

Katalyse durch Fermente. ¹⁾

Von
Hans Euler.

(Der Redaktion zugegangen am 5. Juli 1905.)

Vor einiger Zeit habe ich in dieser Zeitschrift die experimentellen Resultate einer Untersuchung über die chemische Dynamik der zellfreien Gärung²⁾ mitgeteilt, und nach der Theorie für monomolekulare Reaktionen homogener Systeme berechnet.

In letzter Zeit sind indessen gewisse Zweifel über die Anwendbarkeit der aus der Theorie der Lösungen hergeleiteten Gesetze auf enzymatische Reaktionen laut geworden. Es ist hervorgehoben worden, daß die Enzyme Kolloide sind oder mit solchen verbunden scheinen, daß sie sich also nicht im Zustand der echten Lösung befinden. Diese stark betonte Auffassung hat verschiedene Verfasser veranlaßt, die Beziehungen zwischen homogenen katalytischen Reaktionen und Fermentwirkungen zu übersehen und den für letztere gefundenen empirischen Beziehungen andere Ableitungen anzupassen.

Es handelt sich hier (sofern nicht mikroskopisch wahrnehmbare Grenzflächen auftreten) um echte oder Pseudolösungen eiweißartiger Substanzen; dieselben als nicht gelöst anzusehen, liegt meist kein Grund vor. Zwischen Lösungen hochmolekularer Stoffe und ultramikroskopischen Suspensionen ist der Übergang kontinuierlich, und es ist zu erwarten, daß die katalytischen Wirkungen gelöster Fermente von denen ultramikroskopisch suspendierter nicht erheblich verschieden sein werden.

Ich habe nun die bis jetzt studierten Fermentwirkungen in zwei Gruppen zusammengestellt, um so einen Überblick zu

¹⁾ Aus Svenska Vet. Akad. Arkiv f. Kemie, Bd. II.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLIV, S. 53 (1905).

geben, inwieweit sich die Fermentwirkungen den Gesetzen katalytischer Reaktionen im homogenen System anschließen: es wurden dabei alle diejenigen Beziehungen aufgenommen, welche durch Zahlenmaterial genügend gestützt sind.

Versuchsbedingungen und dergleichen wurden nur so weit erwähnt, als sie zur Beurteilung der physikalisch-chemischen Ergebnisse erforderlich schienen; bezüglich der chemischen und biologischen Einzelheiten kann ich auf die bekannten Werke von Duclaux, Hammarsten, Oppenheimer und Green verweisen.

Experimentelle Ergebnisse über die Wirkungsweise der Fermente.

Reaktionen in (kolloidalen oder echten) Lösungen.

Pepsin. (E. Schütz, Diese Zeitschrift, Bd. IX, S. 577, 1885.) Eine globulinfreie Lösung von Eieralbumin (etwa 1 g Albumin in 10 ccm Lösung) wird mit etwa 5 ccm 5%iger Salzsäure und der Pepsinlösung versetzt, deren Gehalt bestimmt werden soll: diese Mischung wird auf 100 ccm verdünnt und während 16 Stunden bei 37,5° gehalten. Man entfernt dann das Eiweiß aus der Lösung und bestimmt aus der optischen Drehung letzterer die Menge der gebildeten Peptone. In dieser Weise fand Schütz die Verdauungsgeschwindigkeit proportional der Quadratwurzel aus den Pepsinkonzentrationen.

J. Sjöqvist verfolgte den Verlauf der peptischen Verdauung durch Messung der elektrischen Leitfähigkeit. (Skand. Arch. f. Physiol. Bd. V, 1895.) Von 4 Lösungen, 0,05 norm. in bezug auf Salzsäure, enthielt jede 2,23 Albumin und außerdem 2,5 resp. 5,10 und 15 ccm Pepsinlösung. Es ergab sich, daß die Verminderung der Leitfähigkeit während der ersten zwei Stunden unzweideutig der Quadratwurzel aus der Pepsinkonzentration proportional ist. Bei weiter fortschreitender Reaktion wird nach Sjöqvist die Geschwindigkeit eine andere. Leider fehlen die Angaben der Endwerte der Leitfähigkeit, mit welchen der zeitliche Verlauf der Verdauung hätte berechnet werden können.

Später haben Huppert und Schütz in Pflügers Arch.,

Bd. LXXX, S. 470 (1900) die bereits erwähnten Resultate von E. Schütz und weitere Versuche mit Albumin und Pepsin mitgeteilt. Die entstehenden sekundären Albumosen wurden wieder polarimetrisch bestimmt. Die Mengen der gebildeten sekundären Albumosen verhalten sich wie die Quadratwurzeln aus den Zeiten. Ferner stehen die Mengen des verdauten Albumins, die Summe der Zwischenprodukte und die Mengen der sekundären Albumosen in demselben Verhältnis wie die zu den Versuchen verwendeten Albuminmengen, nämlich 1 : 2 : 3 : 4.

Julius Schütz¹⁾ stellte neue Versuche mit gelöstem Hühnereiweiß in der Weise an, daß er das unverdaute Eiweiß seiner nach 15 Stunden entnommenen Versuchsproben koagulierte und im Filtrat den Stickstoff nach Kjeldahl bestimmte. Auch durch diese Versuche wurde die Schützsche Regel bestätigt. Nur bei sehr hohen Pepsinkonzentrationen verliert dieselbe ihre Gültigkeit, wie schon E. Schütz festgestellt hatte.

Spriggs²⁾ hat den Verlauf der Pepsinwirkung durch Messungen der inneren Reibung im Ostwaldschen Viskosimeter verfolgt.

Über die peptische und tryptische Proteolyse von Weizenprotein durch Malzextrakt hat Fr. Weis³⁾ sehr zahlreiche Versuche angestellt. Er fand, daß die peptische Wirkung relativ schnell verläuft, während die tryptische Zerlegung der Albumosen langsam weitergeht: beide Wirkungen können bis zu einem gewissen Grad getrennt werden. Von den Resultaten, deren eingehendere Bearbeitung vielfach auf Schwierigkeiten stößt, ist hervorzuheben, daß auch bei der Proteolyse des Pflanzenproteins in einem gewissen Konzentrationsgebiet wenigstens die Schützsche Regel zu gelten scheint. Der Exponent der Fermentkonzentration wächst nach den Versuchen S. 176 l. c. mit steigender Verdünnung des Ferments von 0.5 bis 1. Ferner habe ich die Versuchsreihen berechnet, in welchen Weis die Konzentration des Substrats (Proteins) variiert hat. Das Resultat kann z. B. aus folgender Tabelle entnommen werden.

¹⁾ Diese Zeitschrift. Bd. XXX, S. 1 (1900).

²⁾ Journ. of Physiol., 28, V. (1902).

³⁾ Meddelelser. fra Carlsberg-Lab., Bd. V, S. 127 (1903).

Nach 5 Stunden. ¹⁾				Nach 2 Stunden. ¹⁾			
Protein- konzentration a	Umge- setzter N in Pro- zenten des Ge- samt-N	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$	$k \cdot a \cdot 10^6$	Protein- konzentration a	Umge- setzter N in Pro- zenten des Ge- samt-N	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$	$k \cdot a \cdot 10^6$
1%	36,2	0,00065	65	1%	22,0	0,00090	90
2%	25,9	0,00043	86	2%	17,0	0,00067	134
3%	20,3	0,00033	100	3%	13,1	0,00051	153
4%	16,0	0,00025	190	4%	9,1	0,00035	140
5%	13,2	0,00020 ₅	102	5%	7,9	0,00030	150

Die Reaktionskonstante k sinkt mit steigender Proteinkonzentration; das Produkt $k \cdot a$ ($a =$ Anfangskonzentration des Proteins) steigt anfangs mit steigendem a und wird bei größeren Proteinkonzentrationen in einem gewissen Gebiet konstant.

Die Einwirkung von Trypsin auf Gelatine haben V. Henri und Languier des Bancels (C. r. Bd. CXXXVI, S. 1581, 1902) mit Hilfe von Leitfähigkeitsmessungen studiert. Indem sie, wie früher Sjöqvist die Änderung der Leitfähigkeit dem Fortschreiten der Reaktion proportional setzen, finden sie die Formel $\frac{1}{t} \ln \frac{a}{a-x}$ bestätigt.

