

Über eine umkehrbare Fermentreaktion im heterogenen System. Esterbildung und Esterverseifung.¹⁾

Von

Dr. **Wilhelm Dietz.**

(Der Redaktion zugegangen am 29. Mai 1907.)

Inhalt:

	Seite
I. Allgemeines über Fermente	279
Chemische Dynamik der Fermentreaktionen	281
II. Experimentelles.	
Darstellung des Pankreasferments	286
Versuche zur Isolierung des Ferments	287
Gang der Untersuchung	289
Die Berechnung der Versuche	291
Versuche mit Ölsäure und Äthylalkohol	294
Versuche mit n-Buttersäure und i-Amylalkohol	295
Die Gleichgewichtsmessungen	296
Die Geschwindigkeitsmessungen	300
Integration der kinetischen Gleichung	306
Einfluß der Fermentkonzentration auf die Reaktions- geschwindigkeit	310
Beziehungen zwischen Gleichgewicht und Reaktions- geschwindigkeit	312
Erklärung der halben Potenz über die Esterkonzentration	314
III. Betrachtungen über die durch das Ferment hervorgerufene Gleichgewichtsverschiebung und die Verletzung des zweiten Hauptsatzes der Thermodynamik	319

Allgemeines über Fermente.

Es steht wohl heute ohne Zweifel fest, daß die Fermentreaktionen den katalytischen zuzuzählen sind. Sie sind, wie diese, Vorgänge, die an sich langsam verlaufend, durch die Gegenwart eines fremden Stoffes beschleunigt werden.

¹⁾ Diese Arbeit wurde im Auszuge vorgetragen von Herrn Professor Dr. M. Bodenstein auf dem VI. Internationalen Kongreß für angewandte Chemie zu Rom und auf der XIII. Hauptversammlung der deutschen Bunsen-Gesellschaft für angewandte physikalische Chemie zu Dresden.

Berzelius war wohl der erste, der diese Vermutung aussprach, und es ist sein großes Verdienst, daß er die Analogie zwischen solchen Reaktionen, wie die Umwandlung von Zucker unter dem Einflusse von verdünnten Säuren und von Diastase klar erkannte und sie unter einem gemeinsamen Gesichtspunkt zusammenfaßte. Er war es auch, der zuerst betonte, daß die Lebens- und Umwandlungsvorgänge im tierischen und pflanzlichen Organismus katalytische Prozesse seien. Späterhin finden wir diese Ansicht immer deutlicher ausgesprochen, so wenn z. B. C. Ludwig in seinem Lehrbuch der Physiologie schreibt: «Es könnte leicht dahin kommen, daß die physiologische Chemie ein Teil der katalytischen würde.»

Betrachtet man also die Fermente als Katalysatoren, so ist damit nichts weiter gemeint, als daß sie die Eigenschaft besitzen, durch ihre Anwesenheit eine an und für sich langsam verlaufende Reaktion zu beschleunigen und meistens während der Reaktion unverändert zu bleiben. In welcher Art und Weise die Fermente hierbei wirken, darüber wird nichts gesagt.

Es hat nun nicht an Theorien gefehlt, die dieses «geheimnisvolle Wirken der Fermente» erklären sollten. Die Theorie, welche bis in neuester Zeit wohl die meiste Geltung besaß, war von Pasteur aufgestellt worden.

Er teilte die Fermente in zwei Klassen: die geformten und die ungeformten Fermente. Für die ersteren nahm er an, daß ihre Wirkung mit dem Lebensprozeß der Zelle unzertrennlich verknüpft sei, daß also z. B. die alkoholische Zuckergärung nur in Gegenwart der lebenden Hefezelle erfolgen könnte. Er betrachtete die Gärung somit als eine Lebensverrichtung der Zelle. Der Zucker würde von dieser aufgenommen und Kohlensäure und Alkohol erschienen als Produkte des Stoffwechsels wieder. In welcher Weise der Zersetzungsvorgang im Innern der Zelle stattfand, darüber wird nichts gesagt. Es war somit nicht im mindesten eine Erklärung für die Wirkung der Fermente gegeben worden, vielmehr war ein Rätsel noch durch ein größeres, den Lebensprozeß, ersetzt. Für den Vorgang im Innern der Zelle war von manchen Forschern der Standpunkt

vertreten worden, daß dort die ungeformten Fermente wirksam seien, welche die Zersetzung veranlaßten. Es gelang ihnen jedoch nicht, solche Enzyme zu isolieren und somit den Beweis ihrer Behauptung zu erbringen.

Die Pasteursche Anschauung wurde erst durch die schönen Versuche von E. Buchner als falsch erwiesen. Diesem Forscher gelang es, bei mehreren Fermenten den Lebensprozeß derselben von der eigentlichen Fermentwirkung zu trennen. Er konnte z. B. aus getöteten Hefezellen ein Enzym isolieren, welches in gleicher Weise die alkoholische Zuckergärung hervorrief, wie die lebenden Hefezellen. Durch diese epochemachenden Arbeiten ist also der Unterschied zwischen geformten und ungeformten Fermenten gefallen. Trotzdem ist in letzter Zeit wieder von Green¹⁾ der Versuch gemacht worden, die Fermentwirkungen als Lebensprozesse anzusehen. Er läßt zwar den Unterschied zwischen Fermenten und Enzymen fallen, bringt aber ihre Wirkung in Beziehung zu den vitalen Kräften des lebenden Protoplasmas.

Alle diese Theorien jedoch, welche das «Wesen» der Fermentwirkungen erklären sollten, sind ebensowenig von Erfolg gekrönt gewesen, wie die Hypothesen über das «Wesen» der Katalyse, und es ist nur zu wahr, wenn C. Oppenheimer²⁾ schreibt: «Die ganze biologische Auffassung der Fermentprozesse führt uns in eine Sackgasse.»

Chemische Dynamik der Fermentreaktionen.

Die zahlreichen Arbeiten, die bisher über die Fermente und ihre Wirkungen gemacht worden sind, beschäftigen sich größtenteils nur mit den qualitativen Verhältnissen des Vorganges. Die quantitative Seite und insbesondere die Frage nach dem zeitlichen Verlauf der Reaktion ist nur wenig berücksichtigt. Zu den Arbeiten, die sich mit der Kinetik der Enzymreaktionen beschäftigen, gehören vor allen Dingen die Untersuchungen von O'Sullivan und Thompson,³⁾ Duc-

¹⁾ Die Enzyme, übersetzt von A. Windisch.

²⁾ Die Fermente und ihre Wirkungen, 1903, S. 11.

³⁾ Journ. of Chem. Soc., Bd. LVII, I., S. 834 (1890).

laux,¹⁾ Tamman,²⁾ A. I. Brown,³⁾ H. Brown und Glendinning,⁴⁾ V. Henri,⁵⁾ Senter,⁶⁾ Herzog⁷⁾ u. a. Doch trotz dieser schönen Arbeiten wissen wir noch sehr wenig über die Dynamik der Fermentreaktionen.⁸⁾

Als katalytische Vorgänge betrachtet, sollte man in erster Linie erwarten, daß die Enzymreaktionen den Gesetzen der chemischen Kinetik folgen. Ein Beispiel, wo dies in guter Weise zutrifft, ist die von Senter untersuchte Zersetzung des Wasserstoffsuperoxyds durch Hämase. Für diese Reaktion gilt die Geschwindigkeitsgleichung erster Ordnung. Der Wert für k bleibt in jeder Versuchsreihe konstant und ist unabhängig von der Anfangskonzentration; ferner ist er proportional der Fermentkonzentration, wie die Theorie es erfordert.

Doch nur in wenigen Fällen liegen die Verhältnisse so einfach wie hier. Meist treten mehr oder minder große Abweichungen ein, welche in einzelnen Fällen in der Natur der Fermente ihre Erklärung gefunden haben.

Es ist sehr wahrscheinlich, daß die Enzyme Kolloide sind. Als solche haben sie natürlich wenig definierte Eigenschaften. Während die Eigenschaften der Lösungen eines Krystalloids unter gleichen Bedingungen immer dieselben sind, hängen diejenigen einer kolloidalen Lösung von verschiedenen Faktoren, insbesondere von ihrer Vorgeschichte, ihrem Alter usw. ab. Es ist daher nicht verwunderlich, wenn man bei der großen Empfindlichkeit und leichten Veränderlichkeit der Fermente nur schwer konstante Resultate erhält.

Die kolloidale Natur der Enzyme bedingt aber noch weitere Abweichungen.

Durch die Untersuchungen von Siedentopf und Zsigmondy ist wohl ohne Zweifel festgestellt, daß eine kolloidale

¹⁾ Mikrobiologie, Bd. II, Paris (1899).

²⁾ Zeitschrift f. phys. Chem., Bd. III, S. 25; Bd. XVIII, S. 426.

³⁾ Journ. of Chem. Soc., Bd. LXXXI, S. 373 (1902).

⁴⁾ Journ. of Chem. Soc., Bd. LXXXI, S. 383 (1902).

⁵⁾ Lois générales de l'action des Diastases, Paris (1903).

⁶⁾ Zeitschrift f. phys. Chemie, Bd. XLIV, S. 257.

⁷⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLVIII.

⁸⁾ Bredig, Ergebnisse der Physiologie (1902), S. 134—212.

Lösung ein zweiphasiges Gebilde mit großer Oberflächenentwicklung ist. An der Grenzfläche beider Phasen ist eine Oberflächenspannung wirksam, und diese bedingt, daß, wenn ein löslicher Stoff zu der kolloidalen Lösung gefügt wird, an der Trennungsfläche der Phasen Konzentrationsänderungen des gelösten Stoffes auftreten. Da nun die Reaktion an der Begrenzungsfläche der Phasen stattfindet, so sind die hier herrschenden Konzentrationen für die Geschwindigkeit der Reaktion maßgebend.

Man ersieht hieraus, daß die Verhältnisse bei den Fermentreaktionen bedeutend komplizierterer Natur sind, als bei den Reaktionen, in denen gewöhnliche anorganische Katalysatoren verwandt werden. Dementsprechend ist es durchaus nicht verwunderlich, wenn die Enzymreaktionen den Gesetzen der chemischen Kinetik in ihrer einfachen Form nicht folgen.

Früher glaubte man in diesen Abweichungen einen charakteristischen Unterschied zwischen den gewöhnlichen Katalysatoren und den Enzymen zu finden. Aber Bredig und seine Schüler¹⁾ haben durch ihre schönen Untersuchungen über die Zersetzung des Wasserstoffsperoxyds durch kolloidale Metalle gezeigt, daß diese Abweichungen in der kolloidalen Natur der Katalysatoren begründet sind. Sie finden ebensolche Abweichungen, wie sie bei den Fermenten auftreten, z. B. herrscht keine strenge Proportionalität zwischen Katalysatormenge und Geschwindigkeitskonstante; auch zeigt sich ein Temperaturoptimum der Geschwindigkeit, gerade wie es bei den Enzymreaktionen der Fall ist. Ebenso wie diese sind sie auch sehr empfindlich gegen Gifte. Es liegen also nach alledem keine Gründe vor, einen Unterschied zwischen der Wirkung der Fermente und der gewöhnlichen Katalysatoren zu machen.

Da die meisten Fermentreaktionen bis zum vollständigen Verbrauch des Substrats verlaufen, wie z. B. die Rohrzucker-spaltung durch Invertase, der Abbau der Eiweißstoffe durch Pepsin und Trypsin usw., so zog man früher den allgemeinen Schluß, daß die Enzymreaktionen nur einseitig verlaufende Vor-

¹⁾ Habilitationsschrift, Leipzig 1901.

Zeitschrift f. phys. Chemie, Bd. XXXI, S. 258, u. a.

gänge wären. Ja, man behauptete sogar, daß man mit Fermenten keine Synthesen von Stoffen erzielen könnte. Zwar gab es auch Fermentreaktionen, die nicht bis zu Ende verliefen, wie z. B. die Zersetzung des Amygdalins durch Emulsin. Allein man erkannte bald, daß der erreichte Endzustand kein Gleichgewicht war. Der Stillstand der Reaktion war vielmehr durch Zerstörung des Ferments, z. B. des Emulsins, hervorgerufen. Wurde neues Enzym hinzugefügt, so ging die Reaktion weiter.

