какое количество вещества, подлежащаго дѣйствию фермента будетъ разложено по истеченіи безконечно долгаго времени, то, на основаніи того, что $\frac{1}{e^{\infty}}$ въ такомъ случаѣ сдѣлается равнымъ нулю, получаемъ:

$$\log. nat. \frac{B-y}{B} = -\frac{k}{r} A.$$

откуда:
$$e^{-\frac{k}{r} A} = \frac{B-y}{B}.$$

и

$$y = B - Be^{-\frac{k}{r} A}$$

Изъ послѣдняго уравненія видно, что при гидролизѣ подѣ вліяніемъ ферментовъ количество измѣненнаго вещества въ безконечно долгое время не можетъ равняться первоначальному количеству гидролизуемаго вещества; нѣкоторое количество его останется всегда неизмѣненнымъ. Изъ уравненія видно, что у меньше В и количество вещества, оставшагося неизмѣненнымъ, будетъ $Be^{-\frac{k}{r} A}$ при условіи, чтобы скорость разложенія гидролизуемаго вещества самаго по себѣ, въ отсутствіи фермента, равнялась нулю.

Кромѣ того проф. Г. А. Тамманъ¹⁾ ясно показываетъ, какъ собственными изслѣдованіями, такъ и приведеніемъ цѣлаго ряда литературныхъ данныхъ, что реакціи безформенныхъ ферментовъ въ самомъ дѣлѣ, не полны и что эта неполнота не обусловливается на

1) G. Tammann, Zeitschr. f. physiol. Chemie XVI. 1892.

ступленіемъ равновѣсія въ системѣ, какъ это бываетъ при омыленіи сложныхъ эфировъ щелочами. Единственнымъ противорѣчіемъ послѣднему факту являются результаты опытовъ Hill'a¹⁾ который нашелъ, что при повышеніи количества декстрозы въ растворахъ, содержащихъ мальтозу и декстрозу въ опредѣленной пропорціи, подѣ дѣйствіемъ фермента мальтазы, при извѣстныхъ условіяхъ реакціи, происходитъ не присоединеніе воды къ мальтозѣ, а медленное отщепленіе воды отъ декстрозы, которая вслѣдствіе того переходитъ, какъ авторъ говоритъ, въ мальтозу. O. Emmerling²⁾, доказываетъ, что образующійся при условіяхъ реакціи, приведенныхъ Hill'омъ, дисахаридъ не мальтоза, а ея изомеръ — изомальтоза. Результаты опытовъ Hill'a такимъ образомъ нуждаются въ болѣе подробной проверкѣ.

Вліяніе температуры на скорость гидролиза подѣ дѣйствіемъ кислотъ и ферментовъ представляетъ существенное различіе между обѣими группами реакцій. Скорость гидролиза подѣ дѣйствіемъ кислотъ увеличивается неограниченно отъ повышенія температуры; при подобной реакціи подѣ дѣйствіемъ ферментовъ увеличеніе скорости отъ повышенія температуры идетъ только до извѣстнаго предѣла, съ котораго, при дальнѣйшемъ повышеніи, наступаетъ быстрое уменьшеніе скорости гидролиза: кривая скорости ферментныхъ реакцій въ зависимости отъ температуры обладаетъ максимумомъ. Температура максимальной скорости ферментныхъ реакцій обуславливается тѣмъ, что отъ повышенія температуры ускоряется не только гидролизъ, но и реакція потери дѣйствія ферментовъ въ водномъ растворѣ, какъ

1) Hill. Journ. Chem. Soc. 73 p. 634—1898.

2) O. Emmerling Berlin. Ber. Bd. 34 p. 600. 1900.

самихъ по себѣ, такъ и въ присутствіи гидролизироваемаго вещества. При температурахъ, близкихъ къ точкѣ кипѣнія воды скорость разложенія ферментовъ достигаетъ такой величины, что при этихъ температурахъ ферменты не обнаруживаютъ замѣтнаго дѣйствія, потому что почти все ихъ количество разложилось раньше, чѣмъ они успѣли замѣтно повліять на скорость гидролитической реакціи. Явленіе разрушенія ферментовъ при болѣе высокихъ температурахъ и температура максимальной скорости гидролиза подѣ дѣйствіемъ ферментовъ въ настоящее время общепринято и доказано всѣми естествоиспытателями, занимавшимися изслѣдованіемъ ферментныхъ реакцій, такъ что въ существованіи температуры максимальной скорости соключается особенный признакъ ферментныхъ реакцій.

Послѣдствіемъ измѣненія ферментовъ въ теченіе реакціи является различіе и во временномъ ходѣ между реакціями кислотъ и ферментовъ. Прибавленіемъ кислоты геср. безформеннаго фермента при гидролитической реакціи ничто другое не измѣняется кромѣ ея скорости; химическій процессъ остается въ обоихъ случаяхъ одинъ и тотъ-же. При дѣйствіи кислотъ реакція совершается съ постоянною скоростью, потому что количество кислоты въ теченіе реакціи остается постояннымъ. При ферментныхъ реакціяхъ этого ожидать нельзя. Если количество дѣйствующаго фермента въ теченіе времени, въ которое ходъ реакціи наблюдается, замѣтно уменьшается, то ферментныя реакціи должны совершаться съ постепенно понижающеюся скоростью.

1) При болѣе высокихъ температурахъ наблюдается въ самомъ дѣлѣ пониженіе коэффициента скорости, исчисленнаго по уравненію, выражающему ходъ

гидролиза подѣйствіемъ кислотъ. При этихъ температурахъ разложеніе ферментовъ на неѣйствующие продукты распадается совершается съ значительною скоростью.

2) При болѣе низкихъ же температурахъ скорость разложенія ферментовъ дѣлается крайне малой, такъ что по истеченіи непродолжительныхъ промежутковъ времени уменьшенія количества дѣйствующаго фермента установить и опредѣлить почти или совершенно не возможно. Вслѣдствіе того ферментныя реакціи при низкихъ температурахъ, соотвѣтственно неизмѣняющемуся количеству дѣйствующаго фермента, должны были бы совершаться съ постоянною скоростью, т. е. ходъ ихъ долженъ выражаться уравненіемъ, даннымъ для мономолекулярныхъ реакцій, если при этомъ не появляются причины второстепеннаго рода, вліяющія на скорость ферментныхъ реакцій. Отклоненія отъ нормальнаго хода при гидролитическихъ реакціяхъ подѣйствіемъ ферментовъ въ самомъ дѣлѣ наблюдаются: реакціи совершаются то съ понижающеюся, то съ повышающеюся по мѣрѣ ихъ теченія скоростью.

а) Реакціи эмульсина, по видимому, совершаются обыкновенно съ понижающеюся скоростью, даже при температурахъ ниже 40° , какъ это видно изъ постепеннаго уменьшенія коэффициента скорости при слѣдующемъ опытѣ надъ изслѣдованіемъ хода гидролиза салицина подѣйствіемъ эмульсина, поставленнаго по предложенію проф. Г. А. Таммана Wühner'ом¹⁾. Въ 100 кб. см. жидкости содержалось 3,007 гр. салицина и 0,080 гр. эмульсина; по истеченіи времени,

1) G. Tamman n, Zeitschr. f. physik. Chem. XVIII p. 436, 1895.

обозначеннаго въ слѣдующей таблицѣ черезъ t , опредѣлялось титрованіемъ фелинговой жидкостью количество образовавшагося въ извѣстномъ объемѣ жидкости винограднаго сахара, а изъ послѣдняго вычислялось количество гидролизованнаго салицина y въ процентахъ первоначальнаго.

Темпер. 25°			Темпер. 45°		
t	y	$k = \frac{1}{t} \log. \frac{100}{100-y}$	t	y	$k = \frac{1}{t} \log. \frac{100}{100-y}$
1	13	0,061	1	18	0,086
3	32	0,057	3	51	0,103
5	58	0,075	5	61	0,083
8	65	0,058	8	68	0,061
12	76	0,052	12	73	0,036
26	91	0,040	26	84	0,035
50	98	0,033	50	89	0,019
74	99	0,021	74	92	0,015

Изъ таблицы видно, что коэффициентъ скорости k по истеченіи 73 единицъ времени понизился при 25° на 65,6 ‰, а при 45° на 82,6 ‰.

При моихъ изслѣдованіяхъ надъ разложеніемъ арбутина эмульсиномъ тоже наблюдалось постепенное пониженіе коэффициента скорости при температурахъ ниже 40° , какъ это видно изъ результатовъ слѣдующаго опыта: Къ 116 куб. см. раствора арбутина, стерилизованнаго и предварительно нагрѣтаго до указанныхъ температуръ, содержащаго 6,0 гр. этого глюкозида, прибавилось 0,20 гр. эмульсина, раствореннаго въ 4,0 куб. см. стерилизованной воды. По истеченіи времени t въ часахъ опредѣлялся уголъ вращенія этой жидкости, разбавленной равнымъ объемомъ 0,4 ‰ раствора су-

лемы, въ трубкѣ 200 мм. длины въ полутѣнномъ аппаратѣ Laurent'a. Растворъ сулемы прибавлялся съ цѣлью прекращенія дѣйствія эмульсина, при чемъ послѣдній выдѣлялся въ видѣ бѣлаго, хлопьевиднаго осадка. Такъ какъ по изслѣдованію проф. Г. А. Таммана¹⁾ одновременное присутствіе арбутина и винограднаго сахара въ растворѣ не вліяетъ на силу оптической дѣятельности каждаго изъ нихъ и гидрохинонъ въ этомъ отношеніи на смѣсь вышеупомянутыхъ веществъ не дѣйствуетъ, то уменьшеніе вращенія плоскости поляризации растворомъ арбутина влѣво, переходящее подъ конецъ его гидролиза въ правое вращеніе, пропорціо-нально количеству разложеннаго арбутина. Количество это у вычислено въ процентахъ первоначальнаго по данному уравненію, относящемуся къ вычисленію количества разложившагося сахара (см. ниже). Уголъ вращенія послѣ полного гидролиза, т. е. по истеченіи времени $t = \infty$, вычислялся съ помощью удѣльнаго вращенія винограднаго сахара при соблюденіи постоянныхъ, данныхъ для послѣдняго въ брошюрѣ Landolt'a²⁾. Уголъ вращенія смѣси равныхъ объемовъ реакціоннаго раствора передъ началомъ гидролиза и 0,4 % раствора сулемы обозначенъ $t = 0$.

Уменьшеніе коэффициента скорости k , какъ видно изъ таблицы, при 45° гораздо больше, чѣмъ при 25,5°. Это зависитъ отъ того, что рядомъ съ характернымъ ходомъ гидролиза арбутина эмульсиномъ скорость реакціи разложенія послѣдняго при 45° гораздо выше, чѣмъ при 25,5° и, понятно, что это обстоятельство вліяетъ на пониженіе коэффициента скорости гидролиза арбутина.

1) G. Tamman n, Zeitschr. f. physiol. Chem. XVI. p. 299. 1899.

2) Landolt, Das optische Drehungsvermögen. 1898.

Темпер. 25,5°				Темпер. 45°			
t	a	y	$k = \frac{1}{t} \log \frac{100}{100-y}$	t	a	y	$k = \frac{1}{t} \log \frac{100}{100-y}$
0,0	-187'	0		0,0	-187'	0	
3,0	-174'	4,6	0,0068	1,0	-165'	8,0	0,0362
6,0	-159'	9,8	0,0075	4,0	-118'	25,2	0,0315
18,0	-111'	26,7	0,0075	7,0	-94'	33,9	0,0256
24,0	-90'	34,1	0,0075	9,25	-85'	37,2	0,0218
30,0	-77'	38,7	0,0071	19,0	-65'	44,5	0,0135
47,0	-48'	49,3	0,0063	31,0	-54'	48,5	0,0093
71,0	-33'	54,1	0,0048	56,5	-52'	49,2	0,0052
96,0	-20'	56,6	0,0038	∞	+87'		
∞	+87'						

Нужно замѣтить, что по истеченіи 19 часовъ при 45° появился въ растворѣ бѣловатый комковидный осадокъ, количество котораго со временемъ увеличивалось и который, какъ можно предполагать, состоялъ, по всей вѣроятности, изъ эмульсина, потерявшаго дѣйствіе или осажденнаго продуктами гидролиза арбутина. При 25,5° образовались по истеченіи 71 часа тоже незначительныя количества такого-же осадка.

Въ противоположность реакціямъ эмульсина гидролизъ тростниковаго сахара подѣ дѣйствіемъ инвертина совершается съ повышающеюся скоростью. Повышеніе коэффициента скорости при температурахъ ниже 50° видно изъ результатовъ изслѣдованій хода реакціи всѣхъ авторовъ, занимавшихся этимъ вопросомъ, какъ-то: проф. Г. А. Тамманъ, O'Sullivan et Tompson, V. Henri. Противоположно реакціямъ другихъ ферментовъ, при которыхъ въ теченіе реакціи происходитъ постепенное уменьшеніе дѣйствія фермента въ различномъ размѣрѣ и эти реакціи вслѣдствіе того совершаются при низ-

кихъ температурахъ съ понижающеюся или почти постоянною скоростью, при реакціи инвертина на тростниковый сахаръ происходитъ повышение дѣйствія фермента во время реакціи, слѣдствіемъ котораго является постепенное повышение коэффициента скорости гидролиза. При болѣе высокихъ температурахъ, выше 50° , реакція инвертина совершается съ понижающеюся скоростью, подобно реакціямъ другихъ ферментовъ; ниже 50° ходъ реакціи ускоренный. Ускореніе это, какъ дальше изложено будетъ, обуславливается образованіемъ малыхъ количествъ какой-то кислоты во время реакціи.

Проф. Г. А. Тамманъ¹⁾ изслѣдовалъ ходъ реакціи инвертина при разныхъ температурахъ; остальные условія реакціи оставались при его опытахъ во всѣхъ случаяхъ одни и тѣ-же. Результатомъ этихъ изслѣдованій оказалось, что при дѣйствіи 0,116 гр. инвертина на 50 куб. см. 11% раствора тростниковаго сахара коэффициентъ скорости инверсіи повысился по истеченіи приблизительно 2 часовъ при слѣдующихъ температурахъ на слѣдующія процентныя количества:

Температура:	21 ⁰	30,1 ⁰	39,8 ⁰	50,2 ⁰
Повышеніе коэфф.:	86%	83%	44%	31%

Повышеніе коэффициента скорости ниже 50° , какъ видно, уменьшается съ повышеніемъ температуры. При $60,5^{\circ}$ же появляется быстрое пониженіе его, а именно въ теченіе приблизительно 2,5 часовъ на 83%.

По изслѣдованіямъ O'Sullivan et Thompson'a²⁾ ходъ инверсіи подѣ дѣйствіемъ инвертина представляетъ нѣ-

1) G. Tamman, Zeitschr. f. physiologische Chemie, XVI, p. 320 — 1892.

2) O'Sullivan et Thompson, Journal of Chemical Society, 57, p. 844 — 1890.

сколько другую картину, чѣмъ по опытамъ профессора Г. А. Таммана, потому что условія реакціи при ихъ опытахъ были другія. Результаты всѣхъ трехъ опытовъ O'Sullivan et Thompson'a, относящихся къ изслѣдованію хода реакціи при различныхъ температурахъ, нельзя сравнить даже между собою, потому что при разныхъ температурахъ на одинаковое количество 20% раствора тростниковаго сахара дѣйствовали разныя количества инвертина въ присутствіи различныхъ количествъ сѣрной кислоты, а именно такихъ количествъ, которыя вызываютъ наибольшее усиленіе дѣйствія инвертина. 500 куб. см. реакціоннаго раствора содержали: 100 гр. тростниковаго сахара, слѣдующія количества инвертина и $\frac{1}{10}$ нормальной сѣрной кислоты.

	I	II	III
Температура	15,5 ⁰	35,5 ⁰	54 ⁰
Количество инвертина .	2,0 гр.	1,0 гр.	0,25 гр.
Куб. см. $\frac{1}{10}$ н. H ₂ SO ₄	20,0	5,0	1,25

Вычисляя по результатамъ этихъ опытовъ коэффициентъ скорости инверсіи, оказывается, что послѣдній при опытѣ I по истеченіи 4 часовъ повысился на 23%; при опытѣ II по истеченіи 2,75 часовъ на 5% и при опытѣ III по истеченіи 4 часовъ на 7%. Особого вниманія заслуживаетъ то обстоятельство, что здѣсь коэффициентъ скорости повысился еще при 54° . Это зависитъ отъ того, что инвертинъ дѣйствовалъ въ средѣ, содержащей сѣрную кислоту, а кислоты, какъ дальше изложено будетъ, значительно понижаютъ скорость потери дѣйствія инвертина и интенсивность этого пониженія зависитъ отъ количества прибавленной кислоты. Не смотря на то, что по изслѣдованіямъ O'Sullivan et Thompson'a ходъ инверсіи подѣ дѣйствіемъ

инвертина близко подходит къ логариѣмической кривой мономолекулярныхъ реакцій, результаты опытовъ этихъ авторовъ не противорѣчатъ результатамъ изслѣдованій проф. Г. А. Таммана, но вслѣдствіе содержанія въ реакціонной жидкости сѣрной кислоты они не могутъ быть сравнены съ послѣдними. Помимо того опыты O'Sullivan et Thompson'a показываютъ, что реакція инвертина на тростниковый сахаръ совершается съ повышающеюся скоростью даже въ присутствіи небольшихъ количествъ сѣрной кислоты, хотя ускореніе реакціи въ такихъ случаяхъ гораздо меньше, чѣмъ въ отсутствіи кислоты. Причина послѣдняго будетъ слѣдующая: Какъ извѣстно по опытамъ Kjeldahl'a ¹⁾, Fernbach'a ²⁾, O'Sullivan et Thompson'a ³⁾ и другихъ авторовъ, дѣйствіе инвертина отъ прибавленія малыхъ количествъ кислотъ значительно повышается. Если въ теченіе инверсіи подъ дѣйствіемъ инвертина образуются незначительныя количества кислоты, или же инвертированный сахаръ дѣйствуетъ какъ слабая кислота, то понятно, что, по мѣрѣ того, какъ количество образовавшейся кислоты или инвертированного сахара растеть, постепенно усилится и дѣйствіе инвертина, вслѣдствіе чего и ходъ инверсіи при реакціи инвертина, начинающейся въ первоначально нейтральной средѣ, все болѣе и болѣе ускорится. Послѣднее въ самомъ дѣлѣ видно изъ вышеприведенныхъ опытовъ проф. Г. А. Таммана и ниже слѣдующихъ исполненныхъ V. Henri. Если же реакція инвертина начинается въ средѣ предварительно подкисленной, то вліяніе на силу дѣйствія фермента отъ крайне малыхъ количествъ образовавшейся во время реакціи кислоты,

1) Kjeldahl, Jahrbuch f. Thierchemie, XI, p. 448 — 1881.

2) Fernbach, Annal. de l'Institut. Pasteur, III, p. 483 — 1889.

3) O'Sullivan et Thompson, loc. cit.

сравнительно съ таковымъ отъ предварительно прибавленныхъ, будетъ очень незначительно, вслѣдствіе чего и повышеніе скорости гидролиза въ такомъ случаѣ не достигнетъ такихъ размѣровъ, какъ въ первомъ. Имѣя въ виду то обстоятельство, что при опытахъ O'Sullivan et Thompson'a инвертинъ дѣйствовалъ въ присутствіи такихъ количествъ кислоты, которыми достигнуто было наисильнѣйшее дѣйствіе инвертина, то выше изложенное объясненіе причины наблюдаемаго послѣдними авторами хода реакціи этого фермента является еще болѣе вѣроятнымъ.

Возвращенію O'Sullivan et Thompson'a, основанному на томъ, что ходъ реакціи инвертина почти совпадаетъ съ кривою мономолекулярныхъ реакцій, противорѣчитъ взглядъ E. Duclaux ¹⁾. Этотъ авторъ старается доказать, какъ собственными изслѣдованіями, такъ и приведеніемъ литературныхъ данныхъ, что количество гидролизованнаго въ единицу времени сахара не пропорціонально концентраціи раствора тростниковаго сахара, какъ это бываетъ при инверсіи подъ дѣйствіемъ кислотъ, а количество превращеннаго сахара, независимо отъ концентраціи неизмѣняемаго, пропорціонально времени дѣйствія инвертина. Duclaux наблюдалъ при своихъ опытахъ, что при дѣйствіи 20 mgr. инвертина на 100 куб. см. сахарнаго раствора, содержащаго различныя количества тростниковаго сахара, а именно 10%, 20% и 40%, количество образовавшагося при 37° въ теченіе первыхъ часовъ инвертированного сахара «съ малыми колебаніями» во всѣхъ растворахъ было одинаково; по истеченіи первыхъ 4-хъ часовъ въ каждой изъ реакціонныхъ смѣсей най-

1) E. Duclaux, Traité de Microbiologie, t. II, p. 136 — 1899.

дено было «приблизительно» 5 грм. инвертированного сахара. Но если 20 мгр. инвертина дѣйствовали въ 100 куб. см. 5% раствора тростниковаго сахара, то по истеченіи 4-хъ часовъ при 37° оказалось, что не всѣ 5 грм. присутствующаго въ растворѣ тростниковаго сахара были инвертированы, а значительное количество его осталось неизмѣненнымъ. — Результаты этихъ опытовъ приводятъ Е. Duclaux къ такому заключенію, что при одинаковыхъ постоянныхъ физическихъ условіяхъ «инвертинъ дѣйствуетъ какъ сила постоянная», то есть: количество разложеннаго подъ дѣйствіемъ инвертина сахара пропорціонально времени, независимо отъ концентрации раствора тростниковаго сахара. Однако эта пропорціональность имѣетъ мѣсто лишь до разложенія приблизительно 20% первоначальнаго количества тростниковаго сахара. При дальнѣйшемъ гидролизѣ, по мнѣнію Duclaux, образовавшійся инвертированный сахаръ постепенно замедляетъ реакцію, слѣдствіемъ чего является измѣненіе прямолинейнаго хода инверсии подъ дѣйствіемъ инвертина въ логариѣмическую кривую. Замедляющее дѣйствіе инвертированного сахара на ходъ инверсии инвертиномъ, по мнѣнію Е. Duclaux, пропорціонально отношенію количества образовавшагося инвертированного сахара къ первоначальному количеству тростниковаго сахара.

Изъ приведенныхъ опытовъ и выводовъ Е. Duclaux можно заключить, что онъ не успѣлъ вполне прослѣдить новѣйшее развитіе химической кинетики.

Новѣйшее изслѣдованіе хода инверсии подъ вліяніемъ инвертина произведено въ физиологической ла-

бораторіи парижскаго университета V. Henri¹⁾, результаты котораго опубликованы одновременно съ исполненіемъ описанныхъ въ настоящемъ сочиненіи опытовъ. На результатахъ многочисленныхъ опытовъ этого автора видно значительное повышеніе коэффиціента скорости инверсии во время реакціи. Henri работалъ съ сравнительно малыми количествами фермента и при низкихъ температурахъ (25° и 30°). Кромѣ того инвертинъ дѣйствовалъ въ присутствіи фтористаго натрія (Na F.), въ количествѣ 0,5% раствора. Эта соль прибавлялась съ цѣлью устраненія развитія въ реакціонной жидкости микроорганизмовъ. Для примѣра возьмемъ результаты опытовъ отъ 15 іюля 1901 г. Въ 104 куб. см. раствора тростниковаго сахара ниже приведенныхъ концентрацій, дѣйствовало приблизительно 0,008 грм. инвертина, и реакція совершалась при 30°; количество инвертированного сахара опредѣлялось поляристобометрически. Коэффиціентъ скорости, исчисленный по уравненію мономолекулярныхъ реакцій по истеченіи слѣдующихъ промежутковъ времени увеличивался на слѣдующія процентныя количества:

Концентрація сахарнаго раствора	Время въ минутахъ	Увеличеніе коэффиціента k
2%	376	31%
5%	375	34,5%
10%	545	70%
20%	1171	40%
30%	1545	38%
40%	2645	32%
50%	2645	21,5%

При опытахъ съ 2%, 5%, 10% и 20% растворами тростниковаго сахара отмѣчены среднія числа увеличенія коэффиціента скорости изъ обоихъ опытовъ.