Fibrinferment. E. Fuld, Hofmeisters Beiträge, Bd. II, S. 514, 1902. Das Plasma von Vogelblut wurde mit der Fermentlösung (Extrakt eines Muskels mit 0,8%iger Kochsalzlösung) vermischt. Die Gerinnungsgeschwindigkeit steigt langsamer als der Fermentgehalt: die Schützsche Regel stimmt annähernd; genauer stimmt die Beziehung $\frac{k_1}{k_2} = \left(\frac{c_1}{c_2}\right)^{0.585}$ ($k =$ Gerinnungsgeschwindigkeit, $c =$ Fermentkonzentration). Für lange Gerinnungszeiten, also kleine Enzymkonzentrationen gilt diese Beziehung nicht mehr, die Gerinnungsdauer nimmt dann unverhältnismäßig schnell zu.

¹⁾ Die Zahlen der beiden Tabellen sind in 2 getrennten Versuchsreihen erhalten worden und deshalb unter sich nicht vergleichbar.

Labferment (Chymosin). Eingehende Versuche über die Milchgerinnung durch das von Hammarsten entdeckte Labferment sind neuerdings von E. Fuld, Hofmeisters Beiträge, Bd. II, S. 169, 1902 angestellt worden, und zwar mit Mischungen von frischer Kuhmilch und Wittes Lab. Er fand die schon früher bekannte Proportionalität zwischen Gerinnungsgeschwindigkeit und Enzymkonzentration. Weiters stelle Fuld fest, daß das Lab auf die Milch mit gleichförmiger Geschwindigkeit wirkt, und zog hieraus den richtigen Schluß, daß die Konzentration an unverändertem Casein ohne jeden Einfluß auf den Prozeß ist. Die Proportionalität erfährt auch für beliebig kleine Labdosen und beliebig lange Zeiten keine Einschränkung. Näheres über den Labungsvorgang vergleiche l. c. S. 176.¹⁾

Bezüglich der Bedeutung der Kalksalze für die Wirkung der koagulierenden Fermente sei auf die grundlegenden Arbeiten von Hammarsten (Diese Zeitschrift, Bd. XXII, S. 333 und Bd. XXVIII, S. 98) und die neueren Untersuchungen von H. Conradi und von Loevenhart (Diese Zeitschrift, Bd. XLI, S. 180, 1904) verwiesen.

Von Pawlow ist die Identität der proteolytischen und koagulierenden Enzyme behauptet worden. Diese interessante Behauptung ist noch näher zu prüfen.

Amylase. Bereits aus älteren Versuchen geht hervor, daß die Spaltung der Stärke angenähert proportional ist der Quadratwurzel aus der Menge der Malzdiastase. Nach neueren Versuchen von V. Henri (Lois générales des diastases, Paris 1903) verläuft die Stärkespaltung nach der logarithmischen Kurve, wenn man die gebildete Maltose als Maß der Reaktionsgeschwindigkeit nimmt. Speicheldiastase wirkt ebenfalls proportional der Wurzel aus der Fermentkonzentration H. T. Brown und T. A. Glendinning (Journ. Chem. Soc., Bd. LXXXI, S. 388, 1902). Wässriges Malzextrakt wird mit 3^o/oigen Lösungen löslicher Stärke vermischt. In von Zeit zu Zeit herausgenommenen Proben wird das Enzym durch Kochen zerstört und die ge-

¹⁾ Vergl. auch Reichel und Spiro, Hofmeisters Beiträge, Bd. VI, S. 68 (1904). Ein ähnliches Gesetz hat schon früher Dubourg für Urinferment gefunden (Duclaux, Traité II, 137).

spaltene Menge Stärke gravimetrisch mit Fehlings Lösung bestimmt. Der Reaktionsverlauf schließt sich ziemlich gut der

$$\text{Formel } \frac{1}{2t} \ln \frac{1+x}{1-x} = k_1 \text{ an.}$$

Invertase. Die ersten Forscher, welche den Reaktionsverlauf dieses Fermentes eingehender studierten, waren O'Sullivan und Tompson (Journ. Chem. Soc., Bd. LVII, S. 834, 1890) und Tammann (Diese Zeitschrift, Bd. XVI, S. 312, 1891). O'Sullivan und Tompson extrahierten Hefe, die zweimonatlicher Selbstverdauung ausgesetzt war, und fällten den Extrakt mit Alkohol. Sie selbst zogen aus ihren Messungen den Schluß, daß die fermentative Inversion gleichwie die Säureinversion der logarithmischen Kurve folgt.¹⁾

Im Gegensatz zu den englischen Forschern fand Tammann, daß die Invertasewirkung nicht durch eine logarithmische Kurve darstellbar ist, sondern komplizierten Gesetzen gehorcht: der Reaktionsverlauf ändert sich wesentlich bei wechselnder Fermentmenge. Vergl. l. c., Tab. V. Bei wachsender Rohrzuckermenge tritt eine starke Verzögerung der Anfangsgeschwindigkeit ein.

Nach Duclaux²⁾ ist die Geschwindigkeit der fermentativen Inversion während der ganzen Reaktion konstant, also die invertierte Zuckermenge einfach proportional der Zeit,

$$\frac{dx}{dt} = \text{konst.}$$

V. Henri (Zeitschrift für physik. Chem., Bd. XXXIX, S. 194, 1901). Das Ferment wurde aus dem wässerigen Hefeextrakt mit Alkohol gefällt, das im Vacuum aufbewahrte Pulver mit Wasser verrieben und die Lösung filtriert. Es ergab sich, daß die Inversion des Rohrzuckers durch Invertin dem Gesetz

$$2 k_1 = \frac{1}{t} \ln \frac{a+x}{a-x}$$

folgt. Die Konstante k_1 ändert sich mit der Anfangskonzentration a und zwar ist sie um so größer, je kleiner a ist. Das Produkt $2 k_1 a$ wirkt mit steigendem a für kleinere Konzen-

¹⁾ Henri zeigte später (l. c.), daß die Werte von k nicht konstant sind, sondern dauernd wachsen.

²⁾ Ann. de l'Institut Pasteur, Bd. XII, S. 96, 1898.

trationen (unterhalb 0,15 normal Rohrzucker), bleibt für mittlere Konzentrationen (0,15—0,5 normal) konstant und sinkt für weiter steigende Konzentration a . Für Rohrzuckerkonzentrationen von 0,4—0,1 normal ist die Inversionsgeschwindigkeit proportional der Fermentkonzentration. Bei höherer Zuckerkonzentration (0,5 normal) steigt die Geschwindigkeit (k) langsamer als die Konzentration der Invertase.

Maltase. Hier liegen zwei, vorläufig nicht vereinbare Angaben vor. E. F. Armstrong hat schnell getrocknete Hefe mit Wasser extrahiert und den filtrierten, klaren Extrakt angewandt (Proc. Roy. Soc. Bd. LXXIII, S. 508). Berechnet dieser Autor seine

Messungen nach der Formel $\frac{1}{t} \ln \frac{a}{a-x} = k$, so nehmen die

k -Werte mit der Zeit stark ab. Dagegen finden V. Henri und Mlle. Ch. Philoche (Soc. Biol. Bd. LVII, S. 171, 1904), daß nach ihren Versuchen die aus der obigen Formel berechneten k -Werte zuerst sehr stark ansteigen und später etwas fallen. Bessere Konstanz liefert die Berechnung nach der für Invertase aufgestellten

Formel $k = \frac{1}{t} \ln \frac{a+x}{a-x}$ bzw. der Formel von Bodenstein

$$k_2 = \frac{a}{t} \left[2 \frac{x}{a} + \ln \frac{a}{a-x} \right]$$

Wie letztere Autoren gefunden haben, verzögert übrigens Lävulose die Maltasewirkung stärker als Glukose.

