

Chemische Dynamik der zellfreien Gärung.

Von

Hans Euler.

(Aus dem chem. Laboratorium der landwirtschaftlichen Hochschule zu Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 3. Februar 1905.)

Die Frage, ob die Enzyme wesentlich denselben Gesetzen gehorchen wie die gelösten anorganischen Katalysatoren, ist bekanntlich verschieden beantwortet worden. Abweichungen von den Gesetzen der Reaktionskinetik hat man bei allen bis jetzt untersuchten Fermenten gefunden. Die Abweichungen können durch den kolloidalen Zustand der Enzyme bedingt sein, ist doch hier die Grundlage der Reaktionskinetik, die Gültigkeit der osmotischen Gesetze, unsicher. Für die Geschwindigkeit der Kolloidreaktionen können außerdem andere Größen in Betracht kommen, als für Reaktionsgeschwindigkeit in echten Lösungen.

Nun sind auch die Resultate der verschiedenen enzymologischen Untersuchungen nicht ohne weiteres vergleichbar. Viele derselben, besonders die früheren, sind im heterogenen System ausgeführt worden. Man könnte dies zwar von allen Reaktionen behaupten, bei welchen Kolloide beteiligt sind. Indessen braucht die Homogenität der kolloidalen Lösungen hier nicht diskutiert zu werden: den Unterschied zwischen solchen Reaktionen, bei welchen die beiden Medien durch eine Membran getrennt sind, durch welche das Substrat zum Enzym diffundieren muß, und Reaktionen, bei welchen eine solche trennende Schicht nicht besteht, wird jedermann als so erheblich anerkennen, daß man jedenfalls nicht von vornherein die gleichen Gesetze zu finden erwarten darf. Selbst wenn beide Systeme heterogen sind, so sind sie es in ganz verschiedenem Grad und Sinn.

Die Reaktionsgesetze der alkoholischen Gärung des Zuckers sind von J. H. Abersson¹⁾ an lebender Hefe und von R. O. Herzog²⁾ an Acetondauerhefe studiert worden. In beiden Fällen geht die Reaktion im Innern der Zellen vor sich, wohin der Zucker durch Diffusion gelangen muß. Die Deutung der Ergebnisse wird dadurch nicht einfach, wie auch Herzog³⁾ in einer späteren Ausführung sagt.

Die Bedingung der Homogenität ist, jedenfalls sehr viel weitgehender, im Buchnerschen Preßsaft erfüllt, und E. Buchner hat auch auf die Notwendigkeit hingewiesen, an demselben die Gesetze der Zymasewirkung zu studieren.⁴⁾ Die folgenden Versuche sind in seinem Laboratorium ausgeführt, und ich spreche Herrn Prof. Buchner auch an dieser Stelle für die Mitteilung seiner reichen Erfahrungen auf dem Gebiet der Gärungschemie meinen besten Dank aus.

Beschleunigt die Zymase die alkoholische Gärung des Traubenzuckers wie ein Katalysator nach Ostwaldscher Definition in homogenem System, so sind in Lösungen, welche Zymase und Dextrose enthalten, folgende Beziehungen zu erwarten:

1. Bei gegebener Konzentration der Zymase: Proportionalität zwischen der in jedem Moment vergorenen Zuckermenge und der Konzentration des Zuckers; es soll also, wenn a die Anfangskonzentration des Zuckers und x die zur Zeit t umgesetzte Menge desselben bedeuten, der Ausdruck

$$\frac{1}{t} \ln \frac{a}{a-x} = k$$

konstant sein, also unabhängig von der Zeit t und der Anfangskonzentration a des Zuckers.

2. In Analogie mit der Inversion des Rohrzuckers durch Salzsäure: Proportionalität zwischen der Konzentration der Zymase (des Preßsaftes) und der Reaktionskonstanten k .

¹⁾ Rec. Trav. chim. d. Pays-Bas, Bd. XXII, S. 78, 1903.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXVII, S. 149, 1902.

³⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLI, S. 416, 1904.

⁴⁾ Ber. d. d. chem. Gesellschaft, Bd. XXXVII, S. 423, 1904.

Bevor an die Prüfung dieser Beziehungen gegangen werden konnte, wurden einige Vorversuche notwendig, über die zunächst berichtet werden soll.

Versuchsmaterial und Methoden.

Der Hefepreßsaft wurde aus untergäriger Bierhefe¹⁾ in der von E. Buchner angegebenen Weise dargestellt: in betreff der methodischen Einzelheiten kann ich auf die bekannte Monographie²⁾ dieses Verfassers verweisen. Die Qualität der Hefe war sehr wechselnd: Säfte von hoher Gärkraft konnten nur 3 mal erhalten werden. (Vers. Nr. 6, 7 und 9.)