1) V. Henri, Zeitschr. f. physik. Chemie 39 p. 194—216, 1902.

Изъ вышеприведенныхъ литературныхъ данныхъ видно, что результаты изслѣдованія хода инверсіи подѣйствіемъ инвертина, полученные разными изслѣдователями, вызвали кажуціяся противорѣчія по этому вопросу. Поводъ къ этимъ противорѣчіямъ дало то обстоятельство, что при опытахъ разныхъ авторовъ не было обращено достаточнаго вниманія 1) на количество дѣйствующаго фермента, 2) на присутствіе въ реакціонной жидкости постороннихъ веществъ (сѣрной кислоты геср. фтористаго натра).

Подѣйствіемъ сравнительно большихъ количествъ фермента, реакція совершается при невысокихъ температурахъ, ниже 50° , приблизительно съ постоянною скоростью; при малыхъ же количествахъ скорость во время реакціи значительно повышается.

Прот. Г. А. Тамманъ¹⁾ впервые изслѣдовалъ ходъ инверсіи подѣйствіемъ различныхъ количествъ инвертина при 25° , при чемъ оказалось, что «Если реакція совершается подѣйствіемъ большихъ количествъ фермента, то ходъ ея выражается кривою, выпуклостью которой обращена къ абсциссѣ. При уменьшеніи количества фермента мѣняется форма кривой, приближаясь къ прямой линіи и переходить при дальнѣйшемъ уменьшеніи количества дѣйствующаго фермента въ кривыя, вогнутость которыхъ обращена къ абсциссѣ». Результаты опытовъ этого автора ясно показываютъ, что ходъ реакціи инвертина въ высшей степени зависитъ отъ концентрации дѣйствующаго инвертина, чѣмъ и объясняются противорѣчія, встрѣчающіяся въ литературѣ.

1) G. Tammann, Zeitschr. f. physik. Chemie III p. 34, 1889.

Въ виду возможныхъ измѣненій хода инверсіи подѣйствіемъ инвертина, случайными примѣсами и присутствіемъ микроорганизмовъ, мнѣ предложено было многоуважаемымъ профессоромъ Густавомъ Андреевичемъ Тамманомъ: 1) изслѣдовать ходъ реакціи инвертина въ стерилизованныхъ растворахъ безъ примѣси всякихъ постороннихъ веществъ; 2) опредѣлить скорость и ходъ потери дѣйствія этого фермента въ водномъ растворѣ. Первое является важнымъ потому, что при опытахъ съ нестерилизованными растворами при температурахъ ниже 50° въ реакціонныхъ жидкостяхъ уже въ теченіе непродолжительныхъ промежутковъ времени обильно развиваются бактеріи и другіе микроорганизмы, такъ какъ растворы ферментовъ, какъ сами по себѣ, такъ и въ присутствіи подлежащихъ ихъ дѣйствію веществъ, представляютъ хорошую питательную среду для всякаго рода микроорганизмовъ. Вліяніе, произведенное микроорганизмами на скорость ферментныхъ реакцій, можетъ состоять въ томъ, что нѣкоторое количество 1) фермента, 2) разлагаемаго вещества, 3) продуктовъ гидролиза послѣдняго уничтожается жизнедѣятельностью микроорганизмовъ и количества эти вслѣдствіе того не возможно подвергнуть измѣренію; или же микроорганизмы выделяютъ вещества, которыя повышаютъ геср. понижаютъ дѣйствіе фермента. Стерилизація ферментныхъ растворовъ кипяченіемъ влечетъ за собою, какъ уже давно извѣстно, полное лишеніе ихъ дѣйствія. Для уничтоженія зародышей микроорганизмовъ въ сухихъ ферментахъ требуется болѣе продолжительное нагрѣваніе послѣднихъ при температурахъ выше 100° ; при этомъ ферменты, если они не абсолютно сухи, могутъ уже въ сравнительно короткое

время лишиться вполне или большей части своего действия. Прибавление антисептических веществъ къ реакционной жидкости не целесообразно, потому что слабодействующія антисептическія средства довольно замѣтно вліяютъ на ходъ ферментныхъ реакцій, обнаруживая лишь слабое действие на развитіе микроорганизмовъ. Сильныя antiseptica, напротивъ, уничтожаютъ не только микроорганизмовъ, но разрушаютъ вполне и ферменты. Единственнымъ способомъ, могущимъ соотвѣтствовать достиженію желаемой цѣли, является стерилизація ферментныхъ растворовъ на холоду. Такъ какъ при сравнительныхъ опытахъ количественнаго изслѣдованія хода какой-нибудь реакціи при различныхъ физическихъ условіяхъ матеріалъ, идущій на эти изслѣдованія, во всѣхъ случаяхъ обязательно долженъ быть одинъ и тотъ же, то первою задачею моей работы явилось приготовленіе сухого, стерилизованнаго на холоду инвертина.

Передъ тѣмъ, какъ перейти къ описанію собственныхъ опытовъ и ихъ результатовъ, считаю своимъ пріятнымъ долгомъ выразить искреннюю благодарность незабвенному учителю своему, глубокоуважаемому профессору Густаву Андреевичу Тамману, какъ за позволеніе работать въ химической лабораторіи здѣшняго университета, такъ и за многочисленныя цѣнныя указанія и за благосклонное руководство моими работами. Профессору Григорію Виталиевичу Хлопину приношу сердечную благодарность за любезное предоставленіе мнѣ для пользованія бактериологическимъ кабинетомъ гигиенической лабораторіи.

Глава I.

Полученіе инвертина.

Самымъ выгоднымъ исходнымъ матеріаломъ для полученія инвертина являются дрожжи, потому что дрожжевыя клѣтки содержатъ довольно значительное количество этого фермента. Съ успѣхомъ примѣняется также полученіе его изъ мицелія нѣкоторыхъ плѣсневыхъ грибовъ, въ особенности *Aspergillus niger*, которымъ пользовался, напр. Fernbach¹⁾. Въ нормальномъ состояніи дрожжевыя клѣтки энергично удерживаютъ ферментъ, такъ что при мацерации неповрежденныхъ дрожжей водою въ теченіе непродолжительнаго времени лишь мало, а иногда они даже совсѣмъ не выделяютъ инвертина, на что впервые указалъ Hoppe-Seyler²⁾. Изъ мертвыхъ же дрожжей ферментъ легко извлекается водою и еще нѣкоторыми другими растворителями. Въ литературѣ можно найти цѣлый рядъ способовъ полученія инвертина; такъ, напримѣръ, описываютъ способы для полученія «сильнодействующаго resp. чистаго» инвертина: Donath³⁾, Gunning⁴⁾, Barth⁵⁾, Wroblewsky⁶⁾, Osborne⁷⁾ и

1) Fernbach, loco cit.

2) Hoppe-Seyler, Berlin, Ber. IV p. 810 — 1871. Ber. über die Naturforscherversammlung zu Rostock von V. Meyer.

3) Donath, Berlin, Ber. VIII p. 796 — 1875.

4) Gunning, Berlin, Ber. V p. 821 — 1872.

5) Barth, Berlin, Ber. XI p. 481 — 1878.

6) Wroblewsky, Berlin, Ber. 31 p. 1134 — 1898.

7) Osborne, Zeitschr. f. physiol. Chemie 28 p. 406 — 1899.

другіе. Отдѣльное описаніе всѣхъ этихъ способовъ повело-бы слишкомъ далеко и мало заинтересовало бы читателя, тѣмъ болѣе, что способы всѣхъ упомянутыхъ авторовъ основаны на одномъ и томъ же принципѣ, которымъ пользуются для полученія не только инвертина, но и большинства остальныхъ безформенныхъ ферментовъ. Этотъ основной принципъ для полученія ферментовъ состоитъ въ томъ, что ферментъ содержащій клетки или ткани, жизнеспособность которыхъ ослаблена обработкою наркотическими средствами, или же вполне уничтожена растираніемъ или высушиваніемъ при умѣренной температурѣ и послѣдовательнымъ продолжительнымъ нагреваніемъ при 100—120°, извлекаются водою, глицериномъ, смѣсью обѣихъ или разведеннымъ спиртомъ (20—30%). Изъ этихъ экстрактовъ ферменты осаждаются прибавленіемъ большихъ количествъ крѣпкого спирта или смѣси спирта и эфира. Изъ растворовъ ферменты можно осадить и выдѣляющимися аморфными минеральными осадками, какъ напримѣръ, трехметаллической кальціевой солью фосфорной кислоты $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ или же гидратомъ окиси магнезіи, которая въ моментъ выдѣленія увлекаютъ за собою изъ ихъ растворовъ и ферменты. Послѣдующей обработкой этихъ осадковъ водою ферменты отдѣляются отъ минеральной примѣси. Отъ вышеописаннаго общаго принципа полученія ферментовъ отличается въ нѣкоторомъ отношеніи способъ полученія инвертина, примѣненный O'Sullivan et Tompson'омъ¹⁾. Эти авторы оставляли прессованные дрожжи въ закрытыхъ сосудахъ на нѣсколько недѣль при обыкновенной температурѣ; при этомъ образовалась изъ дрожжей буро-желтая, густая

1) O'Sullivan et Tompson, loco cit.

жидкость, изъ которой, послѣ фильтрованія, прибавленіемъ крѣпкого спирта выдѣлялся инвертинъ.

При опытахъ, описанныхъ въ настоящемъ сочиненіи, примѣнялся инвертинъ, полученный слѣдующимъ образомъ: 400 гр. прессованныхъ дрожжей (1 сортъ фабрики А. Вольфшмидтъ въ Ригѣ) растирались въ фарфоровой ступкѣ съ равнымъ по вѣсу количествомъ морского песка, до превращенія сухой порошковидной массы въ жидкую кашицу, которая потомъ разбавилась 800 куб. см. 96% спирта; смѣсь сильно взбалтывалась и оставлялась на 18—20 часовъ при обыкновенной температурѣ. Послѣ удаленія спирта сливаніемъ и отсасываніемъ, почти сухая порошковидная масса извлекалась водою при обыкновенной температурѣ. Фильтрованный, прозрачный, слабо опалесцирующій, буровато-желтый водный экстрактъ дрожжей разбавлялся четвернымъ по объему количествомъ 97% спирта, при чемъ инвертинъ выдѣлялся въ видѣ бѣлаго, легкаго, хлопьевиднаго осадка, который при взбалтываніи жидкости дѣлался комковиднымъ. Послѣ 12 часового отстаиванія жидкость сливалась съ осадка, а послѣдній собирался на фильтрѣ, промывался нѣсколько разъ 97% спиртомъ, отсасываніемъ освобождался по возможности отъ спирта и сушился въ разрѣженномъ пространствѣ надъ серною кислотою. Такимъ путемъ полученный инвертинъ представляетъ чисто бѣлый, легко растираемый, не вполне въ водѣ растворимый порошокъ. Такъ какъ очищеніе инвертина, какъ оно описано Barth'омъ¹⁾, Wroblewsky²⁾, Osborne³⁾ можетъ вліять на силу

1) Barth, loc. cit.

2) Wroblewsky, loc. cit.

3) Osborne, loc. cit.

дѣйствія фермента, то всѣ подобныя попытки очищенія нами были оставлены.

Идущія на получение инвертина дрожжи содержали большія количества кокковъ и бактерій, вслѣдствіе чего и полученный изъ нихъ ферментъ, при микроскопическомъ изслѣдованіи, оказался содержащимъ значительныя количества микроорганизмовъ. Опыты инверсии съ такимъ инвертиномъ показали, что эти микроорганизмы или присутствующіе въ ферментѣ ихъ споры еще способны развиваться и быстрымъ размноженіемъ загрязнять реакціонныя жидкости. 10 % стерилизованный растворъ тростниковаго сахара, содержащій въ 100 куб. см. 0,05 гр. инвертина, мутнѣлъ при температурахъ въ 30—50° уже послѣ 4—5 часовъ и обнаруживалъ гнилостный запахъ. На препаратахъ мазкахъ, окрашенныхъ фуксиномъ или метиленовой синькой, наблюдались массы короткія, толстыя палочки, связанныя иногда въ короткія нити. Цѣлый рядъ предварительныхъ опытовъ показалъ, что коэффициентъ скорости инверсии подѣ дѣйствіемъ такого инвертина при 30°, 35°, 40° со временемъ значительно повышается, а микроскопическимъ изслѣдованіемъ найдено было, что и содержаніе микроорганизмовъ въ реакціонныхъ жидкостяхъ со временемъ увеличивалось. При 50° наблюдалось въ теченіе первыхъ 5 часовъ незначительное пониженіе, при дальнѣйшемъ же ходѣ реакціи — повышение коэффициента скорости инверсии; при 55° появилось быстрое пониженіе коэффициента скорости, а при 60° уже по истеченіи перваго часа инвертинъ не обнаруживалъ дѣйствія. Въ 100 куб. см. 10 % раствора тростниковаго сахара, содержащаго 0,05 гр. инвертина, въ теченіе перваго часа при 60° гидролизировано было

1,5 % всего присутствующаго сахара; въ теченіе послѣдующихъ 11,5 часовъ количество инвертированнаго сахара не увеличилось. При микроскопическомъ изслѣдованіи оказалось, что содержаніе бактерій въ реакціонныхъ жидкостяхъ опытовъ при 55° и 60°, даже послѣ 10 часовъ было не велико; на препаратахъ мазкахъ наблюдались лишь рѣдкія палочки. — Предположеніе, что наблюденное повышеніе скорости инверсии въ теченіе реакціи при температурахъ ниже 50° могло быть произведено вліяніемъ микроорганизмовъ оказалось такимъ образомъ очень вѣроятнымъ.

Для получения свободнаго отъ зародышей микроорганизмовъ инвертина, полученный выше описаннымъ способомъ водный экстрактъ дрожжей, передъ осажденіемъ инвертина спиртомъ, профильтровывался помощью аппарата Mönke черезъ фарфоровыя свѣчи и дальнѣйшая его обработка производилась въ тщательно стерилизованныхъ приборахъ, при соблюденіи всевозможныхъ мѣръ для устраненія инфекции жидкости какъ и выдѣленнаго изъ нея инвертина. Микроскопическое изслѣдованіе полученнаго такимъ путемъ инвертина не обнаружило присутствія въ немъ микроорганизмовъ. Но такъ какъ возможность инфекции изъ воздуха, не смотря на крайнюю осторожность, не была абсолютно исключена, то съ полученнымъ инвертиномъ произведены были контрольные опыты. 100 куб. см. 20 % стерилизованнаго раствора тростниковаго сахара, содержащаго 0,10 гр. инвертина, оставались при 30° и 40° болѣе продолжительное время, при чемъ оказалось, что въ продолженіе даже 2—3 дней растворы оставались вполне прозрачными и не обнаруживали гнилостнаго запаха. На препаратахъ мазкахъ

также не наблюдалось присутствія бактерий. При исполненіи ниже описанныхъ опытовъ опредѣленія хода инверсіи, жидкости отъ времени до времени подвергались микроскопическому изслѣдованію; въ этомъ отношеніи они всегда оказывались чистыми.

Для болѣе точнаго сравненія результатовъ, какъ при изслѣдованіи хода инверсіи, такъ и при опредѣленіи скорости разрушенія инвертина въ водныхъ растворахъ, приготовлено было, порціями изъ 400 грм. дрожжей, достаточное на всѣ опыты количество фермента. Всѣ полученныя порціи инвертина растираніемъ въ фарфоровой ступкѣ смѣшаны были вмѣстѣ, порошокъ былъ просѣянъ сквозь мелкое стерилизованное проволочное сито, еще разъ былъ тщательно перемѣшанъ и, наконецъ, высушенъ надъ сѣрной кислотой. Запасъ его хранился въ погребѣ при 3—5° въ темномъ мѣстѣ.

Опредѣленіе скорости инверсіи подѣ вліяніемъ инвертина.

Подъ скоростью химической реакціи подразумѣвается отношеніе количествъ измѣненныхъ веществъ, участвующихъ въ реакціи, ко времени. По закону Guldberg и Waage, химическое дѣйствіе реакціи пропорціонально массѣ реагирующихъ тѣлъ. — При гидролизѣ тростниковаго сахара подѣ вліяніемъ разведенныхъ кислотъ, количество послѣднихъ остается во время реакціи постояннымъ, вслѣдствіе чего и химическое дѣйствіе при этой реакціи, то есть, количество превращеннаго въ единицу времени тростниковаго са-

хара, пропорціонально количеству неизмѣннаго сахара, имѣющагося въ единицѣ объема раствора. Эта пропорціональность при инверсіи подѣ вліяніемъ разведенныхъ кислотъ впервые экспериментально доказана Wilhelmy, уже раньше появленія закона Guldberg и Waage о зависимости химическаго дѣйствія отъ массы реагирующихъ тѣлъ. Гидролизъ тростниковаго сахара такимъ образомъ совершается какъ мономолекулярная реакція, не смотря на то, что при этой реакціи участвуютъ по одной молекулѣ двухъ веществъ, а именно, тростниковаго сахара и воды. Мономолекулярныя реакціи, какъ извѣстно, слѣдуютъ слѣдующему уравненію:

$$-\frac{dy}{dt} = k.C.,$$

гдѣ черезъ dy обозначено количество вещества измѣннаго въ теченіе времени dt ; черезъ $C.$ концентрація реагирующаго вещества и черезъ $k.$ нѣкоторая постоянная. Нужно замѣтить, что этому уравненію слѣдуетъ ходъ гидролиза не только тростниковаго сахара, но и всѣхъ остальныхъ гидролитическихъ реакцій подѣ вліяніемъ кислотъ.

Такъ какъ при гидролизѣ тростниковаго сахара подѣ вліяніемъ инвертина количество послѣдняго во время реакціи не остается постояннымъ, потому что инвертинъ при этомъ со временемъ теряетъ свое дѣйствіе, то ходъ инверсіи съ перваго взгляда долженъ былъ бы выражаться приведеннымъ на страницѣ 8 уравненіемъ, выражающимъ ходъ реакцій и всѣхъ остальныхъ ферментовъ. Практическое примѣненіе этого уравненія для опредѣленія хода гидролиза подѣ вліяніемъ ферментовъ является возможнымъ лишь въ такихъ случаяхъ, если разложеніе ферментовъ на недѣйствующие

продукты распада совершается съ измѣримою скоростью, и скорость эта при данныхъ условіяхъ ферментной реакціи извѣстна, и на силу дѣйствія фермента не вліяютъ прочія причины. Съ перваго взгляда оказывается, что исчисленіе хода инверсіи инвертиномъ, по данному для ферментныхъ реакцій уравненію, при температурахъ выше 50^0 и около этой температуры, въ самомъ дѣлѣ возможно, потому что при этихъ температурахъ, какъ дальше видно будетъ, этотъ ферментъ въ водномъ растворѣ разлагается съ значительною скоростью. — Несмотря на то, нужно ужъ здѣсь упомянуть, что вычисленіе хода инверсіи подъ вліяніемъ инвертина не такъ просто: къ сожалѣнію мы до сихъ поръ еще не въ состояніи составить пригодное уравненіе, выражающее съ точностью ходъ реакціи инвертина при какой-нибудь температурѣ. — При сравнительно невысокихъ температурахъ, значительно ниже 50^0 , скорость разложенія инвертина, въ присутствіи тростниковаго сахара, крайне незначительна, такъ что въ теченіе непродолжительныхъ промежутковъ времени уменьшенія силы дѣйствія фермента иногда совсѣмъ не наблюдается. Положимъ теперь, что скорость этого уменьшенія, при температурахъ ниже 50^0 , равняется нулю, то ошибка, сдѣланная при исчисленіи коэффиціента скорости инверсіи подъ вліяніемъ инвертина по уравненію, выражающему ходъ инверсіи подъ вліяніемъ кислотъ, должна быть очень незначительна: для не очень продолжительныхъ промежутковъ времени ходъ реакціи инвертина, при опредѣленныхъ условіяхъ опыта, долженъ былъ бы совпадать съ ходомъ инверсіи подъ вліяніемъ кислотъ. При опытахъ съ нестерилизованнымъ инвертиномъ, какъ уже упомянуто, появляется при 30^0 , 35^0 и 40^0

отклоненіе: инверсія подъ вліяніемъ инвертина совершается съ повышающеюся постепенно скоростью, но это повышение по видимому могло быть вызвано вліяніемъ микроорганизмовъ.

Переходя къ описанію способа опредѣленія скорости реакціи стерилизованнаго инвертина считаю нужнымъ сказать нѣсколько словъ о прекращеніи дѣйствія этого фермента.

Такъ какъ при количественномъ изслѣдованіи хода какой-нибудь реакціи моментальное прекращеніе химическаго дѣйствія является необходимымъ, то передъ началомъ опредѣленія хода реакціи инвертина нужно было подобрать вещество, соотвѣтствующее этому требованію при предстоящихъ опытахъ и которое, кромѣ того, не вліяетъ на силу оптической дѣятельности какъ тростниковаго и инвертированнаго сахара, такъ и на смѣсь обоихъ. O'Sullivan et Tompson¹⁾ употребляли для этой цѣли ѣдкій кали. Такъ какъ это вещество по Landolt'y²⁾ понижаетъ, хотя довольно мало, силу вращенія декстрозы, то примѣненіе его при опытахъ, соединенныхъ съ опредѣленіемъ количества гидролизованнаго сахара поляристрометрическимъ путемъ, оказывается нецѣлесообразнымъ. Kjeldahl³⁾ указываетъ, что двухлористая ртуть, даже въ крайне малыхъ дозахъ, дѣйствуетъ разрушительнымъ образомъ на инвертинъ. Duclaux⁴⁾, напротивъ, нашелъ, что прибавленіе сулемы гораздо меньше понижаетъ скорость реакціи инвертина, полученнаго изъ *Aspergillus niger*, чѣмъ ціанистый кали и серебрянная соль азот-

1) O'Sullivan et Tompson, loc. cit.

2) Landolt, loc. cit., p. 518.

3) Kjeldahl, loc. cit.

4) Duclaux, loc. cit.

ной кислоты въ малыхъ дозахъ; интересны результаты опытовъ Duslaux въ этомъ отношеніи тѣмъ, что при одинаковыхъ количествахъ тростниковаго сахара и инвертина меньшее количество азотнокислаго серебра, въ извѣстныхъ предѣлахъ концентраціи этой соли, гораздо сильнѣе понижаетъ силу дѣйствія инвертина, чѣмъ большее. — Такъ какъ соли большинства тяжелыхъ металловъ не обнаруживаютъ почти никакого вліянія на силу оптической дѣятельности тростниковаго и инвертированнаго сахара, то оказалось важнымъ изслѣдовать вліяніе сулемы 1) на силу дѣйствія употребляемаго инвертина, 2) на оптическую дѣятельность выше упомянутыхъ сахаристыхъ веществъ и ихъ смѣси.

