

Grundzüge der  
**Physikalischen Chemie**  
in ihrer Beziehung zur Biologie

Von

**S. G. Hedin**

Professor der medizinischen und physiologischen Chemie  
an der Universität Uppsala



Zweite Auflage

---

---

Springer-Verlag Berlin Heidelberg GmbH

Springer-Verlag Berlin Heidelberg GmbH

# Lehrbuch der physiologischen Chemie

Unter Mitwirkung von

Prof. **S. G. Hedin** in Upsala, Prof. **J. E. Johansson** in Stockholm und  
Prof. **T. Thunberg** in Lund

Herausgegeben von

**Olof Hammarsten**

ehem. Professor der medizinischen und physiologischen Chemie  
an der Universität Upsala

Zehnte gegenüber der neunten unveränderte Auflage

Mit einer Spektraltafel

1923. — Gebunden 18,— Goldmark / 4,30 Dollar

---

## Mikrochemisches Praktikum

Eine Anleitung zur Ausführung der wichtigsten mikro-  
chemischen Handgriffe, Reaktionen und Bestimmungen mit  
Ausnahme der quantitativen organischen Mikroanalyse

Von

**Friedrich Emich**

Ordentl. Professor an der Technischen Hochschule Graz  
Korresp. Mitglied der Akademie der Wissenschaften Wien

Mit 77 Abbildungen

1924. — Steif kartoniert 6,60 Goldmark / 1,55 Dollar

Grundzüge der  
**Physikalischen Chemie**  
in ihrer Beziehung zur Biologie

Von

**S. G. Hedin**

Professor der medizinischen und physiologischen Chemie  
an der Universität Uppsala

Inhalt: I. Osmotischer Druck. II. Kolloide. III. Aus der chemischen  
Reaktionslehre. IV. Die Enzyme. Antigene und Antikörper. V. Ionen-  
und Salzwirkung



Zweite Auflage

---

---

Springer-Verlag Berlin Heidelberg GmbH 1924

ISBN 978-3-662-29827-5      ISBN 978-3-662-29971-5 (eBook)  
DOI 10.1007/978-3-662-29971-5

© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 1924  
Ursprünglich erschienen bei J. F. Bergmann, München 1924

Alle Rechte, insbesondere das der Übersetzung in fremde Sprachen, vorbehalten.

## **Vorrede.**

Um einer freundlichen Aufforderung des Herrn Verlegers entgegenzukommen, lasse ich hiermit eine kurze Darstellung über die Bedeutung der physikalischen Chemie für die Biologie erscheinen. Von der physikalischen Chemie werden nur diejenigen Teile berücksichtigt, welche meiner Ansicht nach bisher für das Verständnis der physiologischen Vorgänge von Belang waren. Ich bin mir dessen wohl bewußt, daß die Ansichten in betreff der Bedeutung der physikalischen Chemie für gewisse der in diesem Buche abgehandelten Fragen ziemlich weit auseinander gehen. Dies dürfte wohl insbesondere der Fall sein betreffs der Lehre von den Wirkungen und Hemmungserscheinungen der Enzyme. Da aber die bei diesen Prozessen wirksamen Substanzen wie Kolloide sich verhalten, dürfte es bis auf weiteres unumgänglich sein, die erwähnten Vorgänge auch vom physikalisch-chemischen Standpunkte aus zu behandeln.

Uppsala, im Mai 1915.

**Der Verfasser.**

---

## **Vorwort zur zweiten Auflage.**

In der zweiten Auflage ist dieselbe Aufstellung des Stoffes befolgt worden wie in der ersten. Gewisse Teile sind gänzlich umgearbeitet worden, was besonders mit der Lehre von dem Eiweiß in Lösung der Fall ist. Auch die osmotischen Verhältnisse der Blutkörperchen haben eine eingehende Überarbeitung erfahren. In der Enzymlehre sind besonders die wichtigen Ergebnisse von Willstätter und seinen Mitarbeitern hinzugekommen. Wegen des begrenzten Umfanges des Buches ist notwendiger Weise vieles ausgelassen worden, das sonst hätte Platz finden sollen.

Uppsala, im September 1924.

**Der Verfasser.**

## Inhaltsverzeichnis.

	Seite
Erstes Kapitel . . . . .	I
<b>Osmotischer Druck</b> . . . . .	<b>I</b>
Allgemeines . . . . .	I
Indirekte Methoden zur Messung des osmotischen Druckes . . . . .	7
Die elektrolytische Dissoziation . . . . .	10
Osmotische Versuche mit Pflanzenzellen . . . . .	12
Versuche mit animalen Zellen . . . . .	14
Permeabilität von Zellen . . . . .	19
Theorien über die Aufnahmefähigkeit der Zellen . . . . .	24
Weiteres über die Permeabilität von Zellen . . . . .	30
Durchlässigkeit tierischer Gewebe . . . . .	34
Osmotischer Druck des Blutes . . . . .	35
Osmotischer Druck tierischer Sekrete . . . . .	38
Durchlässigkeit tierischer Membranen . . . . .	41
Zweites Kapitel . . . . .	45
<b>Kolloide</b> . . . . .	<b>45</b>
Allgemeines . . . . .	45
Einteilung der Kolloide . . . . .	48
Osmotischer Druck der Kolloide . . . . .	50
Diffusion der Kolloide . . . . .	53
Filtration von Kolloiden . . . . .	57
Innere Reibung von Kolloidlösungen . . . . .	58
Oberflächenspannung kolloider Lösungen . . . . .	60
Optische Eigenschaften der Kolloide . . . . .	61
Elektrische Fortführung kolloider Teilchen . . . . .	63
Brownsche Bewegung . . . . .	68
Zustandsänderungen der Kolloide, Adsorption . . . . .	69
Adsorption aus einer Lösung mehrerer Stoffe . . . . .	76
Theoretisches über die Adsorption . . . . .	77
Ausfällung der Suspensionskolloide . . . . .	80
Schutzkolloide . . . . .	85
Theoretisches über die Ausflockung der Suspensionskolloide . . . . .	86
Ausfällung von Eiweiß durch Elektrolyte . . . . .	88
Gallerte. . . . .	92

	Seite
Drittes Kapitel . . . . .	97
<b>Aus der chemischen Reaktionslehre</b> . . . . .	97
Katalyse in einem homogenen Medium . . . . .	100
Reaktionsgeschwindigkeit und Temperatur . . . . .	109
Reaktionen in einem heterogenen Medium . . . . .	111
 Viertes Kapitel . . . . .	 115
<b>Die Enzyme</b> . . . . .	115
Natur der chemischen Prozesse im Tierkörper . . . . .	115
Enzyme oder Fermente . . . . .	116
Wirkungsweise der Enzyme . . . . .	135
Spezifische Wirkung der Enzyme . . . . .	153
Enzymatische Synthesen und Reversibilität der Enzymreaktionen . . . . .	155
Hemmung der Enzymwirkung . . . . .	161
 Anhang . . . . .	 173
<b>Antigene und Antikörper</b> . . . . .	173
 Fünftes Kapitel . . . . .	 177
<b>Ionen- und Salzwirkung</b> . . . . .	177
<b>Sachregister</b> . . . . .	184
<b>Autorenregister</b> . . . . .	186

## Erstes Kapitel.

# Osmotischer Druck.

---

### Allgemeines.

Eine Form von flüssigen Gemischen, welche die Aufmerksamkeit der neueren Forschung in ungewöhnlichem Grade auf sich gezogen hat, sind die sog. verdünnten Lösungen, d. h. Gemische, welche einen Bestandteil in großem Überschuß im Vergleich mit den übrigen enthalten. Jener wird als Lösungsmittel bezeichnet, diese als gelöste Stoffe. Die Lösungsmittel sind für ungleiche Stoffe verschieden. Bekanntlich gibt es Stoffe, welche wohl in Wasser aber nicht in Alkohol löslich sind und vice versa. Wahrscheinlich existiert eine nähere Beziehung zwischen dem gelösten Stoff und dem Lösungsmittel, welche man als eine Anziehung zwischen den Molekülen beider sich denken kann. Infolge einer solchen Anziehung kommt die Lösung zustande. Durch diese Anziehung wird auch die sog. Diffusion zustande gebracht, infolge deren der aufgelöste Stoff in dem ganzen zu seiner Verfügung stehenden Lösungsmittel derart sich verbreitet, daß schließlich eine homogene Flüssigkeit entsteht, die überall auf dem gleichen Volumen die gleiche Menge gelöster Substanz enthält.

Wird eine homogene Lösung mit einer neuen Menge des reinen Lösungsmittels in unmittelbare Berührung gebracht, so entsteht auch infolge der Diffusion allmählich eine gleichmäßige Verteilung der gelösten Substanz auf die ganze Flüssigkeit. Dieser Endzustand kann in zweierlei Weise zuwege gebracht werden. Einerseits dringt die gelöste Substanz in das reine Lösungsmittel hinein, andererseits dieses in die Lösung. Finden sich beim Anfang des Versuches die Lösung und das reine Lösungsmittel in unmittelbarer Berührung miteinander, so finden die beiden angedeuteten Prozesse zur selben Zeit statt. Dasselbe geschieht, wenn die zwei Flüssigkeiten durch eine Membran getrennt sind, welche sowohl die gelöste Substanz wie das Lösungsmittel durchläßt.

Anders stellt sich aber die Sache, wenn die beiden Flüssigkeiten durch eine sog. halbdurchlässige oder semipermeable Membran gegeneinander abgegrenzt sind, d. h. eine Membran, die wohl dem Lösungsmittel aber nicht den Molekülen des gelösten Stoffes den Durchtritt gewährt. In solchen Fällen kann nur die eine der erwähnten Strömungen, nämlich die von Lösungsmittel durch die Membran in die Lösung zustande kommen. Infolge der Anziehung zwischen gelöster Substanz und Lösungsmittel dringt also das reine Lösungsmittel in die Lösung, bis etwa entstandener Gegendruck der Strömung eine Grenze setzt.



In bezug auf eine gegebene Lösung halbdurchlässige Membranen, welche nach dem Gesagten wohl das Lösungsmittel aber nicht den gelösten Stoff durchlassen, sind einerseits künstlich hergestellt worden, andererseits kommen solche oder in der gleichen Weise wirkende Einrichtungen in der Natur vor. Zu ersteren gehören die sog. Niederschlagsmembranen, welche auf der Grenze zwischen zwei Lösungen erzeugt werden, die miteinander einen Niederschlag ergeben. Solche sind zuerst von M. Traube hergestellt worden<sup>1)</sup>. Die am meisten bekannte ist die Membran aus Ferrozyankupfer, welche an der Grenze zwischen einer einigermaßen konzentrierten Lösung von Kupfersulfat und einer Ferrozyankaliumlösung gebildet wird. Läßt man aus einer Pipette Tropfen von einer etwa 20<sup>0</sup>/<sub>0</sub>igen Kupfersulfatlösung in eine etwa 7<sup>0</sup>/<sub>0</sub>ige Ferrozyankaliumlösung vorsichtig einfließen, so entsteht sofort die Membran, und die blau gefärbten Tropfen bleiben durch die braune Haut gegen die gelbe Lösung abgegrenzt. Dies beweist eben, daß die Membran für die beiden gelösten Stoffe, Kupfersulfat und Ferrozyankalium, entweder gar nicht oder nur sehr schwer durchlässig ist. Die Tropfen nehmen sofort schnell an Volumen zu, und zwar durch Aufnahme von Wasser, weil die starke Kupfersulfatlösung für Wasser ein größeres Anziehungsvermögen besitzt als die Ferrozyankaliumlösung. Ist also die Differenz zwischen dem Wasseranziehungsvermögen (oder den Konzentrationen) der beiden Lösungen zu groß, so steigt das Volumen der Tropfen zu einer solchen Größe, daß die umgebende Membran infolge der Spannung platzt. Bei passendem Verhältnis zwischen den Konzentrationen der beiden Lösungen bleibt aber die Membran erhalten, und die blauen Tropfen bleiben meist dicht unter der Oberfläche der Ferrozyankaliumlösung hängen. Bei der leisesten Berührung sowie auch bei Strömungen in der Flüssigkeit platzt aber die Membran leicht.

Um der Ferrozyankupfermembran eine größere Festigkeit zu verleihen, ließ Pfeffer dieselbe sofort bei ihrer Bildung einer festen starren Wand sich anlehnen<sup>2)</sup>. Zu dem Zwecke wandte er kleine poröse Tonzellen an, welche nach sorgfältiger Reinigung derart mit Kupfersulfat und Ferrozyankalium behandelt wurden, daß die Membran in der Tonwand gebildet wurde. Bei tadelreicher Herstellung der Membran erwies sich die Zelle für gelösten Rohrzucker undurchlässig, gewährte aber reinem Wasser den Durchtritt.

Wenn also die Zelle, mit Rohrzuckerlösung gefüllt und mit einem geschlossenen Quecksilbermanometer versehen, in reines Wasser eingetaucht wurde, so trat infolge der Anziehung zwischen dem gelösten Zucker und dem Lösungsmittel Wasser in die Zelle hinein, bis der durch Emporsteigen des Quecksilbers im Manometerrohr erzeugte Gegendruck das weitere Eindringen von Wasser verhinderte. Der Zug zwischen Zucker und Wasser existiert fortwährend, und da der Zucker mit der gleichen Kraft vom Wasser angezogen wird wie dieses vom Zucker, und da ferner der Zucker durch die Membran nicht passieren kann, so übt der Zucker gegen die Membran einen gewissen Druck aus. Dieser wird der osmotische Druck der eingeschlossenen Lösung genannt. Da derselbe nach dem eben Gesagten gleich der Kraft sein muß, mit welcher das Wasser in die Zelle einzudringen bestrebt ist, so kann der osmotische Druck nach eingetretenem Gleichgewicht direkt am Steigrohr abgelesen werden. Aus den Bestimmungen von Pfeffer ergab sich zunächst, daß der osmotische Druck einer Rohrzuckerlösung deren Konzentration proportional ist, wie aus folgender Tabelle zu ersehen ist:

<sup>1)</sup> Arch. (Anat. u.) Physiol. 1867, S. 87 u. 129.

<sup>2)</sup> Osmotische Untersuchungen. Leipzig 1877.

Konz. (c)	Osm. Druck (p)	$\frac{p}{c}$
1 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	53,2 cm Hg	53,2
2 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	101,6 „ „	50,8
4 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	208,2 „ „	52,1
6 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	307,5 „ „	51,3

Ferner fand Pfeffer, daß der osmotische Druck mit der Temperatur langsam steigt und nach weiter unten zu besprechenden Untersuchungen von Morse und seinen Mitarbeitern (S. 5) steigt der osmotische Druck für Rohrzucker der absoluten Temperatur proportional wie der Gasdruck. Nach den Versuchen von Morse ist die Ferrozyankupfermembran auch für Traubenzucker undurchlässig. Versucht man aber mit der Pfefferschen Methode Bestimmungen des osmotischen Druckes für solche Stoffe auszuführen, welche, wenn auch nur langsam, durch die Ferrozyankupfermembran zu passieren vermögen, so fallen die erhaltenen Werte zu gering aus. Der Umstand, daß man bei der Wiederholung von Pfeffers Versuchen nicht genügend darauf geachtet hat, daß die Membran für den gelösten Stoff völlig impermeabel sein muß, hat viele Messungen des osmotischen Druckes unbrauchbar gemacht.

Die Herstellung der Ferrozyankupfermembran ist mit großen technischen Schwierigkeiten verbunden, was bereits von Pfeffer hervorgehoben wurde. Die ausgedehnten Untersuchungen über die direkte Messung des osmotischen Druckes von Rohrzucker- und Traubenzuckerlösungen mit Hilfe von Ferrozyankupfermembranen, welche von H. N. Morse und seinen Mitarbeitern ausgeführt worden sind, dürften wohl die genauesten Resultate ergeben haben, die überhaupt erhalten worden sind <sup>1)</sup>. Auf dieselben werden wir weiter unten zurückkommen; sie beziehen sich auf die Bedeutung der Konzentration und der Temperatur und bestätigen die Resultate von Pfeffer.

Außer der eben erwähnten Methode der direkten Messung des osmotischen Druckes in absolutem Maße gibt es auch andere Methoden, welche auch auf der Anwendung halbdurchlässiger Membranen fußen, aber durch welche nur das Verhältnis zwischen den durch verschiedene gelöste Stoffe erzeugten Druckgrößen bestimmt werden kann. Diese Methoden werden weiter unten ausführlicher besprochen (S. 12 und 14). Wie wir ersehen werden, läßt sich auf Grund dieser Bestimmungen der Satz aufstellen, daß analog gebaute Stoffe in der gleichen molaren Konzentration dieselbe osmotische Wirkung zeigen.

Es ist das Verdienst van't Hoff's, zuerst auf die Übereinstimmung hingewiesen zu haben, welche zwischen den Gesetzen des Gasdruckes und denen des osmotischen Druckes bestehen <sup>2)</sup>.

Für die Gase findet man bei gegebener Temperatur ein sehr einfaches Verhältnis zwischen Druck (p) und Volumen (v), indem dieselben einander umgekehrt proportional geändert werden:  $p = \frac{\text{konst.}}{v}$  oder  $p \cdot v = \text{konst.}$  (Boyle-Mariottes Gesetz). Nun ist das Volumen (v) der Konzentration (c) des Gases umgekehrt proportional, und wir können also anstatt v in die obige Formel

<sup>1)</sup> Amer. Chem. Journ. 26, 28, 29, 32, 34, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 45.

<sup>2)</sup> Lois de l'équilibre chimique dans l'état dilué ou dissous, Stockholm 1886; auch in Zeitschr. physik. Chem. 1, 481 (1887).

die Größe  $\frac{I}{c}$  einführen; wir erhalten also  $\frac{P}{c} = \text{konst.}$ , was ein Ausdruck für die Tatsache ist, daß der Gasdruck der Konzentration des Gases proportional ist. Dasselbe gilt aber auch für den osmotischen Druck von Zuckerlösungen nach den bereits angeführten Versuchen von Pfeffer und den weiter unten zu besprechenden Bestimmungen von Morse und Mitarbeitern.

Bei der Temperatur  $t$  ist nach dem Gay-Lussacschen Gesetz, wenn  $p_0$  und  $v_0$  Druck und Volumen bei  $0^\circ$  bezeichnen,

$$P = p_0 (1 + 0,003663 t)$$

der Druck, welchen das Gas bei konstant gehaltenem Volumen  $v_0$  ausüben würde, und

$$V = v_0 (1 + 0,003663 t)$$

das Volumen, welches das Gas bei konstant gehaltenem Druck  $p_0$  einnehmen würde. Ändern sich zur selben Zeit Druck und Volumen und bezeichnen wir Druck und Volumen bei  $t^\circ$  mit  $p_t$  und  $v_t$ , so ergibt sich nach Boyle-Mariottes Regel:

$$p_t \cdot v_t = P \cdot v_0 = p_0 \cdot v_0 (1 + 0,003663 t) = p_0 \cdot v_0 \left(1 + \frac{t}{273}\right).$$

Setzen wir nun in diese Formel anstatt  $t$  den Wert  $T - 273$  ein, so vereinfacht sich die Formel zu

$$v_T \cdot p_T = p_0 \cdot v_0 \cdot \frac{T}{273},$$

wenn wir zur selben Zeit  $v_t$  und  $p_t$  gegen die entsprechenden Werte für die Temperatur  $T$  austauschen. Die Temperatur  $T$  wird von  $-273^\circ$  gerechnet und wird die absolute Temperatur genannt.

