

## Die Reactionen der ungeformten Fermente.

Von

**G. Tammann.**

(Der Redaction zugegangen am 25. December 1891.)

Vor 3 Jahren behandelte ich die Reactionen ungeformter Fermente vom Standpunkte der Affinitätslehre und gelangte zu Resultaten, die von denen, die man für andere Reactionen erlangt hatte, sehr bedeutend abwichen. Es konnte schon damals gezeigt werden, dass die Reactionen ungeformter Fermente eine Gruppe bilden, die sich sehr wesentlich von allen anderen Reactionen unterscheiden.

Dieser Versuch des Verfassers scheint von den Physiologen nicht bemerkt zu sein. Es schien daher geboten, die seit jener Zeit bedeutend erweiterten Resultate in einem Fachjournal für physiologische Chemie zu publiciren.

Die Fermentreactionen unterscheiden sich wesentlich von allen anderen Reactionen. Sie sind unvollständig, d. h. nicht die ganze Masse des der Wirkung unterliegenden Stoffes wird verändert, sondern ein Theil desselben entzieht sich der Veränderung, weil während der Reaction das Ferment sich in eine unwirksame Modification verwandelt. Diese unwirksame Modification ist aber noch wirkungsfähig, mit anderen Worten, sie kann sich, sobald die für ihren Bestand nothwendigen Bedingungen verändert werden, wieder in die wirkungsfähige Modification umwandeln. Bei höheren Temperaturen kommt noch eine zweite Reaction, der das Ferment unterliegt, hinzu. Das Ferment spaltet sich in merklicher Weise gewöhnlich schon bei Temperaturen über 50° C., indem es in mehrere Spaltungsproducte, aus denen es sich nicht wieder zurückbilden kann, zerfällt.

Es ist, bevor wir auf unser Thema näher eingehen, zwei Einwänden zu begegnen: Da die ungeformten Fermente noch nie unzweifelhaft rein dargestellt sind, so kann man ihre Masse, die doch bei quantitativen Untersuchungen in Betracht kommt, nicht feststellen. Darauf wäre zu antworten: die exacten Wissenschaften brauchen nicht immer mit absolutem Maass zu messen, spätere Reductionen des in relativem Maass gemessenen auf absolutes Maass werden häufig vorgenommen. Für unseren Fall bedeutet das nichts Anderes, als dass die Darstellungsweise eines Ferments genau angegeben werden muss, damit späterhin, wenn man den Procentgehalt des betreffenden Präparats am Ferment erfährt, die Reduction möglich ist.

Ferner könnte man noch folgenden Einwand erheben: Da alle Fermentpräparate vermuthlich Verunreinigungen enthalten, so können diese den Verlauf der Fermentreactionen wesentlich beeinflussen. Nach dem, was aber über die Beeinflussung des Verlaufes oder der Endzustände der Fermentreactionen durch fremde Stoffe bekannt geworden ist, dürfte dieselbe innerhalb der hier in Betracht kommenden Grenzen der Concentration der veruneinigenden Stoffe nur sehr gering sein.

### **Katalytische und Ferment-Hydrolysen.**

Viele Stoffe haben die Eigenschaft, in wässriger Lösung unter Aufnahme von Wasser zu zerfallen. Man bezeichnet diesen Vorgang als Hydrolyse. Häufig vollzieht sich die Hydrolyse bei Temperaturen unter dem Siedepunkt des Wassers mit ausserordentlich geringer Geschwindigkeit, so dass man die Reaction kaum oder überhaupt nicht wahrnehmen kann. Diese Langsamkeit der Reaction darf uns aber nicht verleiten, dieselbe überhaupt zu leugnen, da durch Berthelot und van t'Hoff bekannt ist, dass der Einfluss der Temperatur auf die Reactionsgeschwindigkeit ein ganz enormer ist. Die Hydrolyse, die häufig bei niederen Temperaturen nur durch die feinsten Hilfsmittel der Analyse nachgewiesen werden könnte, wird durch Zusatz von Säuren in allen Fällen ausserordentlich beschleunigt. In einzelnen speciellen Fällen wird die Hydrolyse durch Substanzen, die man unter der

Bezeichnung: ungeformte Fermente (Enzyme) zusammenfasst, in überraschender Weise beschleunigt.

Bevor wir näher auf die Beschleunigung der Hydrolyse durch Säuren und ungeformte Fermente eingehen, mögen einige Thatsachen, die die Zugehörigkeit der Fermentreactionen zu den hydrolytischen Reactionen ausser Frage stellen, mitgetheilt werden. Alle Fermentreactionen vollziehen sich nur in wässriger Lösung. Die der Wirkung unterliegende Substanz nimmt bei ihrem Zerfall Wasser auf. Ueberblickt man das Verzeichniss der Reactionen ungeformter Fermente von Hoppe-Seyler<sup>1)</sup>, so findet man zwei Reactionen, die auf den ersten Blick als Ausnahmen von dieser Regel aufgefasst werden könnten. Dieselben sind die des myronsauren Kalis und des Sinalbins. Bei der Spaltung des myronsauren Kalis bildet sich saures schwefelsaures Kali; dieses aber darf kaum als primäres Product der Spaltung betrachtet werden, sondern dasselbe hat sich wohl aus Schwefelsäure und Kali gebildet. Sind aber die beiden letzteren primäre Spaltungsproducte, so ist bei der Spaltung des myronsauren Kalis Wasser aufgenommen worden. Aehnlich dürfte sich wohl auch die scheinbare Ausnahme beim Sinalbin erklären.

Auch für Reactionen, deren Chemismus noch nicht genügend erkannt worden ist, ist man berechtigt, eine Wasseraufnahme bei der Reaction anzunehmen. Folgendes, methodisch besonders lehrreiche Beispiel verdanke ich einer mündlichen Mittheilung Herrn Prof. Dr. Alexander Schmidt's: Theilt man Pferdeblutplasma in zwei gleiche Portionen, von welchen die eine als solche, ohne dass Gerinnung eintritt, bis zum constanten Gewicht getrocknet wird, die andere aber nach stattgefundener Gerinnung in derselben Weise ihres ungebundenen Wassers befreit wird, so ergibt die zweite Portion eine Gewichtszunahme von etwa  $\frac{1}{2}\%$ . Die Fermentreactionen gehen also ausnahmslos unter Aufnahme von Wasser vor sich.

Auch das zweite Merkmal hydrolytischer Reactionen kommt den Fermentreactionen zu. Nach den Versuchen von Munk<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Hoppe-Seyler, Physiologische Chemie, S. 116–126, 1877.

<sup>2)</sup> J. Munk, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 1, S. 395, 1877.

erleiden die Stoffe, die durch ungeformte Fermente gespalten werden, dieselben Veränderungen schon in wässriger Lösung. Nach J. Munk zerfällt eine Salicinlösung, auf  $150-160^{\circ}$  5 Stunden lang erhitzt, in Saligenin und Zucker; ein Theil des Saligenins geht dabei in Saliterin über. Amygdalin zerfiel unter denselben Umständen in Benzaldehyd und Zucker; Blausäure konnte nicht nachgewiesen werden, wohl aber Ameisensäure und Ammoniak; doch auch diese Umsetzungsproducte des Nitrils der Ameisensäure fanden sich weniger als zu erwarten war, so dass die im ersten Moment entstehende Blausäure einer noch unbekanntem Umsetzung unterliegt. Hippursäure, in wässriger Lösung bei  $170-180^{\circ}$ , zerfällt in Benzoessäure und Glycocoll. Munk führt noch eine Reihe von Spaltungen anderer Stoffe, Kohlenhydrate und Eiweissstoffe an, die alle bei  $150^{\circ}$  in wässrigen Lösungen in Stoffe zerfallen, die oder denen ähnliche sich auch unter dem Einfluss von Fermenten bilden. Natürlich ist eine vollständige Identität der Spaltungsproducte, die beim Erhitzen der wässrigen Lösung eines Stoffes entstehen, und der, die durch ungeformte Fermente entstehen, nicht in allen Fällen zu erwarten. Zerfällt ein Molekül in mehrere Atomcomplexe, so sind diese im Zeitraum von ihrer Entstehung an bis zur Bildung der Moleküle der Umsetzungsproducte fremden Einflüssen besonders zugänglich. Das quantitative Verhältniss der gebildeten Reactionsproducte kann mit der Temperatur, bei der die Reaction vor sich geht, wechseln, aber auch qualitativ von einander verschiedene Umwandlungsproducte können bei verschiedenen Temperaturen auftreten.

Es ist wiederholt darauf hingewiesen worden, dass verdünnte Säuren und geformte Fermente dieselben Reactionen unter Aufnahme von Wasser hervorzurufen im Stande sind<sup>1)</sup>. Diese hydrolytische Wirkung der Säuren ist sehr viel allgemeiner, als die der Fermente. Während jede beliebige Säure im Stande ist, jede beliebige hydrolytische Reaction hervorzurufen, vermag ein ungeformtes Ferment immer nur

<sup>1)</sup> Nencki, Journ. f. prakt. Chem., Bd. 17, S. 105, 1879; Hoppe-Seyler, Pflüger's Archiv. Bd. 12, S. 1, 1876.

einen oder einige wenige bestimmte Stoffe in merklicher Weise zu spalten. Es verhalten sich betreffs ihrer Reaktionsfähigkeit die Fermente zu den Säuren wie Special- zu Gruppenreagentien. Da, falls eine Säure eine hydrolytische Reaction stark zu beschleunigen vermag, alle anderen Säuren dasselbe zu leisten im Stande sind, so muss, nach Arrhenius<sup>1)</sup>, das allen Säuren gemeinsame Wasserstoffion als die, die Hydrolyse bedingende, Ursache betrachtet werden. Da auch das Wasser wohl nicht absoluter Nichtleiter der Electricität ist, so nimmt Arrhenius im reinen Wasser eine sehr geringe Menge von Wasserstoffionen an. Betrachtet man diese Wasserstoffionen als Ursache der Hydrolyse in wässriger Lösung, so ist die Beschleunigung der Hydrolyse durch Zusatz von Säuren leicht verständlich. Die Beschleunigung der Hydrolyse durch Zusatz von Ferment kann ihre Ursache nicht in der Vermehrung von Wasserstoffionen durch Zusatz von Ferment haben, denn die Fermente sind zweifellos Nichtelectrolyte. Diese Ursache kann nur in der Affinität gewisser Atomcomplexe im Fermentmolekül zu gewissen, aber für's Erste nicht näher zu bestimmenden Complexen in dem der Spaltung unterliegenden Molekül zu suchen sein. Die Thatsache, dass sich betreffs ihrer Reaktionsfähigkeit die Fermente zu den Säuren wie Special- zu Gruppenreagentien verhalten, ist vom Standpunkte der entwickelten Anschauungen verständlich.

Entgegen der allgemeinen Wirkungsfähigkeit der Säuren kann ein Zusatz irgend eines anderen Stoffes beschleunigend auf die Hydrolyse nur dann wirken, wenn zufällig zwischen zwei Atomcomplexen der beiden Stoffe eine wirksame Affinität existirt. In den ungeformten Fermenten haben wir solche Beschleuniger zu erblicken, doch existiren wohl zweifellos noch manche andere Stoffe, die nicht Säuren sind und doch in auffallender Weise die Hydrolyse beschleunigen. Ganz ohne beschleunigende oder verzögernde Wirkung auf eine sich vollziehende Hydrolyse dürfte wohl überhaupt kein einziger Stoff sein, eine sehr grosse Beschleunigung üben aber, wie jetzt bekannt, nur die Säuren und ungeformte Fermente aus.

<sup>1)</sup> S. Arrhenius, Zeitschr. f. physikalische Chem., Bd. 4, S. 226, 1889.

Liebig<sup>1)</sup> erwähnt, dass sich durch Zusatz von sehr geringen Mengen Aldehyd zu Lösungen von Cyan in Wasser schnell Oxamid bildet. Nach Schmitt und Glutz<sup>2)</sup> geht dieselbe Reaction unter Einfluss von Salzsäure vor sich. Leider bietet die quantitative Verfolgung dieser interessanten Reaction bedeutende Schwierigkeiten. Auch treten nach einiger Zeit in den Cyanlösungen andere complicirte Reactionen ein. Eine Cyanlösung färbt sich bei gewöhnlicher Temperatur bald braun. Ein Zusatz von Aldehyd verzögert proportional seiner Menge den Eintritt der Braufärbung.

**Die durch Fermente hervorgerufenen Reactionen sind unvollständig.**

Bei allen bisher näher untersuchten Reactionen wird entweder die ganze vorhandene Menge des der Reaction unterliegenden Stoffes verändert, oder es zerfällt nur ein Theil des Stoffes; in diesem Falle tritt immer ein Gleichgewicht zwischen zwei Reactionen, die entgegengesetzte Veränderungen bewirken, ein. So wird beim Zerfall eines Esters in wässriger Lösung Alkohol und Säure gebildet, andererseits verbinden sich Alkohol und Säure wiederum zu Ester. Es muss also diese Reaction zu einem Gleichgewichtszustand führen, der dadurch bedingt ist, dass die Geschwindigkeit der Esterbildung und die Geschwindigkeit der Esterspaltung unter den Bedingungen des Gleichgewichts einander gleich sind.

Wir werden sehen, dass die von ungeformten Fermenten veranlassten Reactionen in der That nicht vollständig sind. Es liegt also nahe, aus dieser Thatsache nach allen bisherigen Erfahrungen der Affinitätslehre den Schluss zu ziehen, dass die Fermentreactionen zu Gleichgewichtszuständen führen. Zieht man die Consequenzen dieser Folgerung, so kommt man zu sehr folgereichen Ergebnissen: nämlich, dass es möglich sein muss, wenn die Fermentreactionen zu Gleichgewichtszuständen führen, aus den Spaltungsproducten unter Zusatz von Ferment den ursprünglichen Stoff zu regeneriren. Diese

<sup>1)</sup> J. v. Liebig, Journ. f. prakt. Chem., Bd. 1, S. 41, 1870.

<sup>2)</sup> Schmitt u. Glutz, Berl. Ber., 1, S. 66, 1868.

Consequenz bietet verlockende Perspektiven, wie die Darstellung von Rohrzucker aus Invertzucker etc., so dass die Prüfung derselben durch das Experiment unbedingt geboten erscheint.

Bevor wir uns aber mit der Frage beschäftigen: tritt bei Fermentreactionen ein Gleichgewichtszustand ein, oder bilden dieselben eine besondere Classe von Reactionen, die weder vollständig verlaufen, noch zu Gleichgewichtszuständen führen? muss zuerst die Thatsache, dass die Fermentreactionen unvollständig sind, sicher gestellt werden. Ueber diesen Punkt finden sich in der sehr umfangreichen Litteratur des Gegenstandes mannigfache, zum Theil einander widersprechende Angaben. Für einige Reactionen steht die Unvollständigkeit der Reactionen durch Angaben vorzüglicher Beobachter fest, für andere finden sich widersprechende Angaben; und für manche fehlen, trotzdem dieselben mehrfach untersucht wurden, über diesen Punkt jegliche Angaben. Gewöhnlich begnügen sich die Autoren, die Spaltung durch Fermente qualitativ nachzuweisen. Den Satz, dass alle Fermentreactionen durch ihre Unvollständigkeit charakterisirt sind, habe ich in seiner Allgemeinheit nirgends ausgesprochen gefunden.

Die Affinitätslehre theilt die Reactionen, je nach den verschiedenen Aggregatzuständen der reagirenden Stoffe, in verschiedene Gruppen ein. Diese Systematik wird auch in unseren Fällen nützlich sein. Wir werden homogene von heterogenen Systemen unterscheiden. Als Fermentreactionen in homogenen Systemen werden solche bezeichnet werden, bei denen am Anfang und am Ende der Reaction der der Spaltung unterliegende Stoff und die Spaltungsproducte in Lösung sind. Ferner werden wir zwei Arten der Heterogenität unserer Systeme zu unterscheiden haben: a) Das System ist bei Beginn der Reaction heterogen; das Ferment wirkt auf einen unlöslichen Stoff und spaltet diesen in lösliche Spaltungsproducte. b) Das System ist bei Beginn der Reaction homogen, wird aber im Verlauf der Reaction heterogen; das Ferment spaltet einen gelösten Stoff in Spaltungsproducte, die theils gelöst, theils sich als Gase oder Niederschläge aus der Flüssig-

keit abscheiden. Aus Gründen, die erst im folgenden Abschnitt auseinander gesetzt werden, sind hier unter homogenen Systemen auch solche angeführt worden, die gegen Ende der Reaction heterogen werden können.

### Homogene Systeme.

Liebig und Wöhler<sup>1)</sup> constatirten, dass Emulsin Amygdalin nur unvollständig spaltet. Sie sind der Ansicht, dass die Spaltung von Amygdalin nur so weit geht, als das gebildete Benzaldehyd in Wasser gelöst bleibt. Sie sagen: «So scheint die Auflöslichkeit des Oeles (Benzaldehyd) in der Flüssigkeit, worin die Zersetzung vor sich geht, die Grenze der Zersetzung des Amygdalins zu bedingen. Wenn aber weniger Wasser vorhanden ist, als das sich abscheidende Oel zu seiner Auflösung bedarf, so bleibt Amygdalin unzersetzt.» Diese Erklärung für das Unvollständigbleiben der Reaction von Emulsin auf Amygdalin lässt sich in keiner Weise halten. Es ist kein Grund vorhanden, dass zufällige Löslichkeitsverhältnisse, die ganz unabhängig von der Reaction sind, diese in jenem Sinne beeinflussen. Wenn ein Reaktionsgemisch während der Reaction inhomogen wird, so geht die Reaction trotzdem doch zu Ende. Man erinnere sich nur der Spaltung von Chloral durch Natronlauge in Chloroform und Ameisensäure.

Jene Ansicht ist übrigens leicht zu widerlegen. Schüttelt man eine verdünnte Emulsinlösung mit einem Ueberschuss von Benzaldehyd, so wird zwar ein Theil des Emulsins gefällt, doch die mit Benzaldehyd gesättigte Fermentlösung vermag noch erhebliche Mengen von zugesetztem Amygdalin zu zerlegen.

Für die Wirkung des Emulsins auf Salicin gibt Piria an, dass dieselbe vollständig ist. Ich<sup>2)</sup> habe schon früher gezeigt, dass die Angabe von Piria nicht richtig ist.

Tiemann und Haarmann<sup>3)</sup> geben betreffs der Spaltung von Coniferin durch Emulsin an, dass nach Extraction

<sup>1)</sup> Liebig u. Wöhler, Ann. d. Pharm. u. Chem., Bd. 22, S. 19, 1837.

<sup>2)</sup> Tamann, Zeitschrift für phys. Chemie, Bd. III, S. 27, 1889.

<sup>3)</sup> Tiemann u. Haarmann, Berl. Berichte, 1874, S. 612.



des Coniferylalkohols aus dem Reaktionsgemisch mit Aether in der restirenden Lösung von Traubenzucker und Emulsin sich eventuell noch Spuren von unzersetztem Coniferin befinden. Den Verfassern kam es darauf an, so viel als möglich Coniferylalkohol zu gewinnen, und man kann nicht leugnen, dass sie durch Entfernung des einen Spaltungsproductes, durch Ausschütteln des Coniferylalkohols mit Aether, ihren Zweck fast vollständig erreicht haben. Ueber den Endzustand der Reaction sagen aber diese Versuche wenig aus, da derselbe absichtlich durch Zusatz von Aether gestört wurde. Die Reaction ist, wie später gezeigt wird, unvollständig.

Ebenso spricht die Angabe von Tiemann und Reimer<sup>1)</sup>, dass Zuckervanillinsäure durch Emulsin «gerade auf in Traubenzucker und Vanillinsäure gespalten wird» und dass die Spaltung «qualitativ verläuft», nicht gegen die Ansicht, dass auch diese Reaction unter normalen Bedingungen unvollständig ist, denn die Verfasser extrahiren aus dem Reaktionsgemisch, in dem noch wirksames Emulsin vorhanden war, die Vanillinsäure mit Aether.

Ueber die Spaltung des Aesculins durch Emulsin in Aesculetin und Traubenzucker wissen wir aus den Angaben von Rochleder und Schwarz<sup>2)</sup>, dass, trotzdem im Endzustande der Reaction der grösste Theil des Aesculetins sich aus dem Reaktionsgemisch ausgeschieden hat, nur 70,4% des angewendeten Aesculins als Traubenzucker gefunden wurden, während, wenn die Spaltung vollständig gewesen wäre, 74,7% Zucker sich gebildet hätten. Es muss also im Endzustande der Reaction noch unzersetztes Aesculin vorhanden sein.

Von der Spaltung des Daphnins gibt Zwenger<sup>3)</sup> an, dass dieselbe durch Emulsin bewirkt wird, ob sie vollständig oder unvollständig verläuft, hat er nicht weiter untersucht.

<sup>1)</sup> Tiemann u. Reimer, Berl. Berichte, 1875, S. 516.

