

Quantitative Versuche über die Destruktion des Labs durch Licht.

III. Mitteilung.

Von

Signe und Sigval Schmidt-Nielsen (Christiania).

Mit zwei Abbildungen.

(Aus dem Laboratorium des Finsens med. Lysinstitut zu Kopenhagen.)

(Der Redaktion zugegangen am 30. November 1908.)

In früheren Arbeiten¹⁾ hat der eine von uns qualitative und quantitative Untersuchungen über die Destruktion des Labs selbst, wie sein Proenzym und Antienzym durch Licht beschrieben. Es wurde festgestellt, daß die Wirkung von den ultravioletten durch Glas abfiltrierbaren Strahlen herrührte. Das quantitative Studium dieser Lichtwirkung machte große Schwierigkeiten, indem es sich mit dem sonst sehr geeigneten ad modum Finsen konzentrierten Kohlenbogenlichte als ganz unmöglich herausstellte, konstante Resultate zu bekommen.

Obwohl damals darauf verzichtet wurde, die gesetzmäßige Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeiten von verschiedenen Faktoren festzustellen, konnte doch gezeigt werden, daß die Destruktion in ihrer Abhängigkeit von der Belichtungszeit in verschiedenen Versuchen Kurven von im wesentlichen demselben Typus darstellt; ihre Zahlenwerte waren aber in den verschiedenen Serien trotzdem so wechselnd, daß von einer Berechnung abgesehen wurde. Deswegen konnte der Einfluß von Versuchsmomenten wie Enzymkonzentration, Lichtintensität, Wellenlänge usw. nur qualitativ verfolgt werden.

Die gewonnenen Resultate forderten indessen zu weiteren Untersuchungen mit anderen, mehr konstanten, Lichtquellen auf. Verschiedene andere Arbeiten hinderten bis letzten Winter

¹⁾ Sigval Schmidt-Nielsen, Die Enzyme, namentlich das Chymosin, Chymosinogen und Antichymosin in ihrem Verhalten zu konzentriertem elektrischem Lichte. Hofmeisters Beiträge, Bd. V (1904), S. 355—376, und Bd. VIII (1906), S. 481—483.

die Fortsetzung der Untersuchung. Wir konnten nun durch das freundliche Entgegenkommen des Finsensinstitutes in Kopenhagen über eine Quecksilberlampe disponieren. Wir benutzen gerne die Gelegenheit, dem Laboratoriumsvorstand Dr. med. K. A. Hasselbalch auch an dieser Stelle unseren ergebenden Dank hierfür auszusprechen, besonders außerdem dafür, daß er eigene Versuche unterbrach, damit wir ein Versuchsgefäß, das er für Blutversuche hatte verfertigen lassen, benutzen konnten.

Schon durch die ersten orientierenden Versuche zeigte sich, daß mit der Kromayerschen Quecksilberlampe für eine und dieselbe Belichtungszeit in verschiedenen Versuchen dieselbe Wirkung erhalten wurde, wenn die Versuchsbedingungen unverändert waren. Wir konnten deswegen endlich die Abhängigkeit dieser Lichtreaktion von der Belichtungsdauer feststellen, und hierdurch war es ermöglicht, den Einfluß verschiedener Versuchsbedingungen zahlenmäßig zu studieren.

Nachdem der eine von uns letzthin mit quantitativen Studien über die Lichtdestruktion des Labs beschäftigt war, haben Georges Dreyer und Olav Hansen¹⁾ eine kurze Mitteilung veröffentlicht, wonach es sich um eine monomolekulare Reaktion handeln sollte. Weitere Details liegen indessen nicht vor.

Wir haben deswegen unsere alten Versuche ergänzt und uns die Frage gestellt, ob die Reaktionsgeschwindigkeit bei der Lichtdestruktion des Labs in ihrer Abhängigkeit der Belichtungsdauer der gewöhnlichen monomolekularen Reaktionsformel folgt. Hierzu lag für uns noch eine besondere Aufforderung vor, als aus unseren früheren Versuchen die Destruktion bis zu etwa 75% Destruktion der bimolekularen, oberhalb etwa 75% Destruktion der monomolekularen Formel zu folgen schien.

Unsere neuen Versuche, die, glauben wir, mit einer einwandfreien Versuchsanordnung und einer konstanten Lichtquelle ausgeführt sind, zeigen, daß die Lichtdestruktion des Labs von Anfang bis Schluß in ihrer Abhängigkeit der Belichtungsdauer nach einer monomolekularen Reaktionsformel verläuft. Dies

¹⁾ Georges Dreyer et Olav Hansen, Recherches sur les lois de l'action de la lumière sur les glycosides, les enzymes et les anticorps. Comptes rendus, Nr. 14, 1907.

haben in der Zwischenzeit übrigens auch Madsen und Walbum¹⁾ für die Destruktion des Labs durch Hitze zeigen können.

Versuchsanordnung.

Zu unseren Versuchen kamen wässrige Lösungen vom Labpulver 1 : 250000 von der Firma Glad in Kopenhagen zur Verwendung. Vor den Versuchen wurden die Lösungen durch wiederholtes Filtrieren völlig klar filtriert. Ihre Konzentration ist als Prozente des lufttrockenen Labpulvers angegeben. Sie reagierten stets neutral.

Die verwandte Quecksilberbogenlampe nach Kromayer brannte regelmäßig mit einer Spannung von ungefähr 120 Volt und einem Stromverbrauch von etwa 3,6 Ampère (siehe weiter unten über die Untersuchungen der Bedeutung der Variationen in Energieverbrauch). Die Lampe war während der Versuche unter Wasser in einem geräumigen viereckigen Glasaquarium montiert. Das Versuchsgefäß mit der Lablösung war ebenfalls in dem Aquarium eingesenkt (siehe Fig. 1).