Nach der Avogadroschen Regel für Gas enthalten sämtliche Gase unter den gleichen Bedingungen der Temperatur und des Druckes in der Volumeneinheit die gleiche Anzahl Moleküle. Verschiedene Gase, welche in dem gleichen Volumen Mengen enthalten, die wie die Molekulargewichte der betreffenden Gase sich verhalten, haben folglich den gleichen Druck. Für einen solchen Fall wird der in der obigen Formel enthaltene Ausdruck  $\frac{p_0 v_0}{273}$  der gleiche für alle Gase und nur von den gewählten Maßeinheiten abhängig. Der Ausdruck  $\frac{p_0 v_0}{273}$  wird deshalb die Gaskonstante genannt und mit  $R$  bezeichnet. Wir haben folglich

$$p_T \cdot v_T = \frac{p_0 v_0}{273} \cdot T = R \cdot T.$$

Nach ausgeführten Bestimmungen ist der Druck, welchen ein Gramm-molekül oder ein Mol eines Gases (so viele Gramme wie das Molekulargewicht des Gases angibt in einem Liter enthalten) bei  $0^\circ$  auf die Wände des Gefäßes ausübt = 22,412 Atmosphären (oder  $22,412 \times 760$  mm Hg). Zählen wir, wie gewöhnlich, den Druck in Atmosphären und das Volumen in Litern, so ergibt sich

$$p_T \cdot v_T = \frac{22,412}{273} \cdot T = 0,0821 \cdot T$$

und  $R$  ist folglich = 0,0821.

Keihen wir nun zu Pfeffers Messungen des osmotischen Druckes von Rohrzucker zurück. Aus den Bestimmungen ergab sich, daß der osmotische Druck einer 1%igen Rohrzuckerlösung bei 0° 0,649 Atm. betrug. Das Volumen von 1000 g 1%iger Lösung ist bei 0° 977 c. c. und dasselbe enthält 10 g Rohrzucker. Das Volumen einer 1%igen Lösung, welche ein Mol Rohrzucker (342 g) enthält, ist folglich  $997 \cdot 34,2$  c. c. oder 34,1 Liter. Aus der eben für die Gase hergeleiteten Formel ergibt sich der entsprechende Druck wie folgt

$$p_T = \frac{0,0821 \cdot T}{v_T} = \frac{0,0821 \cdot 273}{34,1} = 0,657 \text{ Atm.}$$

Die direkt aus den Versuchen gefundene Zahl war 0,649 Atm.

Aus der Übereinstimmung zwischen dem aus den Gasgesetzen berechneten Druck und dem experimentell gefundenen osmotischen Druck folgt, daß der osmotische Druck von Rohrzucker ebenso groß ist wie der Gasdruck, den man finden würde, wenn die gelöste Substanz als Gas den gleichen Raum wie die Lösung bei der gleichen Temperatur erfüllte (van't Hoff).

Da ferner nach weiter unten zu erwähnenden Versuchen mit semipermeablen Membranen Lösungen von analog gebauten Stoffen in der gleichen molekularen Konzentration den nämlichen osmotischen Druck zeigen, so ist mit weiter unten zu besprechenden Beschränkungen die Avogadrosche Regel auch für Lösungen in Geltung.

Eigentlich fußt die Berechnung von van't Hoff bezüglich der Übereinstimmung zwischen Gasdruck und osmotischem Druck ausschließlich auf den Bestimmungen von Pfeffer.

Die neuerdings von Morse und seinen Mitarbeitern ausgeführten Kontrollbestimmungen des osmotischen Druckes von Zucker sind nach der Methode von Pfeffer aber mit sehr verfeinerter Technik bewerkstelligt worden. Die Ferrozyankupfermembran hat sich sowohl für Traubenzucker wie für Rohrzucker undurchlässig erwiesen; beide Zuckerarten sind auch in Arbeit gezogen und zwar zum Teil in viel stärkeren Konzentrationen und auch bei höheren Temperaturen als in Pfeffers Versuchen. Die Bestimmungen haben mit beiden Stoffen zu dem Schluß geführt, daß der osmotische Druck besonders bei Temperaturen über 30° gleich ist dem Drucke eines Gases, das in äquivalenter Molekularmenge bei der gleichen Temperatur das Volumen des reinen Lösungsmittels einnimmt. Die folgende Tabelle ergibt Ziffern, welche mit Rohrzuckerlösungen in verschiedenen Konzentrationen und bei verschiedenen Temperaturen erhalten wurden<sup>1)</sup>. Die Konzentrationen sind normale, wenn man unter Normallösung eine Lösung versteht, welche ein Grammolekül auf ein Liter Wasser enthält (nicht ein Grammolekül auf ein Liter Lösung). Die als Resultate eingetragenen Ziffern geben das Verhältnis des gefundenen osmotischen Druckes zum berechneten Gasdruck an für die angewandte Konzentration und Temperatur. Bei vollkommener Übereinstimmung zwischen osmotischem Druck und Gasdruck würde dieses Verhältnis = 1 sein. Wie ersichtlich, ist die Übereinstimmung besser für höhere Temperaturen als für niedrige. Da aber die Übereinstimmung für alle Temperaturen eine genügende ist, so erleuchtet aus den Versuchen, daß das Gay-Lussacsche Gesetz auch für den osmotischen Druck in Geltung ist.

<sup>1)</sup> Amer. Chem. Journ. 45, 92 (1912).

Temp.	Konzentrationen der Rohrzuckerlösungen									
	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0
0°	(1,106)	1,061	1,061	1,060	1,069	1,077	1,083	1,093	1,104	1,115
5°	1,082	1,063	1,058	1,059	1,067	1,074	1,084	1,093	1,102	1,115
10°	1,082	1,060	1,059	1,060	1,066	1,073	1,083	1,092	1,102	1,113
15°	1,082	1,061	1,061	1,059	1,068	1,073	1,083	1,093	1,102	1,115
20°	1,084	1,062	1,060	1,060	1,067	1,073	1,084	1,093	1,103	1,115
25°	1,084	1,059	1,060	1,059	1,065	1,071	1,083	1,093	1,102	1,113
30°	1,000	1,020	1,031	1,040	1,050	1,060	1,069	1,081	1,089	1,101
40°	1,003	1,011	1,024	1,038	1,046	1,054	1,059	1,067	1,076	1,085
50°	1,000	1,002	1,009	1,017	1,025	1,032	1,041	1,049	1,059	1,071
60°	1,000	1,001	0,999	1,000	1,006	1,015	1,020	1,027	1,033	1,044
70°	—	—	—	—	1,000	1,002	0,999	1,008	1,015	1,023
80°	—	—	—	—	—	—	—	1,001	1,000	1,000

In bezug auf die absolute Größe des osmotischen Druckes sei bemerkt, daß die größte in den erwähnten Versuchen angewandte Konzentration (1,0 normale oder 34%ige) einen Druck von 24 Atm. ergab. Es handelt sich also um ganz beträchtliche Druckgrößen. Die Resultate von Morse und Mitarbeitern unterscheiden sich von Pfeffers Ergebnissen nur insofern, daß der dem osmotischen Drucke gleichkommende Gasdruck im ersten Falle (Morse u. a.) für das Volumen des angewandten Lösungsmittels (siehe oben) und im letzten (van't Hoff) für das Volumen der Lösung berechnet wurde.

Die direkte Bestimmung des osmotischen Druckes kristalloider Substanzen ist nur mit Anwendung von Ferrozyankupfermembranen ausgeführt worden. Die kristalloiden Stoffe, für welche die Bestimmung gelungen ist, sind Rohrzucker und Traubenzucker, und nur für diese Stoffe ist deshalb die Übereinstimmung zwischen dem osmotischen Drucke und dem Gasdrucke erwiesen. Der Mißerfolg, über welchen beim Gebrauch von anderen Membranen als solche aus Ferrozyankupfer berichtet wurde, dürfte wohl zum Teil daran liegen, daß die angewandten Membranen für den gelösten Stoff nicht völlig impermeabel waren. Indessen haben Kahlenberg<sup>1)</sup> sowie Wilcox<sup>2)</sup> Versuche mit Pyridinlösungen von Zucker und Kautschukmembranen ausgeführt, welche keine mit der Theorie von van't Hoff stimmende Werte ergaben, obwohl die Membran in diesem Falle wirklich halbdurchlässig war. E. Cohen und J. W. Commelin<sup>3)</sup> haben Fehlerquellen in diesen Versuchen nachgewiesen, aber trotzdem mit einer derartigen Anordnung keine stimmenden Resultate bekommen.

Die Frage, wie man das Zustandekommen des osmotischen Druckes sich denken soll, ist verschieden beantwortet worden. Wenn man von der Übereinstimmung zwischen dem osmotischen Druck und dem Gasdruck ausgeht, liegt es am nächsten, anzunehmen, daß beide in der gleichen Weise entstehen, nämlich — nach der kinetischen Theorie — durch das Anprallen der in vibratorischer Bewegung befindlichen Moleküle gegen die Wände des Gefäßes (beim Gasdruck) oder gegen die Oberfläche der Lösung (beim osmotischen Druck). In dieser Weise läßt sich aber entweder nicht oder nur sehr schwer erklären, warum im Pfefferschen Versuche (S. 2) Wasser durch die Membran in die Zelle eindringt. Die oben angewandte Anschauungsweise, nach welcher der

<sup>1)</sup> Journ. Physik. Chem. **10**, 141 (1906).

<sup>2)</sup> Ebenda **14**, 576 (1910).

<sup>3)</sup> Zeitschr. physik. Chem. **64**, 1 (1908).

osmotische Druck durch eine Anziehung zwischen Lösungsmittel und gelöstem Stoff zustande kommt, erklärt ungezwungen das erwähnte Phänomen.

Die außerordentlichen experimentellen Schwierigkeiten, welche der Herstellung von Membranen in dem Wege stehen, welche für die direkte Messung des osmotischen Druckes sich eignen, hat gemacht, daß die Bestimmung in fast allen Fällen leichter und sicherer mit Hilfe indirekter Methoden geschieht.

## Indirekte Methoden zur Messung des osmotischen Druckes.

Wenn man, wie wir oben getan haben, den osmotischen Druck als eine Anziehung zwischen gelöster Substanz und Lösungsmittel auffaßt, so folgt unmittelbar, daß der osmotische Druck einer eventuellen Trennung des gelösten Stoffes vom Lösungsmittel Widerstand leisten muß. Es gibt verschiedene Wege, auf welche diese Trennung bewerkstelligt werden kann. Unter diesen wollen wir nur zwei näher ins Auge fassen, nämlich die Entfernung des Lösungsmittels aus der Lösung einer nicht flüchtigen Substanz durch Verdampfung und das Ausfrieren des Lösungsmittels aus einer verdünnten Lösung. Wenn der osmotische Druck durch eine Anziehung zwischen Lösungsmittel und gelöster Substanz bedingt ist, so müssen verschiedene Lösungen, welche mit demselben Lösungsmittel hergestellt sind und den gleichen osmotischen Druck besitzen, das Lösungsmittel gleich stark anziehen und folglich dieselbe Dampfspannung zeigen. Da nun verschiedene Lösungen bei der Siedetemperatur (unter dem nämlichen Luftdruck) alle den gleichen Dampfdruck haben, so sieden Lösungen gleichen osmotischen Druckes bei derselben Temperatur. Ferner ist klar, daß die Dampfspannung des Lösungsmittels über der Lösung eines nicht flüchtigen Stoffes infolge der Anziehung zwischen Lösungsmittel und gelöstem Stoff geringer sein muß als die über dem reinen Lösungsmittel bei der gleichen Temperatur. Beim Sieden des reinen Wassers bei  $100^{\circ}$  ist der Dampfdruck eine Atmosphäre. Ist nun eine Wasserlösung einer nicht flüchtigen Substanz vorhanden, so erreicht die Dampfspannung des Wassers bei  $100^{\circ}$  nicht eine Atmosphäre; die Spannung des Wasserdampfes überwindet folglich nicht den Atmosphärendruck bei  $100^{\circ}$ , und die Lösung braucht eine höhere Temperatur als  $100^{\circ}$ , um den Dampfdruck von einer Atmosphäre zu erreichen und sieden zu können. Folglich liegt der Siedepunkt einer solchen Lösung höher als  $100^{\circ}$ . Der Betrag in Graden, um welchen der Siedepunkt einer Lösung den des reinen Lösungsmittels übersteigt, wird die Siedepunkterhöhung der Lösung genannt.

In einer Weise, auf die hier nicht des näheren eingegangen werden kann, läßt sich herleiten, daß für verdünnte Lösungen eines Stoffes in einem gegebenen Lösungsmittel die Siedepunkterhöhung der Konzentration oder dem osmotischen Drucke proportional ist. Dasselbe gilt für alle Lösungsmittel; doch ist die Siedepunkterhöhung für dieselbe Substanz in verschiedenen Lösungsmitteln ungleich. Die Siedepunkterhöhung einer Wasserlösung, die im Liter ein Mol eines Stoffes enthält, wird die molekulare Siedepunkterhöhung genannt und beträgt  $0^{\circ},52$ . Dieselbe Zahl ist für Äthylalkohol  $1^{\circ},15$ , Chloroform  $3^{\circ},66$ , Benzol  $2^{\circ},7$ . Diese Gesetzmäßigkeiten bezüglich der Dampfdruckerniedrigung und Siedepunkterhöhung waren von Raoult für viele Stoffe experimentell begründet <sup>1)</sup>, bevor dieselben von van't Hoff theoretisch hergeleitet wurden <sup>2)</sup>.

<sup>1)</sup> Compt. Rend. **87**, 167 (1878), **104**, 1430 (1887); Zeitschr. physik. Chem. **2**, 357 (1888).

<sup>2)</sup> Ebenda **1**, 481 (1887).

Ein anderes für die physiologische Chemie viel wichtigeres Gesetz wurde auch zunächst von Raoult experimentell gefunden und dann von van't Hoff theoretisch bestätigt. Dieses Gesetz lautet: Löst man in einem beliebigen Lösungsmittel äquimolekulare Mengen beliebiger Substanzen auf, so wird der Gefrierpunkt um gleich viel erniedrigt<sup>1)</sup>. Der Betrag in Graden, um welchen der Gefrierpunkt erniedrigt wird, heißt Gefrierpunktserniedrigung und wird mit  $\Delta$  bezeichnet. Dieselbe ist für einen gegebenen Stoff dem Gehalte an gelöster Substanz proportional [Blagden<sup>2)</sup>]. Diese Gesetze sind nur für verdünnte Lösungen in Geltung. Die molekulare Gefrierpunktserniedrigung ist für Wasser als Lösungsmittel 1<sup>o</sup>,86, für Phenol 7<sup>o</sup>,3, für Benzol 5<sup>o</sup>, für Eisessig 3<sup>o</sup>,9.

Es sei in diesem Zusammenhang hervorgehoben, daß beim Gefrieren verdünnter Lösungen das reine Lösungsmittel in fester Form ausgeschieden wird. Auch hier werden also Lösungsmittel und gelöster Stoff voneinander geschieden, und das eben in bezug auf den Gefrierpunkt Gesagte kann auch in folgender Weise ausgedrückt werden: Lösungen mit einem gegebenen Lösungsmittel hergestellt, welche denselben osmotischen Druck besitzen, zeigen auch dieselbe Gefrierpunktserniedrigung; diese ist für verdünnte Lösungen dem osmotischen Drucke oder der Konzentration proportional.

Nach einem von van't Hoff angegebenen Verfahren kann die molekulare Siedepunktserhöhung für verschiedene Lösungsmittel aus der Verdampfungswärme und dem Siedepunkt derselben berechnet werden und ebenso die molekulare Gefrierpunktserniedrigung aus der Schmelzwärme und der Schmelztemperatur. Die so berechneten Größen zeigen eine auffallende Übereinstimmung mit den durch direkte Beobachtungen erhaltenen, und diese Tatsache macht eine gute Stütze aus für die van't Hoff'sche Theorie der Lösungen.

Dem oben Gesagten zufolge kann also der osmotische Druck bestimmt werden durch Ermittlung einerseits der Siedepunktserhöhung, andererseits der Gefrierpunktserniedrigung. Die erste Methode hat in der Biologie praktisch keine Anwendung gefunden, weil Lösungen, welche biologisch wichtige Stoffe enthalten, oft beim Sieden oder bereits beim Erwärmen ihre Natur ändern, was die Bestimmung stören könnte. Dafür spielt aber die Ermittlung der Gefrierpunktserniedrigung eine wichtige Rolle in der biologischen Technik. Dieselbe wird mit Hilfe eines von Beckmann konstruierten Apparates ausgeführt<sup>3)</sup>.

In seiner einfachsten Form besteht dieser Apparat aus folgenden Teilen (Fig. 1). Ein starkes Probierrohr (A) mit einem seitlichen Stutzen enthält die zu untersuchende Flüssigkeit und das darin tauchende Thermometer (D). Das Rohr A ist mit zweimal durchbohrtem Stopfen versehen, der einerseits das Thermometer trägt, andererseits einen leicht beweglichen Rührer durchtreten läßt. Durch einen anderen Stopfen ist das Rohr A in einem weiteren und kürzeren Rohre B verfestigt, das als Luftmantel dient. Das Ganze steckt im Deckel eines starkwandigen Glases C, das eine Kältemischung (z. B. Wasser, Eis und Kochsalz) enthält. Das Beckmannsche Thermometer trägt eine Skala, deren Graduierung in  $\frac{1}{100}$  Grad 5—6<sup>o</sup> C umfaßt, und ist oben derart mit einem Quecksilberreservoir versehen, das die bei den Versuchen angewandte Queck-

1) Ann. chim. phys. [6], 2, 66 (1884), Compt. Rend. 101, 1056 (1885).

2) Phil. trans. 78, 277 (1788).

3) Zeitschr. physik. Chem. 2, 7, 15, 21.

silbermenge variiert und folglich der 0-Punkt zu jedem beliebigen Teil der Skala verlegt werden kann. Wenn man z. B. ins Thermometerrohr mehr Quecksilber einführen will, so geschieht dies dadurch, daß man zunächst das Thermometer umkehrt, durch leises Anklopfen das Vorratsquecksilber in das obere Ende des Reservoirs bringt, das Thermometer aufrichtet, die Kugel mit der Hand so lange erwärmt, bis der Quecksilberfaden sich mit dem in dem Reservoir befindlichen vereinigt und nunmehr die Kugel abkühlt. Dabei wird mehr oder weniger von dem Reservequecksilber mit ins Thermometerrohr eingezogen. Sobald etwa die gewünschte Menge hineingetreten ist, trennt man das überschüssige Quecksilber vom Quecksilberfaden, indem man das Thermometer mit der einen Hand faßt und auf deren Gelenk mit der anderen Hand schlägt. — Der Rührer besteht entweder ganz aus Platin oder aus einem gläsernen Stiel mit unten angeschmolzenem horizontalen Ring aus starkem Platindraht.

Bei der Ermittlung der Gefrierpunktserniedrigung einer Lösung muß außer dem Gefrierpunkt der Lösung auch der des Lösungsmittels bestimmt werden. Bei jeder Bestimmung wird die zu untersuchende Lösung in das Rohr A gebracht und das Thermometer und der Rührer eingesetzt. Die Kältemischung im Gefäße C wird auf eine Temperatur von einigen Graden unter dem Gefrierpunkte des Inhaltes von A geregelt. Das Rohr A wird aus dem Luftmantel B entfernt und durch unmittelbares Eintauchen in das Bad C bis zum angenähert bestimmten Gefrierpunkt des Inhaltes abgekühlt. Dann wird es gereinigt, in den Luftmantel eingesetzt und unter langsamem Rühren untergekühlt ( $0,5-2^{\circ}$ ). Darauf wird durch kurzdauerndes heftiges Rühren oder durch Impfung mit gefrorenem Lösungsmittel durch das seitliche Röhrchen das Gefrieren eingeleitet. Unter ständigem langsamen Rühren steigt nun das Quecksilber; die höchste erreichte Temperatur entspricht dem Gefrierpunkte der Flüssigkeit. Bei der Bestimmung des Gefrierpunktes von Lösungen bleibt das Thermometer nicht konstant, sondern sinkt allmählich in dem Maße wie die Lösung durch Ausfrieren des Lösungsmittels konzentrierter wird.