Laktase. Auch bei diesem Ferment zeigt sich deutlich die Abhängigkeit der Reaktion vom Konzentrationsverhältnis Enzym : Substrat. E. F. Armstrong²⁾ hat über die Einwirkung von Laktase auf Milchzucker 6 Versuche mitgeteilt, welche zur Orientierung dienen können. Von diesen seien hier zwei mitgeteilt: x = hydrolysiertes Milchzucker in Prozenten ausgedrückt,

$$k = \frac{1}{t} \log_{10} \frac{100}{100-x}$$

¹⁾ Einige Versuche über die Einwirkung von Hefemaltase auf Maltose teilt auch R. O. Herzog mit (Zeitschr. f. Allg. Physiologie, Bd. IV, S. 177, 1904).

²⁾ Proc. Roy. Soc., Bd. LXXIII, S. 506 (1904).

2 g Milchzucker in 100 ccm.

100 ccm Enzymextrakt			40 ccm Enzymextrakt		
t Stunden	x	k	t Stunden	x	k
1	22,1	0,1085	$\frac{1}{3}$	3,2	0,0423
2	31,2	0,0812	$\frac{2}{3}$	6,4	0,0430
3	38,9	0,0713	1	9,6	0,0438
4	45,8	0,0665	$1\frac{1}{2}$	13,2	0,0410
5	51,5	0,0629	2	16,4	0,0389
6	56,6	0,0604	3	20,8	0,0338
10	69,0	0,0509	5	25,2	0,0252
38	98,0	0,0447	100	89,6	0,0082

Emulsin. Wir verdanken Tammann¹⁾ quantitative Untersuchungen über die Spaltung von Amygdalin, Salicin, Arbutin und Coniferin, welche zum Teil polarimetrisch ausgeführt wurden, zum Teil durch Bestimmung des Traubenzuckers. Es ergab sich wie beim Invertin das Resultat, daß die Spaltungen durch das Emulsin unvollständig verlaufen, «weil das Ferment sich während der Reaktion in eine unwirksame Modifikation umwandelt». Diese Umwandlung, die Lähmung des Ferments, wird durch die Spaltungsprodukte veranlaßt, doch kommt nicht diesen ausschließlich jene Eigenschaft zu. Die unwirksame Fermentmodifikation ist nur unter den Bedingungen des Endzustandes existenzfähig; werden diese verändert, so kann die Reaktion weiter verlaufen.

Auch V. Henri²⁾ fand, daß die Emulsinspaltung nicht der logarithmischen Kurve der Säurespaltung folgt; die Reaktionskonstante nimmt im Verlauf der Reaktion dauernd ab. Wie bei der Invertase verzögert sowohl das Substrat wie die Spaltprodukte die Geschwindigkeit; aber — im Gegensatz zur Invertase — verzögern letztere stärker als das Substrat.

Desgleichen kann die Spaltung von Salicin und Amygdalin nach R. O. Herzog durch eine Gleichung von der Form

$$\frac{dx}{dt} = (k_1 - k_2 x) (a - x)$$

dargestellt werden.³⁾

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XVI, S. 3.

²⁾ Lois générales des diastases.

³⁾ K. Akad. v. Wetenschappen, Amsterdam 1903.

Lipasen und Butyrasen. J. H. Kastle und A. S. Loevenhart (Amer. Chem. J., Bd. XXIV, S. 491, 1902). J. H. Kastle, M. E. Johnstone und E. Elvove (Amer. Chem. J., Bd. XXXI, S. 521, 1904). Das Ferment wurde aus Schweinsleber gewonnen, und es wurde nur filtriertes Extrakt angewandt. Die hydrolytische Spaltung des Äthylbutyrats wurde nach der Formel für Reaktionen 1. Ordnung berechnet. Die Abnahme der Konstanten führen die Verf. auf den schädigenden Einfluß der entstehenden Säuren zurück. Die Reaktionsgeschwindigkeit ist angenähert proportional der Enzymkonzentration. Nach Kastle und Loevenhart¹⁾ bildet Lipase aus Alkohol und Buttersäure Äthylbutyrat zurück. Bei relativ hohen Esterkonzentrationen ist die in der Zeiteinheit hydrolysierte Estermenge unabhängig von der Konzentration des Esters, es ist also $k \cdot a = \text{konst.}$ Das fettspaltende Ferment des Magens hat bereits früher W. Stade²⁾ sehr eingehend und konsequent untersucht. Die Versuche wurden mit einer Mischung von Eigelblösung und neutralisiertem Magensaft angestellt. Ich habe den zeitlichen Verlauf der Fettspaltung nach den von Stade gegebenen Versuchsdaten berechnet; folgende zwei Tabellen zeigen das Resultat.

Stunden	Abgespaltene Fettsäuren in Prozenten	$k \cdot 6 \cdot 10^4$	Stunden	Abgespaltene Fettsäuren in Prozenten	$k \cdot 6 \cdot 10^4$
2	20,4	50	12	24,1	100
4	25,6	32	16	25,4	80
6	29,8	26	20	27,3	69
8	35,3	24	36	39,5	61
10	37,6	20	40	40	55
25	49,5	12	46	46,2	51
30	54,8	11	65	53,6	51
75	77,5	8			

Die Konstanten k sind nach der für monomolekulare Reaktionen gültigen Formel berechnet. Die Abnahme derselben ist die gleiche wie die von Kastle für Äthylbutyrat gefundene und ist sehr wahrscheinlich durch die entstehenden Säuren hervorgerufen.

¹⁾ Amer. Chem. J., Bd. XXIV, S. 491 (1901).

²⁾ Hofm. Beitr., Bd. III, S. 291 (1902).

Was den Einfluß der Fettkonzentration betrifft, so ist bei kleinen Fettmengen die Spaltungsgeschwindigkeit unabhängig von der Fettkonzentration, es wird also von einer bestimmten Fermentmenge in der Zeiteinheit prozentisch gleich viel Fett zerlegt. Größere Fettmengen werden langsamer gespalten. Versuche über den Einfluß der Fermentkonzentration bestätigen das schon früher von Volhard¹⁾ mitgeteilte Resultat, daß auch das Magensteapsin der Regel von Schütz folgt und zwar sehr genau. Bezeichnet p die Konzentration der Verdauungsprodukte, f die Steapsinkonzentration, t die Zeit in Stunden, so ist $k = \frac{p}{\sqrt{ft}}$ konstant, wie z. B. folgende Versuchsreihe zeigt:

p	f	$=$	k
24,5	: 5	$=$	4,9
19,5	: 4	$=$	4,9
15,0	: 3	$=$	5,0
8,5	: 2	$=$	4,25
4,7	: 1	$=$	4,7

Zymase. Den Verlauf der zellfreien Gärung habe ich in Buchners Laboratorium untersucht.²⁾ Die bei der Gärung entweichende Kohlensäure wurde teils durch Wägung teils volumetrisch bestimmt.

Der Ausdruck $\frac{1}{t} \ln \frac{a}{a-x} = k$ zeigte sich ziemlich konstant, solange nicht Eiweißniederschläge in der Lösung auftraten; dies war stets in der zweiten Hälfte der Reaktion der Fall, in welcher k stark sank.

1. Mit steigender Zuckerkonzentration nimmt die Gärungsgeschwindigkeit stark ab.

Die Reaktionsgeschwindigkeit ist der Anfangskonzentration nicht umgekehrt proportional und $k \cdot a$ ist somit keine konstante Größe, sondern wird im untersuchten Gebiet um so größer, je kleiner a wird.

2. Die Reaktionsgeschwindigkeit steigt schneller als die

¹⁾ Zeitschr. f. klin. Med., Bd. XLII, S. 414, und Bd. XLIII, S. 397 (1901).

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLIV, S. 53 (1905).

Konzentration des Preßsaftes aber durchgehends langsamer als das Quadrat derselben. Berechnet man den Exponenten n nach der Gleichung $n = (\ln k_1 - \ln k_2) : (\ln c_1 - \ln c_2)$ so findet man, daß n bei gleichem Zuckergehalt mit abnehmendem k_1 , also mit abnehmender Konzentration der Zymase steigt:

$k_1 \cdot 10^5$	10,0	8,6	3,5	1,2
n	1,29	1,33	1,52	1,67

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

Oxydasen. Die Geschwindigkeit, mit welcher Peroxydase und Wasserstoffsperoxyd auf HJ einwirken, haben A. Bach und R. Chodat (Ber. d. d. chem. Ges., Bd. XXXVII, S. 24 u. 34, 1904) mit dem Massenwirkungsgesetz übereinstimmend gefunden.