Vom Standpunkt der Katalyse aus betrachtet, muß man für die Fermente erwarten, daß sie auch auf die inverse Reaktion einen beschleunigenden Einfluß ausüben. Es muß also sehr wohl möglich sein, unter geeigneten Bedingungen eine Fermentreaktion umkehrbar zu machen. Ein solcher Fall wurde zuerst vom Croft Hill¹⁾ entdeckt. Er fand bei der Spaltung der Maltose durch ein Ferment, Maltase genannt, daß die Umwandlung nicht bis zur vollständigen Bildung von Glukose verlief, und daß anderseits eine konzentrierte Glukoselösung unter dem Einfluß von Maltase sich wieder in Maltose zurückverwandelte. Die Versuche von Hill wurden von Emmerling²⁾ wiederholt. Er fand die Angaben von Hill bestätigt, nur nimmt er die Bildung von Isomaltose an. Diesem letzten Forscher gelang es ferner, aus Mandelnitrilglukosid und Glukose mittels Maltase das Amygdalin zu regenerieren.³⁾ Das Mandelnitrilglukosid ist ein Spaltungsprodukt des Amygdalins mit Maltase. Die Synthese des Amygdalins aus den Endspaltungsprodukten aus Blausäure, Bittermandelöl und Glukose mit Emulsin gelang nicht.

Seit einiger Zeit hat man nun mehrfach umkehrbare Fermentreaktionen kennen gelernt. Besonders interessant sind die Versuche von Kastle und Loewenhardt.⁴⁾ Sie fanden, daß das fettsplattende Enzym der Pankreasdrüse unter Umständen auch die Synthese von Estern bewerkstelligen kann. So konnten

¹⁾ Journ. of Chem. Soc., Bd. LXXIII, S. 634 (1898).

²⁾ Chem. Ber., Bd. XXXIV, S. 600 (1901).

³⁾ Chem. Ber., Bd. XXXIV, S. 3810 (1901).

⁴⁾ Amer. chem. Journ., Bd. XXIV, S. 491 (1900).

sie aus Buttersäure und Äthylalkohol den Buttersäureäthylester herstellen, und denselben andererseits bei Zusatz von Wasser durch dieses Ferment wieder spalten. Ihre Resultate wurden von Mohr¹⁾ bestätigt.

In neuester Zeit ist eine Arbeit von Pottevin²⁾ erschienen, welche ebenfalls die Esterbildung und Esterzersetzung zum Gegenstand hat. Diesem Forscher gelang es, mittels eines Enzyms, welches er aus der Pankreasdrüse des Schweines erhielt, Ölsäure und Glycerin in Mono- und Triolein umzuwandeln. Er stellte die Produkte in solchen Mengen dar, daß er sie durch Siedepunktsbestimmungen und Elementaranalyse identifizieren konnte. Auch aus anderen Alkoholen und Säuren konnte Pottevin die entsprechenden Ester bilden. Brachte er andererseits die fertigen Ester mit Wasser und Ferment zusammen, so erfolgte Verseifung.

Nun beschäftigten sich aber alle diese Arbeiten nur mit der qualitativen Seite des Vorganges. Vom Standpunkt der chemischen Statik und Dynamik sind diese Reaktionen jedoch nur wenig betrachtet worden, und doch sind sie gerade am geeignetsten, die Wirkung des Ferments als Katalysator klar zu stellen. Bei Croft Hill finden sich nur die Ausgangs- und Endkonzentrationen seiner Versuche verzeichnet. Aus diesen Werten hat Pommeranz³⁾ die Gleichgewichtskonstanten berechnet. Die erhaltenen Zahlen bestätigen das Massenwirkungsgesetz ganz leidlich für die Croft Hillsche Fermentreaktion; aber die Bestätigung betrifft nur das Gleichgewicht, und zwar nur bei wenig geänderten Versuchsbedingungen.

Es erschien daher wünschenswert, im Falle einer umkehrbaren Fermentreaktion eingehend zu untersuchen, inwieweit die Forderungen der chemischen Dynamik und Statik mit den Experimenten übereinstimmen. In der vorliegenden Arbeit ist nun die oben erwähnte Reaktion von Pottevin, die Ester-

¹⁾ Wochenschrift für Brauerei, Bd. XIX, S. 588 (1902).

²⁾ Compt. rend., Bd. CXXXVI, S. 1152 (1903); Bd. CXXXVII, S. 378 (1904).

³⁾ Wiener Monatshefte für Chemie, Bd. XXIII, S. 750 (1902).

bildung und Esterverseifung, von diesem Gesichtspunkte aus untersucht worden.

Darstellung des Pankreasferments.

Die Herstellung des Ferments erfolgte im allgemeinen nach Pottevins Angaben.¹⁾

Pankreasdrüsen vom Schwein wurden in einer Fleischhackmaschine fein zerhackt, alsdann wurde das Produkt so lange mit absolutem Äthylalkohol behandelt, bis den Gewebeteilen das Wasser entzogen war. Es ist alsdann zweckmäßig, noch einmal mit der Maschine zu zerhacken, weil man dann einen hohen Feinheitsgrad erhält. Nachdem man den Alkohol durch Filtration möglichst vollständig entfernt hat, bringt man den Rückstand in Soxlethsche Extraktionsapparate und entfettet mit Äther vollständig. Nach der Entfettung bringt man den Inhalt der Extraktionshülsen auf ein großes Nutschenfilter, saugt den Äther ab und trocknet im Luftstrome. Dieses so erhaltene Gewebe der Pankreasdrüse zeigt nun die fermentativen Eigenschaften.

Die zunächst hergestellten Fermentpräparate waren nur wenig haltbar; sie nahmen mit der Zeit saure Reaktion an. Es lag nahe, dies auf eine Selbstverdauung zurückzuführen. Diese ließ sich nun verhindern, wenn man das Ferment mit Wasser extrahierte. Das Wasser löst nämlich das proteolytische Ferment vollständig aus dem Gewebe heraus, und es kann somit eine Zersetzung desselben nicht mehr stattfinden.

Das Auswaschen des Pankreasgewebes mit Wasser geschieht zweckmäßig in folgender Weise. Man breitet auf ein großes Nutschenfilter das Ferment in dünner Schicht aus, übergießt mit kaltem Wasser und saugt stark ab. Das Auswaschen geschieht solange, bis das Filtrat mit verdünnter Essigsäure keinen weißlichen Niederschlag mehr gibt. Das Wasser darf mit dem Ferment nicht sehr lange in Berührung sein, weil dieses sonst aufquillt und hartnäckig das Filter verstopft; deshalb gibt man immer nur kleine Portionen Wasser zu und läßt diese erst absaugen, ehe man neues Wasser aufgießt. Alsdann trocknet man das Ferment wieder mit Alkohol und Äther. Um

¹⁾-Compt. rend., Bd. CXXXVII, S. 378 (1904).

immer ein einigermaßen gleichförmiges Produkt zu erhalten, wurde das Ferment noch durchgesiebt. Nur der feine Teil wurde zu den Versuchen angewandt.

Das so mit Wasser extrahierte Pankreasgewebe zeigt nun neben größerer Haltbarkeit auch noch stärkere fermentative Wirkungen.

Versuch.

Gleiche Mengen einer Lösung von Buttersäure in Amylalkohol wurden in einem Falle mit ungewässertem Ferment, im anderen Falle mit der gleichen Menge gewässertem Ferment versetzt.

Der Umsatz in 19 Stunden betrug:

25,3% mit ungewässertem Ferment,

30,4% mit gewässertem Ferment.

Nach vierwöchentlichem Aufbewahren hatte sich die katalytische Kraft des Ferments kaum geändert. Allerdings zeigte es noch immer einen kleinen Säuregehalt (wahrscheinlich Amidosäuren von der Zersetzung herrührend), welcher sich auch durch mehrmaliges Auswaschen mit Wasser nicht vollständig entfernen ließ. Doch die Säuremenge ist nur minimal, und ihr Titer, welcher sehr klein gegenüber dem der zur Umsetzung gelangenden Säure ist, wurde in den späteren Versuchen jeweils von dem gefundenen Titer abgezogen. Doch blieb jetzt der Säuretiter des Enzyms konstant.

Die Aufbewahrung des Ferments geschah im Eisschrank.

Versuche zur Isolierung des Ferments.

Das nach der oben angegebenen Methode erhaltene Produkt stellt nun durchaus nicht ein reines Ferment dar, sondern es sind nur die möglichst weitgehend gereinigten Gewebefasern der Pankreasdrüse, in deren Zwischenraum das eigentliche Enzym eingelagert ist. Es lag nun nahe, anzunehmen, daß man mit einem vollständig reinem Fermente die kräftigsten Wirkungen erhalten würde. Deshalb wurden zahlreiche Versuche angestellt, um das Ferment zu isolieren.

Das mit Wasser extrahierte Pankreasgewebe, welches also kein Trypsin mehr enthielt, wurde während einiger Tage mit

Glycerin behandelt. Die so erhaltene Extraktion zeigte nun starke katalytische Eigenschaften.

Versuch.

Ein Teil dieser Lösung wurde mit Ölsäure versetzt.

Anfangstiter: 8,05 ccm Ba(OH)₂,

Nach ca. 18 Stunden 3,40 » »

Um die Glycerinextraktion möglichst rein zu erhalten, wurde dieselbe durch Pukallsche Tonzellen filtriert. Die so erhaltene klare Lösung hatte jedoch die katalytischen Eigenschaften fast vollständig verloren.

Versuch.

Filtrierte Glycerinextraktion wurde mit Ölsäure versetzt:

Anfangstiter: = 6,30 ccm Ba(OH)₂

Titer nach 5 Tagen 6,00 » »

Das wirksame Ferment, welches also im Glycerin kolloidal gelöst war, ist durch die Tonzelle fast vollständig zurückgehalten worden. Die Filtration wurde deshalb aufgegeben, und es wurden die Lösungen durch Zentrifugieren geklärt.

Auf Zusatz von Äthylalkohol fiel dann aus dieser Lösung ein feiner weißer Niederschlag aus. Dieser wurde abfiltriert und als Katalysator benutzt.

Versuch.

Buttersäure in Amylalkohol:

Anfangstiter: 5,85 ccm Ba(OH)₂

nach 16 Stunden: 5,50 » »

Diese Operation des Ausfällens mit Alkohol mußte rasch vorgenommen werden, denn ließ man denselben länger wirken, so war das Ferment unwirksam geworden: es war getötet. Um die zerstörende Wirkung des Alkohols zu umgehen, wurden andere Stoffe wie Aceton, Äther, verdünnte Kochsalzlösung als Ausfällungsmittel benutzt, aber ich hatte hiermit keinen Erfolg. Sie brachten entweder gar keinen oder nur eine bedeutend geringere Ausfällung als Äthylalkohol hervor.

Da sich der Herstellung des reinen Ferments große Schwierigkeiten entgegenstellten, und dieses auch äußerst empfind-

lich war, so wurden weitere Versuche zur Isolierung des Enzyms nicht mehr angestellt.

Die unten folgenden Versuche sind daher alle mit dem Pankreasgewebe als Katalysator angestellt worden.

Gang der Untersuchung.

Die Reaktion der Esterbildung und -Verseifung, welche schon so oft Gegenstand der physikalisch-chemischen Untersuchung gewesen ist, verläuft nach folgendem allgemeinen Schema:



Wie oben schon gesagt wurde, bestand die Absicht, den Verlauf dieser Reaktion unter dem Einflusse des Pankreasferments zu verfolgen. Es sollte sowohl die Geschwindigkeit der Esterbildung und -Verseifung als auch das Gleichgewicht dieses Vorganges bestimmt werden, in ganz analoger Weise wie dies von Knoblauch¹⁾ geschehen war; und es sollte untersucht werden, inwieweit die experimentellen Ergebnisse mit den Forderungen des Massenwirkungsgesetzes übereinstimmen.

Um bei dieser Reaktion jede Komplikation zu vermeiden, ist von vornherein die Anwendung mehrwertiger Alkohole und mehrbasischer Säuren auszuschließen, denn solche werden voraussichtlich einen stufenweisen Verlauf des Vorganges bedingen. Es kamen daher nur einwertige Alkohole und einbasische Säuren in Betracht; und zwar wurden die ersten Versuche mit Äthylalkohol und Ölsäure, die späteren mit Iso-Amylalkohol und Normalbuttersäure angestellt.

Wie man aus der allgemeinen Reaktionsgleichung ersieht, wird man bei großem Überschuß an Alkohol nur dann einen gut definierten Gleichgewichtszustand erhalten, wenn man dem Reaktionsgemisch von vornherein eine gewisse Wassermenge zusetzt. Zunächst wurde deshalb versucht, in einer äquimolekularen Äthylalkohol-Wassermischung zu arbeiten, allein es zeigte sich, daß in einer solchen Lösung die Reaktionsgeschwindigkeit so klein war, daß sie praktisch nicht verwertet werden konnte. Erst bei höheren Alkoholkonzentrationen, ca. 90%, wurde die

¹⁾ Zeitschr. f. physik. Chem., Bd. XXII, S. 268.

Geschwindigkeit zur Messung geeignet. Beim Amylalkohol war es überhaupt nicht möglich, eine äquimolekulare Alkohol-Wassermischung herzustellen, da derselbe im Maximum nur ca. 5 Mole Wasser auf ca. 8 Mole Alkohol löst. Die Wasserkonzentrationen wurden deshalb nur in diesen Grenzen variiert.