Bei sämtlichen hier mitgeteilten Versuchen war die gewaschene, abgepreßte und gesiebte Hefe nach der Angabe von E. Buchner und S. Mitscherlich³⁾ durch 3–4 stündiges Trocknen in dünner Schicht bei 40° glykogenarm gemacht worden. In 4 Präparaten war die Selbstgärung des Preßsaftes bestimmt worden: es entwickelten 20 ccm Preßsaft innerhalb 6 Stunden bei 22° durchgehends weniger als 0,005 g CO₂: eine Beeinflussung meiner Versuchsergebnisse durch die Selbstgärung des Preßsaftes ist also ausgeschlossen. Der durch das Eintrocknen der Hefe verursachte Wasserverlust wurde durch entsprechenden Wasserzusatz vor oder während des Zerreibens der Hefe ganz oder teilweise ersetzt. Mehrmals wurde der Saft über Nacht in gefrorenem Zustand aufbewahrt und am folgenden Tag aufgetaut und angewandt, nachdem die oberste gärschwache Schicht entfernt worden war.⁴⁾

Bei einigen Versuchen (Nr. 12a und b) wurde der Preßsaft mit Aceton gefällt und mit der Auflösung dieses Dauerpräparates gearbeitet.

Zur Gärung habe ich nur Dextrose und zwar Kahlbaums reinstes Präparat angewandt. Der Zucker wurde dem

¹⁾ Für die Überlassung derselben bin ich der Schultheiß-Brauerei in Berlin zu Dank verpflichtet.

²⁾ E. Buchner, H. Buchner, M. Hahn, Die Zymasegärung, 1903.

³⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLII, S. 554, 1904.

⁴⁾ Vergl. J. Meisenheimer, Diese Zeitschrift, Bd. XXXVII, S. 523, 1903.

Preßsaft meistens in Form einer Lösung zugesetzt, um augenblickliche Mischung und eine rasche und gleichmäßige Dosierung zu erzielen. Jeder Lösung wurden 0,2 ccm Toluol zugesetzt.

Der größte Teil der früheren Versuche über den zeitlichen Verlauf der alkoholischen Gärung ist gewichtsanalytisch ausgeführt worden, nämlich durch wiederholte Wägung eines die Gärflüssigkeit enthaltenden Erlenmeyerkölbchens mit aufgesetztem Gärventil nach Meißl und Gummischlauchventil.¹⁾ Etwa $\frac{2}{3}$ der später mitzuteilenden Versuche sind nach dieser Methode ausgeführt, die sich durch ihre Einfachheit empfiehlt. Die Kölbchen befanden sich bei meinen Versuchen meist im Luftthermostaten (Brutschrank) bei 22° oder 27°. Die Temperaturschwankung während der mittleren Versuchsdauer betrug etwa 0,2°. Die bei jeder Versuchsreihe angegebene Temperatur ist das Mittel aus etwa halbstündigen Ablesungen. Die vorher mit Inhalt gewogenen Kölbchen befanden sich etwa 1 Stunde im Thermostaten, bevor die erste zur Berechnung verwendete Wägung (Zeit 0) gemacht wurde. Die späteren Wägungen wurden durch vorheriges Auflegen der Gewichte so viel als möglich verkürzt. Zufolge der hohen Zimmertemperatur (20—23°) war die Abkühlung der Kölbchen während der Wägung sehr gering. Da ferner alle mit einander zu vergleichenden Versuche stets gleichzeitig und in gleicher Weise ausgeführt wurden, so liegen die durch Temperaturschwankungen entstehenden Fehler innerhalb der Grenzen, welche durch das Versuchsmaterial bedingt sind.

Um die Konstanz des Ausdrucks $\frac{1}{t} \ln \frac{a}{a-x}$ zu prüfen, durfte natürlich diese Methode nicht verwendet werden. Hier habe ich eine gasometrische Methode angewandt, durch welche ich auch die Größe der bei der Wägung auftretenden methodischen Fehler kennen lernen wollte.

Die Erlenmeyerkölbchen befanden sich hier in einem großen Wasserbad, dessen Temperatur auf 1/10° konstant gehalten werden konnte. Dieselben waren durch Kapillarröhren

¹⁾ Vergl. Buchner, Zymasegärung. S. 82.

mit dem oberen Ende von Gasbüretten verbunden: durch Glashähne konnte der Inhalt der Erlenmeyerkölbechen mit den Büretten und mit der Außenluft in Verbindung gesetzt werden. Als Sperrflüssigkeit wurde Quecksilber angewandt, um die Kohlensäureentwicklung unter bedeutendem Unterdruck vor sich gehen zu lassen und so Fehler durch Übersättigung zu vermeiden.

Durch die ersten Versuche mit der eben beschriebenen Anordnung war festgestellt worden, daß trotz eines Unterdrucks (von etwa 350 mm Hg) eine erhebliche Übersättigung an Kohlensäure eintrat, wenn nicht kräftig geschüttelt wurde.

Es wurde nun zunächst bestimmt, welche Übereinstimmung zwischen zwei unter ganz gleichen Bedingungen ausgeführten Wägeversuchen erzielt werden konnte, wenn ungefähr jede halbe Stunde und außerdem unmittelbar vor der Wägung kräftig geschüttelt wurde.

Ich teile zunächst 2 Versuchspaare mit.

In der nächsten und allen folgenden Tabellen ist angegeben unter

t die Zeit in Minuten, welche von der ersten Messung ab verfloßen ist;

x die zur Zeit t entwickelte Menge Kohlensäure, ausgedrückt in g oder ccm (letztere reduziert auf 760mm und 20°C.);

a-x die Menge Kohlensäure, welche noch entwickelt werden kann unter der Voraussetzung, daß die Reaktion vollständig nach der Gleichung $2C_6H_{12}O_6 = 4CO_2 + 4C_2H_6O$ verläuft; ¹⁾

k die nach der Formel $\frac{1}{t} \ln \frac{a}{a-x}$ berechneten Konstanten, ausgerechnet mit dekadischen Logarithmen.