Laccase. Nach G. Bertrand wird die Oxydationsgeschwindigkeit unter dem Einfluß der «Laccase» sowohl durch die Konzentration des eiweißartigen Bestandteiles als des hydrolysierten Teiles der anwesenden Mangansalze bedingt. Chemisch-dynamische Messungen über den Mechanismus des Vorgangs fehlen noch.

Das oxydierende Ferment von Lebergewebe ist bezüglich seiner Wirkung auf Salicylaldehyd sehr eingehend von A. Medwedew untersucht worden (Pflügers Archiv, Bd. LXV, S. 249 [1896]; Bd. LXXIV, S. 193 [1899]; Bd. LXXXI, S. 540 [1900] und Bd. CIII, S. 403 [1904]).

Bezüglich des Endzustandes bzw. Gleichgewichtes ergab sich folgendes: Erster Fall; relativ hohe Konzentration des Salicylaldehyds in neutraler-saurer Lösung. Die Konzentration des Oxydationsproduktes (Salicylsäure) ist umgekehrt proportional der Quadratwurzel aus der Konzentration der zu oxydierenden Substanz und annähernd proportional dem Quadrate der Konzentration des Fermentes.

Zweiter Fall; relativ hohe Konzentration des Salicylaldehyds in neutraler-alkalischer Lösung: Eine und dieselbe Menge des Fermentes gibt zum Schluß der Reaktion d. h. bis zum vollständigen Erschöpfen der Oxydationsfähigkeit eine und die-

selbe Menge Säure, unabhängig von der Konzentration des Aldehyds.

Bezüglich der Geschwindigkeit wurde gefunden: a) Wird der Fermentmenge m eine überschüssige Menge Aldehyd a zugesetzt, so ist die Oxydationsgeschwindigkeit proportional der Quadratwurzel aus der Konzentration des Aldehyds. Durch die Oxydation wird das Ferment inaktiviert; die Inaktivierungsgeschwindigkeit läßt sich durch folgende Gleichung ausdrücken

$$\frac{dx}{dt} = k \sqrt{a - ax} \cdot (m - x)$$

wenn m die Konzentration des Fermentes, a diejenige des Aldehyds und x die Konzentration des zur Zeit t inaktivierten Fermentes bedeuten.

b) Die Konzentration des Aldehyds ist geringer als diejenige, welche durch die vorhandene Fermentmenge oxydiert werden kann; in diesem Fall ist die Oxydationsgeschwindigkeit proportional dem Quadrate der Konzentration des Aldehyds

$$\frac{dx}{dt} = k (a - x)^2$$

wenn x die Konzentration des zur Zeit t umgesetzten Aldehyds und a dessen Anfangskonzentration bedeuten.

Katalasen. Diese von O. Loew¹⁾ als besondere Art aufgestellten Enzyme folgen in ihrer Wirkung auf H_2O_2 — wenigstens in einem gewissen Konzentrationsgebiet — den Forderungen der chemischen Dynamik. G. Senter hat ein H_2O_2 zersetzendes Ferment aus defibriniertem Blut gewonnen,²⁾ W. Issajew³⁾ hat ein solches Ferment mit Wasser aus Hefe extrahiert; ich habe Extrakte aus *Boletus scaber*⁴⁾ und aus tierischem Fett⁵⁾ näher untersucht. Die Milchkatalase hat Faitelowitz⁶⁾ studiert. Die fermentative Spaltung des Wasserstoffsuperoxyds erwies sich bei den untersuchten Katalasen als

¹⁾ Rep. U. S. Department of Agriculture, Washington 1901.

²⁾ Zeitschr. f. physik. Chem., Bd. XLIV, S. 257 (1903), und Proc. Roy. Soc., Bd. LXXIV, S. 201—2 (1904).

³⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLII, S. 102 (1904).

⁴⁾ Svenska Vet. Akad. Arkiv f. Kemi, Bd. I (1904). Hofm. Beitr. (1905).

⁵⁾ Svenska Vet. Akad. Arkiv f. Kemi, Bd. I, S. 357 (1904).

⁶⁾ Inaug.-Diss. Heidelberg 1904 (Bredig).

eine Reaktion erster Ordnung, welche proportional mit der Konzentration des Enzyms verläuft. Die Abweichungen, welche Issajew bei der Hefekatalase gefunden hat, sind wohl zum Teil durch mangelnde Reinheit der Lösung zu erklären — die Hefe ist bekanntlich schwer zu reinigen. Kleinere Abweichungen treten auch bei den übrigen Katalasen auf, wenn die Wasserstoffsperoxydlösung konzentriert, nämlich $\frac{1}{100}$ — $\frac{1}{300}$ normal (Senter), bzw. das Enzym relativ verdünnt (Euler) zur Wirkung kommt.

Zum Vergleich mit den Katalasen sei hier noch auf die Wirkungsweise des kolloidalen Platins in Wasserstoffsperoxydlösungen hingewiesen (Bredig und seine Schüler). Die Zersetzung des Wasserstoffsperoxyds in neutraler und saurer Lösung geschieht nach der Formel $k = \frac{1}{t} \ln \frac{a}{a-x}$. Die Reaktionsgeschwindigkeit ist wenig abhängig von der Anfangskonzentration des Wasserstoffsperoxyds. Die Wirkung des kolloidalen Platins steigt schneller als dessen Konzentration, der Wert

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

wechselte zwischen 1,59 und 1,33.

Reaktionen in heterogenen Systemen.

Pepsin. Die ältesten, von E. Brücke¹⁾ angestellten Versuche lassen erkennen, daß bei relativ hohen Pepsinkonzentrationen Proportionalität zwischen Geschwindigkeit und Fermentkonzentration eintritt.

Mit Hilfe der Mettschen Methode haben Borrissow²⁾ und Samojloff³⁾ die Regel von Schütz geprüft und bestätigt.

J. Sjöqvist⁴⁾ hat die Pepsinwirkung auch im heterogenen System untersucht. Die angewandten Konzentrationen waren 0,05 norm. HCl und 2 g Eiweiß in 100 ccm, während die Pepsinmengen in den Verhältnissen 1 : 8 variiert wurden. Wesentlich ist, daß die Digestionsproben sich (bei 37°) in

¹⁾ Wiener Sitzungsber., Bd. XXXVII, S. 131 (1859).

²⁾ Dissertation, Petersburg 1891.

³⁾ Arch. Soc. Biol., Bd. II, S. 699, 1893.

⁴⁾ Skand. Arch. f. Physiol., Bd. V, S. 277 (1894).

steter Bewegung befanden. Von Zeit zu Zeit herausgenommene, schnell abgekühlte Proben wurden zentrifugiert, wobei sich das ungelöste Eiweiß als fester Kuchen absetzte. «Es zeigte sich, daß der Reaktionsverlauf der Pepsindigestion sich durch die Gleichung ausdrücken läßt: $dx/dt = \text{konst. } P (10,40 - x)$, worin x die umgesetzte Eiweißmenge, t die Zeit in Stunden, P die relative Pepsinmenge und $10,40$ die zu lösende Eiweißmenge (Anfangskonzentration) ist. Es war also unter diesen Umständen die Umsetzung in jedem Moment der noch umzusetzenden Menge proportional.

Trypsin. Nach Pawlow (l. c. S. 33) hat die Schütz-Borissowsche Regel auch für Trypsin volle Gültigkeit.

Später hat H. M. Vernon¹⁾ im wesentlichen nach der Mettschen Methode gearbeitet und glaubt aus seinen Resultaten den Schluß ziehen zu können, daß sich die Digestionsgeschwindigkeiten wie die Quadratwurzeln aus den Trypsinkonzentrationen verhalten.