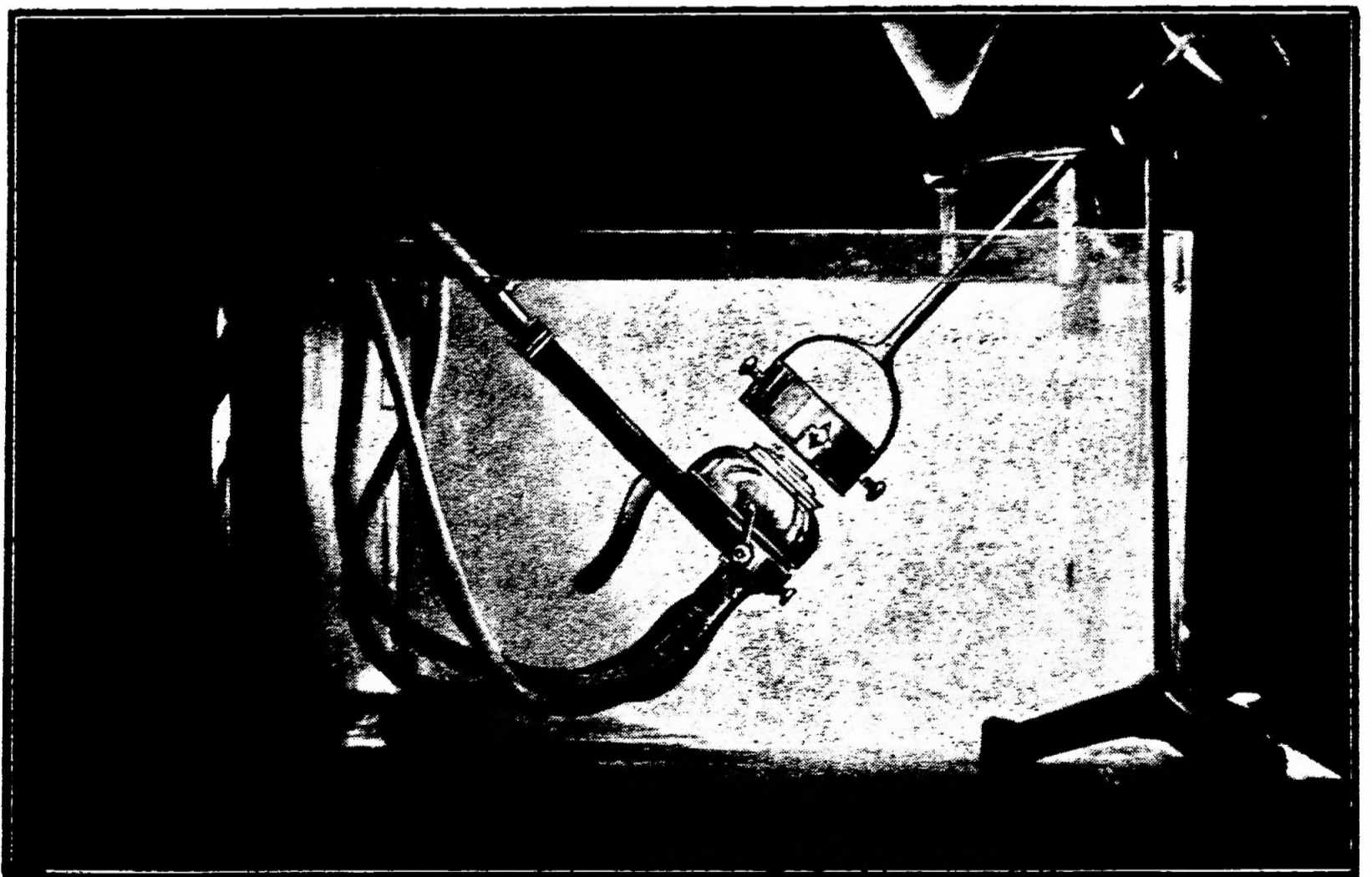


Fig. 1.

¹⁾ Th. Madsen et L. Walbum, Recherches sur l'affaiblissement de la présure. Festschrift für Olof Hammarsten, 1906, Nr. X, Uppsala Läkareför. Förh., Bd. XI, Suppl.

Als Versuchsgefäß kam eine zylindrische Kammer zur Verwendung; sie bestand aus einem 21 mm hohen vernickelten Neusilberring, 80 mm im Diameter, an dessen Seiten zwei planparallele Quarzplatten als Deckel fest angeschraubt wurden. Die Kammer wurde von einem Elektromotor um ihre eigene Achse bewegt; gewöhnlich während der Belichtung mit einer Geschwindigkeit von 40 Umdrehungen in der Minute. Die Zirkulation der Flüssigkeit wurde außerdem durch zwei an der Innenseite der Kammerwand schräg befestigte kleine Schaufeln gesichert.

Da die Kammer in der Lichtkegelachse zentriert war und sich in einem Abstand von 25 mm vom Fenster der Lampe befand, wurde sie völlig belichtet. Sie faßte gegen 100 ccm, aber gewöhnlich wurden nur 25 ccm Versuchsflüssigkeit hineingebracht.

Das Aquarium wurde zuerst mit destilliertem Wasser gefüllt. Es zeigte sich indessen, daß dies in bezug auf Absorption der wirksamen Strahlen schon nach einem Tage oder während eines Tages so veränderlich war (siehe weiter unten), daß es durch gewöhnliches, aber durch Glaswollefilter filtriertes Wasserleitungswasser ersetzt wurde. Durch stetigen Zufluß von neuem Wasser und eine automatische Hebevorrichtung war für seine kontinuierliche Erneuerung gesorgt. Besondere Sorgfalt wurde darauf gelegt, die Temperatur des Wassers im Aquarium während einer und derselben Versuchsserie konstant zu halten, was ohne Schwierigkeiten gelang, indem die Versuchstemperatur gewöhnlich die des Zimmers war und das Wasserzuleitungsrohr in einer großen Spirale ein erwärmtes, regulierbares Wasserbad passierte.

Wir brauchen nicht hervorzuheben, daß die Belichtungen der Versuchsflüssigkeit erst vorgenommen wurden, nachdem die Kammer mit ihrem Inhalt durch einige Minuten Dunkelrotation im Aquarium die Temperatur desselben angenommen hatte. Die Lampe brennt erst nach einiger Zeit völlig konstant. Es war deswegen notwendig, dieselbe wenigstens eine halbe Stunde vor jeder Serie anzuzünden und während der ganzen Serie ununterbrochen brennen zu lassen, selbstverständlich sicher

abgeschirmt, mit Ausnahme während der Belichtungen. Die Dauer derselben wurde genau festgestellt. Nach der Belichtung blieb die Versuchslösung noch 2 Minuten in der im Dunkeln rotierenden Kammer, wonach sie herausgenommen wurde, und ihr Gehalt an Lab wurde sofort durch Koagulationsversuche an Kuhmilch bei 37° C. festgestellt.