Es braucht wohl kaum erwähnt zu werden, daß, falls die Menge an gelöster Substanz bekannt ist, die Gefrierpunktserniedrigung für die Berechnung des Molekulargewichtes des fraglichen Stoffes angewandt werden kann. Die Berechnung geschieht nach der Formel

$$M = E \cdot \frac{S}{\Delta \cdot L},$$

wo M das Molekulargewicht des gelösten Stoffes, S dessen Gewicht in Grammen, L das Gewicht des Lösungsmittels in Kilogrammen,  $\Delta$  die beobachtete Gefrierpunktserniedrigung und E die molekulare Gefrierpunktserniedrigung für Lösungen in dem angewandten Lösungsmittel (für Wasser  $1^{\circ},86$ , siehe oben).

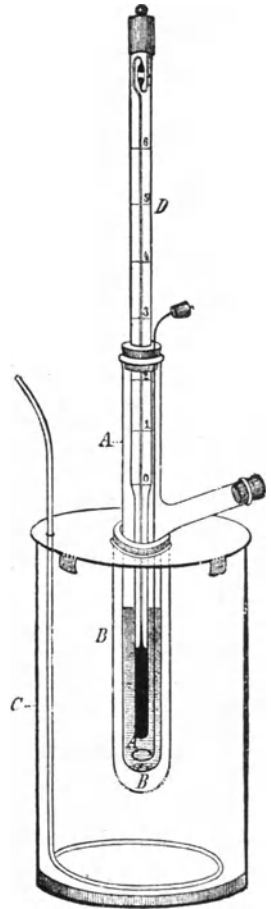


Fig. 1.



## Die elektrolytische Dissoziation.

Die oben besprochene Regel, daß Lösungen gleicher molekularer Konzentration, welche mit demselben Lösungsmittel hergestellt sind, die gleiche Siedepunktserhöhung sowie auch dieselbe Gefrierpunktserniedrigung zeigen oder den nämlichen osmotischen Druck besitzen, ist nicht für alle Lösungen gültig, was bereits aus den Bestimmungen von Raoult hervorging. Gewisse Stoffe, nämlich Säuren, Basen und Salze zeigen nämlich in wässrigen Lösungen eine Siedepunktserhöhung sowie eine Gefrierpunktserniedrigung, welche die für Lösungen anderer Substanzen um ein bedeutendes übertreffen. Diese Stoffe ergeben also einen stärkeren osmotischen Druck als nach der molekularen Konzentration zu erwarten wäre.

Wegen der Analogie zwischen dem osmotischen Druck und dem Gasdruck mag zunächst erwähnt werden, daß gewisse Gase einen größeren Druck zeigen als aus deren Zusammensetzung zu erwarten wäre. Der Dampf des Salmiaks zeigt einen viel größeren Druck als aus der Formel  $\text{NH}_4\text{Cl}$  sich berechnen läßt. Dies liegt daran, daß der Salmiakdampf fast vollständig in  $\text{NH}_3$  und  $\text{HCl}$  „dissoziiert“ ist, und daß jedes Molekül für sich eine ebenso große Spannung ergibt wie ein nicht dissoziiertes Molekül. In Analogie hiermit wäre anzunehmen, daß auch diejenigen Stoffe, welche bezüglich des osmotischen Druckes abnorm hohe Werte ergeben, auch in irgendwelcher Weise dissoziiert sind. Die fraglichen Stoffe sind tatsächlich dieselben, welche in Wasserlösung die Elektrizität leiten. Für diesen Prozeß hat bereits Claudius eine Theorie aufgestellt, nach der die leitenden Stoffe durch den Strom in positiv und negativ geladene sog. Ionen getrennt werden, welche die Elektrizität transportieren <sup>1)</sup>. Das Vermögen eines Ions, die Elektrizität zu leiten, liegt einerseits an der Größe dessen Ladung, andererseits an dessen Wanderungsgeschwindigkeit. Gleichwertige Ionen haben die gleiche Ladung. Diese Idee hat Arrhenius zu einer sehr fruchtbaren Theorie entwickelt <sup>2)</sup>.

Nach der Theorie von Arrhenius leiten nur diejenigen Moleküle die Elektrizität, welche in Ionen aufgeteilt oder dissoziiert sind. Die Ionen, welche positive Elektrizität führen und demnach zur Kathode wandern, werden Kationen genannt und die mit negativer Elektrizität Anionen. In Säuren repräsentieren die Wasserstoffionen die Kationen und der Rest ist das Anion. In  $\text{HCl}$  sind die Ionen  $\text{H}^+$  und  $\text{Cl}^-$ ; in  $\text{H}_2\text{SO}_4$  haben wir zwei  $\text{H}$ -Ionen und ein Anion  $\text{SO}_4^-$ . In den Basen ist  $(\text{OH})^-$  Anion und der Rest Kation; in  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  sind die Ionen  $\text{Ba}^+$  und zwei  $(\text{OH})^-$ . In den Salzen ist die Anordnung eine ähnliche, z. B.  $\text{Na}^+$  und  $\text{Cl}^-$  in  $\text{NaCl}$ ; in  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  haben wir die Ionen  $2 \text{Na}^+$  und  $\text{SO}_4^-$ . Nach der Theorie übt ein Ion einen ebenso großen Einfluß auf den osmotischen Druck aus wie ein nicht dissoziiertes Molekül. Während also der osmotische Druck für einen nicht dissoziierten Stoff durch die Anzahl der Moleküle in eingewisses Volumen gegeben wird, ist für eine dissoziierte Substanz die Anzahl der Ionen + nicht dissoziierter Moleküle bestimmend. Wie läßt sich diese Anzahl berechnen?

Die Zahl, welche angibt, ein wie großer Bruchteil der Moleküle dissoziiert ist, wird der Dissoziationsgrad genannt und wird mit  $\alpha$  bezeichnet. Je nach der Größe von  $\alpha$  unterscheidet man zwischen starken und schwachen Elektro-

<sup>1)</sup> Poggend. Ann. **101**, 338 (1857).

<sup>2)</sup> Zeitschr. physik. Chem. **1**, 631 (1887).

lyten. Zur ersten Klasse gehören die anorganischen ein- und zweiwertigen Säuren und Basen sowie die Salze solcher Säuren und Basen. Zu den schwachen Elektrolyten gehören hauptsächlich die organischen Säuren und Basen sowie Ammoniak. Hierher sind auch diejenigen Salze zu rechnen, welche durch Verbindung solcher Säuren und Basen gebildet sind. Die starken Elektrolyte sind in mäßiger Verdünnung sehr stark dissoziiert ( $\alpha = 0,7-0,9$ ), während die schwachen nur zu wenigen Prozenten dissoziiert sind. Der Dissoziationsgrad steigt mit der Verdünnung der Lösung und bei genügender Verdünnung nähert sich derselbe der Ziffer 1, d. h. alle vorhandenen Moleküle sind dissoziiert. Da nur die Ionen die Elektrizität leiten, ist die molekulare Leitfähigkeit

$\left( \frac{\text{Leitfähigkeit}}{\text{molekulare Konzentration}} \right)$  der Zahl der Ionen oder dem Dissoziationsgrade proportional. Wenn  $\lambda_v$  die bei einer gegebenen Verdünnung gemessene Leitfähigkeit bedeutet und  $\lambda_\infty$  der Grenzwert, zu welchem bei zunehmender Verdünnung die Leitfähigkeit sich nähert, haben wir also

$$\lambda_v : \lambda_\infty = \alpha_v : 1,$$

wo  $\alpha_v$  der Dissoziationsgrad beim Volumen  $v$  bezeichnet. Folglich ist

$$\alpha_v = \frac{\lambda_v}{\lambda_\infty}.$$

Aus den bekannten Größen  $\lambda_v$  und  $\lambda_\infty$  kann also  $\alpha_v$  berechnet werden. Ist nun  $\alpha_v$  der dissoziierte Bruchteil der Moleküle, so ist  $1 - \alpha_v$  der nicht dissoziierte Bruchteil. Von 100 Moleküle sind folglich  $100 \alpha_v$  dissoziiert und  $100 (1 - \alpha_v)$  nicht dissoziiert. Wird nun bei der Dissoziation eines Moleküles  $n$  Ionen gebildet, so ist die Zahl der Ionen  $= 100 \alpha_v \cdot n$  und die Zahl der nicht dissoziierten Moleküle + Ionen wird

$$100 (1 - \alpha_v) + 100 \alpha_v n \text{ oder} \\ 100 [1 + (n - 1) \alpha_v].$$

Da ferner für den osmotischen Druck eines dissoziierten Stoffes die Anzahl Ionen + Moleküle entscheidend ist und für den eines nicht dissoziierten Stoffes die Zahl der Moleküle, so ist der osmotische Druck der Lösung einer dissoziierten Substanz im Vergleich mit dem einer nicht dissoziierten von der gleichen molekularen Konzentration gesteigert im Verhältnis

$$100 [1 + (n - 1) \alpha_v] : 100 \text{ oder} \\ [1 + (n - 1) \alpha_v] : 1.$$

Kennen wir  $n$  und  $\alpha_v$ , so läßt sich also z. B. die Gefrierpunktserniedrigung einer dissoziierten Substanz aus der einer nicht dissoziierten von der gleichen molekularen Konzentration berechnen. Für NaCl ist  $n = 2$  und bei 0,1 normaler Konzentration ist  $\alpha$  etwa  $= 0,85$ . Die Zahl  $1 + (n - 1)\alpha$  ist folglich  $= 1,85$ . Da nun  $\Delta$  für eine nicht dissoziierte Substanz  $= 1,86$ , so haben wir für die Berechnung der Gefrierpunktserniedrigung ( $x$ ) von der NaCl-Lösung

$$1,86 : x = 1 : 1,85 \text{ oder } x = 3^0,44.$$

In der Weise konnte Arrhenius eine genügende Übereinstimmung zwischen den aus dem Leitvermögen und aus dem Gefrierpunkte erhaltenen Zahlen nachweisen, was sehr zugunsten seiner Theorie sprach.

Eigentlich läßt sich der osmotische Druck mit Hilfe der elektrischen Leitfähigkeit genauer bestimmen als mit der Gefriermethode, mindestens wenn es um schwach dissoziierte Stoffe sich handelt. Da aber die Bestimmung der elektrischen Leitfähigkeit nunmehr nur in Ausnahmefällen in der Biologie zur

Anwendung kommt, wird die Technik derselben hier keine Berücksichtigung finden. Der dafür Interessierte wird deshalb auf andere Werke verwiesen, z. B. Ostwald-Luther, Physiko-chemische Messungen.

## Osmotische Versuche mit Pflanzenzellen.

Die Lehre vom osmotischen Druck hat deshalb für die Physiologie ein großes Interesse, weil es in der Natur eine große Zahl von für gewisse Lösungen halbdurchlässigen Membranen oder in der gleichen Weise wirkenden Einrichtungen gibt. Der erste, der auf diese Tatsache die Aufmerksamkeit hinlenkte, war Nägeli, welcher fand, daß geeignete Pflanzenzellen, wenn sie mit genügend konzentrierten Lösungen gewisser Stoffe behandelt werden, ihr Aussehen derart ändern, daß das Protoplasma von der Zellwand sich zurückzieht<sup>1)</sup>. Die Deutung des Phänomens wurde auch von Nägeli gegeben und lautet, daß diejenigen Stoffe, welche in Lösung die genannten Veränderungen der Zellen hervorrufen, wohl die Zellulosemembran durchzudringen vermögen, aber nicht die darauf folgende Protoplasmaschicht. Diese letztere ist also gegen die fraglichen Lösungen als eine halbdurchlässige Membran zu betrachten. Nachher hat de Vries mit dem fraglichen Phänomen eingehend sich befaßt<sup>2)</sup>. Nach ihm wird dasselbe Plasmolyse genannt. Nach dem oben über halbdurchlässige Membranen Gesagten kann man das Zustandekommen der Plasmolyse in der Weise sich denken, daß eine starke Lösung einer Substanz, welche nicht in das Zellprotoplasma einzudringen vermag, Wasser aus den Zellen zu sich nehmen muß. Der Zellinhalt muß folglich sein Volumen entsprechend vermindern, das Protoplasma zieht sich von der Zellulosemembran mehr oder weniger zurück und der entstandene Zwischenraum wird von der Lösung eingenommen. Es mag bemerkt werden, daß vorzugsweise solche Zellen für plasmolytische Versuche verwendet werden können, welche ein gefärbtes Protoplasma besitzen, weil in solchen Fällen die Plasmolyse leicht zu beobachten ist. de Vries wandte am meisten die Oberhautzellen auf der Unterseite der Blätter von *Rhoco discolor* an.

Nur diejenigen Konzentrationen einer Lösung, deren Wasseranziehungsvermögen größer ist als das des Protoplasmainhaltes, können Plasmolyse hervorrufen. Werden die Zellen mit einer Lösung behandelt, deren Wasseranziehungsvermögen geringer ist als das des Protoplasmas, so nimmt umgekehrt das Protoplasma Wasser von der Lösung auf. Dies beweist, daß die Protoplasmahaut auch für die Stoffe, welche das Wasseranziehungsvermögen des Protoplasmas bedingen, undurchlässig ist.

Da das Wasseranziehungsvermögen oder der osmotische Druck mit der Konzentration zunimmt, so muß es also für jeden Stoff, der überhaupt Plasmolyse erzeugt, eine Grenzlösung geben, von der ab alle stärkeren Konzentrationen Plasmolyse ergeben. Diese Grenzlösung wird als den gebrauchten Zellen isotonisch bezeichnet, schwächere Konzentrationen sind hypotonisch, stärkere hypertotonisch in bezug auf dieselben Zellen. de Vries bestimmte unter Benutzung der nämlichen Pflanzenzellen für verschiedene Stoffe die Stärke der isotonischen Lösungen in molekularer Konzentration. Zu dem Zwecke wurde die Konzentration, in Gramme pro 1000 ccm ausgedrückt, mit dem Molekular-

<sup>1)</sup> Pflanzenphysiologische Untersuchungen 1855.

<sup>2)</sup> Jahresber. wissensch. Botanik 14, 427 (1884); Zeitschr. physik. Chem. 2, 425 (1888), 3, 109 (1889).

gewichte geteilt. Es stellte sich heraus, daß der Zellsaft von *Rhoeo discolor* mit einer Salpeterlösung von etwa 1,4% oder 14 Gramm pro Liter isotonisch war. Wird diese Ziffer mit dem Molekulargewicht des Kalisalpeters (101) geteilt, so wird die molekulare Konzentration der Grenzlösung 0,138 erhalten. In der gleichen Weise wurde mit anderen Stoffen verfahren. Indem er also für verschiedene Substanzen die Konzentration bestimmte, welche mit dem Zellsaft desselben Gewebes isotonisch war, bekam er offenbar Lösungen, die unter sich den gleichen osmotischen Druck besaßen. Parallel mit jeder Bestimmung wurde die isotonische Konzentration für Kalisalpeters bestimmt. Die reziproken Werte der gefundenen isotonischen molekularen Konzentrationen zeigen ohne weiteres den relativen osmotischen Druck der Moleküle der untersuchten Stoffe. Als Einheit der molekularen osmotischen Druckkraft wurde  $\frac{1}{2}$  der von Kalisalpeters gewählt. Die so erhaltenen Zahlen wurden „Isotonische Koeffizienten“ genannt. Dieselben sind zum Teil in folgende Tabelle eingetragen. Gewisse dieser Koeffizienten sind mit einer anderen Methode erhalten, die von de Vries die Methode der Gewebsspannung genannt wurde. Die Bestimmung wurde in der Weise ausgeführt, daß wachsende Sproßgipfel in vier gleiche Längsstreifen gespalten wurden, worauf geprüft wurde, in welcher Konzentration diese Wasser aufnahmen resp. abgaben, was an zunehmender bzw. abnehmender Krümmung zu ersehen war. Änderte sich diese nicht, so war die Lösung den Gewebezellen isotonisch. Da diese Methode die gleichen Werte ergab wie die plasmolytische, werden die nach beiden Methoden erhaltenen Zahlen nicht getrennt.

	Isot. Koeff.		Isot. Koeff.
Rohrzucker . . . . .	1,88	Kaliumoxalat . . . . .	3,93
Invertzucker. . . . .	1,88	Kaliumsulfat . . . . .	3,92
Kaliumnitrat . . . . .	3,00	Bikaliumphosphat . . . . .	3,96
Natriumnitrat . . . . .	3,00	Kaliumtartrat . . . . .	3,99
Chlorkalium . . . . .	3,00	Bikaliumzitrat . . . . .	4,08
Chlornatrium . . . . .	3,05	Trikaliumzitrat . . . . .	5,01
Chlorammonium . . . . .	3,00	Magnesiumsulfat . . . . .	1,96
Kaliumazetat . . . . .	3,00	Chlormagnesium . . . . .	4,33
Monokaliumzitrat . . . . .	3,05	Chlorkalzium . . . . .	4,33

Aus der Tabelle ergibt sich, daß die untersuchten Stoffe in verschiedene Klassen eingeteilt werden können, welche unter sich die gleichen isotonischen Koeffizienten oder den gleichen molekularen osmotischen Druck zeigen. Solche Klassen bilden:

1. Die nicht dissoziierten Stoffe Rohrzucker und Invertzucker (Isotonischer Koeffizient = 1,88).
2. Alkalisalze mit einbasischen Säuren, also Haloidsalze, Nitrate, Azetate (isotonischer Koeffizient = 3,00).
3. Alkalisalze mit zweibasischen Säuren, z. B. Sulfate, Oxalate, Diphosphate, Tartrate (isotonischer Koeffizient = 3,95).
4. Haloidsalze der Erdalkalien (isotonischer Koeffizient = 4,33).

Wir wissen nunmehr, daß die gleiche molekulare osmotische Wirkung innerhalb der angeführten Klassen daran liegt, daß die Substanzen, welche derselben Klasse gehören, bei derselben molekularen Konzentration gleich stark dissoziiert sind sowie auch bei der Dissoziation die gleiche Zahl von Ionen liefern oder, in anderer Weise ausgedrückt, daß die Zahl  $1 + (n - 1)\alpha$ , welche für

den Betrag des molekularen osmotischen Druckes bestimmend ist (S. 11), für dieselbe Klasse gleich ist. Dagegen ist diese Zahl für die ungleichen Klassen verschieden und für die nicht dissoziierten Stoffe ist dieselbe = 1.

Aus dem Gesagten versteht sich, daß die in der Tabelle aufgenommenen Stoffe die Plasmahaut der Pflanzenzellen entweder nicht oder nur in sehr beschränktem Grade durchzudringen vermögen. Nur solche Stoffe ergeben nämlich bei genügender Konzentration Plasmolyse. Es kann, wie wir weiter unten ersehen werden, eintreffen, daß ein Stoff zunächst Plasmolyse erzeugt, die aber allmählich verschwindet. Dies liegt daran, daß der fragliche Stoff nur allmählich in die gebrauchten Zellen eindringt.