Isolierte Glutinaselösung ccm	Verd. Gelatine	
	Gefunden mm	Berechnet mm
2	6,5	6,5
2 + 2 H ₂ O	4,5	4,5
2 + 4 »	4	3,72
2 + 6 »	fast 3,5	3,25
2 + 8 »	3	2,9
2 + 10 »	2,5	2,69
2 + 16 »	1,5	2,17
2 + 30 »	0,5	1,6

L. Pollak hat neuerdings²⁾ ebenfalls mit der Methode von Mett die Wirkungsweise seines isolierten, auf Gelatine wirkenden tryptischen Fermentes Glutinasase untersucht und gelangt nach obiger Zusammenstellung zum Resultat, daß die Wirksamkeit des isolierten Leimfermentes zwar nicht genau

¹⁾ Journ. of Physiol., Bd. XXVI, S. 420 (1901).

²⁾ Hofm. Beitr., Bd. VI, S. 95 (1904).

der Regel von Schütz entspricht, sich derselben aber doch weit mehr annähert, als das beim Fermentgemenge eines gewöhnlichen Pankreasinfuses oder des Grüblerschen Trypsins der Fall ist.

Das amylytische Ferment des Pankreassaftes verzuckert Stärke gleichfalls nach der Regel von Schütz-Borissow, wie Versuche von Glinski und Walther¹⁾ gezeigt haben, welche in Pawlows Laboratorium dünne Glasröhrchen mit gefärbtem Stärkekleister füllten und nach einer gewissen Zeit ($\frac{1}{2}$ Stunde) die Länge der aufgelösten Stärkesäule maßen.²⁾

Lipase. Das Cytoplasma von Ricinussamen spaltet Baumöl in Gegenwart von (mit Essigsäure) angesäuertem Wasser. Diese interessante Fermentwirkung hat M. Nicloux³⁾ untersucht.

Bei sehr starker Fermentwirkung sind die Werte $\frac{1}{t} \ln \frac{a}{a-x} = k$ konstant. Kleine Mengen Cytoplasma (suspendiert) im zu spaltenden Öl wirken proportional ihrer Menge.

Zymase. J. H. Abersson⁴⁾ hat die alkoholische Gärung der Glykose sehr eingehend untersucht. Die Hefe wird in einer mit Nährlösung versetzten Glykoselösung suspendiert und in einem Rotationsapparat geschüttelt.

Von Zeit zu Zeit herausgenommene Proben werden von der Hefe abfiltriert, worauf der Zuckergehalt polarimetrisch bestimmt wird. Berechnet man die Versuche so, wie wenn ein homogenes System vorläge, so ergibt sich, daß die nach Formel $\frac{1}{t} \ln \frac{a}{a-x}$ berechneten Konstanten erheblich steigen (wobei der Zuwachs der Hefe bereits berücksichtigt ist). Eine bessere

¹⁾ Vergl. Pawlow, Arbeit der Verdauungsdrüsen, S. 34.

²⁾ Über die Umwandlung von Stärkekleister in Zucker durch Speichelferment liegt eine ältere Arbeit von Cohnheim vor (Virchows Archiv, Bd. XXVIII, S. 246, 1863).

Auch eine Untersuchung von A. Schwarzer (Journ. f. praktische Chemie, Bd. I, S. 25, 1879) ist hier zu erwähnen.

³⁾ C. r. Soc. Biol., Bd. LVI, S. 840. Siehe ferner V. Henri und M. Nicloux, C. r. Soc. Biol., Bd. LVII, S. 175 (1905).

⁴⁾ Rec. Trav. Chim. d. Pays-Bas, Bd. XXII, S. 78 (1904).

Konstanz hat Aberson für die Werte $k_2 = \frac{1}{t} \ln \frac{a+x}{a-x}$ gefunden.

Die Geschwindigkeit der Gärung ist der Hefemenge nahezu proportional. Die k_2 -Werte nehmen mit steigender Anfangskonzentration a des Zuckers ab, dagegen steigen die Produkte $k_2 \cdot a$ mit steigendem a .

Die sehr zahlreichen Versuche Abersons über den Endzustand der Glukoselösungen, welcher unter den verschiedenen Bedingungen erreicht wird, und über die Umkehrbarkeit der Gärung können hier nicht besprochen werden.

R. O. Herzog¹⁾ hat vorläufige Versuche veröffentlicht, welche er mit Acetondauerhefe (Zymin aus der Fabrik Schroder) angestellt hat. Der Verlauf der Gärung wurde durch Wägung der entwickelten Kohlensäure verfolgt. Auch Herzog hat die Emulsion von Zymin in Glukoselösungen rechnerisch als homogenes System behandelt.

Der Reaktionsverlauf läßt sich teilweise durch die Formel $\frac{1}{t} \ln \frac{a}{a-x}$, teilweise durch $\frac{1}{t} \ln \frac{a+x}{a-x}$ besser darstellen. Als

Exponent n der Gleichung $\frac{k_1}{k_2} = \left(\frac{c_1}{c_2}\right)^n$ gibt Herzog den Wert 2 an.

Um zu erfahren, wie sich dieser Exponent mit der Konzentration der Zuckerlösungen ändert, habe ich noch weitere Versuche mit Acetondauerhefe angestellt, und zwar ist mir von der Firma A. Schroder ein glykogenarmes Präparat geliefert worden, dessen Selbstgärung vollständig vernachlässigt werden konnte. Die entwickelte Kohlensäure wurde volumetrisch bestimmt,²⁾ und zwar entwickelte sich die Kohlensäure ständig unter mechanischem Schütteln und unter dem Unterdruck von $\frac{1}{2}$ Atmosphäre. Fehler durch Übersättigung wurden dadurch vermieden. Diese Versuchsanordnung dürfte der von Herzog angewandten vorzuziehen sein: den Verlauf der Gärung fand ich wenigstens durchaus regelmäßiger als Herzog, wie z. B. folgende Zahlen zeigen:

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXVII, S. 149 (1902).

²⁾ Vergl. Diese Zeitschrift, Bd. XLIV, S. 56 (1905).

20 ccm 1-norm.-Glukoselösung.

3,6 g Zymin.

Vor dem Versuch entwickelt: 138 ccm CO₂.

Zeit in Minuten	0	36	93	118	192	258	393	433
ccm entwickeltes CO ₂ 20°, 760 mm	0	34	82	102	164	222	320	349

20 ccm 1-norm.-Glukoselösung.

1,2 g Zymin.

Vor dem Versuch entwickelt: 12 ccm CO₂.

Zeit in Minuten	0	36	92	188	256	391	440
ccm entwickeltes CO ₂ 20°, 760 mm	0	5	13	25,5	35	50	59

Berechnet man meine Resultate in der Art, wie dies Herzog (l. c.) tut, so erhält man nach dem Ausdruck $\frac{1}{t} \ln \frac{a}{a-x}$ eine sehr befriedigende Konstanz.

Ich arbeitete mit 0,5-, 1-, 1,5- und 2-norm.-Glukoselösungen und variierte die Zymasemenge wie in obigem Versuch, außerdem im Verhältnis 1:2 (3 bzw. 1,5 g Zymin auf 20 ccm Lösung). Gegen meine Erwartung ergab sich aus meinen Versuchen das Resultat für das von mir untersuchte Konzentrationsgebiet, daß die Reaktionsgeschwindigkeit mit der Zyminmenge um so stärker zunimmt, je verdünnter die Glykoselösung ist; der Exponent n der Gleichung $\frac{k_1}{k_2} = \left(\frac{c_1}{c_2}\right)^n$ wächst also mit zunehmender Verdünnung.

Betrachten wir zunächst die Reaktionen im homogenen System, so fällt die Ungleichheit der Formeln auf, durch welche die Wirkung der Fermente dargestellt wird. Methodische Fehler, welche allerdings in diesem Gebiet vielfach noch erheblich sind, können nur in wenigen Fällen die Resultate wesentlich beeinflußt haben, da der Reaktionsverlauf, besonders die Rolle mitwirkender Säuren, Basen und Salze vielfach qualitativ noch unvollkommen erkannt ist; die mathematische Behandlung ent-

behrt in diesen Fällen der sicheren Grundlage. Ferner bemerkt man die Abweichung dieser Formeln von den für anorganische Katalysatoren gültigen, obwohl ja für die Fermente dieselben Gesetze zu erwarten wären.