Durch die Verwendung des Ferments als Katalysator bei der obigen Reaktion treten nun einige Komplikationen des sonst so einfachen Vorganges auf. Das Ferment, ein gelblich weißes Pulver, ist nämlich in der betreffenden Reaktionsflüssigkeit unlöslich. Bringt man also dasselbe zu den reagierenden Stoffen, so erhält man ein heterogenes System, mit einer Fermentphase und einer Flüssigkeitsphase. Damit nun während der Reaktion keine örtlichen Konzentrationsunterschiede auftreten, ist fortwährende lebhaftere Rührung erforderlich. Auch ist das Rühren notwendig für die Probeentnahme. Würde nämlich aus dem ruhenden Reaktionsgemisch mit einer Pipette die Probe entnommen, so würde man nur die klare, fermentfreie Lösung erhalten. Mit der Zeit würde daher eine relative Anreicherung des Enzyms in dem System stattfinden, und dies ließe sich bei der Berechnung der Versuche nur schwer berücksichtigen. Es mußte deshalb danach getrachtet werden, daß bei jeder Probeentnahme stets auch die gleiche Menge Ferment mit aus der Lösung entfernt wurde. Um dies zu erreichen, wurden Pipetten verwandt, welche unten nicht zu einer Spitze ausgezogen waren. Bei genügend großer Rührgeschwindigkeit, und genügend raschem Aufsaugen mittels einer solchen Pipette erreichte man nun, daß man immer die entsprechende Menge Ferment dem System entnahm.

Es seien hier noch die Zahlen von einigen Versuchen angegeben, die diese Tatsache bestätigen:

Bei einem Versuch mußten theoretisch jedesmal 0,0380 g Ferment bei 5 ccm Flüssigkeitsentnahme entfernt werden, gefunden wurde: 0,0381; 0,0378; 0,0384; also der wahren Menge sehr nahe kommend.

Damit die Rührung des Reaktionsgemisches energisch ausgeführt werden konnte, wurde die Reaktion in zylindrischen Glasgefäßen vorgenommen, die mit einer guten Rührvorrich-

tung versehen waren. Die Glasgefäße waren in einem Thermostaten ($t = 35^{\circ} \text{C.}$)¹⁾ befestigt. Der Antrieb erfolgte durch einen Elektromotor.

Nachdem die reagierenden Stoffe auf die Versuchstemperatur vorgewärmt waren, wurden sie unter lebhafter Rührung in den Glasgefäßen zur Reaktion gebracht. Die Mengenverhältnisse wurden dabei immer so gewählt, daß das Flüssigkeitsvolumen 270 ccm betrug. Von Zeit zu Zeit wurden mit den oben beschriebenen Pipetten Proben zu 5 ccm herausgenommen, mit stark gekühltem Äthylalkohol versetzt und mit Barytwasser (ca. 0,03 n) und Phenolphthalein als Indikator titriert. Der Zusatz des Äthylalkohols geschah einerseits, um die Reaktion zum Stillstand zu bringen, andererseits um den Amylalkohol mit dem Barytwasser mischbar zu machen, wodurch der Umschlag bedeutend schärfer wurde.

Die Berechnung der Versuche.

Wie oben schon gezeigt wurde, ist das Reaktionssystem heterogen, und zwar vollzieht sich die Reaktion in der Fermentphase, wie folgender Versuch zeigt:

Ein Gemisch von Amylalkohol und Buttersäure wurde mit Ferment zur Reaktion gebracht:

Der Anfangstiter betrug	6,50 ccm $\text{Ba}(\text{OH})_2$
nach 2 Std. 46 Min. war der Titer	5,28 » »

Jetzt wurden 20 ccm aus dem Reaktionsgemisch herausgenommen, vom Ferment abfiltriert und die klare fermentfreie Lösung wieder in den Thermostaten gebracht. Nach 23 Std. 46 Min. war der Titer der ursprünglichen Lösung 1,79 ccm $\text{Ba}(\text{OH})_2$ geworden, während der Titer der abfiltrierten Lösung 5,30 ccm war, also konstant geblieben war.

Dieser Versuch zeigt deutlich, daß die Reaktion nur in der Fermentphase stattfindet. Im ganzen System verläuft der Vorgang wahrscheinlich folgendermaßen: Die in der Lösung befindlichen Stoffe diffundieren in die Fermentphase und werden hier infolge der katalytischen Eigenschaften des Enzyms zur

¹⁾ Pottevin gibt diese Temperatur als die geeignetste an.

Reaktion gebracht. Die entstandenen Stoffe diffundieren nun ihrerseits in die Lösung.

Es läßt sich nun nicht voraussehen, inwieweit die Diffusions- und die Reaktionsgeschwindigkeit, die Generalgeschwindigkeit des Vorganges bestimmen werden. Diese ist nun recht gering. Zur Erreichung des Gleichgewichtszustandes sind mehrere Tage erforderlich. Es ist daher sehr wahrscheinlich statthaft, die Geschwindigkeit der Diffusion gegenüber der der Reaktion als sehr groß zu betrachten. Das Verteilungsgleichgewicht der gelösten Stoffe zwischen Flüssigkeits- und Fermentphase wird sich also rasch einstellen. Die späteren Versuche über Adsorptionserscheinungen des Ferments zeigen, daß dies tatsächlich der Fall ist.

Diese Reaktion stellt somit ein Analogon dar zu der von Loewenherz¹⁾ und später von Goldschmidt und Messerschmidt²⁾ untersuchten Esterverseifung im heterogenen System aus Benzol und wässriger Salzsäure. Das Verteilungsgleichgewicht der reagierenden Stoffe stellt sich rasch zwischen den beiden Phasen ein. Die Umsetzung erfolgt in der Phase der hohen Reaktionsgeschwindigkeit; hier der wässrigen Salzsäure, dort im Ferment.

Da also die Reaktion in der Fermentphase stattfindet, so sind die dort herrschenden Konzentrationen für den Verlauf des Vorganges bestimmend.

Bedeutet nun C_S , C_A , C_E , C_W , die Konzentrationen dieser Stoffe (Säure, Alkohol, Ester, Wasser) in der Fermentphase, so kann man in erster Linie die Geschwindigkeitsgleichung formulieren:

$$\frac{dx}{dt} = k_1 \cdot C_A \cdot C_S - k_2 \cdot C_W \cdot C_E.$$

Nun sind die Mengen von Alkohol und Wasser, welche bei dem Vorgang verschwinden, resp. entstehen, sehr klein gegenüber den vorhandenen. Es wird daher durch die Reaktion die Konzentration dieser Stoffe nur unwesentlich geändert, und es ist daher zulässig, sie als konstant zu betrachten. Mit k_1

¹⁾ Zeitschrift f. physik. Chem., Bd. XVI, S. 389 (1894).

²⁾ Zeitschrift f. physik. Chem., Bd. XXXI, S. 235 (1891).

und k_2 vereinigt, ergeben sie die neuen Konstanten k_1' und k_2' . Die Gleichung lautet alsdann:

$$\frac{dx}{dt} = k_1' \cdot C_S - k_2' \cdot C_E.$$

Wie oben schon erwähnt wurde, wird der Fortschritt der Reaktion gemessen durch Titration eines Gemisches der beiden Phasen. Man findet also die Summe von Säure in Lösung plus Säure im Ferment. Diese letztere Menge ist nun aber unmeßbar klein, wie spätere Versuche zeigen. Man findet also bei der Titration praktisch nur die Säuremenge, welche sich in Lösung befindet. Nimmt man nun die Gültigkeit des Nernstschen Verteilungssatzes für die Verteilung der Komponenten zwischen Lösung und Ferment an,

also

$$C_S \text{ im Ferment} = \alpha \cdot C_S \text{ in Lösung}$$

$$C_E \text{ » » } = \beta \cdot C_E \text{ » »}$$

und führt diese Werte in obige Gleichung ein, so erhält man unter Berücksichtigung, daß

$$\alpha \cdot k_1' = k_1 \text{ und } \beta \cdot k_2' = k_2,$$

$$\frac{dx}{dt} = k_1 \cdot C_S - k_2 \cdot C_E$$

Ist a die Anfangskonzentration der Säure, x die zur Zeit t verbrauchte Säuremenge = entstandene Estermenge, so gilt, wenn ursprünglich kein Ester vorhanden war,

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

Im Gleichgewichtszustand ist: $\frac{dx}{dt} = 0$, also:

$$\frac{C_E}{C_S} = \frac{k_1}{k_2} = K = \frac{x}{a - x} = \frac{\xi}{a - \xi}$$

wo ξ das x beim Gleichgewicht bedeutet.

Die Integration obiger Gleichung ergibt:

$$k_1 = \frac{1}{t} \cdot \frac{\xi}{a} \cdot \ln \frac{\xi}{\xi - x}; \quad k_2 = \frac{1}{t} \cdot \frac{(a - \xi)}{a} \cdot \ln \frac{\xi}{\xi - x}$$

$$k_1 + k_2 = \frac{1}{t} \cdot \ln \frac{\xi}{\xi - x}$$

Diese Gleichungen geben die Berechnung der k_1 , k_2 - und $k_1 + k_2$ -Werte aus den Esterbildungsversuchen an.

Für die Berechnung dieser Werte aus den Esterzersetzungsversuchen ist zu beachten, daß hierfür die Differentialgleichung lautet:

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

wo a' und x' sich auf die Esterkonzentrationen beziehen.

Die Integration dieser Gleichung liefert:

$$k_2 = \frac{1}{t} \cdot \frac{\xi'}{a} \cdot \ln \frac{\xi}{\xi' - x}; \quad k_1 = \frac{1}{t} \cdot \frac{(a' - \xi')}{a'} \cdot \ln \frac{\xi'}{\xi' - x'}$$

$$k_1 + k_2 = \frac{1}{t} \cdot \ln \frac{\xi'}{\xi' - x'}$$

Versuche mit Ölsäure und Äthylalkohol.

Die Versuche mit diesen Komponenten wurden in Äthylalkohol mit 10% Wassergehalt angestellt. Größere Wasserkonzentrationen konnten nicht gut angewandt werden, weil sonst die Reaktionsgeschwindigkeit zu klein wurde.

Ein zunächst angestellter Versuch zeigte, daß die Autokatalyse durch das vorhandene Wasserstoffion gegenüber der Katalyse durch Ferment vernachlässigt werden konnte.

Eine Mischung von Äthylalkohol und Ölsäure, deren Titer 6,10 ccm Ba(OH)₂ war, wurde in einem verschlossenen Kolben in einem Thermostaten (35° C.) gebracht. Nach einem Monat betrug der Titer 6,40 ccm Ba(OH)₂. Wie man hieraus ersieht, ist also durch Autokatalyse keine Säure verschwunden; im Gegenteil ist der Titer sogar etwas gestiegen. Diese kleine Zunahme ist wohl auf eine Oxydation der Ölsäure — als ungesättigte Säure — durch den Luftsauerstoff zurückzuführen. Um diesen auszuschalten, wurden daher die späteren Versuche im Stickstoffstrom ausgeführt.

Die Versuche mit Ölsäure waren meist nur orientierender Art und sollen daher im einzelnen nicht mitgeteilt werden. Sie litten alle an dem Übelstande, daß sie sehr lange dauerten. So brauchte z. B. ein Versuch mit der gewöhnlichen Fermentkonzentration (5 g auf 270 ccm) ca. 6 Wochen, bis der Endzustand erreicht war. Daß bei dieser langen Zeitdauer das Ferment nicht unverändert blieb, ist wohl selbstverständlich.

Die k -Werte dieser Versuche sind daher auch nicht konstant, sondern sie fallen mit der Zeit. Bei Verwendung größerer Fermentkonzentrationen erreichte man zwar eine passendere Geschwindigkeit, allein in einem solchen breiartigen Gemisch waren die Titrationsen sehr unscharf.

Der in der folgenden Tabelle angeführte Versuch ist mit großer Fermentkonzentration ausgeführt worden. Das Volumen der Reaktionsflüssigkeit betrug 270 ccm. In bezug auf Ölsäure war die Lösung 0,17 normal. Die Probeentnahme geschah mit einer 5 ccm-Pipette.

Zeit	ccm Ba(OH) ₂	$k_1 + k_2$
0,00	8,42	—
17,12	6,42	0,0085
21,77	6,10	0,0080
40,63	4,85	0,0076
64,42	3,85	0,0071
87,85	3,10	0,0071
117,57	2,45	0,0071
163,33	2,00	0,0066
215,62	1,70	0,0065
306	1,50	—

Wie man aus der vorstehenden Tabelle ersieht, liegt bei der angewandten Wasserkonzentration von 10% das Gleichgewicht so stark nach der Seite der Esterbildung, daß die inverse Reaktion praktisch nicht gemessen werden konnte. Größere Wasserkonzentrationen waren aber, wie oben schon erwähnt, nicht gut verwendbar. Es sind deshalb diese Versuche mit Ölsäure und Äthylalkohol nicht weiter fortgeführt worden, da man in iso-Amylalkohol und n-Buttersäure geeignetere Komponenten fand.