Direkt vergleichbar sind nur diejenigen Versuche, die gleichzeitig und mit dem gleichen Preßsaft angestellt sind. Solche

¹⁾ Die Reaktion braucht natürlich nicht wirklich zu Ende zu gehen; der Voraussetzung ist genügt, wenn der Zucker (praktisch) durch keine Nebenreaktion verbraucht wird, und kein meßbares Gleichgewicht zwischen dem Zucker und seinen Reaktionsprodukten eintritt. Für ein solches ist bis jetzt ein sicherer Nachweis nicht geführt.

Versuche sind im folgenden mit der gleichen Nummer bezeichnet.

Temperatur = 22°.

Nr. 1a.
4 g Glukose, 20 ccm Pressaft.

t	x g	a - x	k · 10 ⁴
—	—	1,95	—
0	0	1,80	—
256	0,23	1,57	2,3
367	0,30	1,50	2,1
427	0,36	1,44	2,3
516	0,43	1,37	2,3
1427	0,81	0,99	(1,8)
2690	0,96	0,84	(1,2)
			2,25

Nr. 1b.
4 g Glukose, 20 ccm Pressaft.

t	x g	a - x	k · 10 ⁴
—	—	1,95	—
0	0	1,80	—
254	0,21	1,59	2,1
342	0,28	1,52	2,15
414	0,34	1,46	2,2
525	0,40	1,40	2,1
1457	0,85	0,95	(1,9)
2570	1,02	0,78	(1,4)
			2,14

Diese Vorversuche zeigten, daß sich die Geschwindigkeit des Gärungsvorganges etwa im zweiten Fünftel der Reaktion durch eine Konstante erster Ordnung ausdrücken läßt. Nimmt man für diesen Teil die Mittelwerte der Konstanten, so ergeben sich nahe übereinstimmende Werte, nämlich 2,25 und 2,14. In der zweiten Hälfte der Reaktion nimmt die Geschwindigkeit stark ab; die Abnahme wird hauptsächlich von der Schädigung der Zymase herrühren; dies dürfte um so weniger zweifelhaft sein, als sich in diesem Teil der Reaktion ein starker Niederschlag bildet.

Zum gleichen Resultat führte die zweite Versuchsreihe. (Temp. = 22,2°, Kolben im Wasserbad.)

Nr. 2a.				Nr. 2b.				Nr. 2c.			
4 g Glukose, 20 ccm Saft.				4 g Glukose, 20 ccm Saft.				4 g Glukose, 20 ccm Saft.			
t	x	a - x k · 10 ⁴		t	x	a - x k · 10 ⁴		t	x	a - x k · 10 ⁴	
0	—	1,800	—	0	—	1,820	—	0	—	1,800	—
80	0,078	1,722	2,40	112	0,108	1,712	2,37	90	0,096	1,704	2,64
315	0,299	1,501	2,51	262	0,250	1,570	2,45	370	0,370	1,430	2,70
379	0,360	1,440	2,56	442	0,396	1,424	2,41	417	0,410	1,390	2,69
505	0,460	1,340	2,54	517	0,463	1,357	2,47	606	0,553	1,247	2,63
1024	0,779	1,021	2,41	1366	0,915	0,905 (2,22)		1399	0,928	0,872 (2,25)	
1180	0,810	0,990 (2,20)		1938	0,960	0,860 (1,68)		1892	1,000	0,800 (1,86)	
1544	0,899	0,901 (1,95)									
2119	0,955	0,845 (1,55)									

Auch ältere Versuche von E. Buchner lassen sich in gleicher Weise berechnen und bestätigen obigen Befund. («Zymasegärung», Tab. XLI, S. 152.

Nr. 310.			Nr. 311.			Nr. 313.			Nr. 315.		
t	a - x k · 10 ⁴		t	a - x k · 10 ⁴		t	a - x k · 10 ⁴		t	a - x k · 10 ⁴	
0	0,54	—	0	1,13	—	0	2,57	—	0	4,40	—
240	0,37	6,8	240	1,00	2,2	240	2,40	1,2	240	4,24	6,6
510	0,25	6,5	510	0,78	3,1	510	2,20	1,3	510	4,05	7,0
660	0,22	5,9	660	0,67	3,4	660	2,09	1,3	660	3,98	6,6
1440	0,15	(3,8)	1440	0,41	3,1	1440	1,74	1,2	1440	3,53	6,6
2880	0,11	(2,4)	2880	0,35	1,8						

Es war hiernach noch zu fragen, ob für die Konstanten, welche die Wägemethode und die volumetrische Methode liefern, auch innerhalb der Beobachtungsfehler die gleichen Werte gefunden werden.

Durch folgende Versuche wird diese Frage bejaht, methodische Fehler liegen also hier nicht vor.

Nr. 3. (Temperatur = 23°.)

