

# Beiträge zur Kenntnis der Katalase des Blutes.<sup>1)</sup>

Von

G. Lockemann, J. Thies und H. Wichern.

Mit 4 Kurvenzeichnungen.

(Aus den Instituten: Laborator. f. angew. Chemie der Univers. Leipzig (Direktor Geh.-Rat E. Beckmann), kgl. Institut f. Infektionskrank. in Berlin (Direktor: Geh.-Rat Gaffky), Frauenklinik der Univers. Leipzig (Direktor: Geh.-Rat P. Zweifel), Universitäts-Frauenklinik der kgl. Charité Berlin (Direktor Geh.-Rat Bumm), medicin. Klinik der Univers. Leipzig (Direktor: Geh. Rat Curschmann).

(Der Redaktion zugegangen am 26. Dezember 1908.)

L. J. Thénard, der Entdecker des Wasserstoffsperoxyds,<sup>2)</sup> beobachtete, daß diese Verbindung durch geronnene Blutfaserstoffe in Wasser und Sauerstoff gespalten wird. Später beschäftigte sich C. D. Schönbein<sup>3)</sup> bei seinen Untersuchungen über Oxydationsvorgänge näher mit dem Verhalten des Wasserstoffsperoxyds, und er fand, daß es durch eine große Anzahl pflanzlicher und tierischer Flüssigkeiten zersetzt wird. Die Wirkung des defibrinierten Blutes, die er besonders untersuchte, schrieb Schönbein den roten Blutkörperchen zu, und er verglich sie mit der katalytischen Wirkung des Platins. Von den weiteren auf die nähere Erforschung dieses Vorgangs gerichteten Arbeiten seien die von Schmidt,<sup>4)</sup> Bergengrün,<sup>5)</sup> J. Jacobson<sup>6)</sup> und W. Spitzer<sup>7)</sup> hervorgehoben. Man nahm allgemein an, daß diese zersetzende Wirkung auf das Wasser-

<sup>1)</sup> Über den größeren Teil des Inhalts vorliegender Arbeit ist bereits am 18. September 1907 auf der Naturforscherversammlung in Dresden (Verhandlungen Bd. II, S. 45) kurz berichtet. Durch äußere Verhältnisse an der geplanten gemeinsamen Fortsetzung gehindert, haben wir uns entschlossen, das vorliegende Material, durch einige weitere Versuche inzwischen ergänzt, hiermit zu veröffentlichen.

<sup>2)</sup> Annales de Chim. et de Phys., Bd. VIII (1818), S. 308.

<sup>3)</sup> Journal f. prakt. Chemie, Bd. LXXV (1858) S. 78; Bd. LXXXIX (1863), S. 22 u. 323.

<sup>4)</sup> Pflügers Arch., Bd. VI (1872), S. 413.

<sup>5)</sup> Dissertation, Dorpat 1888.

<sup>6)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XVI (1892), S. 340.

<sup>7)</sup> Pflügers Arch., Bd. LXVII (1897), S. 615.

superoxyd allen Enzymen eigen sei, bis Loew<sup>1)</sup> nachwies, daß sie die spezifische Eigenschaft eines bestimmten Enzyms ist, welches er z. B. aus Tabaksblättern isolieren konnte und das er «Katalase» nannte. Diese Bezeichnung hat sich vor den von anderer Seite vorgeschlagenen (R. W. Raudnitz:<sup>2)</sup> «Superoxydase», G. Senter:<sup>3)</sup> «Hämase») allmählich eingeführt.

G. Senter<sup>4)</sup> hat die Katalase des Blutes («Hämase») zum Gegenstand eingehender physikalisch-chemischer Untersuchungen gemacht. Er gewann das Enzym aus Rinderblut als ein hämoglobinfreies Pulver, «dessen wässrige Lösung sich filtrieren und bei 0° sehr lange in haltbarem Zustande aufbewahren ließ». In seinem Verhalten den verschiedenen Einwirkungen gegenüber zeigte das Enzym mancherlei Ähnlichkeit mit dem von G. Bredig<sup>5)</sup> untersuchten, als Katalysator wirkenden kolloidalen Platin (Reaktionsverlauf und Temperaturkoeffizient; starke lähmende Wirkung kleiner «Gift»-Zusätze usw.); in verschiedenen Beziehungen machten sich aber auch große Unterschiede geltend (Enzym durch starkes Erhitzen zerstört; Wirkung von Säuren, Basen und Salzen bei beiden verschieden).

Für die praktische Bestimmung des Katalasengehaltes von Blutproben hat dann Ad. Jolles<sup>6)</sup> eine Methode ausgearbeitet, die sozusagen für den täglichen Gebrauch in der Hand des Arztes bestimmt ist:

10 ccm einer Lösung von 1 Teil Blut in 1000 Teilen physiologischer Kochsalzlösung (0,9%) werden mit 30 ccm einer 1%igen neutralen Wasserstoffsuperoxydlösung gemischt, zwei Stunden bei Zimmertemperatur (15°) stehen gelassen und dann mit Säure versetzt, wodurch die Katalasenwirkung unterbrochen

---

<sup>1)</sup> Report. Nr. 68, U. S. Depart. of Agricult., Washington 1901.

<sup>2)</sup> Zeitschrift f. Biologie, Bd. XLII (1901), S. 91.

<sup>3)</sup> Zeitschrift f. physikal. Chem., Bd. XLIV (1903), S. 275.

<sup>4)</sup> Zeitschrift f. physikal. Chem., Bd. XLIV (1903), S. 267; Bd. LI (1905), S. 673.

<sup>5)</sup> Zeitschrift f. physikal. Chem., Bd. XXXI (1899), S. 258; Bd. XXXVII (1901), S. 1.

<sup>6)</sup> Münch. med. Wochenschr., 1904, S. 2083; Fortschritte d. Medizin, Bd. XXII (1904), S. 1229; Virchows Archiv, Bd. CLXXX (1905), S. 186; Zeitschrift f. analyt. Chem., Bd. XLIV (1905), S. 1.

wird. Der nicht zersetzte Teil des Wasserstoffsperoxyds wird durch Titration mit Kaliumjodid und Thiosulfat oder mit Permanganat bestimmt. Hieraus berechnet man, wieviel Gramm Wasserstoffsperoxyd durch 1 ccm Blut zersetzt wurden (oder mit andern Worten, bei Anwendung von 10 ccm einer Blutlösung 1 : 1000, wieviel Zentigramm  $H_2O_2$  zersetzt wurden), und die so erhaltene Zahl nennt Jolles die «Katalasenzahl». Bei seinen zahlreichen Versuchen schwankten die meisten Werte zwischen 18 und 30; als Durchschnittswert nimmt Jolles 23 an. Bisweilen erhielt er Abweichungen, die nicht weiter zu erklären waren; jedoch zeigten sich in den untersuchten pathologischen Fällen bei Tuberkulose, Nephritis und Carcinom regelmäßig sehr niedrige Werte.

Mit dem Studium der Katalasenreaktion hat sich außerdem eine große Anzahl anderer Forscher beschäftigt, auf deren Resultate wir nur zum Teil im weiteren Verlauf der Arbeit eingehen können. Wir wollen hier auf die Arbeiten folgender Autoren hinweisen: J. Ville und J. Moitessier,<sup>1)</sup> J. H. Kastle und A. S. Loevenhart,<sup>2)</sup> O. Loew,<sup>3)</sup> A. Bach,<sup>4)</sup> H. Euler,<sup>5)</sup> Ph. Shaffer,<sup>6)</sup> L. van Itallie,<sup>7)</sup> E. J. Lesser;<sup>8)</sup> neuerdings nach Abschluß unserer Versuche noch: A. Jodlbauer und M. Zeller,<sup>9)</sup> Wolfg. Ostwald,<sup>10)</sup> W. Löb,<sup>11)</sup> C. G. Santesson.<sup>12)</sup>

<sup>1)</sup> Compt. rend. de la Soc. biol., Bd. LV (1903), S. 1126.

<sup>2)</sup> Amer. chem. Journ., Bd. XXIX (1903), S. 397 u. 563.

<sup>3)</sup> Zentralbl. f. Bakter. u. Parasitenk. II, Bd. X (1903), S. 177; Bd. XXI (1908), S. 1.

<sup>4)</sup> Berichte d. d. chem. Ges., Bd. XXXVIII (1905), S. 1878; Bd. XXXIX (1906), S. 1670.

<sup>5)</sup> Hofmeisters Beiträge z. ch. Phys. u. Path., Bd. VII (1906), S. 1.

<sup>6)</sup> Amer. Journ. of Physiol., Bd. XIV (1905), S. 299.

<sup>7)</sup> Compt. rend. de la Soc. biol., Bd. LX (1906), S. 148. Berichte d. pharm. Ges., Bd. XVI (1906), S. 60.

<sup>8)</sup> Zeitschrift f. Biologie, Bd. XLVIII (1906), S. 1; Bd. XLIX (1907), S. 575,

<sup>9)</sup> Biochem. Zeitschrift, Bd. VIII (1908), S. 84.

<sup>10)</sup> Biochem. Zeitschrift, Bd. X (1908), S. 1.

<sup>11)</sup> Biochem. Zeitschrift, Bd. XIII (1908), S. 339 u. 475.

<sup>12)</sup> Archiv für experim. Pathologie u. Pharmakol., Suppl.-Bd. (Festschrift Schmiedeberg), 1908, S. 469.

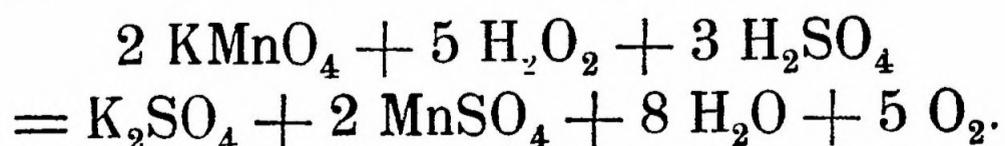
Wir unsererseits hatten die Absicht, größere Serien von Blut-Katalasenzahl-Bestimmungen auszuführen, um dabei gewisse Gesetzmäßigkeiten auf die Spur zu kommen, sahen uns aber bald genötigt, die Methode selber noch genauer durchzuarbeiten. Die dabei gewonnenen Resultate veranlaßten uns, die Versuche in verschiedenen Richtungen weiter auszudehnen.

Bevor wir auf die eigentlichen Untersuchungen eingehen, möchten wir über

#### das Versuchsverfahren

im allgemeinen einige Worte sagen. Wir benutzten zu unseren Versuchen Menschen- oder Kaninchenblut, das wir aus einer angeschnittenen Vene frisch mit einer Kapillarpipette entnahmen, sogleich in einen mit Wasser oder physiologischer Kochsalzlösung nicht ganz gefüllten Meßkolben brachten, gehörig umschüttelten und durch Auffüllen bis zur Marke auf das tausendfache verdünnten (z. B. 0,1 ccm auf 100 ccm). Nach wiederholtem Umschütteln ist dann diese Blutlösung, bezw. -verdünnung gebrauchsfertig. Um wirklich vergleichbare Resultate für die einzelnen Blutproben zu erhalten, muß man sehr geschwind arbeiten, da nur die ganz frisch von dem eben aus der Vene quellenden Blute genommenen Proben brauchbar sind. Das Blut verändert sich nach dem Austritt aus der Vene schon binnen kurzer Zeit nicht nur in bezug auf seine Viscosität, sondern auch in seiner katalytischen Kraft.

Die Wasserstoffsperoxydlösungen stellten wir uns durch Verdünnen des «Perhydrol Merck» (etwa 30%  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) mit destilliertem Wasser her. Der  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Gehalt wurde durch Titration mit Kaliumpermanganat und verdünnter Schwefelsäure kontrolliert. Wir benutzten durchweg Lösungen von 1%  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Gehalt. Um die Berechnung etwas zu vereinfachen, verwendeten wir zum Titrieren nicht die übliche  $\frac{1}{10}$ -n-Lösung, sondern eine Lösung mit einem Gehalt von 3,7195 g  $\text{KMnO}_4$  im Liter; 1 ccm dieser Lösung entspricht 0,002 g  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Diese Mengenverhältnisse berechnen sich nach der Reaktionsgleichung:



Der Titer der Permanganatlösung wurde mit Mohrschem Salz ( $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ ) geprüft, von dem der Berechnung gemäß  $0,46123 \text{ g} = 10 \text{ ccm}$  verbrauchen sollen. Wir bereiteten uns gewöhnlich 5 Liter der Permanganatlösung, deren Titer nach ein- bis zweitägigem Stehen auf lange Zeit (mehrere Monate) konstant blieb.

Die Bestimmungen der Katalasenzahlen wurden in der von Jolles angegebenen Weise ausgeführt, anfangs bei Zimmertemperatur, später im Thermostaten. Da die  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Lösungen katalytischen Einwirkungen gegenüber sehr empfindlich sind, so ist auf einen völlig sauberen Zustand der zu verwendenden Gefäße besonders zu achten, besonders darauf, daß nicht etwa geringe Spuren von Braunstein von früheren Versuchen her an den Glaswandungen haften. Am besten verwendet man Erlenmeyer-Kolben aus Jenenser Glas, die nach jedemmaligem Gebrauch gehörig mit Salzsäure und Wasser gespült und dann getrocknet werden.