Die Abweichungen von den einfachen Reaktionsgesetzen haben eine Reihe von Hypothesen hervorgerufen, deren Einzelheiten sich gedrängt kaum referieren lassen. Dieselben beziehen sich zum großen Teil auf die bemerkenswerte Tatsache, daß die Gesetze der Fermentreaktionen — wirklich oder scheinbar — sich mit der relativen Konzentration von Substrat und Ferment ändern. Diese Tatsache hat viele Autoren zu der Annahme geführt, daß zwischen Ferment und Substrat eine Verbindung eintritt, welche die Geschwindigkeit der Reaktion bedingt.

Über die Rolle dieser intermediären Verbindungen gehen die Annahmen der verschiedenen Autoren, Harriet, Brown, Glendinning, Bodenstein, Henri, Medwedew, Armstrong, teilweise auseinander. V. Henri hat diese Annahme mathematisch formuliert.¹⁾

Wird einer Lösung, welche die Substratmenge $a - x$ und die Menge x des Umwandlungsproduktes enthält, die Fermentmenge Φ zugesetzt, so wird sich ein Anteil von Φ , etwa z , mit dem Substrat, ein Teil, etwa y , mit dem Umwandlungsprodukt verbinden. Der freie Anteil des Ferments werde mit X bezeichnet. Die Bildung dieser Verbindungen soll nach dem Massenwirkungsgesetz erfolgen; m und n bezeichnen Gleichgewichtskonstanten.

Man erhält dann die folgenden Gleichungen:

$$(a - x) X = \frac{1}{m} z \quad x X = \frac{1}{n} y \quad \Phi = X + y + z$$

Nun können zwei verschiedene Annahmen gemacht werden.

1. Man kann annehmen, daß der freie Anteil des Ferments, X , mit dem Substrat reagiert; in diesem Fall ist die Reaktionsgeschwindigkeit proportional mit X und $a - x$; es

$$\text{ist also } \frac{dx}{dt} = \frac{k \cdot \Phi (a - x)}{1 + m(a - x) + nx}$$

¹⁾ C. r., Bd. CXXXV, S. 916, 1902.

Ferment	Reaktionskonst. k =	Einfluß der Fermentkonz $n = \frac{\log k_1 - \log k_2}{\log c_1 - \log c_2}$
Pepsin		0.5 (Schütz' Regel 0.5 0.5 [0.5] [0.5] [1] 0.5-1
Trypsin	$\frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$	
Fibrinferment		[0.5] 0.585
Labferment Diastase	$\frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ $\frac{1}{2t} \log \frac{a+x}{a-x}$	1
Maltase	$\frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ sinkt $\frac{a}{t} \left(2 \frac{x}{a} + \log \frac{a}{a-x} \right)$	[0.5]
Laktase	$\frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ sinkt	
Invertase	$\frac{1}{t} \log \frac{a+x}{a-x}$ $\frac{10a}{t} \left(\frac{2x}{a} + \log \frac{a}{a-x} \right) + \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$	1 (unter 0.4 norm. Zucker)
Emulsin	$\frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ sinkt $\frac{40a}{t} \left(-\frac{\epsilon x}{a} + 3 \log \frac{a}{a-x} \right) + \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ $\left(\frac{1}{t} \log \frac{a-\epsilon x}{a-x} \right) : (1-\epsilon x)$	Wie bei Invertase
Lipasen, Butyrasen	$\frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ sinkt $\left[\frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x} \right]$	1
Zymase Lebende Hefe Acetondauerhefe	$\left[\frac{1}{t} \log \frac{a+x}{a-x} \right]$ $\left[\frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x} \right] ?$	[1] [2 (Herzog)] [2.1-1.6 (Euler)] n sinkt mit steigendem a von 1.67-1.29
Hefeprefsaft	$\frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$	
Oxydase		2
Katalasen	$\frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$	1

Einfluß der Substratkonz. a	Bemerkung	Autor
k unabh. von a		(E. Schütz, Diese Zeitschrift, IX, 577. (Huppert u. Schütz, Pflüg. Arch., LXXX, 470. J. Sjöqvist, Skand. Arch. Phys., V. J. Schütz, Diese Zeitschrift, XXX, 1. Borissow \ Pawlow, Arbeit der Verdauungs-Samojloff) drüsen. J. Sjöqvist, Skand. Arch. Phys., V. Weis, Med. Carlsb. Lab., V, 127.
a steigt mit a, später k · a = konst.	Bei kleinerem a Bei größerem a	Henri und Languier des Bangels, C. r., CXXXVI, 1581. (Pawlow, Arbeit der Verdauungsdrüsen. Vernon, Journ. of Phys., XXVI, 420. Pollak, Hofm. Beitr., VI, 95. Fuld, Hofm. Beitr., II, 514. Fuld, Hofm. Beitr. II, 169. Henri, Lois générales etc. Brown und Gendinning, Journ. Chem. Soc., LXXXI, 388. Pawlow, Arbeit der Verdauungsdrüsen. Armstrong, Proc. Roy. Soc., VII. Henri u. Philoche, C. r. Soc. Biol., LVII, 172. Armstrong, Proc. Roy. Soc., LXXIII, 506.
a wächst mit a a = konst. a sinkt mit steig. a	für a < 0.15 norm. für a = 0.15 n. - 0.5 n. für a > 0.5 norm.	Sullivan-Tompson } berechnet v. Henri-Bodenstein Tammann } Diese Zeitschrift, XXXIX, 194. Henri } Henri, C. r., CXXXV, 916. (Tammann, Diese Zeitschrift, XVI. (Armstrong, Proc. Roy. Soc., LXXIII, 506. Henri.
a = konst. = konst. a sinkt	Größere Esterkonz. Kleinere Fettkonz. Größere Bei sehr starker Fermentwirkung	Herzog, K. Akad. in Amsterdam, Sitz.-Ber. Okt. 1903. Kastle, Amer. Chem. J., XXXI, 521. Stade, Hofm. Beitr., III, 291. Nicloux, C. r., Soc. Biol. LVI, 840. Aberson, Rec. Trav. chim. P. B. XXII, 78. Herzog, Diese Zeitschrift, XXXVII, 149. Euler, Diese Zeitschrift, XLIV, 53. Medwedew, Pflüg. Arch., LXXIV, 193; LXXXI, 530 und CIII, 403. (Senter, Diese Zeitschrift, XLIV, 257. Euler, Sv. Vet. Akad. Ark. f. Kemi, I. (Issajew, Diese Zeitschrift, XLII, 102.
a wächst mit steigendem a a sinkt mit wachsendem a a sinkt mit wachsendem a = konst. \sqrt{a} = konst. a^2 = konst.	Bei Überschuß von a des Ferments n = 1 bei hoher Fermentkonzentr.	

2. Man kann annehmen, daß die Verbindung z zwischen Substrat und Ferment ein instabiles Zwischenprodukt ist, welches sich zersetzt unter Rückbildung der entsprechenden Fermentmenge. In diesem Fall ist die Geschwindigkeit proportional mit z , es wird also $\frac{dx}{dt} = \frac{k \cdot \Phi(a - x)}{1 + m(a - x) + nx}$ und es führen somit beide Annahmen zum gleichen Ausdruck.

Durch Integration der Gleichung erhält man:¹⁾

$$k = \frac{a}{t} \left[(m - n) \frac{x}{a} + n \ln \frac{a}{a - x} \right] + \frac{1}{t} \ln \frac{a}{a - x}.$$

Setzt man $m = 30$ und $n = 10$, so erhält man

$$k = \frac{10a}{t} \left[2 \frac{x}{a} + \ln \frac{a}{a - x} \right] + \frac{1}{t} \ln \frac{a}{a - x};$$

die so gerechneten Werte k stimmen befriedigend mit den Beobachtungen überein, und zwar in recht weiten Grenzen der Substratkonzentration.