<sup>2)</sup> Rochleder u. Schwarz, Liebig's Ann., Bd. 88, S. 356, 1853. und Wien. Acad. Ber., Bd. XI, S. 334.

<sup>3)</sup> Zwenger, Liebig's Ann., Bd. 115, S. 9, 1860.

Dasselbe gilt von den Angaben Will's und Körner's<sup>1)</sup> betreffs der Reaction von Myrosin auf myronsaures Kali. Auch diese Reaction ist unvollständig.

Von der Reaction des Invertins auf Rohrzucker hat Barth<sup>2)</sup> gezeigt, dass dieselbe für eine nicht näher bestimmte Temperatur unvollständig ist. 5 gr. Rohrzucker ergaben unter dem Einfluss von 5 mgr. Invertin nicht mehr als 3,800 gr. Traubenzucker. Barth ist geneigt, diese Unvollständigkeit für eine Eigenthümlichkeit der Invertinreaction zu halten. Nach Kjeldahl<sup>3)</sup> verwandelt das Invertin, ohne auf andere Kohlenhydrate zu wirken, den Rohrzucker leicht und vollständig in Invertzucker; die günstigste Temperatur ist zwischen 52 und 56°. Leider stand mir die Originalabhandlung von Kjeldahl nicht zur Verfügung, so dass ich nicht zu entscheiden vermag, in welcher Beziehung 52—56° als günstigstes Temperaturintervall vom Verfasser oder Referenten bezeichnet worden ist.

Bedeutet diese Angabe, dass bei 52—56° die Geschwindigkeit der Reaction am grössten ist oder dass sie bei anderen Temperaturen nicht vollständig ist und es nur bei dieser wird?

Auch O. Kellner<sup>4)</sup> gibt an, dass bei 40° Invertin allen Rohrzucker invertirt.

Folgende Versuche wurden zur Lösung dieser Widersprüche angestellt. 200 ccm. einer Rohrzuckerlösung, enthaltend 0,920 gr. Invertin, wurden bei 25° invertirt. Die anfängliche Drehung der Lösung betrug + 698' und hätte, wenn aller Rohrzucker invertirt worden wäre, bis auf — 220' sinken müssen. Nach 384 Min. wurde der Drehungswinkel — 110', nach 552 Min. — 113' und nach 3046 Min. — 130' beobachtet. In 2500 Min. hatte also der Drehungswinkel nur um 17' abgenommen. Die

<sup>1)</sup> Will u. Körner, Liebig's Ann., Bd. 125, S. 264, 1863.

<sup>2)</sup> Barth, Berl. Ber., 1878, S. 482.

<sup>3)</sup> Kjeldahl, Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet, Heft 3, 1881. Kopenhagen, citirt aus Zeitschrift f. analytische Chemie, Bd. 22, S. 588, 1883.

<sup>4)</sup> O. Kellner, Mori u. Nagaoka, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 14, S. 297, 1890.

Reaction ist nach so langer Zeit wohl beendet und ist bei  $25^{\circ}$  nachweisbar unvollständig. Etwa 500 Min. lang blieben die Reaktionsgemische vollständig klar, dann begannen sie sich rasch durch Ausscheidung von Spaltungsproducten des Ferments und Entwicklung von Mikroorganismen zu trüben. Die geringe Abnahme der Drehung von  $17'$  ist wahrscheinlich der Thätigkeit von Mikroorganismen zuzuschreiben. Bei  $46^{\circ}$  invertiren 0,1 gr. Invertin in 40 ccm. einer 10procentigen Rohrzuckerlösung in 3 Tagen fast vollständig oder vollständig. Die Wirkung von Invertin auf Rohrzucker ist also zwischen  $0-30^{\circ}$  sicher unvollständig, bei  $45^{\circ}$  dagegen nahezu vollständig. Wollte man entscheiden, wie viel bei  $45^{\circ}$  unzersetzt bleibt, so hätte man mit sterilisirten Lösungen zu arbeiten.

Leider hat O. Kellner<sup>1)</sup> für das interessante Ferment aus dem Koji nicht die Unvollständigkeit der Reactionen, die es im Stande ist hervorzurufen, constatirt. Nach dem, was er über die von Ferment aus Koji bewirkten Reactionen angibt, ist die Unvollständigkeit dieser Reactionen sehr wahrscheinlich. Koji-Extracte sollen nach 2—3stündiger Wirkung bei  $40^{\circ}$  70% Rohrzucker in Dextrose und Lävulose, 70% Maltose in Dextrose überführen. Invertin, fährt Kellner fort, invertirt unter obigen Bedingungen allen Rohrzucker.

Bei den bis jetzt betrachteten Reactionen veränderte sich während der Reaction wenn auch nie die ganze Menge des der Reaction unterliegenden Stoffes, so doch stets ein recht bedeutender Theil desselben. Es gibt aber noch Fermentreactionen, durch die nur sehr geringe Mengen der vorhandenen Substanz verändert werden. Ein Beispiel solcher Reactionen ist die Wirkung von Emulsin auf Harnstoff.

Nach C. Schmidt<sup>2)</sup> verwandelt sich Harnstoff in Gegenwart von Emulsin in kohlensaures Ammon. Lösungen, die folgende Anzahl von Gramm-Molekülen Harnstoff und wech-

<sup>1)</sup> O. Kellner, Mori u. Nagaoka, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 14, S. 297, 1890.

<sup>2)</sup> C. Schmidt, Liebig's Ann., Bd. 61, S. 168, 1847.

selnde Fermentmengen in 100 ccm. Lösung enthielten, verbrauchten nach der Zeit  $\vartheta$  (in Stunden) die tabellirten Cubikcentimeter  $\frac{1}{10}$ -Normal-Säure:

$\vartheta$	0,05 gr.-M. Harnstoff und 10 ccm. Emulsin- lösung.	0,02 gr.-M. Harnstoff und 10 ccm. Emulsin- lösung.	0,02 gr.-M. Harnstoff und 20 ccm. Emulsin- lösung.
6 Stunden . .	0,05 ccm.	0,1 ccm.	0,2 ccm.
22 » . .	0,2 »	0,3 »	0,6 »
46 » . .	0,3 »	0,6 »	0,9 »
96 » . .	0,7 »	0,8 »	1,2 »
154 » . .	1,1 »	0,8 »	1,2 »
	Von der vorhandenen Harnstoffmenge wurden zersetzt:		
	0,1%	0,4%	0,6%

Die erwähnten Reaktionsgemische waren alle im Anfange der Reaction homogen und ein grosser Theil derselben blieb während des ganzen Verlaufs der Reaction homogen. In allen soeben erwähnten Fällen enthielten die Lösungen, in denen die Reaction beendet war, bedeutende Mengen von Spaltungsproducten gelöst.

### Heterogene Systeme (a).

Man kennt noch eine Reihe anderer Fermentreactionen, bei denen das Reaktionsgemisch anfangs heterogen ist. Pepsin vermag in Gegenwart von Salzsäure die Auflösung ausserordentlich zu beschleunigen, und Ptyalin führt aufgequollene Stärke in Zucker über. Sind auch diese Reactionen unvollständig und unter welchen Bedingungen sind sie unvollständig?

Ueber diese Frage geben die Beobachtungen von Brücke und Cohnheim die gewünschte Aufklärung. Cohnheim<sup>1)</sup> untersuchte die Wirkung von Ptyalin auf in reichlichen Mengen Wasser aufgequollene Stärke. Cohnheim sagt über den Endzustand dieser Reaction Folgendes: «Es stellte sich bald zur Evidenz heraus, dass gleichwohl, ob ich die ursprüng-

<sup>1)</sup> Cohnheim, Archiv für patholog. Anatomie v. Virchow, Bd. 28. S. 241—253, 1863.

liche concentrirte oder 2-, 4-, 8- und mehrfach verdünnte Lösungen von Ptyalin anwandte, immer die Umwandlung aufhörte, oder doch sehr an Intensität nachliess, sobald die Mischung einen bestimmten, nicht immer gleichen, indess meist zwischen 1,5 und 2,5%, schwankenden Gehalt an gelöstem Dextrin und Zucker gewonnen hatte, obschon sich einestheils durch Jod noch reichlich Stärke nachweisen liess, andernteils die noch immer erhaltene neutrale oder schwach alkalische Reaction jeden Verdacht einer weiteren Umsetzung des gebildeten Zuckers in Säuren, denen man dann die Hemmung der weiteren Umsetzung hätte Schuld geben können, vollständig zurückwies. Dass vielmehr die Anwesenheit des erwähnten Zuckers allein ausreicht, jene Stockung in der Umwandlung zu erklären, davon kann man sich durch den einfachsten Versuch überzeugen: ein verdünnter Stärkekleister von gleichzeitig 3% Zuckergehalt dem Speichel ferment zugesetzt, gibt noch nach sehr beträchtlich längerer Zeit mit Jod tiefblaue Reaction, als unter denselben Verhältnissen der zuckerfreie; andererseits aber kann in der Concentration der Mischung allein das Hinderniss auch nicht liegen, da ein ähnlicher Gehalt der Flüssigkeit an Chlornatrium oder sonst einem indifferenten Salze keineswegs hemmend einwirkt. Einer Veränderung des Ferments selbst aber jene Stockung zuschreiben zu wollen, das verbietet die Erfahrung, da immer die Umwandlung von Neuem wieder beginnt, sobald die Mischung ausreichend verdünnt wird.»

Brücke<sup>1)</sup> bemerkt, dass man die etwa stehen gebliebene auflösende Wirkung einer salzsauren Pepsinlösung auf Fibrinflocken durch Zusatz von Salzsäure wieder in Gang bringen kann. Also kann auch diese Reaction aufhören, bevor alles Eiweiss gelöst worden ist, trotzdem das in der Lösung vorhandene Ferment noch wirkungsfähig ist.

Es gehören hierher noch die Wirkung von Diastase auf Stärke und von Trypsin auf Eiweissstoffe. Diese Reactionen sind complicirt. Stärke und Eiweiss erleiden unter Wirkung

<sup>1)</sup> Brücke, Wiener Sitzungsber., Bd. 43, S. 608, 1861.

verschiedener Fermente eine primäre Umwandlung, die Producte der primären Umwandlung unterliegen aber in einigen Fällen noch einer secundären Einwirkung durch das Ferment. Auch für diese Reactionen wird man wohl zeigen können, dass dieselben, wenn nur der spaltbare Stoff in genügenden Mengen vorhanden ist, unvollständig sind. Ist die Menge des unlöslichen, der Veränderung unterliegenden, Stoffes geringer, als die im Endzustande gespaltene, so wird die Reaction vollständig.

### Heterogene Systeme (b).

Es sind einige Fälle bekannt, in denen die Reaktionsgemische bei Beginn der Reaction homogen sind, während der Reaction aber durch Ausscheidung von schwer löslichen Spaltungsproducten heterogen werden. Zu diesen Reactionen gehören die fermentativen Gerinnungen, die Wirkungen des Fibrinfermentes, die des Labfermentes und ferner das von Hoppe-Seyler und Popoff<sup>1)</sup> gefundene Ferment, welches ameisensauren Kalk in kohlelsauren Kalk, Kohlensäure und Wasserstoff spaltet.

Alexander Schmidt<sup>2)</sup> gibt an, dass ein Theil des Paraglobulins (fibrinoplastische Substanz) nach der Gerinnung immer im Serum zurückbleibt.

Das Labferment scheint alles Casein aus der Lösung fällen zu können, es scheint diese Reaction immer vollständig zu verlaufen.

Als allgemeine Regel hat sich also ergeben: dass die Fermentreactionen unvollständig sind. Es existiren nur wenige Ausnahmen von der Regel: Invertin scheint bei 40—50° die Inversion des Rohrzuckers fast vollständig bewirken zu können. Doch ist sicher und mit wünschenswerther Genauigkeit diese Ausnahme noch nicht erwiesen. Die einzige sichere Ausnahme von der Regel ist die Labreaction.

<sup>1)</sup> Hoppe-Seyler, Pflüger's Archiv, Bd. 12, S. 1, 1876; L. Popoff, Pflüger's Archiv, Bd. 10, S. 113, 1875.

<sup>2)</sup> A. Schmidt, Die Lehre von den fermentativen Gerinnungserscheinungen, Dorpat 1876, S. 18.

**Der Endzustand der Fermentreactionen ist kein Gleichgewichtszustand.**

Von zwei grossen Reactionsgruppen, die zu den hydrolytischen Reactionen gehören, wissen wir, dass die Gleichgewichtszustände, zu denen sie führen, von der Temperatur fast unabhängig sind. Es sind die Gleichgewichte bei der Esterbildung und bei der Concurrenz zweier Säuren um eine Base.

Der Endzustand der Fermentreactionen aber ist in hohem Grade von der Temperatur abhängig und zwar in der Weise, dass bei einer bestimmten Temperatur (die nicht weit von  $50^{\circ}$  C. liegt) die Menge des im Endzustande gespaltenen Stoffes ein Maximum erreicht. Man hat schon hier bei der Discussion über den Endzustand der Fermentreactionen seine Aufmerksamkeit auf diesen Punkt zu lenken, weil die Endzustände unterhalb der Temperatur des Maximums der Wirkung von denen, die oberhalb der Temperatur des Maximums erreicht werden, sich wesentlich unterscheiden.

Wir beginnen mit den Endzuständen unterhalb der Temperatur des Maximums der Wirkung. Es ist leicht zu zeigen, dass diese Endzustände nicht Gleichgewichtszustände repräsentiren, dass die Fermentreactionen nicht umkehrbar sind, dass sich aus den Spaltungsproducten und dem Ferment der der Wirkung unterliegende Stoff nicht zurückbilden kann.

In der That können, wie folgende Versuche lehren, die Fermentreactionen nur in einer Richtung vor sich gehen. Eine Lösung, die in 100 cbcm. 2,72 gr. Salicin und 50 mgr. Emulsin enthielt, drehte vor Beginn der Reaction die Polarisationsebene des Lichts um  $+249'$ . War der Endzustand der Reaction bei folgenden Temperaturen erreicht, so betrug die Drehungswinkel

bei $40^{\circ}$	$+122'$ ,
» $20^{\circ}$	$+186'$ ,
» $5^{\circ}$	$+207'$ .

Brachte man die Lösungen, die bei  $20^{\circ}$  und bei  $40^{\circ}$  ihren Endzustand erreicht hatten, auf  $5^{\circ}$ , so blieben ihre Drehungswinkel auch nach 24 Stunden unverändert  $120'$  und  $186'$ . Erwärmte man dieselben Lösungen auf  $40^{\circ}$ , so erreichten

dieselben fast den Endzustand der Lösung, die nur der Temperatur von  $40^{\circ}$  ausgesetzt worden war. Das Ferment war also in den Lösungen noch wirkungsfähig, konnte aber eine Umkehr der Reaction nicht bewirken.

Ebenso lässt sich die Nichtumkehrbarkeit der Reaction zwischen Invertin und Rohrzucker zeigen. Betrag der ursprüngliche Drehungswinkel einer Rohrzuckerlösung, die in 25 cbcm. 90 mgr. Invertin enthielt,  $+760'$ , so betragen die Drehungswinkel einer Lösung, in der die Reaction bei

$0^{\circ}$	$+25^{\circ}$	$+35^{\circ}$	$+50^{\circ}$	vor sich gegangen war,
$+300'$	$-60'$	$-94'$	$-20'$	

Kühlt man die Lösungen auf  $0^{\circ}$  ab, so verändert sich in 5 Stunden der Drehungswinkel der Lösungen nicht, trotzdem bei einem Zusatz von Rohrzucker zu denselben Lösungen bedeutende Mengen invertirt wurden.

Aehnliche Versuche mit Emulsin und Amygdalin geben, wenn man die im Endzustande vorhandenen Blausäuremengen bestimmt, scheinbar widersprechende Resultate. Emulsin vermag nämlich verdünnte Blausäure zu verändern. In 30 cbcm. Lösung befanden sich ursprünglich 0,510 gr. Amygdalin und 50 mgr. Emulsin. Nachdem die Reaction bei  $40^{\circ}$  ihren Endzustand erreicht hatte, ergab die Titration der freigewordenen Blausäure nach Volhard's Methode 64% zersetzten Amygdalins. Kühlt man dann dieselbe Lösung auf  $10^{\circ}$  ab, so findet man nach 5 Stunden nur 38% zersetzten Amygdalins. Fast die Hälfte der zuerst vorhandenen Blausäure ist nach der Abkühlung nicht mehr nachweisbar. Versetzt man eine verdünnte Lösung von Blausäure mit verschiedenen Mengen von Emulsin, so bemerkt man, dass nach 24 Stunden bedeutende Mengen von Blausäure, 5% bis 50%, nicht mehr nachzuweisen sind. Diese Verluste an Blausäure hängen nur von der Concentration der Blausäure und der Temperatur, nicht aber von der Menge des vorhandenen Ferments ab. Ein Zusatz von Benzaldehyd, Traubenzucker oder Amygdalin verändert den Titer der Blausäure nicht. Ich habe die Reaction, um die es sich hier handelt, nicht weiter aufzuklären versucht. Jedenfalls ist die Verdünnung der Blausäuremenge in der abgekühlten



Lösung nicht auf eine Rückbildung von Amygdalin zurückzuführen. Dass eine Rückbildung von Amygdalin nicht ausführbar ist, zeigen folgende Versuche zur Synthese von Amygdalin und Salicin.

Mischt man äquivalente Mengen von Blausäure, Traubenzucker und Benzaldehyd und fügt dann zu dieser Lösung Emulsin, so nimmt die Lösung nicht den Geschmack von Amygdalin an. Ebenso schmeckt ein Gemenge von Saligenin und Traubenzucker auch nach längerem Verweilen in der Mundhöhle nicht nach Salicin. Wohl vermag der Speichel Salicin zu zersetzen, nicht aber dasselbe aus seinen Componenten zu bilden.

Erreicht eine Fermentreaction unterhalb der Temperatur des Maximums ihren Endzustand, so wird beim Erwärmen des Reaktionsgemisches die Reaction wieder in Gang kommen, beim Abkühlen aber stehen bleiben. Eine Wiederbildung des gespaltenen Stoffes tritt nicht ein. Damit dürfte bewiesen sein, dass der Endzustand der Fermentreaction kein Gleichgewichtszustand ist.

Für die Endzustände, die oberhalb der Temperatur des Maximums erreicht werden, liegen die Verhältnisse anders. Weder Abkühlung noch Erwärmung des Reaktionsgemisches influirt auf den Endzustand der Reaction.

Es ist eine bekannte Thatsache, dass Fermentlösungen bei höherer Temperatur (über 50° C.) rasch ihre Wirkungsfähigkeit vollständig einbüßen. Aug. Schwarzer<sup>1)</sup> bestimmte die Zeiten, die bis zum Nichtauftreten der Endreaction in mit Malzextract versetztem Kleister verstrichen. Erwärmte man den Malzextract, bevor derselbe mit Kleister gemischt wurde, für sich, so wirkte die Diastase viel schwächer. Schon ein Vorwärmen bei 50° wirkte zerstörend auf die Diastase. Mit steigender Temperatur wächst die Geschwindigkeit des Zerfalls der Diastase rasch. Zu ähnlichen Resultaten kam auch V. Paschutin betreffs des Ptyalins<sup>2)</sup>.

<sup>1)</sup> Aug. Schwarzer, Journ. f. prakt. Chem., Bd. 1, S. 212–230, 1870.

<sup>2)</sup> V. Paschutin, Archiv f. Anat. u. Physiol., 1871, S. 304.

Gewöhnlich wird über der Temperatur des Maximums der Endzustände das Ferment früher zerfallen sein, als die der Wirkung unterliegende Substanz vollständig gespalten ist. Ueber der Temperatur des Maximums existirt neben dem ursprünglichen Stoff und den Spaltungsproducten desselben kein wirkungsfähiges Ferment, sondern dieses ist während der Reaction zu Grunde gegangen, und nur die unwirksamen Spaltungsproducte des Ferments sind vorhanden.

Bei 80° zerfallen die Fermente in wässriger Lösung so rasch, dass sie während der ganzen Zeit bis zu ihrem vollständigen Zerfall nur sehr wenig Substanz zu spalten vermögen. Erhitzt man die trockenen Fermente über 100°, so spalten sich dieselben ebenfalls<sup>1)</sup>, aber die Geschwindigkeit der Reaction ist trotz der höheren Temperatur bedeutend geringer als bei 80° in wässriger Lösung. Es sind also auch die Fermente wie die meisten chemischen Agentien in wässrigen Lösungen viel reactionsfähiger als im ungelösten Zustande oder in anderen Lösungsmitteln, wenn solche überhaupt für Fermente gefunden werden sollten.

Aus folgenden Versuchen Herrn cand. chem. Fischer's geht hervor, dass in den Reactionsgemischen, deren Endzustand bei 70° C. erreicht wurde, nach der Erreichung des Endzustandes kein wirksames Ferment vorhanden ist. In 100 cbcm. Lösung befanden sich 3,007 gr. und folgende Mengen von Emulsin in Grammen. Die gespaltene Salicinmenge wurde aus der mit Fehling'scher Lösung bestimmten Traubenzuckermenge berechnet.