Versuche mit n-Buttersäure und i-Amylalkohol.

Mit diesen Komponenten sind nun alle weiteren Versuche ausgeführt worden.

Eine Vereinigung von Buttersäure und Amylalkohol unter dem Einflusse des in geringer Konzentration vorhandenen Wasserstoffions (von der Dissoziation der Buttersäure herrührend) findet kaum statt. Ein Versuch zeigte, daß innerhalb eines Monats nur 1,5% Säure verschwunden war. Dieser geringe Umsatz ist also ohne Einfluß auf die Reaktion mit Ferment, welche höchstens 14 Tage dauert.

Die in den folgenden Tabellen mitgeteilten Konzentrationen sind zur leichteren Übersicht und zum Vergleich alle in Millimolen pro Liter berechnet. Die Zeit ist in Stunden angegeben.

Die Gleichgewichtsmessungen.

Die Versuche zur Bestimmung des Gleichgewichtszustandes sind mit denen zur Berechnung der Reaktionsgeschwindigkeit zusammen ausgeführt worden. Der Übersicht halber sollen sie aber von diesen gesondert betrachtet werden.

Um das Gleichgewicht möglichst exakt zu erhalten, wurden die Versuche fast immer von beiden Seiten ausgeführt. Man ging also einerseits von einer Esterlösung in Amylalkohol, andererseits von einer gleich konzentrierten Buttersäurelösung aus und wartete den Endzustand der Reaktion ab. Diese ging immer bis sehr nahe an das Ende, so daß dieses leicht extrapoliert werden konnte.

Wie schon gesagt, kann bei geringer Wasserkonzentration kein definierter Gleichgewichtszustand erhalten werden, da die Esterverseifung nur einen sehr geringen Betrag erreicht. Erst bei höherem Wassergehalt des Amylalkohols bei 6,5% wird diese Reaktion meßbar.

Solche Versuche mit 6,5% Wassergehalt und mit verschiedenen Anfangskonzentrationen der reagierenden Stoffe sind in Tabelle 1 unter Nr. 3, 4, 5 verzeichnet.

Bei noch größeren Wasserkonzentrationen erreicht die Gegenreaktion einen noch höheren Betrag. Solche Versuche mit 8% Wassergehalt sind unter Nr. 6—13 aufgeführt.

Betrachtet man in der Tabelle 1 die Endkonzentrationen der Esterbildungsversuche und vergleicht sie mit denen der

zugehörigen Esterverseifungsversuche, so sieht man, daß in allen Fällen die Endtiter praktisch dieselben geworden sind. Der Gleichgewichtszustand ist also von beiden Seiten in gleicher Weise erreicht worden, ist also unabhängig von der Richtung, in welcher die Reaktion verläuft.

Doch auch noch in anderer Hinsicht sind diese Versuche interessant. Die Messungen Nr. 9, 10, 11 sind ebenso wie die Nr. 6, 7, 8 alle in Amylalkohol mit 8% Wasser ausgeführt worden. Jedoch war bei den ersteren das angewandte Fermentpräparat von bedeutend geringerer Wirksamkeit als bei den letzteren.¹⁾ Trotzdem wurde auch in diesem Falle praktisch derselbe Gleichgewichtszustand erreicht. Das Fermentgleichgewicht ist also auch unabhängig von der Güte des Ferments.

Der Versuch Nr. 12 wurde mit der doppelten Fermentmenge ausgeführt wie der Vergleichsversuch Nr. 13. Auch hier sind bei beiden Messungen die Endtiter der Lösung gleich geworden. Das Gleichgewicht ist also auch von der Fermentkonzentration unabhängig.

Die beiden zuletzt erwähnten Versuche wurden mit demselben Fermentpräparat angestellt wie Nr. 6, 7, 8, jedoch etwa 4 Wochen später. Dennoch ist der erreichte Endzustand praktisch derselbe wie bei Versuch Nr. 7. Das Alter des Ferments beeinflußt also das Gleichgewicht auch nicht.

Diese Ergebnisse, die Unabhängigkeit des Gleichgewichts von der Fermentmenge, von der Vorgeschichte desselben usw. sind durchaus neu. Es ist überraschend, daß ein so instabiler Körper, wie das Ferment, das durch geringe Ursachen oft durchgreifende Veränderungen erfährt, die Gleichgewichtsercheinungen mit einer Deutlichkeit, wie sie den Schwierigkeiten dieser Versuche entspricht, zum Ausdruck bringt. Das Ferment zeigt also hier durchaus den Charakter eines gewöhnlichen anorganischen Katalysators.

Wie verhalten sich nun die Fermentgleichgewichte zum Massenwirkungsgesetz?

¹⁾ Aus den Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten der Tabellen 6—11 zu ersehen.

Tabelle 1.

Tabellen Nr.	Esterbildung			Esterverseifung			
	Ferment- menge g	Wasser- konzentration %	Titer in Milli- molen pro Liter	Titer in Milli- molen pro Liter	Extra- poliertes Gleich- gewicht	K	K'
3	5,01	6,5	50,42 ↓ 10,58	0,00 ↓ 10,00	10,16	4,0	—
4	5,01	6,5	100,00 ↓ 17,92	0,00 ↓ 15,00	16,25	5,2	—
5	5,01	6,5	196,30 ↓ 28,75	0,00 ↓ 27,67	27,91	6,0	—
6	5,01	8	52,24 ↓ 22,39	0,00 ↓ 22,76	22,40	1,3	0,24
7	5,01	8	100,00 ↓ 31,72	0,00 ↓ 31,34	31,42	2,2	0,26
8	5,01	8	197,70 ↓ 48,51	0,00 ↓ 44,40	45,90	3,3	0,27
9	5,01	8	50,64 ↓ 24,43	0,00 ↓ 21,89	22,31	1,3	0,24
10	5,01	8	100,00 ↓ 32,61	0,00 ↓ 27,89	29,18	2,4	0,29
11	5,01	8	203,00 ↓ 51,93	0,00 ↓ 44,63	46,77	3,3	0,27
12	10,02	8	100,00 ↓ 33,58	0,00 ↓ 32,85	32,96	2,03	0,25
13	5,01	8	100,00 ↓ 32,85		32,85	2,01	0,25

Wendet man dasselbe auf diesen Fall an, so erhält man:

$$K = \frac{C_E \cdot C_W}{C_S \cdot C_A}$$

Wie oben schon gezeigt worden ist, erfahren die Konzentrationen des Alkohols und des Wassers während der Reaktion so geringe Änderungen, daß sie als konstant betrachtet werden können. Mit der Konstanten **K** vereinigt, erhält man somit

$$K = \frac{C_E}{C_S}$$

Vergleicht man die nach dieser Formel berechneten **K**-Werte (Tab. 1) der Versuche 3, 4, 5, so sollten, wenn das Massenwirkungsgesetz erfüllt wäre, diese Werte konstant bleiben. Ebenso sollten diejenigen der Versuche 6—13 konstant werden. Sie sind es aber durchaus nicht. In der Versuchsreihe mit 6,5 % Wasser ist eine Übereinstimmung noch einigermaßen vorhanden. Bei der mit 8 % Wasser ist dies auch nicht annähernd mehr der Fall.

Betrachtet man nun die **K**-Werte der beiden Versuchsreihen, die mit 8 % Wasser angestellt wurden, in Abhängigkeit von der Anfangskonzentration, so findet man ungefähr folgendes Verhältnis:

$$1,3 : 2,2 : 3,3 : + 1 : 1,5 : 2 = \sqrt{1} : \sqrt{2} : \sqrt{4}.$$

Es läßt sich daher formell eine Konstanz der **K**-Werte erzielen, wenn man sie nach folgender Formel berechnet:

$$K' = \frac{C_E^{1/2}}{C_S}$$

Die nach dieser Gleichung erhaltenen Werte sind in Tabelle 1 (letzte Kolumne) verzeichnet. Man sieht, daß nun die **K'**-Werte leidlich konstant geworden sind. Über die Bedeutung des Exponenten «^{1/2}» kann erst in einem späteren Abschnitte gesprochen werden.

Wie verhalten sich nun die heterogenen Fermentgleichgewichte zu dem Gleichgewicht im homogenen System?

Das homogene Gleichgewicht wurde bestimmt in Amylalkohol mit 8 % Wasser. Als Katalysatoren kamen sowohl

Salzsäure als auch Pikrinsäure in Anwendung.¹⁾ Aus diesen Versuchen berechnet sich die Gleichgewichtskonstante zu $K = 5,7$.

Dieser Wert gilt aber für 8% Wassergehalt. Für 6,5% findet man denselben angenähert:

$$K = \frac{5,7 \cdot 8}{6,5} = \text{ca. } 7.$$

Vergleicht man diesen Wert mit den nach der Formel

$$K = \frac{C_E}{C_S}$$

berechneten Zahlen, so findet man, daß durchaus keine Übereinstimmung vorliegt. Die K -Werte der Reihen mit 8% Wasser zeigen mit dem des homogenen Systems verglichen, noch weniger Übereinstimmung.

Die Konsequenzen, die sich hieraus ziehen lassen, können erst in einem späteren Kapitel behandelt werden.

Die Geschwindigkeitsmessungen.

Die Versuche zur Bestimmung der Reaktionsgeschwindigkeit waren mit erheblichen Schwierigkeiten verbunden. Es kam häufig genug vor, daß während der Nacht die Riemen, welche die Rührvorrichtung antrieben, abfielen oder zerrissen. Diese Versuche waren dann meistens nicht zu verwerten. Auch mußten die Titrations zur Messung des Reaktionsverlaufes oftmals während der Nacht ausgeführt werden. Der Farbumschlag des Indikators ließ sich alsdann bei einer künstlichen Lichtquelle nur schwer erkennen. Es sind dementsprechend die gefundenen Werte mit relativ großen Versuchsfehlern behaftet. Trotzdem lassen die erhaltenen Resultate den Verlauf der Reaktion mit aller Deutlichkeit erkennen.

Die zunächst angestellten Versuche wurden mit geringer Wasserkonzentration des Amylalkohols ausgeführt. In diesem Falle ist, wie vorauszusehen, die Gegenreaktion, d. h. die Esterzersetzung sehr klein. Man kann daher den Vorgang als einseitig verlaufend betrachten. Demgemäß ist also die einfache Geschwindigkeitsgleichung erster Ordnung zu erwarten.

¹⁾ Diese Versuche werden später noch ausführlicher beschrieben werden.

$$\frac{dx}{dt} = k \cdot (a - x) \text{ oder } k = \frac{1}{t} \cdot \ln \frac{a}{a - x}$$

In Tabelle 2 sind zwei Versuche angeführt mit den Wasserkonzentrationen 3,5% und 5,5%. Die übrigen Verhältnisse sind dieselben. Die Werte k sind nach obiger Formel berechnet. Sie zeigen in beiden Reihen eine gute Konstanz. Man ersieht aus diesen Werten auch den bedeutenden Einfluß, den die Wasserkonzentration auf die Geschwindigkeit des Vorganges ausübt. Für 5,5% ist der k -Wert fast doppelt so groß als für 3,5%. Es zeigt sich hier ein bemerkenswerter Unterschied der Katalyse durch Säuren und durch Ferment. Während dort die Geschwindigkeit der Esterbildung mit steigendem Wassergehalt stark fällt, nimmt sie hier dagegen zu.

Geht man zu höheren Wasserkonzentrationen über, so wird ein unter Umständen sehr erheblicher Anteil der Butter-säure nicht verestert. Andererseits wird fertig zugesetzter Ester in dem gleichen Maße verseift. Es wird also unter diesen Verhältnissen die Geschwindigkeit beider Reaktionen meßbar.

Tabelle 2.

3,5% H ₂ O			5,01 g Ferment 5,5% H ₂ O		
t ¹⁾	T ²⁾	k	t	T	k
0,00	100,00	—	0,00	100,00	—
2,00	97,06	0,0064	2,00	94,12	0,013
9,57	87,10	0,0062	5,53	87,82	0,010
14,35	80,84	0,0064	10,33	76,38	0,012
24,45	69,74	0,0063	15,17	67,54	0,012
31,88	62,38	0,0063	25,20	52,04	0,012
47,98	48,32	0,0065	32,58	43,18	0,012
55,27	43,56	0,0064	48,83	31,38	0,012
76,67	33,94	0,0060	55,92	28,80	0,011
100,42	23,98	0,0062	77,73	22,16	0,010
384	8,12	0,0063	385	10,96	0,012

¹⁾ t = Zeit in Stunden.

²⁾ T = Titer der Reaktionsflüssigkeit in Millimolen Säure pro Liter.