Eine zweite Methode zur Prüfung der Permeabilität von Pflanzenzellen bezieht sich auf die Aufnahme bzw. Nichtaufnahme in die lebenden Zellen von Farbstoffen und beruht auf direkter mikroskopischer Beobachtung, ob Färbung des Protoplasmas eintritt oder nicht. Auf diesem Wege konnte Overton das Eindringen von basischen Anilinfarbstoffen dartun, während die Salze der sulfosauren Farbstoffe nicht eindringen<sup>1)</sup>. Eine dritte Methode beruht auf der Anwendung von Zellen, welche Gerbstoffe in ihrem Saft enthalten<sup>2)</sup>. Gerbstofflösungen bilden nämlich mit vielen Stoffen, z. B. vielen Alkaloiden, schwer lösliche Niederschläge. Alkaloide geben nach Overton auch in sehr verdünntem Zustande Niederschläge in Spirogyrazellen und dringen folglich leicht ein.

### Versuche mit animalen Zellen.

In ähnlicher Weise wie die Pflanzenzellen verhalten sich in mehreren Beziehungen animale Zellen. Es ist eine alte Erfahrung, daß rote Blutkörperchen durch destilliertes Wasser unter Freiwerden von Hämoglobin zerstört oder hämolytisch werden, während gewisse Salze in gehöriger Konzentration dieselben vor Zerfall schützen<sup>3)</sup>. Diese Verhältnisse hat Hamburger einer systematischen Prüfung unterzogen<sup>4)</sup>. Hierbei stellte sich heraus, daß, wenn Blut mit einem gegebenen Volumen verschieden konzentrierter Lösungen eines Salzes vermischt wird, alle Lösungen, deren Konzentration unter einer gewissen Grenze liegen, das Hämoglobin austreten lassen, was daraus zu ersehen ist, daß die Mischung beim Absetzen der Blutkörperchen mehr oder weniger rot gefärbt erscheint. Stärkere Salzlösungen ergeben eine farblose oder schwach gelblich gefärbte Flüssigkeit. Hamburger bestimmte für verschiedene Salze die Konzentration der Grenzlösung, unter deren Einfluß das Hämoglobin eben auszutreten anfing. Als die so gefundenen Konzentrationen, in Grammen pro 1000 ccm ausgedrückt, durch Teilung mit den Molekulargewichten in molekulare Konzentrationen umgerechnet wurden, zeigten die so erhaltenen Ziffern im allgemeinen dieselben relativen Größen wie die molekularen Konzentrationen von de Vries Grenzlösungen<sup>5)</sup>. In der Tabelle S. 16 ist für die aus Hamburgers Versuchen berechneten isotonischen Koeffizienten dieselbe Einheit wie für de Vries' Koeffizienten gewählt, also der isotonische Koeffizient für Kalisalpete = 3 gesetzt. Wegen der Parallelität zwischen den Ziffern von de Vries und denen von Hamburger ist zu schließen, daß auch bei den Blutkörperchen etwa

1) Jahresber. wissensch. Botanik **34**, 669 (1900).

2) Overton: Vierteljahresber. naturf. Ges. in Zürich **41**, 383 (1896).

3) Hewson: Phil. Trans. 1773, S. 303.

4) Arch. (Anat. u.) Physiol. 1887, S. 31; Zeitschr. Biol. **26**, 414 (1889).

5) Arch. (Anat. u.) Physiol. 1886, S. 476.

dieselben osmotischen Verhältnisse obwalten wie bei den Pflanzenzellen, oder daß die Blutkörperchen für gewisse Salze nicht oder nur schwer permeabel sind. Wie wir weiter unten erschen werden, herrscht doch in bezug auf die Permeabilität der beiden Arten von Zellen keine vollkommene Parallelität.

Verschiedene Forscher haben versucht, mit dem Mikroskop etwaige plasmolytische Veränderungen von animalen Zellen nachzuweisen, aber ohne besonderen Erfolg <sup>1)</sup>. Mit dem Mikroskop kann man wohl beobachten, daß z. B. rote Blutkörperchen unter dem Einfluß von starken Salzlösungen schrumpfen, aber die Grenzkonzentration, wo das Schrumpfen eben einsetzt, läßt sich nicht genau ermitteln. Wenn man aber die Volumenveränderungen von Millionen von Blutkörperchen sich summieren läßt, was dadurch geschehen kann, daß man Gemengen von Blut und Salzlösungen in graduierten Röhren zentrifugiert und die Länge der im äußeren Ende erhaltenen Blutkörperchensäule mißt, so können ganz geringe Veränderungen nachgewiesen werden. Volumetrische Bestimmungen der Blutkörperchen mit Hilfe der Zentrifugalkraft sind zuerst von Hedin ausgeführt worden <sup>2)</sup>. Der Apparat von Hedin, Hämatokrit genannt, ist in vielen verschiedenen Ausführungen zur Anwendung gekommen. Bei Hedins Versuchen wurde die Blutmischung in graduierten Kapillarröhren eingesaugt, worauf die Röhren im Apparate in solcher Weise verfestigt wurden, daß beide Enden gegen Kautschukplatten gepreßt und in der Weise geschlossen wurden. Mit einer Umdrehungsgeschwindigkeit von etwa 6000 Touren in der Minute wird konstantes Blutkörperchenvolumen in etwa 10 Minuten erhalten.

Die Abhängigkeit des Blutkörperchenvolumens von der Konzentration der umgebenden Salzlösung wurde zuerst von Hamburger beobachtet <sup>3)</sup>. Dann haben Hedin und Köppe von einander unabhängig mehr ausgedehnte Untersuchungen über diese Gelegenheit ausgeführt <sup>4)</sup>. Diejenigen Versuche der beiden Forscher, welche mit Lösungen solcher Salze bewerkstelligt wurden, welche die Blutkörperchen nicht schädigen, stimmen bezüglich der Resultate in der Hauptsache miteinander überein. Als schädigende Lösungen sind besonders zu erwähnen die Alkalikarbonate, Bichromat und Ammoniumsalze. Neutrale Salze der fixen Alkalien sowie von Erdalkalien sind dagegen indifferent. (Vergleiche doch Kapitel 5, wo die sog. antagonistische Salzwirkung abgehandelt wird.) Aus den fraglichen Versuchen ergab sich zunächst, daß die Blutkörperchen in einer schwachen Salzlösung schwellen und in einer starken schrumpfen. Es gibt demnach eine intermediäre Konzentration, welche das Blutkörperchenvolumen unverändert läßt. Diese dem Blutkörperchenvolumen indifferente Konzentration bestimmte Hedin für NaCl in der Weise, daß Oxalatblut (Blut, das durch Zugeben von 1 g Natriumoxalat pro einem Liter Blut am Koagulieren verhindert wurde) zugleich einerseits unverdünnt in einem Röhren von 35 mm Länge zentrifugiert wurde und andererseits mit dem gleichen Volumen NaCl-Lösung verdünnt, in einer 70-mm-Röhre. Wenn nach sehr langem Zentrifugieren dasselbe Blutkörperchenvolumen in beiden Röhren erhalten wurde, war die NaCl-Lösung gegen das Blutkörperchenvolumen indifferent. Es stellte sich ferner heraus, daß die so gefundene NaCl-Lösung etwa

<sup>1)</sup> Siehe z. B. Hamburger: Arch. (Anat. u.) Physiol. 1887, S. 32.

<sup>2)</sup> Skand. Arch. Physiol. II, 134 (1889) u. 360 (1890); Pflügers Arch. 60, 360 (1895).

<sup>3)</sup> Zentralbl. Physiol. 7, 1893 u. 1894.

<sup>4)</sup> Hedin: Skand. Arch. Physiol. 5, 207, 238, 377 (1895); Köppe: Arch. (Anat. u.) Physiol. 1895, S. 154. Siehe auch Hedin: Pflügers Arch. 60, 360 (1895).

den gleichen Gefrierpunkt ergab als das entsprechende Blutserum, oder daß beide Flüssigkeiten den gleichen osmotischen Druck besaßen. Die gefundene Gefrierpunktserniedrigung war indessen etwas zu hoch im Verhältnis zu der normalen Gefrierpunktserniedrigung des Serums infolge der dem Blute zugegebenen Menge von Natriumoxalat. Wie wir unten des näheren ersehen werden, schwankt  $\Delta$  für normales Serum um die Ziffer  $0^0,56$ , was einer NaCl-Lösung von etwa  $0,9\%$  oder rund  $0,15$  norm. entspricht. Diese Konzentration wäre also als die gegen die Blutkörperchen indifferente zu betrachten, insofern als es um Blut von Säugetieren sich handelt.

Ferner hat Hedin den Einfluß von verschiedenen Stoffen auf das Volumen der Blutkörperchen unter sich verglichen, indem für jeden Stoff diejenige Konzentration aufgesucht wurde, welche mit Blut im Verhältnis ein Vol. Blut : ein Vol. Lösung vermischt, das gleiche Volumen Blutkörperchen ergab wie eine  $0,1$  normale Kalisalpeterlösung. Diese molekulare Konzentration wurde gewählt, weil bei dieser eine gegebene Änderung der Konzentration mit einer verhältnismäßig großen Änderung des Blutkörperchenvolumens begleitet wird, wie wir weiter unten ersehen werden. Die mit einer  $0,1$  norm.  $\text{KNO}_3$ -Lösung nach dem angegebenen Verfahren isotonisch gefundenen molekularen Konzentrationen verschiedener Stoffe wurden wie bei de Vries osmotischen Versuchen in isotonische Koeffizienten umgerechnet, wobei der isotonische Koeffizient von  $\text{KNO}_3 = 3$  gesetzt wurde. Die isotonischen Koeffizienten, welche aus den Versuchen von de Vries, Hamburger und Hedin berechnet werden, sind in folgender Tabelle verzeichnet. Im allgemeinen sind nur diejenigen Stoffe, welche nach mindestens zwei der genannten Methoden untersucht wurden, in die Tabelle aufgenommen.

	Isotonische Koeffizienten nach		
	de Vries	Hamburger <sup>1)</sup>	Hedin
Rohrzucker . . . . .	1,88	1,72	1,63
Magnesiumsulfat . . . . .	1,96	2,18	1,79
Kaliumnitrat . . . . .	3,00	3,00	3,00
Natriumnitrat . . . . .	3,00	—	2,99
Chlorkalium . . . . .	3,00	—	2,99
Chlornatrium . . . . .	3,05	3,03	2,83
Jodkalium . . . . .	—	3,04	3,00
Bromkalium . . . . .	—	3,05	3,02
Bromnatrium . . . . .	—	3,03	3,15
Kaliumazetat . . . . .	3,00	2,85	2,73
Kaliumoxalat . . . . .	3,93	4,07	—
Kaliumsulfat . . . . .	3,92	4,70 (?)	3,97
Natriumsulfat . . . . .	—	—	3,98
Kaliumtartrat . . . . .	3,99	,—	3,95
Chlorkalzium . . . . .	4,33	4,05	3,79
Chlormagnesium . . . . .	4,33	3,84	—,
Chlorbarium . . . . .	—	4,03	3,61
Ferroyankalium . . . . .	5,26	—	5,08

Zunächst finden wir durch Hamburgers und Hedins Ziffern bestätigt, daß gewisse der untersuchten Stoffe in Klassen von verschiedenem molekularen

<sup>1)</sup> Arch. (Anat. u.) Physiol. 1886, S. 476.

osmotischen Drucke geordnet werden können, was nach dem bereits Gesagten daran liegt, daß die Zahl  $1 + (n - 1)\alpha$  dieselbe ist innerhalb derselben Klasse. Dann ist zu ersehen, daß nach verschiedenen Methoden erhaltene Zahlen in einigen Fällen gut, in anderen leidlich miteinander übereinstimmen. Die für die Salze der Erdalkalien erhaltenen Ziffern gehen am meisten auseinander. Außerdem ist zu bemerken, daß gewisse organische Säuren (Äpfelsäure, Weinsäure, Zitronensäure) nach de Vries ebensogut wie Zucker Plasmolyse erzeugen; dieselben sind aber nicht in die Resultate aufgenommen, weil Säuren sowie Alkalien die Blutkörperchen zerlegen. Aus dem gleichen Grunde sind mit den Blutkörperchen keine Ziffern für Ammoniaksalze erhalten. Ferner ist hervorzuheben, daß die Versuche der drei Forscher nicht bei der gleichen molekularen Konzentration ausgeführt wurden, indem die Bestimmungen von de Vries in Lösungen stattfanden, die einer etwa 0,14 normalen  $\text{KNO}_3$ -Lösung entsprachen, die von Hamburger in einer etwa 0,1 normalen und die von Hedin in einer etwa 0,125 normalen, was wohl geringe Verschiedenheiten in den Resultaten verursachen könnte, da der Dissoziationsgrad mit der Verdünnung steigt. Schließlich wäre eine genaue Übereinstimmung zwischen den mit Pflanzenzellen und Blutkörperchen erhaltenen Zahlen nur dann zu erwarten, wenn beide Arten von Zellen entweder völlig impermeabel für die geprüften Stoffe wären oder zum mindesten in dem gleichen Grade schwer permeabel. Wie wir weiter unten ersehen werden, ist die Impermeabilität der Blutkörperchen keine vollkommene, sondern wahrscheinlich nehmen die Blutkörperchen unter Umständen etwas Salz auf und können auch etwas abgeben.

In den Zahlen von Hedin fällt es auf, daß der isotonische Koeffizient für  $\text{NaCl}$  nicht unbedeutend niedriger ausgefallen ist als für die übrigen Salze derselben Klasse. Dies bedeutet, daß bei der gebrauchten molekularen Konzentration  $\text{NaCl}$  ein größeres Blutkörperchenvolumen ergab als eine äquivalente  $\text{KNO}_3$ -Lösung. Mindestens zum Teil mag dies daher rühren, daß das Blutplasma normalerweise etwa 0,7%  $\text{NaCl}$  enthält, aber kein  $\text{KNO}_3$ . In bezug auf  $\text{NaCl}$  ist folglich von vornherein das Plasma 0,12 normal. Werden nun wie in Hedins Versuchen gleiche Volumina Blut mit einem Volumen 0,1 normalen Lösungen von  $\text{NaCl}$  und  $\text{KNO}_3$  vermischt, so enthält das Gemenge mit  $\text{NaCl}$  dieses Salz in der gleichen molekularen Konzentration wie das andere Gemenge  $\text{NaCl} + \text{KNO}_3$  enthält. Im ersteren Falle ist folglich  $\text{NaCl}$  mehr konzentriert als im letzteren und deshalb weniger dissoziiert. Der osmotische Druck im Gemenge mit  $\text{KNO}_3$  ist dementsprechend größer als in dem mit  $\text{NaCl}$  und folglich ergibt die  $\text{KNO}_3$ -Lösung ein kleineres Blutkörperchenvolumen als die  $\text{NaCl}$ -Lösung. Indessen mögen auch andere Umstände zu demselben Resultate mitgewirkt haben.

Um eine Vergleichung der mit Zellen erhaltenen molekularen osmotischen Druckkräfte mit den auf andere Wege ermittelten zu gewinnen, sind dieselben in folgender Tabelle zusammengestellt. Die da verzeichneten Zahlen sind berechnet, indem der molekulare osmotische Druck eines nicht dissoziierten Stoffes (z. B. Rohrzucker) = 100 gesetzt wird. Für die dissoziierten Stoffe wird dann der molekulare osmotische Druck durch die Ziffer repräsentiert, welche angibt, wie viele undissoziierte Moleküle + Ionen in einer mit der Rohrzuckerlösung äquimolekularen Lösung des fraglichen Stoffes vorhanden sind. Diese Zahl wird oft mit dem Buchstaben  $i$  bezeichnet.

Aus der Gefrierpunktserniedrigung wird  $i$  durch Teilung der gefundenen Gefrierpunktserniedrigung ( $\Delta$ ) mit der molekularen Gefrierpunkts-



	$\frac{\Delta \cdot 100}{1,86}$		Zahlen von				100 (1 + (n - 1) $\alpha$ ) nach		
	Raoult <sup>1)</sup>	Arrhenius <sup>2)</sup>	de Vries	Fittig <sup>3)</sup>	Hamburger	Hedin	Kohlauch <sup>4)</sup>	van't Hoff u. Reicher <sup>5)</sup>	Gregory <sup>6)</sup>
Magnesiumsulfat . . . . .	103	124	109	101	127	110	137	135	—
Kaliumnitrat . . . . .	165	—	167	164	174	184	181	—	—
Natriumnitrat . . . . .	181	—	167	165	—	183	184	—	—
Chlorkalium . . . . .	179	—	167	168	—	183	186	189	—
Chlornatrium . . . . .	187	196	169	165	175	174	184	—	—
Bromkalium . . . . .	187	—	—	169	177	185	—	—	—
Bromnatrium . . . . .	—	—	—	—	175	193	—	—	—
Jodkalium . . . . .	187	—	—	—	177	184	189	—	—
Kalziumazetat . . . . .	183	—	167	—	166	167	183	—	—
Natriumazetat . . . . .	171	—	—	—	—	167	—	—	—
Kaliumsulfat . . . . .	208	240	217	220	—	244	238	—	—
Natriumsulfat . . . . .	188	250	—	—	—	244	236	—	—
Kaliumtartrat . . . . .	—	—	220	—	—	249	—	—	—
Chlorkalzium . . . . .	266	266	240	237	236	233	—	246	250
Chlorbarium . . . . .	259	—	—	231	234	221	247	—	—
Kalziumnitrat . . . . .	199	248	—	232	—	230	—	247	244
Bariumnitrat . . . . .	216	—	—	214	—	204	227	—	—
Strontiumnitrat . . . . .	219	—	—	225	—	237	—	—	238
Kaliumferrozyanid . . . . .	—	—	309	—	—	312	—	307	—

erniedrigung eines nicht dissoziierten Stoffes ( $1^0,86$ ) erhalten. Da der Gefrierpunkt des Rohrzuckers etwas abnorm sich verhält, wird Rohrzucker nicht in die Tabelle aufgenommen. In eben angegebener Weise sind die Zahlen der ersten und zweiten Kolumne erhalten worden.

Aus den isotonischen Koeffizienten (Tab. S. 13) wird  $i$  wie folgt berechnet:

$$i : \text{isot. Koeff.} = 100 : \text{isot. Koeff. für Rohrzucker.}$$

In der Weise sind die in die dritte, vierte, fünfte und sechste Kolumne eingetragenen Ziffern erhalten. Die Ziffern der vierten Kolumne sind von Fittig nach dem Verfahren von de Vries erhalten worden.

Aus dem elektrischen Leitvermögen berechnet man  $i$  mit Hilfe der Formel:

$$i = 100 (1 + (n - 1) \alpha).$$

Diese Berechnung liegt den Zahlen der siebenten, achten und neunten Kolumne zugrunde.

In Anbetracht der Tatsache, daß die Ziffern auf grundverschiedene Wege erhalten worden sind, muß die Übereinstimmung in den meisten Fällen als eine bemerkenswert gute angesehen werden. Daß die Übereinstimmung keine vollkommene ist, darf auch aus dem Grunde nicht überraschen, weil die Ziffern

<sup>1)</sup> Ann. chim. phys. [5] 28, 133; [6] 2, 66, 99, 115; 4, 401.

<sup>2)</sup> Zeitschr. phys. Chem. 2, 491.

<sup>3)</sup> Jahrb. wissenschaft. Botanik 57, 553 (1917).

<sup>4)</sup> Ann. Phys. Chem. Neue Folge 26, 161.

<sup>5)</sup> Zeitschr. phys. Chem. 3, 198.

<sup>6)</sup> Ann. Phys. Chem. Neue Folge 51, 126.

der verschiedenen Kolumnen bei ungleichen molekularen Konzentrationen erhalten wurden, d. h. bei verschiedenem Dissoziationsgrad.