Zu den Koagulationsversuchen wurden stets 1 ccm Enzymlösung und 10 ccm einer völlig frischen, nur wenige Stunden alten, unter spezieller Sorgfalt gemolkenen Milch verwendet. In sämtlichen Versuchen wurden die Lösungen wennmöglich zuerst so weit verdünnt, daß die Milch (im Verhältnis 1 : 10) zwischen 8 und 20 Minuten koaguliert wurde. Für die unbelichtete Probe war hierzu eine Verdünnung auf $\frac{1}{40}$ 0/0 (des Labpulvers) notwendig; die belichteten Proben mußten weniger verdünnt werden und konnten für längere Belichtungszeiten direkt verwendet werden. Sämtliche in dieser Weise gefundenen Koagulationszeiten sind nachträglich auf eine Konzentration von $\frac{1}{40}$ 0/0 und nicht auf die ursprüngliche Anfangskonzentration berechnet.

Bei diesem Verfahren konnten wir der Unsicherheit der kurzen wie besonders der langdauernden Koagulationszeiten entgegen, und hierdurch ist die absolute Genauigkeit unserer Zahlenwerte, wie es auch unten aus den für jede Serie sehr wohl übereinstimmenden Reaktionskonstanten hervorgehen dürfte, bedeutend gesteigert.

Der Einfluß der Belichtungsdauer.

Durch die ersten Versuche stellte sich die Wirkung der Quecksilberlampe als viel kräftiger als die des ad modum Finsen konzentrierten Kohlenbogenlichtes aus, und deswegen mußten nach unseren früheren Erfahrungen entweder bedeutend konzentriertere Lösungen als damals verwendet werden oder auch die Belichtung nur in relativ kurzen Zeiten stattfinden. Wir zogen es vor, mit den konzentrierten Lösungen anzufangen, und wählten als geeignet die Konzentration 1 0/0 ige¹⁾ wässrige Lösungen des trockenen Labpulvers, die von 1 bis 3 Minuten belichtet wurden.

¹⁾ Die Lösung war wasserklar und praktisch farblos.

In den folgenden Tabellen I—V sind fünf verschiedene solcher Versuchsserien wiedergegeben:

Tabelle I.

Versuch mit 1% iger Lablösung bei 16° C. 24./XII. 1907.

Belichtungsdauer Minuten	Koagulationszeit Minuten	k
0	9	—
1,0	19,5	0,336
1,5	29,0	0,339
2,0	42,0	0,335
3,0	84,0	0,323

Mittel: $k = 0,333$.

Tabelle II.

Versuch mit 1% iger Lablösung bei 15,6° C. 27./XII. 1907.

Belichtungsdauer Minuten	Koagulationszeit Minuten	k
0	9,75	—
1,0	20,0	0,312
1,5	28,5	0,311
2,0	41,0	0,312
3,0	86,0	0,315

Mittel: $k = 0,312$.

Tabelle III.

Versuch mit 1% iger Lablösung bei 15,2° C. 27./XII. 1907.

Belichtungsdauer Minuten	Koagulationszeit Minuten	k
0	8,75	—
1,0	18,0	0,313
1,5	25,5	0,310
2,0	37,5	0,316
3,0	82,0	0,324

Mittel: $k = 0,316$.

Tabelle IV.

Versuch mit 1% iger Lablösung bei 21,6° C. 31./XII. 1907.

Belichtungsdauer Minuten	Koagulationszeit Minuten	k
0	8,75	—
1,0	27,0	0,489
1,5	47,5	0,490
2,0	82,0	0,486
3,0	270,0	0,496

Mittel: $k = 0,490$.

Tabelle V.

Versuch mit 1% iger Lablösung bei 14,45° C. 4./I. 1908.

Belichtungsdauer Minuten	Koagulationszeit Minuten	k
0	8,5	—
1,0	22,0	0,413
1,5	36,5	0,420
2,0	57,0	0,413
2,0	57,0	0,413

Mittel: $k = 0,415$.

In der letzten Kolumne ist die nach der gewöhnlichen monomolekularen Reaktionsformel berechnete Reaktionskonstante, k , angeführt. Unter der Voraussetzung, daß das Produkt der in jeder Probe anwesenden aktiven Labmenge und ihrer Koagulationszeit konstant ist, was ja übrigens für die Bestimmung derselben eine stillschweigende Voraussetzung war, erhält man den Ausdruck

$$k = \frac{1}{t_{\text{ex}}} \cdot \log \frac{t_1}{t_0},$$

wenn t_0 die Koagulationszeit der unbelichteten, t_1 die in der Zeit t_{ex} belichteten bedeutet; sämtliche Werte in Minuten angegeben. Bei der Rechnung sind wie gewöhnlich die dekadischen, nicht die natürlichen Logarithmen verwendet worden.

Wie es deutlich ersichtlich ist, sind die Werte der Reaktionskonstanten in jeder Serie erstaunlich konstant, und es ist hieraus direkt ersichtlich, daß es sich um eine monomolekulare Reaktion handeln muß. Zum Vergleiche haben wir doch auch die Reaktionskonstante nach der Formel

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

mit Exponenten größer oder kleiner als 1 berechnet. Die schöne Übereinstimmung verschwindet nun vollständig. So wird z. B., um nur ein einziges Beispiel heranzuziehen, k für $n = 1/2$ im Versuch in Tabelle II gleich 0,312, 0,286, 0,264, 0,228, für 1, 1,5 2 und 3 Minuten Belichtung respektive. Für $n = 2$ bleibt k : 0,312 für 1 Min., 0,380 für 1,5 Min., 0,476 für 2 Min. und 0,774 für 3 Min. Belichtung. Bei der Berechnung dieser Konstante wurde der Wert von a (die ursprüngliche Menge), der entgegengesetzt dem Verhalten bei $n = 1$ jetzt nach der Integration zurückbleibt, arbiträr so gewählt, daß die erste Konstante mit der ersten in Tabelle II übereinstimmt.