Volumetrische Versuche.

a) b)
3 g Glukose in 10 ccm Lösung, 20 ccm Saft.

t	x ccm	a - x	$k \cdot 10^4$	t	x ccm	a - x	$k \cdot 10^4$
0	0	790	—	0	0	770	—
198	81	709	2,37	155	59	711	2,23
237	90	700	2,21	234	83	687	2,11
323	118	672	2,17	335	118	652	2,16
413	146	644	2,15	469	155	615	2,08
			<u>2,22</u>				<u>2,14</u>

Wägeversuche.

c)
3 g Glukose in 10 ccm Lösung, 20 ccm Saft.

t	x unkor.	(a - x) unkorr.	(a - x) korr.	$k \cdot 10^4$	(a - x) korr.	$k' \cdot 10^4$
—	—	1,456	—	—	—	—
0	0	1,425	1,410	—	1,440	—
140	0,087	1,338	1,310	2,28	1,340	2,23
218	0,125	1,300	1,272	2,08	1,301	2,02
349	0,204	1,221	1,191	2,10	1,221	2,05
457	0,258	1,167	1,137	2,04	1,167	2,00
				<u>2,12</u>		<u>2,07</u>

d)

t	x unkor.	(a - x) unkorr.	(a - x) korr.	$k \cdot 10^4$	(a - x) korr.	$k' \cdot 10^4$
—	—	1,456	—	—	—	—
0	0	1,420	1,408	—	1,432	—
203	0,123	1,297	1,275	2,12	1,299	2,08
357	0,199	1,221	1,197	1,97	1,221	1,94
459	0,261	1,159	1,135	2,04	1,159	2,00
				<u>2,04</u>		<u>2,00</u>

Da bei der zweiten Wägung (Zeit 0) im Meißlkolben sich teilweise noch Luft über der Lösung befindet, so muß, wenn nicht lange zwischen dem Zusatz des Preßsaftes und der Ausgangswägung gewartet wird, hierfür eine Korrektion angebracht werden. Die bis zur Zeit 0 direkt gefundene Gewichtsabnahme ist unter der Annahme, daß bis dahin nur Luft verdrängt wurde, mit dem Quotienten $\frac{\text{Dichte der Kohlensäure}}{\text{Dichte der Luft}}$ multipliziert. Die folgenden Gewichtsabnahmen sind mit dem Quotienten $\frac{\text{Dichte der Kohlensäure}}{\text{Dichte des Gasgemisches}}$ zu multiplizieren. Bei meinen Versuchen betrug das Gasvolumen über der Flüssigkeit 30–50 ccm. Wie eine einfache Rechnung zeigt, ist die Korrektion schon zu vernachlässigen, wenn etwa 0,1 g CO₂ entwickelt worden sind. Man erhält so die Werte x korr. und $(a-x)$ korr.

In Fällen wie dem vorhergehenden kann einfacher auf konstante Füllung des Gasraums mit Kohlensäure korrigiert werden; man erhält dann $(a-x)'$ korr. und k' : weder die Konstanz noch der absolute Wert von k wird dadurch wesentlich geändert.

Die volumetrischen Messungen sind von diesen etwas unsicheren Korrekturen unabhängig. Es kommt hier nur die Sättigung mit Kohlensäure in Betracht, die, wenn die Ablesungen nicht zu kurze Zeit nach der Mischung begonnen werden, bereits zur Zeit 0 erreicht ist und dadurch die Resultate nicht beeinflußt.

Die volumetrische Messung bietet Vorteile, wenn die Kohlensäureentwicklung gering ist, wenn der anfängliche Verlauf der Reaktion untersucht werden soll oder wenn mit kleinen Zuckerkonzentrationen gearbeitet wird. Beide Methoden liefern, wie ersichtlich, berechenbare Resultate.

Es wäre eine erwünschte Kontrolle, wenn neben der Entwicklung der Kohlensäure auch das Verschwinden des Zuckers messend verfolgt würde. Von den dafür in Betracht kommenden Methoden habe ich die polarimetrische mehrfach versucht. Erst bei meinen letzten Versuchen ist es mir gelungen, einen Preßsaft herzustellen, welcher genügend gärkräftig und gleichzeitig

so durchsichtig war, daß er, mit dem gleichen Volumen Zuckerlösung verdünnt, in 1 dm langer Schicht beobachtet werden konnte.

Weitere Versuche in dieser Richtung erscheinen keinesfalls aussichtslos.¹⁾ Sie sollen in dem Laboratorium der Berliner landwirtschaftlichen Hochschule fortgesetzt werden.

Auch der Preßsaft selbst wurde auf seine Drehung untersucht, und zwar

glykogenhaltiger Preßsaft aus frischer Hefe und aus Aceton-dauerpräparat,

glykogenarmer Preßsaft, und

Lösungen von Acetonpreßsaftfällung.

Auch hier wurden die Messungen durch die Trübung der Lösungen sehr erschwert. Indessen steht fest, daß die Drehung in keinem Fall mehr betrug als + 0,5°.

Es bestätigt sich also der auffallende Befund von Wróblewski,²⁾ daß der Preßsaft, obwohl reich an Eiweißstoffen, Glykogen etc., die Polarisationssebene nicht oder nur sehr wenig dreht.

Aus der gefundenen Konstanz des Ausdrucks $\frac{1}{t} \ln \frac{a}{a-x}$ in der ersten Hälfte der Reaktion glaubte ich weitgehende Schlüsse nicht ziehen zu dürfen. Diese Konstanz konnte durch Superposition mehrerer Einflüsse, wie etwa Reaktionsverzögerung durch den entstehenden Alkohol u. a., zufällig hervorgerufen sein.