Durch Aufsuchen derjenigen Konzentrationen von Rohrzucker, welche dasselbe Blutkörperchenvolumen ergaben wie eine Serie ungleich verdünnter Lösungen desselben Salzes, konnte Köppe nachweisen, daß der molekulare osmotische Druck eines Salzes mit steigender Verdünnung zunimmt<sup>1)</sup>. Werden nämlich die entsprechenden Konzentrationen von Rohrzucker und einem Salze in molekulare Konzentrationen umgerechnet, so müßten die reziproken Werte der so erhaltenen Zahlen sich so zueinander verhalten wie die Anzahl Moleküle in der Rohrzuckerlösung zu der Anzahl Moleküle + Ionen (=  $i$ ) in der Salzlösung.

Wir haben also:

$$\frac{\frac{1}{\text{Mol. Konz. d. Rohrz.}}}{1} = \frac{100}{1 + (n - 1) \alpha}$$

oder

$$\frac{\text{Mol. Konz. d. Salzes}}{\text{Mol. Konz. d. Rohrz.}} = \frac{100}{1 + (n - 1) \alpha} \text{ und folglich}$$

$$\frac{\text{Mol. Konz. d. Rohrz.}}{\text{Mol. Konz. d. Salzes}} = \frac{1 + (n - 1) \alpha}{100} = \frac{i}{100}.$$

Für  $K_2SO_4$  wurden folgende Zahlen erhalten:

Versuch 1:		Versuch 2:	
Mol. Konz.	$i$	Mol. Konz.	$i$
0,1225	224	0,1225	224
0,105	238	0,107	233
0,1	240	0,1	242
0,09	250	0,087	258
0,075	273	0,075	273

Die Resultate stimmen folglich mit der Theorie von Arrhenius überein, nach welcher der Dissoziationsgrad ( $\alpha$ ) mit steigender Verdünnung zunimmt.

## Permeabilität von Zellen.

Unter den Methoden, welche zur Prüfung der Permeabilität animaler Zellen herangezogen sind, ist zunächst die bereits besprochene Methode von Hamburger zu erwähnen, welche darauf beruht, daß diejenigen Stoffe, welche von den Blutkörperchen nicht oder nur schwer aufgenommen werden, dieselben vor Zerfall schützen (S. 14); diejenigen dagegen, welche rasch in die Blutkörperchen eindringen, zerlegen in Lösung dieselben ebenso leicht oder vielleicht leichter als destilliertes Wasser. Diese Methode ist später von Grijns weiter ausgearbeitet worden<sup>2)</sup>. Derselbe nahm an, daß eine Substanz von den Blutkörperchen aufgenommen wird, wenn dieselben in einer Konzentration des Salzes, welche einer 0,9%igen Kochsalzlösung isosmotisch ist, ihren Farbstoff in kurzer Zeit verlieren. Mit Rücksicht auf das oben in bezug auf die Volumenveränderungen der Blutkörperchen unter der Einwirkung verschieden konzentrierter Salzlösungen Gesagten können wir auch behaupten, daß Stoffe, welche in genügender

<sup>1)</sup> Arch. (Anat. u.) Physiol. 1895, S. 154.

<sup>2)</sup> Pflügers Arch. 63, 93, 189.

Konzentration das Blutkörperchenvolumen vermindern, nicht oder nur sehr schwer in die Blutkörperchen einzudringen vermögen (S. 15). Diesem Verhalten vollkommen analog ist die Plasmolyse bei den Pflanzenzellen (S. 12).

Einen ganz neuen Weg zur Prüfung der Durchlässigkeit der Blutkörperchen hat Hedin eingeschlagen <sup>1)</sup>. Dieser Weg beruht auf folgender Überlegung:

Die Gefrierpunktserniedrigung einer verdünnten Lösung ist deren Konzentration proportional. Wird eine gegebene Menge der zu prüfenden Substanz in ein gewisses Volumen Blut aufgelöst, so gefriert das Serum des derart behandelten Blutes bei einer niedrigeren Temperatur als dasselbe Serum vor dem Auflösen des Stoffes. Die Differenz der Gefrierpunkte des Serums vor und nach dem Auflösen mag mit  $a$  bezeichnet werden. Nun wird die gleiche Substanzmenge in dem Serum des ursprünglichen Blutes aufgelöst, wobei zur Auflösung das gleiche Volumen Serum angewandt wird wie vorher Blut. Die beim Auflösen stattgehabte Erniedrigung des Gefrierpunktes vom Serum mag  $b$  betragen. Zunächst ist klar, daß wenn das für das Auflösen angewandte Blut keine Blutkörperchen enthalten hätte, sondern anstatt dessen ein dem gesamten Blutkörperchenvolumen gleiches Volumen an Serum, dann wäre  $a = b$ ; dasselbe muß aber auch der Fall sein, wenn die Blutkörperchen von dem aufgelösten Stoff ebensoviel aufnehmen wie das gleiche Volumen Serum. Wenn aber die Blutkörperchen weniger der aufgelösten Substanz aufnehmen als das gleiche Volumen Serum, muß das Serum nach dem Auflösen in Blut auf das gleiche Volumen mehr des aufgelösten Stoffes enthalten als nach dem Auflösen in Serum oder  $a > b$ . Nehmen die Blutkörperchen von der aufgelösten Substanz mehr auf als das gleiche Volumen Serum, so wird offenbar  $a < b$ . Die Blutkörperchen nehmen folglich weniger, ebensoviel oder mehr auf als das gleiche Volumen Serum, je nachdem

$$\frac{a}{b} > 1, \frac{a}{b} = 1 \text{ oder } \frac{a}{b} < 1.$$

Alles dieses gilt nur unter der Voraussetzung, daß diejenigen Bestandteile des Blutes, welche von Bedeutung sind für den Gefrierpunkt des Serums, ihren Platz nicht ändern bei Auflösung der Substanz im Blute, d. h. daß die Blutkörperchen abgesehen von der zugesetzten Substanz von solchen Stoffen nichts aufnehmen und nichts abgeben. Da es sich hier hauptsächlich um die im normalen Blute enthaltenen Salze handelt, wurde durch Bestimmung der in Sulfate übergeführten Salze des Serums kontrolliert, daß diese beim Zugeben der zu prüfenden Substanz ihren Platz unverändert hielten. Bei der Bestimmung von  $a$  müssen die beim Zugeben der Substanz stattgefundenen Volumenänderungen der Blutkörperchen und des Serums mit in Berechnung genommen werden.

Beim Ausführen der Versuche, wobei Hedin nur mit Blut von Rind und Pferd arbeitete, wurde die zu prüfende Substanz nicht einfach in dem Blute aufgelöst, sondern zunächst in 50 ccm dem Blute isotonischer NaCl-Lösung, worauf diese Lösung mit 150 ccm Blut vermischt wurde. Eine Kontrollprobe ohne die zu untersuchende Substanz wurde gleichzeitig untersucht. Das Auflösen in einer dem Blute isotonischen Salzlösung war besonders in solchen Fällen notwendig, wo es um die Prüfung solcher Stoffe sich handelte, welche von den Blutkörperchen aufgenommen werden und folglich, in reinem Wasser aufgelöst, das Hämoglobin hätten austreten lassen.

<sup>1</sup> Pflügers Arch. 68, 229 (1897); 70, 525 (1898).

Beim Vergleichen der verschiedenen Methoden zur Prüfung, ob ein Stoff in die Zellen einzutreten vermag oder nicht, ergibt sich, daß die eben angegebene Methode von Hedin vor den anderen den Vorzug hat, daß der dabei erhaltene Quotient  $\frac{a}{b}$  eine ungefähre Vorstellung ergibt über die eingedrungene Substanzmenge. Aus den Berechnungen von Hedin ergibt sich nämlich bei der von ihm gewählten Versuchsanordnung für ein Blutkörperchenvolumen (im unverdünnten Blute) von 46% der Quotient  $\frac{a}{b} = 1,53$ , wenn der zugesetzte Stoff gar nicht von den Blutkörperchen aufgenommen wird, und der Quotient sinkt in demselben Maße, als der Stoff eindringt, bis bei gleicher Verteilung auf gleiche Volumina Blutkörperchen und Serum  $\frac{a}{b} = 1$  wird. Die angegebenen Methoden haben bezüglich der Permeabilität von Zellen einstimmig zu folgenden Schlüssen geführt:

Die neutralen Salze der fixen Alkalien und Erdalkalien, die neutralen Aminosäuren (Glykokoll und Alanin), die Zuckerarten sowie die mehrwertigen Alkohole (6- und 5-wertige) werden entweder nicht oder nur in beschränktem Grade von den untersuchten pflanzlichen und tierischen Zellen aufgenommen. Eine hypertonische Lösung der genannten Stoffe bringt den Zellinhalt zum Schrumpfen, wodurch der anfängliche Unterschied zwischen dem osmotischen Drucke außerhalb und innerhalb der Zellen mindestens zum Teil ausgeglichen wird.

Mit sinkender Zahl der Hydroxylgruppen nimmt das Vermögen der mehrwertigen Alkohole, in die Zellen einzudringen, zu. Der 4-wertige Alkohol Erythrit wird also langsam aber völlig merkbar aufgenommen, der 3-wertige Alkohol Glycerin dringt merkbar rascher ein als Erythrit; noch rascher erfolgt das Eindringen von dem 2-wertigen Alkohol Glykol und von den einwertigen Alkoholen. Parallel mit dem langsamen Eindringen von Erythrit und Glycerin geht die anfängliche Volumenverminderung zurück.

Die einwertigen Alkohole, Aldehyde, Azeton, Äther und Esterarten dringen rasch in die Zellen ein.

Zu den eben genannten Stoffen verhalten sich also die untersuchten animalen und pflanzlichen Zellen gleich. Die gefundenen Verschiedenheiten zwischen den zwei Arten von Zellen beziehen sich auf den Harnstoff und die Ammoniumsalze. Der Harnstoff dringt nach Grijns und nach Hedin rasch in die Blutkörperchen ein. Die Pflanzenzellen wurden zu einer Zeit als impermeabel für denselben angesehen, und de Vries erhielt sogar für Harnstoff den isotonischen Koeffizient 1,70<sup>1)</sup>. Nach späteren Beobachtungen dringt derselbe langsam ein. Für Chlorammonium erhielt de Vries denselben isotonischen Koeffizient wie für Kaliumnitrat. Auch nach Overton dringen Ammoniumsalze nicht oder in unmerklichem Grade in Pflanzenzellen ein. Nach Hedin werden die Ammoniumsalze vom Typus  $\text{NH}_4\text{Cl}$  sofort und in bedeutenden Mengen von den Blutkörperchen aufgenommen; die vom Typus  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  werden auch in erheblichen Mengen aufgenommen, aber nach Zugabe größerer Mengen bleibt immerhin der größte Teil im Plasma oder Serum, womit eine gewisse Schrumpfung der Blutkörperchen zusammenhängt<sup>1)</sup>. Diese Volumenverminderung ist aber nicht so bedeutend wie die durch eine äquivalente Menge

<sup>1)</sup> Zeitschr. physik. Chem. 3, 109 (1889).

von  $K_2SO_4$  oder  $Na_2SO_4$  verursachte. In der gleichen Weise wie die Ammoniumsalze verhalten sich auch die entsprechenden Salze von Trimethylamin und Äthylamin sowie wahrscheinlich auch die Alkoloidsalze.

Die Folgerungen von Hedin sind bezüglich gewisser Stoffe von Oker-Blom nachgeprüft und im großen und ganzen bestätigt worden. Seine Methode gründete sich auf das elektrische Leitvermögen des Blutes. Es hatte sich nämlich herausgestellt, daß die in den Blutkörperchen vorhandenen Salze in die Leitung der Elektrizität sich nicht beteiligen. Es schien also wahrscheinlich, daß auch fremde Elektrolyte, welche dem Blute zugesetzt werden und in die Blutkörperchen eindringen, der Beteiligung an der Stromleitung ebenfalls sich entziehen müssen; blieben sie im Serum, würden sie die Leitfähigkeit des letzteren entsprechend vermehren<sup>2)</sup>).

Das Verhalten der Blutkörperchen zu Salzen, Aminosäuren und Zuckerarten verdient ein näheres Besprechen. Für die neutralen Alkalisalze hat

Hedin den Wert  $\frac{a}{b} = 1,40$  erhalten. Da für den Fall, daß kein Eindringen

stattfindet,  $\frac{a}{b} = 1,53$  ausfällt, so deutet die gefundene Zahl darauf hin, daß

eine geringe Menge des zugesetzten Salzes von den Blutkörperchen aufgenommen wurde. Da jedenfalls in Hedins Versuchen nur wenig Salz eintrat, so muß angenommen werden, daß die Blutkörperchen einen kräftigen Widerstand leisten gegen das Eindringen. Daß die Blutkörperchen die in denselben befindlichen Salze mit einer gewissen Kraft zurückhalten, ist auch anzunehmen, da es sonst nicht zu verstehen wäre, daß die Blutkörperchen und das Plasma verschiedene Salze enthalten. Aus dieser letzten Tatsache leuchtet auch ein, daß verschiedene Salze in den eben genannten Beziehungen ungleich sich verhalten. Eine vollkommene Klarheit dieser Fragen läßt sich zur Zeit nicht erreichen.

Ob Donnans später zu erwähnende Theorie über den Diffusionsausgleich zwischen zwei Phasen, welche durch eine Membran voneinander geschieden sind, hier Anwendung finden kann, steht noch dahin.

Hedin fand zuerst, daß isosmotische Salzlösungen nicht immer das gleiche Blutkörperchenvolumen ergeben, was besonders beim Vergleichen von Mischungen von Blut mit äquimolekulären Lösungen von  $NaCl$  und  $KNO_3$  der Fall war<sup>3)</sup>. Ege, der diesen Befund nachgeprüft hat, konnte Hedins Resultate mit gewissen Beschränkungen bestätigen, fand aber, daß, wenn man nur die Blutmischungen hinreichend lange vor dem Zentrifugieren aufbewahrt, dasselbe Blutkörperchenvolumen erhalten wird. Anfangs schwellen nämlich die Blutkörperchen, und zwar in ungleichem Grade in den zwei Blutmischungen und erst wenn dieses Schwellen zurückgegangen ist, wird das gleiche Blutkörperchenvolumen erhalten. Die anfängliche Verschiedenheit der Blutkörperchenvolumina will Ege auf ein verschiedenes rasches Eindringen der negativen Ionen  $Cl$  und  $NO_3$  zurückführen, wodurch die Blutkörperchen in ungleichem Grade an Volumen zunehmen<sup>4)</sup>. In dieser Weise dürfte aber das nachfolgende Schrumpfen der Blutkörperchen nicht erklärt werden können.

Die neutralen Aminosäuren ergaben nach Hedin  $\frac{a}{b} = 1,40$  und dringen folglich in die Blutkörperchen in geringen Mengen ein. Da in den Zellen große Mengen von den Spaltungsprodukten des Eiweißes (oder Aminosäuren) verbrannt werden, wird beim Verbrennen der aufgenommenen Mengen Aminosäuren ein neues Konzentrationsgefälle für das Eindringen neuer Mengen geschaffen. In

<sup>1)</sup> Pflügers Arch. **70**, 525 (1898).

<sup>2)</sup> Pflügers Arch. **81**, 167 (1900).

<sup>3)</sup> Skand. Arch. Physiol. **5**, 240 (1895).

<sup>4)</sup> Biochem. Zeitschr. **115**, 109 (1920).

der Weise können offenbar parallel mit der Verbrennung der Aminosäuren oder der Überführung derselben in andere Produkte immer neue Mengen eindringen, und der Umstand, daß die Zellen für Aminosäuren nur schwer permeabel sind, braucht folglich nicht der Ansicht in dem Wege zu stehen, daß dieselben in den Zellen verbrannt oder verarbeitet werden müssen. In der gleichen Weise kann man sich das Verhalten der Zuckerarten denken. Dieselben werden nach Hedin nur spärlich von den Zellen aufgenommen, aber in dem Maße wie die eingedrungenen Mengen verbrannt oder in andere Stoffe umgewandelt werden, können neue nachkommen. Es muß in diesem Zusammenhange daran erinnert werden, daß die oben erwähnten Versuche über die Durchlässigkeit der Blutkörperchen mit Zellen ausgeführt wurden, in welchen wahrscheinlich mehrere vitale Prozesse, z. B. Oxydation, mehr oder weniger vollständig aufgehört waren. Daran könnte es nach dem oben Gesagten liegen, daß von gewissen Stoffen, z. B. Aminosäuren und Zuckerarten, nur geringe Mengen aufgenommen werden konnten.

Die Verteilung von Traubenzucker zwischen Blutkörperchen und Plasma ist Gegenstand sehr vieler Untersuchungen gewesen, wobei einerseits die oben besprochene Methode der Volumenbestimmung der Blutkörperchen, andererseits die direkte chemische Bestimmung des Zuckers im Plasma und in den Blutkörperchen zur Anwendung kamen<sup>1)</sup>. Es scheint aus diesen Untersuchungen hervorzugehen, daß die Blutkörperchen von Rind, Schwein, Meerschweinchen, Kaninchen, Pferd, Ziege, Katze und Hammel für Kohlenhydrate überhaupt undurchlässig sind, während die vom Hund nach Michaelis und Rona sowie nach Masing und nach Kozawa durchlässig sein sollen, was von Ege entschieden bestritten wird. Von Menschenblutkörperchen wird einstimmig behauptet, daß dieselben einerseits Zucker enthalten, andererseits Traubenzucker aufnehmen. Dies wurde wohl zuerst von Hollinger konstatiert und später von Masing, Kozawa und Ege bestätigt. Ege findet durch Zuckerbestimmungen, daß die Blutkörperchen von Menschen Zucker enthalten sowie auch aufnehmen; da aber das gefundene Blutkörperchenvolumen lange nicht so groß ist, wie es mit Rücksicht auf die aufgenommene Zuckermenge sein sollte, so nimmt Ege an, daß der Zucker zunächst nicht im Inneren der Blutkörperchen aufgelöst sondern nur auf deren Oberfläche adsorbiert wird, um dann nur allmählich aufgenommen zu werden.

Eine ähnliche Annahme macht Rubner in bezug auf das Verhalten der vergärbaren Zuckerarten zu den Hefezellen. Nach ihm ist der Zucker der Nahrungstoff, aus welchem die Hefe ihre Energiebedürfnisse bestreitet, und zwar wird diese Energie bei dessen Vergärung geliefert. Nun geschieht die Gärung nur innerhalb der Zellen, und der Zucker muß folglich aufgenommen werden. Nach Rubner wird der Zucker zunächst an die Zelle adsorbiert; dann geht durch eine Art von „Selbstregulation“ so viel von dem Zucker in die Zelle hinein, als gerade für die Lebensleistungen erforderlich ist. Die aufgenommene Zuckermenge ist innerhalb weiter Grenzen von der Konzentration derselben in der umgebenden Flüssigkeit unabhängig. Die Aufnahme von Zucker in die Hefezellen wird also nach Rubner von der Zelle selbst je nach deren Bedürfnis

<sup>1)</sup> Rona und Michaelis: *Biochem. Zeitschr.* **16**, 60; **18**, 375, 514 (1909); Hollinger: *Ebenda* **17**, 1 (1909); Frank: *Zeitschr. physiol. Chem.* **70**, 129 (1910); Rona und Tahahashi: *Biochem. Zeitschr.* **30**, 99 (1910); Rona und Döblin: *Ebenda* **31**, 215 (1910); Lyttkens und Sandgren: *Ebenda* **26**, 382 (1910); **31**, 153 (1911); Masing: *Arch. f. d. ges. Physiol.* **149**, 227 (1912); Kozawa: *Biochem. Zeitschr.* **60**, 231 (1914); Ege: *Biochem. Zeitschr.* **114**, 88 (1920).

reguliert und dabei spielen osmotische Vorgänge, welche von der Konzentration abhängig sind, keine Rolle<sup>1)</sup>. Die Plasmahaut wäre also in diesem Falle mindestens bis zu einem gewissen Grade für den Zucker durchgängig.