Bei der Schlußtitration des Reaktionsgemisches wird von der darin enthaltenen organischen (Blut-) Substanz so wenig Permanganatlösung verbraucht ( $0,005$ — $0,1 \text{ ccm}$ ), daß das Resultat dadurch nicht beeinflußt wird.

Die Berechnung der Katalasenzahlen ist bei Verwendung der oben angegebenen Permanganatlösung sehr einfach, wie folgendes Beispiel zeigen möge:

Von der  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Lösung verbrauchen  $10 \text{ ccm} = 50,4 \text{ ccm}$   $\text{KMnO}_4$ -Lösung; sie enthält also  $1,008\%$   $\text{H}_2\text{O}_2$ . Die für den Katalasenversuch verwendeten  $30 \text{ ccm}$  würden  $151,2 \text{ ccm}$   $\text{KMnO}_4$ -Lösung entsprechen.

Der Schlußtiter des Reaktionsgemisches ( $10 \text{ ccm}$  Blutverdünnung +  $30 \text{ ccm}$   $\text{H}_2\text{O}_2$ -Lösung) ergibt  $46,8 \text{ ccm}$   $\text{KMnO}_4$ -Lösung. Die katalytisch zersetzte  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Menge entspricht also:  $151,2 - 46,8 = 104,4 \text{ ccm}$   $\text{KMnO}_4$ -Lösung. Da hiervon  $1 \text{ ccm} = 0,002 \text{ g}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  bedeutet, so sind  $0,2088 \text{ g}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  durch  $0,01 \text{ g}$  Blut zersetzt; das heißt mit andern Worten: die Katalasenzahl ist = **20,88**.

## I. Einwirkung von Chlornatrium.

Da das Blut zur Bestimmung der Katalasenzahl nach dem Jollesschen Verfahren mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt wird, so haben wir zunächst geprüft, ob die Gegenwart von Chlornatrium auf die Zersetzlichkeit der Wasserstoffsperoxydlösung einen Einfluß ausübt.

Um die Prüfung bei Abwesenheit von Blut auszuführen, benutzten wir die zersetzende Wirkung des Lichtes und verfahren in der Weise, daß wir je 10 ccm einer ca. 1%igen Wasserstoffsperoxydlösung mit einem Drittel Volumen (3,3 ccm) Wasser, bzw. 0,9%iger NaCl-Lösung versetzt 2 Stunden im Dunkeln, im Tageslicht und im unmittelbaren Sonnenlicht stehen ließen und alsdann den Titer mit Permanganatlösung bestimmten.

Dabei ergab sich folgendes:

Der Grad der Zersetzung des Wasserstoffsperoxyds ist natürlich von der jeweiligen Stärke des Tageslichtes abhängig. In der Tabelle I sind die 5 Versuchsreihen so angeordnet, daß der Zersetzungsgrad von der ersten bis zur letzten steigt. Beim Aufbewahren im Dunkeln ist der Titer ziemlich konstant geblieben; die kleinen Abweichungen fallen fast alle in die Grenze der Versuchsfehler. Bei der zersetzenden Wirkung des zerstreuten Tageslichtes (im Hellen) und des unmittelbaren Sonnenlichtes (in der Sonne) zeigen sich in den mit Wasser und den mit NaCl-Lösung versetzten Proben merkliche Unterschiede. Um diese in ihren zahlenmäßigen Beziehungen besser hervortreten zu lassen, sind die Konstanten der Reaktionsgeschwindigkeiten gemäß der Formel für monomolekulare Reaktionen:

$$k \cdot 0,4343 = \frac{1}{t} \cdot \lg \frac{C_0}{C_t} \text{ berechnet (t = 120 Minuten)}$$

und in der Tabelle im hundertfachen Werte ( $100 \cdot k \cdot 0,4343$ ) angegeben. Diese sind in allen Fällen für die NaCl-Lösung kleiner; mit anderen Worten wirkt also die Gegenwart von Natriumchlorid auf den zersetzenden Einfluß des Lichtes hemmend. Berechnet man das Verhältnis der Reaktionskonstanten der wässrigen und der NaCl-Lösung zu einander

Tabelle I.

Einwirkung von NaCl auf  $H_2O_2$ -Zersetzung durch Licht.

Je 10 ccm  $H_2O_2$ -Lösung + 3,3 ccm Wasser oder physiologischer NaCl-Lösung 2 Stunden:

Nr. fangs-	An-	im Dunkeln				im Hellen				in der Sonne									
		+ $H_2O$		+ NaCl		+ $H_2O$		+ NaCl		+ $H_2O$		+ NaCl							
Titer	Titer	Titer	Titer	Titer	Titer	Titer	Titer	Titer	Titer	Titer	Titer	Titer	Titer	Titer	Titer	Titer	Titer	Titer	Titer
1	52,7	52,6	52,7	48,0	0,0338	51,2	0,0105	3,23	41,6	0,0856	49,7	0,0212	4,04						
2	53,0	52,9	52,8	48,0	0,0359	51,4	0,0111	3,23	—	—	—	—	—						
3	54,5	54,6	54,3	42,5	0,0921	49,4	0,0356	2,59	—	—	—	—	—						
4	54,6	54,5	54,4	40,7	0,1063	47,9	0,0474	2,24	—	—	—	—	—						
5	50,5	50,5	49,3	37,0	0,1126	40,8	0,0772	1,46	19,6	0,3425	23,0	0,2846	1,20						

NB. Die NaCl-Lösung (0,9%) wird auf das 4fache verdünnt; das Gemisch enthält also 0,225% NaCl = 0,038 n.

( $k_1 : k_2$  und  $k_3 : k_4$  in Tabelle I), so erkennt man, daß dieses Verhältnis mit steigender Intensität der Lichtwirkung ganz regelmäßig abnimmt ( $k_1 : k_2$  von 3,23 bis 1,46;  $k_3 : k_4$  von 4,04 bis 1,20). Das bedeutet also, daß sich die hemmende Wirkung des Natriumchlorids bei geringerer Lichtstärke mehr geltend macht als bei großer Lichtstärke. Während die Reaktionsgeschwindigkeit in der wässerigen Lösung bei Probe 5 (0,1126) um 3,3mal größer ist als die bei Probe 1 (0,0338), ist das Verhältnis  $k_1 : k_2$  (der zahlenmäßige Ausdruck für die hemmende Wirkung des NaCl) bei Probe 5 (1,46) um 2,2mal kleiner als bei Probe 1 (3,23).

Hieraus ergibt sich, daß sich die Verhältnisse der  $H_2O_2$ -Zersetzung durch Katalasenwirkung dann jedenfalls komplizieren müssen, wenn diese Reaktion bei Lichtzutritt vor sich geht. Es ist mindestens erforderlich, daß Kontrollproben von  $H_2O_2$ -Lösungen, mit der entsprechenden Menge NaCl-Lösung gemischt, unter den gleichen Bedingungen wie die Katalasenproben angesetzt und deren Schlußtiter dann bei der Berechnung zugrunde gelegt werden. Das ist dann natürlich auch bei allen Versuchen regelmäßig geschehen.

Um nun den Einfluß des Natriumchlorids auf die eigentliche Katalasenreaktion zu prüfen, verfahren wir in der Weise, daß wir die Wirkung von Blutproben verglichen, welche, möglichst gleichmäßig entnommen, teils mit Wasser, teils mit physiologischer Kochsalzlösung auf das tausendfache verdünnt waren. In den Verdünnungen war also entweder Hämolyse eingetreten, oder die Blutkörperchen waren unverändert erhalten. Tabelle II bringt einige in der Weise angestellte Versuche.

Es zeigen sich bei den wässerigen Blutlösungen und den Verdünnungen mit Kochsalzlösung verschiedene Werte, ohne daß sich bestimmte Gesetzmäßigkeiten ableiten ließen. Die anfänglich gemachte Beobachtung,<sup>1)</sup> daß die Kochsalzblutverdünnungen höhere Katalasenzahlen ergaben, hat sich im Laufe einer großen Anzahl von Versuchen durchaus nicht als Regel-

---

<sup>1)</sup> Verhandlungen d. Gesellsch. d. Naturf. u. Ärzte, Dresden 1907. Bd. II, S. 45.

mäßigkeit bewährt. In Tabelle II sind daher Beispiele der verschiedensten Art aufgeführt.

Tabelle II.

Katalasenzahlen von Kaninchenblut, mit Wasser und mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, bei Zimmertemperatur.

Nr.	Kaninchen I		Kaninchen II		Kaninchen III		Bemerkungen
	H <sub>2</sub> O	NaCl	H <sub>2</sub> O	NaCl	H <sub>2</sub> O	NaCl	
1.	14,0	17,1	15,8	17,0	15,2	17,2	—
2.	19,9	18,3	19,8	16,8	22,0	19,0	—
3. {	18,1	15,9	19,8	18,7	22,2	18,6	FrISCHE Lösung.
	6,8	13,5	7,9	14,2	7,8	14,3	Dieselbe Lösung nach 2 Tagen.
4. {	a) 15,4	16,5	—	—	15,2	16,3	Blutproben nach einigem Stehen entnommen (nicht frisch quellend).
	b) 16,4	14,3	—	—	17,2	15,8	
5. {	a) —	14,6	17,5	16,4	17,2	17,9	Blutproben jedesmal frisch quellend.
	b) 16,5	14,3	14,8	16,5	17,1	17,5	
	c) 14,0	14,9	15,8	15,9	17,2	16,7	Nach einigem Stehen entnommen.

Im allgemeinen ergab sich, daß die Katalasebestimmungen mit den Kochsalzlösungen viel regelmäßiger verliefen; allerdings nur wenn die Blutproben jedesmal frisch quellend genommen wurden, wie aus den Versuchen 4 und 5 (Tab. II) hervorgeht. Bei den wässerigen Lösungen traten selbst bei vorsichtigem Verfahren gewisse Unregelmäßigkeiten auf, die sich vielleicht durch verschiedenen Verlauf der Hämolyse und ungleiche Verteilung der Plasmabestandteile erklären lassen. Wie Versuch 3 zeigt, sinkt die katalytische Kraft der wässerigen Blutlösungen beim Aufbewahren viel schneller als die der mit Kochsalzlösung verdünnten.

Im weiteren Verlauf der Arbeit werden wir sehen (siehe Abschnitt III), daß sich der Unterschied zwischen den Verdünnungen mit Wasser und denen mit Kochsalzlösung bei tieferen Temperaturen in noch viel größerem Maße geltend macht.

Die hier gefundenen Verschiedenheiten ließen sich vielleicht

lediglich dadurch erklären, daß in dem einen Falle Hämolyse eingetreten war, im andern nicht. Es war daher noch zu untersuchen, ob die Gegenwart von Chlornatrium, abgesehen von der Verhinderung der Hämolyse, auch sonstigen Einfluß auf die Katalasenreaktion ausübe, etwa ähnlich wie wir es bei der Zersetzung des Wasserstoffsperoxyds durch Licht gefunden haben. Wir stellten die Versuche in der Weise an, daß wir zu je 30 ccm  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Lösung verschiedene Mengen einer  $\frac{4}{1}$ -n-NaCl-Lösung (mit Wasser immer auf 5 ccm ergänzt) hinzufügten) und diese Mischungen dann mit je 10 ccm der Blutverdünnungen mit Wasser und mit physiologischer NaCl-Lösung versetzt 2 Stunden stehen ließen. Zum Vergleich machten wir Parallelversuche mit gleichen Zusätzen einer  $\frac{4}{1}$ -n- $\text{Na}_2\text{SO}_4$ -Lösung. Die dabei erhaltenen Resultate sind in Tabelle III aufgeführt.

In der Tabelle III sind die Salzkonzentrationen in Vielfachen von  $\frac{1}{90}$ -normal angegeben, da sich dieser Wert als gemeinsame Maßeinheit am brauchbarsten erwies. Es ist nämlich zu berücksichtigen, daß das Volumen der Reaktionsgemische je 45 ccm betrug, die zugefügten 5 ccm Salzlösung (durch Zusatz von Wasser immer auf 5 ccm gebracht) also jedesmal auf das 9fache verdünnt wurden. Die 10 ccm physiologischer NaCl-Lösung (0,9%) wurden auf das 4,5fache verdünnt, also 0,2%ig =  $\frac{3}{90}$ -normal. Zu allen Versuchen mit NaCl-Zusatz wurden Proben derselben Blutlösungen verwendet; für die Versuche mit  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  dienten zwei andere Blutlösungen.

Es zeigte sich nun sowohl in den wässrigen Blutlösungen als auch in den Verdünnungen mit physiologischer Kochsalzlösung ein deutlich hemmender Einfluß des Chlornatriums auf die Katalasenwirkung; und zwar macht sich dieser in den wässrigen Blutlösungen stärker geltend. Die Werte für die Konstanten der Reaktionsgeschwindigkeit sinken mit steigendem NaCl-Zusatz und haben in den wässrigen Blutlösungen bei einem Gehalt von  $\frac{40}{90}$ -n-NaCl fast nur noch den halben Wert (0,532 bzw. 0,515) wie ohne Salzzusatz; in den Blutverdünnungen mit physiologischer NaCl-Lösung sinkt der Wert nur auf etwa zwei Drittel (0,661 bzw. 0,685).

Daß Chlornatrium in der wässrigen Blutlösung stärker

Tabelle III.

Einfluß von NaCl und Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> auf die Katalasenwirkung des Blutes in H<sub>2</sub>O und in NaCl-Lösung.