Fermentmenge . .	0,5 gr.	0,25 gr.	0,125 gr.	0,0625 gr.	0,0312 gr.	0,0156 gr.
Gespalt. Salicin (bei						
70° nach 1 Std.)	69,5 %	66,0 %	46,4 %	41,3 %	26,4 %	17,0 %
Gespalt. Salicin (bei						
70° nach 20 Std.)	69,5 %	66,0 %	46,5 %	41,3 %	26,4 %	17,0 %

Darauf wurden diese Lösungen auf 46° C. abgekühlt; ihre Zusammensetzung blieb dieselbe, sowohl nach 16, als

<sup>1)</sup> Hüfner, Journ. f. prakt. Chem., Bd. 5, S. 372, 1872; A. Schmidt, Centralbl. f. med. Wissenschaften, 1876, No. 29; Salkowski, Virchow's Archiv, Bd. 70, S. 158, 1877, und Bd. 87, S. 552, 1880.

nach 24 Stunden, und doch hätte dieselbe, wenn das Ferment nicht zerstört worden wäre, folgende Werthe annehmen können:

Fermentmenge . . . . .	0,5	0,25	0,125	0,0625	0,0312	0,0156
Gespaltenes Salicin in %	94,5	94,4	94,4	85,0	75,5	64,0.

### Ursachen der Unvollständigkeit der Fermentreactionen.

Fragt man sich nach dem Grunde der Unvollständigkeit der Fermentreactionen, so dürfte man geneigt sein, dieselbe einer theilweisen oder vollständigen Zersetzung des Ferments zuzuschreiben. Unterscheiden wir zwei Arten von Endzuständen, die über und die unter der Temperatur des Maximums die Wirkung erreichten. Für jene steht fest, dass sie eingetreten sind, weil das Ferment zerstört worden ist; für diese ist jene Erklärung unzulässig. Denn erstens: die Reaction vermag, nachdem sie ihren Endzustand erreicht hat, durch Erwärmen nochmals wieder in Gang zu kommen; zweitens wird ein anderer Stoff, den man zu einem sich im Endzustande befindenden Reactionsgemisch fügt, gespalten; und drittens wird, wenn in verdünnten Lösungen die der Wirkung unterliegende Substanz relativ mehr gespalten wird als in concentrirten Lösungen, bei Verdünnen des Reactionsgemisches die Reaction von Neuem vor sich gehen. Ein Theil der diese Sätze illustrirenden Versuche ist schon S. 285 mitgetheilt worden; es mögen hier noch einige Versuche folgen.

Löst man in einer Lösung von Emulsin und Amygdalin, in der die Reaction ihren Endzustand erreicht hat, Salicin auf, so beginnt die Reaction auf das Salicin erst 10 Minuten nach Auflösung des Salicin. Dasselbe beobachtet man bei der Wirkung einer im Endzustande befindlichen Lösung von Emulsin und Salicin auf eine solche von Amygdalin. Es vergeht eine messbare Zeit, bevor die im Endzustande der Reaction zur Weiterführung derselben ungeeigneten Fermentmoleküle wiederum in den Zustand der Wirkungsfähigkeit gelangen.

Wir sahen früher, dass beim Erwärmen der Lösungen im Endzustande die Reaction wieder von Neuem beginnt. Es fragt sich aber, ob die Reaction, nachdem einmal ein End-

zustand bei niedriger Temperatur erreicht ist durch Erwärmen des Reaktionsgemisches, wirklich genau zu dem Endzustande gelangen kann, der erreicht wird, wenn die Reaction sich ausschliesslich bei jener höheren Temperatur vollzieht. Hierüber geben folgende Versuche Herrn Fischer's mit Emulsin und Salicin Aufschluss. In 100 cbcm. Lösung befanden sich 3,007 gr. Salicin und folgende Mengen von Emulsin, welche die verzeichneten Mengen Salicin, in Procenten der ursprünglich vorhandenen Salicinmenge, spalteten.

Bei 0° C.:

Fermentmenge in gr. . . .	0,5	0,25	0,125	0,0625	0,0312	0,0156
Gespalt. Salicin nach 24 St.	66,0%	66,0%	66,0%	51,8%	46,4%	32,6%
»           »           » 30 St.	66,1%	66,1%	66,0%	51,8%	45,5%	39,5%

Diese Lösungen, in denen der Endzustand der Reaction erreicht war, wurden auf 35° C. erwärmt:

Gespalt. Salicin nach 20 St.	88,0%	88,0%	88,0%	73,4%	60,0%	51,8%
»           »           » 24 St.	88,0%	88,1%	88,0%	73,5%	60,0%	51,7%

In Lösungen, in denen die Reaction gleich anfangs bei 35° C. vor sich gegangen war, wurden gefunden:

Gespalt. Salicin nach 15 St.	88,0%	88,0%	88,0%	73,5%	50,0%	52,0%
»           »           » 20 St.	88,0%	88,0%	88,0%	73,5%	60,0%	52,0%

Die Endzustände der Reaction sind also unabhängig von dem Wege, auf welchem dieselben erreicht werden.

Da die Fermente über der Temperatur des Maximums der Endzustände zerfallen, so werden dieselben auch bei niedrigeren Temperaturen, aber weniger rasch, jener Reaction unterliegen. Eine Emulsinlösung hält sich bei 20° C. 8 Tage lang unverändert. Die Mengen von Salicin, die durch eine frische und eine 8 Tage alte Lösung derselben Concentration gespalten wurden, waren unter einander gleich. Das Invertin zerfällt bei 20° viel schneller als das Emulsin. Für das Invertin wird also der Satz von der Unabhängigkeit der Endzustände vom Wege, auf dem sie bewirkt werden, keine Giltigkeit besitzen. Erwärmt man ein Ferment enthaltendes Reaktionsgemisch sprungweise auf immer höhere Temperaturen, indem man nach jeder Temperaturerhöhung den Endzustand eintreten lässt, so kann auf diesem Wege derselbe Endzustand

erreicht werden, der sich einstellen wird, falls das Reaktionsgemisch nur jener höchsten Temperatur ausgesetzt war; es wird aber in dem auf jenem Wege erreichten Endzustande weniger Substanz gespalten sein, wenn das Ferment mit merklicher Geschwindigkeit in jenem Temperaturintervall zerfällt.

Der Eintritt des Endzustandes unterhalb der Temperatur des Maximums ist also nicht durch Vernichtung des Ferments bedingt. Dasselbe kann noch keine Wirkungen äussern, ist aber im Reaktionsgemisch in einem Zustand der Lähmung vorhanden.

Es liegt nahe zu vermuthen, dass das Ferment durch die von ihm erzeugten Spaltungsproducte gelähmt wird. In der That lässt sich zeigen, dass durch anfänglichen Zusatz der Spaltungsproducte die Reaction ihren normalen Endzustand nicht erreicht, sondern viel früher stehen bleibt.

Fügt man zu verschiedenen Lösungen, die je 0,51 gr. Amygdalin enthalten, immer die gleiche Menge Emulsin, aber verschiedene Mengen von gesättigter Benzaldehydlösung, und bringt alle Lösungen auf 25 ccm., so sind im Endzustande folgende Amygdalinmengen zersetzt worden. Bei 20°:

Menge der Lösung von Aldehyd:	Zersetzte Amygdalinmenge:
0 ccm.	20,3%
1 »	18,8 »
5 »	14,7 »
10 »	11,3 »
In mit Benzaldehyd gesättigter Lösung:	5,7 »

In den beiden letzten Lösungen war eine Fällung von Emulsin eingetreten.

Unter obigen Bedingungen waren bei 23°

nach Zusatz von 0	gr.-Mol. Traubenzucker	23% Amygdalin zersetzt.
» » » 0,0001	» »	22 »
» » » 0,0003	» »	21 »
» » » 0,0015	» »	19 »

Um eine Uebersicht über die Wirkungen verschiedener Stoffe auf den Endzustand der Reaction zu gewinnen, wurden folgende unter einander vergleichbare Versuche angestellt. In

25 cbcm. Lösung wirkten bei 30° immer je 0,50 gr. Emulsin auf 0,001 Grammmoleküle Amygdalin.

Ohne weiteren Zusatz wurden 23,8% und 23,5% Amygdalin gespalten. Bei Zusatz von 0,0001 gr.-Molekülen Blausäure 18,7% Amygdalin gespalten.

»	»	»	0,0002	»	»	16,4	»	»	»
»	»	»	0,0003	»	»	12,1	»	»	»
»	»	»	0,00025	»	Benzaldehyd	19,0	»	»	»
»	»	»	0,00075	»	»	12,5	»	»	»
»	»	»	0,0015	»	Aethyläther	20,7	»	»	»
»	»	»	0,0200	»	Aethylalkohol	23,2	»	»	»

Von den Spaltungsproducten des Amygdalins übt ein Zusatz von Blausäure den grössten Einfluss auf den verfrühten Eintritt des Endzustandes aus, sehr bedeutend wirkt auch das Benzaldehyd, während den schwächsten Einfluss ein Zusatz von Traubenzucker äussert. Die Wirkung der Spaltungsproducte auf den Endzustand der Fermentreactionen ist bedeutend grösser als die anderer Stoffe. Ein Zusatz von Traubenzucker, des am schwächsten wirkenden Spaltungsproductes, wirkt doch noch energischer als der gleiche Zusatz von Aethyläther, welcher wiederum sehr viel stärker als Aethylalkohol wirkt.

Bei der Reaction von Emulsin auf Salicin finden wir dieselbe Wirkung der Spaltungsproducte auf den Endzustand der Reaction. Nach Versuchen von Herrn Fischer werden bei 35° in Lösungen, die in 100 cbcm. 3,007 gr. Salicin und 0,125 gr. Emulsin enthalten, 88,0% Salicin gespalten. Setzt man der Lösung vor Beginn der Reaction 1 gr. Traubenzucker zu, so finden sich, nachdem der Endzustand der Reaction eingetreten ist, 85,5% Salicin gespalten; nach Zusatz von 1 gr. Saligenin aber nur 69,1% gespaltenes Salicin.

Die Richtigkeit der Vermuthung, dass die Spaltungsproducte das Ferment lähmen, kann man auch direct erweisen. Durch Entfernung derselben aus ihrer Lösung muss die Reaction, falls diese Ansicht über die Wirkung der Spaltungsproducte richtig ist, weiter vor sich gehen ja man muss im Stande sein, dieselbe sogar zu Ende zu führen.

Zur Entfernung der Spaltungsproducte gibt es mannigfache Mittel. Dieselben können durch geeignet gewählte

Reactionen in andere Verbindungen übergeführt werden, durch geeignete Lösungsmittel oder durch Dialyse den Reactions-gemischen entzogen werden und schliesslich Mikroorganismen, die weder das Ferment noch den der Spaltung unterliegenden Stoff verändern, zur Zerstörung übergeben werden. Die folgenden Versuche zeigen, dass durch Entfernung eines der Spaltungsproducte aus einem sich im Endzustande befindenden Reactions-gemisch die Reaction immer wieder von Neuem in Gang kommt, ja in einem Falle sogar vollständig wird. Letzteres brauchte nur nach Entfernung aller Spaltungsproducte einzutreten. Da die Spaltungsproducte aber, wie wir sahen, verschieden auf den Eintritt des Endzustandes wirken, so kann man nicht im Voraus, ohne diesbezügliche Versuche, angeben, welches Spaltungsproduct am stärksten lähmend wirkt, kann also auch nicht dasjenige Spaltungsproduct angeben, durch dessen Entfernung die Reaction am weitesten vorwärts gebracht wird.

Die Versuche sind von Herrn Fischer ausgeführt worden.

1. Die Lösung enthielt 3,007 gr. Salicin und 0,125 gr. Emulsin in 100 cbcm. Bei 26° waren 83% Emulsin im Endzustande der Reaction gespalten. Das sich im Endzustande der Reaction befindende Reactions-gemisch wurde mit  $\frac{1}{3}$  seines Volumens Aether zur Entfernung eines Theils des Saligenins geschüttelt, dann weiter 24 Stunden auf der Temperatur 26° erhalten und schliesslich von Neuem untersucht. Die Reaction war vollständig geworden.

2. Die Lösung enthielt 5,00 gr. Amygdalin und 0,125 gr. Emulsin in 100 cbcm. Bei 26° waren im Endzustande der Reaction 30,6% Amygdalin gespalten. Nachdem das Reactions-gemisch in derselben Weise mit Aether behufs Extraction von Benzaldehyd und Blausäure behandelt war, wurden nach 24 Stunden 35% Amygdalin zersetzt gefunden.

3. Die Lösung enthielt in 100 cbcm. 0,5 gr. Coniferin und 0,0078 gr. Emulsin. Bei 26° wurden 42% Coniferin gespalten. Nach der Behandlung mit Aether wurden nach 24 Stunden 60% zersetztes Coniferin gefunden.

Nach Beendigung dieser Versuche fand ich einen Versuch, den wahrscheinlich W. Kühne<sup>1)</sup> angestellt hat; in dessen Lehrbuch heisst es: «Bringt man eine von überschüssigem unverdaulichem Fibrin abfiltrirte Verdauungsflüssigkeit auf einen Dialysator, so diffundirt der grösste Theil der Peptone in das Wasser, während das Pepsin auf dem Dialysator zurückbleibt. Die während des Diffusionsprocesses wasserreicher gewordene Lösung löst dann nach dem Verdunsten auf ihr ursprüngliches Volumen und Herstellung ihres anfänglichen Säuregrades fast genau ebenso viel Fibrin auf, als sie schon einmal gelöst enthielt. Die Peptone sind es folglich, welche die Verdauung hinderten.» Dieser Versuch und seine Consequenzen ist leider ohne Folge geblieben. Die grosse Menge der sich mit Fermenten beschäftigenden Forscher ist durch diesen Versuch nicht über den Endzustand der Fermentreactionen unterrichtet worden.

Nicht nur durch Entfernung und Vernichtung der Spaltungsproducte ist man im Stande, eine Fermentreaction vollständig zu machen, sondern auch durch wiederholten Zusatz von Ferment wird dasselbe Ziel erreicht. Im folgenden Abschnitt wird gezeigt werden, dass mit wachsender Fermentmenge die im Endzustande gespaltene Substanzmenge zunimmt, dass aber von einer bestimmten Concentration des Ferments an die gespaltene Substanzmenge unabhängig von der Menge des Ferments wird. Fügt man also zu der Lösung eines spaltbaren Stoffes eine noch so grosse Fermentmenge hinzu, so kann die Reaction nie vollständig werden. Um eine gegebene Substanzmenge durch so wenig als möglich Ferment doch vollständig zu spalten, hätte man etwa in folgender Weise zu verfahren: Man fügt zuerst so viel Ferment zur Lösung des Stoffes, als gerade nothwendig ist, um bei der Temperatur, bei der die Reaction vor sich gehen soll, das Maximum der Wirkung zu erlangen; nachdem dann der Endzustand der Reaction eingetreten ist, fügt man eine neue Portion hinzu.

<sup>1)</sup> W. Kühne, Lehrbuch der physiologischen Chemie v. W. Kühne, 1866, S. 39.



und nachdem wiederum der Endzustand der Reaction sich eingestellt hat, wiederholt man den Zusatz, bis der zu spaltende Stoff vollständig zerfallen ist. Dass dieser Weg zum Ziele führen kann, beweisen die folgenden Versuche. Welcher Weg in Praxis zur Vollendung der Reaction einzuschlagen ist, kann natürlich nur entschieden werden, wenn die Bedingungen und die Art der Spaltung gegeben sind.

Fügt man zu einer Lösung, die ursprünglich in 100 ccm. 3,007 gr. Salicin enthielt und in der durch 0,125 gr. Emulsin bei 26° 83% Salicin gespalten waren, noch 0,125 gr. trockenes Emulsin, so begann die Reaction von Neuem. Nach 24 Stunden war wieder ein Endzustand erreicht; es waren 98% Salicin gespalten.

In einer Lösung, enthaltend in 100 ccm. 5,000 gr. Amygdalin und 0,125 gr. Emulsin, waren bei 26° im Endzustande der Reaction 30,6% Amygdalin gespalten. Ein Zusatz von 0,125 gr. trockenem Emulsin brachte die Menge des gespaltenen Amygdalins auf 35%.

Die gefundenen Thatsachen umschreibend, kann man sich folgende Vorstellungen über den Grund der Unvollständigkeit von Fermentreactionen bilden. Die während der Reaction entstehenden Spaltungsproducte wandeln das wirksame Ferment in eine unwirksame Modification um. Die unwirksame Modification ist nur in Gegenwart der Spaltungsproducte beständig und wandelt sich leicht wieder in die wirksame Modification zurück. Die beiden Modificationen können als isomer betrachtet werden.

Von diesem Standpunkte sind auch die Ausnahmefälle, in denen die Fermentreaction vollständig wird, verständlich. Ist die Umwandlung des Ferments in die unwirksame Modification, während der die sich verändernde Substanz zerfällt, vollständig geworden, so geht die Fermentreaction nicht weiter vor sich. Die Menge des im Endzustande der Reaction gespaltenen Stoffes hängt von der Reactionsgeschwindigkeit, mit der die Fermentreaction verläuft, und der Reactionsgeschwindigkeit, mit der sich die wirksame Fermentmodification in die unwirksame umwandelt, ab. Letztere Geschwindigkeit

ist eine Function der wachsenden Menge von Spaltungsproducten. Gewöhnlich, wenn die Spaltungsproducte löslich sind, tritt der Endzustand, bevor die Reaction vollständig geworden ist, ein. Sind die Spaltungsproducte unlöslich, scheiden sich dieselben also während der Reaction aus, so ist kein Grund zur Bildung der unwirksamen Modification vorhanden und die Reaction kann wie die Labreaction vollständig werden.

Ich erinnere mich der Angabe, dass der Zerfall eines Ferments über 50° durch Zusatz von Spaltungsproducten verzögert wird. Es deutet dieses darauf hin, dass die beiden Fermentreactionen mit sehr verschiedener Geschwindigkeit, und zwar die unwirksame mit geringerer, zerfallen.

### Die Abhängigkeit des Endzustandes von der Menge des Fermentes.

#### 1. Wirkung von Emulsin auf Amygdalin.

Aus den nach der Methode von Volhard bestimmten Blausäuremengen wurde die Menge des zersetzten Amygdalins in Procenten des ursprünglich Vorhandenen berechnet. Löst man je 0,255 gr. Amygdalin und die folgenden Mengen Emulsin in 30 cbcm. Wasser, so findet man nach Verlauf der Reaction bei 40° C. folgende Amygdalinmengen zersetzt. Natürlich wurde durch wiederholte Titration der Blausäure in jedem einzelnen Falle die Sicherheit gewonnen, dass die Reaction wirklich den Endzustand erreicht hatte.

Menge des Emulsins in mgr.	0,7	1,5	3,1	6,2	12,5	25	50
Zersetztes Amygdalin . . .	10%	20%	40%	60%	60%	60%	60%

#### 2. Wirkung von Emulsin auf Salicin.

Betreffs der Darstellung des zu allen folgenden Versuchen benutzten Emulsins ist Folgendes zu bemerken: Nach dem Verfahren von Buckland W. Bull<sup>1)</sup> wurde aus 400 gr. süßen Mandeln 600 cbcm. wässerigen Extractes gewonnen, aus welchem das Emulsin fractionirt gefällt wurde. Die erste Fraction fiel durch Zusatz von 200 cbcm. 85% Alkohols;

<sup>1)</sup> W. Bull, Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 69. S. 145. 1849.

die zweite durch Zusatz von 300 cbcm. und die beiden folgenden durch Zusatz von je 200 cbcm. desselben Alkohols. Die einzelnen Fractionen wurden in gleicher Weise zuerst mit 95% Alkohol, dann mit absolutem Alkohol gewaschen und unter der Luftpumpe über Schwefelsäure getrocknet. Stellt man die Wirkungsfähigkeit der verschiedenen Fractionen auf Salicin fest, indem man die Mengen des im Endzustande zersetzten Salicin bestimmt, so findet man, dass die erste Fraction am meisten Salicin spaltet. Die drei folgenden Reactionen wirken fast gleich. Hornartiges an der Luft bei Zutritt von Wasserdampf getrocknetes Emulsin und das pulverförmige unter der Luftpumpe über Schwefelsäure getrocknete Präparat derselben Fraction üben gleiche Wirkungen aus.

Eine Lösung von Salicin, in 20 cbcm. 0,602 gr. Salicin enthaltend, ergab im 2 dem.-Rohr den Drehungswinkel  $-3,83^{\circ}$ . Nach 24stündiger Einwirkung von 50 mgr. Emulsin der verschiedenen Fractionen bei  $17^{\circ}$  auf jene Lösungen wurden folgende Drehungswinkel beobachtet:

Nummer der Fractionen	I.	II.	III.	IV.
Drehungswinkel . . .	+ 1,55°	- 0,30°	- 0,25°	- 0,25°

Zu allen folgenden Versuchen mit Emulsin wurde das Gemenge der drei letzten Fractionen benutzt.