Nach der oben befolgten Vorstellungsweise würden die Volumina der Blutkörperchen sich umgekehrt verhalten wie der osmotische Druck der umgebenden Flüssigkeit, inwiefern dieser durch solche Stoffe bedingt ist, welche nicht von den Blutkörperchen aufgenommen werden. Ege hebt hervor, daß dies nicht der Fall ist; die Volumenveränderungen fallen weit geringer aus als man nach der angeführten Regel erwarten könnte; die Abweichung beruht nach Ege auf dem Umstande, daß die disperse Phase (kolloide Stoffe), welche in den Volumenveränderungen nicht teilnimmt, im Blutkörperchen recht bedeutend ist. Beträgt die disperse Phase 50<sup>0</sup>/<sub>0</sub>, haben die Blutkörperchen, wenn der äußere Druck auf die Hälfte vermindert wird, nicht um 100<sup>0</sup>/<sub>0</sub>, sondern nur um 50<sup>0</sup>/<sub>0</sub> zu schwellen. Die Volumenveränderung der Blutkörperchen hat somit nicht nach der Formel  $p_0 V_0 = p_1 V_1$  sondern nach der Formel  $p_0 (V_0 - x) = p_1 (V_1 - x)$  vonstatten zu gehen, wo  $x$  das Volumen der dispersen Phase bezeichnet. Die disperse Phase wurde von Ege verschiedentlich bestimmt und ergab sich als etwa 10<sup>0</sup>/<sub>0</sub> größer als der Trockensubstanzgehalt des Blutkörperchens.

Nach vollzogener Bestimmung des Volumens der dispersen Phase lassen die Volumenveränderungen, die das Blutkörperchen dem van't Hoff-Boyle-Mariotteschen Gesetze gemäß zu erleiden hat, sich berechnen. Vergleicht man die berechneten Werte mit der durch Hämatokritversuche direkt bestimmten, findet man nach Ege eine fast vollständige Übereinstimmung, jedoch schwellen die Blutkörperchen nicht in ganz so hohem Grade wie berechnet, was darauf deutet, daß das Blutkörperchenhäutchen gegen das Schwellen einen geringen Widerstand leistet, welche Annahme den direkten durch Gefrieren und Auftauen gewonnenen Bestimmungen der osmotischen Konzentration in Plasma und Blutkörperchensaft<sup>2)</sup> sehr wohl entspricht.

Die Permeabilitätsverhältnisse der roten Blutkörperchen können durch Waschen mit isotonischer Rohrzuckerlösung geändert werden. So fanden Höber und A. Memmesheimer, daß solche Blutkörperchen von den vital-färbenden basischen Farbstoffen weniger aufnehmen als dieselben Blutkörperchen mit isotonischer NaCl-Lösung gewaschen<sup>3)</sup>.

## Theorien über die Aufnahmefähigkeit der Zellen.

M. Traube, der zuerst eine Niederschlagsmembran herstellte, sah in der Membran eine Art von Molekülsieb; es würde demnach das Verhältnis zwischen der Größe der eindringenden Teile und der Weite der Membranporen ausschlaggebend sein. Diese Ansicht wird durch neuerdings ausgeführte Untersuchungen von R. Collander gestützt<sup>4)</sup>. In bezug auf die Aufnahmefähigkeit der Zellen seitens verschiedener Stoffe sind andere Ansichten in den Vordergrund getreten.

Overton hat Untersuchungen über die Löslichkeit derjenigen Stoffe, welche in die Zellen leicht eindringen, in verschiedenen Lösungsmitteln ange-

<sup>1)</sup> Arch. (Anat. u.) Physiol. 1912. Supplementband.

<sup>2)</sup> Biochem. Zeitschr. 115, 175 (1921), 130, 99 (1922).

<sup>3)</sup> Pflügers Arch. 198, 564 (1923).

<sup>4)</sup> Kolloidchem. Beihefte 19, 72 (1923).

stellt<sup>1)</sup>. Es ergab sich, daß die eindringenden Stoffe im allgemeinen in fetten Ölen löslich sind, was damit in Zusammenhang gestellt wurde, daß die fraglichen Stoffe umgekehrt für Fett als Lösungsmittel dienen. Das Verhalten von eindringenden Farbstoffbasen wurde auch geprüft. Dieselben werden nämlich einerseits von Lezithin, Protagon und Zerebrin aufgenommen, wenn letztere Stoffe, in Wasser suspendiert, verdünnten Lösungen der Farbstoffe zugesetzt werden. Daß Cholesterin die Farbstoffe auflöst, wollte Overton aus dem Grunde wahrscheinlich machen, daß Cholesterin in solchen organischen Flüssigkeiten aufgelöst, welche die Farbstoffbasen nicht lösen, der Flüssigkeit Aufnahmevermögen für dieselben mitteilt. Stoffe, welche in bezug auf das Lösungsvermögen den fetten Ölen ähnlich sich verhalten, werden nach Overton Lipoid genannt. Hierher gehören außer Fett auch Lezithin, Cholesterin, Phosphatide und wahrscheinlich auch andere Stoffe. Das Aufnahmevermögen der Zellen gewissen Stoffen gegenüber liegt nach Overton daran, daß die Zellen von einer Lipoidmembran umgeben sind, in welcher die eindringenden Stoffe zunächst aufgelöst werden, um dann durch andere Lipoid ins Innere der Zellen befördert zu werden. Wenn die Stoffe, welche von den Zellen aufgenommen werden, in den Lipoiden löslich wären, dann würde für die Verteilung eines solchen Stoffes zwischen einem Lipoid und einem anderen Lösungsmittel (z. B. Wasser für wasserlösliche Stoffe) das sog. Verteilungsgesetz in Geltung sein. Dieses zuerst von Berthelot und Jungfleisch für die Verteilung von Bernsteinsäure zwischen Äther und Wasser gefundene Gesetz besagt, daß die in gleichen Volumina der beiden Lösungsmittel aufgelösten Substanzmengen zueinander ein konstantes Verhältnis zeigen, unabhängig von der Konzentration des aufgelösten Stoffes<sup>2)</sup>. Die Gültigkeit des Satzes in bezug auf die Verteilung eines in die Zellen eintretenden Stoffes auf Lipoid und ein anderes Lösungsmittel ist durch keine direkt auf die Frage eingerichteten Versuche bewiesen worden.

Nach Loewe bilden gewisse Lipoid in organischen Lösungsmitteln keine echte Lösungen, sondern sind als Kolloide gelöst. Über die Aufnahmefähigkeit der Lipoid hat er gefunden, daß die Aufnahme von basischen Farbstoffen, organischen Lösungsmitteln und in Wasser löslichen organischen Substanzen nicht der Konzentration des aufgenommenen Stoffes proportional ist (wie es nach dem eben genannten Verteilungsgesetz sein sollte), sondern durch eine Adsorptionskurve (Kap. 2) bestimmt wird<sup>3)</sup>. Nach Loewe werden folglich die aufgenommenen Stoffe nicht durch die Lipoid aufgelöst, sondern adsorbiert. Auch erhebt Ruhl and von botanischem Standpunkte schwerwiegende Einwände gegen die Theorie von Overton. Derselbe findet, daß die Aufnahme basischer sowie sulfosaurer Farbstoffe seitens der Pflanzenzellen vollständig unabhängig von dem Grade der Lipoidlöslichkeit verläuft<sup>4)</sup>. Aber auch wenn die Aufnahme von Substanzen seitens der Zellen auf einer Auflösung der fraglichen Substanzen durch gewisse Bestandteile der Zellen beruhte, so bleibt immerhin die leicht vor sich gehende Aufnahme und Abgabe von Wasser rätselhaft. Ebensowenig wie Wasser die Lipoid aufzulösen vermag, ebensowenig können die Lipoid das Wasser lösen. Für die Aufnahme von Wasser soll nach Overton das Lezithin verantwortlich sein, und zwar durch seine Quellbarkeit im Wasser. Das aufgenommene Wasser wäre folglich nicht durch die Zelle aufgelöst. Nathanson

1) Jahresber. wissensch. Botanik **34**, 669 (1900); auch Pflügers Arch. **92**, 261 (1902).

2) Ann. chim. phys. **26**, 396 (1872).

3) Biochem. Zeitschr. **42** (1912); siehe auch Intern. Zeitschr. phys.-chem. Biol. **2**, 1 (1914).

4) Jahresber. wissensch. Botanik **46**, 1 (1908).



nimmt, um die Aufnahme von Wasser besser zu verstehen, an, daß die Membran nicht ausschließlich aus Lipoiden besteht, sondern auch aus einem protoplasmatischen Material, das Wasser leicht durchlassen soll<sup>1)</sup>. Auch dürfte es fraglich sein, ob die Lipoidmembran oder eine Membran überhaupt für die Overtonsche Theorie unerläßlich ist. Dazu kommt noch, daß die Lipoidmembran keineswegs sich nachweisen läßt.

In diesem Zusammenhange soll auch die Theorie von Overton und von H. Meyer<sup>2)</sup> bezüglich der Wirkungsweise gewisser „chemisch indifferenten“ Narkotika erörtert werden. Zu den fraglichen Stoffen gehören meist Derivate der Metankörper, z. B. verschiedene einwertige Alkohole und Esterarten, Äther, Chloroform u. a. Unter kritischer Konzentration versteht Overton die Konzentration des Narkotikums im Wasser oder in der Luft, worin die Tiere leben, welche eben genügt, um die Tiere zu narkotisieren. Es hat sich nun herausgestellt, daß die kritische Konzentration der untersuchten Narkotika für eine gegebene Tierart niedrig ist, in demselben Grade als die Löslichkeit des Stoffes in Olivenöl groß ist im Vergleich mit dessen Löslichkeit in Wasser. Hier ist das Olivenöl aus Bequemlichkeitsgründen als Vertreter sämtlicher Lipoide gewählt worden, wodurch die Beweiskraft der Versuche um ein Bedeutendes beeinträchtigt wird. Der erwähnte Befund soll darauf hindeuten, daß die geprüften Stoffe gut narkotisieren in dem gleichen Maße, als sie in Lipoiden leicht aufgelöst werden und folglich leicht von den lipoidhaltigen Nervenzellen aufgenommen werden. Indessen sind die Urheber der Theorie sich dessen wohl bewußt, daß für die narkotisierenden Eigenschaften eines Stoffes auch noch andere Faktoren als das Aufnahmevermögen der Nervenzellen von Bedeutung sind. Außerdem behauptet L. Choquard, daß die Narkose von Muskeln in keiner Beziehung zu deren Lipoidgehalt steht<sup>3)</sup>. Für die basischen Narkotika (Alkaloide) hat die Lipoidtheorie keine Geltung.

J. Traube vertritt die Ansicht, daß für die Erklärung der Aufnahme gewisser Stoffe in die Zellen hauptsächlich der sog. Haftdruck der Stoffe von Bedeutung ist<sup>4)</sup>. Dieser soll die Größe der Anziehung zwischen Lösungsmittel und gelöstem Stoff angeben. Der Haftdruck ist aber nach Traube nicht mit dem osmotischen Drucke identisch, sondern wird durch die Oberflächenspannung der Lösung gemessen. Nun hat es sich herausgestellt, daß diejenigen Stoffe, welche von den Zellen nicht oder nur spärlich aufgenommen werden, die Oberflächenspannung des Wassers beim Auflösen nicht erniedrigen. Diejenigen Substanzen dagegen, welche die Oberflächenspannung des Wassers erniedrigen, dringen in die Zellen ein. Aus einem Satz von Gibbs ergibt sich ferner, daß die Stoffe, welche beim Auflösen in Wasser dessen Oberflächenspannung erniedrigen, an der Oberfläche der Lösung in größerer Konzentration vorkommen als im Inneren. Daraus schließt Traube, daß der Haftdruck geringer ist, je niedriger die Oberflächenspannung der Lösung ausfällt und als Maß des Haftdruckes benutzt Traube die Erniedrigung der Oberflächenspannung, welche Wasser beim Auflösen der Substanz erfährt.

Traube stellt den Satz auf, daß die osmotische Geschwindigkeit oder die in der Zeiteinheit osmotisch fortgeführte Menge eines Stoffes  $G$  durch die

<sup>1)</sup> Jahresber. wiss. Bot. **39**, 607 (1904).

<sup>2)</sup> Münch. med. Wochenschr. **56**, H. 31 (1909).

<sup>3)</sup> Zeitschr. Biol. **60** (1913).

<sup>4)</sup> Pflügers Arch. **105**, 541 (1904); **123**, 419 (1908); **132**, 511 (1910); **140**, 109 (1911); Ber. deutsch. physik. Ges. **6**, 880 (1910); Biochem. Zeitschr. **54** (1913).

osmotische Kraft  $K$  (= spezifischem Haftdruck) und die Reibungskonstante  $R$  in folgender Weise bestimmt wird:

$$G = \frac{K}{R}.$$

Der experimentellen Begründung dieser Formel stehen indessen viele Schwierigkeiten in dem Wege, da sowohl  $K$  wie besonders  $R$  sich kaum zahlenmäßig ausdrücken lassen<sup>1)</sup>. Für die Wanderungsrichtung einer Substanz in der Berührungsfläche zwischen zwei Phasen (Zelle und Wasserlösung) sollte wohl eigentlich das Verhältnis zwischen den Haftdrücken in den zwei Phasen bestimmend sein. Da indessen diese nicht direkt bestimmt werden können, wird oft anstatt dessen die Erniedrigung, welche die Oberflächenspannung des Wassers gegen Luft erfährt, wenn eine gegebene Substanz in dem Wasser aufgelöst wird, in Rechnung genommen. Traube stützt seine Theorie durch verschiedene Versuche, nach welchen Glieder derselben homologen Reihen, im Wasser in solchen Konzentrationen aufgelöst, daß die Lösungen dieselbe Oberflächenspannung besitzen, auch dasselbe Vermögen zeigen in Zellen einzudringen. Die Nichtübereinstimmung in anderen Fällen wird von Traube auf die unbekannte Reibung in der Grenzschicht zwischen der Zelle und der umspülenden Lösung zurückgeführt.

Die Erniedrigung der Oberflächenspannung des Wassers beim Auflösen von äquimolekularen Mengen organischer Stoffe der gleichen homologen Reihe verhalten sich nach Traube wie  $1 : 3 : 3^2 : 3^3$  (das sog. Kapillargesetz). Da der Haftdruck (für verdünnte Lösungen?) der Konzentration proportional ist, besitzen folglich solche Stoffe in molekularen Konzentrationen, die wie  $1 : \frac{1}{3} : \frac{1}{9} : \frac{1}{27}$  sich verhalten, den gleichen Haftdruck. Traube stützt seine Theorie durch verschiedene Versuche, bei welchen Glieder homologer Reihen, deren molekulare Konzentrationen wie  $1 : \frac{1}{3} : \frac{1}{9} : \frac{1}{27}$  sich verhalten, dasselbe Vermögen besitzen, in die Zellen einzudringen. So haben Fühner und Neubauer mit homologen Reihen von Alkoholen, Urethanen, Formiaten, Azetaten, Propionaten und Butyraten in 0,9% NaCl-Lösung als Lösungsmittel die Grenzkonzentration bestimmt, bei welcher zugesetzte Blutkörperchen eben hämolysiert werden (Blutfarbstoff austreten lassen)<sup>2)</sup>. Die so erhaltenen Grenzlösungen wurden in molekulare Konzentrationen umgerechnet, und es ergab sich, daß der Quotient der Konzentrationen von zwei aufeinanderfolgenden Verbindungen rund 3 ausmachte, wie es nach dem eben genannten Kapillargesetz von Traube sein soll. Einige Reihen werden hier angeführt:

Methylazetat		Äthylurethan	
Äthyl- „	2,4	Propyl- „	3,00
Propyl- „	3,0		
Butyl- „	3,0		
Methylalkohol		Heptylalkohol	
Äthyl- „	2,3	Octyl- „	3,0
Propyl- „	3,0		
Butyl- „	3,4		
Amyl- „	3,5		

<sup>1)</sup> Intern. Zeitschr. physik.-chem. Biol. 1, 275, 388 (1914).

<sup>2)</sup> Arch. exp. Pathol. u. Pharm. 56, 90 (1907).

Zu den gleichen Ergebnissen führen, wie Traube zeigte, die kritischen Konzentrationen von gewissen Narkotika bei der Narkose von Kaulquappen nach Versuchen von Overton<sup>1)</sup>, die minimalen Konzentrationen von Alkoholen für die Erregung von positivem Heliotropismus bei Copepoden<sup>2)</sup> und noch andere Versuche<sup>3)</sup>. Bei Untersuchungen von Czapek über das Verhalten zu Pflanzenzellen von wässrigen Lösungen von Alkoholen, Ketonen, Äther und Ester hat es sich herausgestellt, daß das Austreten von Zellinhaltsstoffen eben anfangt, sobald die Oberflächenspannung der äußeren Lösung unter einem Schwellenwert von 0,68 bis 0,69 der Oberflächenspannung des Wassers erniedrigt wurde<sup>4)</sup>. Die Versuche von Czapek besagen also, daß jedenfalls eine Beziehung zwischen dem Oberflächendruck und Osmose existiert. Auf die erwähnten Versuche basiert Czapek eine Methode, die Oberflächenspannung der normalen Plasmahaut zu bestimmen.

Die Ausführungen von Traube erinnern sehr an die bestehende Vorstellung über das Zustandekommen der Adsorption oder die Aufnahme gelöster Substanzen seitens fester Körper (Kap. 2). Auch diese Aufnahme wird nämlich in Verbindung mit der Oberflächenspannung der Lösung gesetzt, indem ein aufgelöster Stoff, der beim Auflösen die Oberflächenspannung des Wassers erniedrigt, an der Grenze der Lösung gegen eine andere Phase in größerer Konzentration angesammelt wird als im Innern der Lösung und deshalb leicht von der anderen Phase aufgenommen wird. In einer neuerdings erschienenen Arbeit von Traube wird die Ansicht vertreten, daß für das Zustandekommen der Adsorption der Haftdruck der zu adsorbierenden Substanz einerseits am Adsorbens, andererseits am Lösungsmittel von Bedeutung ist. Ist letzterer groß im Vergleich mit ersterem, kommt keine Adsorption zustande<sup>5)</sup>. Solche Adsorptionsprozesse werden neuerdings auch für die Erklärung der Wirkung derjenigen Narkotika in Anspruch genommen, welche die Oberflächenspannung des Wassers erniedrigen. Solche Substanzen werden nämlich an den Kolloiden der Zellgrenzflächen adsorbiert und die Permeabilität der Zellgrenzschichten sollen hierdurch verändert werden<sup>6)</sup>. Da die Oberflächenspannung für die Erklärung mehrerer in diesem Kapitel besprochenen Prozesse benutzt worden ist, soll dieselbe bereits hier etwas näher besprochen werden.

In bezug auf das Zustandekommen der Oberflächenspannung und deren Messung sei folgendes bemerkt. Während bei den Gasen infolge der Repulsion zwischen den Molekülen ein Bestreben vorhanden ist das Volumen zu vergrößern, besteht bei den Flüssigkeiten infolge der molekularen Anziehung das umgekehrte Verhältnis. Die zwischen den Molekülen einer Flüssigkeit obwaltenden Anziehungskräfte wirken auf ein Molekül im Innern der Flüssigkeit nach allen Seiten gleich und heben sich folglich gegenseitig auf. Für ein Molekül in der freien Oberfläche der Flüssigkeit stellt sich aber die Sache anders. Es existieren keine Moleküle oberhalb der Oberfläche und folglich existieren auch keine Kräfte, welche das Molekül nach oben ziehen würden. Diejenigen Molekül-

1) Pflügers Arch. **105**, 555 (1904).