In den Tabellen 3, 4, 5 sind sowohl die Esterbildungs- als auch die Esterverseifungsversuche verzeichnet, die in Amylalkohol mit 6,5% Wasser angestellt worden sind. Gleichzeitig wurden auch die Anfangskonzentrationen von Säure und Ester variiert. Der Gang der Gegenreaktion ist deutlich erkennbar. Sie ist also nicht mehr zu vernachlässigen. Die Berechnung muß deshalb nach der auf Seite 293 abgeleiteten Formel geschehen.

$$k_1 = \frac{\xi}{a} \cdot \frac{1}{t} \cdot \ln \frac{\xi}{\xi - x}; \quad k_2 = \frac{\xi_1}{a_1} \cdot \frac{1}{t} \cdot \ln \frac{\xi_1}{\xi_1 - x_1}$$

Die Werte k_1 und k_2 sind in den einzelnen Reihen befriedigend konstant. Nach der Theorie sollten nun aber auch die k_1 - resp. k_2 -Werte der drei Reihen unter einander übereinstimmen, die Geschwindigkeitskonstanten also unabhängig von der Anfangskonzentration sein. Die Mittelwerte von k_2 weichen nur wenig von einander ab, diejenigen von k_1 stärker. Die Abweichung ist zwar nicht sehr beträchtlich, aber immerhin vorhanden.

Tabelle 3.

6,5% H ₂ O Esterbildung			5,01 g Ferment Esterverseifung		
t	T	k ₁	t	T	k ₂
0,00	50,42	—	0,00	0,00	—
3,87	46,67	0,0087	5,35	0,92	0,0016
9,18	41,50	0,0094	18,50	2,58	0,0014
12,47	38,33	0,0099	31,37	4,17	0,0015
22,00	32,50	0,0092	66,87	6,67	0,0014
28,00	28,75	0,0095	93,10	6,92	0,0015
35,13	26,83	0,0087	141,03	9,25	
47,48	21,67	0,0091	214,17	10,00	
70,58	16,66	0,0089	∞	10,16	
96,38	14,17	0,0083			
217,25	10,58	0,0091			
∞	10,16				

$$K = \frac{C_E}{C_S} = 4,0; \quad \frac{k_1}{k_2} = 6,0.$$

Tabelle 4.

6,5 % H ₂ O Esterbildung			5,01 g Ferment Esterverseifung		
t	T	k ₁	t	T	k ₁
0,00	100,00	—	0,00	0,00	—
3,90	93,74	0,0072	6,67	2,50	0,0018
10,52	80,83	0,0090	19,73	6,50	0,0018
13,75	77,50	0,0089	32,65	8,08	0,0015
23,32	65,00	0,0084	68,10	12,50	0,0015
29,25	59,17	0,0083	94,30	13,08	0,0016
36,20	53,33	0,0082	142,31	14,00	
47,97	45,00	0,0081	215,50	15,00	
71,68	33,34	0,0081	∞	16,25	
97,57	27,08	0,0076			
380	17,92	0,0082			
∞	16,25				

$$K = \frac{C_E}{C_S} = 5,2; \frac{k_1}{k_2} = 5,1.$$

Tabelle 5.

6,5 % H ₂ O Esterbildung			5,01 g Ferment Esterverseifung		
t	T	k ₁	t	T	k ₂
0,00	196,30	—	0,00	0,00	—
3,13	186,60	0,0073	6,83	5,00	0,0018
10,45	165,90	0,0072	19,73	10,83	0,0015
13,78	158,30	0,0070	26,70	13,33	0,0015
23,35	138,30	0,0068	32,75	15,67	0,0013
28,68	126,70	0,0070	45,11	18,33	0,0015
36,23	112,90	0,0071	68,22	20,83	0,0012
48,00	96,25	0,0070	94,31	23,33	0,0012
71,65	70,00	0,0072	215,50	27,08	0,0014
97,33	56,24	0,0068	385	27,67	
398	28,75	0,0071	∞	27,91	
∞	27,91				

$$K = \frac{C_E}{C_S} = 6,0; \frac{k_1}{k_2} = 5,0.$$

In den Tabellen 6, 7, 8 sind Versuche verzeichnet, welche in Amylalkohol mit 8% Wassergehalt, das sind ca. 4,4 Mole Wasser auf 8,2 Mole Alkohol, ausgeführt wurden. Wie voraussehen ist, geht in diesem Falle die Esterbildung noch weniger weit vor sich, als in den vorhergehenden Fällen. Die Gegenreaktion ist hier also sehr erheblich, und sie kann gut verfolgt werden.

Faßt man die einzelnen Versuchsreihen ins Auge, so findet man auch hier eine gute Konstanz der k_1 - resp. k_2 -Werte. So gut nun die einzelnen Reihen in sich stimmen, so schlecht ist aber die Übereinstimmung untereinander. Die k_1 -Werte sind hier ungefähr unabhängig von der Anfangskonzentration der Säure. Die k_2 -Werte steigen dagegen stark an mit abnehmender Esterkonzentration.

Betrachtet man die Konstanten k_2 der Esterverseifung genau, so findet man folgendes: Während die Esterkonzentrationen im Verhältnis 1 : 2 : 4 zunehmen, nehmen die Werte von k_2 ungefähr im Verhältnis 1 : 1,5 : 2, d. i. ca. $\sqrt{1} : \sqrt{2} : \sqrt{4}$ ab.

Tabelle 6.

8% H ₂ O Esterbildung				5,01 g Ferment Esterverseifung			
t	T	k ₁	k' ₁	t	T	k ₂	k' ₂
0,00	52,24	—	—	0,00	0,00	—	—
1,03	50,75	0,012	0,013	4,38	4,48	0,0095	0,077
1,98	48,51	0,017	0,018	8,03	8,57	0,0112	0,084
4,00	45,52	0,016	0,018	17,18	14,18	0,0108	0,079
6,98	42,38	0,014	0,016	24,53	15,67	0,0091	0,066
11,00	36,94	0,016	0,019	90,00	22,76	0,0101	0,076
15,98	31,72	0,018	0,022	∞	22,40		
25,47	27,46	0,017	0,021				
97,50	22,39	0,016	0,018				
∞	22,40						

$$\frac{k_1}{k_2} = 1,6; \quad \frac{C_E}{C_S} = 1,3.$$

$$\frac{k'_1}{k'_2} = 0,24; \quad \frac{C_E^{1/2}}{C_S} = 0,24.$$

Tabelle 7.

8% H ₂ O Esterbildung				5,01 g Ferment Esterverseifung			
t	T	k ₁	k' ₁	t	T	k ₂	k' ₂
0,00	100,00	—	—	0,00	0,00	—	—
1,98	94,04	0,014	0,014	3,63	5,60	0,0075	0,074
4,00	88,22	0,014	0,016	7,60	10,82	0,0077	0,075
6,98	80,60	0,014	0,018	16,77	17,54	0,0064	0,066
11,55	67,90	0,016	0,017	24,05	22,02	0,0070	0,067
14,98	62,69	0,016	0,018	89,30	31,34	0,0072	0,070
25,10	48,88	0,016	0,016	∞	31,42		
96,95	31,72	0,015	0,017				
∞	31,42						

$$\frac{k_1}{k_2} = 2,1; \quad \frac{C_E}{C_S} = 2,2;$$

$$\frac{k'_1}{k'_2} = 0,24; \quad \frac{C_E^{1/2}}{C_S} = 0,26.$$

Tabelle 8.

8% H ₂ O Esterbildung				5,01 g Ferment Esterverseifung			
t	T	k ₁	k' ₁	t	T	k ₂	k' ₂
0,00	197,70	—	—	0,00	0,00	—	—
1,58	187,40	0,015	0,016	2,95	6,86	0,0055	0,076
4,00	177,60	0,012	0,012	7,20	13,44	0,0049	0,068
7,00	160,80	0,013	0,014	16,40	24,25	0,0046	0,065
10,40	147,00	0,013	0,014	23,65	30,23	0,0045	0,063
15,05	126,50	0,014	0,015	45,07	40,30	0,0047	0,063
24,48	98,51	0,014	0,016	88,83	44,40	0,0048	0,067
31,62	88,06	0,014	0,015	∞	45,90		
96,30	48,51	0,014	0,015				
∞	45,90						

$$\frac{k_1}{k_2} = 3,4; \quad \frac{C_E}{C_S} = 3,3;$$

$$\frac{k'_1}{k'_2} = 0,23; \quad \frac{C_E^{1/2}}{C_S} = 0,27.$$

Dasselbe Verhältnis war auch schon bei den Gleichgewichtskonstanten dieser Versuche gefunden worden. Dort war nun eine Übereinstimmung der K -Werte erreicht worden durch die Annahme, daß nicht die ganze vorhandene Estermenge als aktive Konzentration auftritt, sondern nur die Quadratwurzel aus derselben.

Geht man von diesem Gesichtspunkte bei der Aufstellung der Geschwindigkeitsgleichung aus, so erhält man, daß die Geschwindigkeit der Esterverseifung jeweils proportional ist der Quadratwurzel aus der Esterkonzentration. Also

$$\frac{dx}{dt} = k_2' \cdot x^{1/2}$$

Die Gleichung für die Gesamtreaktion lautet alsdann:

$$\frac{dx}{dt} = k_1' \cdot (a - x) - k_2' \cdot x^{1/2}$$

Für das Gleichgewicht, wo $\frac{dx}{dt} = 0$, erhält man:

$$K = \frac{k_1'}{k_2'} = \frac{x^{1/2}}{(a - x)} = \frac{\xi^{1/2}}{a - \xi} = \frac{C_E^{1/2}}{C_S}$$

Vom fertigen Ester ausgehend, lauten die Gleichungen:

$$\frac{dx}{dt} = k_2' \cdot (a - x_1)^{1/2} - k_1' \cdot x_1$$

$$K = \frac{k_1'}{k_2'} = \frac{(a - x_1)^{1/2}}{x_1} = \frac{C_E^{1/2}}{C_S}$$

Integration der kinetischen Gleichung.

Für den Fall der Esterbildung lautet nach obigem die Differentialgleichung:

$$\frac{dx}{dt} = k_1' \cdot (a - x) - k_2' \cdot x^{1/2} \text{ oder}$$

$$\int dt = \int \frac{dx}{k_1' \cdot (a - x) - k_2' \cdot x^{1/2}}$$

setzt man $x^{1/2} = z$, $x = z^2$, so ist $dx = 2z \cdot dz$

$$-\frac{k_1'}{2} \cdot t + C = \int \frac{z \cdot dz}{z^2 + \frac{1}{K} z - a} = \int \frac{z \cdot dz}{(z - z_1) \cdot (z - z_2)}$$

wo $\frac{1}{K} = \frac{k_2'}{k_1'}$; $z_{1:2} = -\frac{1}{2K} \pm \sqrt{a + \frac{1}{4K}}$ ist oder

unter Berücksichtigung, daß im Gleichgewicht $\frac{dx}{dt} = 0$

$K = \frac{a - x}{x^{1/2}} = \frac{a - \xi}{\sqrt{\xi}}$, wo ξ die Werte von x im Gleichgewicht bedeuten:

$$z_1 = \frac{\xi}{\sqrt{\xi}}; \quad z_2 = -\frac{a}{\sqrt{\xi}}.$$

Die Auflösung obigen Integrals erfolgt nach Zerlegung in Partialbrüche. Man erhält so:

$$-\frac{k_1'}{2} \cdot t + C = \alpha \cdot \int \frac{dz}{(z - z_1)} + \beta \int \frac{dz}{(z - z_2)} =$$

$$-\alpha \int \frac{dz^1}{(z_1 - z)} + \beta \int \frac{dz}{(z - z_2)},$$

wo: $\alpha = \frac{z_1}{z_1 - z_2}$; $\beta = -\frac{z_2}{z_1 - z_2}$ ist.

$$-\frac{k_1'}{2} \cdot t = -\alpha \cdot [-\ln(z_1 - z)] + \beta \cdot \ln(z - z_2) + C.$$

$$= \frac{1}{z_1 - z_2} \cdot [z_1 \cdot \ln(z_1 - z) - z_2 \cdot \ln(z - z_2)] + C.$$

Setzt man die Werte von: z, z_1, z_2 ein, so resultiert:

$$-\frac{k_1'}{2} \cdot t = \frac{\sqrt{\xi}}{a + \xi} \cdot \left\{ \frac{\xi}{\sqrt{\xi}} \cdot \ln \left(\frac{\xi}{\sqrt{\xi}} - \sqrt{x} \right) \right.$$

$$\left. + \frac{a}{\sqrt{\xi}} \cdot \ln \left(\sqrt{x} + \frac{a}{\sqrt{\xi}} \right) \right\} + C.$$

Die Elimination der Integrationskonstanten erfolgt auf Grund des Wertes $t = 0$, für den $x = 0$ ist, also:

$$C = -\xi \cdot \ln \sqrt{\xi} - a \cdot \ln \frac{a}{\sqrt{\xi}}.$$

Führt man diesen Wert ein, so erhält man endlich:

$$k_1' = \frac{1}{t} \cdot \frac{2a}{(a + \xi)} \cdot \left\{ \frac{\xi}{a} \cdot \ln \left(\frac{\sqrt{\xi}}{\sqrt{\xi} - \sqrt{x}} \right) + \ln \left(\frac{a}{\sqrt{x} \cdot \xi + a} \right) \right\}.$$

¹⁾ Diese Umformung ist nötig, damit das Auftreten des Logarithmus von einer negativen Zahl vermieden wird.