Die Analyse der Reaktionsgemische kann nicht auf polaristrobometrischem Wege ausgeführt werden, da der Drehungswinkel einer Lösung, die Salicin und Traubenzucker enthält, nicht gleich ist dem Mittel der Drehungswinkel, die dem Salicin und Traubenzucker jedem für sich in der Lösung zukommen. Folgender Versuch zeigt, dass man mit der Kenntniss der specifischen Drehungen für Salicin und Traubenzucker bei der Analyse von Lösungen, die Salicin und Traubenzucker enthalten, nicht auslangt. Eine Lösung von 3,008 gr. Salicin in 100 cbcm. drehte im 2 dem.-Rohr bei  $20^{\circ}$  die Polarisationsebene um  $-4,03^{\circ}$  und eine Lösung von 1,791 gr. Traubenzucker in 100 cbcm. drehte dieselbe unter obigen Bedingungen um  $+2,17^{\circ}$ . Nach dem Mischen gleicher Volumina beider Lösungen wurde statt des zu erwartenden Drehungswinkels  $-1,86^{\circ}$  der Drehungswinkel  $0,01^{\circ}$  beobachtet.

Die Analysen wurden nach dem von Soxhlet<sup>1)</sup> verbesserten Fehling'schen Verfahren ausgeführt. Die grösstmöglichen Beobachtungsfehler betragen bei den grösseren Mengen gespaltenen Salicins 1%, bei den kleineren sanken sie auf 0,3%. Die Reaktionsgemische enthielten in 100 ccm. Lösung 3,0069 gr. Salicin und die in der ersten Spalte der Tabelle angegebenen Emulsionsmengen in Milligrammen. Es sind ferner die Zeiten, die seit der Herstellung der Reaktionsgemische bis zur Titration derselben verflossen, am Kopf jeder Colonne verzeichnet. Die Columnen enthalten die Mengen von gespaltenem Salicin in % des ursprünglich Vorhandenen. Die Uebereinstimmung der Titration nach verschiedenen Zeiten benimmt jeden Zweifel über die wirkliche Erreichung des Endzustandes der Reaction. Die Versuche wurden von Herrn Fischer ausgeführt.

Menge des Emul- sins in mgr.	t = 0 <sup>o</sup>		t = 17 <sup>o</sup>		t = 26 <sup>o</sup>		t = 35 <sup>o</sup>		t = 46 <sup>o</sup>		t = 54 <sup>o</sup>		t = 62 <sup>o</sup>		t = 72 <sup>o</sup>	
	nach	nach	nach	nach	nach	nach	nach	nach	nach	nach	nach	nach	nach	nach	nach	nach
	24 St.	30 St.	24 St.	30 St.	20 St.	26 St.	15 St.	20 St.	14 St.	20 St.	14 St.	20 St.	14 St.	20 St.	14 St.	20 St.
500	66,0	66,1	77,7	78,0	82,6	82,6	88,0	88,0	94,0	94,0	94,0	94,5	91,0	90,0	69,5	69,5
250	66,0	66,1	77,7	78,0	82,5	82,6	88,0	88,0	94,4	94,5	85,2	85,0	77,7	77,7	66,0	66,0
125	66,0	66,0	77,7	78,0	82,6	82,6	88,0	88,0	94,4	94,4	73,4	73,4	67,7	67,7	46,4	46,4
62,5	51,8	51,8	60,0	60,0	66,0	66,0	73,5	73,5	85,0	85,0	69,5	69,5	63,0	62,9	41,3	41,3
31,2	46,4	46,5	52,0	52,0	55,0	55,0	60,0	60,0	75,0	75,0	66,0	66,0	39,4	39,4	26,4	26,4
15,6	32,6	32,5	39,5	39,5	46,5	46,5	52,0	52,0	64,0	64,0	55,4	55,4	33,2	32,2	17,0	17,0
11,7	27,2	27,2	33,7	33,7	43,3	43,5	49,3	49,3	44,7	44,5	38,8	38,8	—	—	—	—
7,8	17,9	18,0	29,1	29,1	39,2	39,2	46,5	46,5	34,2	34,0	33,2	33,2	—	—	—	—
3,9	11,7	11,6	22,0	22,0	34,0	34,0	24,5	24,5	23,9	24,0	19,5	19,5	—	—	—	—

Tafel I und II.

### 3. Wirkung von Emulsin auf Arbutin.

Nach Hlasiwetz und Habermann<sup>2)</sup> gibt ein Molekül Arbutin  $C_{23}H_{34}O_{11}$  bei seiner Spaltung durch Emulsin zwei Molekel Traubenzucker und je ein Molekül Hydrochinon und Methylhydrochinon.

<sup>1)</sup> Soxhlet. Journ. f. prakt. Chem., Bd. 21, S. 227—317, 1880.

<sup>2)</sup> Hlasiwetz u. Habermann, Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 177, S. 334, 1875; Habermann, Monatsschrift d. Chem., Bd. 4, S. 753, 1884.

Folgender Versuch beweist, dass die polaristrobometrische Methode zur Analyse der Reactionsgemische anwendbar ist. 1 gr. Arbutin in 25 cbcm. Lösung drehte im 2 dem. langen Rohr die Polarisationsebene um  $-4,80^\circ$  und 1 gr. Traubenzucker im selben Volumen um  $+4,35^\circ$ . Nach Mischung gleicher Volumina beider Lösungen wurde der Winkel  $-0,220^\circ$  beobachtet. Wenn Traubenzucker die Drehung des Arbutins nicht beeinflusst, so ergibt sich der Drehungswinkel der Mischung aus obigen Daten zu  $-0,225^\circ$ . Fügte man der Mischung Hydrochinon hinzu, so veränderte sich der Drehungswinkel nicht. Mit Hilfe der im Landolt'schen Buche<sup>1)</sup> aufgeführten Constanten und dem specifischen Drehungsvermögen von Arbutin  $-67,2^2)$  wurde aus den beobachteten Drehungswinkeln der Reactionsgemische die Menge des gespaltenen Arbutins in Procenten des ursprünglich Vorhandenen berechnet. Die Lösungen enthielten in 100 cbcm. 4 gr. Arbutin und folgende Mengen von Emulsin:

Menge des Emulsins in mgr.	Zersetztes Arbutin in Procenten bei $t = 36^\circ$		
	nach 18 Stunden.	nach 42 Stunden.	nach 66 Stunden.
250	} Die Lösungen waren so stark gebräunt, dass die Bestimmung ihrer Drehungswinkel nicht ausgeführt werden konnte.		
125			
62,5	44,3	44,4	44,0
31,2	42,6	43,1	43,1
15,6	41,7	42,0	42,0
7,8	41,3	41,6	41,6

#### 4. Wirkung von Emulsin auf Coniferin.

Emulsin spaltet Coniferin in Zucker und Coniferylalkohol. Da Coniferin Fehling'sche Lösung reducirt, so wurde die Analyse der Reactionsgemische auf polaristrobometrischem Wege bewerkstelligt. Allerdings wäre noch der Beweis zu erbringen, dass diese Methode in speciellem Falle ohne Weiteres zulässig ist. Das specifische Drehungsvermögen des Coniferins

<sup>1)</sup> Landolt, Das optische Drehungsvermögen, 1879.

<sup>2)</sup> Feibes, Inauguraldiss., Würzburg 1884.

beträgt nach Wegscheider<sup>1)</sup> — 66,9. Die Reactionsgemische enthielten in 100 cbcm. 0,5 gr. Coniferin und die tabellirten Mengen Emulsin in Grammen. Tabellirt sind die Mengen von zersetztem Coniferin in Procenten des ursprünglich Vorhandenen.

Menge des Emulsins in mgr.	Zersetztes Coniferin in Procenten bei t = 35°		
	nach 48 Stunden.	nach 72 Stunden.	nach 96 Stunden.
250	42,1	42,1	42,1
125	42,0	42,0	42,1
62,5	42,1	42,0	42,1
31,2	42,0	42,1	42,0
15,6	42,0	42,0	42,0
7,8	42,0	42,0	42,0
3,9	38,0	38,0	38,0
1,9	37,6	37,6	37,6
0,9	37,0	37,0	37,0

##### 5. Wirkung von Myrosin auf myronsaures Kali.

Myronsaures Kali (Sinegrin) wird nach Will und Körner<sup>2)</sup> von Myrosin in Traubenzucker, Senföl und saures schwefelsaures Kali gespalten. Die Bestimmung der gespaltenen Mengen Sinegrins wurde durch Titration mit  $\frac{1}{50}$ -Normal-Natronlauge in alkalischer Lösung und Carminsäure als Indicator ausgeführt. Es wurde festgestellt, dass man bei der Titration von  $\frac{1}{50}$ -Normal-Schwefelsäure in Gegenwart von 25 mgr. Myrosin in 10 cbcm. Säurelösung mit dem Indicator Phenolphthalein 13% zu viel, mit Methylorange 14% zu wenig und mit Carminsäure 7% zu wenig Schwefelsäure fand. Setzt man vor der Titration der saures Myrosin enthaltenden Lösung das 3- bis 4fache Volumen Alkohol zu, so fallen die Titrations der Schwefelsäure zur Zufriedenheit aus. Für die Ueberlassung eines sehr schönen Präparates von Sinegrin bin ich Herrn Prof. Dr. Nicolai Mentzien in Warschau zu Dank verbunden. Dasselbe war von Herrn Mag. Alfons Bukowsky nach der in Husemann's Pflanzenstoffe (S. 801) angegebenen Methode hergestellt.

<sup>1)</sup> Wegscheider, Ber. d. chem. Ges., Berlin 1885, S. 1600.

<sup>2)</sup> Will u. Körner, Liebig's Ann., Bd. 125, S. 264, 1863.

Das Myrosin wurde nach den Angaben von Will und Laubenheimer<sup>1)</sup> dargestellt.

Die Reactionsgemische enthielten in 10 cbcm. Lösung 41,5 mgr. Sinegrin und folgende Mengen von Myrosin:

Menge des Myrosins in 10 cbcm. Lösung.	Nach 48 Stunden gespalten.	Nach 96 Stunden gespalten.
50	83%	83%
25	60 »	74 »
12,5	48 »	59 »
6,2	33 »	39 »
3,1	13 »	16 »

Fassen wir die Hauptresultate zusammen. Mit wachsender Fermentmenge wächst die im Endzustande gespaltene Substanzmenge und erreicht bei einer gewissen Fermentconcentration ein Maximum. Lässt man jetzt die Fermentmenge wachsen, so verändert sich die im Endzustande gespaltene Menge nicht (Tafel I). Die Fermentconcentrationen, bis zu welchen die Unabhängigkeit der Menge des im Endzustande gespaltenen Stoffes gilt, sind nicht erreicht worden. Wahrscheinlich wird bei sehr grossen wachsenden Fermentmengen die Menge des gespaltenen Stoffes wieder abnehmen. Eine hier nicht mitgetheilte Versuchsreihe mit grossen Mengen Emulsin, die auf Amygdalin wirkten, bestätigte diese Vermuthung. Ueber der Temperatur des Maximums tritt innerhalb der untersuchten Concentrationsgrenzen von Emulsin die Unabhängigkeit der Endzustände von der Fermentmenge nicht auf (Tafel II).

Das Emulsin, welches auf Salicin, Coniferin und Arbutin wirkte, war das Product ein und derselben Darstellung. Die Maxima traten bei folgenden Mengen Ferment in 100 cbcm. Lösung ein: Salicin bei 0,125 gr., Coniferin bei 0,0078 gr. und Arbutin über 0,0625 gr. Die Fermentconcentration, von der an Unabhängigkeit der Menge des Gespaltenen von der Fermentmenge eintritt, hängt also von der Natur des zu spaltenden Stoffes ab.

<sup>1)</sup> Will u. Laubenheimer, Liebig's Ann., Bd. 199, S. 162, 1879.

Für die von Myrosin gespaltenen Mengen von myronsaurem Kali ist ein Maximum nicht erreicht worden, doch deutet der Gang der Zahlen darauf hin, dass dasselbe bei weiterer Vermehrung des Myrosins bald erreicht werden wird. Beim Zerfall des myronsauren Kali bildet sich nach Will und Körner aus dem Senföl unter Abscheidung von Schwefel Cyanallyl. Es wird also ein Reactionsproduct durch eine secundäre Reaction, wenn auch nur theilweise, vernichtet; aus diesem Grunde schreitet die Reaction wahrscheinlich weiter vor, als wenn jene secundäre Reaction nicht stattfände.

Besonderes Interesse beansprucht der Verlauf der Curven gegen den Nullpunkt des Coordinatensystems hin (Tafel I und II). Man findet fast in jedem Lehrbuch der Physiologie den Satz: «unendlich kleine Mengen von Ferment vermögen sehr grosse, ja unendlich grosse Mengen von Stoff zu spalten.» Dieser Satz führte immer wieder zu Anschauungen über Fermentreactionen, deren Gegentheil richtig ist, die in Vergleichen der Fermentreactionen mit Explosionen gipfeln. (Das Ferment wird mit dem in ein Pulverfass fallenden Funken verglichen!) Lässt man die Geschwindigkeitsverhältnisse der Reactionen für's Erste aus dem Spiel, so darf man behaupten, dass die Fermente sich vor allen anderen Beschleunigern der Hydrolyse dadurch auszeichnen, dass sie weniger Substanz spalten als diese. Denken wir uns zwei gleiche sehr grosse Substanzmengen das eine Mal durch Zusatz einer Säure, das andere Mal durch Zusatz eines ungeformten Ferments gespalten, so wird im ersten Fall Alles gespalten werden, im zweiten wird, unter der Voraussetzung, dass nicht besondere Kunstgriffe angewandt werden, ein Theil der Substanz ungespalten zurückbleiben.

Die Fermente unterscheiden sich von anderen Beschleunigern dadurch, dass sie während ihrer Wirkung in eine unter den Reactionsbedingungen unwirksame Form übergehen, die anderen Beschleuniger beharren während ihrer Reaction in ihrem ursprünglichen Zustande. Der Satz: «unendlich kleine Mengen von Ferment vermögen unendlich grosse Stoff-



mengen zu spalten» ist offenbar aus der vor Pasteur'schen Zeit, bevor man noch zwischen geformten und ungeformten Fermenten unterschied, hinübergenommen. Eine einzige Hefenzelle vermag, allerdings wenn sie zu ihrer Fortpflanzung günstige Bedingungen findet, unendlich grosse Zuckermengen zu spalten; das in ihr enthaltene Invertin wird aber nur geringe Rohrzuckermengen invertiren können.

Die Emulsinmengen, die noch auf Amygdalin zu wirken vermögen, sind ausserordentlich gering, es spalten aber solche Mengen auch ausserordentlich wenig Amygdalin. 0,01 mgr. Emulsin spalten mit 0,255 gr. Amygdalin in 30 cbcm. Wasser gelöst in 3 Tagen so wenig Amygdalin, dass die Berlinerblau-reaction auf Blausäure versagt. Doch ist es sicher, dass die Spaltung eingetreten ist, da die Lösung den charakteristischen Geruch nach Benzaldehyd besitzt.

Der Satz, dass ungeformte Fermente unendlich grosse Stoffmengen verändern, wird manchmal noch in einem anderen Sinne gebraucht. Man hat sich so sehr daran gewöhnt, dass das Aequivalenzgesetz die Reactionen beherrscht, dass man alle Reactionen, für die dasselbe nicht gilt (also alle katalytischen Reactionen), für merkwürdig erklärt und nur zu schnell mit dem Vergleich dieser mit Fermentreactionen bei der Hand ist. Fermente und katalytisch wirkende Substanzen haben nur das Gemeinsame, dass sie die Veränderungen, denen die Stoffe in gelöstem Zustande schon so wie so unterliegen, in sehr merklicher Weise beschleunigen.

#### Die Abhängigkeit des Endzustandes von der Menge des spaltbaren Stoffes.

Löst man gleiche Emulsinmengen und verschiedene Mengen von Amygdalin in 25 cbcm. Wasser, so werden bei 40° C. folgende Amygdalinmengen zersetzt:

Ursprüngliche Amygdalinmenge.	Davon wurden gespalten	
	Absolute Mengen.	Procentisch. Mengen.
0,51 gr.	0,11 gr.	20%
1,02 »	0,15 »	15 »
2,04 »	0,24 »	12 »

Aehnliche Verhältnisse findet man für die Endzustände der Reactionen bei der Wirkung von Emulsin auf Arbutin wieder. In 100 ccm. Lösung befanden sich 0,0625 gr. Emulsin und folgende Arbutinmengen bei 35°:

	Nach 48 Stunden waren gespalten.	Nach 72 Stunden waren gespalten.
0,576 gr. Arbutin	52,3%	52,3%
4,000 » »	44,0 »	44,0 »

Bei gleichbleibender Fermentmenge wurden in verdünntem Amygdalin und Arbutin relativ mehr gespalten, als in concentrirten Lösungen. Für die Spaltung des Coniferins durch Emulsin gilt wahrscheinlich dieselbe Beziehung; leider kann man wegen der geringen Löslichkeit des Coniferins die Mengen desselben nur wenig variiren.

In 100 ccm. Lösung befanden sich 0,0625 gr. Emulsin und folgende Mengen von Coniferin bei 35°:

	Nach 48 Stunden waren gespalten.	Nach 72 Stunden waren gespalten.
0,377 gr. Coniferin	42,3%	42,3%
0,500 » »	42,0 »	42,0 »

Bei der Reaction von Emulsin auf Salicin sind die relativen im Endzustande der Reaction gespaltenen Mengen unabhängig von der Concentration des Salicins. Wahrscheinlich gilt diese Beziehung nicht für alle Emulsinconcentrationen.

In 100 ccm. Lösung befanden sich bei 46° 0,125 gr. Emulsin und folgende Mengen Salicin:

	Nach 16 Stunden waren gespalten.	Nach 24 Stunden waren gespalten.
3,007 gr. Salicin	94,4%	94,4%
1,503 » »	94,5 »	94,4 »
0,752 » »	94,4 »	94,5 »
0,376 » »	94,4 »	94,3 »
0,188 » »	94,2 »	94,2 »

In einer Beziehung sind die mitgetheilten Versuche lehrreich. In unseren Amygdalin- und Arbutinsystemen wird die Reaction beim Verdünnen der Lösung von Neuem in Gang kommen, nicht aber in den Salicin enthaltenden Lösungen. Für die Zelle können diese Verhältnisse von Bedeutung sein.

### Abhängigkeit der Endzustände von der Temperatur.

1. Die Endzustände der Fermentreactionen hängen in hohem Grade von der Temperatur, bei der sie erreicht werden, ab.

Je 30 ccm. Lösung enthielten 0,51 gr. Amygdalin und 50 mgr. Emulsin. Bei der Temperatur  $3^{\circ}$  wurden folgende Amygdalinmengen, in Procenten der ursprünglich vorhandenen Menge, zersetzt:

$3^{\circ}$ . . . . .	10	15	32	46	65	72 $^{\circ}$
Zersetztes Amygdalin . .	15	16	24	32	20	5 $^{\circ}$ ...

Die Menge des im Endzustande gespaltenen Amygdalins erreicht bei ungefähr  $45^{\circ}$  ein Maximum. Das Maximum des Endzustandes ist charakteristisch für alle Fermentreactionen.

### 2. Zustandsgrenzen der Fermentreactionen, Abhängigkeit der Maxima der Endzustände von der Fermentmenge.

Der leichteren Orientirung wegen folgen hier die schon früher gegebenen (S. 298) Resultate über den Einfluss der Temperatur auf die bei der Reaction von Emulsin auf Salicin eintretenden Endzustände, zusammengestellt in Form einer Tafel. Auf der Abscisse sind die Temperaturen, auf der Ordinatenaxe die Procente von gespaltenem Salicin aufgetragen.

#### Tafel III.

Die Curven, die bei gleichen Fermentmengen und gleichen Mengen des spaltbaren Stoffes die Abhängigkeit der im Endzustande zersetzten Substanzenmenge von der Temperatur darstellen, sind mit 1, 2, 3 u. s. w. in der Tafel bezeichnet. Alle diese Curven darf man sich nach der negativen Seite der Temperaturaxe continuirlich fortgesetzt denken. Unter

0° in unterkühlten Lösungen werden also sehr beträchtliche Mengen Substanz vom Ferment gespalten werden. Extrapolirt man den Schnittpunkt der Curve 7, für die der Endzustand unabhängig von der Fermentmenge wird, mit der negativen Temperaturtaxe, so erhält man die Temperatur  $-65^{\circ}$ . Falls unsere Extrapolation zulässig ist, darf man behaupten, dass Salicin durch noch so bedeutende Emulsinmengen bei Temperaturen unter  $-65^{\circ}$  nicht mehr gespalten wird. Können wir über die untere Temperaturgrenze der Fermentreactionen nur Vermuthungen äussern, so sind wir über die obige Temperaturgrenze derselben besser unterrichtet, oder können über diese jedenfalls in allen Fällen die nöthige Auskunft durch Versuche verschaffen. Der steile Abfall der rechten Curvenäste berechtigt die Behauptung, dass über  $80^{\circ}$  mit noch so grossen Emulsinmengen keine merkliche Reaction auf Salicin hervorgebracht werden kann. Man könnte für unser Curvensystem eine einhüllende Curve construiren, in der Fläche, die diese mit der Temperaturaxe einschliesst, liegen alle möglichen Endzustände, alle Punkte ausserhalb dieser Fläche stellen nicht realisirbare Endzustände dar.