Nr.	Zu- satz ccm	Zusatz von NaCl ( <sup>4</sup> / <sub>1</sub> -n-Lösung)						Zusatz von Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ( <sup>4</sup> / <sub>1</sub> -n-Lösung)								
		Blut in Wasser			Blut in NaCl-Lösung			Blut in Wasser			Blut in NaCl-Lösung					
<sup>4</sup> / <sub>1</sub> -n- Lö- sung	NaCl- Konz.	Titer	Kata- las.- Zahl	100 · k ·	k <sub>x</sub> : k <sub>o</sub>	NaCl- Konz.	Titer	Kata- las.- Zahl	100 · k ·	k <sub>x</sub> : k <sub>o</sub>	Salz- Konz.	Titer	Kata- las.- Zahl	100 · k ·	k <sub>x</sub> : k <sub>o</sub>	
30 ccm H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> - Lösung	—	147,5	—	—	—	—	147,5	—	—	—	—	149,4	—	—	—	
1	0	74,3	14,63	0,2482	1,000	<sup>3</sup> / <sub>90</sub> -n	66,4	16,22	0,2888	1,000	0	56,2	18,64	0,3522	<sup>3</sup> / <sub>90</sub> -n	
2	0,5	<sup>4</sup> / <sub>90</sub> -n	87,4	12,02	0,1894	0,763	<sup>7</sup> / <sub>90</sub> -n	70,3	15,44	0,2682	0,929	<sup>4</sup> / <sub>90</sub> -n	67,2	16,44	0,2891	0,821
3	1,0	<sup>8</sup> / <sub>90</sub> -n	91,4	11,22	0,1732	0,698	<sup>11</sup> / <sub>90</sub> -n	73,6	14,78	0,2516	0,871	<sup>8</sup> / <sub>90</sub> -n	67,3	16,42	0,2886	0,820
4	2,0	<sup>16</sup> / <sub>90</sub> -n	96,9	10,12	0,1521	0,613	<sup>19</sup> / <sub>90</sub> -n	79,2	13,66	0,2251	0,779	<sup>16</sup> / <sub>90</sub> -n	68,1	16,26	0,2844	0,807
5	5,0	<sup>40</sup> / <sub>90</sub> -n	102,4	9,02	0,1321	0,532	<sup>43</sup> / <sub>90</sub> -n	87,0	12,10	0,1911	0,661	<sup>10</sup> / <sub>90</sub> -n	66,6	16,56	0,2924	0,830
6	0	0	74,1	14,68	0,2491	1,000	<sup>3</sup> / <sub>90</sub> -n	68,9	15,72	0,2755	1,000					
7	0,5	<sup>1</sup> / <sub>90</sub> -n	87,3	12,04	0,1898	0,762	<sup>7</sup> / <sub>90</sub> -n	72,5	15,00	0,2570	0,933					
8	1,0	<sup>8</sup> / <sub>90</sub> -n	94,1	10,68	0,1627	0,653	<sup>11</sup> / <sub>90</sub> -n	78,7	13,76	0,2273	0,825					
9	5,0	<sup>40</sup> / <sub>90</sub> -n	103,5	8,80	0,1282	0,515	<sup>43</sup> / <sub>90</sub> -n	87,6	11,98	0,1886	0,685					

hemmend wirkt, tritt noch deutlicher hervor, wenn man die Reaktionsgeschwindigkeitswerte oder auch die Katalasenzahlen bei ungefähr gleichen Salzkonzentrationen (nicht gleichen Zusätzen) vergleicht.

Natriumsulfat wirkt nur in der wässerigen Blutlösung etwas vermindern auf die katalytische Kraft ein; die Reaktionsgeschwindigkeit sinkt nach Zusatz der ersten Salzmenge (0,5 ccm  $\text{Na}_2\text{SO}$ -Lösung) auf etwa  $\frac{8}{10}$  ihres eigentlichen Wertes, bleibt dann aber bei weitersteigender Salzkonzentration ziemlich konstant. In der Blutverdünnung mit physiologischer  $\text{NaCl}$ -Lösung ist sogar eine geringe Steigerung der Katalasenwirkung wahrzunehmen; doch sind die Änderungen so klein, daß man kaum mit Bestimmtheit Schlüsse daraus ziehen kann.

Das Ergebnis dieser Versuche ist also, daß das Chlorid, d. h. das Chlor-Ion, ebenso wie auf die Lichtkatalyse so auch auf die Katalasetätigkeit des Blutes hemmend einwirkt, während das Sulfat-Ion fast wirkungslos ist.

G. Senter,<sup>1)</sup> welcher mit verdünnten wässerigen Lösungen (1 : 3000) des aus dem Blute (durch Alkoholfällung usw.) isolierten Enzyms und mit sehr verdünnten  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Lösungen (0,06% und noch verdünnteren) arbeitete, fand ebenfalls, daß die Halogenide einen erheblich verzögernden Einfluß auf die Katalasenwirkung ausübten, die Alkalisulfate dagegen, wie die meisten anderen Salze fast wirkungslos waren.

Nur die Nitrate und Chlorate erwiesen sich als noch bedeutend stärkere Katalasengifte. Senter vermutet, daß die Halogen-Ionen mit dem Wasserstoffsperoxyd in der Weise reagieren, daß sie es gegen Zersetzung widerstandsfähiger machen, und daß die hemmende Wirkung der Nitrate und Chlorate auf Oxydation des Ferments beruhe.

Früher wurde bereits von J. Jacobson<sup>2)</sup> konstatiert, daß die zersetzende Wirkung des Emulsins und des Pankreasferments (nach den heutigen Anschauungen also der in diesen enthaltenen Katalasen) auf Wasserstoffsperoxyd durch Alkali- und Erd-

---

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. physikal. Chemie, Bd. XLIV (1903), S. 303; Bd. LI (1905), S. 682.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XVI (1892), S. 353.

alkalichloride beeinträchtigt wird. Cl. Fermi und L. Pernossi<sup>1)</sup> beobachteten andererseits einen konservierenden Einfluß des Natriumchlorids auf die Lösungen von Trypsin und Pepsin.

G. Bredig und R. Müller von Berneck<sup>2)</sup> machten bei der Wasserstoffsuperoxydkatalyse durch kolloidales Platin ähnliche Erfahrungen wie J. Jacobson und G. Senter.

## II. Einwirkung von Eisensalzen.

Wie schon seit langem bekannt und wohl zuerst von Spring<sup>3)</sup> eingehender untersucht ist, wirken Eisensalze schon in geringen Konzentrationen stark katalytisch zersetzend auf Wasserstoffsuperoxyd ein, und zwar soll nach Springs Annahme das durch Hydrolyse des gelösten Neutralsalzes entstehende Eisenhydroxyd der wirksame Katalysator sein. G. Bredig<sup>4)</sup> konstatiert, daß nicht etwa die frisch gefällte oder das kolloidal gelöste Eisenhydroxyd die katalytisch wirksamste Form der Eisenverbindungen ist (die käufliche kolloidale Eisenhydroxydlösung war sogar am unwirksamsten), sondern die nahezu neutrale Lösung der Ferrisalze. Nach Bredigs Annahme ist eine besonders in neutraler Lösung sich bildende Verbindung des Wasserstoffsuperoxyds mit dem Eisen bzw. dem Eisenhydroxyd (eine Art basisches Superoxydsalz) als wirksames Prinzip anzusehen. J. Duclaux<sup>5)</sup> glaubte dagegen aus seinen Versuchen den Schluß ziehen zu müssen, daß nicht das durch Hydrolyse entstehende basische Kolloid katalytisch wirke, sondern das nicht hydrolysierte Eisen-Ion. Welche Rolle das Eisen als Sauerstoffüberträger bei verschiedensten Reaktionen spielt, ist in letzter Zeit besonders von W. Manchot<sup>6)</sup> eingehend untersucht.

---

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh., Bd. XVIII (1894), S. 89.

<sup>2)</sup> Zeitschrift f. physikal. Chem., Bd. XXXI (1899), S. 309.

<sup>3)</sup> Bull. d. l'Acad. roy. de Belg. (3), Bd. XXX (1895), S. 32.

<sup>4)</sup> Zeitschrift f. physikal. Chem., Bd. XXXI (1899), S. 279 ff.

<sup>5)</sup> Compt. rend. de l'Acad. des Sc., Bd. CXLV (1907), S. 802.

<sup>6)</sup> Zeitschrift f. anorgan. Chem., Bd. XXVII (1901), S. 397 u. 420; Berichte d. d. chem. Ges., Bd. XXXIV (1901), S. 2479; Liebigs Annal., Bd. CCCXXV (1902), S. 93 u. 105.

Schönbein<sup>1)</sup> selber hatte bereits die Ansicht geäußert, daß die Katalase- und Oxydasewirkungen des Blutes in engstem Zusammenhang mit dem Eisengehalt des Hämoglobins stehe, und R. W. Raudnitz<sup>2)</sup> glaubte die zersetzende Wirkung des Hämoglobins nicht einem Enzym, sondern dem Eisengehalt zuschreiben zu müssen. Inzwischen ist nun von G. Senter<sup>3)</sup> nachgewiesen, daß das Hämoglobin selber katalytisch unwirksam ist, daß die genannten Wirkungen vielmehr einem besonderen organischen Enzym der «Hämase» (oder nach Loew «Katalase») zugeschrieben werden müssen. Trotzdem läßt sich die Annahme nicht von der Hand weisen, daß der Eisengehalt des Blutes bei den Oxydationsvorgängen vielleicht auch eine gewisse Rolle spielt. Wir hielten es daher für angezeigt, den Einfluß von Eisensalzen auf die Wirksamkeit der Katalase zu untersuchen. Hierzu benutzten wir Lösungen von Ferroammon-sulfat, Ferriammonsulfat und Ferrichlorid, die auf einen Gehalt von 1 mg Eisen im Kubikzentimeter verdünnt waren. Von diesen Lösungen wurden wechselnde Mengen zu je 10 ccm Blutlösung (1 : 1000 in Wasser, bzw. in NaCl-Lösung) hinzugefügt, das Gemisch umgeschüttelt und eine Viertelstunde stehen gelassen. Nach dieser Inkubationszeit (deren Dauer nicht von besonderem Einfluß ist) wurden 30 ccm der 1%igen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Lösung zugesetzt und wieder umgeschüttelt. Wie auch in den anderen Fällen ließen wir die Reaktion 2 Stunden an einem vor Licht geschützten Orte bei etwa 20° vor sich gehen, versetzten dann mit verdünnter Schwefelsäure und titrierten.

Unter den gleichen Bedingungen ließen wir dieselben Mengen der Eisenlösungen allein auf Wasserstoffsperoxyd einwirken, um deren katalytische Kraft mit derjenigen des Blutes zu vergleichen, wozu natürlich Kontrollproben von Blut ohne Eisenzusatz angesetzt wurden. Die dabei gewonnenen Resultate sind in der Tabelle IV aufgeführt. Die Zahlen bedeuten die in der oben näher erläuterten Art berechneten Katalasen-

---

<sup>1)</sup> Journ. f. prakt. Chem., Bd. LXXV (1858) S. 81, Bd. LXXXIX (1863), S. 38.

<sup>2)</sup> Zeitschrift f. Biologie, Bd. XLII (1901), S. 91.

<sup>3)</sup> Zeitschrift f. physikal. Chem., Bd. XLIV (1903), S. 271 u. f.

zahlen; auch die durch Eisenlösung allein bewirkte Zersetzung ist durch Katalasenzahlen ausgedrückt, die dann also mit anderen Worten die Anzahl Zentigramme zersetzten Superoxyds angeben.

Tabelle IV.

Einwirkung von Eisensalzen auf  $H_2O_2$ -Lösungen und auf die Katalase des Blutes in Wasser und in NaCl-Lösung (2 Stunden).

Nr.	mg Fe	Katalasenzahlen bei Zusatz von											
		Ferroammon- sulfat			Ferriammonsulfat						Ferrichlorid		
		$H_2O_2$ allein	mit Blut in $H_2O$	Blut in NaCl	$H_2O_2$ allein	mit Blut in $H_2O$	mit Blut in NaCl	$H_2O$ allein	mit Blut in $H_2O$	Blut in NaCl	k	l	m
a	b	c	d	e	f	g	h	i	k	l	m		
1	0	0	22,4	21,9	0	0	24,4	21,5	18,1	18,6	0	17,8	18,2
2	0,2	1,1	18,2	10,2	1,4	1,6	14,0	2,5	12,3	1,6	1,2	13,9	5,7
3	0,4	—	—	—	—	—	—	—	4,6	1,0	—	12,7	1,0
4	0,5	1,5	14,5	4,4	3,1	3,1	6,2	1,3	—	—	4,3	11,9	1,2
5	0,6	—	—	—	—	—	—	—	4,2	1,5	—	11,0	1,3
6	0,8	—	—	—	—	—	—	—	4,0	1,9	—	10,2	2,0
7	1,0	3,0	10,2	2,9	6,6	6,0	5,2	2,9	4,7	3,4	7,5	10,4	3,9
8	2,0	5,0	9,1	2,5	13,8	14,7	11,5	7,6	—	—	18,7	—	—
9	5,0	10,1	12,0	4,6	21,6	20,3	18,5	15,6	—	—	27,0	—	—

Aus dieser Tabelle geht folgendes hervor: Von den drei untersuchten Eisensalzen wirkt das Ferroammonsulfat (a) am wenigsten, das Ferrichlorid (k) am stärksten (bei gleicher Fe-Konzentration) zersetzend auf Wasserstoffsuperoxyd ein. Die Wirkung wächst mit steigender Eisenkonzentration. Während W. Manchot und O. Wilhelms<sup>1)</sup> angeben, daß das Ferrisalz langsamer zersetzend auf Wasserstoffsuperoxyd wirke als Ferri-salz, fanden wir hier das Umgekehrte: bei gleicher Fe-Konzentration sind die Katalasenzahlen des Ferrisalzes in allen Fällen größer als die des Ferrosalzes. Wie schon Spring und auch Bredig beobachteten, wird die Farbe der Eisensalzlösung auf Zusatz von  $H_2O_2$  dunkler, was wahrscheinlich auf

<sup>1)</sup> Berichte d. d. chem. Ges., Bd. XXXIV (1901), S. 2486.

der Bildung einer basischen  $H_2O_2$ -Verbindung (dem eigentlichen Katalysator) beruht. Auch die Ferrosalzlösung färbt sich gelbbraun und trübt sich alsbald infolge des Mangels an Säure für die entstehende Ferribase, während die Ferrisalzlösungen klar bleiben.