Для рѣшенія перваго вопроса произведенъ былъ слѣдующій опытъ: 4 стеклянки № I, II, III, IV, содержащія 50,0 куб. см. стерилизованнаго 20 % раствора тростниковаго сахара, нагрѣвались предварительно при 40° въ термостатъ; № I содержалъ кромѣ того 0,10 грм. сулемы. Къ № I, III, IV прибавилось по 2,0 куб. см. раствора инвертина, содержащаго 0,05 грм. фермента, къ № II — 2,0 куб. см. воды. По истеченіи 3 часовъ при 40° 10 куб. см. каждой изъ жидкостей разбавлены были равнымъ объемомъ 0,4 % раствора сулемы и послѣ фильтрованія наблюдался уголъ вращенія этихъ смѣсей въ трубкѣ 200 мм. длины.

№ стеклянки	I	II	III	IV
уголъ вращенія	+12°53'	+12°49'	+10°20'	+10°19'

Полминуты спустя по отнятіи этихъ 10 куб. см. прибавлены были къ № III 42,0 куб. см. 0,4 % раствора сулемы, а къ № IV 42,0 куб. см. стерилизованной воды; объ прибавляемая жидкости были пред-

варительно нагрѣты до 40°. По истеченіи приблизительно 3 часовъ для № III наблюдался уголъ вращенія +10°18' для № IV +7°13'. По истеченіи слѣдующихъ 20 часовъ при 20° уголъ вращенія для № III остался неизмѣненнымъ, между тѣмъ какъ для № IV онъ понизился до +2°4'. По истеченіи 10 часовъ при 40° смѣсь равныхъ объемовъ жидкости, изъ стеклянки № I и воды показала уголъ вращенія +12°52'.

Изъ этихъ опытовъ видно, что въ растворѣ тростниковаго сахара, содержащемъ приблизительно 0,2 % сулемы въ теченіе 3 часовъ инвертинъ не въ состояніи былъ вызвать замѣтной инверсіи, между тѣмъ какъ въ теченіе того-же времени въ растворахъ, несодержащихъ сулемы, тѣмъ-же количествомъ инвертина инвертировано было приблизительно 15 % присутствующаго сахара. Болѣе сильное вращеніе реакціонной смѣси № I сравнительно съ № II объясняется вращеніемъ плоскости поляризаціи инвертиномъ вправо. Остановливающее дѣйствіе сулемы выступаетъ еще болѣе рѣзко при сравненіи растворовъ № III и № IV послѣ прибавленія воды resp. раствора сулемы. Судя по результатамъ этихъ опытовъ останавливающее дѣйствіе сулемы на реакцію инвертина является доказаннымъ.

Для изслѣдованія вліянія сулемы на силу оптической дѣятельности тростниковаго- и инвертированнаго сахара, разбавлялись одни и тѣ-же 20 % растворы этихъ веществъ равными объемами то воды, то 0,4 % раствора сулемы и опредѣлялись углы вращенія этихъ смѣсей. Разности угловъ вращенія не превышали предѣла ошибокъ наблюденія (2—3 минутъ), даже послѣ 20 часового стоянія смѣсей при 20°. Растворъ инвертированнаго сахара былъ приготовленъ раствореніемъ

равныхъ количествъ винограднаго и плодоваго сахара, послѣ чего растворъ кипятился приблизительно 10 минутъ; послѣ охлажденія жидкости было добавлено воды до полученія 20 % раствора. Изслѣдовалось и вліяніе сулемы на силу оптической дѣятельности смѣсей 20 % растворовъ тростниковаго и инвертированнаго сахара въ разныхъ пропорціяхъ, а именно:

Растворъ тростник. сахара	1 ч.	1 ч.	2 ч.	1 ч.
„ инвертиров. „	2 „	5 „	3 „	10 „

Во всѣхъ случаяхъ присутствіе сулемы оказалось въ этомъ отношеніи индифферентнымъ: разницы угловъ вращенія между растворами, разбавленными одинъ разъ водою, другой разъ 0,4 % растворомъ сулемы не превышали предѣла ошибки наблюденія, даже послѣ 24 часового стоянія смѣсей.

На основаніи результатовъ этихъ изслѣдованій, употребленіе сулемы, для прекращенія дѣйствія инвертина я считалъ допустимымъ, чѣмъ и пользовался при исполненіи всѣхъ приведенныхъ въ настоящемъ сочиненіи опытовъ.

Для изслѣдованія хода инверсіи подѣ вліяніемъ инвертина въ стерилизованныхъ растворахъ было поступлено слѣдующимъ образомъ. Къ 100,0 куб. см. раствора тростниковаго сахара, стерилизованнаго кипяченіемъ въ продолженіе 5 минутъ и предварительно нагрѣтаго до указанныхъ въ слѣдующихъ таблицахъ температуръ, содержащаго приблизительно 20,0 грм. продажнаго рафинада, прибавлялось 2,0 куб. см. раствора свободнаго отъ микроорганизмовъ инвертина, содержащаго обозначенныя въ таблицахъ количества фермента, и смѣси держались при указанныхъ темпе-

ратурахъ. Различныя количества инвертина отмѣривались разбавленіемъ стерилизованною водою одного и того-же ферментнаго раствора, полученнаго раствореніемъ инвертина въ стерелизованной водѣ въ теченіе 3 часовъ. Всѣ приборы, соприкасающіеся съ реакціонными жидкостями, были стерилизованы и тщательно высушены.

По истеченіи времени, обозначеннаго въ таблицахъ t (въ часахъ), 10 куб. см. реакціонной жидкости разбавлялись равнымъ объемомъ 0,4 % раствора сулемы; послѣ охлажденія жидкости до 20° она фильтровалась и наблюдалось вращеніе плоскости поляризаціи въ трубкѣ 200 мм. длины, помощью полутѣннаго аппарата Laurent'a. Для опредѣленія угла вращенія раствора тростниковаго сахара передъ началомъ инверсіи, къ 100 куб. см. послѣдняго прибавлялось 2,0 куб. см. воды, смѣсь нагрѣвалась до 40°, потомъ 10 куб. см. ея были разбавлены равнымъ объемомъ 0,4 % раствора сулемы и послѣ фильтрованія наблюдался уголъ вращенія при 20°. При всѣхъ опытахъ опредѣленія скорости инверсіи растворы тростниковаго сахара приготовлены были такіе, чтобы уголъ вращенія передъ началомъ инверсіи, опредѣленный вышеизложеннымъ способомъ, равнялся $+772'$. Такъ какъ данный препаратъ инвертина обнаруживалъ удѣльное вращеніе $^{[a]}D = +46^\circ$, то это отклоненіе принималось во вниманіе при исчисленіяхъ какъ коэффиціента скорости инверсіи, такъ и количества гидролизованнаго сахара. Уголъ вращенія реакціонной жидкости послѣ инверсіи всего присутствующаго сахара исчислялся помощью удѣльнаго вращенія инвертированнаго сахара при соблюденіи постоянныхъ, данныхъ для него въ брошюрѣ L a n -

dolt'a¹⁾). Для концентрации сахарнаго раствора, обнаруживающаго вращение въ + 772' вычисленіемъ получается уголъ вращенія послѣ полной инверсіи = — 245'. Точность измѣренія угловъ вращенія при опытахъ колебалась между 1—3 минутами. Время измѣнялось съ точностью 0,25 минуты. При всѣхъ поляристроскометрическихъ измѣреніяхъ бралось среднее изъ 5 наблюдений. Коэффициентъ скорости инверсіи k исчислялся по уравненію мономолекулярныхъ реакцій $k = \frac{1}{t} \log. \frac{A}{A-x}$, гдѣ черезъ A , обозначено количество реагирующаго вещества въ единицѣ объема передъ началомъ реакціи и черезъ x количество вещества превращеннаго въ теченіе времени t .

При инверсіи вращеніе плоскости поляризаціи растворомъ тростниковаго сахара вправо, по мѣрѣ образованія инвертированнаго сахара, въ теченіе реакціи все больше и больше уменьшается и, благодаря болѣе сильному вращенію левулезы сравнительно съ вращеніемъ декстрозы, переходитъ наконецъ въ лѣвое вращеніе, которое постепенно увеличивается. Обозначая уголъ вращенія реакціонной смѣси, послѣ вычитанія изъ него вращенія инвертиномъ въ различные моменты хода инверсіи, черезъ a , уголъ вращенія раствора тростниковаго сахара передъ началомъ инверсіи черезъ a^0 и уголъ лѣваго вращенія послѣ инверсіи всего присутствующаго въ растворѣ сахара черезъ $a \infty$, то, на основаніи того, что уменьшеніе праваго вращенія и послѣдующее увеличеніе вращенія влѣво, пропорціональны количеству образовавшагося инвертированнаго сахара, выше приведенное уравненіе для мономолекулярныхъ реакцій получаетъ выраженіе:

1) L andolt, loc. cit. p. 525.

$$k = \frac{1}{t} \log. \frac{a^0 + a \infty}{a + a \infty} \quad (1)$$

По изслѣдованіямъ V. Henri¹⁾ инверсія подъ вліяніемъ инвертина слѣдуетъ уравненію:

$$2k_1 = \frac{1}{t} \log. \frac{A+x}{A-x}$$

Этотъ коэффициентъ скорости исчисленъ по уравненію:

$$2k_1 = \frac{1}{t} \log. \frac{a^0 + a \infty + (a^0 - a)^2}{a + a \infty} \quad (2)$$

Количество превращеннаго сахара y , въ процентахъ первоначальнаго, исчислено по уравненію:

$$y = \frac{(a^0 - a) \cdot 100}{a^0 + a \infty}$$

Результаты опредѣленія скорости инверсіи составлены въ слѣдующихъ таблицахъ, гдѣ обозначены: t —время дѣйствія инвертина въ часахъ; a —уголъ вращенія въ минутахъ смѣси равныхъ объемовъ реакціонной жидкости и 0,4% раствора сулемы, за вычетомъ вращенія инвертиномъ; k —коэффициентъ скорости, исчисленный по уравненію (1); $2k_1$ —коэффициентъ скорости по V. Henri, исчисленный по уравненію (2). Черезъ Δk resp. $\Delta 2k_1$ обозначены отклоненія коэффициентовъ скорости k и $2k_1$ отъ средняго.

При опытахъ, соответствующихъ таблицамъ II, III и IV, растворы инвертина, послѣ разбавленія водою для полученія соответствующихъ количествъ фермента, держались 24 часа въ подвалѣ при 3—4°, послѣ чего были быстро нагрѣты до комнатной температуры; такъ какъ означенныя количества фермента были растворены въ 4,0 куб. см. воды, то для того, чтобы получить объемъ реакціонной смѣси въ 102 куб. см., приба-

1) V. Henri loco cit.

ОПЫТЪ II.

Температура 40,0 °.

0,1 гр. Инвертина.							0,05 гр. Инвертина.						
t	a	y	k	Δ k	2 k ₁	Δ 2 k ₁	t	a	y	k	Δ k	2 k ₁	Δ 2 k ₁
0,5	+	738	3,34	0,0292	-	0,0039	1	+	742	2,95	0,0130	-	0,0256
1,0		702	6,88	0,0308	-	0,0060	2		697	7,38	0,0167	-	0,0321
2		633	13,67	0,0318	-	0,0023	3,5		635	13,48	0,0179	-	0,0336
3		563	20,56	0,0333	-	0,0035	5		562	20,66	0,0201	-	0,0364
4		490	27,74	0,0353	-	0,0015	7		467	30,00	0,0221	-	0,0384
5,5		388	37,77	0,0375	-	0,0007	10		337	42,80	0,0243	-	0,0397
7		292	47,22	0,0396	-	0,0028	13		258	50,57	0,0235	-	0,0372
10		121	64,05	0,0444	+	0,0012							
13													
13	- 13	77,23	0,0494	-	0,0126	0,0085							

0,025 гр. Инвертииа.

t	a	y	k	Δ k	2 K ₁	Δ 2 K ₁	t	a	y	k	Δ k	2 K ₁	Δ 2 K ₁
1	+ 761	1,08	0,0046	- 0,0042	0,0092	- 0,0060	2	+ 761	1,08	0,0023	- 0,0028	0,0046	- 0,0048
2	748	2,36	0,0052	- 0,0036	0,0102	- 0,0050	4	735	3,64	0,0040	- 0,0011	0,0079	- 0,0015
3,5	719	5,21	0,0066	- 0,0022	0,0129	- 0,0023	6	710	6,10	0,0045	- 0,0006	0,0088	- 0,0006
5	691	7,97	0,0072	- 0,0016	0,0138	- 0,0014	8	688	8,26	0,0047	- 0,0004	0,0090	- 0,0004
7	657	11,31	0,0074	- 0,0014	0,0141	- 0,0011	10	661	10,92	0,0050	- 0,0001	0,0095	- 0,0001
10	597	17,21	0,0082	- 0,0006	0,0151	- 0,0001	13	620	16,13	0,0054	- 0,0003	0,0100	- 0,0006
23	293	47,12	0,0120	+ 0,0032	0,0193	+ 0,0041	23	480	28,72	0,0059	- 0,0005	0,0116	- 0,0022
33	- 10	76,94	0,0193	+ 0,0105	0,0268	+ 0,0116	33	275	48,90	0,0088	+ 0,0037	0,0141	+ 0,0047

ОПЫТЪ III.

Температура = 40,0 °.

0,1 гр. Инвертина.						0,05 гр. Инвертина.							
t	a	y	k	Δ k	2 k ₁	Δ 2 k ₁	t	a	y	k	Δ k	2 k ₁	Δ 2 k ₁
0,5	+ 744	2,76	0,0239	- 0,0057	0,0482	- 0,0032	1,0	+ 757	1,47	0,0064	- 0,0015	0,0128	- 0,0022
1	714	5,70	0,0253	- 0,0043	0,0498	- 0,0016	2,0	744	2,75	0,0060	- 0,0019	0,0120	- 0,0030
2	657	11,31	0,0260	- 0,0036	0,0499	- 0,0015	3,5	718	5,31	0,0068	- 0,0011	0,0132	- 0,0018
3	603	16,61	0,0262	- 0,0034	0,0486	- 0,0028	5	683	8,75	0,0079	± 0,0000	0,0152	+ 0,0002
4	538	23,02	0,0284	- 0,0012	0,0509	- 0,0005	7	642	12,80	0,0086	+ 0,0007	0,0160	+ 0,0010
5,5	476	29,12	0,0272	- 0,0024	0,0473	- 0,0041	10	572	19,67	0,0095	+ 0,0016	0,0173	+ 0,0023
7	360	40,53	0,0322	+ 0,0026	0,0534	+ 0,0020	13	497	27,05	0,0105	+ 0,0026	0,0185	+ 0,0035
10	199	56,37	0,0360	+ 0,0064	0,0554	+ 0,0040							
13	54	70,64	0,0409	+ 0,0113	0,0588	+ 0,0074							

0,025 гр. Инвертина.

t	a	y	k	Δ k	2 K ₁	Δ 2 K ₁	t	a	y	k	Δ k	2 K ₁	Δ 2 K ₁
1	+ 767	0,49	0,0020	- 0,0025	0,0041	- 0,0042	4	+ 756	1,57	0,0017	- 0,0005	0,0034	- 0,0010
2	762	0,98	0,0020	- 0,0025	0,0043	- 0,0040	6	744	2,75	0,0020	- 0,0002	0,0040	- 0,0004
3,5	748	2,36	0,0030	- 0,0015	0,0058	- 0,0025	8	738	3,34	0,0018	- 0,0004	0,0036	- 0,0008
5	735	3,64	0,0032	- 0,0013	0,0063	- 0,0020	10	726	3,93	0,0020	- 0,0002	0,0039	- 0,0005
7	709	6,20	0,0040	- 0,0005	0,0076	- 0,0007	13	699	7,18	0,0025	+ 0,0003	0,0048	+ 0,0004
10	677	9,34	0,0042	- 0,0003	0,0081	- 0,0002	23	599	17,02	0,0035	+ 0,0013	0,0065	+ 0,0021
13	573	19,58	0,0072	+ 0,0027	0,0132	+ 0,0049							
23	342	42,30	0,0104	+ 0,0059	0,0169	+ 0,0086							

ОПЫТЪ IV.

Температура = 40°.

0,1 гр. Инвертина.							0,05 гр. Инвертина.						
t	a	y	k	Δ k	2k ₁	Δ 2k ₁	t	a	y	k	Δ k	2k ₁	Δ 2k ₁
0,5	+ 743	2,85	0,0249	- 0,0075	0,0492	- 0,0063	1,0	+ 749	2,26	0,0098	- 0,0030	0,0195	- 0,002
1,0	708	6,29	0,0280	- 0,0044	0,0549	- 0,0006	2,0	734	3,74	0,0082	- 0,0046	0,0162	- 0,005
2,0	646	12,40	0,0287	- 0,0037	0,0541	- 0,0014	3,5	702	6,88	0,0088	- 0,0040	0,0171	- 0,0044
3,0	587	18,20	0,0290	- 0,0034	0,0532	- 0,0023	5,0	654	11,61	0,0107	- 0,0021	0,0203	- 0,0011
4,0	519	24,89	0,0310	- 0,0014	0,0553	- 0,0002	7,0	601	16,82	0,0114	- 0,0014	0,0211	- 0,0008
5,5	422	34,43	0,0332	+ 0,0009	0,0567	+ 0,0012	10,0	517	25,09	0,0125	- 0,0003	0,0223	- 0,0004
7,0	332	43,29	0,0352	+ 0,0028	0,0575	+ 0,0020	13,0	428	33,84	0,0138	+ 0,0010	0,0235	+ 0,0016
10,0	178	58,44	0,0381	+ 0,0057	0,0581	+ 0,0026	23,0	126	63,55	0,0190	+ 0,0062	0,0284	+ 0,0065
13,0	41	71,90	0,0424	+ 0,0090	0,0605	+ 0,0050	33,0	- 35	79,29	0,0208	+ 0,0080	0,0285	+ 0,0066

0,025 гр. Инвертина.							0,0125 гр. Инвертина.						
t	a	y	k	Δ k	2k ₁	Δ 2k ₁	t	a	y	k	Δ k	2k ₁	Δ 2k ₁
2,0	+ 750	2,16	0,0047	- 0,0031	0,0095	- 0,0043	2,0	+ 769	0,30	0,0006	- 0,0022	0,0013	- 0,0038
3,5	729	4,23	0,0053	- 0,0025	0,0105	- 0,0033	4,0	759	1,28	0,0013	- 0,0015	0,0028	- 0,0023
5,0	703	6,78	0,0061	- 0,0017	0,0118	- 0,0020	6,0	743	2,53	0,0021	- 0,0007	0,0041	- 0,0010
7,0	666	10,43	0,0068	- 0,0010	0,0130	- 0,0008	8,0	732	3,93	0,0022	- 0,0006	0,0043	- 0,0008
10,0	609	16,04	0,0076	- 0,0002	0,0141	+ 0,0003	10,0	712	5,90	0,0026	- 0,0002	0,0051	+ 0,0000
13,0	547	22,14	0,0084	+ 0,0006	0,0150	+ 0,0012	13,0	685	8,56	0,0030	+ 0,0002	0,0057	+ 0,0006
23,0	333	43,19	0,0107	+ 0,0029	0,0175	+ 0,0037	23,0	579	18,98	0,0040	+ 0,0012	0,0073	+ 0,0022
33,0	135	62,67	0,0129	+ 0,0051	0,0194	+ 0,0056	33,0	391	37,49	0,0062	+ 0,0034	0,0104	+ 0,0053

ОПЫТЪ V.

Температура 40,0°.

0,1 гр. Инвертина.							0,05 гр. Инвертина.								
t	a	y	k	Δ k	2 k ₁	Δ 2 k ₁	t	a	y	k	Δ k	2 k ₁	Δ 2 k ₁		
0,5	+	737	3,64	0,0303	+ 0,0010	0,0595	+ 0,0066	1,0	+	753	1,86	0,0080	- 0,0002	0,0164	+ 0,0007
1,0		707	6,40	0,0286	- 0,0007	0,0554	+ 0,0025	2,0		736	3,54	0,0078	- 0,0004	0,0154	+ 0,0005
2,0		652	11,80	0,0273	- 0,0020	0,0515	- 0,0014	3,5		715	5,61	0,0072	- 0,0010	0,0139	- 0,0018
3,0		597	17,22	0,0274	- 0,0019	0,0504	- 0,0025	5,0		685	8,56	0,0078	- 0,0004	0,0150	- 0,0007
4,0		543	21,84	0,0277	- 0,0016	0,0498	- 0,0031	6,5		658	11,21	0,0079	- 0,0003	0,0150	- 0,0007
5,0		485	28,23	0,0288	- 0,0005	0,0504	- 0,0025	8,0		620	14,95	0,0088	+ 0,0006	0,0163	+ 0,0006
6,0		423	33,64	0,0304	+ 0,0011	0,0518	- 0,0011	9,5		587	18,20	0,0091	+ 0,0009	0,0168	+ 0,0011
8,0		298	46,63	0,0341	+ 0,0048	0,0549	+ 0,0020	11,0		557	21,15	0,0094	+ 0,0012	0,0170	+ 0,0013

0,025 гр. Инвертина.							0,0125 гр. Инвертина.								
t	a	y	k	Δ k	2 k ₁	Δ 2 k ₁	t	a	y	k	Δ k	2 k ₁	Δ 2 k ₁		
1,0	+	760	1,12	0,0051	- 0,0020	0,0102	- 0,0033	2,0	+	758	1,34	0,0030	- 0,0005	0,0059	- 0,0008
2,0		750	2,16	0,0047	- 0,0024	0,0095	- 0,0040	4,0		745	2,65	0,0029	- 0,0006	0,0058	- 0,0010
3,5		725	4,62	0,0058	- 0,0013	0,0114	- 0,0021	6,0		727	4,42	0,0033	- 0,0002	0,0064	- 0,0004
5,0		696	7,48	0,0067	- 0,0004	0,0130	- 0,0005	8,0		705	6,60	0,0037	+ 0,0002	0,0072	+ 0,0004
6,5		666	10,43	0,0073	+ 0,0002	0,0140	+ 0,0005	10,0		683	8,75	0,0040	+ 0,0005	0,0076	+ 0,0008
8,0		626	14,36	0,0084	+ 0,0013	0,0157	+ 0,0022	11,5		668	10,23	0,0041	+ 0,0006	0,0077	+ 0,0009
9,5		589	18,00	0,0091	+ 0,0020	0,0166	+ 0,0031								
11,0		548	22,04	0,0098	+ 0,0027	0,0177	+ 0,0042								

ОПЫТЪ VI.

Температура 40,0 °.