Nach Feststellung der Bedingungen, unter denen die Reaction stattfinden kann, bleibt uns noch die Discussion der interessantesten Eigenschaft unserer Curven, die Lage ihrer Maxima, übrig.

Bei zunehmender Fermentmenge, constant bleibender Salicinmenge, wächst die Menge des bei der Temperatur des Maximums gespaltenen Salicins in arithmetischer Reihe, wenn die des Emulsins in geometrischer Reihe zunimmt.

Die Ordinate eines Maximums genau zu bestimmen, ist eine mühevoll Aufgabe. Die Zahl der uns zu Gebote stehenden Punkte ist zur sicheren Bestimmung dieser Ordinaten zu gering. Aus diesen Gründen soll die formulirte Gesetzmässigkeit mehr als eine noch zu prüfende Hypothese, nicht als eine festgestellte Thatsache hingestellt werden.

In unserem Falle wachsen die Fermentmengen in der geometrischen Reihe  $3,9 \times 2^n$  mgr., die in Procenten ausgedrückten maximalen Mengen von gespaltenem Salicin wachsen

nach der arithmetischen Reihe  $42 \times 10\%$ . Die Resultate der Berechnung und die Beobachtung stimmen in unserem Falle genügend überein.

	n =	0	1	2	3	4	5
Fermentmenge. . . . .	$39 \times 2^n$ mgr.	3,9	7,8	15,6	31,2	62,5	125
Ordinate des Maximums, berechnet. . . . .	$42 \times 10^n$	42	52	62	72	82	92
Gefunden. . . . .	—	42	51	64	75	85	94

Ver mehrt man die Menge von Emulsin über 125 mgr. in 100 cbcm., so hört die Giltigkeit der Regel auf; die Menge des im Endzustande zersetzten Salicins wächst nicht mehr nach unserer arithmetischen Reihe, sondern sehr viel langsamer. Die obere Grenze der Giltigkeit dieser Beziehung ist dieselbe Fermentconcentration, bei der die Menge des im Endzustande der Reaction unterhalb der Temperatur des Maximums Gespaltenen unabhängig von der Menge des Ferments wird. Wie es eine obere Giltigkeitsgrenze unserer Beziehung gibt, so existirt offenbar auch eine untere Grenze derselben. Eigenthümlich ist die Gestalt der Curve, die die Maxima der in den Endzuständen gespaltenen Mengen verbindet (siehe Tafel III). Diese Curve hat einen Wendepunkt. Wächst die Menge des Ferments, so steigt das Maximum der Einwirkung von niederer Temperatur auf höhere (A); dann bei weiterer Zunahme des Ferments tritt entweder keine Verschiebung der Maxima oder vielleicht eine geringe Verschiebung derselben von höheren zu niederen Temperaturen ein (B). Zuletzt bei weiterer Steigerung der Fermentmengen ändert die Curve ihre Richtung, um sich asymptotisch dem Werthe 100% zu nähern (C). Das heisst, auch bei ungeheurer Vermehrung des Ferments würde die Vollständigkeit der Fermentreaction doch nie erreichbar sein. Es soll nicht behauptet werden, dass ein grosses Stück des Curvenzweiges C realisirbar ist.

Interessant ist die Frage: ob es auch unter dem Gefrierpunkte des Wassers, also in unterkühlten Lösungen, noch

Maxima der Endzustände gibt? Bei fortgesetzter Abnahme des Ferments wird sich das Maximum auf dem Curvenzweige A verschieben. Wenn die Extrapolation erlaubt ist, wird der Curvenzweig A die Temperaturaxe etwa bis  $-10^{\circ}$  schneiden. Diejenige Fermentconcentration, für die das Maximum des Endzustandes bis  $-10^{\circ}$  liegt, wirkt überhaupt nicht, da ihr Maximum der Wirkung Null beträgt. Maxima der Endzustände sind auch unter der Temperatur  $0^{\circ}$  sehr wahrscheinlich realisirbar.

3. Die Maxima der Endzustände bei verschiedenen Temperaturen werden in erster Linie durch die Natur des Ferments, nicht durch die des sich spaltenden Stoffes bedingt.

Wir erkannten vorhin, dass die Maxima der Endzustände bei verschiedenen Temperaturen für grössere Fermentconcentrationen unabhängig von der Temperatur sind (Curvenzweig A). Nur auf dieses Concentrationsintervall des Ferments wird der obige Satz bezogen.

Herr Fischer liess dieselben Mengen, 62,5 mgr. Emulsin in 100 ccm. auf gleiche moleculare Mengen von Salicin, Amygdalin, Coniferin und Arbutin wirken und fand im Endzustande der Reaction bei verschiedenen Temperaturen folgende procentische Mengen zersetzt:

	In 100 ccm.	t = 0°	t = 12°	t = 30°	t = 46°	t = 60°
Salicin . . .	0,284 gr.	67,0	74,1	85,0	94,0	fast nichts
Amygdalin . .	0,456 »	17,4	37,5	61,5	85,0	53,0
Coniferin . .	0,377 »	40,0	40,6	41,3	43,5	41,7
Arbutin . . .	0,575 »	41,0	43,0	51,7	53,5	42,7

Tafel IV.

Aus der graphischen Darstellung geht hervor, dass, so verschiedenartig die verschiedenen Endzustandscurven auch sind, die Maxima der Endzustände doch merklich bei derselben Temperatur liegen.

### Der Verlauf der Fermentreactionen.

Die Fermentreactionen gehören zu denjenigen Reactionen, die sich mit einer mittleren Geschwindigkeit vollziehen, so dass man im Stande ist, dieselben bequem zu verfolgen. Unter der Geschwindigkeit einer chemischen Reaction wird der Differentialquotient der Function, die die Menge des veränderten Stoffes in ihrer Abhängigkeit von der Zeit gibt, verstanden. Falls die Reactionsproducte auf die Geschwindigkeit der Reaction nicht von Einfluss sind, gilt folgende Gleichung<sup>1)</sup> für den Verlauf der Reaction, wenn nur einer der Stoffe sich während der Reaction verändert:

$$-\frac{dC}{dt} = kC,$$

wo C die Concentration, t die Zeit und k eine Constante bedeuten. Nach der Integration ergibt sich die Gleichung 1)  $-\log. \text{ nat. } C = kt + \text{Constante}$ . Die Gleichung 1 ist gültig für eine Reihe von Reactionen, die auch durch Fermente hervorgerufen werden können, so für die Inversion des Rohrzuckers durch Säuren und andere Hydrolysen.

Da die Säuren und die Fermente als Beschleuniger hydrolytischer Prozesse betrachtet werden müssen, lag, bevor die Eigenthümlichkeiten der Fermentreactionen bekannt waren, die Vermuthung nahe, dass die Gleichung 1, die den Verlauf der Inversion des Rohrzuckers durch Säuren wiedergibt, denselben auch bei der Inversion durch Invertin genügend darstellt. Nach dem, was wir bis jetzt über die Fermentreactionen erfahren haben, scheint jene Vermuthung nicht begründet. Wir haben als einfache Umschreibung der Thatsachen drei verschiedene Reactionen, die während des Vorgangs, den man fermentative Spaltung nennt, sich alle mit sehr verschiedenen Geschwindigkeiten vollziehen, zu unterscheiden: 1. Die Reaction, die durch das Ferment beschleunigt wird, also die, nach der der spaltbare Stoff zerfällt. 2. Die Verwandlung des Ferments in eine unwirksame Modification durch die Producte der ersten

<sup>1)</sup> J. H. van t'Hoff, Etudes de dynamique chimique, Amsterdam 1884, S. 17.

Reaction. Die unwirksame Modification hat die Fähigkeit, sich in die wirksame zu verwandeln. Diese Reaction kommt hauptsächlich unter der Temperatur des Maximums der Endzustände in Betracht. 3. Zerfällt über der Temperatur des Maximums der Endzustände das Ferment in mehrere Stoffe, aus denen sich derselbe nicht mehr zurückbilden kann.

Aus diesen Gründen muss der Verlauf der Fermentreactionen sehr complicirt werden. Doch muss auch eine vorläufige Orientirung über die vorliegenden Verhältnisse in vielen Beziehungen lehrreich werden. Wir werden bei dieser Orientirung auf manche Thatsachen stossen, die wohl nur als Stützen der soeben gegebenen Anschauungen betrachtet werden können.

Nach vier verschiedenen Richtungen ist der Verlauf der Fermentreactionen zu verfolgen. Der Einfluss der Menge des Ferments, der des spaltbaren Stoffes, der der Temperatur und fremder Stoffe auf die Geschwindigkeit dieser Reactionen wäre zu untersuchen.

#### **Einfluss der Menge des Ferments auf die Geschwindigkeit der Reactionen.**

1. E. Brücke<sup>1)</sup> scheint der Erste gewesen zu sein, der den Einfluss der Fermentmenge auf die Geschwindigkeit einer Fermentreaction festgestellt hat. Er bestimmte die Zeiten, die Fibrinflocken zu ihrer Auflösung in einer mit Salzsäure versetzten Pepsinlösung bedürfen.

Pepsingehalt.	Auflösungszeiten.	
	Stunden.	Minuten.
1	15	45
2	12	20
4	7	15
8	3,5	10
16	3	—
32	1,5	—

<sup>1)</sup> E. Brücke, Wiener Sitzungsber.. Bd. 37, S. 131, 1859.



2. Nach Cohnheim's<sup>1)</sup> Angaben stehen die Zeiten, welche verschiedene Mengen Speichelferments zur Umwandlung gleicher Mengen Stärkekleister in Traubenzucker brauchten, in folgenden Verhältnissen:

Menge des Ferments . . . . .	1	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{8}$	$\frac{1}{16}$	$\frac{1}{32}$	$\frac{1}{64}$
Zeiten, in denen gleiche Mengen Stärke verwandelt wurden . . . . .	1	1,5	2,5	7,0	16	24	39.

3. A. Schwarzer<sup>2)</sup> bestimmte die Zeiten, nach denen ein Stärkekleister, der der Wirkung von Diastase bei 50° ausgesetzt war, mit Jodlösung keine Färbung gab.

Menge der Diastase . . . . .	1	2	4	8	20
Zeit in Minuten, bis Jodlösung keine Färbung gab . . . . .	160	65	40	30	20.

4. E. Marckwort und G. Hüfner<sup>3)</sup> bestimmten die durch verschiedene Emulsinmengen, welche sie in Glycerinlösung zu der 0,4% Amygdalinlösung fügten, nach 15 Minuten zersetzten Amygdalinmengen. Die Fermentmenge 2 ist gleich 8 Tropfen der Lösung von Emulsin in Glycerin.

Emulsinmengen . . . . .	2	4	6	8	10
Gespaltenes Amygdalin in Procenten des ursprünglich Vorhandenen . .	4,3	4,3	4,3	10,9	15,2.

5. M. Barth<sup>4)</sup> fand nach 30 Minuten bei 40° C. in je 100 ccm. einer 5% Rohrzuckerlösung nach Zusatz folgender Invertinmengen folgende Mengen von Invertzucker gebildet:

0,001 gr. Invertin	0,03 gr. Invertzucker.
0,0025 »	0,05 »
0,0050 »	0,100 »

In allen Fällen wächst die Geschwindigkeit der Fermentreactionen mit der Menge des zugesetzten Ferments. Strenge Proportionalität zwischen den in gleichen Zeiten zersetzten Substanzmengen und den hierbei beteiligten Fermentmengen scheint nicht einzutreffen. Für inhomogene Systeme, wie die

<sup>1)</sup> Cohnheim, Arch. f. pathol. Anat. von R. Virchow, Bd. 28, S. 246, 1863.

<sup>2)</sup> A. Schwarzer, Journ. f. prakt. Chem., Bd. 1, S. 215, 1870.

<sup>3)</sup> E. Marckwort u. G. Hüfner, Journ. f. prakt. Chem., Bd. 11, S. 202, 1875.

<sup>4)</sup> M. Barth, Berl. Ber., 1878, S. 482.

von Brücke, Cohnheim und Schwarzer untersucht, ist dieselbe auch gar nicht zu erwarten.

Die oben angeführten Versuche über die Geschwindigkeit der Fermentreactionen geben uns nur ein sehr unvollständiges Bild über den Verlauf derselben. Es ist daher wünschenswerth, ein vollständigeres, wenn auch nur für eine Reaction, zu gewinnen.

#### 6. Verlauf der Reaction von Invertin auf Rohrzucker bei variablen Invertinmengen.

Die Invertinlösungen wurden alle durch Verdünnen ein und derselben Invertinlösung gewonnen und so mit den Rohrzuckerlösungen gemischt, dass alle Lösungen in 200 ccm. dieselbe Menge Rohrzucker und die unten angegebenen Invertinmengen im Reaktionsgemisch enthielten. Nach der Zeit  $\vartheta$  in Minuten wurden im 2 dm.-Rohr die in der Tabelle aufgeführten Drehungswinkel in Minuten beobachtet. Da die Invertinlösungen selbst eine geringe Drehung des polarisirten Strahls ausüben, so wurde diese Ablenkung von den beobachteten Winkeln subtrahirt. Wäre die Reaction vollständig gewesen, so hätte der schliesslich nach längerer Zeit beobachtete Drehungswinkel — 220 Min. betragen sollen. Die Reactionen gingen in Thermostaten bei 25° vor sich. Die Abnahme der Drehungswinkel ist proportional den gebildeten Invertzuckermengen.

Menge des Invertins:

1. 0,920 gr.		2. 0,460 gr.		3. 0,230 gr.		4. 0,092 gr.		5. 0,046 gr.	
$\vartheta$		$\vartheta$		$\vartheta$		$\vartheta$		$\vartheta$	
0	+ 698	0	+ 698	0	+ 698	0	+ 698	0	+ 698
14	648	12	659	30	649	27	678	35	686
35	542	36	599	53	610	50	665	58	684
58	433	60	535	77	577	74	647	82	677
83	326	85	467	103	540	99	640	127	662
100	256	104	429	122	509	119	618	187	616
129	152	161	283	181	424	178	581	383	621
160	71	204	194	222	360	315	495	408	588
202	— 7	300	40	317	240	400	439	547	553
299	83	386	— 41	404	148	540	353	1409	302
384	110	523	107	541	— 12	1400	— 11	1559	206
522	113	—	—	3046	118	1551	41	3046	— 40
3046	130	—	—	—	—	3059	96	—	—

## Menge des Invertins:

6. 0,020 gr.		7. 0,010 gr.		8. 0,005 gr.		9. 0,002 gr.		10. 0,001 gr.	
⊘		⊘		⊘		⊘		⊘	
0	+ 698	0	+ 698	0	+ 698	0	+ 698	0	+ 698
120	698	46	698	67	698	67	698	175	698
993	636	173	696	173	698	174	698	998	691
1509	579	996	658	996	673	997	681	1504	689
2472	417	1510	625	1505	650	1505	669	2470	688
3079	263	2471	511	2468	595	2469	651	3077	627
3461	45	3081	435	3077	546	5437	567	5437	610
—	—	3458	118	3454	462	—	—	—	—

Tafel V.

Im Gegensatz zu anderen katalytischen Reactionen, deren Verlauf durch eine logarithmische Curve darstellbar ist, folgen die Fermentreactionen complicirteren Gesetzen. Die qualitativ identischen Reactionen der Säuren und des Invertins auf Rohrzucker sind betreffs ihres Verlaufs wesentlich verschieden. Der Uebersichtlichkeit wegen ist der Verlauf der Invertinreactionen graphisch dargestellt (Tafel V). Als Abscisse dienten die seit Beginn der Reaction verflossenen Zeiten, als Ordinaten die Drehungswinkel in Minuten, oder die vorhandenen Mengen des unzersetzten Stoffes.

Man bemerkt, dass, falls die Reaction unter Einfluss von grossen Mengen Ferment verläuft, der Gang der Reaction durch eine Curve, die der Abscisse die convexe Seite zukehrt, dargestellt wird. Nimmt die Menge des Ferments ab, so ändert sich die Gestalt der Curven und nähert sich der geraden Linie, um bei weiterer Verminderung der wirkenden Fermentmengen in Curven, die der Abscisse die concave Seite züwenden, überzugehen.

### 7. Verlauf der Reaction zwischen Emulsin und Salicin bei wechselnden Emulsinmengen.

Die Reactionen gingen in Lösungen, die in 100 cbcm. je 2,145 gr. Salicin und Emulsinmengen, im Verhältniss von 1 : 5 : 10 : 25, enthielten, bei der Temperatur 25° vor sich. Unter ⊘ sind die seit dem Beginn der Reaction verflossenen

Zeiten in Minuten und neben diesen die Abnahme der Drehungswinkel einer 2 dcm. langen Lösungsschicht in Minuten verzeichnet. Die Abnahme der Drehungswinkel ist nicht proportional der Menge des gespaltenen Salicins, weil Traubenzucker und Salicin gegenseitig ihre Drehung beeinflussen (siehe S. 297).

Emulsinmengen:							
1.		5.		10.		25.	
g		g		g		g	
19	5	19	8	21	29	23	62
45	14	45	65	—	—	48	124
—	—	59	79	60	125	62	138
80	24	80	107	80	156	82	149
—	—	101	128	101	164	102	160

Nach 60 Minuten ist die Reaktionsgeschwindigkeit der verdünnten Emulsinlösung am geringsten, sie steigt mit der Concentration des Emulsins, um schliesslich bei grossen Emulsinmengen von der Menge des Emulsins fast unabhängig zu werden.

#### Einfluss der Menge des spaltbaren Stoffes auf den Verlauf der Fermentreactionen.

In dieser Richtung sind früher Versuche von Marckwort und Hüfner<sup>1)</sup> und von Barth<sup>2)</sup> angestellt worden.

1. Barth setzte zu je 100 cbcm. verschiedener Rohrzuckerlösungen 5 mgr. Invertin. Nach einer halben Stunde werden bei 40° C. folgende Mengen von Invertzucker gefunden:

Concentrationen der Rohrzuckerlösungen.	Gebildete Menge Invertzucker.	Relative Menge des gespaltenen Zuckers.
0,5 %	20 mgr.	40
1 »	43 »	43
2,5 »	65 »	26
5 »	100 »	20
7,5 »	100 »	13
10 »	104 »	10
15 »	104 »	7
20 »	83 »	4

<sup>1)</sup> Marckwort u. Hüfner, Journ. f. prakt. Chem., Bd. 11, S. 200, 1875.

<sup>2)</sup> Barth, Berl. Ber., 1878, S. 481.

2. Marckwort und Hüfner liessen bei 50° dieselben Mengen von Emulsin auf Lösungen von Amygdalin folgender Concentration wirken. Nach 15 Minuten waren folgende Mengen von Amygdalin in Procenten der ursprünglich vorhandenen Menge zersetzt. Leider enthielten ihre Lösungen ausserdem noch Glycerin.

Concentration des Amygdalins in Procenten:

0,09 0,08 0,07 0,06 0,05 0,04 0,03 0,02 0,01.

Zersetztes Amygdalin in Procenten des ursprünglich vorhandenen:

0,0 0,0 2,2 10,9 10,9 8,6 6,4 2,2 2,2.

3. Abhängigkeit des Verlaufs der Reaction zwischen Emulsin und Amygdalin von der Amygdalinmenge.

Fügt man zu drei Lösungen, die in je 500 cbcm. I. 2,555 gr., II. 5,110 gr. und III. 10,22 gr. Amygdalin enthalten, gleiche Mengen Emulsin, so findet man nach den Zeiten  $\vartheta$  folgende Mengen Amygdalin in Grammen gespalten. Zur Bestimmung der zersetzten Amygdalinmengen wurde die gebildete Blausäure nach Volhard titirt.

Menge des zersetzten Amygdalins:					
I. 2,555 gr.		II. 5,110 gr.		III. 10,22 gr.	
$\vartheta$		$\vartheta$		$\vartheta$	
4	0,13	4	0,09	4	0,02
8	0,29	10	0,36		
13	0,57	14	0,61	15	0,54
18	0,76	19	0,85	19	0,73
23	0,79	24	1,01	24	0,89
				34	1,10

Die Anfangsgeschwindigkeiten nehmen mit wachsender Amygdalinmenge stark ab. Auf den späteren Verlauf der Reaction ist die Amygdalinmenge von geringem Einfluss: von den drei Curven, die den Verlauf der Reaction darstellen, decken sich I und II, und die Curve III verläuft obigen parallel. Also sind die Geschwindigkeiten, wenn wir von den Anfangsgeschwindigkeiten absehen, innerhalb der untersuchten Concentrationsgrenzen unabhängig von der Menge des Amygdalins.