Beim Zusammentreffen der Eisen- und Blutlösungen tritt nun eine eigenartige Erscheinung ein: die zersetzenden Wirkungen addieren sich nicht, sondern schwächen sich gegenseitig ab. Diese Schwächung erreicht bei gewissen Fe-Konzentrationen ein Maximum und nimmt dann wieder ab. Dabei wird das Blut in NaCl-Lösung viel stärker gehemmt (die Katalasenzahlen sinken auf 2,5 (c), 1,3 (g) bis 1,0 (i, m)) als in wässriger Lösung (niedrigste Werte: 9,1 (b), 5,2 (f), 4,0 (h), 10,2 (l)).

Man kann also durch passenden Eisenzusatz die Katalasewirkung des Blutes fast ganz aufheben, man kann die Blutkatalase gewissermaßen mit Eisenlösung titrieren, wie eine Säure mit einer Base. Und zwar entsprechen Bruchteile eines Milligramms Eisen 10 mg Blut (in 10 ccm einer Lösung 1:1000). Wird über diesen Neutralpunkt hinaus mehr Eisen hinzugefügt, so nimmt die katalytische Wirkung mit steigendem Zusatz wieder zu. Auch wenn man zunächst Blut und  $H_2O_2$ -Lösung zusammenbringt und nachträglich die entsprechende Menge Eisensalz zusetzt, kann man eine starke Hemmung beobachten.

Da man sich das Katalasenzym sowohl wie die katalytisch wirkende basische Eisenverbindung als Kolloide vorzustellen hat, so wird man den Grund für die eigenartige Erscheinung der gegenseitigen Hemmung in kolloidalen Vorgängen zu suchen haben. Am einfachsten würde man sich die Sache wohl folgendermaßen erklären:

Die Katalase ist, wie alle natürlichen Eiweißkörper,<sup>1)</sup> ein elektronegatives Kolloid, die basische Eisenverbindung aber wie das kolloidale Eisenhydroxyd elektropositiv. Treffen diese beiden entgegengesetzt geladenen Kolloide nun zusammen, so bilden sie eine Adsorptionsverbindung, sie flocken sich gegen-

---

<sup>1)</sup> Siehe W. Pauli, Hofmeisters Beiträge zur chem. Phys. u. Pathol., Bd. VII (1906), S. 531.

seitig aus, wie z. B. eine kolloidale Lösung von Benzopurpurin durch kolloidales Eisenhydroxyd ausgefällt wird. Aus den Untersuchungen von H. Picton und S. E. Linder,<sup>1)</sup> A. Lottermoser<sup>2)</sup> und namentlich von J. Billitzer<sup>3)</sup> und von W. Biltz<sup>4)</sup> geht hervor, daß sowohl bei organischen, wie auch bei anorganischen Kolloiden und bei Gemischen beider Arten nur dann gegenseitige Ausflockung eintritt, wenn die beiden Kolloide entgegengesetzt elektrisch geladen sind, bei der Kataphorese also an entgegengesetzte Pole wandern. Und zwar zeigen sich dabei bestimmte quantitative Gesetzmäßigkeiten, indem nur dann vollständige Fällung eintritt, wenn das Mengenverhältnis der Kolloide dem umgekehrten Verhältnis ihrer elektrischen Ladungen gerade entspricht. Werden die für das Fällungsoptimum erforderlichen Mengenverhältnisse geändert, wird von dem zweiten Kolloid also zu wenig oder zu viel genommen, so wird die Ausflockung gehemmt oder ganz gehindert (also auch durch Überschuß). Die Kolloide bleiben dann im Solzustande nebeneinander in der Lösung. Die stöchiometrischen Verhältnisse sind eben bei den kolloidalen Stoffen von komplizierterer Art, da es sich hier nicht um einfache chemische Reaktionen handelt, sondern (außerdem) um physikalische Vorgänge, für die der Oberflächenzustand in erster Linie maßgebend ist.

In letzter Zeit ist auch von anderer Seite die Beeinflussung von Fermenten durch Kolloide untersucht worden. So ließen M. Ascoli und G. Izar<sup>5)</sup> verschiedene Kolloide auf die Leberautolyse einwirken; sie fanden bei kolloidalem Silber, Gold und Platin erhebliche Beschleunigung, bei Eisenhydroxyd in ganz geringen Mengen ebenfalls eine Verstärkung (0,1 mg Fe auf 20 g Leberbrei); bei großen Mengen aber trat Hemmung

---

<sup>1)</sup> Journ. of the Chem. Soc., Bd. LXXI (1897), S. 568.

<sup>2)</sup> Lottermoser, Anorganische Kolloide (Ahrens'sche Sammlung 1901), S. 76.

<sup>3)</sup> Zeitschrift f. physikal. Chem., Bd. XLV (1903), S. 327; Bd. LI (1905), S. 129.

<sup>4)</sup> Berichte d. d. chem. Ges., Bd. XXXVII (1904), S. 1095.

<sup>5)</sup> Biochem. Zeitschr., Bd. V (1907), S. 394; Bd. VI (1907) S. 192; ferner: Bd. X (1908), S. 356 u. Bd. XIV (1908), S. 491.

auf. Gleiches Verhalten zeigte Aluminiumhydroxyd, und in ähnlicher Weise wirkten auch negative Kolloide, wie Arsentrisulfid und Mangandioxyd.

L. Pincussohn<sup>1)</sup> untersuchte den Einfluß verschiedener kolloidaler Metalle, sowohl solcher mit Schutzkolloiden als auch durch elektrische Zerstäubung hergestellter, auf die Pepsinverdauung und fand in fast allen Fällen eine hemmende Wirkung, die mit fallender Konzentration abnahm, aber nie in eine Begünstigung umschlug. Ganz besonders stark hemmend wirkte Eisenhydroxyd.

Neuerdings haben A. Gigon und T. Rosenberg<sup>2)</sup> gefunden, daß geringe Mengen von Mangan- und Eisensulfat auf das diabetische Ferment des Blutserums in bedeutend verstärkendem Sinne wirken; ebenso auf das amylolytische Ferment des Pankreassaftes. Aus dem Referat (das Original war uns leider nicht zugänglich) geht nicht hervor, mit welchen Verdünnungen diese Forscher gearbeitet haben. Vielleicht wird man bei vorsichtiger Dosierung auch hier ein Hemmungsoptimum finden können. Die Verhältnisse sind bei diesen Versuchen allerdings anders, da den Lösungen Stärkekleister zugefügt wurde, ebenfalls ein Kolloid, welches wieder «schützend» oder in irgend einer Weise modifizierend wirken kann.

### III. Einwirkung der Temperatur.

Von G. Senter<sup>3)</sup> ist der Einfluß der Temperatur auf die Katalase-(Hämase-)Reaktion durch genaue Messungen untersucht. Er fand für das Intervall von 0°—10° einen Temperaturkoeffizienten von 1,5, eine Zahl, die dem von G. Bredig<sup>4)</sup> für die Platinkatalyse gefundenen Werte (1,7) fast gleichkommt. Senter wendete für seine Versuche das Wasserstoffsperoxyd in einer Verdünnung von  $\frac{1}{200}$  molar = 0,009% an, um die oxydierende

<sup>1)</sup> Biochem. Zeitschr., Bd. VIII (1908), S. 387.

<sup>2)</sup> Skand. Arch. f. Physiol., Bd. XX (1908), S. 423; Referat: Chem. Zentralbl. 1908, Bd. II, S. 84.

<sup>3)</sup> Zeitschrift f. physikal. Chem., Bd. XLIV (1903), S. 291.

<sup>4)</sup> Zeitschrift f. physikal. Chem., Bd. XXXI (1899), S. 320.

Wirkung auf das Enzym auszuschließen, welche sich bei Konzentrationen über  $\frac{1}{80}$  molar schon sehr bemerklich machte. Nur beim Arbeiten mit entsprechend verdünnten Lösungen konnte er Resultate erzielen, welche (von einigen Abweichungen abgesehen) dem Massenwirkungsgesetze entsprachen. Ob über  $10^{\circ}$  hinaus, bzw. bis zu welcher Temperatur ein regelmäßiges Ansteigen der Katalasenwirkung stattfindet, hat Senter nicht untersucht.

Für die zur Bestimmung der Katalasenzahlen in Betracht kommenden Konzentrationen (1 %  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Lösung mit  $\frac{1}{3}$  Volumen Blutlösung verdünnt, also in der Mischung = 0,75 %  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) ist der Einfluß der Temperatur auf den Verlauf der Reaktion bisher noch nicht durch quantitative Messungen erfolgt. Die oxydierende Wirkung des Wasserstoffsuperoxyds macht sich bei dieser Konzentration schon in störender Weise bemerkbar. Bei höheren Temperaturen wird außerdem das Enzym an und für sich merklich geschwächt. So fand Senter (l. c. S. 293), daß die Wirksamkeit der «Hämase» bei  $45^{\circ}$  nach 3 Stunden auf 60 %, bei  $55^{\circ}$  nach 2 Stunden auf 5 % gesunken ist und bei  $65^{\circ}$  binnen 15 Minuten vollständig vernichtet wird. Es ist also von vornherein anzunehmen, daß die Wirkung der Blutlösung auf 1 %ige  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Lösung mit steigender Temperatur nicht dauernd anwachsen, sondern durch ein Maximum gehen und dann allmählich durch die zerstörenden Wirkungen der Wärme und des Superoxyds wieder abnehmen werde. Ad. Jolles<sup>1)</sup> schreibt auch bereits vor, die Katalasenreaktion bei etwa  $15^{\circ}$  auszuführen; geringe Temperaturschwankungen hätten nur wenig Einfluß, dagegen ergäben viel tiefere und viel höhere Temperaturen ganz verschiedene Resultate.

Wir stellten die Versuche in der Weise an, daß wir je 10 ccm der Blutlösung (in Kochsalzlösung und auch in Wasser), auf die betreffende Temperatur vorgewärmt, mit je 30 ccm einer 1 %igen  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Lösung (gleichfalls vorgewärmt) im Jenenser Erlenmeyer-Kolben zusammenbrachten, im Thermostaten und Dunkelzimmer bestimmte Zeit stehen ließen, dann mit verdünnter

<sup>1)</sup> Fortschritte der Medizin, Bd. XXII (1904), S. 1231. Zeitschrift f. analyt. Chem., Bd. XLIV (1905), S. 4.

Tabelle Va.  
Katalasenreaktion des Blutes in NaCl-Lösung bei verschiedenen Temperaturen.

Serie Nr.	Zeit in Mi- nuten	Bei 0°		Bei 10°		Bei 20°		Bei 30°		Bei 40°		
		Kata- lasen- zahl	100 · k · 0,4343	Kata- lasen- zahl	100 · k · 0,4343	Kata- lasen- zahl	100 · k · 0,4343	Kata- lasen- zahl	100 · k · 0,4343	Kata- lasen- zahl	100 · k · 0,4343	
		Temp. Koeffiz. k <sub>10</sub> : k <sub>0</sub>		Temp. Koeffiz. k <sub>20</sub> : k <sub>10</sub>		Temp. Koeffiz. k <sub>30</sub> : k <sub>20</sub>		Temp. Koeffiz. k <sub>40</sub> : k <sub>30</sub>				
A.	1	5,90	0,310	8,44	0,467	9,70	0,552	1,181	0,392	0,710	0,152	0,389
	2	7,54	0,131	11,66	0,229	11,42	0,125	0,547	0,024	0,191	—	—
	3	11,76		16,36	0,210	12,90	0,059	0,281	0,004	0,065	3,46	0,008
B.	4	7,24	0,794	8,76	0,993	10,90	1,297	1,307	1,377	1,061	0,814	0,592
	5	10,18	0,397	13,22	0,676	15,18	0,727	1,075	0,120	0,165	—	—
	6	15,08	0,407	18,66	0,691	19,74	0,525	0,759	0,033	0,062	—	—
	7	21,54	0,404	25,12	0,530	22,32	0,206	0,388	0,014	0,069	—	—
	8	24,98	0,368	27,98	0,603	24,18	0,196	0,324	0,004	0,022	7,32	—

Tabelle Vb.

Katalasenreaktion des Blutes in NaCl-Lösung bei verschiedenen Temperaturen.