Aus der obigen Differentialgleichung erhält man für $x = 0$ die Anfangsgeschwindigkeit $\frac{1 + ma}{ka}$. Ist a sehr klein, so verschwindet $m \cdot a$ gegen 1 und die Anfangsgeschwindigkeit ist proportional der Konzentration; je größer a wird, desto mehr nähert sich die Anfangsgeschwindigkeit der Konstanz und wird schließlich $\frac{k}{m}$.

Auch für den Fall, daß von Anfang an Spaltprodukte zugegen sind, hat Henri die Fermente abgeleitet und mit der Erfahrung in Übereinstimmung gefunden.

¹⁾ Durch das zweite Glied unterschied sich diese Formel von derjenigen von Bodenstein. Bei der Berechnung der Henrischen Versuche hat Bodenstein die Annahme gemacht, daß die Wirksamkeit des Ferments sowohl durch die Saccharose als durch den Invertzucker beeinflusst wird, und zwar ist die erstere Beeinflussung größer als die zweite. Unter dieser Annahme gelangt Bodenstein zu der Gleichung

$$k = \frac{a}{t} \left[(m - n) \frac{x}{a} + n \ln \frac{a}{a - x} \right],$$

wenn m und n die Konstanten, welche die Aktivitätsbeeinflussung des Fermentes ausdrücken.

Bei dem Versuch, die Formeln von Bodenstein und Henri auf die proteolytischen Reaktionen (natürlich soweit sie in Lösung verlaufen) auszudehnen, habe ich indessen bedeutend weniger guten Anschluß an das Experiment gefunden; auch fügen sich meine Versuche über zellfreie alkoholische Gärung nicht (ohne spezielle Annahme) der Theorie von Bodenstein und Henri.

Vielleicht sind es derartige Schwierigkeiten gewesen, welche vor einiger Zeit Herrn R. O. Herzog¹⁾ zu einem Versuch veranlaßt haben, Enzymlösungen als heterogene Systeme zu behandeln.

«Stellen wir uns vor», schreibt Herzog, «daß ein Kapillarsystem, bei welchem die Kapillarwände durch die Oberfläche des Enzyms gebildet werden, vorliegt: kapillare Vorgänge ersetzen die mechanische Rührung. Dann wird der inneren Reibung ein bedeutender Einfluß zufallen: der größeren Viskosität entspricht eine relative Abnahme der Zufuhr an umwandelbarem Stoff in der Zeiteinheit.» «Sei k die Geschwindigkeitskonstante, a die Konzentration an umwandelbarem Stoff, η die innere Reibung, dann setzen wir $k = \left(\frac{1}{\eta}\right)^m$ worin m eine Konstante bedeutet.

Rudorfs Ausdruck für die innere Reibung

$$\eta = R + Aa + Ba_2 + Ca_3$$

(R, A, B, C sind Konstanten) wird in obige Formel eingeführt und dabei $R = 0$ gesetzt. Es folgt dann

$$k = \left(\frac{1}{Aa + Ba_2 + Ca_3}\right)^m$$

«Die Berechnung hat ergeben, daß $m = 1/2$ gesetzt werden kann und daß die Anwendung von bereits zwei Konstanten genügende Übereinstimmung liefert.» Diese Übereinstimmung ist im Original nachzusehen.

Gegen diese Ableitung von Herzog hat Henri²⁾ eine Reihe von, wie mir scheint, sehr berechtigten Einwänden er-

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLI, S. 416 (1904).

²⁾ C. r. Soc. Biol., Bd. LVII, S. 173 (1904) und Zeitschrift f. physik. Chemie, Bd. LI, S. 19 (1905).

hoben, deren Widerlegung¹⁾ Herzog nicht gelungen ist. Zunächst ist nicht einzusehen, wie Herzog daran festhalten kann, daß in Rudorfs Ausdruck für η jemals $R = 0$ gesetzt werden kann, und daß für $a = 0$ auch $R = 0$ werden müsse. Sodann streiten vielfach die Erfahrungen gegen den von Herzog geforderten Zusammenhang zwischen innerer Reibung und Geschwindigkeit der Enzymreaktionen. Ich verweise diesbezüglich auf die Antwort von V. Henri.

Herzog ist bei seiner Darstellung von folgender Überlegung Nernsts ausgegangen: «In der Grenzfläche zwischen zwei miteinander reagierenden Phasen besteht stets Gleichgewicht: die eigentlichen chemischen Prozesse finden im Innern einer Phase statt, und wenn sie schnell genug verlaufen, so ist die Reaktionsgeschwindigkeit allein bestimmt durch die Geschwindigkeit, mit der sich die Konzentrationsunterschiede zwischen der Grenzfläche und dem Innern der Phasen durch Diffusion ausgleichen.» Inwiefern der erstere Satz allgemein ist, soll hier nicht diskutiert werden: daß unter den genannten Umständen die Diffusion den zeitlichen Verlauf heterogener Reaktionen bedingt, dürfte niemand bezweifelt haben. Herrn Herzog gegenüber ist zu erinnern, daß die Bedingung: «wenn sie schnell genug verlaufen» sehr wesentlich ist. Die Diffusionsgeschwindigkeit wird den Verlauf der Reaktionen im heterogenen System nur dann bestimmen, wenn die Reaktionsgeschwindigkeit so groß ist, daß die Lösung an reagierendem Stoff verarmt, wenn also der Grenzsicht in der Zeiteinheit durch Diffusion nicht so viel Substanz zugeführt werden kann, als durch die Reaktion verschwindet.

Die zu Beginn dieser Mitteilung gegebene Zusammenstellung über den zeitlichen Verlauf der Enzymreaktionen zeigt, daß — mit sehr wenig Ausnahmen — die Enzymreaktionen so langsam verlaufen, daß die Konzentration der Lösung an der hypothetischen Grenzfläche zwischen Ferment und Lösung sehr wohl aufrecht erhalten werden kann. Herzogs Behandlung der Enzyme als «Kapillarsysteme» entspricht deswegen nicht der Wirklichkeit, weil wir es hier (unter Beibehaltung der Annahme eines heterogenen Systems) mit Kapillarröhren von etwa

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLIII, S. 222, 1904.

der Größenordnung der molekularen Dimensionen zu tun haben.

Der Ausgleich durch Diffusion wird also, im Gegensatz zu obiger Bedingung, im Vergleich zur Reaktionsgeschwindigkeit sehr schnell erfolgen.

Das vorliegende Zahlenmaterial zeigt ferner — und zwar die beststudierten Enzyme gerade am deutlichsten —, daß die Fermentwirkung um so vollkommener den für katalytische Reaktionen geltenden Gesetzen folgt, je größer die Konzentration des Enzyms im Verhältnis zum Substrat ist; ich erinnere an Henris Versuche über Invertase, an die für Zymase erhaltenen Resultate. Gerade das Gegenteil wäre zu erwarten, wenn es sich um einen Diffusionsvorgang im Sinne Herzogs handelte.

Zu den schnell verlaufenden Fermentwirkungen gehört diejenige der Katalasen. Eine 0,005 norm. Wasserstoffsperoxyd-Lösung wird von einer mäßig starken Katalaselösung in ungefähr 10 Minuten zu 50% zersetzt. Gerade in diesem Fall haben wir alle Forderungen der chemischen Dynamik recht annähernd erfüllt, und es ist die Annahme, daß hier ein heterogenes System vorliegt, einerseits nicht wahrscheinlich und andererseits unnötig, da sich ja die Vorgänge durch die allgemeinen Gesetze der Lösungen darstellen lassen. Es ist deswegen auffallend, daß neuerdings G. Senter¹⁾ gerade die Katalaselösungen als heterogene Systeme auffassen will.

In die Tabelle S. 438 habe ich auch die wirklich im heterogenen System, also in der wahrnehmbaren Grenzfläche zweier Phasen verlaufenden Reaktionen aufgenommen.

Für den Vergleich zwischen dem Verlauf im homogenen und heterogenen System bieten die Arbeiten über das Pepsin das beste Material. Aus diesen scheint hervorzugehen, daß für die Verdauung in beiden Fällen die gleichen Beziehungen gelten. Falls sich dies an weiteren Versuchen bestätigt, wird man den Schluß ziehen dürfen, daß auch unter den Versuchsbedingungen, wie sie etwa Sjöqvist gewählt hat, die Reaktion so langsam verläuft, daß gegenüber dieser der zeitliche Verlauf der Diffusion nicht in Betracht kommt.