#### 4. Abhängigkeit des Verlaufs der Inversion von Rohrucker durch Invertin von der Menge des Rohruckers.

Herr cand. chem. G. v. Szablow ski fügte zu je 20 ccm. folgender Rohruckermengen 2 ccm. einer 26 mgr. enthaltenden Invertinlösung. Jene Rohruckerlösungen enthielten in 100 ccm. I. 1 gr., II. 5 gr., III. 10 gr. Rohrucker. Nach der Zeit  $\vartheta$  in Minuten wurde die Abnahme der Drehungswinkel in Minuten im 22 cm. langen Rohr bestimmt.

$\vartheta$	I.	II.	III.	IV.
60	14	0	0	0
600	26	78	160	180
1500	54	262	439	481

Auch hier tritt bei wachsender Rohruckermenge eine starke Verzögerung der Anfangsgeschwindigkeiten der Reaction ein. Auf die dann folgenden Geschwindigkeiten übt die Menge des Rohruckers nur bis zu einer gewissen Concentration einen Einfluss aus.

Betreffs des Einflusses der Menge des der Fermentwirkung unterliegenden Stoffes auf die Geschwindigkeit der Reaction kann man einige allgemeine Regeln, die zur vorläufigen Orientirung genügen, aufstellen. Die Anfangsgeschwindigkeiten sind bei gleichbleibender Fermentmenge in verdünnten Lösungen grösser, als in concentrirten, in letzteren traten häufig sehr starke Verzögerungen des Beginns der Reaction ein. Wenn die Reaction sich fast zur Hälfte verzogen hat, so steigt mit der Concentration der Lösung die Geschwindigkeit der Reaction, wird aber bei einer gewissen Concentration fast unabhängig von der Concentration des zerfallenden Stoffes und fällt schliesslich bei weiterer Steigerung der Concentration ein wenig. In jedem der angeführten Beispiele wird man ein Stück der allgemeinen Regel bestätigt finden.

In gleichen Zeiten wird in verdünnten Lösungen procentisch mehr gespalten, als in concentrirteren.

## Einfluss der Temperatur auf die Geschwindigkeit der Fermentreactionen.

Durch Berthelot's<sup>1)</sup> Bestimmungen der Geschwindigkeiten der Esterbildung wurde die altbekannte Thatsache, dass die Temperatur von grossem Einfluss auf die Geschwindigkeit chemischer Reactionen ist, in anschaulicher Weise illustriert. Der Einfluss der Temperatur auf die Reaktionsgeschwindigkeit ist ein ganz enormer. Reactionen, die bei gewöhnlicher Temperatur Jahre brauchen, um bis zum Gleichgewicht zu gelangen, erreichen dieses bei 200° in wenigen Stunden. Theoretisch und experimentell wurde der Einfluss der Temperatur auf das chemische Gleichgewicht und die Reaktionsgeschwindigkeit von van t'Hoff<sup>2)</sup> behandelt. van t'Hoff hatte gezeigt, dass die Reaktionsgeschwindigkeit eine Exponentialfunction der Temperatur sein müsse. Arrhenius<sup>3)</sup> hat darauf gezeigt, dass in der That eine Exponentialformel mit nur einer Constante, der eine bestimmte physikalische Bedeutung zukommt, die vorliegenden Beobachtungen über den fraglichen Einfluss genügend wiedergibt. Bedeuten  $\rho_1$  und  $\rho_0$  die Reaktionsgeschwindigkeiten bei den absoluten Temperaturen  $T_1$  und  $T_0$ , so ergibt die Gleichung:

$$\rho_1 = \rho_0 e^{A \frac{T_1 - T_0}{T_0 T_1}}$$

die Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Temperatur. Die Constante A ist gleich der halben Wärmemenge in Calorien, welche frei wird, wenn ein Grammmolekül der sich umsetzenden Substanz zerfällt.

Der Einfluss der Temperatur auf die Reaktionsgeschwindigkeit wird aber durch die Constante A bestimmt. Falls ein und derselbe Stoff unter dem Einfluss verschiedener anderer Stoffe, deren Menge sich während der Reaction nicht ändert, zerfällt, so folgt aus der Formel, dass für all' diese Reactionen der Einfluss der Temperatur auf die Geschwindigkeit der

1) Berthelot, Ann. chim. et phys., Bd. 66, S. 116, 1862.

2) van t'Hoff, Etudes de dynamique chimique, Amsterdam 1885.

3) S. Arrhenius, Zeitschrift für phys. Chemie, Bd. 4, S. 227, 1889.

Reaction derselbe bleiben muss. Da der Einfluss der Temperatur auf die Reaktionsgeschwindigkeit nur von der Dissoziationswärme des der Reaction unterliegenden Stoffes abhängt, so muss es offenbar gleichgiltig sein, durch welches Mittel die Reaction hervorgerufen wird, falls nur obiger Bedingung genügt ist.

In Uebereinstimmung mit Obigem ist durch die Untersuchungen von Wilhelmy<sup>1)</sup> und Spohr<sup>2)</sup> bekannt, dass der Temperatureinfluss auf die Reaktionsgeschwindigkeit bei der Inversion des Rohrzuckers durch Säuren unabhängig von der Natur der Säuren ist. Wenn Invertin auf Rohrzucker ähnlich den Säuren wirkt, das heisst sich während der Reaction in keiner Weise verändert, so müsste sich aus den Reaktionsgeschwindigkeiten bei verschiedenen Temperaturen dieselbe Constante A, die den Einfluss der Temperatur auf die Reaktionsgeschwindigkeit bei der Inversion durch Säuren regelt, ergeben. Diese Folgerung trifft nicht zu.

Wir werden sehen, dass die Formel von Arrhenius den Einfluss der Temperatur auf die Reaktionsgeschwindigkeiten der Fermentreactionen nicht darstellt.

Die Gleichung von Arrhenius kann nur auf den Temperatureinfluss solcher Reactionen, die sich mit constanter Geschwindigkeit vollziehen, angewandt werden. Trifft diese Bedingung nicht ein, so müssen die Störungen der Reaction untersucht werden; mit Hilfe solcher Untersuchungen gelingt es dann in einigen Fällen, die normale constante Geschwindigkeit unter Eliminirung der Verzögerungen und Beschleunigungen zu bestimmen. In unserem Falle kann die Bestimmung der Geschwindigkeitsconstante nicht ausgeführt werden, da die Mittel zur Bestimmung der Menge des sich in die unwirksame Modification Verwandeln den fehlen. Trotzdem dürfte die Bestimmung des Temperatureinflusses auf die der Beobachtung zugänglichen Geschwindigkeiten, die als Differenzen zweier respective von drei verschiedenen Geschwindigkeiten aufzufassen sind, nicht ohne Interesse sein.

<sup>1)</sup> Wilhelmy, Pogg. Ann., Bd. 81, S. 413, 1850.

<sup>2)</sup> Spohr, Zeitschrift für phys. Chemie, Bd. 2, S. 195, 1888.



Gewöhnlich wird die Anfangsgeschwindigkeit nicht normal verlaufender Reactionen diejenige sein, die von Beschleunigungen und Verzögerungen am wenigsten betroffen wird, weil beim Beginn der Reaction die störenden neugebildeten Producte in geringen Mengen vorhanden sind. Allerdings kennt man aber auch Reactionen, die gerade in ihrem anfänglichen Verlauf stark verzögert werden (Photochemische Induction, Auflösung von Metallen in Säuren).

Für drei Reactionen, der Wirkung von Invertin und Diastase auf Rohrzucker und der Wirkung des Emulsins auf Salicin bestimmte Herr v. Szablowski die Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeiten von der Temperatur.

### I. Invertin und Rohrzucker.

Das Invertin wurde nach den Angaben von Barth<sup>1)</sup> dargestellt. Der Hefenextract wurde mit Alkohol fractionirt gefüllt, so dass die erste Fraction  $\frac{2}{3}$  und die zweite  $\frac{1}{3}$  des gesammten Niederschlags betrug. Gleiche Mengen der beiden Fractionen invertirten Rohrzuckerlösungen mit fast gleicher Geschwindigkeit. Es wurde daher zu den Versuchen ein Gemenge beider Fractionen benutzt.

Zu je 50 ccm. enthaltend 5,5 gr. Rohrzucker wurden, nachdem sie die Temperatur des Thermostaten angenommen hatten, 5 ccm. Lösung von der Temperatur  $20^{\circ}$ , enthaltend 0,116 gr. Invertin, zugefügt. Von Zeit zu Zeit wurde mit einem Theil des Reaktionsgemisches eine 2 dm. lange, auf die Temperatur des Thermostaten vorgewärmte Röhre gefüllt, und aus 5 Einstellungen der Drehungswinkel für die seit Beginn der Reaction verflossene Zeit  $\vartheta$  interpolirt. Bei der Temperatur  $t^{\circ}$  wurden nach der Zeit  $\vartheta$  in Minuten die Drehungswinkel  $D$  in Minuten beobachtet. Unter  $\Delta$  sind die Differenzen der ursprünglichen und der nach der Zeit  $\vartheta$  beobachteten Drehungswinkel verzeichnet. Bei derselben Temperatur sind diese Drehungswinkel proportional den gebildeten Invertzuckermengen.

<sup>1)</sup> Barth, Berl. Ber., 1878, S. 481.

1. t = 0"			2. t = 21,0"			3. t = 30,1"			4. t = 39,8"			5. t = 50,2"			6. t = 60,5"		
g	D	Δ	g	D	Δ	g	D	Δ	g	D	Δ	g	D	Δ	g	D	Δ
0	813	—	0	813	—	0	813	—	0	813	—	0	813	—	0	813	—
20	806	7	32	785	28	30	772	41	30	744	69	29	777	36	20	772	41
72	800	13	60	734	79	60	693	120	60	658	155	50	741	62	52	759	54
120	788	25	90	686	127	90	621	192	90	568	245	85	692	121	93	756	57
155	784	29	120	641	172	110	576	237	120	482	331	115	647	166	148	738	75
—	—	—	153	589	224	135	514	299	145	423	390	150	596	217	170	735	78
—	—	—	—	—	—	150	482	321	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tafel VI.

## II. Diastase und Rohrzucker.

Die Diastase wurde nach den Angaben von Lintner<sup>1)</sup> dargestellt. Zu je 40 ccm. einer 4,5 gr. Rohrzucker enthaltenden Lösung wurden, nachdem diese Lösungen die Temperatur des Thermostaten angenommen hatten, je 5 ccm. einer Lösung von 0,05 gr. Diastase von 20° C. gefügt. Nach der Zeit g wurden 5 ccm. der Reactionsgemische zu überschüssiger Fehling'scher Lösung gesetzt und die überschüssige Fehling'sche Lösung mit Invertzuckerlösung zurücktitriert. Tabellirt wurden die Mengen gespaltenen Rohrzuckers in Milligrammen, die sich in je 5 ccm. des Reactionsgemisches nach der Zeit in Minuten gebildet hatten.

t = 20,3"		t = 30,2"		t = 40,0"		t = 50,0"		t = 60,9"		t = 70,3"	
g		g		g		g		g		g	
30	0	30	0	30	0	30	1	30	0,5	35	3
60	0	60	0	60	0	60	2	60	1,5	130	3
95	0	80	1	220	5	185	7	110	3,5	255	2,5
1050	8	125	2	237	5	240	9	180	4,5	450	3
1090	8,5	257	3,5	365	8	300	11	285	7,5	1325	5,5
1410	11,5	435	6	495	11	360	13,5	390	10	—	—
1480	12	1265	30	1360	53	480	19	495	11	—	—
—	—	1500	40	—	—	1320	115	1385	29,5	—	—

Tafel VII.

<sup>1)</sup> Lintner, Journ. f. prakt. Chem., Bd. 34, S. 378, 1886.

## III. Emulsin und Salicin.

Nachdem 40 ccm. einer 1,2 gr. Salicin enthaltenden Lösung in Thermostaten vorgewärmt waren, wurden zu diesen 5 ccm. einer 0,03 gr. Emulsin enthaltenden Lösung von 20° C. gefügt. Nach der Zeit  $\vartheta$  wurde in 5 ccm. des Reactionsgemisches die Menge des gebildeten Traubenzuckers in Milligrammen bestimmt und tabellirt.

t = 0°		t = 20,5°		t = 30°		t = 40,2°		t = 50,3°		t = 60,6°		t = 70,0°	
$\vartheta$		$\vartheta$		$\vartheta$		$\vartheta$		$\vartheta$		$\vartheta$		$\vartheta$	
25	0,5	20	3	20	8	20	12	20	17,5	5	7	5	6,5
55	2,0	40	6	40	14	40	21	40	30	10	10,0	10	8
85	2,5	60	10	61	20,5	60	29	70	40	15	13,5	15	10
115	3,0	85	14	81	27	80	36	80	44,5	20	18	20	11,5
150	4,0	110	17	105	33	105	42	100	51	30	19	25	11,5
—	—	125	19	130	37,5	118	47	120	54,5	45	24	40	12
—	—	150	22,5	155	41,5	135	51,5	140	57	66	28,5	60	12,5
—	—	—	—	—	—	153	55,5	160	59,5	85	32	85	13
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	105	34	115	13,5
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	125	36	145	14
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	160	37,5	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	265	40,0	—	—

Tafel VIII.

Ueberblickt man die graphische Darstellung der Resultate, so bemerkt man, dass die Reaction zwischen Invertin und Rohrzucker (Tafel VI) wie die zwischen Diastase und Rohrzucker (Tafel VII) mit verzögerten Geschwindigkeiten beginnt; diese Verzögerung ist zwischen 21° und 40° sehr merkbar, bei 50° ist dieselbe nicht mehr wahrnehmbar. Die Reaction des Emulsins auf Salicin (Tafel VIII) beginnt mit grosser Anfangsgeschwindigkeit, die sich dann verzögert. Bis 50° wachsen die Anfangsgeschwindigkeiten für die Wirkung des Emulsins und Invertins mit der Temperatur. Die Anfangsgeschwindigkeit der Diastasewirkung wächst noch bei 70°. Ueber 50° vollziehen sich die Reactionen mit grosser Anfangsgeschwindigkeit, die sich rasch verzögert. Die Anfangs- als auch Mittelgeschwindigkeiten erreichen bei etwa

50° respective 70°, wahrscheinlich bei der Temperatur des Maximums der Endzustände, ein Maximum.

Wir haben hier eine auffallende Ausnahme vom Fundamentalgesetz über den Einfluss der Temperatur auf die Reaktionsgeschwindigkeit zu verzeichnen. Doch ist dieselbe nur scheinbar. Die Geschwindigkeit des Zerfalles des der Wirkung unterliegenden Stoffes nimmt bei steigender Temperatur offenbar nicht ab, aber das die Spaltung verursachende Ferment zerfällt bei steigender Temperatur mit wachsender Geschwindigkeit.

In den Systemen, die den Endzustand unterhalb der Temperatur des Maximums erreichen, ist das Ferment noch wirkungsfähig, in anderen Systemen ist dasselbe zerstört. Weil das Ferment über der Temperatur des Maximums rasch zerfällt, vernichtet wird, darum besitzen auch die Geschwindigkeiten ein Temperatur-Maximum. Mit steigender Temperatur wächst die Geschwindigkeit der Reaction, nach der sich das Ferment spaltet, viel schneller als die der Fermentreaction. Bei 70—80° wird die Geschwindigkeit dieser Reaction so gross, dass das Ferment zum allergrössten Theil früher zerfallen ist, bevor es eine erhebliche Wirkung geäussert hat.

Obwohl für keine der untersuchten Reactionen eine Geschwindigkeitsconstante beobachtet werden kann, so kann doch für jede Reaction die Geschwindigkeit derselben zu einer gegebenen Zeit angegeben werden. Die Winkel, welche die Tangenten an die Geschwindigkeitscurven mit der Abscissenaxe bilden, sind proportional den Reaktionsgeschwindigkeiten. Falls die Curven, wie beim Invertin und der Diastase, fast geradlinig verlaufen, gibt das Verhältniss von Ordinate zur Abscisse die Geschwindigkeit. Bestimmt man für die geradlinigen Curvenstücke verschiedener Temperatur die Ordinaten derselben Abscisse ( $\vartheta$ ), so sind diese proportional den Geschwindigkeiten nach der Zeit  $\vartheta$ .

Für die Reaction der Diastase sind die Ordinaten für die Zeit  $\vartheta = 500$  Minuten, für die Invertinreaction für die Zeit  $\vartheta = 80$  Minuten entnommen. An die Geschwindigkeitscurven, die den Verlauf der Reaction zwischen Emulsin und

Salicin darstellen, sind Tangenten an die Curven im Anfangspunkte dieser gezogen und für die Zeit  $\vartheta = 20$  die Ordinaten der Tangenten, die proportional den Anfangsgeschwindigkeiten sind, aus der Tafel entnommen.

Bei der Invertinreaction sind die Ordinaten bei verschiedenen Temperaturen noch nicht proportional den Geschwindigkeiten bei verschiedenen Temperaturen, da die spezifische Drehung des Invertzuckers bei steigender Temperatur stark abnimmt. Dieselben brauchen nur mit dem Factor

$$0,833$$

$$66,1 + (27,9 - 0,32 t)$$

multipliziert zu werden, um bei verschiedenen Temperaturen die Menge des gebildeten Invertzuckers in Milligrammen zu erhalten.

Setzen wir den Werth der Geschwindigkeit für die Temperatur  $0^\circ$  (bei der Diastasereaction für  $t = 20,3^\circ$ ) gleich der Einheit, so erhalten wir für:

Emulsin und Salicin.		Invertin und Rohrzucker.		Diastase und Rohrzucker.	
$t^\circ$	Geschwindigkeiten.	$t^\circ$	Geschwindigkeiten.	$t^\circ$	Geschwindigkeiten.
0	1,0	0	1,0	20,3	1,0
20,5	2,3	21	6,2	30,2	2,1
30,0	5,8	30	9,4	40,0	3,2
40,2	8,8	40	12,6	50,0	5,8
50,3	15,8	50	16,8	60,9	3,6
60,6	13,3	60,5	2,9	70,3	1,0
70,0	12,3	—	—	—	—

Es folgen die Geschwindigkeiten der Inversion des Rohrzuckers durch Salicin nach den Bestimmungen von Urech<sup>1)</sup>. Die Geschwindigkeitsconstante für  $1^\circ$  ist gleich der Einheit gesetzt.

$t$	Geschwindigkeiten.
1	1,0
10	5,0
20	23,0
30	98,9
40	335,8

<sup>1)</sup> Urech, Berl. Ber., 1884, S. 2175.

Auf der Tafel IX überblickt man den Einfluss der Temperatur auf die Geschwindigkeit der untersuchten Reactionen, nebst dem auf die Geschwindigkeit der Inversion des Rohrzuckers durch Säuren. Der Einfluss der Temperatur auf die Geschwindigkeiten der Fermentreactionen ist aber sehr viel geringer, als der auf dieselben Reactionen, falls diese durch andere Ursachen veranlasst werden. Ferner sind vor allen anderen Reactionen die Fermentreactionen dadurch ausgezeichnet, dass ihre Geschwindigkeiten ein Temperaturmaximum besitzen, welches jenen fehlt.

Für die drei untersuchten Fälle liegen die drei Maxima sehr angenähert bei derselben Temperatur, es ist dieses Zusammentreffen durch die Concentration des Ferments bedingt. Wie die Temperaturmaxima der Endzustände von der Concentration des Ferments abhängig sind, bei abnehmender Concentration verschob sich das Maximum der Endzustände zu niedrigeren Temperaturen, so wird das Maximum der Geschwindigkeit sich bei abnehmender Fermentmenge in der gleichen Richtung verschieben.

Diese Verhältnisse sind zu berücksichtigen, wenn aus den Temperaturen der maximalen Geschwindigkeiten der Reaction, die zwei Fermente verschiedener Abkunft hervorrufen, bindende Schlüsse auf die Gleichartigkeit beider Fermente gezogen werden sollen.

Fick, Murisier<sup>1)</sup> und Hoppe-Seyler<sup>2)</sup> fanden, dass die salzsauren Extracte aus dem Magen von Kaltblütern bei 20°, die aus dem Magen von Warmblütern bei 40° das Maximum der Geschwindigkeit, mit der sie geronnenes Eiweiss lösen, besitzen. Der Unterschied in den Temperaturen des Maximums veranlasst die Verfasser zum Schluss, dass die eiweisslösenden Fermente im Magen der Warm- und Kaltblüter chemisch verschieden sind. Mit mehr Wahrscheinlichkeit dürfte geschlossen werden, dass die Fermentlösungen im Magen der Kaltblüter verdünnter sind, als im Magen der Warmblüter.