0,1 гр. Инвертина.					0,05 гр. Инвертина.				
t	a	y	k	Δ k	2 k ₁	Δ 2 k ₁	k	Δ k	2 k ₁ Δ 2 k ₁
0,5	742	2,95	0,0260	-0,0025	0,0513	-0,0011	2,16	0,0093	0,0190
1,0	706	6,55	0,0291	+0,0006	0,0565	+0,0003	3,93	0,0086	0,0169
2,0	656	11,42	0,0263	-0,0022	0,0497	-0,0005	6,20	0,0079	0,0154
3,0	607	16,23	0,0256	-0,0029	0,0474	-0,0028	9,25	0,0084	0,0161
4,0	549	21,94	0,0268	-0,0017	0,0485	-0,0017	11,80	0,0084	0,0158
5,0	499	26,80	0,0272	-0,0013	0,0478	-0,0024	14,56	0,0085	0,0160
6,0	443	32,37	0,0283	-0,0002	0,0486	-0,0016	17,51	0,0088	0,0162
7,5	361	40,43	0,0300	+0,0015	0,0497	-0,0005	21,54	0,0092	0,0165
9,0	284	48,01	0,0315	+0,0030	0,0505	+0,0003			
11,0	183	58,00	0,0342	+0,0057	0,0523	+0,0021			

0,025 гр. Инвертина.					0,0125 гр. Инвертина.				
t	a	y	k	Δ k	2 k ₁	Δ 2 k ₁	k	Δ k	2 k ₁ Δ 2 k ₁
1,0	759	1,28	0,0054	-0,0013	0,0108	-0,0021	1,77	0,0038	0,0077
2,0	749	2,26	0,0050	-0,0017	0,0097	-0,0032	4,24	0,0046	0,0092
3,5	726	4,52	0,0057	-0,0010	0,0113	-0,0016	6,97	0,0055	0,0110
5,0	695	7,57	0,0068	+0,0001	0,0136	+0,0007	9,84	0,0056	0,0110
6,5	669	10,13	0,0071	+0,0004	0,0136	+0,0007	13,08	0,0061	0,0114
8,0	641	12,90	0,0075	+0,0008	0,0140	+0,0011	15,44	0,0060	0,0113
9,5	609	16,03	0,0080	+0,0013	0,0148	+0,0019			
11,5	567	20,17	0,0085	+0,0018	0,0155	+0,0026			

ОПЫТЪ VII.

Растворъ инвертина фильтрованъ сквозь фарфоровыя стѣнки.

Температура 40,0 °.

Концентрація инвертина = 1,0.								
t	a	y	k	Δ k	f k	2 k ₁	Δ 2 k ₁	f 2 k ₁
1,0	741	3,01	0,0133	-0,0064	+0,00119	0,0267	-0,0033	+0,00232
3,0	686	8,46	0,0127	-0,0070	0,00037	0,0243	-0,0057	0,00069
5,0	614	15,54	0,0146	-0,0051	0,00024	0,0272	-0,0028	0,00042
7,0	548	22,04	0,0154	-0,0043	0,00019	0,0278	-0,0022	0,00031
10,0	429	33,74	0,0178	0,0019	0,00017	0,0305	+0,0005	0,00026
24,0	22	73,79	0,0242	+0,0045	0,00016	0,0342	+0,0042	0,00019
30,0	84	84,22	0,0267	+0,0070	0,00024	0,0356	+0,0056	0,00028
46,0	204	96,02	0,0303	+0,0106	0,00063	0,0368	+0,0068	0,00046
72,0	221	97,70	0,0227	+0,0030	0,00062	0,0268	-0,0032	0,00064
96,0	246	100,0						

Концентрація инвертина = 0,5.								
t	a	y	k	Δ k	f k	2 k ₁	Δ 2 k ₁	f 2 k ₁
1,0	764	0,78	0,0033	-0,0064	+0,00103	0,0067	-0,0069	+0,00205
3,0	740	3,15	0,0046	-0,0051	0,00035	0,0091	-0,0045	0,00068
6,0	701	6,69	0,0050	-0,0047	0,00018	0,0097	-0,0039	0,00034
10,0	655	11,51	0,0053	-0,0044	0,00011	0,0100	-0,0036	0,00021
24,0	419	34,73	0,0077	-0,0020	0,00007	0,0131	+0,0005	0,00010
46,0	11	74,73	0,0130	+0,0033	0,00009	0,0183	+0,0047	0,00010
72,0	158	91,50	0,0149	+0,0052	0,00017	0,0188	+0,0052	0,00017
96,0	204	96,02	0,0145	+0,0048	0,00027	0,0177	+0,0041	0,00027
120,0	224	97,99	0,0141	+0,0044	0,00043	0,0164	+0,0028	0,00043
169,0	241	99,66	0,0145	+0,0048	0,00204	0,0163	+0,0027	0,00207

Концентрація инвертина = 0,25.								
t	a	y	k	Δ k	f k	2 k ₁	Δ 2 k ₁	f 2 k ₁
1,0	770	0,20	0,0008	-0,0042	+0,00102	0,0015	-0,0062	+0,00201
3,0	753	1,87	0,0027	-0,0023	0,00035	0,0055	-0,0022	0,00068
6,0	733	3,83	0,0028	-0,0022	0,00018	0,0056	-0,0021	0,00034
10,0	698	7,28	0,0033	-0,0017	0,00011	0,0063	-0,0014	0,00021
24,0	572	19,67	0,0039	0,0011	0,00005	0,0072	-0,0005	0,00009
46,0	293	47,12	0,0060	+0,0010	0,00004	0,0097	+0,0020	0,00006
72,0	52	70,84	0,0074	-0,0024	0,00005	0,0107	+0,0030	0,00006
96,0	60	81,85	0,0077	+0,0027	0,00006	0,0104	+0,0027	0,00006
120,0	130	88,74	0,0079	+0,0029	0,00008	0,0102	+0,0025	0,00016
169,0	187	94,35	0,0074	+0,0024	0,00011	0,0097	+0,0020	0,00011

Концентрація инвертина = 0,125.								
t	a	y	k	Δ k	f k	2 k ₁	Δ 2 k ₁	f 2 k ₁
3,0	766	0,59	0,0009	-0,0019	+0,00034	0,0017	-0,0028	0,00068
6,0	755	1,67	0,0012	-0,0016	0,00017	0,0024	-0,0021	0,00034
10,0	735	3,64	0,0016	-0,0012	0,00010	0,0032	-0,0013	0,00020
24,0	667	10,33	0,0020	-0,0008	0,00005	0,0037	-0,0008	0,00009
46,0	518	25,00	0,0027	-0,0001	0,00003	0,0048	+0,0003	0,00005
72,0	321	44,37	0,0035	+0,0007	0,00002	0,0057	+0,0012	0,00004
96,0	170	59,23	0,0040	+0,0012	0,00003	0,0062	+0,0017	0,00003
120,0	56	70,44	0,0044	+0,0016	0,00003	0,0063	+0,0018	0,00003
169,0	79	83,72	0,0047	+0,0019	0,00004	0,0062	+0,0017	0,00004

Опытъ VIII.

Температура 53,0 °.

0,1 грм. Инвертина.							0,05 грм. Инвертина.							
t	a	y	k	Δ k	2 k ₁	Δ 2 k ₁	t	a	y	k	Δ k	2 k ₁	Δ 2 k ₁	
0,5	+	725	4,62	0,0409	+ 0,0155	0,0800	1,0	+	748	2,36	0,0104	+ 0,0014	0,0205	+ 0,0088
1,0		695	7,57	0,0341	+ 0,0087	0,0657	2,0		736	3,54	0,0078	+ 0,0018	0,0154	+ 0,0037
2,0		639	13,08	0,0302	+ 0,0048	0,0572	4,0		717	5,41	0,0060	+ 0,0000	0,0118	+ 0,0001
3,0		594	17,51	0,0278	+ 0,0024	0,0513	6,0		702	6,88	0,0051	— 0,0009	0,0100	— 0,0017
4,0		559	20,95	0,0255	+ 0,0001	0,0462	9,0		689	8,16	0,0042	— 0,0018	0,0079	— 0,0038
5,5		514	25,38	0,0231	— 0,0023	0,0410	12,0		670	10,03	0,0038	— 0,0022	0,0073	— 0,0044
8,0		466	30,10	0,0194	— 0,0060	0,0337	22,0		551	21,74	0,0048	— 0,0012	0,0087	— 0,0030
11,0		420	34,63	0,0168	— 0,0086	0,0285								
22,0		333	43,20	0,0111	— 0,0143	0,0183								

0,025 грм. Инвертина.

t	a	y	k	Δ k	2 k ₁	Δ 2 k ₁
1,0	+ 764	0,78	0,0036	+ 0,0006	0,0067	+ 0,0014
2,0	755	1,67	0,0036	+ 0,0006	0,0072	+ 0,0009
4,0	732	3,93	0,0043	+ 0,0001	0,0084	+ 0,0003
6,0	707	6,40	0,0047	+ 0,0005	0,0092	+ 0,0011
9,0	681	8,95	0,0045	+ 0,0003	0,0087	+ 0,0006
12,0	647	12,30	0,0047	+ 0,0005	0,0089	+ 0,0008
22,0	574	19,48	0,0043	+ 0,0001	0,0078	+ 0,0003

0,0125 грм. Инвертина.

t	a	y	k	Δ k	2 k ₁	Δ 2 k ₁
2,0	+ 765	0,69	0,0014	+ 0,0003	0,0031	+ 0,0002
4,0	756	1,52	0,0017	+ 0,0000	0,0032	+ 0,0001
6,0	748	2,36	0,0017	"	0,0034	+ 0,0001
9,0	736	3,54	0,0017	"	0,0034	+ 0,0001
12,0	726	4,52	0,0017	"	0,0033	+ 0,0000
22,0	683	8,75	0,0018	+ 0,0001	0,0034	+ 0,0001

Опытъ IX.

Температура 53,0 °.

0,1 грм. Инвертина.						
t	a	y	k	Δ k	2 k ₁	Δ 2 k ₁
0,5	+ 748	2,30	0,0207	+ 0,0067	0,0410	+ 0,0144
1,0	723	4,82	0,0213	+ 0,0073	0,0421	+ 0,0155
2,0	696	7,48	0,0168	+ 0,0028	0,0326	+ 0,0060
3,0	669	10,13	0,0154	+ 0,0014	0,0295	+ 0,0029
4,5	644	12,59	0,0130	+ 0,0010	0,0244	+ 0,0022
6,0	623	14,66	0,0114	+ 0,0026	0,0213	+ 0,0053
8,0	604	16,52	0,0100	+ 0,0040	0,0181	+ 0,0085
10,0	585	18,40	0,0090	+ 0,0050	0,0162	+ 0,0104
20,5	436	33,05	0,0085	+ 0,0055	0,0145	+ 0,0121

0,05 грм. Инвертина.

t	a	y	k	Δ k	2 k ₁	Δ 2 k ₁
1,0	+ 758	1,38	0,0059	+ 0,0027	0,0118	+ 0,0055
2,0	754	1,77	0,0039	+ 0,0007	0,0077	+ 0,0014
4,0	738	3,34	0,0036	+ 0,0004	0,0073	+ 0,0010
6,0	735	3,64	0,0026	+ 0,0006	0,0053	+ 0,0010
8,0	728	4,33	0,0024	+ 0,0008	0,0047	+ 0,0016
11,0	725	4,62	0,0019	+ 0,0013	0,0036	+ 0,0027
20,5	676	9,44	0,0021	+ 0,0011	0,0040	+ 0,0023

0,0125 грм. Инвертина.

t	a	y	k	Δ k	2 k ₁	Δ 2 k ₁
2,0	+ 766	0,60	0,0013	+ 0,0003	0,0026	+ 0,0005
4,0	760	1,18	0,0013	+ 0,0003	0,0026	+ 0,0005
6,0	750	2,16	0,0015	+ 0,0001	0,0032	+ 0,0001
8,0	740	3,15	0,0017	+ 0,0001	0,0034	+ 0,0003
11,0	727	4,43	0,0018	+ 0,0002	0,0035	+ 0,0004
20,5	690	8,07	0,0018	+ 0,0002	0,0034	+ 0,0003

Опытъ X.

Температура 55,0 °.

0,10 грм. Инвертина.													
t	a	y	k	Δ k	2 k ₁	Δ 2 k ₁							
1,0	--	5,66	0,0253	--	0,0129	0,0505	--	0,0265					
2,0	687	8,32	0,0189	--	0,0065	0,0365	--	0,0125					
3,5	676	9,44	0,0123	--	0,0001	0,0235	--	0,0005					
5,0	671	9,91	0,0091	--	0,0033	0,0172	--	0,0068					
9,0	655	11,51	0,0059	--	0,0065	0,0112	--	0,0128					
21,0	646	12,39	0,0027	--	0,0097	0,0051	--	0,0189					

0,05 грм. Инвертина.

t	a	y	k	Δ k	2 k ₁	Δ 2 k ₁
1,5	+ 751	2,06	0,0050	+ 0,0030	0,0120	+ 0,0060
3,5	743	2,83	0,0036	+ 0,0006	0,0070	+ 0,0010
6,0	735	3,61	0,0026	+ 0,0004	0,0053	+ 0,0007
9,0	732	4,00	0,0019	+ 0,0011	0,0038	+ 0,0022
21,0	728	4,32	0,0009	+ 0,0021	0,0018	+ 0,0042

0,0125 грм. Инвертина.

t	a	y	k	Δ k	2 k ₁	Δ 2 k ₁
2,0	+ 761	1,08	0,0023	+ 0,0007	0,0046	+ 0,0014
4,0	755	1,67	0,0018	+ 0,0002	0,0036	+ 0,0004
9,0	747	2,46	0,0012	+ 0,0004	0,0024	+ 0,0008
21	719	5,21	0,0011	+ 0,0005	0,0021	+ 0,0011

При болѣе подробномъ разсмотрѣніи составленныхъ въ таблицахъ результатовъ оказывается слѣдующее:

1) Оба коэффициента скорости инверсии, какъ k такъ и $2k_1$, въ теченіе реакціи непрерывно возрастаютъ; только въ таблицахъ опытовъ V и VI, при дѣйствіи 0,10 грм. и 0,05 грм. инвертина оба коэффициента остаются до нѣкоторой степени постоянными.

2) Повышеніе коэффициента k въ теченіе реакціи, сравнительно съ $2k_1$, гораздо болѣе.

3) Это повышеніе k resp. $2k_1$ лежитъ внѣ предѣла погрѣшностей измѣреній, какъ это видно при сравненіи абсолютныхъ отклоненій отдѣльныхъ коэффициентовъ отъ ихъ среднихъ чиселъ съ возможнымъ абсолютнымъ отклоненіемъ, лежащимъ въ предѣлахъ ошибки поляристроскометрическаго наблюденія (2—3 мин.) при опытѣ VII. Въ пользу того, что повышеніе коэффициентовъ скорости нельзя отнести къ ошибкамъ наблюденія, говорить еще то обстоятельство, что отклоненія отъ среднихъ чиселъ въ теченіе первой половины времени наблюденія хода реакціи въ большинствѣ случаевъ представляютъ числа отрицательныя; съ теченіемъ времени отрицательныя отклоненія постепенно уменьшаются и переходятъ потомъ въ положительныя, которыя быстро возрастаютъ.

4) Съ уменьшеніемъ количества инвертина повышеніе обоихъ коэффициентовъ скорости инверсии въ теченіе реакціи возрастаютъ. Изъ графической интерполации коэффициентовъ k и $2k_1$, въ зависимости отъ количества гидролизованнаго сахара, оказывается по результатамъ опыта VII, что во время разложенія указанныхъ въ слѣдующей таблицѣ количествъ тростниковаго сахара у въ процентахъ первоначальнаго, коэффи-

ціенты скорости инверсии k и $2k_1$ при дѣйствіи разныхъ количествъ инвертина увеличивались на указанныя въ той же таблицѣ процентныя числа.

Увеличеніе k и $2k_1$ въ процентахъ.

Концентрація инвертина 1,0			Концентрація инвертина 0,5		Концентрація инвертина 0,25		Концентрація инвертина 0,125	
	k	$2k_1$	k	$2k_1$	k	$2k_1$	k	$2k_1$
0/о гидролизован. сахара								
10,0	6,7	1,5	56,0	49,3	103,5	87,5	127,5	118,0
20,0	14,3	3,5	90,0	70,0	134,5	107,0	185,0	165,0
30	28,4	10,5	131,0	97,4	169,5	131,0	239,5	197,0
40	43,0	18,0	167,0	119,0	212,0	156,0	290,0	225,5
50	55,3	21,0	202,5	138,0	264,0	180,5	334,5	248,0
60	66,5	24,0	238,0	155,0	307,0	199,0	372,5	261,0
70	77,5	27,0	273,0	168,5	335,0	205,0	411,0	271,0
80	92,5	32,0	306,5	178,5	351,0	200,0	438,0	269,5
90	115,0	42,5	340,0	182,0	366,0	188,0	—	—

Для опыта съ количествомъ инвертина, соотвѣтствующимъ концентраціи 0,25, за единицы для k resp. $2k_1$ при этихъ исчисленіяхъ взяты среднія изъ чиселъ, найденныхъ послѣ перваго и третьяго часовъ, а именно $k = 0,0018$ и $2k_1 = 0,0035$.

5) Изъ графическихъ изображеній хода реакціи при опытахъ I, II и VII (табл. I, фиг. 1, 2, 3), видно, что измѣненія формы кривыхъ, относительно координатъ, въ зависимости отъ количества дѣйствующаго инвертина, совпадаютъ въ главныхъ чертахъ съ наблюденными проф. Г. А. Тамманомъ¹⁾ особенностями хода реакціи подъ вліяніемъ различныхъ количествъ этого фер-

1) G. Tammann, Zeitschr. f. physik. Chem. III, p. 25 — 1889.

мента, изображенными въ діаграммѣ, данной вышеупомянутымъ авторомъ уже 13 лѣтъ тому назадъ. Результаты описанныхъ въ настоящемъ сочиненіи опытовъ такимъ образомъ довольно убѣдительно подтверждаютъ наблюденную проф. Г. А. Тамманомъ зависимость хода реакціи отъ количества дѣйствующаго фермента. Изъ діаграммъ опытовъ I, II и VII видно, что ходъ инверсіи при 40° подѣ влияніемъ сравнительно большихъ количествъ инвертина изображается кривыми, выпуклостью которыхъ обращена къ абсциссѣ; но мѣръ того какъ количество дѣйствующаго фермента уменьшается, кривыя все больше и больше приближаются къ прямой линіи и перешли бы при дальнѣйшемъ пониженіи количества инвертина несомнѣнно въ кривыя, вогнутость которыхъ обращена къ абсциссѣ; послѣднее предположеніе подтверждается опытомъ II, такъ какъ здѣсь подѣ дѣйствіемъ 0,0125 грм. инвертина ходъ инверсіи представляетъ кривую, вогнутость которой обращена къ абсциссѣ.

6) Такъ какъ возможность вліянія микроорганизмовъ на скорость реакціи инвертина при исполненныхъ мною опытахъ была исключена, то можно заключить, что наблюденная проф. Г. А. Тамманомъ зависимость формы кривыхъ инверсіи при температурахъ ниже 50° отъ количества инвертина не было вызвана микроорганизмами, а представляетъ особенность хода гидролиза тростниковаго сахара подѣ вліяніемъ этого фермента.

7) При 53° появляется постепенное пониженіе коэффициентовъ k и $2k_1$ въ теченіе инверсіи подѣ вліяніемъ большихъ количествъ инвертина (0,10 грм. и 0,05 грм.); подѣ вліяніемъ 0,0125 грм. инвертина k немного повышается, а $2k_1$ остается почти постояннымъ.

8) При 55° оказывается довольно значительное пониженіе коэффициентовъ скорости, какъ k такъ и $2k_1$ въ теченіе реакціи при всѣхъ трехъ концентраціяхъ фермента; разложеніе инвертина на дѣйствующие продукты распада въ присутствіи тростниковаго сахара совершается при этой температурѣ съ значительною скоростью. При большихъ количествахъ фермента уменьшеніе коэффициентовъ скорости инверсіи гораздо больше, чѣмъ при малыхъ. Въ теченіе приблизительно 19,5 часовъ, при дѣйствіи различныхъ количествъ инвертина коэффициентъ k понизился на слѣдующія процентныя количества.

Количество инвертина	0,10 грм.	0,05 грм.	0,0125 грм.
пониженіе коэффициента k	89 %	84 %	53,4 %

9) Скорость инверсіи не строго пропорціональна количеству прибавленнаго инвертина.

Особого вниманія заслуживаетъ то обстоятельство, что результаты опытовъ, при которыхъ реакція совершалась при одинаковыхъ физическихъ условіяхъ и подѣ вліяніемъ растворовъ инвертина, приготовленныхъ одинаковымъ путемъ, колеблются въ предѣлахъ превышающихъ ошибку наблюденія. Эти колебанія интенсивности дѣйствія инвертина особенно рѣзко проявляются при малыхъ количествахъ фермента. Такую же неправильность хода реакціи при повтореніяхъ опыта мы встречаемъ въ результатахъ изслѣдованій V. Henri¹⁾.

Такъ какъ при всѣхъ выше приведенныхъ опытахъ реакція инвертина совершалась въ сосудахъ изъ обыкновеннаго, легкоплавкаго стекла, то можно было предполагать, что причина, вызывавшая колебанія силы

1) V. Henri, loc. cit.

дѣйствія фермента при повтореніи одинаково выполняемыхъ опытовъ, заключалась въ мѣняющемся количествѣ отщепленной отъ стекла щелочи; какъ дальше видно будетъ, правильность скорости инверсіи подѣ влияніемъ инвертина при одинаковыхъ физическихъ условіяхъ въ высшей степени зависитъ отъ качества стѣнокъ стеклянокъ, соприкасающихся съ реакціонною жидкостью.

Причина ускоренія реакціи инвертина.

Изъ того факта, что скорость инверсіи подѣ влияніемъ инвертина при температурахъ ниже 50^0 увеличивается, повидимому, можно вывести заключеніе, что интенсивность дѣйствія этого фермента въ теченіе реакціи повышается. Результаты изслѣдованій Kjeldahl'a, Fernbach'a, O'Sullivan et Thompson'a ¹⁾ показываютъ намъ, что присутствіе кислотъ въ малыхъ количествахъ замѣтно усиливаетъ дѣйствіе инвертина.

Что касается сахара и продуктовъ его гидролиза, то E. Cohen ²⁾, при изслѣдованіи влияния сахаристыхъ веществъ на скорость омыленія этилового эфира уксусной кислоты ѣдкимъ натромъ, приходитъ къ заключенію, что тростниковый-, виноградный-, плодовой- и инвертированный сахаръ должны обладать характеромъ слабыхъ кислотъ, такъ какъ присутствіе этихъ веществъ, смотря по ихъ количеству, въ большемъ или меньшемъ размѣрѣ понижаетъ скорость омыленія упомянутого сложнаго эфира; наисильнѣйшее замедляющее дѣйствіе обнаруживалъ инвертированный сахаръ. — Полагая, что выводъ E. Cohen'a въ самомъ дѣлѣ вѣренъ, повышение ско-

1) Loc. cit.

2) E. Cohen, Zeitschr. f. physikal. Chem. 37, p. 69 — 1900.

рости инверсіи подѣ влияніемъ инвертина въ теченіе реакціи является достаточно объяснимымъ; усиленіе дѣйствія инвертина кислотнымъ характеромъ инвертированного сахара и зависимость интенсивности этого усиленія отъ образовавшагося въ теченіе реакціи количества инвертированного сахара является такимъ образомъ очень возможнымъ. Но такъ какъ, по воззрѣнію современной химіи, моносахариды разсматриваются какъ альдегидо-, resp. кетоноспирты, а дисахариды, какъ ангидриды послѣднихъ, то наблюденное E. Cohen'омъ пониженіе скорости омыленія сложныхъ эфировъ ѣдкими щелочами присутствіемъ сахаристыхъ веществъ можно объяснить и тѣмъ, что послѣднія, не обладая кислотнымъ характеромъ, все-таки соединяются отчасти съ ѣдкою щелочью, образуя съ ней алькоголяты (сахараты).