Es dürfte somit keinem Zweifel unterliegen, daß die experimentell gefundenen Daten nur mit den Werten der monomolekularen Reaktionsformel übereinstimmen.

Die in den fünf angeführten Serien gefundene mittlere k variiert, wie man sieht, ziemlich viel; die Ursache hierzu ist, daß die Versuchsbedingungen an verschiedenen Tagen nicht ganz dieselben waren. Indessen war durch den monomolekularen Verlauf der Reaktion und die somit ermöglichte einfache Bestimmung der Reaktionskonstante eben ein Hilfsmittel gefunden, um den Einfluß verschiedener Versuchsfaktoren zu vergleichen.

Die Bedeutung verschiedener äußeren Versuchsfaktoren.

A. Einfluß der Durchsichtigkeit des Wassers.

Es war auffallend, daß wir in den ersten Tagen unserer Versuche eine viel kräftigere Wirkung ($k = 0,7$ wie in Tabelle VI) erhielten als in den nächsten ($k = 0,31 - 0,33$ wie in Tabelle I—III), ohne daß die Versuchsanordnung geändert war.

Tabelle VI.

Versuch mit 1 % iger Lablösung bei 19° C. 18./XII. 1907.

Belichtungsdauer Minuten	Koagulationszeit Minuten	k
0	9,75	—
0,25	14,5	0,69
0,5	24,0	0,78
0,75	32,0	0,69
1,0	48,0	0,69
1,5	140,0	0,77
2,0	284,0	0,73

Mittel: $k = 0,73$.

Einige ältere Erfahrungen¹⁾ machten es nicht unwahrscheinlich, daß die Durchsichtigkeit des Wassers hierbei einen bedeutenden Einfluß ausüben konnte. Da aber das Aquarium mit destilliertem Wasser gefüllt war, das etwa alle zwei bis drei Tage gewechselt wurde, hatten wir trotzdem anfangs in dieser Richtung wenig Verdacht. Wir suchten zuerst vergebens die Ursache der Wechselungen in der Lampe und ihrem Stromverbrauch. Schließlich blieb uns nur das Wasser übrig.

Am 30. Dezember war die Reaktionskonstante wiederum sehr niedrig ($k = 0,25$), weshalb wir mitten in einer Serie das in sich selbst klar aussehende destillierte Wasser mit frisch destilliertem ersetzten, ohne daß sonst etwas an der Lampe oder in den Anordnungen verändert wurde. Die Reaktionskonstante stieg sofort zu 0,52. Am nächsten Tage war sie wiederum gefallen (auf 0,43), trotzdem daß die Lampe über Nacht außerhalb des Aquariums aufbewahrt wurde. Es war somit unzweckmäßig, destilliertes und im Aquarium stillstehendes Wasser zu verwenden, selbst wenn es alle zwei Tage (oder täglich) gewechselt wurde. Wie oben in der Versuchsanord-

¹⁾ S. Schmidt-Nielsen, Einige Erfahrungen über die Verwendbarkeit des Lichtes als Reagens. Mitteilungen aus Finsens med. Lysinstitut, Bd. X, Nr. 7, Jena 1906.

nung angegeben, wurde späterhin im Aquarium nur strömendes, durch Glaswolle filtriertes Wasserleitungswasser verwendet. Als Kühlwasser an der Innenseite des Quarzfensters der Lampe zirkulierte übrigens auch in den ersten Versuchen nur gewöhnliches Leitungswasser.

Mit der neuen Anordnung bot es keine besonderen Schwierigkeiten, an verschiedenen Tagen dieselbe Reaktionsgeschwindigkeit zu bekommen. Die Reaktionskonstanten sind, trotzdem es sich nur um die Passage von 25 mm Leitungswasser handelt, doch auf etwa die Hälfte von den mit dem ganz frischen destillierten Wasser erhaltenen herabgesetzt. Wenn es nicht, wie hier, Versuche galt, wo es vor allem notwendig war, jede Wärmewirkung fern zu halten, würde es sich also unbedingt empfehlen, die Exponierung in Luft vorzunehmen, eventuell die Abkühlung nur an der Rückseite zu bewerkstelligen.

B. Der Einfluß des Flüssigkeitsvolumens.

Wenn man sich denken konnte, daß die Lablösungen völlig durchstrahlbar seien, mußte k von der Menge der in der völlig belichteten Kammer eingeschlossenen Versuchsflüssigkeit unabhängig sein.

Dies war, wie man wohl eigentlich hätte erwarten können, nicht der Fall. Die Reaktionskonstanten fallen bei sonst unveränderten Anordnungen mit dem anwachsenden Flüssigkeitsvolumen.

Unsere Versuchsserien hierüber sind leider nicht so vollständig, daß sich etwas Bestimmtes über die Form der Kurve berechnen läßt. Wir führen deswegen nicht die vollständigen Serien an, sondern nur daß wir

beim Flüssigkeitsvolumen 10 ccm die mittlere $k = \text{ca. } 0,5$

» » 25 » » » $k = \text{ » } 0,4$

» » 50 » » » $k = \text{ » } 0,3$

» » ca. 100 » » » $k = \text{ » } 0,1$

fanden.

Am zweckmäßigsten schien uns, 25 ccm zu verwenden, und alle Versuche, wo nichts anders angeführt ist, sind mit dieser Menge ausgeführt worden.

C. Variationen der Lichtquelle.

Wie oben angeführt, behaupteten wir im Anfange, daß die Lampe selbst beim ruhigen Brennen solche Variationen im Energieverbrauch zeigen konnte, daß dies einen Einfluß auf die Variationen von k ausüben konnte. Der Energieverbrauch wurde deswegen durch Spannungs- und Strommessungen genau beobachtet.

Es zeigte sich, daß kleine Wechselungen (z. B. 1 Volt und ein paar Hundertel Ampère) in demselben völlig außer Betracht gesetzt werden konnten. Die Lampe war deswegen mit ihrem Widerstande dem städtischen Elektrizitätsnetze ohne irgend welche Vorsichtsmaßregeln direkt angekoppelt. Während aller späteren Versuche wurde doch stets sowohl Ampère- wie Voltmeter genau beobachtet.

In nacheinander ausgeführten Versuchen, wo das Produkt Ampère und Volt fast konstant war, konnte k ganz unregelmäßige Abweichungen zeigen, wie es aus Tabelle VII ersichtlich ist.