Serie	Nr.	Zeit in Minuten	Bei 10°		Bei 15°		Bei 20°		Bei 25°		Bei 37°	
			Kata- lasen- zahl	100 · k · 0,4343								
C.	9	10	7,80	1,268	8,96	1,493	10,10	1,726	9,38	1,577	10,54	1,824
	10	20	11,00	0,651	12,70	0,816	14,14	0,943	13,64	0,963	12,88	0,502
	11	60	21,36	0,804	21,88	0,771	22,06	0,703	18,28	0,344	12,96	0,0001
	12	120	27,10	0,678	21,96	0,621	25,80	0,411	18,46	0,0001	13,14	0,0001
	13	180	29,06	0,546	28,70	0,460	27,32	0,271	18,78	0,0002	13,18	0,0000

Schwefelsäure versetzten und titrierten. (Tab. Va und Vb, Tab. VIa: D.) Bei einigen Serien verfahren wir auch derart, daß wir nicht jedesmal die ganze Menge der einzelnen Katalasemischungen zur Titration benutzten, sondern (Tab. VIa: E; VIb: Fa und Ga) in größeren Gefäßen die doppelten Mengen (20 ccm Blut + 60 ccm  $H_2O_2$ -Lösung) ansetzten und zu bestimmten Zeiten 20 ccm herausnahmen; je ein Kontrollversuch (b), in der gewohnten Weise angesetzt, blieb dann bis zum Schluß stehen. Innerhalb der einzelnen Serien (A, B usw.) wurden immer für die verschiedenen Versuche dieselben Blutlösungen benutzt.

Einzelne Proben von je 10 ccm  $H_2O_2$ -Lösung wurden bei den entsprechenden Temperaturen die gleiche Zeit über gehalten, alsdann der Titer bestimmt und dieser Wert bei der Berechnung der Katalasenzahlen und der Reaktionsgeschwindigkeits-Konstanten (hier allerdings durchaus nicht konstant) zugrunde gelegt.

Aus den in den Tabellen Va und Vb aufgeführten Versuchen geht folgendes hervor:

Innerhalb der ersten halben Stunde ist ein Ansteigen der Reaktionsgeschwindigkeit mit steigender Temperatur von  $0^\circ$  bis zu  $20$ — $25^\circ$  zu bemerken; bei höherer Temperatur nimmt sie schnell ab. In der zweiten halben Stunde geht die Steigerung nur bis zu  $10^\circ$ , und bei diesen Temperaturen ( $0$ — $10^\circ$ ) bleibt die Reaktionsgeschwindigkeit dann innerhalb dreier Stunden ziemlich konstant. Am größten ist sie immer in den ersten  $10$ — $15$  Minuten. Innerhalb dieser Zeit tritt auch bei den höheren Temperaturen (bis zu  $40^\circ$ ) eine gewisse Katalasewirkung ein; dann ist aber die Wirksamkeit so gut wie vernichtet unter dem doppelten Einfluß der Wärme und der oxydierenden Superoxydwirkung. Für die Temperaturdifferenz von  $0$  bis  $10^\circ$  berechnen sich die Temperaturkoeffizienten (Tab. Va) zu  $1,507$ — $1,689$  (A), bzw. zu  $1,250$ — $1,702$  (B), also ungefähr gleich dem von G. Senter bei viel größeren Verdünnungen gefundenen Werte ( $1,5$ ). Die Temperaturkoeffizienten für das Intervall  $10^\circ$ — $20^\circ$  haben nur für die ersten  $30$  Minuten einen Wert, der größer als  $1$  ist, alle anderen zeigen, wie sich schon aus den vorhergehenden Erörterungen ergibt, eine Abnahme der Reaktionsgeschwindigkeit an. Als Temperaturoptimum für die Katalasenreaktion in

den von Jolles vorgeschlagenen Konzentrationen würden wir also  $10^0$  zu bezeichnen haben.

Der bequemeren Übersichtlichkeit halber sind die Katalasenzahlen für die Serien B und C in den Kurvenbildern Fig. 1 graphisch dargestellt. In den Kurvenbildern a und c sind die Zeiten als Abszissen und die Katalasenzahlen als Ordinaten aufgetragen, so daß die einzelnen Kurven den Verlauf der Reaktion bei bestimmter Temperatur angeben. Die Kurve für  $10^0$  erreicht in beiden Fällen die größte Höhe. In den Kurvenbildern b und d bedeuten die Abszissen die Temperaturen, die Ordinaten wiederum die Katalasenzahlen, und die einzelnen Kurven zeigen den Stand der Reaktion nach bestimmtem Zeitverlauf bei verschiedenen Temperaturen. Die Kurvenhöhe verschiebt sich mit zunehmender Zeit immer mehr nach der Temperatur von  $10^0$ .

Um den Einfluß des Verdünnungsmittels (Wasser oder NaCl-Lösung) auf die Katalasenreaktion des Blutes bei verschiedenen Temperaturen zu prüfen, stellten wir weiter Versuche an, deren Resultate in den Tabellen VIa und VIb aufgeführt sind. Für die Serien D und E (Tab. VIa) sind außer den Katalasenzahlen auch wieder die Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten berechnet, und zwar sowohl ( $k_1, k_3, k_5, k_7, k_9$ ) für die einzelnen Zeitintervalle (0—15 Min., 15—60 Min., 60—120 Min. usw.), als auch für ( $k_2, k_4, k_6, k_8$ ) für die Gesamtreaktionsdauer. Es zeigte sich, daß bei Temperaturen bis zu  $20^0$  die Reaktion in wässriger Lösung viel schneller verläuft als in der Verdünnung mit NaCl-Lösung. Besonders bei  $0^0$  ist der Unterschied sehr groß; die Reaktionskonstante der wässrigen Lösung übertrifft die der NaCl-Lösung um das Drei- bis Vierfache.

Die Temperaturkoeffizienten, aus den Reaktionskonstanten für die Gesamtreaktionsdauer berechnet, haben für die Temperaturdifferenz 0— $10^0$  Werte zwischen 1,865 und 1,199.

Die Temperaturkoeffizienten für die Intervalle  $10—20^0$  und  $20—30^0$  sind mit einer Ausnahme (NaCl-Lösung der Serie E für  $10—20^0$ ) kleiner als 1.

Bei  $37^0$  ist die Reaktion nach 10 Minuten schon zum Stillstand gekommen, und ebenso natürlich bei noch höheren Temperaturen ( $50^0$  Tab. VIb).

Daß bei der Temperatur des lebenden Körpers die Katalase so schnell vernichtet wird, erscheint auf den ersten Blick wider-

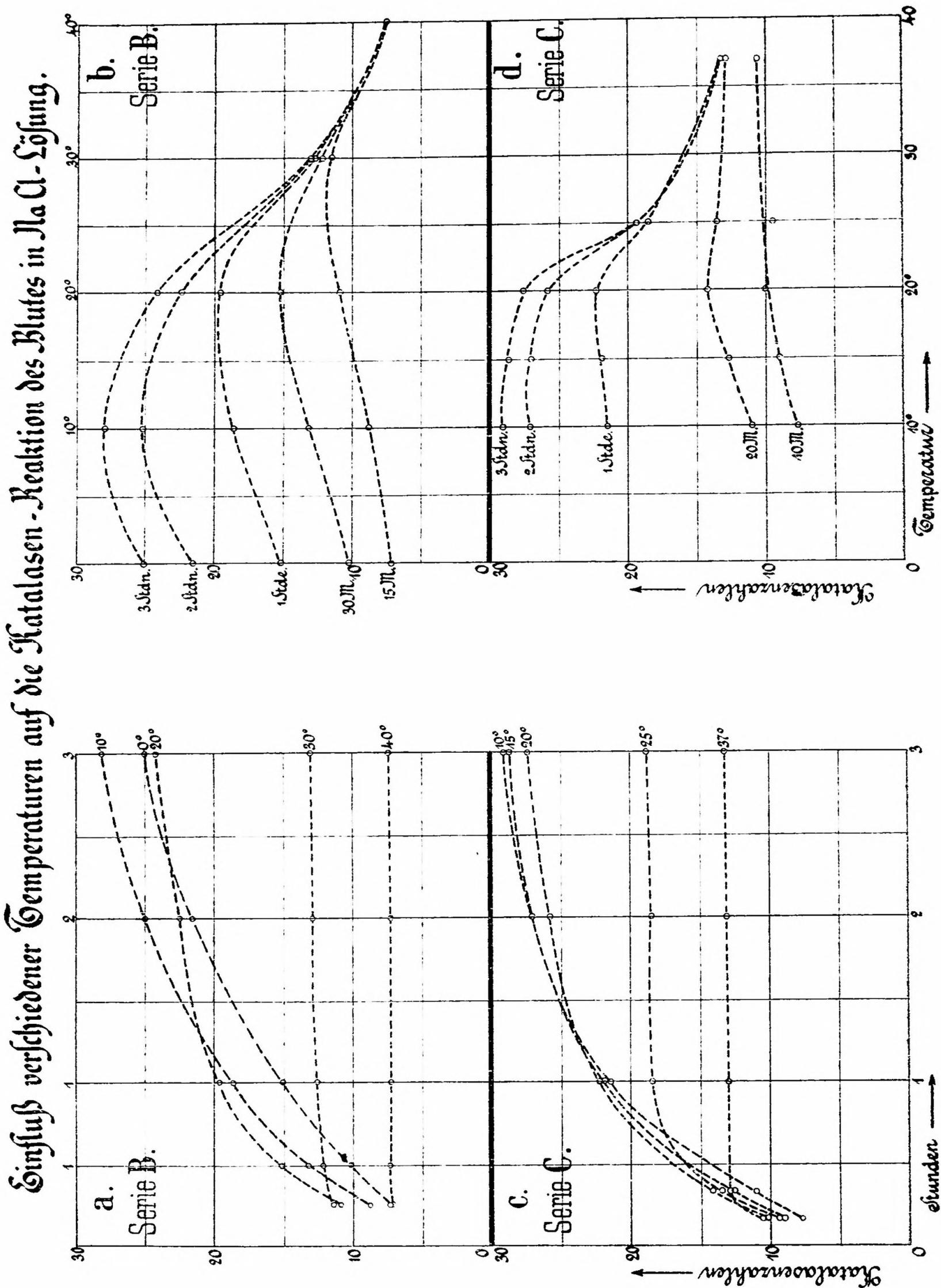


Fig. 1.

spruchsvoll. Hierbei ist jedoch zu berücksichtigen, daß im kreisenden Blute ganz andere Bedingungen herrschen als bei diesen Versuchen, in denen das Blut auf das Tausendfache ver-

Tabelle VIa.

Katalasenreaktion des Blutes in Wasser und in NaCl-Lösung bei verschiedenen Temperaturen.

Serie	Nr.	Zeit in Min.	Bei 0°		Bei 10°		Temp. Koeffiz. $k_4:k_2$	Bei 20°		Temp. Koeffiz. $k_6:k_4$	Bei 30°		Temp. Koeffiz. $k_8:k_6$	Bei 37°		
			Kata- lasen- zahl	$100 \cdot k_1$	Kata- lasen- zahl	$100 \cdot k_3$		Kata- lasen- zahl	$100 \cdot k_5$		Kata- lasen- zahl	$100 \cdot k_7$		Kata- lasen- zahl	$100 \cdot k_9$	
D.	14 15 16	15	16,32	2,274	19,78	3,007	1,865	22,00	3,827	13,90	1,802	0,174	—	—	—	
		60	27,96	1,837	30,00	3,834		29,36	0,215	14,68	0,048		—	—	—	
		120	29,98	0,168	30,00	—		29,38	—	14,68	—		—	—	—	
	14 15 16	in NaCl-Lösg.	15	9,98	1,171	8,88	1,016	1,706	12,56	1,570	13,24	1,686	0,745	—	—	—
			60	15,64	0,321	21,48	0,876		23,70	0,983	14,48	0,074		—	—	—
			120	22,78	0,498	27,36	0,848		24,92	0,156	14,50	—		—	—	—
E.	17 18 19 20	in Wasser	10	9,60	1,683	9,88	1,744	1,621	11,40	2,087	—	—	—	6,12	0,995	
			30	13,72	0,493	17,56	1,052		16,62	0,721	—	—		5,94	—	
			75	20,60	0,544	26,96	1,389		18,66	0,165	—	—		6,26	—	
	17 18 19 20	in NaCl-Lösung	10	6,32	1,032	6,36	1,039	1,199	7,80	1,314	—	—	—	6,44	1,054	
			30	8,64	0,225	10,36	0,405		12,28	0,492	—	—		6,70	—	
			75	13,00	0,222	16,40	0,357		17,10	0,311	—	—		6,64	—	
120	14,76	0,106	16,68	0,020	18,06	0,079	—	—	—	—	6,60	—				

Tabelle VIb.

Katalasenreaktion des Blutes in Wasser und in NaCl-Lösung bei verschiedenen Temperaturen.