Die in der zweiten Hälfte der Reaktion so stark hervortretende Zerstörung der Zymase (besonders durch proteolytische Enzyme) wird in geringerem Grad bereits in der ersten Hälfte der Reaktion eintreten und kann den Gang der Konstanten

¹⁾ Zur Orientierung seien folgende Zahlen mitgeteilt:

t	Drehung in Graden	k
0	10,3	—
1080	9,2	$4,5 \cdot 10^{-5}$

Ein Parallelversuch durch Wägung ergab: $k = 3,6 \cdot 10^{-5}$.

²⁾ Journ. pr. Chem. (2), Bd. LXVI, S. 5, 1901.

beeinflussen. Kleinere Abweichungen von der einfachen logarithmischen Kurve werden sich also nicht bestimmt feststellen lassen, die Lösung ist zu veränderlich und zu wenig rein.

Wohl aber erlauben die Mittelwerte der Reaktionskoeffizienten zu Anfang der Reaktion, die Reaktionsgeschwindigkeiten unter verschiedenen Konzentrationsbedingungen quantitativ zu vergleichen, wie dies van 't Hoff¹⁾ und A. A. Noyes²⁾ vorgeschlagen haben.

Es wurde also bei allen folgenden Versuchen (abgesehen von denen mit sehr verdünnter Zuckerlösung) nur die Geschwindigkeit im ersten Drittel der Reaktion ermittelt, wo letztere ohne Zweifel relativ ungestört verläuft.

Ich lasse nun die einzelnen Versuchsreihen folgen.

Versuche.

I. Vier Versuchsreihen über den Einfluß der Zuckerkonzentration.

Nr. 4. (Temperatur = 27.1°.)

a) 20 ccm Saft + 8 g Glukose in 20 ccm Lösung. b)

t	x g	a - x	k · 10 ⁵	t	x g	a - x	k · 10 ⁵
—	—	3.909	—	—	—	3.909	—
0	—	3.900	—	0	—	3.900	—
161	0.078	3.822	5.44	160	0.081 ₅	3.818 ₅	5.38
260	0.120	3.780	5.24	257	0.119 ₅	3.780 ₅	5.24
358	0.161	3.739	5.11	355	0.159	3.781	5.05
404	0.181	3.719	5.10	404	0.180	2.720	5.10
			5.21				5.19

$$k \cdot 10^5 = 5.20.$$

¹⁾ Études de dynamique chimique. S. 83 ff.

²⁾ Zeitschrift f. physik. Chem., Bd. XVI, S. 546, 1895. Vergl. Ostwald, Lehrb. d. allgem. Chem. (2. Aufl.) 2, II, S. 236.

c) d)
20 ccm Saft + 2 g Glukose in 20 ccm Lösung.

t	x g	a - x	k · 10 ⁴	t	x g	a - x	k · 10 ⁴
—	—	0,977	—	—	—	0,977	—
0	0	0,968	—	0	0	0,962	—
167	0,085 ₆	0,882 ₅	2,40	153	0,081	0,881	2,50
240	0,123	0,845	2,46	260	0,123	0,839	2,27
332	0,152	0,816	2,29	331	0,182	0,780	2,75
			2,38				2,51

$$k \cdot 10^4 = 2,44.$$

a) Nr. 5. (Temperatur = 30°.) b)
20 ccm Saft + 8 g Glukose in 20 ccm Lösung.

t	x ccm	a - x	k · 10 ⁵	t	x ccm	a - x	k · 10 ⁵
—	—	2151	—	—	—	2151	—
0	0	2070	—	0	0	2120	—
200	28	2042	2,95	210	30	2090	3,00
480	53	2017	2,35	307	38	2082	2,54
573	69	2001	2,58	450	49	2071	2,22
1000	98	1972	2,11	—	116	2004	2,57
1220	115	1955	2,04				2,58
			2,41				

$$k \cdot 10^5 = 2,50.$$

c) d)
20 ccm Saft + 2 g Glukose in 20 ccm Lösung.

t	x ccm	a - x	k · 10 ⁴	t	x ccm	a - x	k · 10 ⁴
—	—	538	—	—	—	538	—
0	0	520	—	0	0	520	—
200	27	493	1,16	190	28	492	1,26
301	42	477	1,25	321	47	473	1,29
465	66	454	1,26	470	62	458	1,17
561	77	443	1,24	570	72	448	1,16
923	113	407	1,15	930	110	410	1,11

$$k \cdot 10^4 = 1,20.$$

Nr. 6. (Temperatur = 28,2°.)

a) und b) ¹⁾20 ccm Saft + 8 g Glukose in
20 ccm Lösung.

t	x _a g	x _b g	a - x	k · 10 ⁴
—	—	—	3,909	—
0	0	0	3,86	—
140	0,29	0,28	3,57	2,43
281	0,47	0,46	3,37	2,01
403	0,60	0,60	3,26	1,82
493	0,72	0,70	3,15	1,79
				2,00

c) und d)

20 ccm Saft + 2 g Glukose in
20 ccm Lösung.

t	x _c g	x _d g	a - x	k · 10 ⁴
—	—	—	0,977	—
0	0	0	0,968	—
129	0,250	0,246	0,720	10,4
206	0,340	0,356	0,620	9,4
276	0,469	0,462	0,503	10,3
352	0,531	0,544	0,430	9,4
				9,9