Tabelle VII.

Variationen von k bei konstantem Energieverbrauch.

Energieverbrauch der Lampe	Rotationen der Versuchs- kammer pro Minute	Temperatur des		Be- lich- tungs- zeit Min.	Koa- gula- tions- zeit Min.	k
		Kühl- wassers ° C.	Aqua- riums ° C.			
—	—	—	—	0	7,5	—
$126 \times 3,55 = 447,3$ V.A.	42	11,5	15,35	2	30,0	0,301
$127 \times 3,52 = 447,3$ »	41	14,0	15,3	2	35,0	0,335
$128 \times 3,50 = 448$ »	44	11,4	15,4	2	30,5	0,305
$125 \times 3,60 = 450$ »	41	12,8	15,3	2	31,5	0,312

Mittel: $k = 0,312$.

Wie andere, speziell darauf gerichtete Versuche gezeigt haben, rühren diese Wechselungen nicht von der in dieser Serie etwas variierenden Temperatur des Kühlwassers her, sondern müssen als unvermeidliche Arbeitsfehler aufgefaßt werden, welche

vermutlich der Lampe selbst, d. h. dem Lichtbogen zuzuschreiben sind. Diese oft erstaunenswert kleinen Fehler werden durch Serienversuche eliminiert.

Eine ganz andere Frage sind die durch größere Variationen im Energieverbrauch der Lampe bewirkten Änderungen der Reaktionskonstante. Mit dem verminderten V.A. nimmt k ab. Tabelle VIII gibt hierüber einige experimentelle Daten an.

Tabelle VIII.

Energieverbrauch der Lampe	Rotationen der Versuchskammer pro Minute	Temperatur des		Be- lich- tungs- zeit Min.	Koa- gula- tions- zeit Min.	k
		Kühl- wassers ° C.	Aqua- riums ° C.			
—	—	—	—	0	7,5	—
$130 \times 3,50 = 455$ V.A.	38	13	15,70	2	43,0	0,379
$113 \times 3,50 = 395,5$ »	38	13	15,65	2	31,5	0,312
$97 \times 3,52 = 341,4$ »	39	13	15,65	2	20,25	0,216
$70 \times 3,75 = 262,5$ »	39	15	15,50	2	11,25	0,088

Die Labdestruktion ist ein vorzügliches Hilfsmittel, um verschiedene Lichtquellen in bezug auf ihre photochemische Wirkung zu vergleichen. Wenn die Reaktionskonstante für Kromayers Quecksilberlampe gleich 1 gesetzt wird, wird sie nach einer Berechnung, die wir von unseren älteren Versuchen (1903) vorgenommen haben, für Belichtung im Lichtpunkte des ad modum Finsen konzentrierten Kohlenbogenlichtes (50×45 V.A.) höchstens 0,06 bis 0,12 betragen. In einem Abstände von 30 cm einer 45×35 V.A. Kohlenbogenlampe hat k einen Maximalwert von etwa 0,007. Mit dem direkten Sonnenlichte an völlig klaren Tagen in Kopenhagen im Monat Juli konnten wir nach unseren alten Versuchen die maximale k zu etwa 0,0006 berechnen. Diese, allerdings nur ungefähren Werte geben einen Begriff von dem Reichtum der Quecksilberlampe an chemisch wirksamen Strahlen.

D. Einfluß der Reaktionstemperatur.

Es gilt bekanntlich für photochemische Reaktionen als festgestellt, daß sie von der Reaktionstemperatur sehr wenig beeinflußt werden. Um das Verhalten der Lichtdestruktion des Labs in dieser Beziehung studieren zu können, konnten natürlich nur diejenigen Temperaturen zur Verwendung kommen, welche an und für sich ohne schädigende Wirkung auf die Enzyme sind. Nach den Untersuchungen von Madsen und Walbum (l. c.) dürfte dies für 1 %ige Lösungen des Gladschen Labpulvers bei 37° C. der Fall sein. Aus praktischen Gründen haben wir keine Temperatur über 25° C. verwendet.

Die Versuche wurden in der Weise ausgeführt, daß zuerst eine Serie mit Exponierungen in respektive 60, 90, 120 und 180 Sekunden bei der niedrigsten Temperatur (z. B. 15° C.) vorgenommen wurden, wonach das Wasser abgezapft, in einem emaillierten Kessel um etwa 10° erwärmt und zurückgefüllt wurde, wonach die Exponierungen der zweiten Serie mit im ganzen völlig beibehaltener Versuchsanordnung geschahen.

Tabelle IX.

Versuch mit 1 %iger Lablösung bei 24,17° C. 4./I. 1908.

Temperatur ° C.	Belichtungsdauer Minuten	Koagulationszeit Minuten	k
—	0	8,5	—
24,20	1,0	23,5	0,442
24,10	1,5	39,25	0,443
24,20	2,0	71,0	0,461

• Mittel: $k = 0,449$.

Nach dem in Tabelle IX zusammengestellten Versuch war die Reaktionskonstante bei 24,17° C. $k = 0,449$. Aus dem direkt vorausgegangenen Versuche bei 14,45° C., der in Tabelle V wiedergegeben ist, war die Reaktionskonstante bei dieser Temperatur gleich 0,415.

Tabelle X.

Versuch mit 1%iger Lablösung bei 12,81° C. 2./I. 1908.

Temperatur ° C.	Belichtungsdauer Minuten	Koagulationszeit Minuten	k
—	0	7,7	—
12,65	1,5	34,0	0,430
12,70	2,0	51,0	0,410
12,75	1,0	19,5	0,405
12,80	1,5	34,5	0,434
12,85	2,0	59,0	0,442
13,0	2,0	56,0	0,431
12,95	2,0	54,5	0,425

Mittel: $k = 0,425$.

In Versuch Tabelle X wurde die Reaktionskonstante bei 12,81° C. gleich 0,425 gefunden. Bei 23,08° C. wurde in demselben Versuche, wie aus Tabelle XI hervorgeht, $k = 0,465$ gefunden.

Tabelle XI.

Versuch mit 1%iger Lablösung bei 23,08° C. 2./I. 1908.