Serie	Nr.	Zeit in Minuten	Bei 0°		Bei 10°		Bei 15°		Bei 20°		Bei 30°		Bei 50°	
			Katalasen- zahlen in H <sub>2</sub> O	in NaCl										
F.	22	10	15,88	7,68	—	—	—	—	16,20	9,56	10,32	10,40	3,56	3,40
	23	30	23,08	10,16	—	—	—	—	21,70	12,82	10,74	10,14	2,28	2,52
	24	60	25,44	11,12	—	—	—	—	22,30	14,10	10,60	9,96	0,84	0,96
	25	120	28,36	17,44	—	—	—	—	22,32	21,04	10,60	—	3,40	1,88
	26	120	30,28	16,76	—	—	—	—	23,00	21,80	10,90	11,86	0,0	0,28
G.	27	13	18,80	11,12	18,80	12,76	19,48	12,44	19,72	14,08	—	—	—	—
	28	30	25,80	12,08	24,76	14,88	24,76	16,88	21,00	16,16	—	—	—	—
	29	60	27,28	15,20	26,72	18,60	27,48	19,28	21,52	18,38	—	—	—	—
	30	120	28,76	16,28	27,96	23,76	28,40	22,52	20,88	21,20	—	—	—	—
	31	120	28,76	15,40	28,64	—	27,76	22,56	19,40	17,80	—	—	—	—

dünnt mit verhältnismäßig stark konzentrierter Superoxydlösung zusammengebracht wird, ganz abgesehen davon, daß in vivo eine fortwährende Regeneration der Fermente stattfindet.

Die Kurvenbilder e und f (Fig. 2) zeigen den Verlauf der Katalasenreaktion der Serien E und G. Die Kurven für die wässerigen Lösungen sind voll ausgezogen, diejenigen für die Kochsalzverdünnungen gestrichelt gezeichnet. Die 20°-Kurven treffen sich nach zweistündigem Verlauf ungefähr im selben Punkt, während die übrigen Kurven verschieden endigen. Hält man also bei den Reaktionen die Temperatur nicht genau inne, so kann man für dieselbe Blutprobe bald in wässriger Lösung, bald in Kochsalzverdünnung einen höheren Katalasenwert erhalten.

Die besonders bei tieferen Temperaturen hervortretende größere Wirksamkeit der wässrigen Blutlösung ist jedenfalls darauf zurückzuführen, daß das Enzym durch die Hämolyse gleichmäßiger in der Lösung verteilt wird und so besser zur Wirkung kommen kann.

Aus demselben Grunde ist es dann aber auch den zerstörenden Einflüssen höherer Temperaturen stärker ausgesetzt; bei 20° z. B. ist die Katalase nach 30–60 Minuten schon wirkungslos, während die Reaktion in der Kochsalzverdünnung anfangs zwar langsamer verläuft, dann aber viel länger anhält.

Einige Beispiele für den Einfluß der Aufbewahrung der Blutlösungen bei verschiedenen Temperaturen gibt Tabelle VII.

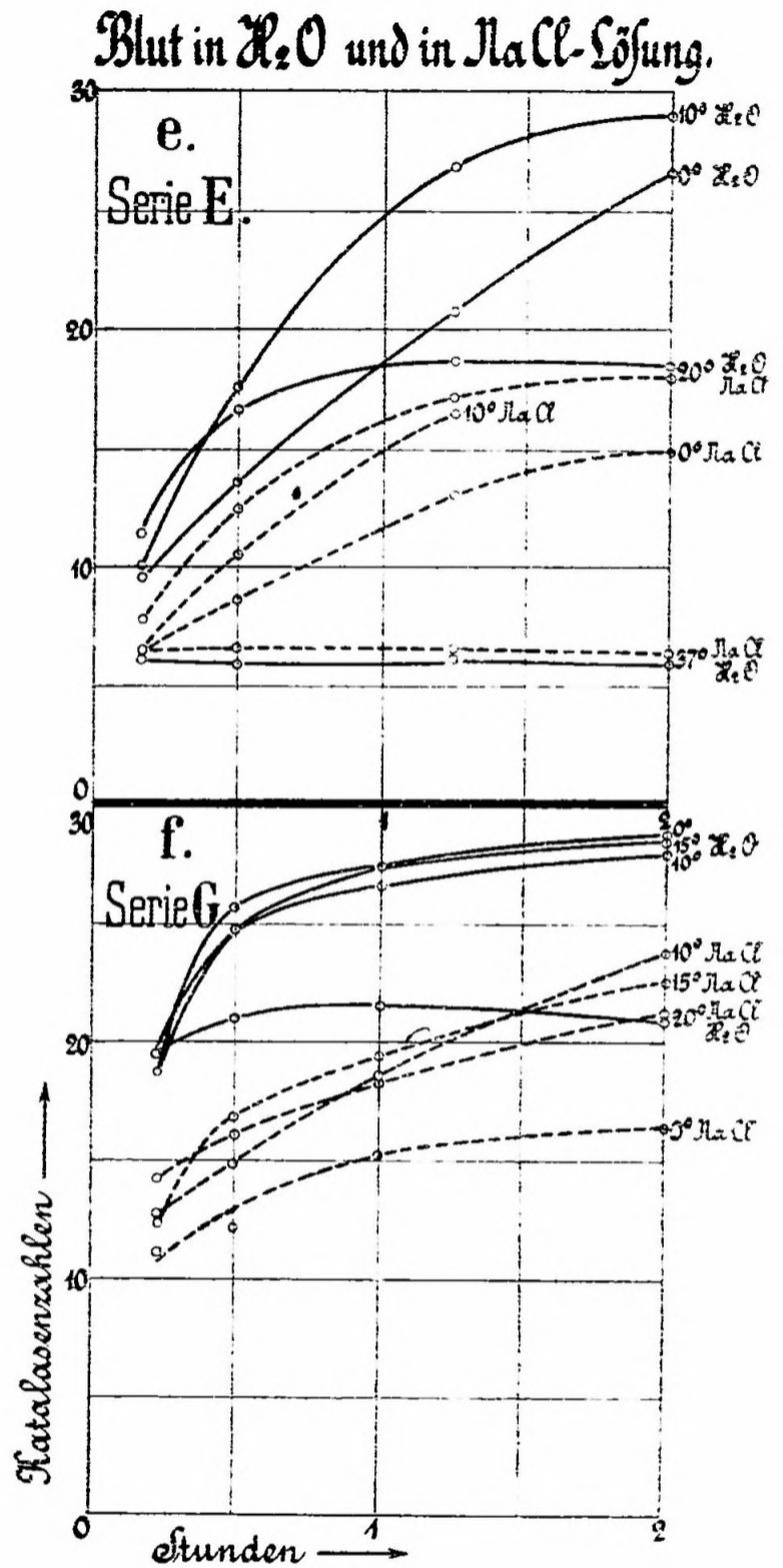


Fig. 2.

Tabelle VII.

Einfluß verschiedener Temperaturen, während der Aufbewahrung auf die Katalase des Blutes in Wasser und in NaCl-Lösung.

Serie	Nr.	Aufbewahrung	Reaktion 2 Stunden bei							
			0°		20°		37°			
			H <sub>2</sub> O	NaCl	H <sub>2</sub> O	NaCl	H <sub>2</sub> O	NaCl		
H.	32	frisch	31,1	23,3	19,8	21,8	9,1	9,9		
	33	2 Stunden aufbewahrt bei	0°	30,3	22,6	19,6	12,1	10,7	12,3	
	34			20°	28,8	19,4	17,4	20,9	10,2	7,4
	35				37°	22,1	19,5	14,6	12,6	9,2
I.	36	18½ Stunden aufbewahrt bei	0°	19,7	18,3	17,0	21,0	8,5	11,5	
	37			20°	7,8	13,4	12,7	18,4	6,4	9,7
	38				37°	2,7	5,2	4,3	10,2	6,2

Man sieht deutlich den nachteiligen Einfluß höherer Temperaturen, der sich bei der wässerigen Blutlösung am stärksten geltend macht.

#### IV. Einwirkung des Lichtes.

Gewisse Unregelmäßigkeiten und Schwankungen in den Katalasenzahlen bei der systematischen Untersuchung größerer Serien von Blutproben führten uns zu der Vermutung, daß das Tageslicht einen merklichen Einfluß auf die Reaktion ausübe.

Die nähere Prüfung ergab dann tatsächlich, daß das Licht bei diesem Vorgange eine erhebliche Rolle spielt, indem es je nach dem Helligkeitsgrade mehr oder weniger stark hemmend wirkt. Tabelle VIII bringt einige Beispiele von Katalasenzahlen einzelner Blutproben je im Dunklen, im Hellen (diffusen Tageslicht) und im direkten Sonnenlichte bestimmt.

Für die Berechnung der Katalasenzahlen wurden die Schlußtitler von H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Lösungen, welche unter denselben Bedingungen 2 Stunden neben den Katalasengemischen gestanden haben,

zugrunde gelegt. Während das Licht also die Zersetzung des Wasserstoffsperoxyds an und für sich beschleunigt, wirkt es auf denselben Vorgang, wenn er durch Katalasen verursacht wird, hemmend, indem es eben dieses Enzym allmählich zerstört. Der verschiedene Abfall der Katalasenzahlen bei den 4 Proben der Tabelle VIII erklärt sich natürlich durch die verschiedenen Belichtungsbedingungen, bzw. Helligkeitsgrade in den einzelnen Fällen.

Tabelle VIII.

Einwirkung des Lichts auf die Katalase während der Reaktion (Blut in NaCl-Lösung).

Nr.	Reaktion 2 Stunden (Katalasenzahlen)		
	im Dunkeln	im Hellen	in der Sonne
1	25,2	7,3	3,3
2	25,8	13,7	6,2
3	24,5	18,5	1,6
4	13,7	7,4	1,7

Die nachteilige Wirkung des Lichtes macht sich während der Aufbewahrung der Blutlösungen besonders bemerkbar. Im Dunkeln hält sich der Katalasenwert eine Zeit lang, besonders bei tiefen Temperaturen (in einzelnen Fällen konnte nach kurzem Aufbewahren sogar ein Ansteigen beobachtet werden) und fällt dann ganz allmählich. Im Hellen dagegen sinkt der Wert sehr schnell, während gleichzeitig die rote Hämoglobinfarbe allmählich verblaßt. Tabelle IX bringt einige Beispiele.

Bei Serie A ist z. B. der Wert der Katalasenzahlen beim Aufbewahren der Blutlösung im Dunkeln während der ersten 3 Tage ziemlich konstant (20,6; 21,7; 20,1), nach 5 Tagen ist er auf 17,2, nach 20 Tagen auf 4,3 gesunken. Die im Hellen aufbewahrte Lösung gibt bei der Reaktion im Hellen nach 2 Tagen bereits einen sehr niedrigen Wert (8,7). Später ergeben sich sogar negative Werte (nach 5 Tagen — 0,8, nach



20 Tagen — 1,2), was so zu verstehen ist, daß sich die Wasserstoffsperoxydlösung im Lichte bei Zusatz der im Licht aufbewahrten Blutlösung weniger zersetzt als ohne diesen Zusatz. Die Blutlösung wirkt also in diesem Falle schützend auf das Superoxyd ein. Da die Kontrollproben der  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Lösung so wie so mit dem entsprechenden Quantum ( $\frac{1}{3}$  Volumen) physiologischer NaCl-Lösung versetzt waren, so kann diese schützende Wirkung nicht allein dem NaCl-Gehalt der Blutverdünnung zugeschrieben werden; vielleicht wird sie durch die Zersetzungsprodukte des Blutes verursacht.

Die übrigen Serien (B—D) der Tabelle IX zeigen ähnliche Erscheinungen. Bei den im Hellen bestimmten Katalasenzahlen ist natürlich zu berücksichtigen, daß für ihre Größe die täglich und stündlich wechselnde Tageshelligkeit maßgebend ist.

Wie sehr empfindlich die Katalasenreaktion für Unterschiede in der Lichtstärke ist, geht aus den verschiedenen Werten hervor, die man erhält, wenn man Proben derselben Blutlösung, in gleicher Weise angesetzt, innerhalb eines Zimmers in verschiedenen Entfernungen vom Fenster verteilt.

In Tabelle X sind 3 Beispiele solcher Bestimmungsserien angegeben, welche in den Mittagsstunden heller Augusttage ausgeführt wurden. Es wurden je 2 Gefäße nebeneinander gestellt, das eine (a) mit einem Gemisch von 30 ccm  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Lösung + 10 ccm NaCl-Lösung, das andere (b) mit einem Gemisch von 30 ccm  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Lösung + 10 ccm Blutverdünnung in NaCl-Lösung. Das erste Paar dieser Proben stand im offenen Fenster, die folgenden in den angegebenen Entfernungen und das letzte im dunklen Schranke. Die zersetzende Wirkung des Lichtes in den Proben a ist des Vergleichs halber auch in «Katalasenzahlen» angegeben.

Die Zahlen der Tabelle X zeigen, wie einerseits die zersetzende Wirkung des Lichtes auf die  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Lösung mit steigender Entfernung vom Fenster abnimmt, während andernfalls die Wirkung der Blutkatalase wächst. Aber der Einfluß des Lichtes macht sich bei der Hemmung der Katalasewirkung (Proben b) viel stärker geltend, als bei der direkten Zersetzung des Wasserstoffsperoxyds (Proben a).

Tabelle X.

Lichtwirkung auf die Katalasenreaktion in verschiedenen Entfernungen vom Fenster.

Entfernung vom Fenster	Serie I		Serie II		Serie III							
	a) Licht		b) Blut		a) Licht		b) Blut					
	Katalasen- zahl	100 · k · 0,4343										
0 m	2,06	0,040	8,52	0,140	2,22	0,028	8,10	0,125	2,70	0,035	12,90	0,236
0,5 »	1,44	0,018	12,26	0,207	2,22	0,028	11,82	0,201	2,16	0,027	15,24	0,293
1,0 »	0,96	0,012	13,08	0,221	1,68	0,021	12,42	0,209	1,32	0,017	16,58	0,319
3,0 »	0,36	0,004	13,98	0,236	0,84	0,013	12,80	0,209	0,78	0,010	17,52	0,338
6,0 »	0,06	0,001	14,40	0,242	0,42	0,005	13,26	0,215	0,18	0,002	18,10	0,345
im Dunkeln	—	—	14,48	0,243	—	—	13,60	0,219	—	—	18,48	0,354

In dem Kurvenbild, Fig. 3, sind die Werte für die Reaktionsgeschwindigkeits-«Konstanten» der Serie I graphisch wiedergegeben.