Nr. 7. (Temperatur = 30°.)

a)

20 ccm Saft + 8 g Glukose in
20 ccm Lösung.

t	x _a ccm	x _b ccm	a - x	k · 10 ⁴
—	—	—	2151	—
0	0	0	2142	—
199	139	142	2001	1,49
314	210	215	1929	1,45
325	241	243	1900	1,60
424	287	293	1852	1,49
				1,51

b)

20 ccm Saft + 2 g Glukose in
20 ccm Lösung.

t	x _a ccm	x _b ccm	a - x	k · 10 ⁴
—	—	—	538	—
0	0	0	532	—
177	142	142	390	7,60
233	181	179	352	7,70
340	235	230	300	7,31
372	252	248	282	7,42
383	260	251	276	7,47
				7,50

¹⁾ Die Wägungen je zweier Kontrollversuche sind unmittelbar nach einander ausgeführt. Unter t ist die mittlere Zeit der beiden Wägungen angegeben.

II. Vier Versuchsreihen über den Einfluß der Konzentration des Preßsaftes.

a) Nr. 8. (Temperatur = 26,8°) b)
30 ccm Saft + 4 g Glukose in 10 ccm Lösung.

t	x g	a - x	$k \cdot 10^4$	t	x g	a - x	$k \cdot 10^4$
—	—	1,954	—	—	—	1,954	—
0	0	1,920	—	0	0	1,925	—
153	0,137	1,783	2,10	143	0,148	1,781	2,36
230	0,206	1,714	2,14	230	0,219	1,706	2,28
279	0,242	1,678	2,10	276	0,262	1,663	2,30
			2,11				2,31

$$k \cdot 10^4 = 2,2.$$

c) d)
5 ccm Saft + 25 ccm Wasser + 4 g Glukose in 10 ccm Lösung.

t	x g	a - x	$k \cdot 10$	t	x g	a - x	$k \cdot 10$
—	—	1,954	—	—	—	1,954	—
0	0	1,950	—	0	0	1,950	—
193	0,008	1,942	9,3	217	0,009	1,941	9,2
446	0,015	1,935	7,4	362	0,017	1,933	10,5
500	0,020	1,930	8,8	490	0,020	1,930	9,2
			8,5				9,6

$$k \cdot 10^6 = 9,0.$$

a) Nr. 9. (Temperatur = 30°) b)
20 ccm Saft + 8 g Glukose in 20 ccm Lösung.

t	x ccm	a - x	$k \cdot 10^5$	t	x ccm	a - x	$k \cdot 10^5$
—	—	2151	—	—	—	2151	—
0	0	2135	—	0	0	2135	—
198	85	2050	8,9	191	77	2058	8,5
274	125	2010	8,9	286	115	2020	8,6
385	159	1976	8,7	390	154	1981	8,4
496	195	1940	8,4	490	187	1948	8,1
			8,7				8,4

$$k \cdot 10^5 = 8,6.$$

c)

d)

10 ccm Saft + 10 ccm Wasser + 8 g Glukose in 20 ccm Lösung.

t	x ccm	a - x	k · 10 ⁵	t	x ccm	a - x	k · 10 ⁵
—	—	2151	—	—	—	2151	—
0	0	2143	—	0	0	2145	—
181	22	2121	3,7	117	21	2124	3,6
269	45	2098	3,4	281	47	2098	3,4
374	62	2081	3,4	363	62	2083	3,5
440	71	2072	3,3	460	73	2072	3,3
584	85	2058	3,0	564	85	2060	3,1
			3,4				3,4

$$k \cdot 10^5 = 3,4.$$

Nr. 10. (Temperatur = 27,6°.)

a) und b)

20 ccm Saft + 8 g Glukose
in 20 ccm Lösung.

t	x _a g	x _b g	a - x	k · 10 ⁵
—	—	—	3,909	—
0	0	0	3,908	—
194	0,064	0,061	3,846	3,6
361	0,112	0,108	3,798	3,5
411	0,126	0,126	3,782	3,4
458	0,151	0,135	3,765	3,5
509	0,155	0,150	3,755	3,4
				3,5

c) und d)

10 ccm Saft + 10 ccm H₂O + 8 g
Glukose in 20 ccm Lösung.

t	x _c g	x _d g	a - x	k · 10 ⁵
—	—	—	3,909	—
0	0	0	3,9	—
254	0,028	0,027	3,880	1,3
465	0,052	0,049	3,857	1,2
515	0,061	0,057	3,849	1,3
626	0,067	0,062	3,844	1,15
675	0,072	—	3,836	1,2
736	0,076	—	3,832	1,2
				1,22

e) und f)

5 ccm Saft + 15 ccm H₂O + 8 g Glukose in 20 ccm Lösung.

t	x _e g	x _f g	a - x	k · 10 ⁶
—	—	—	3,909	—
0	0	0	3,908	—
550	0,020	0,018	3,889	4,0
711	0,027	0,021	3,884	3,4
914	0,031	0,026	3,880	3,5
				3,8

Nr. 11. (Temperatur = 27,5°.)

a)

b)

20 ccm Saft + 8 g Glukose in 20 ccm Lösung.

t	x g	a - x	k · 10	t	x g	a - x	k · 10
—	—	3,909	—	—	—	3,909	—
0	0	3,810	—	0	0	3,802	—
187	0,170	3,640	10,6	196	0,156	3,646	9,8
276	0,235	3,575	10,0	270	0,223	3,579	9,7
			10,3				9,7

c)

d)