2) J. Loeb: Biochem. Zeitschr. **23**, 93 (1909).

3) Pflügers Arch. **132**, 524 (1910).

4) Ber. deutsch. bot. Ges. **28**, 480 (1910).

5) Koll. Zeitschr. **32**, 383 (1923).

6) Winterstein: Die Narkose. Monographien aus dem Gesamtgebiet der Physiologie usw. Berlin 1919.

kräfte, welche das Molekül nach unten ziehen, werden folglich nicht kompensiert, und die ganze Oberfläche wird also mit einer entsprechenden Kraft nach unten gezogen. Die Oberfläche befindet sich unter dem Einfluß einer Ziehung, welche in dem Bestreben zum Ausdruck kommt, die Oberfläche auf ein Minimum der Ausdehnung zu verkleinern. Daran liegt es, daß frei in einem Raume befindliche Flüssigkeitsmengen die Kugelgestalt annehmen. Wenn die Oberfläche einer Flüssigkeit unter dem Einfluß der Oberflächenspannung verkleinert wird, so wird eine gewisse Arbeit gewonnen. Diese Arbeit ist der Größe der Abnahme der Oberfläche proportional, und man benutzt die bei der Verminderung der Oberfläche um 1 qcm gewonnene Arbeit ( $\gamma$ ) als Maß der Oberflächenspannung. Taucht man in eine Flüssigkeit eine mit derselben benetzbare Kapillarröhre, so wird die Oberfläche der Flüssigkeit um einen gewissen Betrag vermehrt. Infolge der Oberflächenspannung wird nun die Flüssigkeit bestrebt sein, die ganze freie Oberfläche innerhalb der Röhre auf ein Minimum zu reduzieren. Dies geschieht dadurch, daß die Flüssigkeit in der Röhre erhoben wird. Wenn Gleichgewicht eingetreten ist, beträgt die Verminderung der Oberfläche eben die Berührungsfläche zwischen der erhobenen Flüssigkeitssäule und der Röhre. Ist  $r$  der Radius der Röhre und  $h$  die Höhe der Flüssigkeitssäule, so ist also die Verminderung der Oberfläche  $= 2 \pi r h$  und die gewonnene Arbeit ist  $= \gamma 2 \pi r h$ . Diese muß aber der Arbeit gleich sein, welche in der Hebung der Flüssigkeitssäule auf die Höhe  $h$  liegt. Das Volumen der Säule ist  $= \pi r^2 h$ . Ist  $s$  das spezifische Gewicht der Flüssigkeit, ist also die Arbeit  $= \pi r^2 \cdot h \cdot s \cdot h$ . Wir haben also  $\gamma \cdot 2 \pi \cdot r \cdot h = \pi \cdot r^2 \cdot h \cdot s \cdot h$  oder

$$\gamma = \frac{r \cdot h \cdot s}{2}.$$

$r$ ,  $h$  und  $s$  sind bekannte Größen und  $\gamma$  kann folglich berechnet werden. Diese Methode, die Steighöhemethode ist die, deren man bei genauen Bestimmungen der Oberflächenspannung sich bedient. Indessen ist neuerdings auch eine andere viel bequemere Methode in Gebrauch gekommen. Dieselbe beruht auf der Tatsache, daß ein an einer horizontalen Kreisfläche gebildeter Tropfen abreißt, wenn sein Gewicht gleich dem Produkt aus der Oberflächenspannung und dem Umfang der Tropfenbasis geworden ist. Benutzt man stets dieselbe Abreißfläche, so ist das Gewicht des Tropfens der Oberflächenspannung proportional. Wenn man die Oberflächenspannung von Lösungen vergleichen will, welche praktisch dasselbe spezifische Gewicht besitzen, so kann man anstatt des Gewichts eines Tropfens dessen Volumen bestimmen. Bei der Anwendung eines von Traube angegebenen Apparates, des Stalagmometers, bestimmt man nicht das Tropfenvolumen, sondern dessen reziproke Größe, d. i. die Anzahl der in einem bestimmten Volumen enthaltenen Tropfen für die betreffende Flüssigkeit und für Wasser. Das Verhältnis dieser Tropfenzahlen steht im umgekehrten Verhältnis zu den relativen Steighöhen im kapillaren Rohre<sup>1)</sup>.

Mit der Steighöhemethode hat Traube folgende Werte für  $\gamma = \frac{r \cdot h \cdot s}{2}$  erhalten<sup>2)</sup>. Reines Wasser ergab  $\gamma = 7,3$ .

<sup>1)</sup> Biochem. Zeitschr. **24**, 344 (1910); **42**, 500 (1912); Intern. Zeitschr. physik.-chem. Biol. **1**, 485 (1914).

<sup>2)</sup> Pflügers Arch. **123**, 419 (1908); vgl. auch Intern. Zeitschr. physik.-chem. Biol. **3**, 60 (1916)

	Normallösung	0,5 norm.	0,25 norm.
Rohrzucker . . . . .	—	7,40	7,35
Dextrose . . . . .	7,42	7,36	7,33
Mannit . . . . .	—	7,36	7,33
Glykokoll . . . . .	—	7,35	7,32
Harnstoff . . . . .	7,33	7,31	7,30
Glycerin . . . . .	7,26	7,28	7,30
Äthylenglykoll . . . . .	7,04	7,18	7,24
Azetamid . . . . .	6,92	7,10	7,20
Methylalkohol . . . . .	6,56	6,89	7,05
Äthylalkohol . . . . .	5,67	6,29	6,72
Isopropylalkohol . . . . .	4,32	5,15	5,89
Isobutylalkohol . . . . .	2,70	3,60	4,49
Isoamylalkohol . . . . .	—	—	3,05
Methylazetat . . . . .	4,71	5,51	6,12
Äthylazetat . . . . .	—	4,23	5,07
Butylaldehyd . . . . .	—	4,26	5,12
Azeton . . . . .	5,52	6,06	6,48

In diese Reihe sind nicht die Salze aufgenommen; dieselben erhöhen fast immer die Oberflächenspannung des Wassers. Wie ersichtlich gehören die Stoffe, welche die Oberflächenspannung des Wassers nicht erniedrigen, zu denen, welche kaum in die Zellen eindringen, während diejenigen, welche die Oberflächenspannung erniedrigen, aufgenommen werden, was alles mit der Theorie übereinstimmt. Nur würde man nach dem Gesagten erwarten, daß Harnstoff, der die Oberflächenspannung des Wassers nicht beeinflusst, nicht in die Zellen eindringen würde. In die Pflanzenzellen tritt er auch sehr langsam ein, aber Blutkörperchen nehmen rasch den Harnstoff auf, was sowohl aus den Versuchen von Grijns wie aus denen von Hedin hervorgeht. Die obigen Ziffern geben nur über den Haftdruck in der Wasserlösung Aufschluß, während der Haftdruck in den Zellen nicht hat bestimmt und somit auch nicht berücksichtigt werden können. Und in der Tat entzieht sich die Traubesche Theorie aus diesem Grunde der näheren experimentellen Prüfung. Die obigen Ausführungen beziehen sich auf die Spannung an der Grenze zwischen einer Flüssigkeit und Luft. Indessen hat O. Lóránt auch bezüglich der Spannung an der Trennungsoberfläche zweier Flüssigkeiten ausgeführt. Diese wurden einerseits nach der Steighöhemethode bewerkstelligt, wobei eine Kapillare so weit in die Flüssigkeiten versenkt wurde, daß sich ihr unteres Ende in der unteren, ihr oberes Ende in der überstehenden Flüssigkeit befand. Andererseits wurde auch die stalagmometrische Methode benutzt, wobei die eine Flüssigkeit tropfenweise in die andere ausfloß. Die mit beiden Methoden erhaltenen Zahlen stimmten gut überein<sup>1)</sup>.

Über die Bedeutung der Oberflächenspannung für die Reaktionen, in welchen kolloide Stoffe teilnehmen, wird weiter unten die Rede sein (Kap. 2).

## Weiteres über die Permeabilität von Zellen.

In bezug auf das Vermögen der Zellen gewisse kolloide Stoffe (z. B. Farbstoffe) aufzunehmen, sei noch erwähnt, daß Ruhland für dasselbe die Größe der Teilchen im Vergleich mit der Porenweite als entscheidend ansieht<sup>2)</sup>. Gegen diese Ansicht werden aber von Höber und Nast Einwände erhoben<sup>3)</sup>.

<sup>1)</sup> Pflügers Arch. 157, 211 (1914).

<sup>2)</sup> Ber. deutsch. botan. Ges. 30 (1912).

<sup>3)</sup> Biochem. Zeitschr. 50 (1913).

Mit Rücksicht auf den Einfluß zugesetzter Stoffe auf die Permeabilität der Zellen hat J. Loeb Versuche mit Eiern von *Fundulus* ausgeführt<sup>1)</sup>. Normalerweise soll die Eihaut für Salze und Wasser undurchgängig sein, wird aber durch die Einwirkung gewisser Stoffe mehr oder weniger durchlässig. In physiologisch äquilibrierten Lösungen, d. h. Lösungen, wo die antagonistische Wirkung (Kap. 5) ein Maximum hat, wird die Durchlässigkeit der Eimembran nur sehr langsam, in nicht äquilibrierten dagegen sehr rasch erhöht. Die Erhöhung der Durchgängigkeit der Eihaut für Salze und Wasser ist andererseits durch eine Modifikation der Eiweißkörper der Membran bedingt und ist umkehrbar, solange dieselbe nicht zu weit fortgeschritten ist. Von botanischer Seite ist Loeb's Anschauung von W. Osterhout angenommen worden, der dieselbe durch elektrische Widerstandsmessungen an *Laminaria* gestützt hat<sup>2)</sup>.

Bezüglich des Verhaltens von Elektrolyten zu Zellen erübrigt noch das von Säuren und Alkalien zu erörtern. Zunächst mag daran erinnert werden, daß man von vornherein erwarten muß, daß die genannten Stoffe die lebenden Zellen schädigen werden, mindestens in genügender, und zwar minimaler Konzentration. Die Grundsubstanz der animalen Zellen sind Proteinstoffe und diese werden im allgemeinen durch Alkalien aufgelöst, durch Säuren ausgefällt oder jedenfalls ihrer Fällungsgrenze näher gebracht. In beiden Fällen wird also eine Änderung des normalen Zustandes herbeigeführt. Das Verhalten der Säuren und Alkalien zu den Blutkörperchen ist besonders von Hamburger studiert worden. In bezug auf Säuren ergab sich, daß die Blutkörperchen bereits nach Zugeben von  $H_2SO_4$  in solchen Mengen, daß die Mischung bezüglich derselben  $\frac{1}{40}$  normal war, Hämoglobin abgaben. Auch nach Zugabe von geringeren Mengen waren die Blutkörperchen insofern geschädigt, daß sie mit NaCl-Lösungen von fallender Konzentration behandelt, bereits zu einer stärkeren Lösung Farbstoff abgaben als ohne Gegenwart von Säure. In der gleichen Weise verhielt sich Salzsäure<sup>3)</sup>. Die Zusammensetzung des Serums änderte sich unter der Einwirkung von Schwefelsäure auf das Blut derart, daß dessen Chlorgehalt abnahm, während der Gehalt an festen Stoffen eine Bereicherung erfuhr. Zugleich führen die Säuren eine Zunahme des Blutkörperchenvolumens herbei.

Alkalihydrat in solchen Mengen, daß die Blutmischung bezüglich derselben  $\frac{1}{200}$  normal ist, sowie schwächere Konzentrationen verändert die Blutkörperchen derart, daß dieselben den Farbstoff erst einer schwächeren NaCl-Lösung als vorher abgeben. Der Gehalt des Serums an festen Bestandteilen nimmt mit Alkali ab, der Chlorgehalt zu. Das Blutkörperchenvolumen wird etwas vermindert.

Dieselben Veränderungen, welche nach den Versuchen von Hamburger in dem Blute stattfinden unter dem Einfluß von  $H_2SO_4$  und HCl, hat derselbe auch nach Durchleitung von  $CO_2$  nachweisen können<sup>4)</sup>. Die durch  $CO_2$  hervorgebrachten Veränderungen können auch rückgängig gemacht werden; wird nämlich die Kohlensäure durch Einwirkung von Luft verdrängt, nimmt das Blut dieselben Eigenschaften an wie vor der Behandlung mit der Säure. Etwa

<sup>1)</sup> Biochem. Zeitschr. 47 (1912).

<sup>2)</sup> Science 35 (1912).

<sup>3)</sup> Arch. (Anat. u.) Physiol. 1892, 513; 1893, 153; 1898, 32.

<sup>4)</sup> Zeitschr. Biol. 28, 405 (1892); auch Limbeck, Arch. exp. Path. u. Pharm. 1894, 309.

dieselben Verschiedenheiten hat Hamburger zwischen arteriellem und venösem Blute nachweisen können<sup>1)</sup>). Demnach nehmen also die Blutkörperchen im venösen Blute ein etwas größeres Volumen ein als im arteriellen, und parallel damit ist der Gehalt des venösen Serums an festen Stoffen etwas größer, an Chlor etwas geringer als im entsprechenden arteriellen Serum. Zur selben Zeit wird aber angegeben, daß die Alkalinität des venösen Serums etwas größer als die des arteriellen sein soll.

Diese letzte Beobachtung soll zuerst von Zuntz gemacht worden sein<sup>2)</sup>). Dann fand Gürber, daß, wenn Blutkörperchen mit Kochsalzlösung wiederholt gewaschen werden, bis die Waschlösung keine alkalische Reaktion mehr aufweist, und dann, in Kochsalzlösung aufgeschwemmt, mit  $\text{CO}_2$  behandelt werden, die Lösung alkalische Reaktion annimmt, während die Blutkörperchen eine Bereicherung an Chlor erfahren. Der Gehalt der Blutkörperchen an K und Na wird beim Versuch nicht geändert<sup>3)</sup>). Köppe wiederholte den Versuch, indem er als Waschflüssigkeit eine dem Blute isotonische Rohrzuckerlösung verwendete; dabei wurde aber keine alkalische Reaktion erhalten<sup>4)</sup>).

Köppe erklärte sich die Sache folgendermaßen: Zwischen den Blutkörperchen und der Salzlösung findet eine Auswechselung von Anionen statt, indem für ein  $\text{CO}_3$ -Ion (z. B. aus  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), das die Blutkörperchen verläßt, zwei Cl-Ionen aus NaCl eintreten; folglich wird in der Lösung Natriumkarbonat gebildet, das der Lösung alkalische Reaktion verleiht, und in den Blutkörperchen Chlornatrium.

Die Versuche sind von Hamburger sowie von Hamburger und Lier erweitert worden<sup>5)</sup>). Die Blutkörperchen wurden mit einer 4%igen Traubenzuckerlösung gewaschen und dann mit verschiedenen Salzlösungen versetzt. Wenn die Blutkörperchenaufschwemmung vor dem Zugeben des Salzes mit  $\text{CO}_2$  behandelt wurden, so nahm nachher die Salzzuckerlösung alkalische Reaktion an. Die gebrauchten Salzlösungen waren  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{NaNO}_3$ , NaCl, NaBr, NaJ,  $\text{MgSO}_4$ , sowie einige organische Alkalisalze. Nach der Erklärungsweise Köppes, an die Hamburger sich anschließt, wären also die Blutkörperchen für die Anionen dieser Salze durchlässig.

Eigentlich dürfte wohl der Versuch ebensogut in der Weise erklärt werden, daß die Kohlensäure aus dem vorhandenen Neutralsalze eine geringe Menge Säure frei setzt, welche durch die Blutkörperchen zum Teil aufgenommen wird, während das zur selben Zeit gebildete Natriumkarbonat der Lösung alkalische Reaktion verleiht. Die von Hamburger hervorgehobene Zunahme des Blutkörperchenvolumens kann durch die Aufnahme von Säure erklärt werden. Irgendeine von Kationen unabhängige Wanderung der Anionen wird wohl kaum durch die eben erwähnten Versuche bewiesen. Auf das Verhalten der Anionen werfen die S. 21 u. 22 besprochenen Versuche von Hedin über das Verhalten der Ammoniumsalze einiges Licht. Hedin fand, daß die Salze vom Typus  $\text{NH}_4\text{Cl}$  sofort von den Blutkörperchen aufgenommen werden, infolgedessen die Blutkörperchen zerstört werden; die Salze mit zweiwertigen Anionen z. B.  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  werden auch aufgenommen, aber lange nicht so rasch wie die Salze mit einwertigen Anionen. Das Verhalten der Salze vom Typus  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

<sup>1)</sup> Zeitschr. Biol. **28**, 405 (1892); Arch. (Anat. u.) Physiol. 1893, 157.

<sup>2)</sup> Beiträge zur Physiologie des Blutes. Bonn 1868.

<sup>3)</sup> Sitzungsber. med. physik. Ges. zu Würzburg. 25. Febr. 1895.

<sup>4)</sup> Pflügers Arch. **67**, 189 (1897).

<sup>5)</sup> Arch. (Anat. u.) Physiol. 1902, 492.

liegt wohl daran, daß die Anionen der Aufnahme derselben seitens der Blutkörperchen einen gewissen Widerstand leisten. Das Kation leistet offenbar keinen solchen Widerstand und das Verhalten der Ammoniumsalze zu den Blutkörperchen wird durch die Anionen bestimmt. Diese Versuche sind von Ege erweitert worden. Nach Auflösen verschiedener Ammoniumsalze in Rohrzuckerlösung beobachtete er, wie rasch die Blutkörperchen in solchen Lösungen an Volumen zunahmten und berechnete daraus das Verhalten der verschiedenen Anionen. Er fand, daß Tartrat und Zitrationen nicht eindringen, Sulfationen dringen ziemlich langsam ein, in der gleichen Weise verhalten sich  $\text{HPO}_4$  und  $(\text{CO}_2)_2$ -Ionen, während die einwertigen Ionen schnell aufgenommen werden<sup>1)</sup>.

Die Frage nach der Durchlässigkeit der Blutkörperchen für Ionen hat Höber von einer anderen Seite in Angriff genommen<sup>2)</sup>. Derselbe geht von der Erwägung aus, daß, wenn die Blutkörperchen z. B. für Anionen durchlässig sind, dieselben in einer Zuckerlösung suspendiert, der Zuckerlösung eine unmeßbare Menge Anionen abgeben und infolgedessen selbst eine positive Ladung annehmen müssen. In einem elektrischen Potentialgefälle würden sie somit nach der Kathode wandern (Kap. 2). Dies geschieht aber nicht; im Gegenteil wandern sie anodisch. Die Blutkörperchen sind also normalerweise negativ geladen, wie Höber annimmt infolge des Aufbaues derselben aus anodischen Kolloiden, wie Eiweiß und Lecithin. Ganz anders verhalten sich aber die Blutkörperchen, wenn man dieselben mit  $\text{CO}_2$  behandelt. Wenn man nämlich Blutkörperchen von Menschen in einer Rohrzuckerlösung suspendiert und nun  $\text{CO}_2$  durchleitet, so bewegen sich alsbald die Blutkörperchen in Richtung des positiven Stromes, d. h. sie nehmen positive Ladung an. Dasselbe geschieht, wenn neben dem Zucker auch etwas  $\text{NaCl}$  in der Suspensionsflüssigkeit vorhanden ist. Läßt man aber den  $\text{NaCl}$ -Gehalt über 0,8% steigen, wandern die Blutkörperchen anodisch, d. h. dieselben nehmen negative Ladung an. Die Versuche beweisen also nach Höber, daß die Blutkörperchen erst unter dem Einfluß von  $\text{CO}_2$  durchlässig werden für Anionen. Bei geringem Gehalt der Außenflüssigkeit an  $\text{Cl}$ -Ionen geben die Blutkörperchen  $\text{Cl}$ -Ionen ab und nehmen infolgedessen positive Ladung an; wird der Gehalt der Außenflüssigkeit über eine gewisse Grenze (8%  $\text{NaCl}$ ) gesteigert, so gehen umgekehrt  $\text{Cl}$ -Ionen in die Blutkörperchen hinein, und diese werden negativ geladen. Durchleitung von Luft, welche die Kohlensäure austreibt, macht den Prozeß rückgängig. Zu ähnlichen Resultaten bezüglich der Einwirkung von  $\text{CO}_2$  auf die Durchlässigkeit der Blutkörperchen für Anionen sind auch H. Straub und Kl. Meier gekommen<sup>3)</sup>.