Temperatur ° C.	Belichtungsdauer Minuten	Koagulationszeit Minuten	k
—	0	7,7	—
23,25	1,0	23,0	0,475
23,0	1,5	37,0	0,454
23,0	2,0	65,5	0,465

Mittel: $k = 0,465$.

Aus diesen Daten läßt sich mit Hilfe der Arrheniusschen Formel für den Einfluß der Temperatur auf die Reaktionskonstante $\frac{k_1}{k_2} = e^{\frac{\mu}{2} \left(\frac{T_1 - T_2}{T_1 \cdot T_2} \right)}$ die Temperaturkonstante für die zwei Versuche zu 1400 und 1500 berechnen, also ganz niedrige Werte. Für gewöhnliche chemische Prozesse beträgt

sie bekanntlich 10 000—20 000 und für die Hitzedestruktion des Labs fanden Madsen und Walbum Werte bis auf 90 000.

In Verbindung mit dem Einfluß der Reaktionstemperatur haben wir auch unsere Aufmerksamkeit auf die Temperatur des Kühlwassers der Lampe gerichtet gehabt. Diese wurde stets möglichst konstant gehalten, trotzdem daß selbst durch Variationen von mehreren Graden keine sicheren Veränderungen beobachtet wurden.

Der Einfluß der Enzymkonzentration.

Vorausgesetzt, daß die Versuchsflüssigkeit bei den getroffenen Anordnungen völlig durchleuchtet wurde, hätte man annehmen können, daß die Reaktionskonstante der monomolekularen Formel bei verschiedenen Konzentrationen wie gewöhnlich denselben Wert zeigen sollte.

Wie indessen aus den oben über den Einfluß des Flüssigkeitsvolumens angegebenen Daten ersichtlich ist, kann selbst bei einer Konzentration von 1% von einer vollständigen Durchleuchtung nicht die Rede sein. Die Reaktion findet, in Übereinstimmung mit der großen Absorbierbarkeit¹⁾ der eben wirksamen ultravioletten Strahlen, gewiß nur in den oberflächlichsten Schichten statt. Die Dicke derselben wird mit steigender Konzentration abnehmen, mit fallender zunehmen. Hieraus folgt, daß die Reaktionskonstante bei den verdünnteren Lösungen größer sein muß als bei den mehr konzentrierten.

Einige typische Versuche sind in den Tabellen XII—XVI wiedergegeben.

Tabelle XII.

Versuch mit 3%iger Lablösung. 7./I. 1908.

Belichtungsdauer Minuten	Koagulationszeit Minuten	k
0	8,3	—
2,0	18,25	0,171
5,0	60,0	0,172

Bei 3%: $k = 0,172$.

¹⁾ Diese kann wohl kaum geringer für die destruierten als für die aktiven Lösungen angenommen werden.

Tabelle XIII.

Versuch mit 2%iger Lablösung. 7./I. 1908.

Belichtungsdauer Minuten	Koagulationszeit Minuten	k
0	8,3	—
2,0	20,0	0,191
5,0	78,0	0,195

Bei 2%: $k = 0,193$.

Tabelle XIV.

Versuch mit 1%iger Lablösung. 7./I. 1908.

Belichtungsdauer Minuten	Koagulationszeit Minuten	k
0	8,3	—
1,0	18,5	0,348
1,5	27,5	0,347
5,0	390,0	0,334

Bei 1%: $k = 0,343$.

Tabelle XV.

Versuch mit 0,5%iger Lablösung. 7./I. 1908.

Belichtungsdauer Minuten	Koagulationszeit Minuten	k
0	8,3	—
0,5	15,75	0,556
1,0	27,5	0,520
5,0	2700	0,502

Bei 0,5%: $k = 0,526$.

Tabelle XVI.

Versuche mit 0,025%iger Lablösung. 10./I. 1908.

Belichtungsdauer Sekunden	Koagulationszeit Minuten	k
0	8,75	—
5	11,75	1,536
10	16,0	1,573
15	20,5	1,479

Bei 0,025%: $k = 1,529$.

Trotzdem daß die experimentell gefundenen Daten die Auffassung stützen, daß die Inkonstanz der Reaktionskonstante bei wechselnden Konzentrationen auf die mangelhafte Durchleuchtung zurückzuführen sind, muß doch daran erinnert werden, daß die Erscheinung mit variierender k bei steigender Konzentration in monomolekularen Reaktionen auch von anderen Momenten als der Durchstrahlbarkeit beeinflußt sein kann. Ähnliche Erscheinungen sind bekanntlich früher in der Biochemie beschrieben. Wir erinnern an die Versuche von Madsen und Walbum (l. c.) über die Wärmedestruktion des Labs. Die Versuche dieser Verfasser deuten darauf hin, daß auch andere Eigenschaften als die Durchsichtigkeit der Lösungen maßgebend seien. Diese Einflüsse dürfen vorläufig auch nicht bei der Lichtdestruktion außer Betracht gesetzt werden.

In Fig. 2 haben wir die bei verschiedenen Konzentrationen gefundenen mittleren k graphisch wiedergegeben. Wir verfügen leider nicht über eine hinreichend große Zahl von Bestimmungen, um die Form der Kurve genau zu berechnen. Wir ersahen erst nach dem Abschluß dieser Versuche, daß wir zu wenig Untersuchungen bei geringen Konzentrationen ausgeführt hatten. Es läßt sich deswegen nicht entscheiden, ob bei fortgesetzter Verdünnung k einen konstanten Grenzwert annimmt, oder entsprechend der Hyperbel ∞ groß wird, das heißt die Labmoleküle

bei Belichtung in hinreichend dünnen Lösungen sofort destruiert werden.

Unsere oben angeführten Versuche deuten indessen durchaus darauf hin, daß bei ansteigender Verdünnung k einen Grenzwert annimmt, denn die Werte sind durchaus kleiner als der Hyperbel entspricht. Außer den oben besprochenen Versuchen verfügen wir auch über zwei Einzelversuche bei der Konzentration 0,0125 ‰. Da indessen diese nicht gleichzeitig mit den anderen ausgeführt wurden, geben wir nicht die Zahlen an. Sie stützen jedoch unbedingt die Auffassung von einem Grenzwerte, denn k wurde hier nur wenig höher als früher für 0,025 ‰ gefunden, während sie sonst hätte mehrmals höher sein sollen.