<sup>1)</sup> Fick u. Murisier, Verhandl. d. phys.-med. Ges. zu Würzburg, Bd. 4, S. 120, 1873.

<sup>2)</sup> Hoppe-Seyler, Pflüger's Arch., Bd. 14, S. 395, 1877.

## Der Verlauf der Fermentreactionen unter Einfluss fremder Stoffe.

Wie die Geschwindigkeit aller chemischen Reactionen durch Zusatz eines fremden Stoffes immer, wenn auch manchmal sehr wenig, beeinflusst wird, so werden auch die Fermentreactionen durch jeden Zusatz beeinflusst.

Es können drei Fälle unterschieden werden: 1. Der Zusatz wirkt nur verändernd auf das Lösungsmittel, in dem die Reaction vor sich geht. Die Folgen davon sind sehr geringe Beschleunigungen oder Verzögerungen der Reaction. 2. Der Zusatz führt das Ferment in die wirkungsfähige, aber unter den durch den Zusatz hervorgerufenen Bedingungen nicht wirkende Fermentmodification über. 3. Das Ferment zerfällt unter dem Einfluss des Zusatzes in andere Stoffe, aus denen es sich nicht wieder zurückbilden kann.

1. Beispiele für die erste Kategorie findet man in folgenden Beobachtungen: Lintner<sup>1)</sup> bestimmte die in einer Stunde durch Diastase veränderten Stärkemengen und fand, dass ein Zusatz von Chlornatrium, Chlorkalium und Chlorealcium bis zu 0,5% ohne Einfluss auf die Geschwindigkeit der Reaction ist, dass bei etwas grösseren Zusätzen die Reaction ein wenig beschleunigt wird.

Nach Cohnheim wirkt das Speichelferment am schnellsten in neutralen Lösungen, diese Wirkung wird wenig beeinträchtigt durch Zusatz geringer Mengen von Säuren, Ammoniak und Natriumcarbonat.

2. Zu denjenigen Stoffen, die die Fermente in ihre nicht wirksame, aber doch wirkungsfähige Modification überführen, gehören vor allen Dingen die Spaltungsproducte der Fermentreactionen. Ein Zusatz der Spaltungsproducte oder in vielen Fällen auch nur eines der Spaltungsproducte wird die Geschwindigkeit der Reaction immer verzögern. Es möge hier ein Beispiel für die Geschwindigkeitverzögerung durch Zusatz von einem der Spaltungsproducte folgen.

<sup>1)</sup> Lintner, Journ. f. prakt. Chem., Bd. 36, S. 487, 1887.

Gleiche Mengen Invertin wirkten bei 20° I. auf eine 5% Rohruckerlösung, II. auf eine ebenfalls 5% Rohruckerlösung, die ausserdem noch etwa 5% Invertzucker enthielt. Unter I und II sind die nach der Zeit  $\vartheta$  beobachteten Drehungswinkel im 2 dm.-Rohr verzeichnet. Unter  $\Delta$  finden sich die Differenzen der anfänglichen und der folgenden Drehungswinkel, aus denen man den stark verzögernden Einfluss des Zusatzes von Invertzucker ersieht.

$\vartheta$	I.	$\Delta$	II.	$\Delta$
0	+ 400		+ 280	
360	+ 348	52	+ 255	25
1410	— 16	415	— 115	165
2835	— 123	523	— 7	287
5790	— 143	543	— 108	388

Ausser den Spaltungsproducten verändern noch andere Stoffe das Ferment, indem sie dasselbe in die unwirksame Modification überführen. V. Paschutin<sup>1)</sup> untersuchte die Wirkung des Speichelferments und der Diastase auf Stärke und fand, dass Schwefelsäure, die in concentrirteren Speichellösungen die Geschwindigkeit der Reaction sehr herabsetzt, in verdünnten Speichellösungen die Fermentation vollständig verhindert. Man braucht aber nur zu neutralisiren, so beginnt abermals die Wirkung. Dasselbe gilt für Einfluss des Alkalis.

3. Vermindert ein minimaler Zusatz gewisser Stoffe die Reactionsgeschwindigkeit sehr bedeutend und ein grösserer Zusatz verhindert die Reaction vollständig. In solcher Weise wirken freie Säuren, Basen und die Salze der schweren Metalle; diese Stoffe zerstören in vielen Fällen das Ferment vollständig.

Die ungeformten Fermente beschleunigen, wie die katalytisch wirkenden Säuren, hydrolytische Reactionen, unterscheiden sich aber von diesen in charakteristischer Weise.

<sup>1)</sup> V. Paschutin, Archiv f. Anatomie u. Physiologie, 1871, S. 304.



1. Die Säuren beschleunigen alle Hydrolysen, die Fermente nur wenige. Wird eine Hydrolyse von einer Säure beschleunigt, so wirken alle anderen Säuren ebenfalls beschleunigend. Die Wirkung, welche ein bestimmtes Ferment ausübt, vermag in der Regel andere Fermente nicht hervorzurufen.

2. Die Reactionen ungeformter Fermente sind im Gegensatz zu denen der Säuren unvollständig, weil das Ferment sich während der Reaction in eine nicht wirksame Modification umwandelt. Diese Umwandlung ist in der Regel früher vollendet, bevor die Fermentreaction vollendet ist.

3. Die Umwandlung der wirksamen Modification in die unwirksame, die Lähmung des Ferments, wird durch die Spaltungsproducte veranlasst, doch kommt nicht diesen ausschliesslich jene Eigenschaft zu. Die unwirksame Fermentmodification ist nur unter den Bedingungen des Endzustandes existenzfähig; werden diese verändert, so kann die Reaction weiter verlaufen. Erhöhung der Temperatur, Verdünnen oder Fortschaffung der Spaltungsproducte veranlassen die Rückbildung der wirksamen stabilen Modification aus der unwirksamen. Durch Erniedrigung der Temperatur, Concentrirung oder Vermehrung der Spaltungsproducte kann die Reaction nicht von Neuem in Gang gebracht werden.

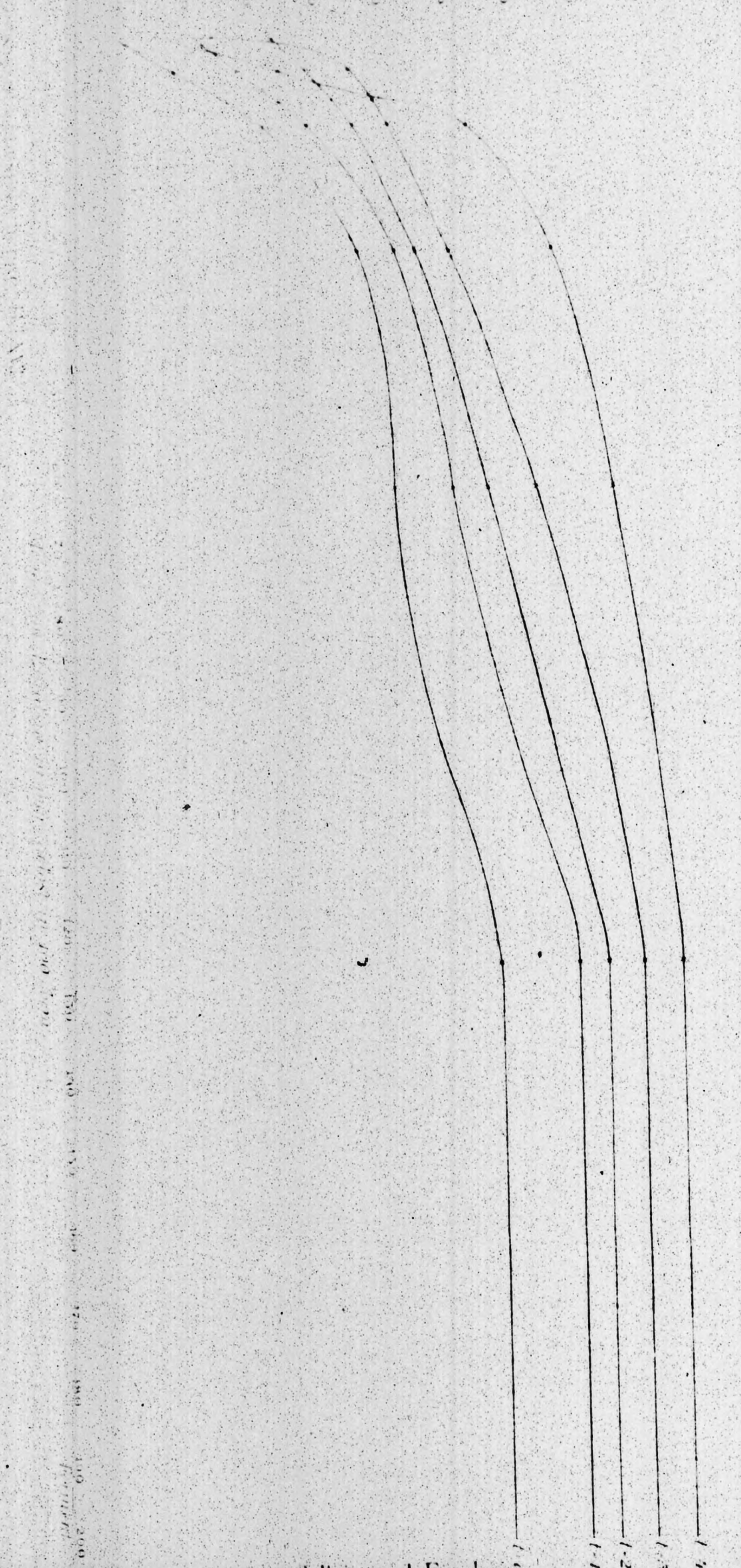
4. Bei Temperaturen über der des Maximums der Endzustände macht sich in sehr merklicher Weise eine zweite Reaction, der das Ferment unterliegt, geltend. Diese ist im Gegensatz zu der Umwandlung des Ferments in seine labile Modification nicht umkehrbar.

Diese Sätze sind theils directe Ergebnisse, theils nur Umschreibungen experimenteller Resultate. Es bleibt für's Erste unentschieden, ob es allein mit Hilfe dieser Sätze und der Anwendung der Gesetze für den Verlauf nicht complicirter Katalysen, nach Ausführung der nöthigen Versuche, gelingen wird, die beiden Hauptprobleme, die Vorausberechnung der Endzustände und des Verlaufs der Fermentreactionen, zu lösen. Die Berechnung der Endzustände über

der Temperatur des Maximums dürfte am leichtesten ausführbar sein; schwieriger wäre die Vorausberechnung der Endzustände unterhalb der Temperatur des Maximums und am schwierigsten die Darstellung des Verlaufs der Fermentationen. Nach der Lösung dieses letzten Problems wäre die Theorie der Fermentreactionen als abgeschlossen zu betrachten.

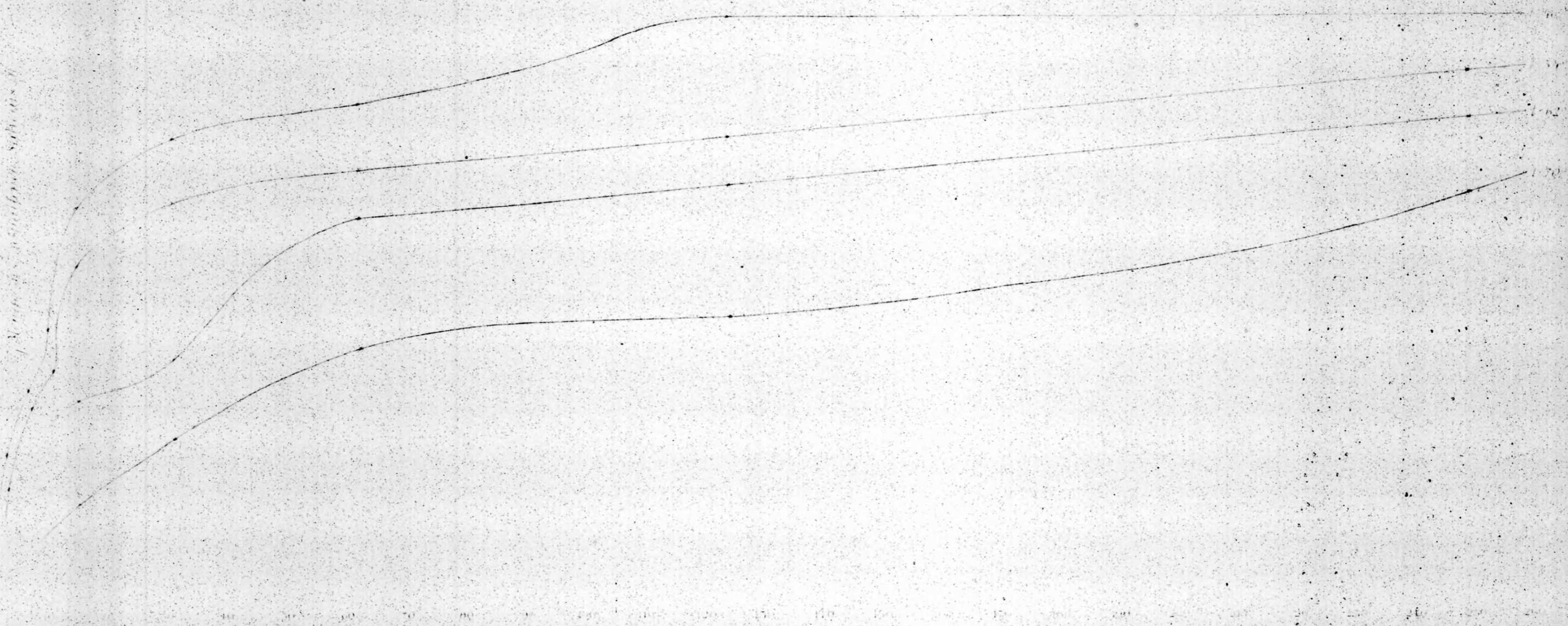
Dorpat, im December 1891.

Procente zersetzten Salicins



Salicin und Emulsm

?