10 ccm Saft + 10 ccm H₂O + 8 g Glukose in 20 ccm Lösung.

t	x g	a - x	k · 10	t	x g	a - x	k · 10
—	—	3,909	—	—	—	3,909	—
0	0	3,877	—	0	0	3,870	—
190	0,071	3,806	4,22	192	0,070	3,800	4,12
279	0,098	3,779	4,00	272	0,098	3,772	4,09
			4,11				4,10

III. Zwei Versuchsreihen über den Einfluß der Verdünnung.

Nr. 12. (Temperatur = 30°.)

a)
20 ccm Saft + 4 g Glukose +
10 ccm Wasser.

t	x ccm	a - x	k · 10
—	—	1075 ₆	—
0	0	1075	—
81	57	1018	2,95
124	85	990	2,90
215	—	—	—
224	145	930	2,81
324	198	877	2,73
355	215	860	2,73
381	224	851	2,67
406	234	841	2,63
730	375	700	2,55
			2,82

b)
20 ccm Saft + 4 g Glukose +
30 ccm Wasser.

t	x ccm	a - x	k · 10
—	—	1075 ₆	—
0	0	1070	—
84	40	1030	1,97
125	63	1007	2,11
218	92	978	1,80
328	140	930	1,86
355	158	912	1,95
385	171	899	1,96
410	175	895	1,89
669	259	811	1,80
			1,92

Bei den Versuchen Nr. 12 a und b war der frische Preßsaft mit Aceton gefällt worden. 7 g der rein weißen und staubtrockenen Fällung lösten sich so gut wie vollständig in 50 ccm Wasser. Der unbedeutende Rückstand wurde abfiltriert.

Nr. 13. (Temperatur = 27,5°.)

a) und b)
15 ccm Saft + 2 g Glukose in
5 ccm Lösung.

t	x _a g	x _b g	a - x	k · 10 ⁴
—	—	—	0,977	—
0	0	0	0,971	—
141	0,094	0,097	0,875	3,20
300	0,190	0,191	0,781	3,15
425	0,252	0,252	0,719	3,11
				3,15

c)
15 ccm Saft + 2 g Glukose in
15 ccm Lösung.

t	x g	a - x	k · 10 ⁴
—	—	0,977	—
0	0	0,971	—
187	0,069	0,899	1,72
258	0,107	0,861	1,97
441	0,173	0,795	1,97
			1,89

d) und e)

15 ccm Saft + 2 g Glukose in 35 ccm Lösung.

t	x _d g	x _e g	a - x	k · 10 ⁴
	—	—	0,977	—
0	0	0	0,973	—
233	0,064	0,062	0,910	1,25
491	0,122	0,118	0,853	1,16
511	0,125	0,126	0,847	1,18
				<u>1,20</u>

Zusammenfassung.

Aus den Mittelwerten der eben mitgeteilten Zahlen ergeben sich folgende Resultate:

1. Einfluß der Zuckerkonzentration: Es zeigt sich, wie auch aus früheren Versuchen von E. Buchner hervorgeht, daß die Reaktionsgeschwindigkeit mit steigender Zuckerkonzentration abnimmt. Es liegen 4 Versuchsreihen vor, bei welchen die Konzentration des Zuckers im Verhältnis 1 : 4 variiert wurde. Die Konstanten k verhalten sich in Versuch

	k ₁	k ₂	
Nr. 5	0,000025	0,000120	= 1 : 4,8
• 4	0,000052	0,000244	= 1 : 4,7
• 7	0,00015	0,00075	= 1 : 5,0
• 6	0,00020	0,00097	= 1 : 4,85

Wie ersichtlich, ist die Geschwindigkeit der Anfangskonzentration nicht umgekehrt proportional und ka ist somit keine konstante Größe, sondern wird im untersuchten Gebiet um so größer, je kleiner a wird.

	k ₁ a ₁ · 10 ⁶	k ₂ a ₂ · 10 ⁶
Nr. 5	100	120
• 4	208	244
• 7	600	750
• 6	800	970

2. Einfluss der Zymasekonzentration: Die Reaktionsgeschwindigkeit steigt schneller als die Konzentration des Preß-

saftes, aber durchgehends langsamer als das Quadrat derselben. Berechnet man den Exponenten n nach der Gleichung

$$\frac{\ln k_1 - \ln k_2}{\ln c_1 - \ln c_2} = n$$

so findet man, daß n bei gleichem Zuckergehalt mit abnehmendem k , also mit abnehmender Konzentration der Zymase steigt, wie folgende Berechnung zeigt:

k_1	n
0,000100	1,29
0,000086	1,33
0,000035	1,52
0,000012	1,67

Die Zahlen scheinen darauf hinzudeuten, daß bei sehr hoher Gärkraft Proportionalität zwischen der Konzentration des Preßsaftes und der Gärungsgeschwindigkeit erreicht würde.