При попыткахъ разъяснить причины ускореннаго хода инверсіи подѣ влияніемъ инвертина, особое вниманіе привлекли результаты опытовъ Kullgren'a ¹⁾ надѣ изслѣдованіемъ пригодности инверсіи для опредѣленія свободныхъ водородныхъ іоновъ, образующихся при электролитической диссоціаціи. Этотъ авторъ замѣтилъ, что растворы химически чистаго тростниковаго сахара при кипяченіи принимаютъ слабокислую реакцію и что коэффициентъ инверсіи безъ всякаго катализатора въ теченіе кипяченія постепенно повышается. При болѣе подробномъ изслѣдованіи оказалось, что при кипяченіи сахарныхъ растворовъ образуется какая-то кислота, количество которой со временемъ увеличивается.

На основаніи данныхъ Kullgren'a казалось важнымъ рѣшить вопросъ: не образуется ли при инверсіи

1) Kullgren, Zeitschr. f. physik. Chem. 41, p. 120 — 1902.

подъ вліяніемъ инвертина въ теченіе реакціи тоже кислота? Съ этой цѣлью произведенъ былъ слѣдующій опытъ: Къ 100 куб. см. стерилизованнаго и предварительно нагрѣтаго до 40° раствора тростниковаго сахара, содержащаго 20 грм. рафинада, прибавлено было 2,0 куб. см. раствора, содержащаго 0,1 грм. инвертина. Растворъ инвертина, послѣ тщательнаго растворенія фермента, оставленъ былъ на 14 часовъ въ подвалѣ при 4°—6° для осажденія нерастворимыхъ частей, такъ что при этомъ опытѣ примѣненъ былъ вполне прозрачный растворъ инвертина. Реакціонная жидкость передъ началомъ инверсіи оказалась слабо щелочною; для нейтрализаціи 10,0 куб. см. ея пошло 0,2 куб. см. $\frac{1}{100}$ норм. раствора щавелевой кислоты. По истеченіи времени t въ часахъ опредѣлялось, вышеописаннымъ способомъ, измѣненіе вращенія жидкостью плоскости поляризаціи, а изъ послѣдняго исчислялись количество гидролизованнаго сахара y въ процентахъ первоначальнаго и коэффициентъ скорости инверсіи k . Одновременно опредѣлялось титрованіемъ $\frac{1}{100}$ нормальнымъ растворомъ ѣдкаго натра, въ присутствіи азолитмина (Azolithmin) въ качествѣ индикатора, количество образовавшейся кислоты. Результаты этого опыта даны въ слѣдующей таблицѣ; указанныя количества израсходованнаго $\frac{1}{100}$ нормальнаго раствора ѣдкаго натра относятся къ 10 куб. см. реакціонной жидкости. Нужно замѣтить, что присутствіе инвертина крайне препятствуетъ рѣзкости перемѣны окраски азолитмина, полученнаго мною по способу Кане ¹⁾, вслѣдствіе чего чувствительность этого превосходнаго индикатора, ясно указывающаго

1) Kane, Annalen der Chemie u. Pharmacie 39, p. 50 — 1841

въ отсутствіи инвертина избытокъ одной капли $\frac{1}{500}$ нормальнаго раствора соляной кислоты, геср. ѣдкаго натра, на 10,5 куб. см. жидкости, значительно понижается.

Опытъ XI.

t	y	$K = \frac{1}{t} \log \frac{a^0}{a} \mid \frac{a^\infty}{a^\infty}$	Увеличеніе K въ $\frac{0}{100}$	Израс-ходован. куб. см. $\frac{1}{100}$ норм. Na OH	Грм. молекулы относительно на литръ.
3,5	23,60	0,03333	—	0,0	0,0004
21	92,82	0,05444	63,34	0,3	0,0007
30	97,85	0,05555	66,66	0,9	0,0013
45	98,86	0,04359		1,1	0,0015

Результаты этого опыта ясно показываютъ, что при инверсіи подъ вліяніемъ инвертина образуется кислота, количество которой въ теченіе реакціи замѣтно увеличивается. Изъ таблицы видно, что повышеніе коэффициента скорости инверсіи k увеличивается съ возрастающимъ содержаніемъ въ жидкости кислоты и достигаетъ при нѣкоторой концентраціи послѣдней максимума, съ котораго при дальнѣйшемъ увеличеніи количества кислоты появляется пониженіе коэффициента скорости инверсіи. Послѣднее явленіе соотвѣтствуетъ литературнымъ даннымъ, относящимся къ изслѣдованію вліянія кислотъ въ различныхъ концентраціяхъ на силу дѣйствія инвертина.

Kjeldahl ¹⁾, повидимому, впервые изслѣдовалъ вліяніе кислотъ на силу дѣйствія инвертина. Результатомъ его опытовъ оказалось, что присутствіе малыхъ количествъ кислотъ значительно повышаетъ, большихъ же количествъ, напротивъ, понижаетъ силу дѣйствія инвертина.

1) Kjeldahl loc. cit.

Fernbach ¹⁾ изслѣдовалъ вліяніе различныхъ кислотъ, въ различныхъ концентраціяхъ, на силу дѣйствія инвертина; во всѣхъ случаяхъ констатировано было количество кислотъ, въ присутствіи котораго инвертинъ обнаруживалъ наисильнѣйшее дѣйствіе; выше этой концентраціи наступило ослабленіе дѣйствія. Концентрація максимальнаго повышенія дѣйствія инвертина, по изслѣдованіямъ Fernbach'a, для различныхъ кислотъ не одинакова; такъ, на примѣръ, максимальное дѣйствіе одного и того-же количества вытяжки мицелія *Aspergillus niger* при 54° достигнуто было слѣдующими концентраціями ниже приведенныхъ кислотъ.

Сѣрная к-та	0,00025	грам. молек. въ литрѣ
Винная к-та	0,0066	" " " "
Щавелевая к-та . .	0,00073	" " " "
Янтарная к-та . . .	0,017	" " " "
Молочная к-та . . .	0,055	" " " "
Уксусная к-та . . .	0,166	" " " "

Наисильнѣйшее вліяніе, какъ видно, обнаруживаетъ сѣрная кислота; слабо дѣйствующею на усиленіе дѣйствія инвертина оказывается уксусная.

O'Sullivan et Tompson ²⁾ нашли, что концентрація сѣрной кислоты, вызывающая максимальное повышеніе дѣйствія инвертина, зависитъ отъ количества послѣдняго. При дѣйствіи разныхъ количествъ инвертина на одинаковые объемы 20% раствора сахара при 15,5° найдено было слѣдующее отношеніе между количествами фермента и сѣрной кислоты, производящими максимальное повышеніе силы дѣйствія инвертина.

1) Fernbach loc. cit.

2) O'Sullivan et Tompson loc. cit.

Количество инвертина въ % присутствующ. тростников. сахара	So ³ въ грам. молекулахъ въ литрѣ
15,0	0,00375
4,5	0,00187
1,5	0,00125

Разсматривая данную во второй главѣ этого сочиненія таблицу В. мы видимъ, что усиленіе дѣйствія инвертина отъ прибавленія одного и того-же количества соляной кислоты къ одинаковымъ объемамъ реакціонной жидкости, содержащимъ различныя количества фермента, при 30° не одинаково. Исчисляя и сравнивая коэффициенты скорости инверсіи для ряда опытовъ, гдѣ инвертинъ дѣйствовалъ безъ примѣси соляной кислоты, съ таковыми гдѣ къ реакціонной жидкости прибавлена была эта кислота въ концентраціи 0,001 граммоллекулы на литрѣ, оказывается, что повышеніе коэффициента скорости инверсіи отъ прибавленной кислоты увеличивается съ пониженіемъ количества инвертина и достигаетъ при нѣкоторой концентраціи фермента максимума, съ котораго при дальнѣйшемъ уменьшеніи количества инвертина появляется упадокъ повышенія коэффициента скорости инверсіи. Вышесказанное становится болѣе понятнымъ при разсмотрѣніи слѣдующей таблицы: въ первомъ ея столбцѣ отмѣчены количества инвертина въ миллиграммахъ; во второмъ — среднія числа коэффициентовъ скорости инверсіи изъ всѣхъ трехъ опытовъ, при которыхъ отсутствовала соляная кислота; они обозначены к. Третій столбецъ, обозначенный ks, содержитъ среднія изъ коэффициентовъ скорости инверсіи для трехъ опытовъ, гдѣ къ реакціонной жидкости прибавлена была соляная кислота въ концентраціи 0,001 гр-молекулы на литрѣ; въ четвертомъ

помѣщены увеличенія коэффициентовъ скорости отъ прибавленія кислоты въ процентахъ; они обозначены k/Δ .

Количество инвертина	k	ks	k/Δ
25,0	0,06156	0,09700	57,6
12,5	0,03386	0,06508	92,2
6,25	0,01442	0,04609	219,6
3,12	0,00657	0,03641	454,2
1,56	0,00414	0,01403	238,9
0,78	0,00283	0,00640	126,0

Наисильнѣйшее повышеніе коэффициента скорости инверсии отъ прибавленія 0,001 грам. молекулы хлористаго водорода въ литръ мы видимъ при 3,12 миллиграммахъ инвертина; далѣнѣйшее пониженіе количества фермента обнаруживаетъ уменьшеніе повышенія коэффициента k . Сопоставленные въ этой таблицѣ результаты подтверждаютъ такимъ образомъ описанное O'Sullivan et Thompson'омъ отношеніе между количествами инвертина и кислоты, которымъ обуславливается наисильнѣйшее дѣйствіе инвертина.

Зависимостью повышенія силы дѣйствія инвертина кислотами отъ количествъ кислоты и фермента объясняется большее повышеніе коэффициента скорости инверсии въ теченіе реакцій подъ вліяніемъ меньшихъ количествъ инвертина сравнительно съ большими, потому что количества образовавшейся въ теченіе реакціи кислоты очень незначительны.

Изъ таблицы опыта XI (стр. 57) видно, что при дѣйствіи 0,1 грам. инвертина въ 102 куб. см. раствора тростниковаго сахара коэффициентъ скорости инверсии

повысился на 66,66 $\frac{0}{0}$, между тѣмъ какъ кислотность реакціонной жидкости увеличилась на 0,0009 грам. молекулы одноосновной кислоты на литръ. Такъ какъ при опытахъ опредѣленія скорости инверсии (опыты I до VI) реакція совершалась подъ такими же физическими условіями какъ при опытѣ XI, то можно полагать, что при первыхъ образованіе кислоты совершалось въ такихъ-же размѣрахъ, какъ при послѣднемъ. Помощью графической интерполяціи количествъ образовавшейся кислоты, въ зависимости отъ количества гидролизованнаго сахара при опытѣ XI, можно опредѣлить количество образовавшейся кислоты подъ дѣйствіемъ 0,1 грам. инвертина въ различные моменты хода реакціи въ опытахъ I—VI. Положимъ теперь, что повышеніе коэффициента скорости инверсии пропорціонально количеству образовавшейся въ теченіе реакціи кислоты, то, зная количество послѣдней, это повышеніе можно вычислить и полученные такимъ путемъ числа сравнить съ наблюденными. Такое исчисленіе произведено для опытовъ I, II, III и IV, результаты котораго составлены въ слѣдующей таблицѣ. x обозначены найденныя по-

Опытъ I.			Опытъ II.			Опытъ III.			Опытъ IV.		
Повышеніе k въ $\frac{0}{0}$			Повышеніе k въ $\frac{0}{0}$			Повышеніе k въ $\frac{0}{0}$			Повышеніе k въ $\frac{0}{0}$		
x	исчисл.	найденно	x	исчисл.	найденно	x	исчисл.	найденно	x	исчисл.	найденно
0,000175	12,9	5,4	0,00012	8,88	5,0	0,00010	7,4	6,0	0,00012	8,88	12,4
0,000210	15,5	6,8	0,00022	16,3	9,0	0,000195	14,4	8,6	0,00022	16,3	15,1
0,000265	19,6	12,1	0,00027	19,9	14,0	0,000255	18,8	9,8	0,00027	19,9	16,4
0,00030	22,2	16,1	0,00031	22,9	20,8	0,00030	22,2	18,8	0,000305	22,6	24,2
0,00033	24,5	22,0	0,00034	25,0	28,0	0,00032	23,7	—	0,00034	25,2	33,4
0,000365	27,0	28,0	0,00038	28,0	35,8	0,000365	27,0	34,4	0,000375	27,7	40,9
0,00040	29,6	37,1	0,00043	31,8	52,0	0,00042	31,1	50,7	0,000425	31,5	51,1
0,000435	32,2	47,0	0,00048	35,5	69,0	0,000465	34,4	71,0	0,00047	34,8	70,0
0,00060	44,4	13,3	0,00074	54,8	99,0	—	—	—	—	—	—

мощью выше описанной графической интерполяции количества одноосновной кислоты, выраженные въ грм. молекулахъ на литръ. (См. табл. на стр. 61.)

Имѣя въ виду пониженіе чувствительности индикатора азолитмина отъ присутствія инвертина какъ и затрудненія и неустранимыя неточности, съ которыми соединено опредѣленіе такихъ незначительныхъ количествъ кислоты, какія образуются при инверсіи подъ вліяніемъ инвертина, то разницы между исчисленными и наблюденными повышеніями коэффиціента скорости инверсіи можно разсматривать какъ погрѣшности количественнаго опредѣленія образующейся кислоты. Неточность выше описаннаго исчисленія увеличивается еще кромѣ того отъ графическаго метода опредѣленія количества кислоты при выше приведенныхъ опытахъ, и отъ принятой пропорціональности между повышеніемъ силы дѣйствія инвертина и количествомъ образующейся кислоты, что экспериментально еще не доказано. Несмотря на то, ускоренный ходъ инверсіи подъ вліяніемъ инвертина, сколько можно судить по результатамъ настоящаго изслѣдованія, можно приписать образованію кислоты въ теченіе реакціи. Образуется ли эта кислота изъ тростниковаго сахара, продуктовъ его гидролиза или же отъ инвертина или его примѣсей и какова эта кислота по своему химическому составу — это вопросы, рѣшеніе которыхъ должно предоставить будущности.

Глава II.

Ходъ потери дѣйствія инвертина въ водномъ растворѣ.

Какъ уже изложено было въ главѣ I этого сочиненія, существованіе температуры максимальной скорости представляетъ особенно характерный признакъ ферментныхъ реакцій, при чемъ экспериментально доказано разложеніе ферментовъ въ водныхъ растворахъ при болѣе высокихъ температурахъ на недействующие продукты распада.

Такъ какъ по возрѣнію большинства изслѣдователей, всѣ безформенные ферменты представляютъ химическія тѣла, то мы должны предполагать, что потеря дѣйствія обусловливается нѣкоторымъ, до настоящаго времени еще неопредѣленнымъ измѣненіемъ химическаго состава или же строенія ферментныхъ молекулъ, не смотря на то, что вслѣдствіе не полнаго знакомства съ химическимъ составомъ дѣйствующаго фермента, мы не въ состояніи представить себѣ механизмъ этого измѣненія. Потеря дѣйствія ферментовъ такимъ образомъ можетъ быть разсматриваема какъ нѣкоторый, до сихъ поръ еще не достаточно объясненный химическій процессъ. Имѣя въ виду, что по van t'Hoff'у и Arrhenius'у скорость всѣхъ химическихъ реакцій является экспонентальною функціею температуры, мы должны допустить зависимость скорости реакціи отъ

температуры и при разложеніи ферментовъ на недѣйствующие продукты. Крайне незначительная скорость потери дѣйствія при температурахъ гораздо ниже температуры максимальной скорости гидролиза подѣ влияніемъ ферментовъ и при обыкновенной температурѣ, никому не должна была-бы служить поводомъ, вполнѣ отрицать существованіе разложенія ферментовъ при этихъ температурахъ, не смотря на то, что въ такихъ случаяхъ на практикѣ не наблюдается пониженія силы дѣйствія ферментовъ, даже по истеченіи довольно значительныхъ промежутковъ времени. Законъ вліянія температуры на скорость всѣхъ химическихъ реакцій имѣетъ мѣсто несомнѣнно и при реакціи разложенія ферментовъ на недѣйствующие продукты распада.

Что касается литературныхъ данныхъ, относящихся къ изслѣдованію потери дѣйствія ферментовъ, то нужно сказать, что опредѣленіе законовъ хода этой реакціи для различныхъ ферментовъ при разныхъ физическихъ условіяхъ до сихъ поръ еще мало обратило на себя вниманіе естествоиспытателей. Авторы, занимавшіеся изслѣдованіемъ потери дѣйствія ферментовъ, ограничиваются главнымъ образомъ опредѣленіемъ зависимости скорости этой реакціи отъ температуры, мѣняющейся концентрации ферментныхъ растворовъ и отъ присутвія различныхъ постороннихъ веществъ. При этихъ изслѣдованіяхъ ферментные растворы обыкновенно были выставлены опредѣленное время при различныхъ физическихъ обстоятельствахъ и при опредѣленныхъ температурахъ, послѣ чего они были смѣшаны съ опредѣленнымъ количествомъ раствора гидролизуемаго вещества, предварительно нагрѣтаго до извѣстной температуры. По истеченіи извѣстнаго времени дѣйствія

фермента при извѣстныхъ условіяхъ были опредѣлены количества гидролизованнаго вещества въ этихъ смѣсяхъ, которыя потомъ сравнивались съ тѣмъ количествомъ, которое получалось при тождественныхъ физическихъ условіяхъ подѣ дѣйствіемъ одинаковаго количества фермента, растворъ котораго не былъ подвергнутъ предварительному нагрѣванію. Интересно то обстоятельство, что въ литературѣ часто идетъ рѣчь о какой-то температурѣ «умерщвленія ферментовъ» (*Tödtungstemperatur*¹⁾, *Zerstörungstemperatur*²⁾, *temperature mortelle*³⁾). Выраженіе это является не вполнѣ понятнымъ. Допуская существованіе такой температуры, можно было-бы подумать, что немного ниже ея, ферменты совсѣмъ не теряютъ силы дѣйствія, а будучи нагрѣты до такъ называемой «температуры умерщвленія», мгновенно лишаются вполнѣ своего специфическаго дѣйствія. Зависимость скорости разложенія ферментовъ на недѣйствующие продукты отъ температуры намъ ясно показываетъ, что «температуры умерщвленія» въ самомъ дѣлѣ въ этомъ смыслѣ существовать не можетъ. Нужно здѣсь упомянуть, что всякая химическая реакція требуетъ для совершенія извѣстнаго времени, несмотря на то, что подѣ вліяніемъ повышенія температуры скорость наконецъ достигаетъ такой величины, что реакція совершается, повидимому, мгновенно. Если критеріемъ индивидуальности ферментовъ хотятъ поставить «температуру умерщвленія», то необходимо и обозначить время, въ продолженіе котораго все количество фермента должно сдѣлаться недѣй-

1) C. Oppenheimer, *Die Fermente* 1900, p. 39, 56.

2) J. Effront, *loc. cit.*, pag. 63.

3) E. Duclaux, *loc. cit.*, p. 186.

ствующимъ; въ противномъ случаѣ означенный терминъ намъ ничего не говоритъ, потому что количество ферментовъ сдѣлавшихся недействующими представляетъ одновременно функцію времени и температуры. Незмѣримо быстрое разрушеніе ферментовъ при высокихъ температурахъ является, повидимому, причиною введенія въ литературу выраженія «температура умерщвленія» resp. «разрушенія».

Такъ какъ при ферментныхъ реакціяхъ одновременно съ гидролизомъ вещества, подлежащаго дѣйствию фермента, совершается разложеніе ферментовъ на недействующие продукты, то, для установленія законовъ хода гидролиза подъ вліяніемъ ферментовъ, крайне необходимымъ является, между прочимъ, и знакомство законовъ временнаго хода реакціи потери дѣйствія ферментовъ въ водномъ растворѣ при различныхъ физическихъ условіяхъ. Первый шагъ въ этомъ направленіи сдѣланъ проф. Г. А. Тамманомъ¹⁾. Результатомъ изслѣдованій этого автора оказывается, что коэффициентъ скорости разложенія эмульсина, исчисленный по уравненію мономолекулярныхъ реакцій, въ теченіе реакціи постепенно понижается; это пониженіе появляется особенно рѣдко при болѣе низкихъ температурахъ.

Далѣе оказывается по его опытамъ, что отношеніе между увеличеніемъ скорости разложенія эмульсина въ водномъ растворѣ и температурою выше 60° выражается уравненіемъ, даннымъ Arrhenius'омъ и van t' Hoff'омъ для всѣхъ химическихъ реакцій.

Результаты изслѣдованія хода разрушенія эмульсина показываютъ намъ, что реакція разложенія ферментовъ, по крайней мѣрѣ эмульсина, на недействующие

¹⁾ G. Tamman, Zeitschr. f. phys. Chem. XVIII, p. 433 — 1895.

продукты представляетъ болѣе сложную реакцію, чѣмъ мономолекулярная. Количество разложеннаго въ единицу времени эмульсина при постоянной температурѣ представляетъ функцію не одной только концентраціи дѣйствующаго фермента, но, повидимому, функцію еще другихъ переменныхъ.

Для пополненія нашихъ знаній о ходѣ разложенія ферментовъ въ водномъ растворѣ на недействующие вещества, мнѣ предложено было многуважаемымъ профессоромъ Г. А. Тамманомъ изслѣдовать ходъ этой реакціи для инвертина.

Такъ какъ о количествѣ дѣйствующаго фермента въ данномъ объемѣ раствора можно судить единственно по скорости гидролиза при данныхъ физическихъ условіяхъ реакціи, то для возможности измѣренія количества инвертина, сдѣлавшагося недействующимъ, нужно было сперва установить количество сахара, гидролизованнаго подъ вліяніемъ мѣняющихся извѣстныхъ количествъ инвертина, въ теченіе одинаковаго времени при постоянной температурѣ и концентраціи тростниковаго сахара. Съ этою цѣлью къ 9,0 куб. см. раствора тростниковаго сахара, предварительно нагрѣтаго до указанныхъ въ слѣдующихъ таблицахъ температуръ, содержащаго приблизительно 0,9 гр. продажнаго рафинада, прибавлялось 1,0 куб. см. раствора, содержащаго указанные въ таблицахъ количества инвертина въ миллиграммахъ и смѣси держались при указанныхъ температурахъ указанное въ таблицахъ время. Послѣ того разбавлены были 10,0 куб. см. 0,4% раствора сулемы. Послѣ фильтрованія наблюдалось вращеніе плоскости поляризаціи при 20° въ трубкѣ 200 мм. длины, а по измѣненію вращенія исчислялось количество гидролизиро-

ваннаго сахара у въ процентахъ первоначальнаго по данному въ главѣ I (стр. 39) уравненію. Указанныя количества инвертина получены были разбавленіемъ одного и того-же раствора, который приготовленъ былъ раствореніемъ фермента въ стерилизованной водѣ въ продолженіе 3 часовъ при обыкновенной температурѣ. Растворъ сахара былъ стерилизованъ кипяченіемъ въ продолженіе 5 минутъ и концентрація его при всѣхъ опытахъ была такова, чтобы уголъ вращенія смѣси 9,0 куб. см. послѣдняго + 1,0 куб. см. воды + 10,0 куб. см. 0,4% раствора сулемы равнялся + 363', по которому находимъ исчисленіемъ уголъ вращенія послѣ гидролиза всего присутствующаго сахара равный — 71,5', а въ минутахъ обозначены углы вращенія смѣсей реакционныхъ жидкостей съ 10,0 куб. см. 0,4% раствора сулемы, принимая въ расчетъ вращеніе инвертиномъ.