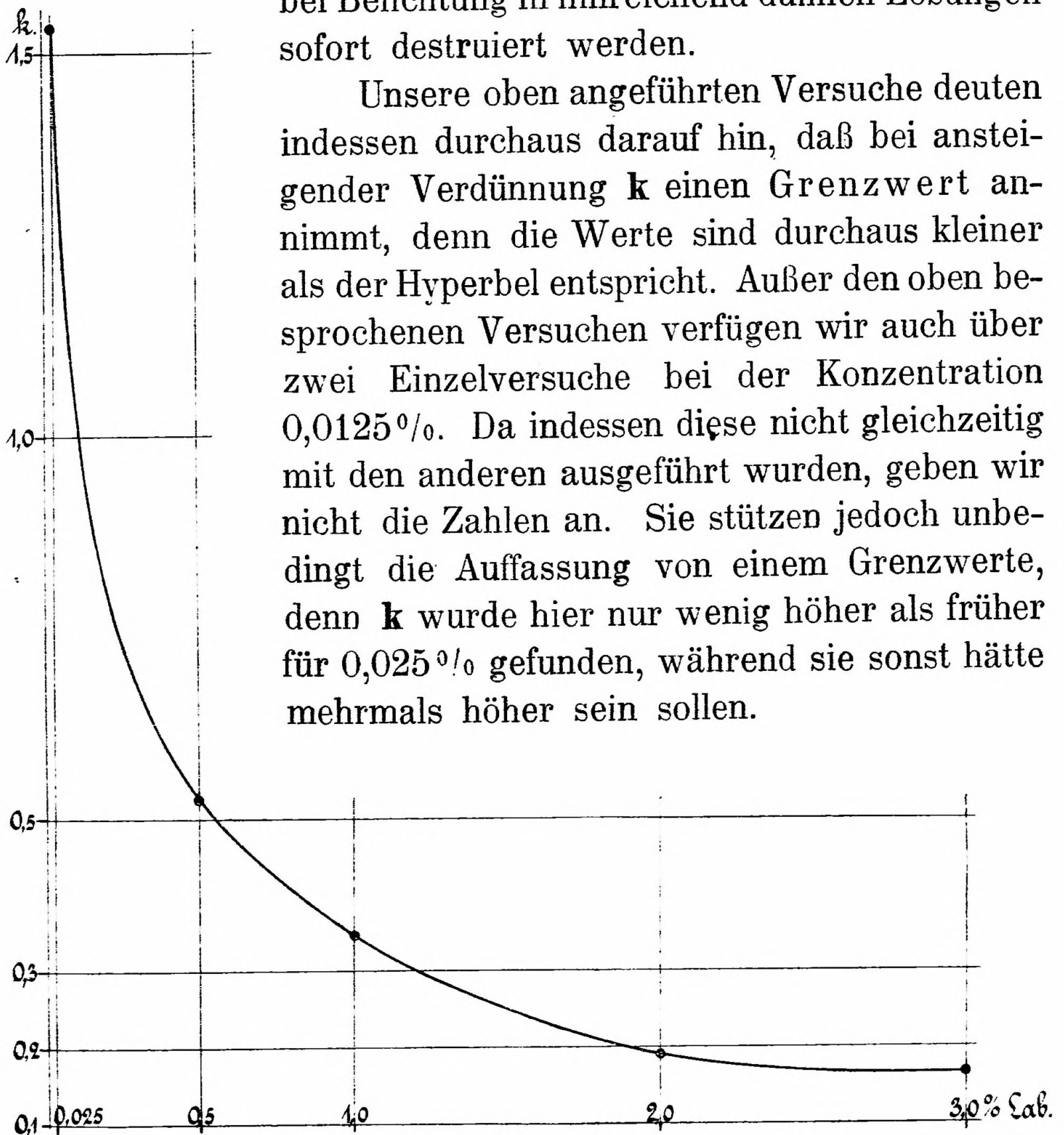


Fig. 2.

Die Abhängigkeit der Destruktion von der Wellenlänge.

In den bisher besprochenen Versuchen ist die Destruktion das Gesamtergebnis der Wirkung sämtlicher Spektralabschnitte, indem durch die Quarzwände der Versuchskammer und das Wasser Strahlen von einer Wellenlänge von 200 $\mu\mu$ ab durchgelassen werden. Durch Vorschalten einer Platte des sogenannten Uviolglases werden die Strahlen bis zu etwa 250 $\mu\mu$ abfiltriert, und mit einer gewöhnlichen Glasplatte die Strahlen bis zu etwa 313 $\mu\mu$. In dieser einfachen Weise war es also ermöglicht, die destruiierende Wirkung der verschiedenen Spektralabschnitte zu vergleichen.

Wir konnten nun in Ergänzung unserer früheren Erfahrungen zeigen, daß nicht weniger als 96% der Gesamtwirkung von dem Abschnitte 200—250 $\mu\mu$ bewirkt wurde.

Von den hierher gehörenden Versuchen, die mit einer 0,025%igen Lösung angestellt wurden, sind die ohne Filter ausgeführten in Tabelle XVI angegeben. Der Wert von k betrug hier 1,529.

In den Tabellen XVII und XVIII sind zwei mit dem durch eine Uviolglasplatte filtrierten Lichte zusammengestellt.

Tabelle XVII.

Belichtung von 0,025%iger Lablösung durch Uviolglas. 10./I. 1908.

Belichtungsdauer Minuten	Koagulationszeit Minuten	k
Kontrollprobe	9,25	—
2,0	12,25	0,061
3,0	13,5	0,055
5,0	19,0	0,062
15,0	68,0	0,058

Mittel: $k = 0,059$.

Tabelle XVIII.

Belichtung von 0,025%iger Lablösung durch Uviolglas. 10./I. 1908.

Belichtungsdauer Minuten	Koagulationszeit Minuten	k
Kontrollprobe	9,0	—
2,5	13,75	0,074
5,0	17,25	0,057
8,0	33,0	0,070
10,0	34,0	0,058
15,0	93,0	0,068

Mittel: $k = 0,065$.

In den Tabellen XIX und XX sind endlich zwei von den mit vorgeschalteter Glasplatte gemachten Versuchen wiedergegeben.

Tabelle XIX.