Für die Serien II und III würden sich ähnliche Kurven ergeben. Man sieht deutlich, wie der hemmende Einfluß des Lichtes auf die Katalasereaktion die direkt zersetzende Wirkung übertrifft. Um den Verlauf der

Katalasereaktion unabhängig vom Licht und unter dessen Einwirkung im einzelnen zu prüfen, stellten wir noch einige Versuche an, deren Resultate in Tabelle XI aufgeführt sind. (Serie IV und V.) Das Kurvenbild, Fig. 4, zeigt außerdem die Katalasenzahlen der Serie IV graphisch.

Die Lichtwirkung auf die Katalase macht sich im späteren Verlauf der Reaktion stärker bemerkbar als im Anfang. Das sieht man ohne weiteres aus der Gestalt der Kurven, und andererseits kommt es in den für das Verhältnis der Reaktionskonstanten  $k_{\text{dunkel}} : k_{\text{hell}}$  berechneten Werten zum Ausdruck. Bei der Serie IV steigt dieser Wert, von geringen Schwankungen abgesehen, von 1,127 für die erste Viertelstunde bis zu 2,993 für die dritte Stunde. Bei Serie V ergeben sich für  $k_d : k_h$  allerdings ziemlich unregelmäßige Zahlen, die offenbar durch Versuchsfehler verursacht sind; doch ist der Wert für die Zeit von 3 bis  $4\frac{1}{2}$  Stunden sogar auf 6,786 gestiegen.

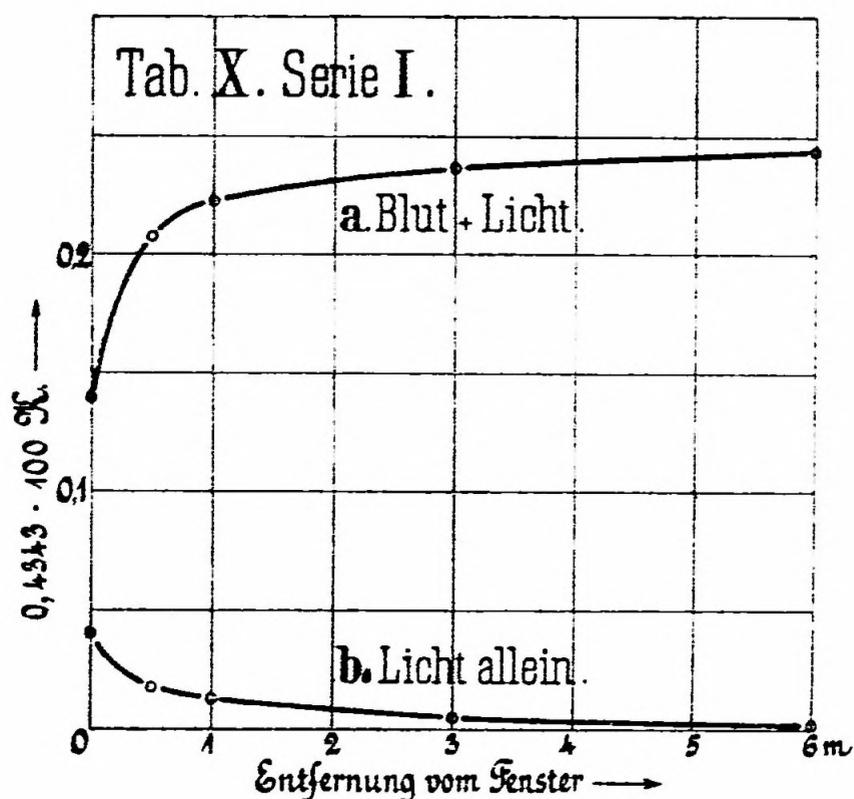


Fig. 3.

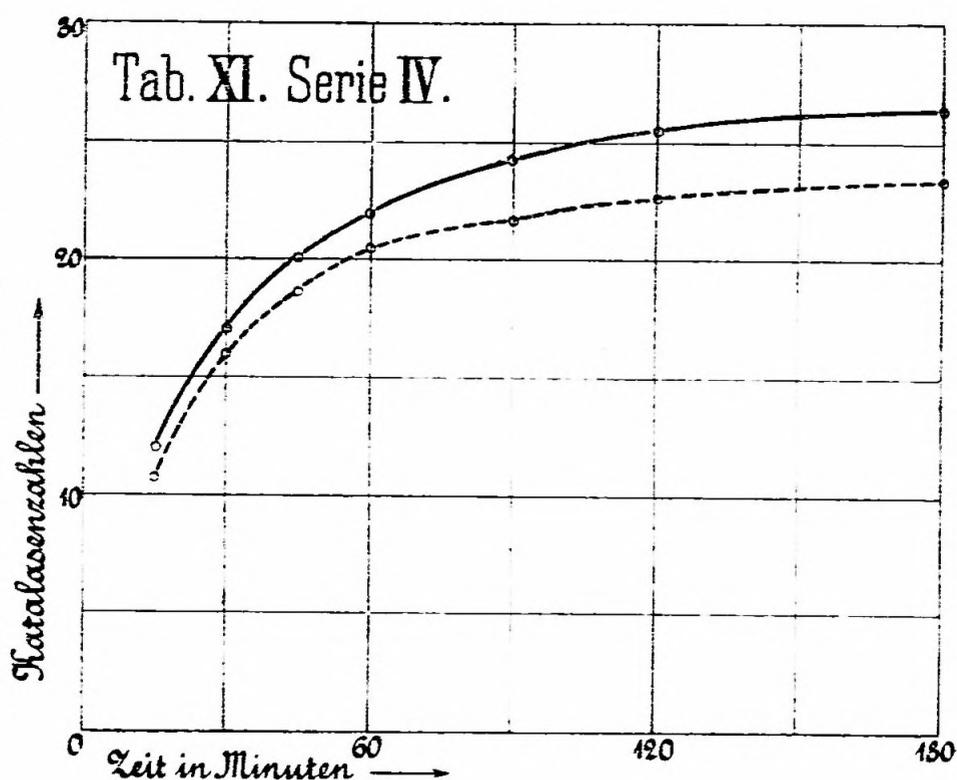


Fig. 4.

Tabelle XI.

Verlauf der Katalasenreaktion im Dunkeln und im Hellen.

Zeit in Mi- nuten	Serie IV						Serie V								
	im Dunkeln			im Hellen			im Dunkeln			im Hellen					
	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Kon- trolle	Titer Kata- lasen- ge- misch	Kata- lasen- zahl 100 · kd · 0,4343	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Kon- trolle	Titer Kata- lasen- ge- misch	Kata- lasen- zahl 100 · kh · 0,4343	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Kon- trolle	Titer Kata- lasen- ge- misch	Kata- lasen- zahl 100 · kd · 0,4343	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Kon- trolle	Titer Kata- lasen- ge- misch	Kata- lasen- zahl 100 · kh · 0,4343			
15	148,0	88,2	11,96	146,4	92,5	10,78	155,7	111,6	8,82	0,964	154,2	104,8	9,88	1,118	0,862
30	—	63,0	17,00	146,0	66,2	16,00	—	78,1	15,52	1,033	153,3	78,0	15,14	0,837	1,235
45	—	47,6	20,08	—	52,5	18,74	—	61,1	18,92	0,711	153,0	58,2	19,08	0,843	0,843
60	148,1	38,3	21,94	146,0	44,5	20,36	—	52,4	20,66	0,445	150,0	49,3	20,66	0,422	1,053
90	—	27,0	24,20	—	36,9	21,70	—	—	—	—	145,8	42,2	21,86	0,188	—
120	—	20,6	25,48	141,3	31,0	22,76	155,7	31,4	24,86	0,371	141,9	40,5	22,00	0,024	—
180	147,9	16,7	26,26	138,3	28,3	23,18	—	—	—	—	—	—	—	—	—
270	—	—	—	—	—	—	154,5	25,4	26,02	0,059	133,5	37,4	22,24	0,009	6,786

Um zu prüfen, welche Lichtstrahlen am meisten auf die Katalase wirken, führten wir verschiedene Versuchsserien bei farbigem Lichte aus. Von der Verwendung künstlichen Lichtes mußten wir nach einigen Vorversuchen absehen, da es bei den hier in Betracht kommenden Verhältnissen zu schwierig war, die einzelnen Proben der Versuchsserien genau gleichen Bedingungen auszusetzen. Denn, um wirklich vergleichbare Werte zu erhalten, kam es darauf an, die Proben derselben Blutlösung gleichzeitig unter verschieden farbiger Beleuchtung derselben Lichtquelle zu prüfen. Wir beschränkten uns daher darauf, die Reaktionsgefäße in dreikantig-prismatischen Kästen aus rotem, blauem und farblosem Glase dem zerstreuten Tageslichte im Freien auszusetzen, je unter Beifügung einer besonderen Probe der  $H_2O_2$ -Lösung, deren Schlußtiter bei der Berechnung der Katalasenzahlen zugrunde gelegt wurden. In der gleichen Weise wurden Proben in einem lichtdicht schließenden Blechkasten daneben gestellt. In Tabelle XII sind einige der auf diese Weise erhaltenen Werte angegeben.

Tabelle XII.

Einwirkung verschiedenfarbigen Lichtes  
auf die Katalasenreaktion.

Reaktion im	1.	2.	3.	4.	5.	6.		7.	
	2 Stunden					1 Std.	2 Std.	2 Stunden	
	Blut in NaCl-Lösung					in NaCl-Lösg.		in $H_2O$	in NaCl
Dunkeln	21,4	15,4	18,8	13,2	24,1	20,9	24,3	26,7	27,1
roten Licht	19,4	14,4	17,4	11,5	22,6	20,4	23,9	25,9	26,3
blauen »	19,0	13,5	17,1	11,3	21,1	20,5	22,7	23,5	24,5
weißen »	18,2	12,9	16,4	8,6	19,8	20,3	22,5	16,0	18,1

Nächst dem weißen, unveränderten Tageslichte ist also das blaue Licht das wirksamere, und es wird vermutlich vom violetten und ultravioletten noch übertroffen werden. Die verschiedene Wirkung macht sich, wie Probe 6 zeigt, die bei bedecktem Himmel (also wenig heller Beleuchtung) untersucht

wurde, nicht gleich zu Anfang der Reaktion, sondern erst später besonders getend. in Übereinstimmung mit den oben angegebenen Resultaten (Tabelle XI).

Aus unseren Versuchen geht hervor, daß die Katalase des Blutes gegen Lichtwirkungen ganz außerordentlich empfindlich ist, und zwar besonders, wenn sie während ihrer Wirksamkeit von Lichtstrahlen getroffen wird. Die in Tabelle X angeführten Zahlen zeigen, daß sich innerhalb des Zimmers, in verschiedener Entfernung vom Fenster, schon die verschieden starke Helligkeit des diffusen Tageslichtes deutlich bemerkbar macht.

So liegt die Vermutung nahe, daß die Blutkatalase auch innerhalb des Organismus durch Lichtstrahlen in entsprechender Weise beeinflusst wird und daß die durch Bestrahlung (Finstherapie, Sonnenbäder, Hochgebirgslicht usw. hervorgerufenen Wirkungen, zum Teil wenigstens, auf Änderung der Katalasentätigkeit beruhen.

Über die Einwirkung des Lichtes auf Fermente sind bereits von verschiedenen Forschern Versuche angestellt, deren Resultate aber keine einheitliche Deutung zulassen. A. Downes und T. P. Blunt<sup>1</sup> konnten bei Invertinlösungen, die drei bis vier Wochen dem Sonnenlicht ausgesetzt waren, eine erhebliche Schädigung gegenüber den im Dunkeln aufbewahrten Proben konstatieren, jedoch nur bei gleichzeitigen Zutritt von Sauerstoff. O. Fermi und L. Perrissè<sup>2</sup> fanden, daß Trypsin- und Pepsinlösungen durch zehntägige Sonnenbestrahlung in ihrer Wirksamkeit abgeschwächt wurden, daß aber Trypsin, Pepsin, Papain, Diastase und Emulsin in wässrigem Zustande, auch wenn sie 200 Stunden dem direktem Sonnenlicht ausgesetzt waren, ihre Wirksamkeit bewahrten. J. R. Green<sup>3</sup> beobachtete, daß auf die Wirkung der Speicheldiastase die violetten Strahlen hemmend, die roten und gelben Strahlen dagegen begünstigend wirken.

O. Emmerling<sup>4</sup> konnte bei Trypsin und Pepsin keine

<sup>1</sup> Proceed. of the Roy. Soc., Bd. XXVIII (1879), S. 205.

<sup>2</sup> Zeitschrift f. Hygiene u. Infektionskrankh., Bd. LVIII (1894), S. 36.

<sup>3</sup> Philos. Transact. Roy. Soc., Bd. CXXXVIII (1897), S. 157.

<sup>4</sup> Berichte d. d. chem. Ges., Bd. XXXV (1902), S. 3811.