Таблица А.
Температура 0°.

Время дѣйствія инвертина — 24 часа.						Время дѣйствія инвертина 15 ч.		
Конц. инвертина	а	у	а	у	а	у	а	у
50,0	109	53,31	102	54,78	89	84,38	+ 103	54,57
25,0	215	31,06	208	32,53	86	58,14	251	23,51
12,5	253	23,09	210	32,11	145	45,76	286	16,16
6,25	270	19,52	312	10,70	295	14,27	244	24,98
3,12	295	14,27	296	14,06	264	20,78	314	10,28
1,56	332	6,50	313	10,50	331	6,71	336	5,66
0,78	355	1,68	344	3,98	323	8,30	351	1,88
0,39	357	1,26	351	2,52	356	1,48	363	0,0
0,19	359	0,84	362	0,21	358	1,05	363	0,0
0,095	362	0,21	363	0,0	362	0,0	363	

Изъ таблицы видно, что количества тростниковаго сахара, инвертированнаго въ продолженіе 24 часовъ при 0° колеблются при повтореніяхъ опыта въ широ-

кихъ предѣлахъ. Замѣчательно, что подѣ вліяніемъ меньшаго количества фермента иногда инвертировано больше, чѣмъ подѣ вліяніемъ большаго; послѣднее явленіе не наступаетъ всегда при однихъ и тѣхъ-же количествахъ инвертина, вслѣдствіе чего эти условія реакціи для установленія силы дѣйствія различныхъ количествъ фермента, являются еще менѣе цѣлесообразными.

Такъ какъ при выше изложенныхъ опытахъ время дѣйствія инвертина было довольно продолжительно и реакція совершалась въ стеклянкахъ изъ обыкновеннаго, легкоплавкаго стекла, то можно было предполагать, что колебанія количествъ гидролизованнаго сахара при повтореніяхъ опыта были обусловлены ускоряющимъ или замедляющимъ вліяніемъ стекла на реакцію инвертина. Mylius¹⁾ доказалъ, что изъ легкоплавкаго натріеваго стекла, изъ котораго изготовлены обыкновенные лабораторные приборы, водою постоянно выщелачивается ѣдкая щелочь. Fernbach²⁾ констатировалъ, что присутствіе минимальныхъ количествъ ѣдкаго натра значительно понижаетъ скорость инверсіи подѣ вліяніемъ инвертина, полученнаго изъ мицелія *Aspergillus niger*.

Въ ниже слѣдующей таблицѣ видно, что содержаніе 0,001 грм. молекулы ѣдкаго натра на литръ реакционной жидкости понижаетъ скорость инверсіи болѣе чѣмъ на половину. Особенно сильнымъ является вредное вліяніе этого незначительнаго содержанія ѣдкаго натра на малыя количества инвертина.

Слишкомъ колеблющіеся результаты, полученные при повтореніяхъ выше приведенныхъ опытовъ, можно такимъ образомъ объяснить вліяніемъ мѣняющихся ко-

1) Mylius, Berliner Ber. 22 Abt. I, S. 310.

2) Fernbach, loco cit.

личеством жидкой щелочи, извлекаемой из стенок стеклянок, на силу действия инвертина. Для устранения этого влияния при следующих опытах были употреблены стеклянки, покрытые изнутри парафином. Кроме того реакция совершалась при более высокой температуре (30°) и время действия инвертина было сравнительно непродолжительное (3 часа). Результаты этой серии опытов сопоставлены в следующих таблицах.

Что причиной неправильной интенсивности действия инвертина при повторениях опыта в самом деле является соприкосновение реакционной жидкости со стеклом сосудов, видно из результатов ряда параллельных опытов, при которых реакция совершалась в стеклянках, не покрытых парафином. (См. следущ. табл. В.).

Так как указанные в таблице количества соляной кислоты сами по себе при упомянутых условиях реакции в течение 3 часов вызвали уменьшение угла правого вращения реакционной смеси, а именно 0,001 грм. молекулы на 2 минуты и 0,010 грм. молекулы на 13 минут, то это уменьшение соблюдалось при установлении углов вращения обозначенных в таблицах α , так что отмечены углы вращения раствора тростникового сахара каковыми они сдвинулись после 3 часового действия инвертина. Присутствие 0,0002 грм. молекулы HCl как и 0,001 грм. молекулы NaOH на литр не обнаруживало уменьшения правого вращения сахарного раствора в продолжение 3 часов.

Разсматривая приведенные таблицы, находим что в тех случаях, где реакция совершалась в стеклянках покрытых парафином, количества гидролизованного сахара варьируют при повторениях опыта

Таблица В.

Температура 30,0°; время действия — 3 часа.

В стеклянках, покрытых парафином.

Безъ прибавленія HCl и NaOH.						Съ прибавленіемъ HCl, въ количествѣ 0,001 грм.-молек. на литръ.						
Кол-во инвертина.	а	у	а	у	а	у	а	у	а	у	а	у
25,0	184	37,57	227	28,55	185	37,36	125	49,96	133	48,28	133	48,28
12,5	243	25,20	265	20,57	284	14,48	181	38,20	200	34,21	191	36,10
6,25	302	12,80	321	8,81	331	6,72	—	—	231	27,71	235	26,87
3,12	331	6,09	345	3,78	346	3,57	225	28,97	271	16,58	274	18,68
1,56	342	4,40	354	1,89	353	2,10	321	8,81	317	9,65	319	9,23
0,78	349	2,94	357	1,26	355	1,68	343	4,20	343	4,20	341	4,62
0,39	358	1,05	361	0,42	363	0,0	354	1,89	352	2,31	352	2,31
0,195	362	0,21	362	0,21	363	0,0	356	1,47	359	0,84	357	1,26
0,097	363	0,0	363	0,0	363	0,0	363	0,0	363	0,0	360	0,63

Съ прибавленіемъ HCl въ количествѣ 0,0002 грм.-молек. на литръ.						Съ прибавл. HCl, въ количествѣ 0,01 грм.-молек. на литръ.						Съ прибавл. NaOH в кол-вѣ 0,001 грм.-молек. на литръ.	
	†		†		†	†					†		†
25,0	189	36,52	208	32,54	200	34,21	113	52,47			303	12,60	
12,0	252	23,30	216	30,86	235	26,87	270	19,52			315	10,07	
6,25	295	14,27	170	19,52	306	11,96	331	6,71			359	0,84	
3,12	324	8,18	333	6,30	326	7,76	351	2,52			361	0,42	
1,59	346	3,57	348	3,15	348	3,15	358	1,05			362	0,21	
0,78	353	2,10	353	2,10	352	2,31	360	0,93			363	0,0	
0,39	356	1,47	356	1,47	355	1,68	363	0,0			363	0,0	
0,195	359	0,84	359	0,84	359	0,84	363	0,0			363	0,0	
0,097	361	0,42	361	0,42	362	0,21	363	0,0			363	0,0	

В обыкновенных стеклянках не покрытых парафином.

Без прибавления HCl и NaOH.

	+		+		+	
25,0	236	26,66	305	10,91	218	30,43
12,5	266	20,36	337	5,45	298	13,64
6,25	310	11,11	325	8,00	321	8,80
3,12	348	3,14	354	1,93	349	2,94
1,56	353	2,10	355	1,67	353	2,10
0,78	359	0,84	362	0,21	356	1,47
0,39	360	0,63	363	0,0	362	0,21
0,095	363	0,0	363	0,0	362	0,21
0,097	363	0,0	363	0,0	363	0,0

въ гораздо меньшемъ размѣрѣ, чѣмъ при опытахъ, произведенныхъ въ стеклянкахъ непокрытыхъ. Правильность результатовъ еще болѣе повышается прибавленіемъ къ реакціонной жидкости соляной кислоты въ концентраціи 0,001 грм. resp. 0,0002 грм. молекулы на литръ. Кромѣ того при опытахъ произведенныхъ въ стеклянкахъ покрытыхъ парафиномъ не появляется ненормальности, состоящая въ томъ, что подѣ влияніемъ меньшаго количества инвертина было разложено больше сахара, чѣмъ подѣ влияніемъ большаго. Далѣе результаты этой серіи опытовъ даютъ намъ ясную картину зависимости вліянія кислотъ на скорость инверсіи подѣ влияніемъ инвертина отъ отношенія между количествами присутствующаго въ растворѣ фермента и прибавленной кислоты. Вліяніе одинаковыхъ количествъ соляной кислоты на растворы инвертина, различной концентраціи, весьма различно. Изъ таблицы видно, что прибавленіемъ 0,010 грм. молекулы соляной кислоты на литръ реакціонной смѣси скорость инверсіи подѣ влияніемъ большихъ количествъ инвертина значительно повышается; при инверсіи подѣ влияніемъ малыхъ же количествъ появляется, напротивъ, пониженіе скорости реакціи. Прибавленіе въ десять разъ меньшаго количества (0,001 грм. молекулы на литръ) соляной кислоты ускоряетъ инверсію подѣ влияніемъ малыхъ количествъ инвертина гораздо сильнѣе, чѣмъ подѣ влияніемъ большихъ. Присутствіе ѣдкаго натра сильно понижаетъ скорость реакціи инвертина уже въ концентраціи 0,001 грм. молекулы на литръ, особенно при малыхъ количествахъ фермента.

Употребленіе покрытыхъ парафиномъ стеклянокъ при опытахъ установленія количества тростниковаго

сахара, инвертированнаго подѣ вліяніемъ мѣняющихся количествъ инвертина, соотвѣтствовало бы достиженію желаемой цѣли, такъ какъ колебанія результатовъ при повтореніяхъ опытовъ не очень велики, особенно въ тѣхъ случаяхъ, гдѣ къ реакціонной жидкости прибавлена была соляная кислота въ концентраціи 0,001 грм. молекулы на литръ. Но такъ какъ послѣ каждого опыта стеклянки должны были быть промыты и снова стерилизованы и высушены, то понятно, что и надобность покрытія ихъ парафиномъ повторялась послѣ каждого отдѣльнаго опыта, а это подготовленіе стеклянокъ требовало много времени и устраненіе инфекции изъ воздуха при покрытіи парафиномъ было очень трудно исполнимо. Кромѣ того соприкосновеніе реакціонной жидкости съ парафиномъ не было желательно, потому что послѣдній, или его примѣси, могли бы вліять на интенсивность дѣйствія инвертина. Чтобы не терять времени съ подготовкою покрытыхъ парафиномъ стеклянокъ и для избѣженія возможнаго вліянія парафина на дѣйствіе инвертина, приготовлены были изъ трубокъ тугоплавкаго калійнаго стекла особыя стеклянки съ притертыми пробками, имѣющія форму пробирокъ съ расширенной нижней частью, длиною приблизительно 18 см. При употребленіи такихъ сосудовъ реакціонная жидкость помѣщалась довольно глубоко въ ванну термостата, вслѣдствіе чего были менѣе доступны температурнымъ колебаніямъ, которыя обыкновенно наблюдались въ болѣе поверхностныхъ слояхъ ванны. Передъ употребленіемъ эти стеклянки выщелачивались холодною водою въ продолженіе недѣли, потомъ выщелачиваніе пополнялось дѣйствіемъ водяного пара въ продолженіе 2 часовъ; послѣ сушенія онѣ нагрѣты были до крас-

наго каленія. Исслѣдованіе по методу Mylius'a¹⁾ показало, что обработанныя вышеупомянутымъ образомъ стеклянки не отщепляютъ ѣдкой щелочи; бурожелтая флуоресцирующая окраска раствора іодэозина въ содержащемъ воду эфирѣ, которымъ нѣкоторыя изъ стеклянокъ были наполнены, не измѣнилась даже по истеченіи 24 часовъ, между тѣмъ какъ въ обыкновенныхъ стеклянкахъ, которыя были употреблены при выше приведенныхъ опытахъ, этотъ растворъ окрашивался въ розово-красный цвѣтъ уже по истеченіи 15 минутъ. Послѣ исполненія нѣсколькихъ опытовъ стеклянки отъ времени до времени снова были исслѣдованы на присутствіе растворимой въ водѣ щелочи; во всѣхъ случаяхъ онѣ оказывались въ этомъ отношеніи неизмѣненными. Такъ какъ продажный іодэозинъ для вышеупомянутаго контроля стеклянокъ оказался не пригоднымъ, потому что содержалъ малыя количества солей этой кислоты; вслѣдствіе чего растворъ его въ воду содержащемъ эфирѣ самъ по себѣ былъ окрашенъ въ розовый цвѣтъ, то приступлено было къ полученію чистого іодэозина. Съ этой цѣлью эритрозинъ (Erythrosin — Farbwerke von Meister, Lucius u. Brüning, Höchst a./M.) обрабатывался теплою разведенною сѣрною кислотою; нерастворимый въ сѣрной кислотѣ остатокъ собирался на фильтрѣ и тщательно промывался приблизительно 0,05% растворомъ сѣрной кислоты и наконецъ высушивался при 100°.

Послѣ растиранія въ фарфоровой ступкѣ масса извлекалась безводнымъ эфиромъ, вытяжка собрана была въ платиновой чашкѣ и эфиръ удаленъ выпариваніемъ. Остатокъ былъ обработанъ 0,05% сѣрною кислотою,

1) Mylius, loc. cit.

высушенъ и снова извлеченъ безводнымъ эфиромъ; послѣ удаленія эфира получился іодэозинъ, растворъ котораго въ насыщенномъ водою эфирѣ, приготовленный въ платиновомъ сосудѣ, имѣлъ буровато-желтую флуоресцирующую окраску; отъ прибавленія самыхъ незначительныхъ слѣдовъ ѣдкаго натра онъ принималъ розово-красную окраску. При выполненіи пробы Mylius'a примененъ былъ растворъ этого іодэозина въ безводномъ эфирѣ. Запасъ раствора хранился въ платиновомъ сосудѣ. Исслѣдованіе на растворимую щелочь было произведено такимъ образомъ, что стлянки наполнялись до $\frac{3}{4}$ насыщеннымъ водою эфиромъ, а потомъ прибавлено было нѣсколько капель выше упомятаго раствора іодэозина. Всѣ ниже слѣдующіе опыты произведены въ стеклянкахъ, обработанныхъ выше упомянутымъ образомъ, но съ другимъ препаратомъ инвертина, который полученъ былъ такимъ же способомъ какъ и тотъ, съ которымъ произведены были описанные до сихъ поръ во II главѣ опыты. Препаратъ инвертина, который применялся при ниже слѣдующихъ исслѣдованіяхъ, употреблялся и въ опытахъ, изложеннымъ въ главѣ I.

Для установленія кривой гидролизованнаго сахара въ зависимости отъ количествъ инвертина, къ 8,0 куб. см. стерилизованнаго сахарнаго раствора, предварительно нагрѣтаго до 30°, содержащаго приблизительно 2,0 грм. продажнаго рафинада, прибавлено было 2,0 куб. см. раствора, содержащаго указанная въ слѣдующей таблицѣ количества инвертина (въ миллиграммахъ) и смѣси держались 3 часа при 30°, потомъ разбавлены были 10,0 куб. см. 0,4% раствора сулемы, и послѣ фильтрованія опредѣленъ былъ уголъ вращенія жид-

кости при 20° въ трубкѣ въ 200 мм. длиною. Сахарные растворы были при всѣхъ опытахъ такой концентрации, чтобы уголъ вращенія смѣси 8,0 куб. см. послѣднихъ +2,0 куб. см. воды +10,0 куб. см. 0,4% раствора сулемы равнялся +816', по которому уголъ вращенія послѣ полной инверсии всего присутствующаго сахара исчисляется въ —258,6'. Исходный растворъ инвертина, разбавленіемъ котораго получены были количества фермента ниже 50 миллигр., послѣ тщательнаго растворенія фермента оставленъ былъ на 14 часовъ въ погребѣ при температурѣ приблизительно 5°, для отстоянія нерастворенныхъ частей, такъ что примѣненъ былъ прозрачный растворъ. Приготовленіе раствора производилось въ стеклянкахъ, не выдѣляющихъ щелочи. Всѣ приборы, соприкасающіеся съ реакціонными жидкостями до прибавленія раствора сулемы, были стерилизованы. Результаты этого ряда опытовъ сопоставлены въ слѣдующей таблицѣ; у° обозначены среднія для количествъ разложеннаго сахара у въ процентахъ первоначальнаго изъ всѣхъ четырехъ опытовъ.

Температура — 30,0, время дѣйствія — 3 часа

Колич. инвер- тина	а		у		а		у		а		у		а		у		у°
50,0	—	39	79,58	—	19	77,70	—	31	78,82	—	21	77,89	—	21	77,89	—	78,50
25,0	+	252	52,54	+	309	47,18	+	263	51,46	+	327	45,50	+	327	45,50	+	49,17
12,5		533	26,31		589	21,12		579	22,05		563	23,54		563	23,54		23,25
6,25		724	8,53		715	9,40		742	6,88		730	8,00		730	8,00		8,20
3,12		705	10,30		709	9,95		735	7,53		715	9,39		715	9,39		9,29
1,56		789	2,53		784	2,96		785	2,88		780	3,34		780	3,34		2,93
0,78		804	1,08		802	1,30		799	1,58		796	1,85		796	1,85		1,45
0,39		806	0,94		805	1,02		809	0,66		798	1,67		798	1,67		1,07
0,195		811	0,46		806	0,93		811	0,46		802	1,30		802	1,30		0,79
0,097		—	—		816	0,0		813	0,28		808	0,74		808	0,74		0,34

Количества инвертированнаго сахара при повтореніяхъ опыта, какъ изъ таблицы видно, варьируютъ

здѣсь въ довольно малыхъ размѣрахъ; колебанія результатовъ при этихъ условіяхъ реакціи по крайней мѣрѣ гораздо меньше, чѣмъ при раньше описанныхъ опытахъ. Болѣе сильныя отклоненія при малыхъ количествахъ инвертина обусловливаются вліяніемъ возможныхъ ошибокъ поляристрометрическаго измѣренія. Явленіе, что подъ вліяніемъ 6,5 миллигрм. инвертина разложено меньше сахара, чѣмъ подъ дѣйствіемъ 3,12 миллигрм., повторяется при каждомъ отдѣльномъ опытѣ. Эту особенность можно объяснить тѣмъ, что ускореніе инверсии подъ вліяніемъ 3,12 миллигрм. инвертина отъ количествъ кислоты, образующейся въ теченіе реакціи въ продолженіе 3 первыхъ часовъ, превышаетъ пониженіе скорости инверсии уменьшеніемъ количества инвертина отъ 6,5 миллигрм до 3,12 миллигрм.

Такъ какъ по результатамъ этихъ опытовъ количество дѣйствующаго инвертина представляетъ извѣстную, опредѣленную функцію гидролизованнаго тростниковаго сахара, то помощью графической интерполяціи количествъ разложеннаго при указанныхъ условіяхъ реакціи тростниковаго сахара, въ зависимости отъ количествъ инвертина, можно опредѣлить количество дѣйствующаго инвертина въ любомъ растворѣ, концентрація котораго не превышаетъ 50 миллигр. дѣйствующаго фермента въ 2,0 куб. см. Зная первоначальную концентрацію дѣйствующаго инвертина какого-нибудь раствора, не трудно опредѣлить въ немъ, выше упомянутымъ способомъ, количество потерявшаго дѣйствіе подъ какими бы то не было условіями реакціи разложенія на недѣйствующія вещества.

Для изслѣдованія хода реакціи потери дѣйствія инвертина я поступалъ слѣдующимъ образомъ: 2,5 %

растворъ инвертина, освобожденный отстаиваніемъ при 4°—5°, въ продолженіе 14 часовъ отъ нерастворимыхъ частей, быстро нагрѣвался до комнатной температуры, послѣ чего вливался въ сухую стерилизованную стеклянку, заранее помѣщенную въ термостатъ для нагрѣванія до указанныхъ въ слѣдующихъ таблицахъ температуръ. Для того, чтобы ускорить нагрѣваніе ферментнаго раствора до температуры термостата, стеклянка слегка взбалтывалась въ продолженіе нѣсколькихъ минутъ, безъ выниманія ея изъ ванны. Растворъ инвертина былъ приготовленъ и выставленъ при указанныхъ температурахъ въ стеклянкахъ, не выдѣляющихъ щелочи. По истеченіи времени t (въ минутахъ) 2,0 куб. см. его прибавлены были къ 8,0 куб. см. раствора тростниковаго сахара выше упомянутой концентрации, нагрѣтаго въ другомъ термостатѣ до 30°. Послѣ трехъ часового дѣйствія инвертина при 30° реакція прекращалась прибавленіемъ 10,0 куб. см. 0,4 % раствора сулемы и поляристрометрическимъ путемъ опредѣлялось количество гидролизованнаго сахара y въ процентахъ первоначальнаго. Помощью выше описанной графической интерполяціи установлено было абсолютное количество дѣйствующаго инвертина въ 2,0 куб. см. изслѣдуемаго раствора какъ функція разложеннаго сахара. Коэффициентъ скорости разложенія инвертина исчислялся по уравненію мономолекулярныхъ реакцій $r = \frac{1}{t} \log. \frac{A}{A-x}$, гдѣ черезъ A обозначено первоначальное количество дѣйствующаго инвертина въ 2,0 куб. см. и черезъ $A-x$ количество его по истеченіи времени нагрѣванія t ; x такимъ образомъ обозначаетъ количество инвертина, сдѣлавшагося неѣйствующимъ въ теченіе времени t . При всѣхъ опытахъ изслѣдованія хода

реакціи разложенія первоначальное количество дѣйствующаго инвертина равнялось 50 миллиграммамъ, такъ какъ $\frac{2.5}{100} \cdot 2 = 0,050$ грм. Результаты этихъ опытовъ сопоставлены въ слѣдующихъ таблицахъ (стр. 80).

При разсмотрѣніи этихъ таблицъ оказывается, что коэффициентъ скорости реакціи разложенія инвертина на неѣйствующие продукты при 52° въ теченіе первыхъ 10 минутъ остается довольно постояннымъ; далѣе начинается, повидимому, пониженіе коэффициента; въ продолженіе 10 минутъ 75,5 % всего присутствующаго инвертина сдѣлались неѣйствующими. Въ началѣ реакція совершается съ пониженною скоростью вслѣдствіе того, что моментальное нагрѣваніе раствора фермента до указанныхъ температуръ не было возможно; полное равенство между температурами ферментнаго раствора и ванны термостата достигалось лишь по истеченіи 2—3 минутъ. При 48°, 45° и въ большинствѣ случаевъ при 50° коэффициентъ скорости разложенія понижается въ теченіе реакціи. По непостоянству коэффициента скорости можно заключить, что и при реакціи разложенія инвертина, какъ и при разложеніи эмульсина, количество фермента, сдѣлавшагося въ теченіе единицы времени при постоянной температурѣ неѣйствующимъ, не представляетъ функцію одной только концентрации дѣйствующаго инвертина, но кромѣ того еще функцію нѣкоторыхъ другихъ переменныхъ, установленіе которыхъ крайне желательно. Законъ хода разложенія ферментовъ на неѣйствующие продукты такимъ образомъ, по всей вѣроятности, сложнѣе закона мономолекулярныхъ реакцій.