Für die vom fertigen Ester ausgehenden Versuche ist zu beachten, daß die Titration die entstandene Säuremenge = (der verschwundenen Estermenge) = x ergibt. Der vorhandene Ester ist also $(a - x)$. Da nun die Geschwindigkeit der Reaktion der Quadratwurzel aus der jeweils vorhandenen Estermenge proportional sein soll, so lautet die Differentialgleichung:

$$\frac{dx}{dt} = k_2' \cdot (a - x)^{1/2} - k_1' \cdot x.$$

Diese Gleichung wird analog der vorigen aufgelöst. Man erhält durch Integration:

$$-\frac{k_2'}{2} \cdot t = \frac{1}{2a - \xi} \cdot \left\{ (a - \xi) \cdot \ln \left(\sqrt{a - x} - \sqrt{a - \xi} \right) + a \cdot \ln \left(\sqrt{a - x} + \frac{a}{\sqrt{a - \xi}} \right) \right\} + C.$$

Die Eliminierung der Integrationskonstanten erfolgt auf dieselbe Weise wie oben. Man erhält schließlich:

$$k_2' = \frac{2\xi \cdot \sqrt{a - \xi}}{t \cdot (2a - \xi)} \cdot \left\{ \ln \left(\frac{\sqrt{a - x} - \sqrt{a - \xi}}{\sqrt{a - x} + \sqrt{a - \xi}} \right) + \frac{a}{a - \xi} \cdot \ln \left(\frac{\sqrt{a - \xi} \cdot \sqrt{a + a}}{\sqrt{a - \xi} \cdot \sqrt{a - x} + a} \right) \right\}.$$

Nach diesen beiden Gleichungen sind nun die in den Tabellen mit k_1' und k_2' bezeichneten Konstanten berechnet worden.

Man sieht, daß jetzt vollständige Übereinstimmung der in Betracht kommenden Größen vorhanden ist. Die Werte k_1' und k_2' sind sowohl in den einzelnen Reihen unter sich, als auch von einer zur anderen bei wechselnden Anfangskonzentrationen konstant. Die k_1' -Werte der Esterbildung werden durch die Einführung der Potenz $^{1/2}$ nur wenig berührt. Dagegen werden die k_2' -Werte der Esterverseifung bedeutend verändert. Zwar sind noch immer kleine Abweichungen vorhanden; aber diese sind in Anbetracht der großen Versuchsfehler durchaus nicht bedeutender wie bei vielen anderen Reaktionen, bei denen anorganische Katalysatoren verwandt wurden.

Tabelle 9.

8% H ₂ O Esterbildung				5,01 g Ferment Esterverseifung			
t	T	k ₁	k' ₁	t	T	k ₂	k' ₂
0,00	50,64	—	—	0,00	0,00	—	—
5,15	46,77	0,0069	0,0078	6,31	4,63	0,0071	0,050
9,17	44,63	0,0063	0,0075	10,58	6,43	0,0062	0,044
12,97	43,17	0,0057	0,0071	19,58	11,58	0,0072	0,050
308	24,43	0,0063	0,0075	26,41	15,02	0,0082	0,055
∞	22,31			44,45	17,60	0,0069	0,047
				117,75	20,17	0,0073	0,033
				307	21,89	0,0071	0,047
				∞	22,31		

$$\frac{k_1}{k_2} = 0,9; \quad \frac{C_E}{C_S} = 1,3;$$

$$\frac{k'_1}{k'_2} = 0,16; \quad \frac{C_E^{1/2}}{C_S} = 0,24.$$

Tabelle 10.

8% H ₂ O Esterbildung				5,01 g Ferment Esterverseifung			
t	T	k ₁	k' ₁	t	T	k ₂	k' ₂
0,00	100,00	—	—	0,00	0,00	—	—
2,08	96,99	0,0064	0,0084	6,30	5,58	0,0043	0,044
5,18	91,83	0,0073	0,0077	10,05	8,84	0,0045	0,047
9,23	86,24	0,0072	0,0077	19,41	13,73	0,0042	0,044
12,95	80,67	0,0074	0,0080	26,18	17,60	0,0045	0,044
22,37	71,24	0,0072	0,0080	44,25	21,03	0,0037	0,039
29,07	64,79	0,0073	0,0081	117,57	24,03	0,0042	0,044
47,11	56,63	0,0062	0,0069	306	27,89		
120,15	34,76	0,0065	0,0075	∞	29,18		
306	32,61	0,0070	0,0078				
∞	29,18						

$$\frac{k_1}{k_2} = 1,7; \quad \frac{C_E}{C_S} = 2,4;$$

$$\frac{k'_1}{k'_2} = 0,18; \quad \frac{C_E^{1/2}}{C_S} = 0,29.$$

Tabelle 11.

8% H ₂ O Esterbildung				5,01 g Ferment Esterverseifung			
t	T	k ₁	k' ₁	t	T	k ₂	k' ₂
0,00	203,00	—	—	0,00	0,00	—	—
2,15	194,50	0,0088	0,0090	1,95	3,01	0,0034	0,046
5,20	186,20	0,0073	0,0076	6,30	8,15	0,0030	0,047
9,28	173,80	0,0074	0,0079	10,05	11,58	0,0028	0,044
12,98	163,10	0,0076	0,0081	19,41	20,17	0,0029	0,044
22,41	137,70	0,0081	0,0087	26,17	25,74	0,0031	0,044
29,10	128,70	0,0074	0,0080	44,22	31,32	0,0025	0,038
47,15	107,60	0,0067	0,0073	129,13	39,91	0,0030	0,044
120,22	71,66	0,0051	0,0074	308	44,63		
310	51,93	0,0073	0,0081	∞	46,77		
∞	46,77						

$$\frac{k_1}{k_2} = 2,5; \quad \frac{C_E}{C_S} = 3,3;$$

$$\frac{k'_1}{k'_2} = 0,19; \quad \frac{C_E^{1/2}}{C_S} = 0,27.$$

In den Tabellen 9, 10, 11 sind Versuchsreihen wiedergegeben, die ebenfalls in Amylalkohol mit 8% Wasser ange stellt worden sind. Die Zahlenwerte der Konstanten sind jedoch nicht mit denen der Tabellen 6, 7, 8 zu vergleichen, da die Versuche mit einem anderen Fermentpräparat ausgeführt wurden, und es selbstverständlich ist, daß die katalytischen Eigenschaften verschiedener Präparate sehr verschieden sind.

Doch auch bei diesen Versuchen findet man die gleichen Verhältnisse wieder, wie bei den vorigen, so daß sie diesen analog zu betrachten sind.

Einfluß der Fermentkonzentration auf die Reaktionsgeschwindigkeit.

Schon Kastle und Loewenhardt¹⁾ hatten bei ihren Versuchen mit Pankreaslipase gefunden, daß die Wirkung derselben proportional der Enzymkonzentration war.

¹⁾ l. c.

Auch bei diesem Ferment ist Proportionalität zwischen Reaktionsgeschwindigkeit und Fermentmenge vorhanden.

Um den Einfluß der Enzymkonzentration zu bestimmen, wurden Messungen mit konstanten Säure- und Esterkonzentrationen bei verschiedenen Fermentmengen vorgenommen. In Tabelle 12 ist eine Versuchsreihe angeführt, welche mit der doppelten Fermentmenge angestellt ist wie die übrigen. Als Vergleichsserie dient sowohl Tabelle 13 als 6.

Man ersieht hieraus deutlich den Zusammenhang zwischen Fermentkonzentration und Geschwindigkeitskonstanten; doppelte Enzymmenge verdoppelt die k -Werte, so daß also die Beziehung besteht

$$\frac{dx}{dt} = C_{\text{Ferment}} \cdot [k_1 (a - x) - k_2 \cdot x^{1/2}].$$

Wie schon auf Seite 297 erwähnt wurde, ist das Gleichgewicht unabhängig von der Fermentkonzentration. Die Tabellen 12 und 13 bringen diese Verhältnisse sehr deutlich zum Ausdruck.

Tabelle 12.

8% H ₂ O Esterbildung			10,02 g Ferment Esterverseifung		
t	T	k ₁	t	T	k ₂
0,00	100,00	—	0,00	0,00	—
1,12	93,44	0,027	1,23	3,65	0,014
5,82	73,72	0,025	6,17	14,60	0,014
10,57	59,03	0,026	10,32	17,52	0,012 ¹⁾
19,78	40,88	0,031	19,42	22,63	0,009
27,35	37,96	0,029	27,00	26,28	0,009
51,30	33,58	0,028	43,15	30,66	0,009
∞	32,96		51,00	32,85	0,014
			∞	32,96	

$$\frac{C_E}{C_S} = 2,03; \quad \frac{k_1}{k_2} = 2,0.$$

¹⁾ Während der Nacht war von der Rührvorrichtung der Riemen abgefallen.

Tabelle 13.

8% H ₂ O		5,01 g Ferment	
		Esterbildung	
t	T	k ₁	
0,00	100,00	—	
2,63	94,84	0,013	
7,05	82,28	0,013	
11,03	74,16	0,014	
20,13	58,30	0,014	
27,97	50,56	0,015	
43,90	40,23	0,015	
51,17	38,01	0,014	
97,52	33,58	0,014	
363	32,85		

$$\frac{C_E}{C_S} = 2,01.$$

Die Versuche der Tabellen 6, 12 und 13 sind noch weiterhin beachtenswert. Sie sind alle mit demselben Fermentpräparat angestellt worden; die Versuche 12 und 13 aber ca. 4 Wochen später als 6. Trotzdem sind die **k**-Werte nicht sehr verschieden von einander. Es haben sich also die katalytischen Eigenschaften während dieser Zeit unverändert erhalten.

Beziehungen zwischen Gleichgewicht und Reaktionsgeschwindigkeit.

Wendet man die Formel für die Reaktionsgeschwindigkeit:

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

auf den Gleichgewichtszustand an, wo $\frac{dx}{dt} = 0$ ist, so erhält man:

$$\frac{k_1}{k_2} = \frac{x}{a - x} = \frac{\xi}{a - \xi} = \frac{C_E}{C_S} = K.$$

Die Gleichgewichtskonstante ist also gleich dem Verhältnis der Geschwindigkeitskonstanten.

Betrachtet man von diesem Gesichtspunkt aus die gefundenen Werte, so ergibt sich im großen und ganzen befriedigende Übereinstimmung. Die K - wie auch die $\frac{k_1}{k_2}$ -Werte für die einzelnen Versuchsreihen seien der Übersicht halber hier zusammengestellt.

Für die Versuche mit 6,5% Wasser (Tabelle 3—5) erhält man:

Anfangskonzentration	=	0,05 n.	0,10 n.	0,20 n.
K	=	4,0	5,2	6,0
k_1/k_2	=	6,0	5,1	5,0

Der Versuch mit 0,05 n. Anfangskonzentration zeigt eine erhebliche Abweichung. Die anderen beiden stimmen leidlich überein.

Für die Versuche mit 8% Wassergehalt findet man:

Anfangskonzentration	=	0,05 n.	0,10 n.	0,20 n.
K	=	1,3	2,2	3,3
k_1/k_2	=	1,6	2,1	3,4

In den einzelnen Versuchsreihen stimmen die K und k_1/k_2 -Werte gut überein. Man sieht auch, wie entsprechend der Änderung von k_2 die Gleichgewichtskonstanten mit der Anfangskonzentration zunehmen. Bildet man nun für diese Versuche die Werte k'_1/k'_2 , so tritt alsdann eine befriedigende Übereinstimmung mit den Zahlen $K' = C_E^{1/2}/C_S$ ein. k'_1/k'_2 und K' sind nun sowohl in den einzelnen Reihen, als auch von einer zur anderen konstant.

Anfangskonzentration	=	0,05 n.	0,10 n.	0,20 n.
K'	=	0,24	0,26	0,27
k'_1/k'_2	=	0,24	0,24	0,23

Für die Versuche (Tabelle 9—11) liegen die Verhältnisse analog, doch ist hier die Übereinstimmung weniger gut.