3. Einfluß der Verdünnung bei konstanter Menge Preßsaft und Zucker:

Versuch Nr. 12	}	Konzentration: 32 : 52 = 1 : 1,63
		Geschwindigkeit: 192 : 282 = 1 : 1,47
Versuch Nr. 13	}	Konzentration: 20 : 30 : 50 = 1 : 1,5 : 2,5
		Geschwindigkeit: 120 : 188 : 315 = 1 : 1,57 : 2,63

Nimmt man das Mittel aus diesen beiden Versuchen, so ergibt sich, daß im untersuchten Konzentrationsgebiet eine angenäherte Proportionalität zwischen Konzentration und Geschwindigkeit besteht.

Die Resultate, wie sie hier formuliert sind, werden durch die Beobachtungsfehler nicht beeinflusst: ¹⁾ die Abweichung der erhaltenen Konstanten von ihrem Mittelwert beträgt im Durchschnitt 2,5%. Größer sind offenbar die Unsicherheiten, welche durch die Unbeständigkeit und Unreinheit des Preßsaftes bedingt werden. Wenn also genauere Beziehungen als die angegebenen erforderlich werden, wird die Arbeit zuerst auf die Reinigung des Preßsaftes und die Anreicherung derselben an Zymase gerichtet sein müssen: E. Buchners Methode zur Herstellung eines glykogenarmen Saftes hat bereits einen erheblichen Fortschritt in dieser Richtung ermöglicht.

¹⁾ Betr. der methodischen Fehler, vergl. S. 62 u. 63.

Diskussion der Resultate.

Die letzte der drei angegebenen Beziehungen, die angenäherte Proportionalität zwischen der Konzentration der reagierenden Lösung und der Reaktionsgeschwindigkeit, läßt sich für katalysierte monomolekulare Reaktionen allgemein erwarten. Sie trifft u. a. auch für Spaltung des Wasserstoffsuperoxyds durch Fettkatalasen zu.

In bezug auf die beiden ersten Beziehungen zeigt die alkoholische Gärung im allgemeinen die gleichen Eigentümlichkeiten wie die enzymatischen Reaktionen überhaupt. Das Charakteristische dieser Reaktionen, zu welchen auch die Katalysen durch kolloidale anorganische Fermente zu rechnen sind (Bredig und seine Schüler), ist die Abhängigkeit der geltenden Gesetze vom Mengenverhältnis Enzym: Substrat. Während z. B. die Inversionsgeschwindigkeit soweit bekannt, in allen Zuckerkonzentrationen angenähert proportional ist der Konzentration der (verdünnten, dissoziierten) Salzsäure, hat sich die Konzentrationsfunktion des Preßsaftes vom Zymasegehalt abhängig gezeigt. Möglich ist es, daß diese Veränderlichkeit des oben berechneten Exponenten n durch chemische und enzymatische Nebenreaktionen verursacht ist, die durch Konzentrationsänderungen der Verunreinigungen ausgelöst werden.

Die für meine verdünnteren Lösungen berechneten Exponenten (1,52 und 1,67) ergeben als Mittel den Wert 1,59, den Bredig und Ikeda¹⁾ für die Wirkung von kolloidalem Platin auf Wasserstoffsuperoxyd gefunden haben. Sicher darf behauptet werden, daß für die Zymase des Preßsaftes nicht die Schütz-Borissowsche Regel gilt, wonach die Reaktionsgeschwindigkeit proportional der Quadratwurzel der Enzymkonzentration wäre. Wenn diese Regel auch oft um so genauer zuzutreffen scheint, in je reinerem Zustande²⁾ das Enzym zur Verwendung kommt, so ist sie doch zweifellos kein allgemeines Gesetz der Enzymwirkung. So gilt sie z. B. keineswegs für die Invertase, deren

¹⁾ Zeitschrift f. physik. Chem., Bd. XXXI, S. 258, 1899.

²⁾ Vergl. L. Pollak, Hofmeisters Beitr., Nov. 1904.

Konzentrationsfunktion sich derjenigen starker Zymaselösungen nähert.

Gleichfalls an die Invertase erinnert die Abhängigkeit der Gärungsgeschwindigkeit von der Anfangskonzentration des Zuckers. Auch bei diesem Enzym sinkt, dem Befund von V. Henry zufolge, bei größeren Zuckerkonzentrationen der Wert für $k \cdot a$ mit steigender Anfangskonzentration a .

Schließlich würde man die erhaltenen Zahlen als eine Bestätigung für die Konstanz des Ausdrucks $\frac{1}{t} \ln \frac{a}{a-x}$ ansehen können, wenn man von der Veränderlichkeit der Zymase im ersten Teil der Reaktion absehen dürfte. Für die Gültigkeit der Henryschen Formel für den Verlauf der alkoholischen Gärung sprechen die obigen Resultate nicht. Sicher fügen sich die Zahlen nicht den Gesetzen für eine Reaktion höherer Ordnung. Indessen muß hier nochmals an das Seite 62 Gesagte erinnert werden. Kleinere Abweichungen von der einfachen monomolekularen Formel, wie sie etwa durch das von E. Buchner und J. Meisenheimer bewiesene Auftreten der Milchsäure als Zwischenprodukt hervorgerufen werden können, lassen sich der erwähnten Umstände wegen vorläufig nicht feststellen.

In der vorliegenden Mitteilung, welche nur meine tatsächlichen Resultate zum Ausdruck bringen soll, ist auf die neueren theoretischen Erörterungen R. O. Herzogs keine Rücksicht genommen worden. Ich werde auf dieselben, wie auch auf seine und Abersons Versuche bald zurückkommen.