Такъ какъ растворъ изслѣдованнаго инвертина оказался слабо щелочнымъ (индикаторъ — азолитминъ) и

кислотъ, для полученія количествъ фермента, меньшихъ 50 мгрм., разбавлялся водою, растворъ инвертина въ $\frac{1}{100}$ норм. соляной кислотъ съ этой цѣлью разбавленъ былъ $\frac{1}{200}$ нормальнымъ растворомъ соляной кислоты. Результаты упомянутыхъ опытовъ видны изъ слѣдующей таблицы. (Смотри стр. 82.)

Результаты этого ряда опытовъ снова показываютъ, что интенсивность усиленія дѣйствія инвертина отъ прибавленія одинаковыхъ количествъ соляной кислоты въ высшей степени зависитъ отъ количества присутствующаго въ растворѣ фермента. Это особенно ясно видно при сравненіи среднихъ (y^0) для количествъ гидролизованнаго сахара: повышеніемъ количества прибавленной къ ферментному раствору соляной кислоты отъ 0,0005 грм. молекулы на 0,001 грм. молекулы HCl на литръ, количество сахара, разложеннаго въ теченіе 3 часовъ при 30° при реакціи подъ вліяніемъ 50 миллиграммовъ инвертина въ 10,0 куб. см. реакціонной смѣси, очень мало увеличилось, между тѣмъ какъ при инверсіи подъ вліяніемъ 6,25—0,78 миллигрм. инвертина повышение этого количества превышаетъ 100%. При нижеслѣдующихъ опредѣленіяхъ хода реакціи разложенія инвертина, для установленія количествъ фермента, остающагося дѣйствующимъ, примѣнена была графическая интерполяція среднихъ (y^6) для количествъ разложеннаго сахара, въ зависимости отъ количествъ инвертина, изъ трехъ, resp. изъ обоихъ опытовъ.

Опыты надъ изслѣдованіемъ хода реакціи потери дѣйствія инвертина, раствореннаго въ $\frac{1}{200}$ resp. $\frac{1}{100}$ норм. соляной кислотъ, произведены были по вышеописанному способу (см. стр. 78) и результаты ихъ сопоставлены въ слѣдующихъ таблицахъ.

Температура 30,0°; время дѣйствія 3 часа.

Количество инвертина.	Инвертинъ растворенъ въ $\frac{1}{200}$ норм. HCl.						Инвертинъ растворенъ въ $\frac{1}{100}$ норм. HCl.					
	a	y	a	y	a	y	a	y	a	y	a	y
50,0	— 90	84,3	— 89	84,2	— 95	84,8	84,4	— 89	84,3	— 110	86,2	85,2
25,0	+ 180	59,2	+ 192	58,0	+ 196	57,7	58,3	+ 123	64,4	+ 92	67,4	65,9
12,5	468	32,4	505	28,9	490	30,3	30,5	270	50,8	254	52,8	51,8
6,25	659	14,6	678	12,8	627	17,6	15,0	462	32,9	446	34,4	33,7
3,12	736	7,4	739	6,2	746	6,5	6,7	648	15,6	636	16,7	16,2
1,56	754	6,0	762	5,0	769	4,3	5,1	741	7,0	727	8,3	6,6
0,78	801	1,3	799	1,3	789	2,5	1,7	766	4,6	—	—	4,6
0,39	804	1,1	807	0,8	809	0,6	0,86	793	2,1	797	1,8	2,0
0,195	816	0,0	812	0,4	812	0,4	0,25	814	0,18	913	0,28	0,23

При сравненіи коэффициентовъ скорости γ въ этихъ таблицахъ съ таковыми при опытахъ, гдѣ инвертинъ растворенъ былъ въ водѣ безъ прибавленія соляной кислоты (см. стр. 80) оказывается, что по мѣрѣ прибавленія слабаго раствора соляной кислоты скорость разложенія инвертина въ большемъ или меньшемъ размѣрѣ понижается. Такъ, на примѣръ, въ отсутствіи соляной кислоты въ продолженіе 30 минутъ при 52° разложено почти все присутствующее количество дѣйствующаго инвертина, а по истеченіи 60 минутъ при 52° 2 куб. см. 2,5% раствора инвертина, прибавленнаго къ 8,0 куб. см. сахарнаго раствора, не обнаруживаютъ дѣйствія при 30° даже въ продолженіе 3 часовъ. Если же инвертинъ растворенъ былъ въ $\frac{1}{200}$ норм. HCl, то оказывается, что при выставленіи раствора при 52° по истеченіи 60 минутъ въ 2,0 куб. см. послѣдняго остались дѣйствующими еще 5,2 миллиграмм. или 10,4% первоначальнаго количества дѣйствующаго инвертина. Скорость разложенія инвертина, раствореннаго въ $\frac{1}{100}$ норм. HCl, при 50° и 55° гораздо меньше чѣмъ въ такихъ случаяхъ, гдѣ ферментъ растворенъ былъ въ $\frac{1}{200}$ норм. HCl. Графическое изображеніе хода разложенія инвертина на недѣйствующие продукты въ присутствіи и отсутствіи соляной кислоты при различныхъ температурахъ (табл. I фиг. 4) даетъ наглядную картину вліянія соляной кислоты на скорость этой реакціи. Для этой цѣли избраны результаты опытовъ № 2, 6, 8, 9, 10, 11, 13, 14 и 15. Непрерывныя линіи изображаютъ ходъ реакціи въ растворѣ безъ прибавленія кислоты; прерванныя линіи — ходъ разрушенія фермента, раствореннаго въ $\frac{1}{200}$ норм. HCl, а линіи, состоящія изъ чертъ и точекъ, показываютъ ходъ потери дѣйствія

Инвертинъ растворенъ въ $\frac{1}{200}$ норм. HCl.

Температура 55,0°.				Температура 52,0°.				Температура 50,0°.			
№ 10.				№ 11.				№ 12.			
t	y	A—x	γ	t	y	A—x	γ	t	y	A—x	γ
2	74,2	37,0	0,0653	2	79,1	44,75	0,0241	3	80,6	46,5	0,0105
5	40,75	27,0	0,0533	5	71,8	34,6	0,0320	8	74,0	36,8	0,0166
8	22,60	9,2	0,0919	10	56,6	24,2	0,0315	15	64,7	28,9	0,0159
13	9,20	4,1	0,0835	15	49,5	20,95	0,0252	25	58,0	24,9	0,0121
18	3,6	1,0	0,0835	25	37,2	15,4	0,0204	45	47,4	20,0	0,0088
28	0,56	0,2	0,0856	40	24,4	10,15	0,0175	75	36,9	15,2	0,0069
48	0,0	0,0	0,0000	60	12,2	5,2	0,0147	120	23,3	9,5	0,0060
				90	4,56	1,2	0,0180	190	10,6	4,6	0,00545

Инвертинъ растворенъ въ $\frac{1}{100}$ норм. HCl.

Температура 55,0°.				Температура 50,0°.			
№ 14.				№ 15.			
t	y	A—x	γ	t	y	A—x	γ
5	69,0	27,4	0,0522	10	82,0	47,0	0,0027
10	53,8	13,5	0,0568	25	76,0	36,2	0,0056
15	39,4	7,9	0,0534	40	73,1	32,3	0,0047
25	24,1	4,4	0,0422	60	70,4	29,2	0,0039
40	11,1	2,3	0,0334	120	59,3	17,8	0,0037
60	3,8	0,6	0,0320	270	39,4	8,0	0,0029

раствора инвертина въ $\frac{1}{100}$ норм. HCl. Изъ диаграммы видно, что отъ повышенія содержанія соляной кислоты въ растворъ инвертина повышается замедленіе реакціи разложенія.

Благопріятное вліяніе разведенныхъ кислотъ на скорость инверсіи подъ вліяніемъ инвертина слагается такимъ образомъ изъ двухъ факторовъ: 1) присутствіе ихъ повышаетъ гидролитическое дѣйствіе инвертина и 2) понижаетъ скорость его разложенія на недѣйствующие продукты. Последний фактъ противорѣчитъ отчасти результатамъ опытовъ Fernbach'a¹⁾. Этотъ авторъ наблюдалъ, что экстрактъ мицелія *Aspergillus niger*, слабо подкисленный уксусной кислотой, подъ вліяніемъ воздуха и солнечныхъ лучей гораздо быстрее теряетъ силу дѣйствія, чѣмъ въ тѣхъ случаяхъ, гдѣ онъ былъ нейтральной или слабощелочной реакціи; въ темнотѣ, напротивъ, подкисленный растворъ инвертина изъ *Aspergillus niger* теряетъ значительно медленнѣе свое дѣйствіе, чѣмъ въ нейтральномъ и слабощелочномъ растворѣ.

Такъ какъ при моихъ опытахъ надъ изслѣдованіемъ хода реакціи разложенія дрожжевого инвертина, раствореннаго въ водѣ resp. слабой соляной кислотѣ, растворъ фермента во время нагреванія не былъ предохраненъ отъ доступа воздуха и солнечнаго свѣта, то наблюденная Fernbach'омъ зависимость скорости разложенія отъ свѣта и отъ присутствія свободной уксусной кислоты относится лишь къ инвертину, полученному изъ плѣсневого грибка *Aspergillus niger* и къ уксусной кислотѣ.

Скорость реакціи разложенія инвертина понижается прибавленіемъ къ раствору не только кислотъ, но, по

1) Fernbach loc. cit.

всей вѣроятности, и отъ присутствія въ растворѣ нѣкоторыхъ другихъ веществъ. Mayer¹⁾, на примѣръ, наблюдалъ, что растворъ инвертина, разбавленный 50% глицерина, оказывается менѣе чувствительнымъ къ нагреванію, чѣмъ въ отсутствіи этой примѣси. O'Sullivan et Thompson²⁾ констатировали, что при быстромъ нагреваніи раствора инвертина, не содержащаго тростниковаго сахара, по достиженіи 55° все присутствующее количество инвертина сдѣлалось недѣйствующимъ, между тѣмъ какъ растворъ такой же концентрации, содержащій тростниковый сахаръ, по достиженіи упомянутой температуры не обнаруживалъ ослабленія дѣйствія; разложеніе всего количества инвертина въ такомъ случаѣ достигнуто было лишь послѣ нагреванія до 75°.

Изъ результатовъ моихъ изслѣдованій хода инверсіи (см. стр. 41) видно, что при 53° въ присутствіи тростниковаго сахара часть инвертина сохранила свое дѣйствіе даже по истеченіи 20 часовъ. Выставляя 2,5% растворъ инвертина безъ примѣси сахара при 52° мы видимъ, что въ теченіе часа все присутствующее количество фермента сдѣлалось недѣйствующимъ. Присутствіе тростниковаго сахара, какъ видно, понижаетъ скорость реакціи разложенія инвертина въ водномъ растворѣ.

То явленіе, что вещество разлагаемое подъ вліяніемъ фермента предохраняется, такъ сказать, ферментъ отъ разрушенія, свойственно не только инвертину, но, сколько можно судить по литературнымъ даннымъ, представляетъ общую особенность всѣхъ болѣе подробно изслѣдованныхъ ферментовъ³⁾.

1) Mayer, Jahrbuch f. Thierchemie IX p. 449.

2) O'Sullivan et Thompson loc. cit.

3) Duclaux loc. cit. p. 186.

Изъ обѣихъ послѣднихъ таблицъ (опыты 11—15) видно, что коэффициентъ r скорости реакціи разложенія инвертина понижается въ теченіе реакціи и въ такихъ случаяхъ, гдѣ растворъ фермента былъ нейтральной геср. слабокислой реакціи и пониженіе коэффициента r при 52 и 50° больше, чѣмъ при 55°. Такъ какъ въ теченіе времени наблюденія хода разложенія фермента нейтральная геср. слабокислая реакція растворовъ не измѣнялась, то вышеупомянутое предположеніе, что пониженіе коэффициента скорости реакціи можно было бы разсматривать какъ слѣдствіе вліянія примѣси веществъ основного характера на ферментъ, не соглашается съ фактомъ. Причиною отклоненія хода реакціи разложенія инвертина отъ правила мономолекулярныхъ реакцій являются такимъ образомъ нѣкоторые другіе факторы.

Имѣя въ виду, что изслѣдованный препаратъ инвертина кромѣ упомянутыхъ веществъ съ характеромъ оснований, могъ содержать еще другія примѣси, то осложненіе хода реакціи разложенія всетаки можно было бы объяснить вліяніемъ примѣсей на ферментъ. Положимъ, что въ реакціи разложенія инвертина на недѣйствующія вещества участвуютъ по одной молекулѣ фермента и какого-нибудь другого вещества, сопровождающаго изслѣдованный препаратъ, то ходъ ея долженъ былъ бы соотвѣтствовать уравненію бимолекулярныхъ реакцій $r = \frac{1}{t} \frac{x}{[A-x]A}$ ¹⁾, гдѣ черезъ A обозначено количество дѣйствующаго фермента въ единицѣ объема передъ началомъ реакціи, x —количество его, сдѣлавшагося недѣйствующимъ въ теченіе времени t и r — нѣкоторая постоянная. Исчисляя по этому уравненію

1) W. Nerust. Theoretische Chemie 1893 p. 446.

коэффициентъ r по результатамъ полученнымъ при опытахъ №№ 11, 12, 14 и 15 получаемъ слѣдующія числа.

№ 11		№ 12		№ 14		№ 15	
t	r	t	r	t	r	t	r
2	0,001178	3	0,000500	5	0,003300	10	0,0001276
5	0,001780	8	0,000897	10	0,005407	25	0,000305
10	0,002132	15	0,000970	15	0,007104	40	0,000274
15	0,001847	25	0,000800	25	0,008291	60	0,000249
25	0,001797	45	0,000666	40	0,010369	120	0,000301
40	0,001963	75	0,000610	60	0,026744	270	0,000389
60	0,002871	20	0,000710				
90	0,008900	140	0,001039				

Коэффициентъ скорости r , вычисленный для приведенныхъ опытовъ по уравненію бимолекулярныхъ реакцій, какъ видно, въ теченіе реакціи не остается постояннымъ, а это обстоятельство указываетъ на то, что разложеніе инвертина на недѣйствующія вещества не можетъ быть отнесено къ группѣ бимолекулярныхъ реакцій; механизмъ при разрушеніи инвертина является такимъ образомъ болѣе сложнымъ, чѣмъ при бимолекулярныхъ реакціяхъ. По van t'Haff'у ¹⁾ зависимость скорости реакціи при одинаковой температурѣ отъ концентраціи реагирующихъ тѣлъ даетъ возможность установить количество молекулъ, участвующихъ въ механизмѣ какой-нибудь химической реакціи. Обозначимъ черезъ $\left(\frac{dC}{dt}\right)_v$ скорость реакціи при концентраціи Cv , а черезъ $\left(\frac{dC}{dt}\right)_V$ скорость при концентраціи CV или, съ другими словами, скорости реакціи при объемахъ v и V , содержащихъ одинаковое абсолютное количество реагирующихъ веществъ. Имѣя въ виду,

1) Van t'Haff, Vorlesungen über theor. u. physikal. Chemie, 1898, p. 194.

что концентрація обратно пропорціональна об'єму, van t'Hoff пропонує наступне рівняння для встановлення числа молекул, входять в механізм досліджуваної реакції:

$$n = \frac{\log \left(\frac{dC}{dt} \right) v - \log \left(\frac{dC}{dt} \right) V}{\log Cv - \log CV}$$

Перед тим як перейти до опису експериментів, що стосуються дослідження ходу реакції розкладання інвертина в розчинах різної концентрації, потрібно згадати, що відносно залежності швидкості розкладання від концентрації інвертина в літературі зустрічаються протирічливі дані. Між тим як Mayer¹⁾ спостерігав, що «температура зупинки» інвертина, отриманого з дріжджів, з збільшенням концентрації розчину підвищується, вказує Effront²⁾, що сильно розбавлені розчини, виставлені при 52° в продовження небагато годин, не виявляють зниження інтенсивності дії. В концентрованих же розчинах відбувається при 52° значне зниження сили дії фермента. Залежність швидкості втрати дії від концентрації Effront пояснює тим, що концентровані розчини фермента містять більше примісей, які шкідливо впливають на останній.

Для розв'язання питання про кількість молекул, що беруть участь в реакції розкладання інвертина в водному розчині на неактивні речовини, було зроблено наступний експеримент: 5% розчин інвертина в 1/100 нормальний HCl, приготований вищеописаним

1) A. Mayer, loc. cit.

2) Effront, loc. cit. p. 62.

образом, розділений був на дві половини, з яких одна поміщена була в суху склянку, попередньо нагріту в термостаті до 50°; позначимо цей розчин — I. Друга половина внесена була в склянку, що містить трікратний об'єм стерилізованої води, нагрітої в термостаті до 50°; позначимо цю суміш — II. Обидва розчини трималися в одному і тому ж термостаті при 50°.

По истечении времени t (в минутах) к 6,0 куб. см. раствора тростникового сахара, предварительно нагретого до 30°, содержащего приблизительно по 2,0 грм. рафинада, прибавлено было раствора I 1,0 куб. см., а раствора II 4,0 куб. см. Растворы сахара, содержащие ферментный раствор I, тотчас после прибавления последнего разбавлены были 3,0 куб. см. стерилизованной воды, нагретой до 50°, так что инверсия при обоих параллельных опытах совершалась при одинаковых физических условиях. Раствор сахара был такой концентрации, чтобы угол вращения смеси 6,0 куб. см. последнего +4,0 куб. см. воды +10,0 куб. см. 0,4% раствора сулемы равнялся +816'. После трехчасового действия инвертина на тростниковый сахар при 30° реакционная смесь разбавлена была 10,0 куб. см. 0,4% раствора сулемы и поляристрометрическим путем определено было в них количество разложенного сахара u в процентах первоначального. Помощью выше изложенной графической интерполяции, соответствующей инвертину растворенному в 1/200 нормальн. HCl (стр. 82), установлено было количество действующего фермента в 1,0 куб. см. раствора I и 4,0 куб. см. раствора II, как функция количества гидролизованного сахара.

Результаты этихъ опытовъ сопоставлены въ слѣдующей таблицѣ.

Температура 50,0°.

Растворъ инвертина I.					Растворъ инвертина II.				
№ 16.					№ 17.				
t	y	A—x	x	r	t	y	A—x	x	r
5	80,1	44,0	6,0	0,0111	5	80,6	44,6	5,4	0,00993
15	72,7	35,6	14,4	0,0098	15	72,6	35,4	14,6	0,01000
35	65,1	29,2	20,8	0,0067	35	62,8	27,1	22,6	0,00716
80	55,4	23,6	26,4	0,0041	80	51,5	21,8	28,2	0,00450
120	50,8	21,5	28,5	0,0030					

Изъ таблицы видно, что абсолютныя количества инвертина x, сдѣлавшагося въ продолженіе одинаковаго времени недѣйствующимъ, въ 4 куб. см. раствора II равны количествамъ его въ 1,0 куб. см. раствора I; незначительныя отклоненія можно разсматривать какъ погрѣшности опыта. Въ одномъ куб. см. раствора II, концентрація котораго была въ четыре раза меньше концентраціи раствора I, въ теченіе того-же времени разложено въ четыре раза меньше инвертина, чѣмъ въ одномъ куб. см. раствора I. Слѣдовательно, скорость реакціи разложения инвертина на дѣйствующія вещества пропорціональна концентраціи раствора дѣйствующаго фермента. Этотъ фактъ достаточно ясно показываетъ, что реакція разрушенія инвертина относится къ группѣ мономолекулярныхъ реакцій.

Можно было предполагать, что пониженіе коэффициента скорости разложения въ теченіе реакціи обусловливается тѣмъ, что расщепленіе молекулъ инвертина сопровождается образованіемъ веществъ, присутствіе которыхъ понижаетъ скорость разложения. Очень возможно, что и изъ примѣсей фермента образуются

такія вещества. Изъ результатовъ предыдущихъ опытовъ видно, что присутствіе незначительныхъ количествъ соляной кислоты понижаетъ скорость разложения. Принимая, что изъ инвертина или его примѣсей въ водномъ растворѣ со временемъ образуются малыя количества какой нибудь кислоты, то пониженіе скорости въ теченіе реакціи дѣлается очень понятнымъ. Вслѣдствіе недостаточной чувствительности реактивовъ нѣтъ возможности экспериментальнымъ путемъ убѣдиться о вѣрности или невѣрности этого предположенія. Чувствительность азолитмина для открытія свободныхъ кислотъ очень велика, но въ присутствіи инвертина она въ высшей степени понижается, такъ что, за неимѣніемъ пригоднаго индикатора, изслѣдованіе растворовъ инвертина, выставленныхъ при повышенныхъ температурахъ, на образованіе въ нихъ кислоты казалось не исполнимымъ, вслѣдствіе чего и не было принято.

Пониженіе коэффициента скорости реакціи разложения инвертина можно было бы объяснить тѣмъ, что изслѣдованный препаратъ состоялъ изъ нѣсколькихъ ферментовъ, ускоряющихъ инверсію, но каждый изъ нихъ терялъ дѣйствіе съ различною скоростью. Для контроля этого предположенія произведены были слѣдующіе опыты: 2,5 % растворъ инвертина въ $\frac{1}{200}$ норм. HCl держался указанное въ слѣдующей таблицѣ время (t въ минутахъ) при 45°; по истеченіи этого времени опредѣлено было содержаніе дѣйствующаго фермента въ 2,0 куб. см., послѣ чего растворъ перенесенъ былъ въ стеклянку, помѣщенную въ термостатъ, нагрѣтый до 50° и опредѣлялась вышеизложеннымъ способомъ скорость разложения при 50°. Результаты этихъ опы-

товъ помѣщены въ слѣдующей таблицѣ, гдѣ A_1 надъ столбцами обозначаетъ количество дѣйствующаго фермента, найденное въ 2,0 куб. см. раствора послѣ выставленія при 45°. При опытѣ № 20 растворъ инвертина, послѣ выставленія при 45°, внесенъ былъ въ стеклянку, содержащую равный объемъ воды, предварительно нагрѣтой до 50°; отмѣченные количества фермента ($A-x$), оставшагося дѣйствующимъ по истеченіи времени t при 50°, относятся при опытѣ № 20 къ 4,0 куб. см. изслѣдуемаго раствора. (См. стр. 95.)

При сравненіи коэффициентовъ g при этихъ опытахъ съ таковыми для опытовъ № 12 и 13 оказывается, что предварительнымъ выставленіемъ раствора инвертина при 45° коэффициентъ g при 50° значительно понизился и сдѣлался почти постояннымъ. Это можно объяснить такимъ образомъ, что быстрѣе разлагающіяся части препарата фермента потеряли дѣйствіе уже при 45° въ продолженіе 60 resp. 90 минутъ, вслѣдствіе чего законъ мономолекулярныхъ реакцій для разложенія болѣе прочныхъ составныхъ частей изслѣдованнаго инвертина дѣлается яснѣе виднымъ. Сравненіе результатовъ опытовъ № 19 и 20 опять показываетъ, что скорость реакціи разложенія инвертина пропорціональна концентраціи раствора. Абсолютное количество фермента (x), потерявшаго дѣйствіе въ 2,0 куб. см. въ продолженіе 60 resp. 250 минутъ, при опытѣ № 19, гдѣ концентрація раствора была вдвое больше, чѣмъ при опытѣ № 20, очень близко подходитъ къ количеству инвертина, сдѣлавшагося въ теченіе того же времени недействующимъ въ 4,0 куб. см. при опытѣ № 20; разности объясняются ошибками полярискометрическаго измѣренія и неточностью

№ 20.