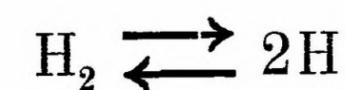
Anfangskonzentration	=	0,05 n.	0,10 n.	0,20 n.
K	=	1,3	2,4	3,3
k_1/k_2	=	0,9	1,7	2,5
K'	=	0,24	0,29	0,27
k'_1/k'_2	=	0,16	0,18	0,19

Faßt man die Ergebnisse der letzten Kapitel zusammen, so sieht man, daß nicht nur in qualitativer, sondern auch in quantitativer Hinsicht das Ferment im großen und ganzen den Charakter eines echten Katalysators hat. Die Konstanz der k -Werte in den einzelnen Reihen, die Übereinstimmung der K - und k_1/k_2 -Werte der einzelnen Versuche, fernerhin die Unabhängigkeit der k' -, K' - und k'_1/k'_2 -Werte von der Anfangskonzentration, die Proportionalität der Reaktionsgeschwindigkeit mit der Fermentmenge, alles das spricht durchaus dafür, dem Fermente die Rolle eines echten Katalysators zuzuweisen.

Über die Abweichungen, die auftreten, und besonders über die Gleichgewichtsverschiebung, wird im letzten Kapitel gesprochen werden.

Erklärung der halben Potenz für die Esterkonzentrationen.

Das Auftreten von Potenzen mit gebrochenen Exponenten in kinetischen Gleichungen ist schon oftmals beobachtet worden. Wie auf S. 299 schon gezeigt worden ist, würde dies also bedeuten, daß nur die betreffende Potenz der Konzentration des reagierenden Stoffes aktiv auftritt. Handelt es sich z. B. um eine Gasreaktion, bei der Wasserstoff H_2 in Reaktion tritt, und wäre der Exponent in der kinetischen Gleichung $1/2$, so würde also nur $\sqrt{H_2}$ als aktive Konzentration auftreten. Diese ist nun proportional der Konzentration der Wasserstoffatome, wie aus folgenden Gleichungen ersichtlich ist.

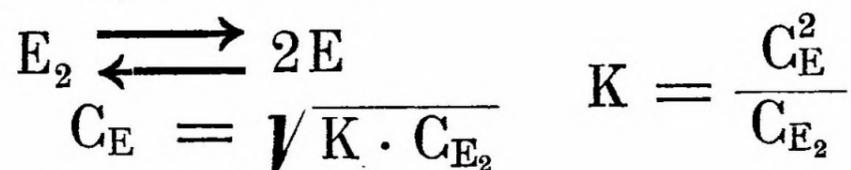


$$K = \frac{C_H^2}{C_{H_2}}$$

$$C_H = \sqrt{K \cdot C_{H_2}}$$

Auf ähnliche Weise ließen sich nun die Verhältnisse bei der Fermentreaktion deuten. Bildete z. B. der Ester in der amylnalkoholischen Lösung Doppelmoleküle, und hätte der Ester in der Fermentphase einfache Molekulargröße, so würden folgende Gleichungen gelten:

Lösung: Ferment:



im Ferment: in Lösung.

Die im Ferment wirkende Esterkonzentration würde also proportional sein der Quadratwurzel aus der Esterkonzentration in der Lösung. Nun verhalten sich aber die Ester normal. Es ist daher auf diesem Wege eine Erklärung der halben Potenz ausgeschlossen.

Bei der Ableitung der kinetischen Formel auf S. 293 war die Voraussetzung gemacht worden, daß die Verteilung der Reaktionskomponenten zwischen Lösung und Ferment nach dem Nernstschen Verteilungssatze erfolgte. Also:

1. C_E im Ferment $= \alpha \cdot C_E$ in Lösung.

Die Versuche mit 8% Wassergehalt des Amylalkohols in Tabelle 6—11 zeigen nun aber, daß durch die Annahme einer Verteilung des Esters nach dieser Gleichung den experimentellen Tatsachen nicht entsprochen wird. Nimmt man dagegen die modifizierte Form der obigen Gleichung:

2. C_E im Ferment $= \alpha \cdot C_E^{1/2}$ in Lösung

als gültig an, so tritt vollständige Übereinstimmung der berechneten Größen ein.

Der obige Ausdruck an Stelle des Henryschen Gesetzes ist nun durchaus nicht ungewöhnlich. So folgen z. B. die Adsorptionserscheinungen oft nicht dem einfachen Verteilungsgesetz, sondern einer modifizierten Form, analog der obigen. Der Exponent ist zwar hier nicht immer gleich $1/2$, doch ist er für Stoffe, die einigermaßen erheblich adsorbiert werden, näher an $1/2$ als an **1** gelegen. Für Stoffe, welche nur schwach adsorbiert werden, ist der Exponent ungefähr gleich **1**.

Betrachtet man also die Konzentrationen, welche im Ferment herrschen, durch Adsorption hervorgerufen, so erscheint diese Auffassung sehr geeignet, die Tatsachen zu erklären.

Es war nun interessant zu untersuchen, ob eine Adsorption der reagierenden Komponenten, insbesondere des Esters

und der Buttersäure, im nachweisbaren Grade vorhanden war, und ob es möglich war, das Gesetz der Verteilung zu bestimmen.

Die Verteilungsversuche, die zu diesem Zwecke angestellt wurden, mußten alle mit sehr großen Fermentkonzentrationen ausgeführt werden, um nur einigermaßen eine Adsorption erkennen zu lassen. Sie wurden alle bei 0° ausgeführt, um eine Reaktion der Stoffe aufeinander möglichst zu vermeiden. Zunächst wurde festgestellt, daß die Adsorptionen rasch erfolgen.

Versuch.

Zu einer Buttersäurelösung in Amylalkohol mit dem Titer (der klaren Lösung) 11,55 ccm $\text{Ba}(\text{OH})_2$ wurde Ferment gegeben. Nach 5 Minuten war der Titer 11,40. Nach 1 Stunde 11,41. Man ersieht hieraus, daß die Adsorption nur in geringem Maße vorhanden ist, daß sie aber rasch erfolgt.

Im folgenden sind noch einige Zahlen von Adsorptionsversuchen angeführt:

Titer der Buttersäurelösung ohne Ferment	Nach Zusatz von Ferment
15,80	15,75
31,32	30,82
62,90	62,50

Die Fermentmenge war 1 g. Das Volumen der Lösung betrug 20 ccm.

Diese Zahlen zeigen deutlich, daß Adsorption vorhanden ist. Jedoch ist es bei ihrer Kleinheit nicht möglich, Gesetzmäßigkeiten hieraus abzuleiten.

Die Verteilungsversuche, die mit buttersaurem Amylester ausgeführt wurden, ergaben ein besseres Resultat. Sie wurden in folgender Weise angestellt. Eine Esterlösung in Amylalkohol wurde mit Ferment gut durchgeschüttelt, dann zentrifugiert, und der Ester durch Verseifen bestimmt. Diese letztere Operation wurde so vollzogen, daß man zu der Lösung eine bestimmte Anzahl Kubikzentimeter $\text{Ba}(\text{OH})_2$ gab, und dann durch Zugabe von Äthylalkohol das Ganze homogen machte. Erhitzt

man nun ca. $\frac{1}{2}$ Stunde auf dem Wasserbade, so ist die Verseifung beendet. Unterläßt man dagegen den Zusatz von Äthylalkohol, so bleibt das System heterogen, und in der obigen Zeit ist erst ein kleiner Teil des Esters verseift. Bei diesen Versuchen wurde soweit wie möglich die Einwirkung der Kohlensäure der Luft verhindert. Trotzdem sind die Versuchszahlen mit ziemlichen Fehlern behaftet. Folgende Zahlen wurden gefunden:

Titer des Esters ohne Ferment	Nach Zusatz von Ferment	Differenz
34,62	32,41	2,21
20,40	18,39	2,01
10,20	8,31	1,89

Die Fermentmenge betrug 1,5 g, das Volumen der Lösung 20 ccm. Der Titer gilt für 5 ccm der fermentfreien Lösung.

Diese Zahlen zeigen deutlich, daß die Adsorption im stärkeren Maße stattfindet, als bei der Buttersäure. Berechnet man aus diesen Zahlen nach obiger Formel (2) die Werte, so erhält man:

$$\alpha = 0,39; 0,47; 0,65.$$

Diese Werte sind nun allerdings nicht konstant. Bedenkt man jedoch, daß die Adsorption an und für sich sehr klein ist, daß ferner die ins Ferment hineingetretenen Mengen nicht direkt bestimmbar sind, sondern sich als Differenzen von großen Größen ergeben, so sind solche Abweichungen immerhin möglich. Jedenfalls sind die so erhaltenen Werte besser konstant, als die nach der Formel:

$$C_E \text{ im Ferment} = \alpha \cdot C_E \text{ in Lösung}$$

berechneten:

$$0,068; 0,11; 0,22.$$

Auf Grund dieser Adsorptionsversuche ist es also sehr wahrscheinlich gemacht, daß die Reaktion in der oben ange-deuteten Weise verläuft. Die Diffusionsgeschwindigkeit ist gegenüber der Reaktionsgeschwindigkeit sehr groß, das Verteilungsgleichgewicht zwischen den beiden Phasen wird sich

also rasch einstellen.¹⁾ Ferner sind die Konzentrationen der Reaktionskomponenten in der Fermentphase durch Adsorption bestimmt, und die halbe Potenz, in welcher die Esterkonzentration in der kinetischen Gleichung erscheint, findet ebenfalls durch die Adsorptionsversuche ihre Erklärung.

Der im folgenden angeführte Versuch war in der Absicht angestellt worden, zu zeigen, daß am Ende der Reaktion der in der Lösung vorhandene Ester auch wirklich gleich der verschwundenen Säuremenge war. Es wäre 'z. B. denkbar, daß der während der Reaktion im Ferment entstehende Ester nicht in dem Maße in die Lösung übergang, wie das Verteilungsgesetz es verlangt, sondern daß ein Teil desselben mit dem Ferment irreversibel verbunden blieb. Das gleiche könnte möglich sein für die Säure, die bei der Gegenreaktion entstünde. Diese irreversiblen Anteile von Ester resp. Säure würden dann nicht als aktive Konzentrationen auftreten und damit wären sämtliche Betrachtungen hinfällig, die über den Mechanismus dieser Reaktion aufgestellt worden sind.

Am Schluß einer Versuchsreihe wurde die fermentfreie Lösung auf ihren Gehalt an Buttersäure und Ester untersucht.

Der Anfangstiter der Lösung mit Ferment war 12,20 ccm

Der Endtiter mit Ferment 3,20 »

Der Endtiter der klaren Lösung 3,10 »

Es befindet sich also praktisch keine Säure im Ferment.

Zur Bestimmung des Esters wurde eine Portion der klaren Lösung mit einem gemessenen Quantum Barytwasser versetzt und der Ester in der angegebenen Weise verseift. Die verbrauchte Menge Barytwasser ergibt nun die Summe von Ester und Säure, da letztere einen Teil des zur Verseifung zugesetzten Barytwassers neutralisiert. Es muß also die gefundene Anzahl Kubikzentimeter Barytwasser gleich dem Anfangstiter der Lösung sein. Gefunden wurde

12,35, 12,00 gegen 12,20.

¹⁾ Es liegt hier ein analoger Fall vor wie bei der Zersetzung des Antimonwasserstoffs. Hier ist ebenfalls die Reaktionsgeschwindigkeit klein im Vergleich zur Diffusionsgeschwindigkeit. Berl. Ber. 1907, S. 570.

Hieraus ersieht man, daß praktisch keine Säure und Ester im Ferment vorhanden ist. Und somit wird der obige Einwand hinfällig.

Betrachtungen über die durch das Ferment hervorgerufene Gleichgewichtsverschiebung und die Verletzung des zweiten Hauptsatzes der Thermodynamik.

Nach der Definition der Katalyse muß der Gleichgewichtszustand bei einer umkehrbaren Reaktion von der Natur des angewandten Katalysators unabhängig sein. Dieses ist nun bei der hier untersuchten Reaktion nicht der Fall.

Das Gleichgewicht nämlich, welches man bei der Verwendung von Wasserstoffion als Katalysator erhält, ist ein ganz anderes als bei Verwendung des Ferments. Jenes liegt bedeutend weiter nach der Seite der Esterbildung.

Das Gleichgewicht im homogenen System wurde mit Salzsäure als Katalysator ermittelt. Hierbei treten jedoch Schwierigkeiten auf. Ist nämlich die Salzsäurekonzentration sehr groß, ca. 0,5 n, so zeigt sich eine Abhängigkeit des Gleichgewichtszustandes von der Katalysatormenge und zwar in der Weise, daß bei hohen Salzsäurekonzentrationen die Esterbildung weiter fortschreitet. Erst bei kleinen Salzsäurekonzentrationen, ca. 0,03 n, bleibt das Gleichgewicht unabhängig von der Katalysatormenge.