Belichtung von 0,025%iger Lablösung durch Glasfilter. 9./I. 1908.

Belichtungsdauer Minuten	Koagulationszeit Minuten	k
unbelichtete Kontroll- probe	11	—
40	18,25	0,0055
40	19,5	0,0062
60	23,5	0,0055

Mittel: $k = 0,0057$.

Tabelle XX.

Belichtung von 0,025%iger Lablösung durch Glasfilter. 8./I. 1908.

Belichtungsdauer Minuten	Koagulationszeit Minuten	k
unbelichtete Kontroll- probe	10,5	—
20	13,0	0,0046
20	12,5	0,0038

Mittel: $k = 0,0042$.

Es hat sich also herausgestellt, daß bei den getroffenen Versuchsanordnungen für 0,025%ige Lösungen

ohne Verwendung von Filter	$k = 1,53$
durch » » Uviolglasfilter	$k = 0,06$
» » » gew. Glasfilter	$k = 0,005$

Die Wirkung der Quecksilberlampe teilt sich also folgendermaßen auf die verschiedenen Spektralabschnitte:

Die Wellenlänge 200 (oder eigentlich 220) ¹⁾ bis 250 $\mu\mu$	$k = 1,47$
» » 250 bis ca. 313 $\mu\mu$	» $k = 0,06$
» » über » 313 »	» $k = 0,005$

Wie besonders durch die in den letzten Jahren im Tappeinerschen Laboratorium gemachten Untersuchungen

¹⁾ Nach einer freundlichen Mitteilung von Dr. K. A. Hasselbalch soll nach den im Finseninstitut durch Spektralphotographie gemachten Beobachtungen die Quecksilberlampe nur unbedeutende Mengen von Strahlen mit einer geringeren Wellenlänge als 220 $\mu\mu$ (d. h. zwischen 200 und 220 $\mu\mu$) aussenden.

gezeigt worden ist, kann die Wirkung der sichtbaren Lichtstrahlen in ganz besonderem Maße durch Zusatz gewisser Farbstoffe vermehrt werden. Unsere bisherigen quantitativen Versuche hierüber gestatten uns nicht zu entscheiden, ob die Labdestruktion auch bei Gegenwart von Sensibilisatoren der monomolekularen Reaktionsformel gehorcht.

Eine Sensibilisierung findet indessen nicht nur für die Strahlen oberhalb $313 \mu\mu$ statt, sondern auch für die zwischen 250 und $313 \mu\mu$, wie die folgenden Versuche zeigen.

Versuch am 13. Januar 1908. Eine $0,025\%$ ige Lablösung wurde mit $\frac{1}{2500}$ Mol. Eosinnatrium versetzt. 25 ccm wurden hinter dem Uviolglasfilter 5 Minuten lang belichtet. Die Koagulationszeiten nach der Belichtung waren in zwei Versuchen 136 und 125 Minuten, während die Kontrollprobe $10,5$ Minuten zeigte. Hieraus ergibt sich der Wert der Reaktionskonstante $k = 0,222$ und $k = 0,215$. Für entsprechende Proben ohne Eosin wurden nach 5 Minuten Belichtung die Koagulationszeiten zweier Versuche zu $19,5$ und $23,5$ Minuten bestimmt, während die Kontrollprobe $10,3$ Minuten zeigte. Die Reaktionskonstante war also hier $0,0554$ und $0,0716$ respektive.

Es zeigte sich also, daß k durch Zusatz von Eosin für die Strahlen 250 — $313 \mu\mu$ etwa 4 mal größer ist als ohne Eosin.

Versuch am 14. Januar 1908. Durch Belichtung von 25 ccm $0,025\%$ iger Lablösung mit $\frac{1}{2500}$ Mol. Eosinnatrium in der gewöhnlichen Weise, aber mit vorgeschalteter Glasplatte, wurde nach 30 Sekunden Belichtung eine Koagulationszeit von 16 Minuten, nach 60 Sekunden eine Koagulationszeit von 20 Minuten gefunden, während die Kontrollprobe 11 Minuten zeigte. Die Reaktionskonstante beträgt $k = 0,325$ und $k = 0,260$ respektive.

Wenn wir wissen (Tab. XIX und XX), daß k unter Verwendung von Glasfilter ohne Eosinzusatz $0,005$ beträgt, ist also durch Zusatz von Eosin die Wirkung der sichtbaren Strahlen etwa 60 mal vergrößert worden.

Die sichtbaren Strahlen haben sich also als durchaus mehr (15 mal) sensibilisierbar als die zwischen 250 und $313 \mu\mu$ liegenden gezeigt. Über das Verhalten der äußersten ultravioletten Strahlen in dieser Beziehung besitzen wir keine Daten.

Zusammenfassung.

Die Abschwächung des Labs durch Licht ist eine monomolekulare Reaktion. Ihre Reaktionsgeschwindigkeit ist wie die

anderer photochemischer Reaktionen von der Temperatur wenig abhängig, indem die Temperaturkonstante etwa 1500 beträgt. Von den äußeren Faktoren, die für den Wert der Destruktion maßgebend sein können, ist in erster Linie die Durchsichtigkeit des verwendeten Kühlwassers hervorzuheben.

Die Reaktion findet gewiß nur in den oberflächlichen vom Lichte zuerst getroffenen Schichten, nicht in der ganzen Flüssigkeit statt. Dies erklärt sich daraus, daß die Reaktionskonstante, dem entgegengesetzt, was man für eine monomolekulare Reaktion erwarten kann, mit steigender Konzentration fällt, und auch daraus, daß bei wachsendem Flüssigkeitsvolumen in der Versuchskammer die Reaktionskonstante ebenfalls fällt.

Nicht weniger als 96% der Gesamtwirkung stammt von den Strahlen zwischen 200 (richtiger 220) und 250 $\mu\mu$, und 4% von den Strahlen 250—313 $\mu\mu$. Die sichtbaren Strahlen dagegen bewirken nur etwa 0,3% der Gesamtwirkung.

Eine Sensibilisierung findet nicht nur für die sichtbaren, sondern auch für die ultravioletten Strahlen statt. Die ersteren sind aber durchaus leichter sensibilisierbar (etwa 15 mal) als die letzteren.

Christiania, 28. $\frac{\text{Februar}}{\text{November}}$ 1908.