№ 19.

№ 18.

t при 45° = 60 мин.					t при 45° = 90 мин.					t при 45° = 90 мин.				
$A_1 = 36.2 \text{ мгр.}$					$A_1 = 35.7 \text{ мгр.}$					$A_1 = 36.8 \text{ мгр.}$				
$t_{\text{при } 50^\circ}$	y	$A-x$	x	g	$t_{\text{при } 50^\circ}$	y	$A-x$	x	g	$t_{\text{при } 50^\circ}$	y	$A-x$	x	g
10	69,4	32,4	3,8	0,0048	10	67,8	31,3	4,4	0,0057	10	67,4	31,0	5,8	0,00745
25	56,1	24,0	12,2	0,0071	25	58,0	24,9	10,8	0,0062	30	51,0	21,6	15,2	0,00771
40	49,0	20,7	15,5	0,0061	40	48,9	20,7	15,0	0,0059	60	33,2	13,6	23,2	0,00754
60	39,7	16,5	19,7	0,0057	60	39,9	16,6	21,1	0,0055	120	14,7	6,1	30,7	0,00640
85	30,9	12,7	23,5	0,0053	85	31,3	12,8	22,9	0,0052	250	2,3	0,8	36,0	0,00665
150	15,7	6,1	29,7	0,0049	150	16,3	6,8	28,9	0,0048					
250	5,4	1,7	34,5	0,0053	250	6,7	3,1	32,6	0,0043					

опредѣленія количествъ дѣйствующаго инвертина, какъ функціи гидролизованнаго сахара. Результаты настоящаго изслѣдованія приводятъ такимъ образомъ къ заключенію, что измѣненіе инвертина въ водномъ раствороѣ, послѣдствіемъ котораго является потеря способности фермента вліять на скорость инверсіи, протекаетъ какъ мономолекулярная реакція и отклоненіе хода этого измѣненія отъ закона мономолекулярныхъ реакцій вызывается, слѣдовательно, вліяніемъ причинъ второстепеннаго рода.

Остается еще рассмотреть отношеніе между увеличеніемъ скорости разложенія инвертина и повышеніемъ температуры. Какъ уже раньше упомянуто, скорость химическихъ реакцій представляетъ по van t'Hoff'у¹⁾ экспонентальную функцію температуры. Arrhenius²⁾ экспериментально доказалъ, что зависимость скорости реакцій отъ температуры можно выразить экспонентальнымъ уравненіемъ съ одною постоянною, которая имѣетъ нѣкоторое физическое значеніе, а именно: половина этой постоянной равняется количеству теплоты въ калоріяхъ, выделяющейся при расщепленіи одной грам. молекулы реагирующаго вещества.

Обозначая r_1 и r_0 коэффициенты скорости реакцій при абсолютныхъ температурахъ t_1 и t_0 , то есть, при температурахъ отъ -273^0 , то уравненіе

$$r_1 = r_0 e^{A(t_1 - t_0) : t_1 \cdot t_0}$$

даетъ зависимость скорости реакцій отъ температуры; e обозначаетъ основаніе натуральныхъ логарифмовъ.

1) Van t'Hoff. Etudes de dynamique chimique, Amsterdam 1884.

2) Arrhenius. Zeitschrift f. physik. Chemie IV, p. 227 — 1889.

Проф. Г. А. Тамманъ, какъ выше упомянуто, нашелъ, что зависимость скорости разложенія эмульсіи въ водномъ раствороѣ при температурахъ выше 60^0 выражается уравненіемъ, даннымъ Arrhenius'омъ; ниже 60^0 это уравненіе оказалось непримѣнимымъ.

На основаніи опытовъ № 2 и № 4 опредѣленія скорости разложенія инвертина, среднее значеніе для постоянной A равняется 45769. Принимая среднее коэффициентовъ скорости разложенія при опытѣ № 2 за $r_0 = 0,0629$ и сравнивая между собою величины r , вычисленныя по предыдущему уравненію и среднія изъ наблюденныхъ, мы получаемъ вполне удовлетворительное между ними согласіе, какъ это видно изъ слѣдующей таблицы.

№ опыта.	Температура.	r вычисл.	r наблюденный.	
2	52^0	0,0629	0,0629	
3	50^0	0,0263	0,0269	} въ сред-
4	50^0	0,0263	0,0263	
5	50^0	0,0263	0,0250	
6	50^0	0,0263	0,0272	
7	48^0	0,01088	0,0107	
8	45^0	0,00283	0,00356	} въ среднемъ
9	45^0	0,00283	0,00237	

Приведенное сравненіе коэффициентовъ скорости, полученныхъ вычисленіемъ и среднихъ изъ найденныхъ опытомъ, показываетъ, что зависимость скорости разложенія инвертина въ водномъ раствороѣ отъ температуры можно выразить уравненіемъ, даннымъ Arrhenius'омъ. Само собою понятно, что сказанное относится лишь къ температурному интервалу отъ 45^0 до 52^0 .

Выводы.

Резюмируя вкратцѣ результаты настоящаго изслѣдованія можно сдѣлать слѣдующіе выводы:

1) Противорѣчія, встрѣчающіяся въ литературѣ относительно хода инверсіи подѣ влияніемъ инвертина, являются слѣдствіемъ того, что разными изслѣдователями не было обращено вниманія на количество присутствующаго въ реакціонныхъ жидкостяхъ инвертина. Подѣ влияніемъ сравнительно большихъ количествъ фермента ходъ инверсіи при температурахъ ниже 50° близко подходитъ къ закону мономолекулярныхъ реакцій. По мѣрѣ того, какъ количество инвертина уменьшается, коэффициентъ скорости инверсіи въ теченіе реакціи все больше и больше возрастаетъ.

2) Повышеніе коэффициента скорости въ теченіе реакціи обусловливается образованіемъ какой-то неизвѣстной кислоты, количество которой во время реакціи прибываетъ.

3) Сильное повышеніе скорости инверсіи подѣ влияніемъ малыхъ количествъ инвертина въ теченіе реакціи зависитъ отъ того, что количества образующейся во время инверсіи кислоты очень незначительны. Вліяніе кислотъ на скорость реакціи инвертина въ высшей степени зависитъ отъ отношенія между количествами присутствующаго фермента и кислоты. Отъ малыхъ количествъ кислоты интенсивность дѣйствія большихъ количествъ инвертина почти совсѣмъ не повышается, между тѣмъ какъ при малыхъ количествахъ фермента

появляется значительное усиленіе дѣйствія. Прибавляя болѣе значительныя количества кислоты, вызывается при большихъ количествахъ усиленіе, при малыхъ же количествахъ фермента, наоборотъ, пониженіе интенсивности дѣйствія.

4) Присутствіе ѣдкаго натра уже въ концентраціи 0,001 грм. молекулы на литръ значительно понижаетъ скорость инверсіи; очень сильнымъ является замедляющее вліяніе на реакцію при малыхъ количествахъ фермента.

5) Постоянство коэффициента скорости инверсіи, исчисленнаго по эмпирическому уравненію

$$2K_1 = \frac{1}{t} \log \frac{A+x}{A-x},$$

данному V. Нергі, не вполне подтверждается результатами моихъ изслѣдованій. При дѣйствіи малыхъ количествъ инвертина этотъ коэффициентъ довольно значительно повышается въ теченіе реакціи; при большихъ количествахъ онъ остается почти постояннымъ.

6) При температурахъ немного выше 50° реакція подѣ влияніемъ большихъ количествъ фермента совершается съ понижающеюся скоростью; подѣ дѣйствіемъ малыхъ же количествъ коэффициентъ скорости инверсіи, исчисленный по уравненію мономолекулярныхъ реакцій, остается постояннымъ. Это указываетъ на то, что температура максимальной скорости зависитъ отъ количества дѣйствующаго инвертина.

7) При температурахъ выше 53° замедленіе инверсіи въ теченіе реакціи при всѣхъ изслѣдованныхъ концентраціяхъ инвертина уже довольно сильно.

8) Колебанія результатовъ при повтореніяхъ опытовъ надѣ изслѣдованіемъ хода инверсіи вызываются,

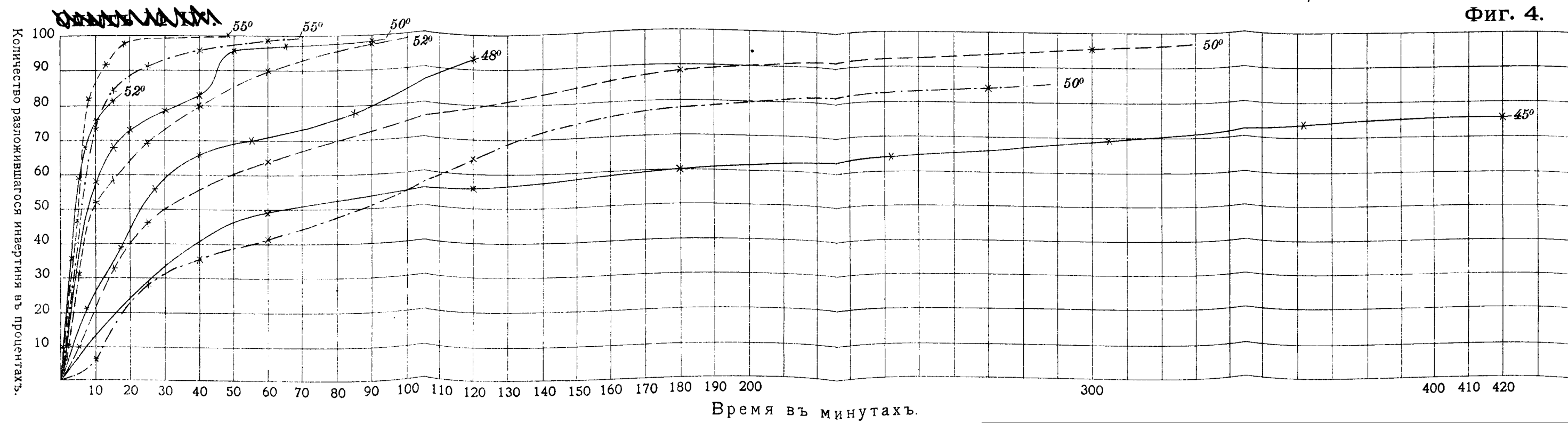
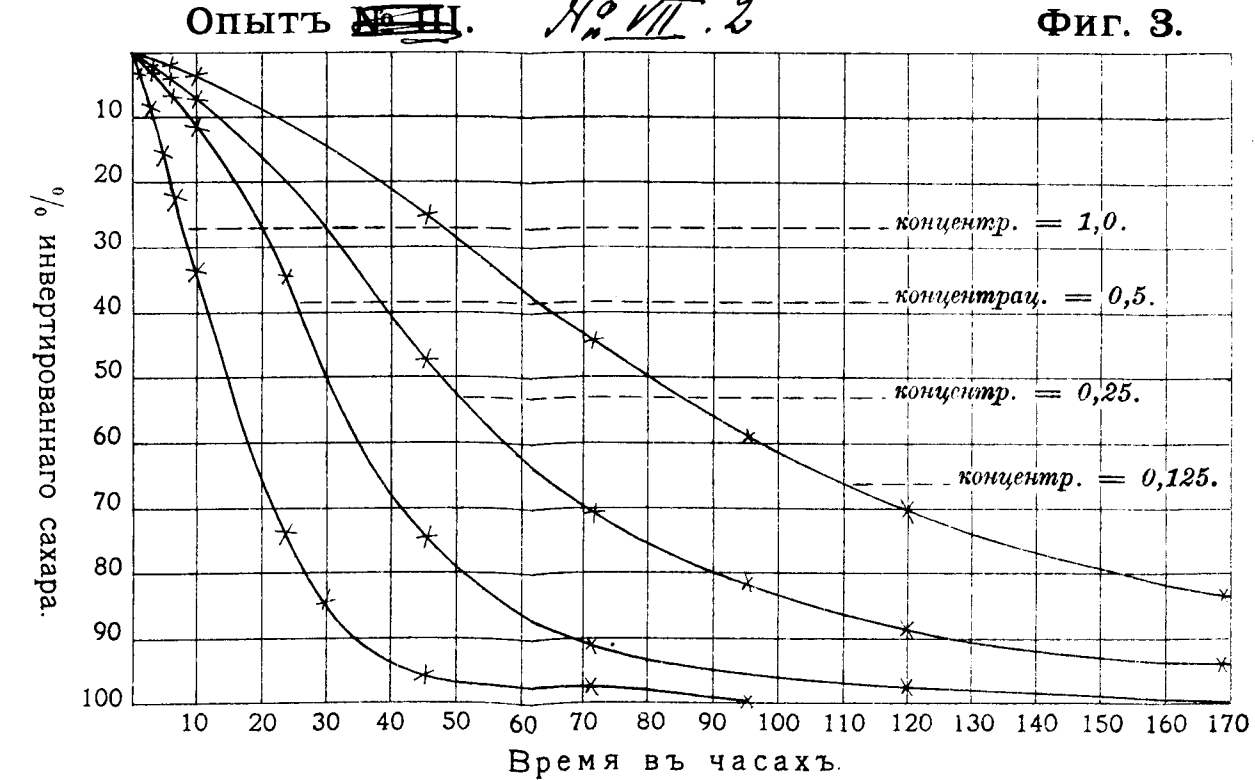
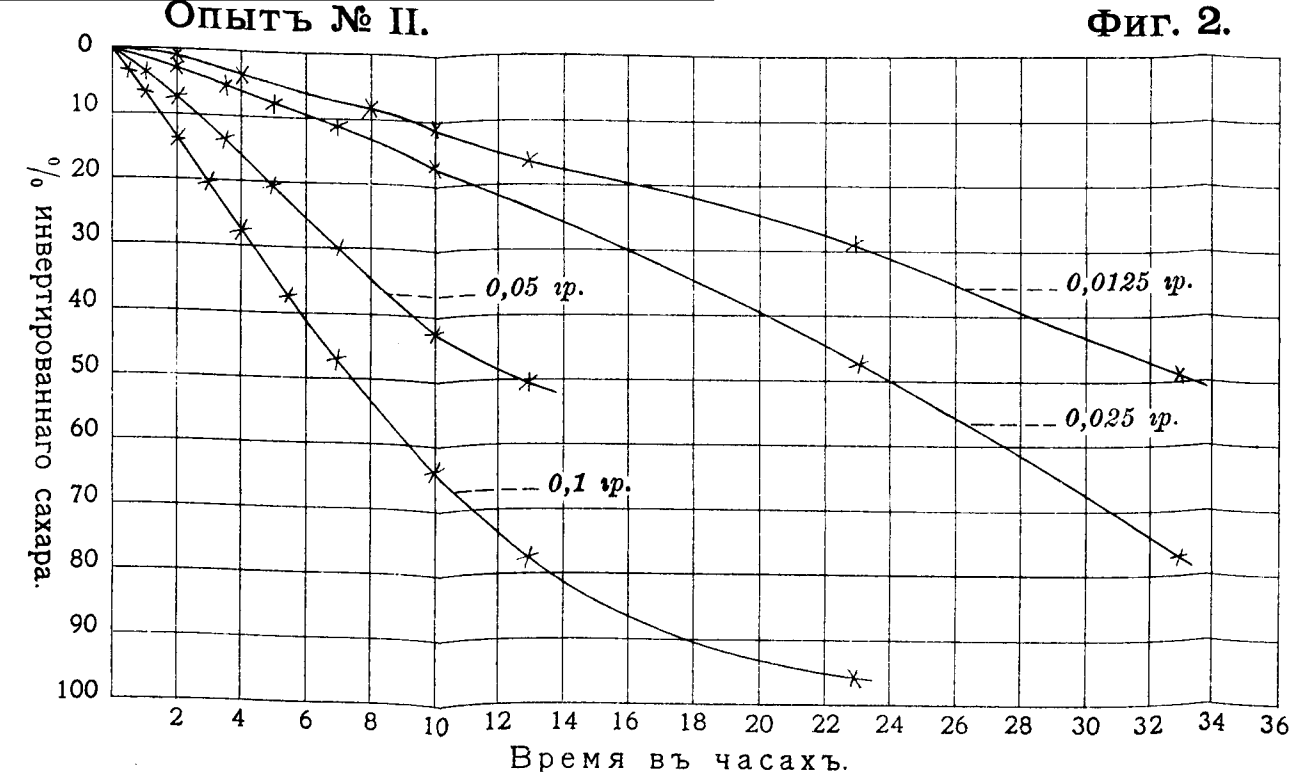
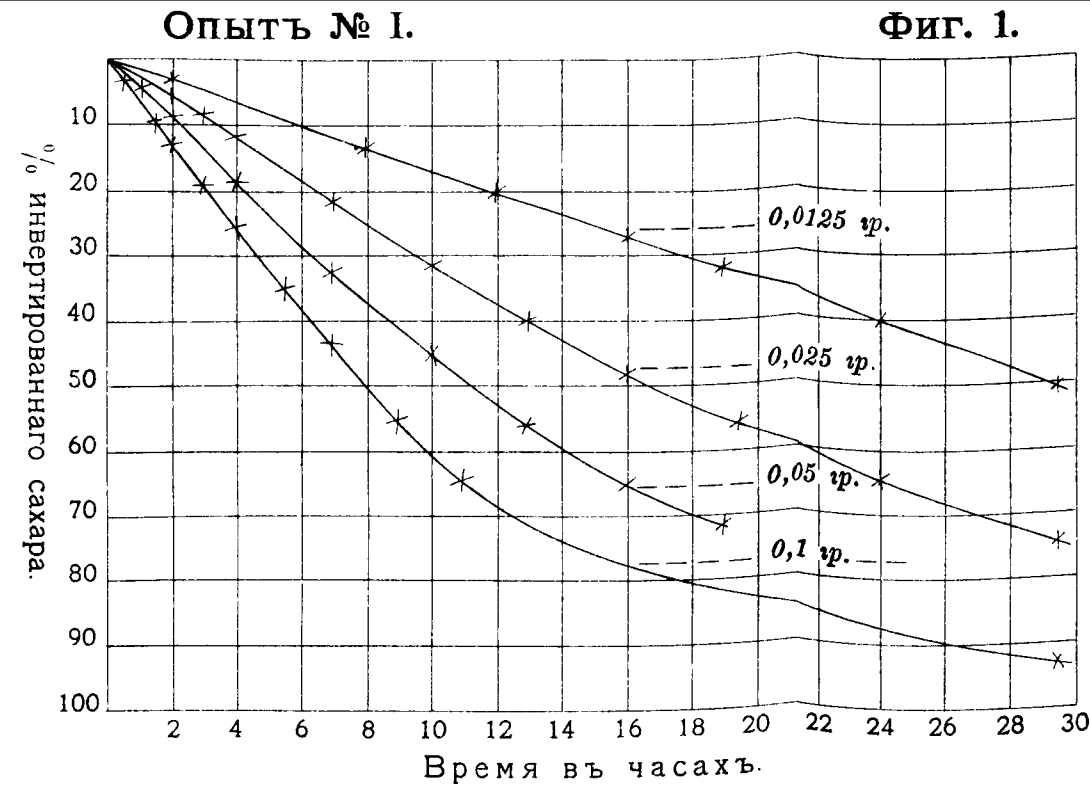
по всей вѣроятности, мѣняющимися количествами ѣдкой щелочи, извлекаемой реакціонною жидкостью изъ стекла сосудовъ.

9) Скорость разложенія инвертина въ водномъ растворѣ на вещества, не обладающія ферментнымъ дѣйствіемъ, представляетъ экспонентальную функцію температуры и зависимость ея отъ послѣдней для температуръ отъ 45^0 до 52^0 выражается уравненіемъ Arrhenius'a.

10) Разложеніе инвертина слѣдуетъ разсматривать какъ мономолекулярную реакцію, не смотря на то, что коэффициентъ скорости разложенія, вычисленный по уравненію мономолекулярныхъ реакцій, не представляетъ величину постоянную, но со временемъ понижается. Пониженіе особенно сильно при болѣе низкихъ температурахъ. Причиною непостоянства коэффициента, по всей вѣроятности, является то обстоятельство, что изслѣдованный препаратъ инвертина представляетъ смѣсь нѣсколькихъ ферментовъ, вліяющихъ на скорость инверсии, изъ которыхъ каждый теряетъ свое дѣйствіе съ различною скоростью.

11) Присутствіе соляной кислоты, какъ и тростниковаго сахара понижаетъ скорость разложенія инвертина въ водномъ растворѣ.

12) Вычисленіе хода инверсии подъ вліяніемъ инвертина по общему уравненію, данному Г. А. Тамманомъ для ферментныхъ реакцій, съ достаточною точностью пока еще не выполнимо, такъ какъ ходъ реакцій, слѣдствіемъ которыхъ является измѣненіе интенсивности дѣйствія инвертина во время инверсии, не достаточно изслѣдованъ и постоянныя для этихъ реакцій еще не установлены.



Положенія.

- 1) При изслѣдованіи хода реакцій безформенныхъ ферментовъ нужно имѣть въ виду образованіе ѣдкой щелочи при дѣйствіи воды на стекло обыкновенной лабораторной посуды.
- 2) Существующіе способы количественнаго изслѣдованія реакцій амилолитическихъ и протеолитическихъ ферментовъ не вполне удовлетворительны.
- 3) При отпускѣ жидкихъ препаратовъ пепсина (пепсиннаго вина, пепсинной эссенціи и т. д.) необходимо имѣть въ виду, что эти препараты, стоявшіе сравнительно долгое время, не удовлетворяютъ лѣчебной цѣли.
- 4) Въ виду важности практическаго навыка при исполненіи судебно - химическихъ изслѣдованій, желательно, чтобы практическія занятія по этому предмету преподавались фармацевтамъ въ теченіе по крайней мѣрѣ двухъ семестровъ.
- 5) Чтобы облегчить доступъ къ пользованію лекарствами мало состоятельнымъ людямъ, слѣдуетъ понизить для аптекъ тарифъ на спиртъ и въ то же время уменьшить цѣну на галеновые препараты, въ составъ которыхъ входитъ спиртъ.
- 6) «Первая помощь въ несчастныхъ случаяхъ» должна быть введена въ программу экзаменовъ на аптекарскаго помощника, и кромѣ того преподаваніе этого предмета слушателямъ фармаціи слѣдовало бы расширить.

Замѣченныя опечатки.

Стр.	Строка.	Напечатано.	Должно быть.
11	14	соключается	заключается
20	11	количество разложен- наго подъ дѣйствиємъ инвертина сахара	количество сахара, раз- ложеннаго и т. д.
34	26	стеклянки	стклѣнки
35	18	Останавливающее	Останавливающее
40	7	котораго	которого
52	25	было	была
60	23	реакцій	реакціи
62	11	разсматривать	разсматривать
63	7	до-доказано	доказано
65	6	котораго	которого
66	23	рѣдко	рѣзко
67	28	указкное	указанное
69	16	котораго	которого
72	30	количествахъ	количествахъ
73	2	количество	количество
75	11	стѣянки	стклѣнки
75	22	изложеннымъ	изложенныхъ
77	24	котораго	которого
80	3	s	г
92	18	котораго	которого