Die Versuche sind in Amylalkohol mit 8% Wassergehalt angestellt worden. Sie wurden immer von beiden Seiten ausgeführt. Die Anfangskonzentration der Buttersäure sowohl wie des Esters war 0,2 n.

Mit Salzsäure als Katalysator erhielt man: Esterbildung = 85,55%; Säurebildung = 14,46%.

Bei Verwendung von Pikrinsäure als Katalysator treten die oben bei der Salzsäure erwähnten Abweichungen nicht auf. Deshalb wurden die weiteren Gleichgewichtsbestimmungen hiermit ausgeführt.

Mit Pikrinsäure als Katalysator erhielt man: Esterbildung = 85,49%; Säurebildung = 14,50%.

Der Gleichgewichtszustand im homogenen System bei Verwendung von Wasserstoffionen als Katalysator erreicht also

einen ganz anderen Betrag als bei Verwendung des Ferments. Mit letzterem erhält man im günstigsten Falle bei 0,2 n Anfangskonzentration eine Esterbildung von ca. 75 0/0, während im homogenen System bei gleicher Anfangskonzentration 85,5 0/0 gebildet werden. Die Gleichgewichtskonstanten zeigen natürlich ebensolche Abweichungen.

Berechnet man dieselben nach der Formel:

$$K = \frac{[\text{Ester}] \cdot [\text{Wasser}]}{[\text{Säure}] \cdot [\text{Alkohol}]}$$

und setzt für [Wasser] 4,44 und für [Alkohol] 8,2¹⁾ — Verhältnisse bei 8 0/0 Wassergehalt —, so erhält man für das homogene System: $K = 3,2$, während die Versuche mit Ferment geben:

Anfangskonzentration	= 0,05 n	0,10 n	0,20 n
K	= 0,70 n	1,2 n	1,8 n.

Diese Abweichung des Fermentgleichgewichts von dem homogenen bedingt nun aber einen erheblichen Widerspruch mit dem zweiten Hauptsatz der Thermodynamik.²⁾ Es läßt sich nämlich das heterogene Fermentsystem zu einem Perpetuum mobile zweiter Art verwenden.

Betrachtet man z. B. den Versuch in Tabelle 8.

Nachdem der Endzustand erreicht ist, läßt man das Ferment absitzen und trennt es von der klaren Lösung. Diese wird nun spontan, oder nach Zuführung einer Spur eines Katalysators auf reversiblen Wege, den Gleichgewichtszustand im homogenen System, d. h. bei 85 0/0 Esterbildung annehmen. Hierbei kann eine gewisse Arbeit gewonnen werden. Ist dieser Zustand erreicht, so kann durch Zugabe des Ferments wieder der alte Gleichgewichtszustand, d. h. bei 75 0/0 Esterbildung erhalten werden. Der hierzu erforderliche Aufwand an Arbeit wird dem Thermostaten in Gestalt von Wärme entzogen. Das System ist nunmehr wieder im alten Zustand, der Prozeß kann also wieder von vorn beginnen. Durch oftmaliges Wiederholen dieser Operationen kann man also durch einen Kreisprozeß bei konstanter Temperatur beliebig große Wärmemengen

¹⁾ Anzahl Mole pro 1 l Lösung.

²⁾ Prof. Luther machte hierauf aufmerksam.

in Arbeit umsetzen. Man hätte somit ein Perpetuum mobile zweiter Art. Dies ist aber nach dem zweiten Hauptsatz der Thermodynamik unmöglich.

Diesen Widerspruch aufzuklären, ist bisher noch nicht gelungen.

Der Gleichgewichtszustand, welcher sich mit Ferment endgültig einstellt, ist durchaus ein echter. Er wird von beiden Seiten in exakter Weise erreicht. Er ist ferner unabhängig von der Katalysatormenge. Es liegt hier also nicht ein Fall vor, wie bei Tammann,¹⁾ wo die Spaltung des Amygdalins durch Emulsin Halt macht, bevor der wahre Endzustand erreicht wird. Hier steht die Reaktion nur deshalb still, weil das Ferment, das Emulsin, zerstört worden ist, und die Reaktion geht weiter, sobald neues Ferment hinzugefügt wird. Bei unserer Reaktion ist dies nicht der Fall. Hat der Vorgang sein Ende erreicht, so übt neu hinzugefügtes Ferment keinen weiteren Einfluß aus. Der Endzustand bleibt unverändert, wie Tabelle 14 zeigt.

Tabelle 14.

Esterbildung.

t	T
0,00	100,00
2,58	98,28
18,87	81,70
93,00	51,06
405	28,94
0,00	29,79 ²⁾
24,00	30,10
72,00	29,80

¹⁾ Zeitschrift für physikal. Chemie, Bd. III, S. 24.

²⁾ Als nach 405 Stunden der Endzustand erreicht war, wurde neues Ferment hinzugegeben. Die Zunahme des Titors entspricht dem geringen Säuregehalt des Ferments.

Da zur Verschiebung eines Gleichgewichtes eine Zufuhr von Energie nötig ist, so ließen sich die Abweichungen erklären, wenn man das Ferment als Energiequelle auffaßte. Es könnte z. B. der Fall sein, daß bei der Reaktion ein allmähliches Absterben des Ferments erfolgte, und die hierbei frei werdende Energie die Verschiebung des Gleichgewichts veranlaßte. Dann müßte aber das Ferment, welches einmal gewirkt hat, in seiner Wirkung eine Einbuße erlitten haben. Dies ist jedoch keineswegs der Fall. Nachdem das Ferment einmal gearbeitet hat, ist seine Wirkung durchaus nicht vermindert.

In Tabelle 15 ist links der ursprüngliche Versuch verzeichnet. Der Endzustand ist erreicht worden. Das Ferment wurde alsdann von der Lösung getrennt und mit neuem Reaktionsgemisch versetzt. Man sieht, die Wirkung ist erhalten geblieben. Die Geschwindigkeitskonstanten zeigen sogar einen erheblich größeren Wert als beim ursprünglichen Versuch. Doch ist diese Abweichung hier ohne Bedeutung.

Tabelle 15.

Esterbildung.

Mit frischem Ferment angesetzt			Angesetzt mit gebrauchtem Ferment von nebenstehendem Versuch		
t	T	k_1	t	T	k_1
0,00	100,00	—	0,00	104,70	—
28,37	68,65	0,0060	18,58	72,09	0,0091
54,25	48,49	0,0064	23,50	66,77	0,0089
104,71	30,47	0,0063	39,75	49,77	0,0091
196,33	24,06	0,0062	48,50	43,75	0,0090
302	18,02		65,50	36,91	0,0083
			118,00	29,18	0,0088
			250	21,45	

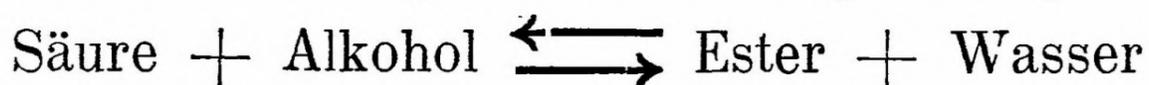
Der Gleichgewichtszustand einer Reaktion kann durch den Katalysator geändert werden, wenn dieser im Verlauf der Reaktion eine chemische oder physikalische Änderung erfährt. Es ist alsdann die Arbeit, welche bei der Zuführung des Kata-

lysators zum Reaktionsgemisch erhalten wird, verschieden von derjenigen, welche bei der Entfernung desselben aufgewendet werden muß. Die Differenz dieser beiden Arbeiten ist dann dazu verwendet worden, die entsprechende Gleichgewichtsverschiebung hervorzubringen.

Sehr wahrscheinlich liegt bei dieser Reaktion ein solcher Fall vor. Durch die Adsorption, welche das Ferment auf die Reaktionskomponenten ausübt, erleidet es selbst eine physikalisch-chemische Änderung. Damit hört dann auch die Unabhängigkeit des Gleichgewichts von der Natur des Katalysators auf.

Wie man aus allen Versuchen ersieht, scheint das Wasser den größten Einfluß auf die Gleichgewichtsverschiebung auszuüben. Bei den Versuchen mit 6,5% Wasser ist eine Übereinstimmung des Gleichgewichts mit dem im homogenen System noch einigermaßen vorhanden.¹⁾ In den Versuchen mit 8% Wasser ist dies durchaus nicht mehr der Fall. Es ist nun versucht worden, diesen Einfluß des Wassers zu bestimmen. Allein vergeblich. Die Versuche sollten sich hauptsächlich auf die Adsorption des Wassers durch das Ferment erstrecken. Es war aber nicht möglich, eine solche zu messen, weil es an geeigneten Methoden fehlte, geringe Wassermengen im Amylalkohol quantitativ zu bestimmen.²⁾

Bei der Betrachtung der Reaktionsgleichung:



ersieht man, daß eine Erhöhung der Wasserkonzentration das Gleichgewicht mehr nach der linken Seite hin verschiebt, also dem Fermentgleichgewicht näher kommt. Nimmt man nun an, daß in der Fermentphase, wo die Reaktion stattfindet, die aktive Wasserkonzentration einen relativ höheren Betrag erreicht als in der Lösung, so könnte man hiermit die Gleichgewichtsverschiebung erklären.

Um nun die Abhängigkeit der Gleichgewichtskonstanten von der Anfangskonzentration zu erklären, müßte weiterhin die

¹⁾ Siehe Tabelle 1.

²⁾ Es wurde versucht, das im Amylalkohol vorhandene Wasser mit metallischem Calcium oder mit Calciumcarbid oder mit Aluminiumamalgam zu zersetzen und die entstehenden Gasmengen zu messen. Aber ohne Erfolg.

Annahme gemacht werden, daß die Adsorptionsfähigkeit des Ferments dem Wasser gegenüber beeinträchtigt wird durch die Konzentrationen der neben dem Wasser in der Lösung befindlichen Buttersäure und des Esters. Es müßte also in verdünnten Lösungen das Ferment mehr Wasser adsorbieren, oder wenigstens die aktive Masse oder der Dampfdruck des letzteren größer sein als in konzentrierten. Dies würde mit unseren Kenntnissen über die Gesetze der Adsorption noch ganz wohl vereinbar sein; aber der Widerspruch gegen den zweiten Hauptsatz wäre damit nicht beseitigt, denn die Möglichkeit eines Perpetuum mobile zweiter Art ist gegeben, auch wenn man die Vorstellung über den Grund der Gleichgewichtsverschiebung akzeptiert. Es wäre aber durch diese Annahme eine Parallele hergestellt zwischen dem vorliegenden Fall und einem zweiten, den v. Schröder¹⁾ vor einiger Zeit beobachtete.

v. Schröder fand bei seinen Untersuchungen über die Erstarrungs- und Quellungserscheinungen der Gelatine, daß eine im Wasser bis zum Gleichgewichtszustand aufgequollene Gelatineplatte nicht im Gleichgewicht war mit dem Dampfe des Wassers von gleicher Temperatur. Der Dampfdruck des in der Gelatine adsorbierten Wassers war vielmehr größer als der des flüssigen Wassers. Es destillierte also Wasser von der Gelatineplatte fort; brachte man nun diese wieder in das flüssige Wasser, so nahm es wieder davon auf.

Man kann also durch oftmaliges Wiederholen dieser Operationen bei konstanter Temperatur unbegrenzt Wärme in Arbeit verwandeln, also ein Perpetuum mobile zweiter Art konstruieren.

Dieser von v. Schröder untersuchte Fall zeigt nun, wie durch Adsorption die adsorbierten Stoffe in ihren Dampfdrücken beeinflußt werden. Die aktive Konzentration, welche dem Dampfdruck proportional ist, wird somit auch verändert.

Die Gleichgewichtsverschiebung findet also eine Erklärung, aber der Widerspruch mit dem zweiten Hauptsatz bleibt bestehen, und es läßt sich noch nicht vorweg sehen, in welcher

¹⁾ Zeitschrift für physikal. Chemie, Bd. XLV, S. 109 (1903).

Weise eine befriedigende Erklärung dieser Tatsache gefunden werden wird.

Es besteht die Absicht, die Untersuchung über diesen Fall fortzusetzen.

Die vorliegende Arbeit wurde von Anfang 1905 bis Herbst 1906 im Physikalisch-chemischen Institut der Universität Leipzig ausgeführt.

An dieser Stelle möchte ich mir gestatten, Herrn Prof. M. Bodenstein für die Anregung zu dieser Arbeit, sowie für die jederzeit bereitwillige Unterstützung meinen wärmsten Dank auszusprechen. Ebenso bin ich auch Herrn Prof. Luther für die mannigfaltigen nützlichen Ratschläge zu Dank verpflichtet.

Den Herren Tierärzten am hiesigen Schlachthofe, und besonders Herrn Tierarzt Keil, spreche ich für die lebenswürdige Überlassung der Pankreasdrüsen meinen wärmsten Dank aus.