¹⁾ Proc Roy. Soc., Bd. LXXIV, S. 201 (1904) und Zeitschrift f. physik. Chemie, Bd. LI, S. 673 (1905).

Auch die alkoholische Gärung ist seit kurzem sowohl in Lösung wie auch im heterogenen System untersucht. Die Zymaselösung wurde von mir nach der bekannten Methode von E. Buchner dargestellt, Aberson hat lebende Hefe, Herzog Acetondauerhefe in Zuckerlösungen suspendiert, ebenso O. Grigoriew.¹⁾ Während das Zahlenmaterial von Aberson sehr reichhaltig ist, betrachtet Herzog seine Versuche nur als vorläufige und hat infolgedessen seine Versuchsbedingungen nicht sehr vielseitig variiert. Die Resultate der vier Untersuchungen sind im wesentlichen die folgenden:

	Lebende Hefe	Acetondauerhefe	Zymaselösung (Preßsaft)
Reaktionskonstante $k =$	$\frac{1}{t} \ln \frac{a+x}{a-x}$	$\frac{1}{t} \ln \frac{a}{a-x}$ oder $\frac{1}{t} \ln \frac{a+x}{a-x}$	$\frac{1}{t} \ln \frac{a}{a-x}$ (Vergl. l. c. S. 62)
Einfluß der Hefemenge bzw. Konzentration der Zymase $n = \frac{\log k_1 - \log k_2}{\log c_1 - \log c_2}$	1	2 (Herzog) 1.5 (Grigoriew)	1,67 — 1,29
Einfluß der Zuckerkonzentration a	$k \cdot a$ wächst mit steigendem a	$k \cdot a$ wächst im untersuchten Gebiet mit abnehmendem a	
Konstante A der Temperaturformel von Arrhenius	7803,5	9053	—

In der lebenden Hefe und der Acetondauerhefe haben wir ein ausgeprägt heterogenes System, indem hier das Substrat durch eine Scheidewand zum Ferment diffundieren muß. In welchem Grad bei den Versuchen mit lebender Hefe Neubildung bzw. Sekretion der Zymase in Betracht kommt, ist schwer zu sagen. Man könnte die Unterschiede der Resultate Abersons von den mit Acetondauerhefe und Hefepreßsaft erhaltenen dadurch erklären, daß in der lebenden Hefe relativ sehr große Mengen Zymase wirksam waren, während die Hefe bei der

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLII, S. 299 (1904).

Acetonbehandlung immerhin erheblich geschwächt wird und auch durch das Buchnersche Preßverfahren der Hefe nur ein Teil der Zymase entzogen wird.

Herzog selbst scheint zu der Auffassung gekommen zu sein, daß die Acetondauerhefe kein günstiges Material für chemisch-dynamische Versuche ist. Wegen des von Herzog angegebenen hohen Wertes $n = 2$ (der Wert ist offenbar abgerundet) habe ich weitere Versuche und zwar mit glykogenarmer Dauerhefe angestellt, um zu sehen, ob nicht, wie dies bei homogenen Systemen zutrifft, dieser Wert mit steigender Hefemenge bzw. abnehmender Zuckermenge abnimmt. Dies ist nicht der Fall, wie die folgenden Zahlen zeigen, die ich des Vergleichs wegen in der gleichen Art berechnet habe wie Herzog (vergl. S. 444).

Konzentration der Glykose	$n = \frac{\log k_1 - \log k_2}{\log c_1 - \log c_2}$
$\frac{1}{2}$ normal	2.1
1 »	1.9
2 »	1.6

Eine sichere Deutung dieser Resultate dürfte vorläufig kaum zu geben sein. Daß aber bei Arbeiten mit Acetondauerhefe die Zellwand eine Rolle spielt, geht aus folgenden Versuchen hervor.

In zwei Reibschalen wurden je 10 g Acetondauerhefe (Schroders glykogenarmes Zymin) mit je 2 ccm verdünnter Zuckerlösung angefeuchtet und mit 70 g feinstem Seesand versetzt. Der Inhalt der einen Reibschale wurde mit einem Glasstab zu einem homogenen Brei gemischt, derjenige der anderen wurde 15 Minuten lang kräftig zerrieben. Hierdurch wurden zwar bei weitem nicht alle, aber ein großer Teil der Hefezellen zerrissen, wie mikroskopisch festgestellt wurde.

Aus jeder der beiden Reibschalen wurden 3 Proben, jede zu 10 g, genau abgewogen und mit 20 ccm einer $\frac{1}{2}$ -normalen Glykoselösung versetzt. Die Gärungsgeschwindigkeit wurde im Thermostaten bei 30° gemessen, und zwar wurden die Messungen begonnen, nachdem das Gemisch sich 2 Stunden im Thermo-

staten befunden hatte. Berechnet man die Reaktionsgeschwindigkeit in derselben Art, wie dies Herzog getan hat, so erhält

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

	Unzerriebene Aceton- dauerhefe			Zerriebene Aceton- dauerhefe		
K =	0,00120	0,00125	0,00116	0,00133	0,00138	0,00141
Mittel	0,00120			0,00137		

Daß die Aufschlammung von Zellen in Lösungen nicht ohne weiteres als homogenes System behandelt werden darf, ist wohl unbestreitbar. Wenn, wie dies bei der Hefe der Fall ist, die Gesamtreaktion innerhalb der Zellen vor sich geht, kommen die Konzentrationen in diesen nicht in der umgebenden Lösung in Betracht; ob aber diese beiden Konzentrationen gleich oder auch nur proportional sind, dafür haben wir keinen Anhaltspunkt. Gewiß haben die Messungen von Aberson und Herzog Interesse, nur bezüglich der Wirkungsweise der Fermente dürften sie einstweilen noch keine eindeutigen Aufschlüsse liefern.

Die Auffassung der Fermentlösung im allgemeinen als heterogene Systeme hat sich in der Ankündigung einer neuen Theorie auch V. Henri angeschlossen. Das Substrat soll sich zwischen der Lösung und dem Ferment (Kolloidphase) in einem gewissen Verhältnis $\frac{c_2}{c_1}$ verteilen, entsprechend den für die

Absorption bekannten Beziehungen. Inwieweit die Erfahrungen sich nach diesem Prinzip darstellen lassen, ist erst abzuwarten. Über die Absorption von Kristalloiden durch Pseudolösungen bzw. ultramikroskopische Lösungen von Kolloiden ist bis jetzt so außerordentlich wenig bekannt, daß es jedenfalls vieler Versuche bedürfen wird, um eine sichere Grundlage zu schaffen.

Beibehalten wird also von Henri die von ihm und Bodenstein, von A. Brown,¹⁾ Glendinning²⁾ und Armstrong³⁾ angenommene partielle Verbindung zwischen Ferment und Sub-

¹⁾ Journ. Chem. Soc., Bd. LXXXI, S. 373, 1902.

²⁾ Journ. Chem. Soc., Bd. LXXXI, S. 388, 1902.

³⁾ Proc. Roy. Soc., Bd. LXXIII, S. 526, 1904.

strat, nur daß nach Henris neuester Entwicklung die Verteilung des Substrates zwischen Ferment und Wasser nicht nach konstanten Proportionen zu erfolgen braucht, sondern nach einem empirisch festzustellenden Verteilungskoeffizienten.

In der Tat hat die Annahme, daß eine Verbindung zwischen Ferment und Substrat die Fermentreaktion vermittelt, die Tatsachen zwar noch nicht vollständig, aber bis jetzt am besten darstellen lassen (Bodenstein, Henri). Die Wirkungsweise der Fermente und der anorganischen Katalysatoren erscheint somit als gleichartig: beide vermehren die Konzentration der (die Reaktion vermittelnden) aktiven Moleküle.¹⁾

Stockholms Högskola.

¹⁾ H. Euler, Zeitschrift f. physik. Chemie. Bd. XXXVI, S. 641, 1901 und Bd. XLVII, S. 353, 1904.