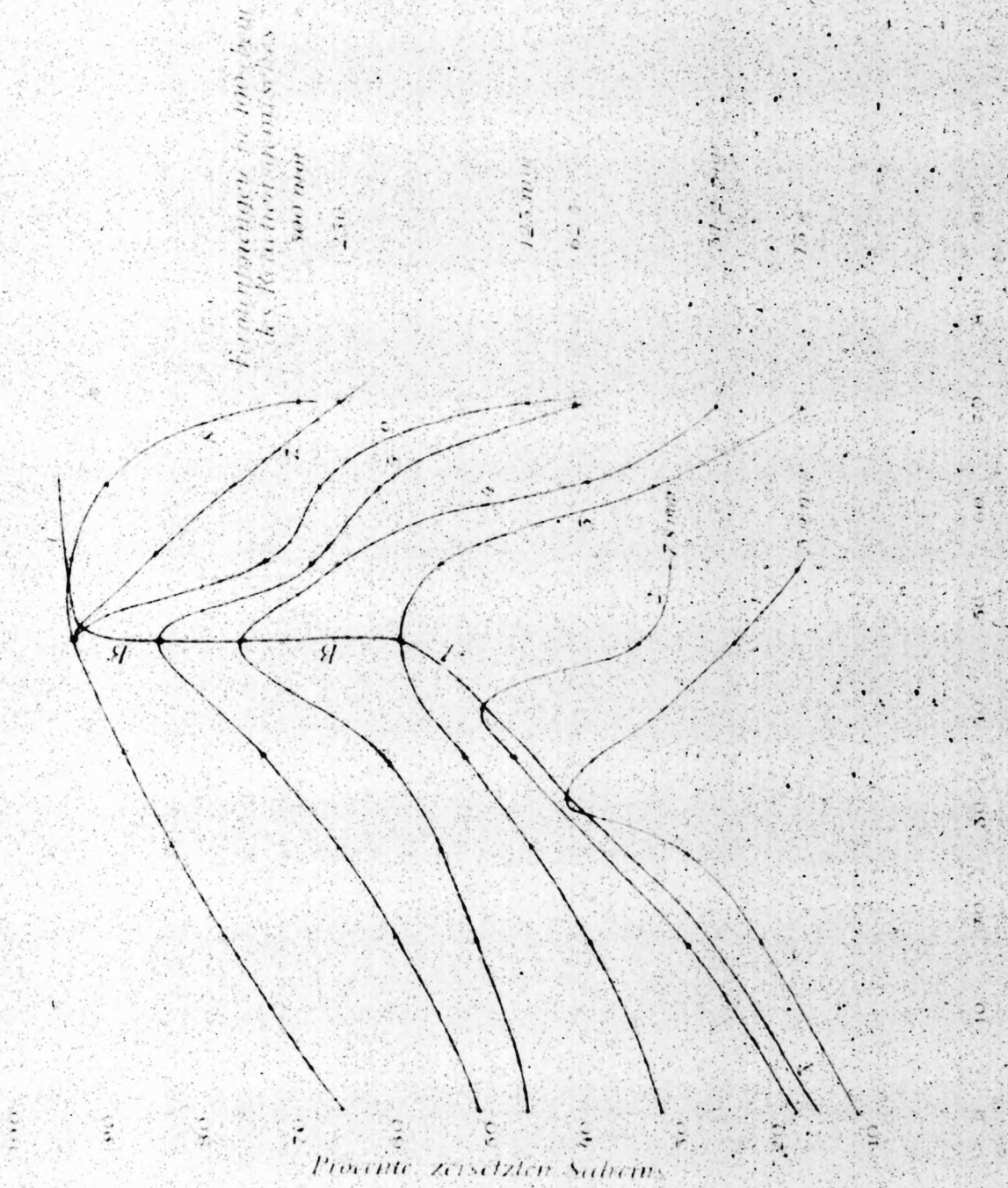


Menge von Emulsion die in 100 ccm gelöst werden kann

Salicin und Emulsin

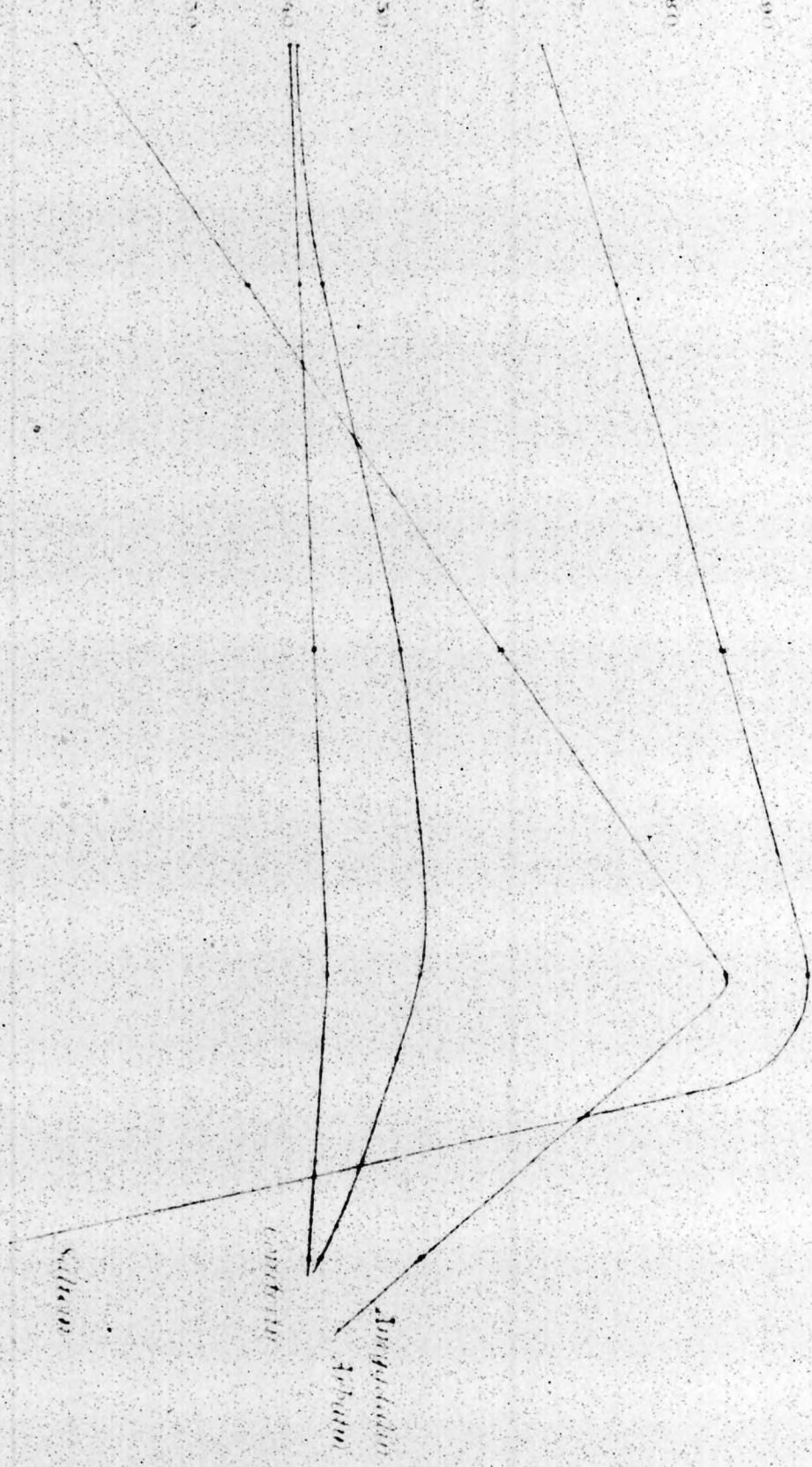
Isothermen über dem Temperaturmaximum





Salicin und Emulsin.  
Curven gleicher Fermentmenge

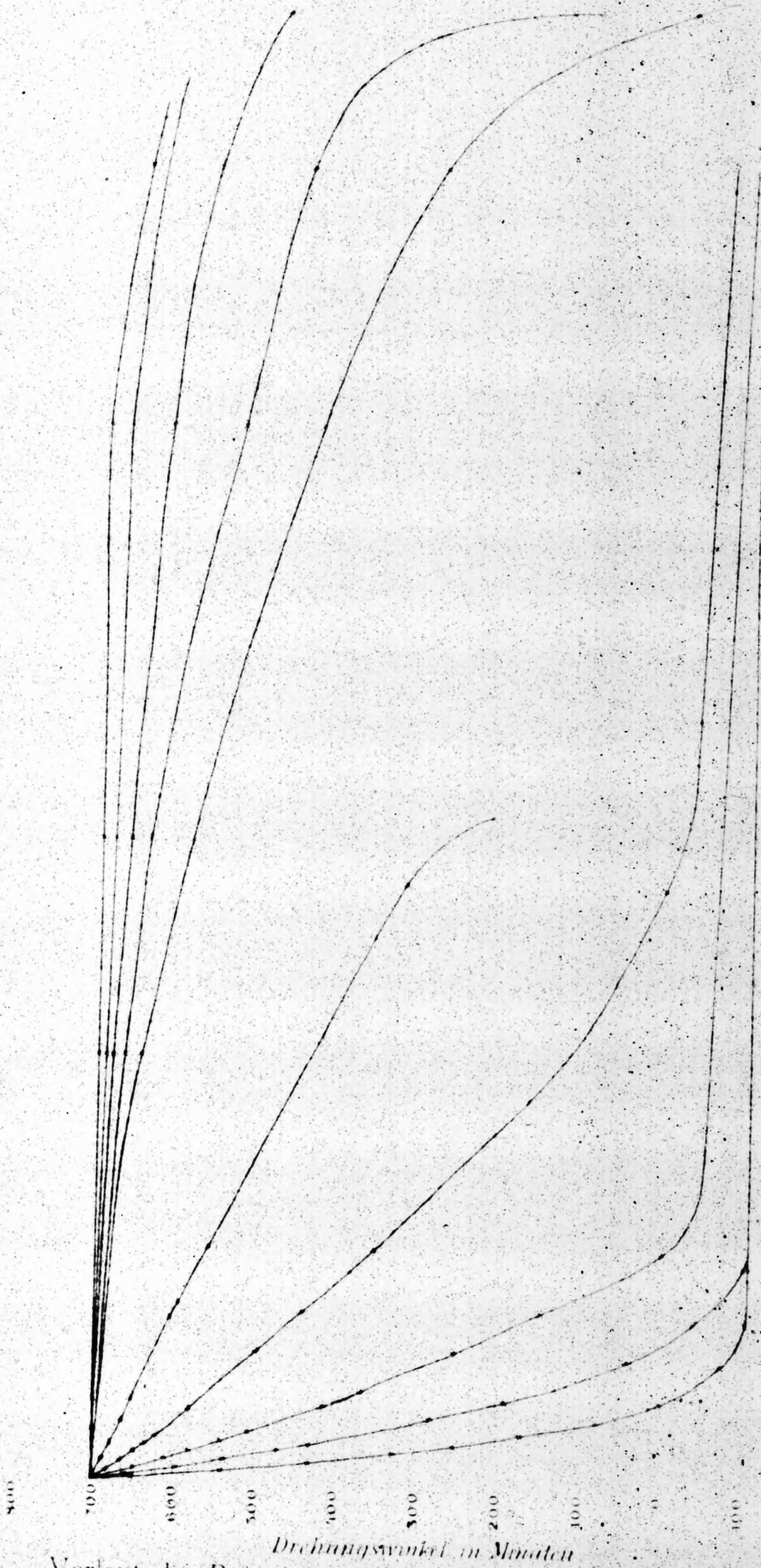
Zersetzte Substanz in Procenten



Zeitschrift für Pharmazie, Bd. VII

Fig. 100

Isothermen der Endzustände bei der Wirkung von Emulsin auf Salicin, Amygdalin, Coniferin und Arbutin.

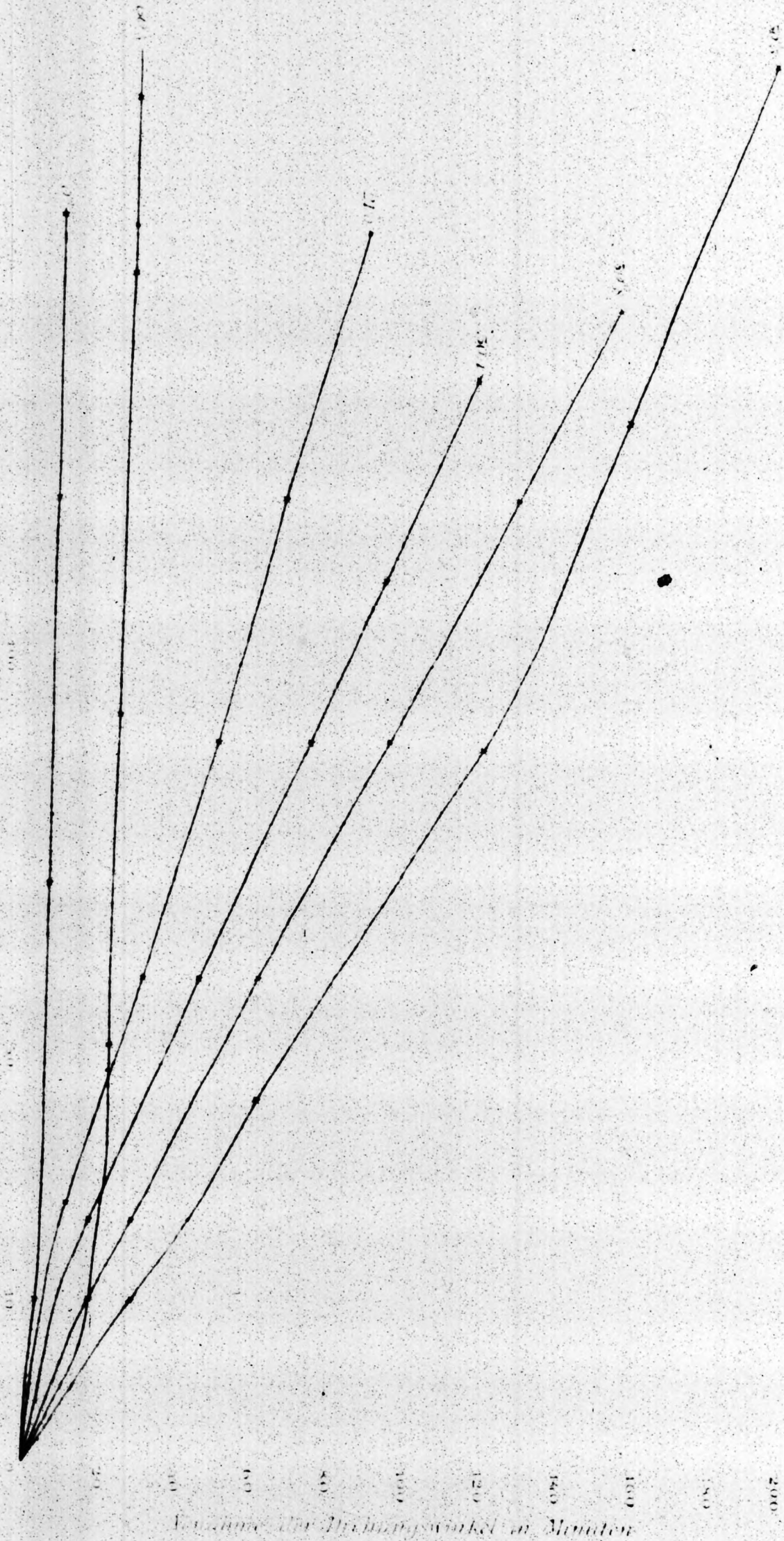


Verlauf der Reaction zwischen Rohrzucker und Invertin  
bei wechselndem M...

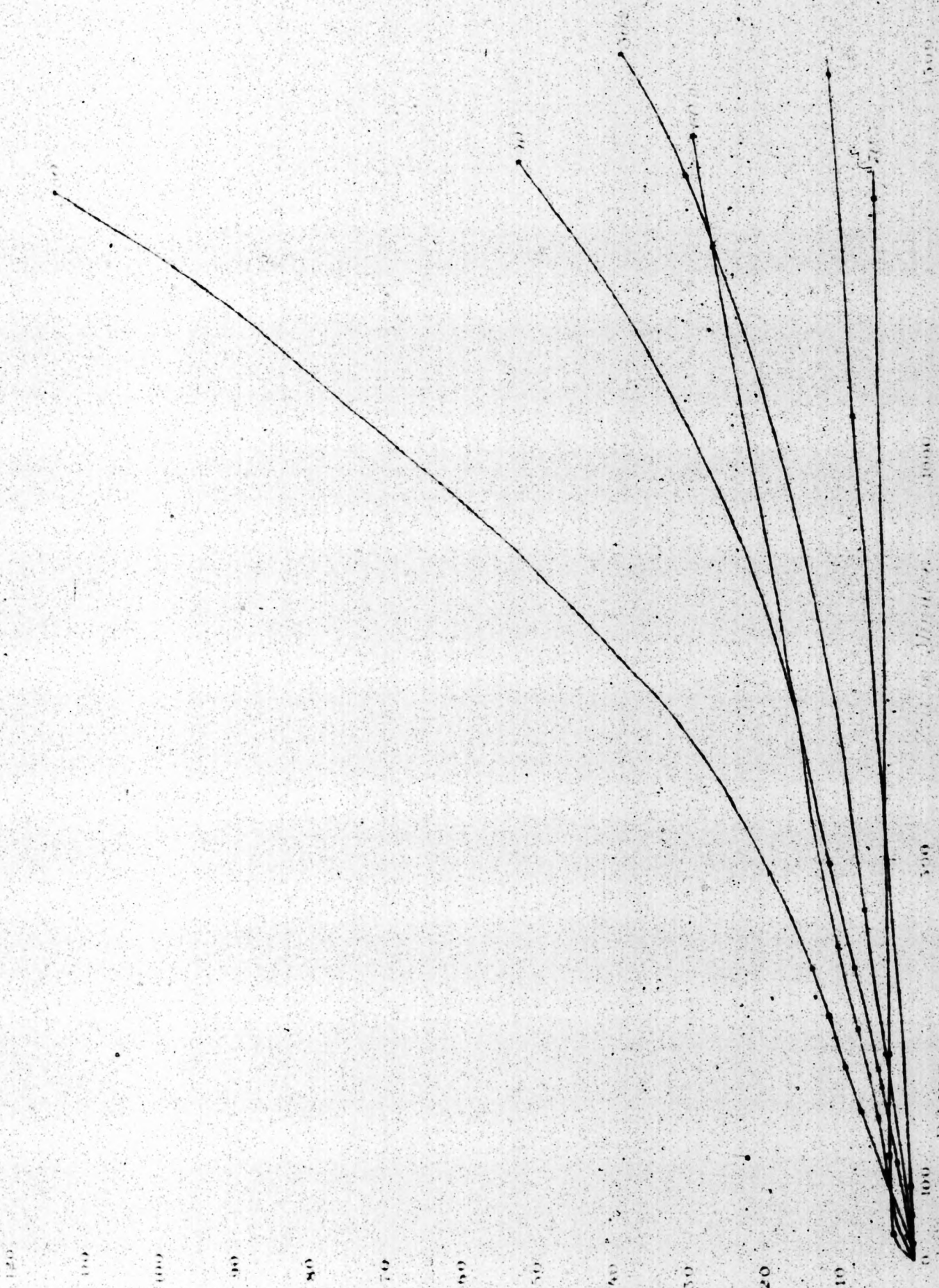
0.5 200 400 600 800 1000 1200 1400 1600 1800 2000 2200 2400 2600 2800 3000 3200 3400 3600 3800 4000 4200 4400 4600 4800 5000 5200 5400 5600 5800 6000 6200 6400 6600 6800 7000 7200 7400 7600 7800 8000 8200 8400 8600 8800 9000 9200 9400 9600 9800 10000

Zeitschrift für physikalische Chemie, Bd. XVI





Verlauf der Reaction von Invertin auf Rohrzucker

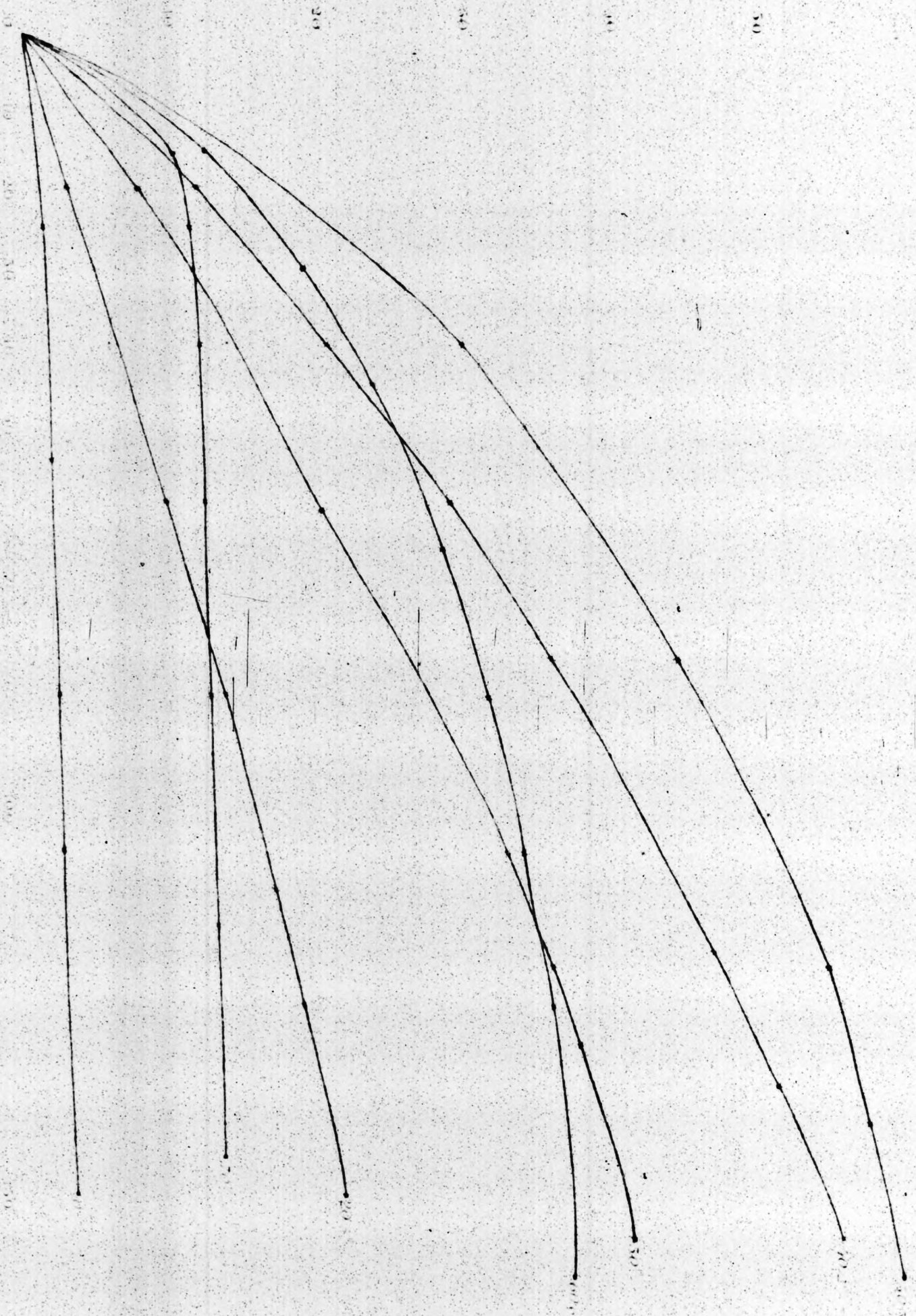


Mengen von gespaltenem Rohrzucker in Milliarammen

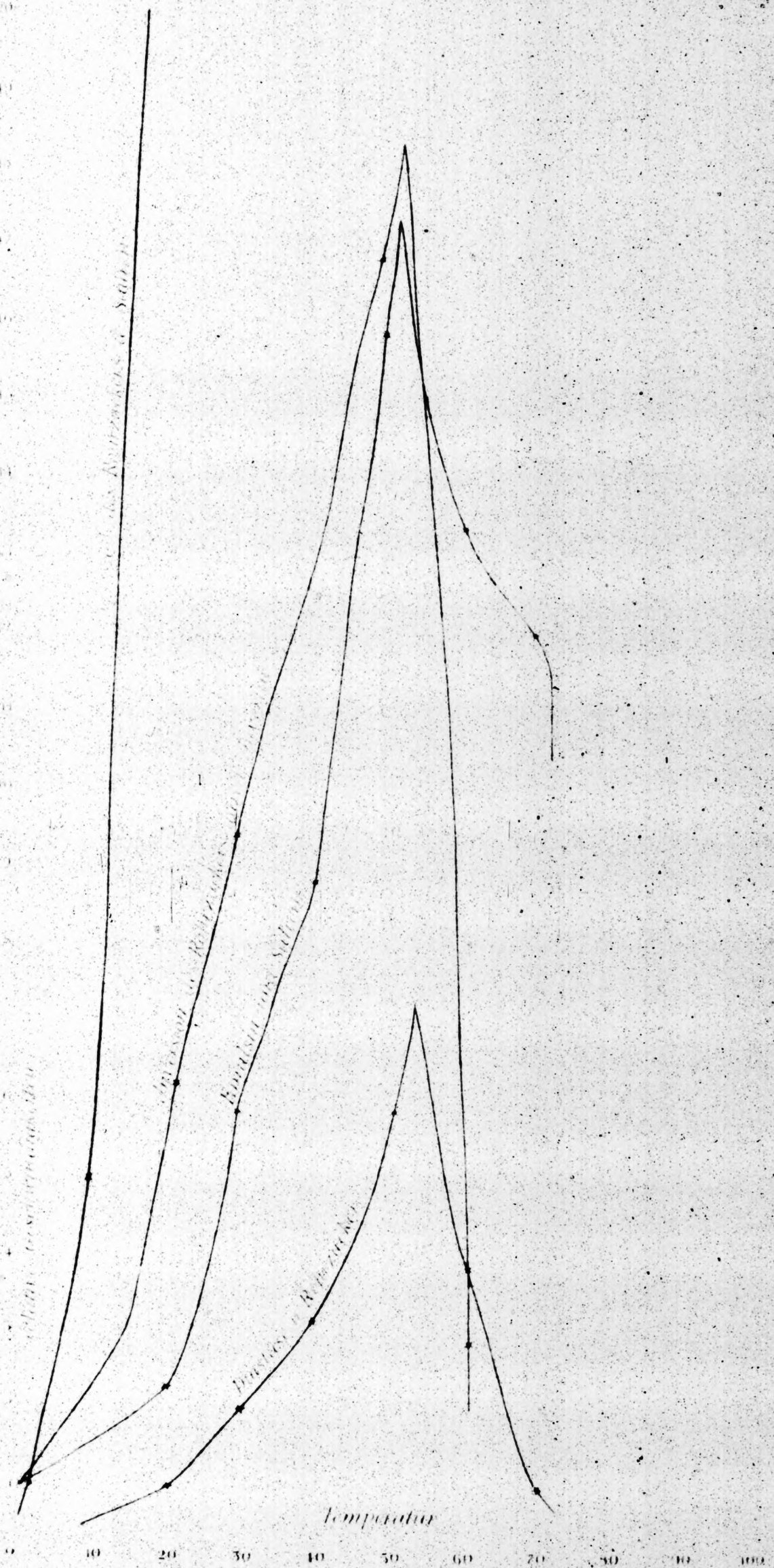
Zeit in Minuten

Verlauf der Reaction von Diastase auf Rohrzucker

Menge des gebildeten Traubenzuckers in Milligrammen



Verlauf der Reaction von Emulsin auf Salicin.



Einfluss der Temperatur auf die Reaktionsgeschwindigkeit