übereinstimmenden Resultate erzielen, überhaupt eine schädigende Wirkung des Lichtes auf Fermente kaum nachweisen. Auch Fr. Weiß<sup>1)</sup> ließ Sonnenlicht mehrere Stunden lang auf die proteolytischen Enzyme des Malzes ohne merklichen Erfolg einwirken. S. Schmidt-Nielsen<sup>2)</sup> suchte die Frage durch exaktere Versuchsanordnung (im Finsenlaboratorium) zu entscheiden, indem er Chymosinlösungen in planparallelen Quarzküvetten mit starkem, konzentriertem Licht bestrahlte. Er fand, daß nur die ultravioletten Strahlen zerstörend wirken (diese werden durch gewöhnliches Glas absorbiert), die übrigen Strahlen des Spektrums aber wirkungslos waren.

H. v. Tappeiner und A. Jodlbauer<sup>3)</sup> haben in einer Reihe von Abhandlungen über die sensibilisierende Wirkung fluoreszierender Stoffe berichtet, und neuerdings hat A. Jodlbauer mit Kando Jamada<sup>4)</sup> auch über die Wirkung des Lichtes auf Peroxydase und deren Sensibilisierung, sowie mit M. Zeller<sup>5)</sup> über die Lichtempfindlichkeit und die Sensibilisierung der Katalase Mitteilungen gemacht, bei deren Erscheinen unsere Versuche aber bereits abgeschlossen waren. Diese Forscher arbeiteten nur im direkten Sonnenlicht oder im Licht der Quecksilberlampe; sie fanden, daß die sichtbaren Strahlen nur bei Gegenwart von Sauerstoff auf die Katalase schädigend wirken, die ultravioletten dagegen auch in sauerstofffreier Atmosphäre.<sup>6)</sup>

Eine besonders eingehende Arbeit über die Lichtempfindlichkeit tierischer Oxydasen und über die Beziehungen dieser

---

<sup>1)</sup> Medd. fra Carlsberg. Labor., Bd. V (1903), S. 239.

<sup>2)</sup> Hofmeisters Beitr. z. chem. Phys. u. Path., Bd. V (1904), S. 355.

<sup>3)</sup> Arch. f. klin. Med., Bd. LXXX (1904), S. 427; Bd. LXXXV (1906), S. 399; Bd. LXXXVI (1906), S. 468; Bd. LXXXVII (1906), S. 373. Münch. med. Wochenschr., 1904, Nr. 26.

<sup>4)</sup> Biochem. Zeitschr., Bd. VIII (1908), S. 61.

<sup>5)</sup> Biochem. Zeitschr., Bd. VIII (1908), S. 84.

<sup>6)</sup> Auf die von unseren früheren Mitteilungen (Münch. med. Wochenschrift, 1907, Nr. 43, S. 2162 und Verhandlungen der Naturforscherversammlung, Dresden 1907, Bd. II, S. 45) abweichenden Resultate von Jodlbauer und Jamada betreffs der Lichtempfindlichkeit der Peroxydase werden wir in einer späteren Veröffentlichung über die Oxydase des Blutes zurückkommen.

Eigenschaft zu den Erscheinungen des tierischen Phototropismus ist neuerdings von Wolfgang Ostwald<sup>1)</sup> erschienen. Dieser Forscher stellte seine Versuche mit chloroformwässrigen Gewebeeextrakten verschiedener Raupenarten an und konnte eine starke Beeinflussung der Katalasereaktion durch Licht (direkte Sonne und diffuses Tageslicht, in einzelnen Fällen auch Auerlicht) konstatieren. Sowohl wenn die Lösungen vor der Reaktion dem Licht ausgesetzt waren, als auch während der Wasserstoff-superoxydzerersetzung trat deutliche Hemmung auf. Diese nachteilige Wirkung nahm in folgender Reihenfolge ab: Hell > Violett > Gelb > Dunkel; das entspricht ungefähr auch unseren Ergebnissen. Auch bei Bestrahlung lebender Tiere machte sich ein nachteiliger Einfluß auf den Katalasegehalt bemerkbar, jedoch erwies sich dabei der Einfluß der Wellenlänge als ziemlich verwickelt. Die im Dunkeln auftretende, anfängliche Steigerung des Katalasegehaltes fand bei gelbem Licht in noch größerem Umfange statt.

Im allgemeinen zeigt sich, daß positiv phototropische Tiere sehr katalasereich, negativ phototropische dagegen katalasenarm sind.

#### V. Einwirkung von Röntgenstrahlen.

Über die Einwirkung der Röntgenstrahlen auf Fermente liegen bisher nur wenige Beobachtungen vor.

S. Schmidt-Nielsen<sup>2)</sup> konnte beim Chymosin keinen Einfluß der Röntgenstrahlen konstatieren, während er bei Behandlung mit Radiumstrahlen eine sehr schwache, bei Behandlung mit konzentriertem Sonnen- oder elektrischem Lichte eine etwas stärkere hemmende Wirkung fand. A. Jodlbauer<sup>3)</sup> spricht den Röntgenstrahlen ebenfalls jeden merklichen Einfluß auf Fermente ab, und neuerdings kamen P. T. Richter und H. Gerhartz<sup>4)</sup> zu dem gleichen Resultat.

---

<sup>1)</sup> Biochem. Zeitschr., Bd. X (1908), S. 1—130.

<sup>2)</sup> Hofmeisters Beiträge, Bd. V (1904), S. 400.

<sup>3)</sup> Deutsches Archiv f. klin. Medizin, Bd. LXXX (1904), S. 488.

<sup>4)</sup> Berliner klin. Wochenschr., Bd. XLV (1908), S. 646.

Wir haben nun die Blutkatalase ebenfalls der Einwirkung der Röntgenstrahlen unterworfen, indem wir die in oben beschriebener Weise hergestellten Katalasengemische in weiten, niedrigen Bechergläsern, von einem Pappkasten umhüllt, möglichst nahe unter die Röntgenröhre stellten und zwei Stunden lang unter Bestrahlung reagieren ließen. Parallelproben wurden während der gleichen Zeit in der Bleikammer des Röntgenraumes aufbewahrt. Bei den Vorversuchen zeigte sich, daß durch die Wärmestrahlung der Röntgenröhre immer eine Temperaturerhöhung in dem Katalasengemisch um einige Grad eintrat, wodurch natürlich der Verlauf der Katalasenreaktion nachteilig beeinflußt wurde. Durch Einstellen der Bechergläser in Wasser, durch Auflegen von Glühbirnen auf die Pappkasten der Kontrolllösungen suchten wir möglichst gleiche Bedingungen zu schaffen, was aber trotz aller Bemühungen nicht immer gelang. Die mit verschiedenen Blutproben erhaltenen Resultate sind in Tabelle XIII zusammengestellt. Es wurden jedesmal zwei Parallelversuche ausgeführt. Die näheren Angaben über die Versuchsbedingungen der Röhre finden sich in der Tabelle.

Tabelle XIII.

Einfluß der Röntgenstrahlen auf die Katalasenreaktion.

Bestrahlungsdauer: 2 Stunden. Abstand der Lösungen vom Focus der Röhre: 20 cm. Walther-Schaltung bei Versuch 1—5: 5—4, bei Versuch 5—7: 4—3, Wehnelt 4, Stifflänge 4 mm.

Nr.	Art des Blutes	Funken- strecke der Röhre cm	Milli- Ampère der Röhre	Katalasenzahlen			
				bestrahlt (während der Reaktion)		nicht bestrahlt	
				a	b	a	b
1	Mensch	11—15	0,5—0,2	19,2	19,6	20,2	21,7
2	»	15—17	0,6—0,2	23,2	23,0	24,2	25,2
3	»	15—17	0,6—0,2	12,0	12,0	12,6	12,9
4	Kaninchen	11—15	0,2—0,2	13,7	13,2	14,3	15,4
5	»	11— 7,5	0,5—0,9	11,4	11,3	11,6	11,9
6	»	11— 7,5	0,5—0,9	15,7	16,0	15,7	14,3
7	»	10— 7,8	1,0—1,5	13,0	12,9	13,0	13,1

Die bestrahlten Lösungen gaben fast durchweg etwas niedrigere Katalasenzahlen als die nicht bestrahlten; doch sind die Unterschiede so unbedeutend, daß sie, namentlich bei Berücksichtigung der unsicheren Temperaturverhältnisse, wohl noch ganz in den Bereich der Fehlerquellen fallen.

Auch wenn die Blutlösungen zunächst allein bestrahlt und erst dann mit Wasserstoffsperoxyd zusammengebracht wurden (ohne weitere Bestrahlung), ergaben sich ähnliche Resultate, wie Tabelle XIV zeigt. Ob die Blutproben mit Wasser oder mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt waren, machte keinen erheblichen Unterschied.

Tabelle XIV.

Einfluß der Röntgenstrahlen auf die Blutkatalase.

Bestrahlungsdauer: 2 und 4 Stunden. Abstand der Lösungen vom Focus der Röhre: 30 cm. Im übrigen ebenso wie Tabelle XIII.

Nr.	Kaninchenblut verdünnt mit	Dauer der Bestrahlung	Funkenstrecke der Röhre cm	Milli-Ampère der Röhre	Katalasenzahlen			
					bestrahlt (vor der Reaktion)		nicht bestrahlt	
					a	b	a	b
8	Wasser	2 Std.	13,2—15,0	0,8—0,4	10,0	10,1	10,4	10,5
	NaCl-Lösung	2 »	13,2—15,0	0,8—0,4	10,4	10,5	10,6	10,8
9	Wasser	4 Std.	15—14	0,8—0,4	9,3	9,4	10,3	10,3
	NaCl-Lösung	4 »	15—14	0,8—0,4	10,1	10,3	10,9	11,5

Aus den erhaltenen Resultaten läßt sich also nur der Schluß ziehen, daß die Röntgenstrahlen auf die Wirksamkeit der Blutkatalase ohne merklichen Einfluß sind, einerlei, ob die Bestrahlung während oder vor der Reaktion stattfindet.

#### Zusammenstellung der Versuchsergebnisse.

1. Natriumchlorid wirkt auf die Zersetzung des Wasserstoffsperoxyds durch Licht hemmend ein, und zwar bei geringerer Lichtstärke mehr als bei größerer.

2. Die Bestimmung der Katalasenzahlen des Blutes

nach der Methode von Ad. Jolles ergibt gleichmäßigere Werte, wenn das Blut mit physiologischer NaCl-Lösung, als wenn es mit Wasser verdünnt ist (Hämolyse).

Die Blutproben müssen jedesmal frisch quellend entnommen werden, da sie sich sonst bald verändern.

3. Zusatz von Natriumchlorid wirkt auf die Katalasenreaktion hemmend, und zwar in der wässrigen Blutlösung stärker als in der Verdünnung mit physiologischer NaCl-Lösung.

Natriumsulfat ist fast wirkungslos.

4. Von den Eisensalzen Ferroammonsulfat, Ferriammonsulfat, Ferrichlorid wirkt (bei gleicher Fe-Konzentration) das erste am wenigsten, das letzte am stärksten zersetzend auf Wasserstoffsuperoxyd ein.

5. Zusatz geringer Mengen Eisensalze zu den Blutverdünnungen hemmt die Katalasenreaktion. Durch Hinzufügen passender Eisenmengen kann die Katalasewirkung fast ganz aufgehoben werden.

6. Die Reaktionsgeschwindigkeit der Katalasen in der Blutverdünnung mit NaCl-Lösung (1 : 1000) wächst mit steigender Temperatur von 0° bis 10°. Über 10° tritt nur in den ersten Minuten Reaktionsbeschleunigung ein; im weiteren Verlauf macht sich schon die mit steigender Temperatur zunehmende zerstörende Wirkung des Superoxyds auf das Katalasenferment bemerkbar.

7. Der Temperaturkoeffizient der Blutkatalase (in NaCl-Lösung) hat für das Intervall 0 bis 10° Werte zwischen 1,2 und 1,7. Für 10—20° ist er nur während der ersten 30 Minuten, für 20—30° nur während der ersten 15 Minuten größer als 1. Als Temperaturoptimum ist 10° zu bezeichnen.

8. Die Katalasenreaktion des Blutes in wässriger Verdünnung verläuft unter 20° viel schneller als die des mit NaCl-Lösung verdünnten Blutes. Bei 0° ist die Reaktionskonstante der wässrigen Lösung drei- bis viermal größer als die der Verdünnung mit NaCl-Lösung.

9. Der Temperaturkoeffizient der wässrigen Blutlösung wurde für das Intervall 0—10° zu 1,6 bis 1,86 gefunden.

Bei Temperaturen über 20° wird die Katalase in wässriger

Blutlösung schneller wirkungslos als in der Verdünnung mit NaCl-Lösung.

10. Das Licht wirkt auf die Katalase sowohl während der Aufbewahrung der Blutlösung als auch während der Reaktion hemmend ein. Die nachteilige Wirkung während der Reaktion macht sich schon im diffusen Tageslicht deutlich bemerkbar, und zwar tritt sie beim späteren Verlauf der Reaktion stärker hervor als zu Beginn.

11. Die Reihenfolge in der Wirkungsstärke der verschiedenen Lichtarten ist Weiß > Blau > Rot > Dunkel.

12. Röntgenstrahlen sind auf die Wirksamkeit der Blutkatalase ohne merklichen Einfluß, weder wenn die Bestrahlung vor, noch wenn sie während der Reaktion stattfindet.