Unter den animalen Zellen sind die roten Blutkörperchen am eingehendsten bezüglich der physikalischen Eigenschaften untersucht worden. Indessen sind auch mit Leukozyten verschiedene Untersuchungen ausgeführt worden, und zwar von Hamburger und seinen Mitarbeitern. Die Leukozyten wurden in zweierlei Weise gewonnen<sup>4)</sup>:

1. Durch fraktioniertes Sedimentieren oder Zentrifugieren von Pferdeblut, wobei die roten Blutkörperchen zunächst entfernt wurden.

2. Aus künstlich erzeugten Exsudaten, welche durch Injektion einer Aufschwemmung von Aleuronat in Wasser, Kochsalz oder Serum in die Pleura-

<sup>1)</sup> Biochem. Zeitschr. **130**, 116 (1922).

<sup>2)</sup> Pflügers Arch. **101**, 627; **102**, 196 (1904).

<sup>3)</sup> Biochem. Zeitschr. **98**, 205, 228 (1919).

<sup>4)</sup> Hamburger: Osmotischer Druck und Ionenlehre. Wiesbaden 1902.



oder Bauchhöhle oder auch durch subkutane Injektion von geringen Mengen (2 cc) gesättigter Kochsalzlösung erhalten wurden.

Die Versuche mit weißen Blutkörperchen bieten insofern einen Vorteil, als man in ihren Eigenbewegungen ein Mittel besitzt zu prüfen, ob dieselben am Leben sind.

Kurz läßt sich sagen, daß die weißen Blutkörperchen in untersuchten Beziehungen mit den roten übereinstimmende Resultate ergaben. Mit Kohlensäure behandelt nehmen sie an Volumen zu, während die umgebende Lösung mehr alkalisch wird als vorher<sup>1)</sup>. Mit sehr wenig Alkali oder Säure behandelt, nehmen die weißen Blutkörperchen an Volumen ab bzw. zu<sup>2)</sup>. In Kochsalzlösungen schwellen oder schrumpfen die Leukozyten je nachdem die Lösung dem Serum hypotonisch oder hypertonisch ist. Mit Lymphdrüsenzellen wurden zum Teil die gleichen Ergebnisse erzielt (van der Schroeff).

Ähnlich bezüglich der Volumveränderungen in hypotonischen und hypertotonischen Lösungen verhielten sich die Spermatozoen vom Frosch. Die den Zellen isotonische Konzentration oder diejenige, in welcher die Spermatozoen ihre Beweglichkeit am besten bewahrten, war für NaCl 0,6%<sup>3)</sup>.

Derartige Volumveränderungen fand Hamburger auch mit abgeschabten Epithelzellen vom Darm-, Tracheal-, Blasen- und Ösophagusepithel. Beim Darm- und Trachealepithel soll nur der Kern an den Volumenänderungen teilnehmen und der Zellkörper wäre demnach für Kochsalz durchlässig<sup>3)</sup>. Da indessen die Versuchsanordnung keineswegs einwandfrei war, werden diese Versuche hier nicht weiter berücksichtigt.

## Durchlässigkeit tierischer Gewebe.

Die im vorhergehenden besprochenen Zellen waren frei oder aus ihrem Zusammenhange frei gemacht. Es erübrigt noch ganze Organteile, also Zellen in ihrem Zusammenhange mit anderen Bestandteilen der Gewebe in osmotischer Beziehung zu berücksichtigen, insofern dies möglich ist.

Verschiedene Forscher haben lospräparierte Froschmuskeln in verschiedenen Lösungen untersucht. Nasse suchte die Konzentrationen verschiedener Salze auf, in welchen Froschmuskeln ihre Reizbarkeit am längsten bewahrten. Dabei erwies es sich, daß die günstigsten Konzentrationen für einige Salze etwa die gleiche Molekülzahl enthielten, wie aus folgender Zusammenstellung zu ersehen ist<sup>4)</sup>.

Untersuchte Salze:	Gr. Mol. pro Liter:
NaCl	0,103
KCl	0,093
NaBr	0,116
NaJ	0,116
NaNO <sub>3</sub>	0,117
NaO . CO . CH <sub>3</sub>	0,116

Der Prozentgehalt der NaCl-Lösung ist 0,6, und diese Lösung ist folglich für den Froschorganismus die „physiologische Kochsalzlösung“. In einer

<sup>1)</sup> van der Schroeff: Die Permeabilität der weißen Blutkörperchen für die Anionen von Natriumsalzen, Bern 1901; auch in Arch. (Anat. u.) Physiol. 1902; Hamburger: Virchows Arch. 156, 329 (1899).

<sup>2)</sup> Arch. (Anat. u.) Physiol. 1898, 317.

<sup>3)</sup> Osmotischer Druck und Ionenlehre. III. 7.

<sup>4)</sup> Pflügers Arch. 2, 114 (1869).

solchen Lösung hält sich auch das Gewicht des Froschmuskels unverändert. Der nächste Fortschritt in bezug auf die Muskeln wurde von Overton erbracht<sup>1)</sup>. Derselbe hob zunächst hervor, daß man beim Prüfen der Gewichtsänderungen von Muskeln in einer Lösung darauf achten muß, daß der schließliche Endzustand erreicht wird, und daß dabei die Erregbarkeit erhalten bleibt. Beim Absterben des Muskels werden nämlich die Durchlässigkeitsverhältnisse gänzlich verändert. In Overtons Versuchen wurden die Muskeln zunächst in einer 0,6—0,7% NaCl-Lösung oder in einer Lösung, die wie folgt zusammengesetzt war: 0,6% NaCl + 0,02% KCl + 0,02% CaCl<sub>2</sub> bis zum Eintreten konstanten Gewichtes aufbewahrt. Darauf wurden die Muskeln in eine Lösung von dem gleichen oder etwas höheren osmotischen Drucke gebracht, welche Lösung durch Auflösen einer geeigneten Menge der auf ihr Eindringungsvermögen zu prüfenden Verbindung in einer der genannten Salzlösungen (eventuell mit Wasser verdünnt) bereitet war. Wenn der Muskel in der Lösung an Gewicht zunahm, war die Substanz aufgenommen worden. Blieb das Gewicht unverändert, waren keine nennenswerten Mengen davon eingetreten.

In der Weise wurde ermittelt, daß die Durchlässigkeitsverhältnisse der intakten Muskelfasern, die für eine große Anzahl organischer und anorganischer Verbindungen untersucht wurden, etwa dieselben sind wie die vorher für Pflanzenzellen gefundenen, welche in diesem Kapitel bereits erwähnt wurden.

Demoor, Peisser, Breuer, Hendrix und Renauld haben mit überlebenden Organen (Leber, Lunge, Nieren) Durchströmungsversuche angestellt in der Weise, daß verschieden konzentrierte Salzlösungen durch das Gefäßsystem geleitet wurden. Die dabei stattgefundenen Volumenänderungen der Organe wurden an einer Art von Pletysmograph registriert<sup>2)</sup>. Es ergab sich, daß das Volumen der Leber beim Durchleiten einer Kochsalzlösung von 0,9 bis 1,1% unverändert bleibt. Dasselbe ist der Fall mit der Lunge. Bei Zuleitung hypotonischer Lösungen schwellen diese Organe, mit hypertonen schrumpfen sie. Gleichzeitig nimmt bei unverändertem Druck die Durchströmungsgeschwindigkeit für die hypotonischen Lösungen infolge passiver Verengung der Kapillaren ab, für hypertone Lösungen infolge von Erweiterung zu. Für die Nieren wurden kompliziertere Verhältnisse gefunden, auf die hier nicht eingegangen werden soll.

## Osmotischer Druck des Blutes.

Die Durchströmungsversuche mit Leber und Lungen sowie auch manche vorher erwähnten Versuche mit animalen Zellen zeigen, daß die Gewebe für einen gewissen osmotischen Druck der Außenflüssigkeit eingerichtet sind, mindestens insofern, als dieser Druck durch solche Stoffe bedingt ist, welche nicht oder nur in geringen Mengen in die Zellen eingelassen werden. Dieser Druck ist der des Blutes. Als Maß des osmotischen Druckes des Blutes wird allgemein die Gefrierpunktserniedrigung angegeben. Gewöhnlich bestimmt man den Gefrierpunkt des Serums; in Ermangelung an Serum kann man auch die Bestimmung an dem defibrierten Blute vornehmen. Die Gegenwart der Blutkörperchen beeinflusst den Gefrierpunkt nicht merkbar. Daß die Gefrierpunktserniedrigung des Blutes als Maß des osmotischen Druckes der Gewebe

<sup>1)</sup> Pflügers Arch. **92**, 115 (1902); **105**, 176 (1904).

<sup>2)</sup> Bull. acad. roy. de Méd. de Belgique. November 1904; Mémoire acad. roy. de Belgique [2] 1907, **2**, 112.

angewandt werden kann, beruht auf der Tatsache, daß der osmotische Druck des Serums oder Blutes nur durch solche Stoffe bedingt ist, welche nicht oder nur in geringen Mengen von den Zellen aufgenommen werden, oder zum mindesten, daß andere Stoffe normalerweise in so geringen Mengen vorkommen, daß dieselben vernachlässigt werden können. Daß dem so ist, geht bereits aus den Untersuchungen von Hedin über das Volumen der Blutkörperchen hervor, wenn dieselben in Plasma und in Salzlösung aufgeschwemmt sind<sup>1)</sup>. Es wurde gefunden, daß diejenige Kochsalzlösung, welche beim Zentrifugieren dasselbe Blutkörperchenvolumen wie das entsprechende Plasma ergab, auch den gleichen Gefrierpunkt wie das Plasma besaß. Wie wir weiter unten finden werden, sind die Eiweißkörper des Serums für die Gefrierpunktserniedrigung desselben ohne Belang, und letztere wird folglich nur durch die aufgelösten Kristalloide bedingt. Da diese hauptsächlich von den aufgelösten Salzen gebildet werden, sind die Salze zum größten Teil für die Erniedrigung des Gefrierpunktes verantwortlich. Der Gehalt des Serums an Salzen dürfte wohl nach den Bestimmungen von Schmidt für Menschenserum<sup>2)</sup> sowie von Abderhalden für Rind, Schaf, Ziege, Pferd, Schwein, Kaninchen, Hund und Katze<sup>3)</sup> rund 0,75% betragen, von welcher Ziffer mehr als drei Viertel auf NaCl kommt. Aus Untersuchungen von Bugarsky und Tangl berechnet sich, daß etwa ein Zehntel des osmotischen Druckes auf kristalloide Nichtelektrolyte kommt. Die gegen das Blutkörperchenvolumen indifferente Kochsalzlösung enthält rund 0,9% Salz.

Die Gefrierpunktserniedrigung, welche man für das Blutserum gewöhnlich angegeben findet, ist  $\Delta = 0^{\circ},560$ . In der Tat schwankt wohl der normale Wert um diese Ziffer. Da nach dem S. 8 angeführten ein Mol (eine Lösung, die ein Grammolekül pro Liter enthält) eines nicht dissoziierten Stoffes  $\Delta = 1^{\circ},86$  entspricht, so berechnet sich also die sogenannte molekulare Konzentration des

Blutes oder Serums zu  $\frac{0,560}{1,86} = 0,3$  Mole oder 0,3 Grammoleküle pro Liter

Serum. Wenn es sich also darum handelte, eine Lösung herzustellen, welche „physiologisch“ ist, d. h. denselben osmotischen Druck wie das Blut besitzt und zugleich das Volumen der Blutkörperchen nicht beeinflußt, so ist zunächst zu beachten, daß es sich nur um solche Stoffe handeln kann, welche nicht oder nur in beschränktem Grade von den Blutkörperchen aufgenommen werden, z. B. Neutralsalze der fixen Alkalien, Zuckerarten, mehrwertige Alkohole (z. B. Mannit) und neutrale Aminosäuren. Alle anderen Stoffe verhalten sich in Lösungen dem reinen Wasser ähnlich. Haben wir also von einem nicht dissoziierten Stoffe, z. B. Traubenzucker, eine dem Blute isotonische Lösung herzustellen, so erinnern wir uns zunächst, daß das Molekulargewicht dieses Stoffes in wasserfreier Form = 180 ist. Die dem Blute isotonische Lösung soll 0,3 Mole enthalten oder  $0,3 \times 180 \text{ g} = 54 \text{ g}$  pro Liter Lösung. Folglich wird 54 g wasserfreier Traubenzucker abgewogen, in Wasser aufgelöst und die Lösung auf 1 Liter aufgefüllt; die Lösung wird folglich etwa 5,4-prozentig. In der gleichen Weise findet man, daß die dem Blute isotonische Rohrzuckerlösung  $0,3 \times 342 = 102,6 \text{ g}$  pro Liter enthalten muß (10,27%), da das Molekulargewicht des Rohrzuckers 342 ausmacht. Handelt es sich dagegen um ein Salz, so muß die Dissoziation mit in Rechnung genommen werden, da in diesem Falle nicht die Moleküle, sondern die Anzahl der Moleküle + Ionen für den osmotischen

<sup>1)</sup> Scand. Arch. Physiol. 5, 377 (1895).

<sup>2)</sup> Zitiert nach Hammarsten: Lehrbuch der physiologischen Chemie. 10. Aufl., S. 260.

<sup>3)</sup> Zeitschr. physiol. Chemie 25, 106 (1898).

Druck bestimmend sind. Da diese Zahl im Verhältnis  $[1 + (n - 1)\alpha] : 1$  größer ist als die Molekülzahl einer nicht dissoziierten Substanz (S. 11), so wird also die molekulare Konzentration der dem Blute isotonischen Lösung im Verhältnis  $1 : [1 + (n - 1)\alpha]$  geringer als die eines nicht dissoziierten Stoffes. Wir haben also folgenden Ausdruck zu berechnen

$$\frac{0,3}{1 + (n - 1)\alpha},$$

was leicht geschieht, wenn nur  $\alpha$  und  $n$  bekannt sind. Für Kochsalz und andere neutrale Alkalisalze mit einwertigen Anionen und Kationen können wir leicht durch die Überlegung zum Ziele kommen, daß diese Salze bei der fraglichen Konzentration so gut wie vollkommen dissoziiert sind, d. h. die Zahl der Moleküle + Ionen ist etwa doppelt so groß wie die Zahl der Moleküle für einen nicht dissoziierten Stoff. Die molekulare Konzentration der dem Blute isotonischen Lösung wird folglich etwas mehr als  $\frac{0,3}{2}$  oder 0,15 Grammoleküle pro Liter.

Und in der Tat entspricht eine molekulare Konzentration von 0,155 Mole einer Gewichtskonzentration von  $0,155 \times 58,5 = 9,07$  g pro Liter oder rund 0,9 Prozent. Für die Alkalisulfate berechnet sich aus der Formel

$$\frac{0,3}{1 + (n - 1)\alpha}$$

eine molekulare Konzentration von 0,123 Mole, was z. B. für  $K_2SO_4$  einer prozentischen Konzentration von 2,14 entspricht.

Der osmotische Druck des Blutes ist bei demselben Individuum geringen täglichen Schwankungen unterworfen, welche durch Zufuhr einerseits von Salzen, oder unter der Verarbeitung der Nahrung entstandenen Stoffen, andererseits von Wasser wohl erklärt werden können. Solche Schwankungen können auch auf experimentellem Wege dadurch herbeigeführt werden, daß hypotonische oder hypertontische Salzlösungen in das Blut eingeführt werden. In allen solchen Fällen kehrt aber der osmotische Druck zu einer gegebenen Norm zurück, und überhaupt läßt sich sagen, daß bei Säugetieren der osmotische Druck normalerweise nur innerhalb sehr enger Grenzen variiert. Der Organismus verfügt folglich über Mittel, mit deren Hilfe der osmotische Druck reguliert werden kann. Hierbei hat es sich herausgestellt, daß der Organismus rascher zur Norm zurückkehrt nach Injektion einer hypotonischen Lösung als nach der Einspritzung einer hypertontischen. Mit anderen Worten: Wasser verschwindet rascher aus dem Blute, als die ihm zugeführten Salze<sup>1)</sup>. Nach Bottazzi liegt dies daran, daß die Zellen (Blutkörperchen und andere Zellen) sofort das Wasser aufnehmen, aber nicht die Salze<sup>2)</sup>. Die darauf folgende definitive Regulierung geschieht durch Drüsen, die je nach der Zufuhr Wasser oder Salze in größeren Mengen als gewöhnlich absondern. Zu diesen regulierenden Drüsen gehören in erster Linie die Nieren und die Schweißdrüsen, von welchen erstere normalerweise ein Sekret liefern, das einen größeren osmotischen Druck als das Blut besitzt, letztere ein Sekret, das um ein Bedeutendes ärmer ist an Salzen als das Blut.

Die Grenzen, innerhalb welcher die Gefrierpunktserniedrigung des Blutes bei gesunden Menschen schwankt, sind nach den Erfahrungen Korányis und

<sup>1)</sup> Strauß: Zeitschr. diät. u. physik. Therapie 8, 7 (1903).

<sup>2)</sup> Korányi und Richter: Physik. Chem. u. Medizin. Leipzig 1908, I, 475.

seiner Schüler  $0^0,55$ — $0^0,58$ . Doch findet man in der Literatur verschiedene Ziffern, welche auch außerhalb dieser Grenzen liegen (Korányi). Bei Krankheiten soll die Gefrierpunktserniedrigung des Blutes abnorme Werte aufweisen können. Korányi gibt an, daß  $\Delta$  bei Herzkranken von den physiologischen Werten bedeutend abweichen kann, ferner, daß die beobachteten Abweichungen Kompensationsstörungen begleiten und dem Sinne nach einer Zunahme der molekularen Konzentration des Blutes entsprechen<sup>1)</sup>. In solchen Fällen soll  $\Delta$  auf  $0^0,68$ — $0^0,75$  ja bis  $1^0,01$  steigen können. Diese Verhältnisse setzt Korányi mit gesteigertem Kohlensäuregehalt des Blutes in Zusammenhang, wobei nach Hamburger die festen Stoffe des Serums zunehmen sollen (S. 32).

Bei Säugetieren haben Bugarsky und Tangl folgende Schwankungen der molekularen Konzentration des Blutserums gefunden<sup>2)</sup>:

Pferd	zwischen	0,285	und	0,317	Mol. + Ionen pro Liter
Rind	„	0,303	„	0,342	„
Schaf	„	0,328	„	0,342	„
Schwein	„	0,313	„	0,360	„
Hund	„	0,297	„	0,354	„
Katze	„	0,325	„	0,357	„

Die oben aus dem Gefrierpunkte berechnete molekulare Konzentration des Menschenserums war 0,3.

## Osmotischer Druck tierischer Sekrete.

Über die Bedeutung gewisser Sekrete für das Konstanthalten des osmotischen Druckes des Organismus war bereits die Rede. In bezug auf die osmotische Spannung verschiedener Sekrete entnehmen wir einer Zusammenstellung von Bottazzi folgendes<sup>3)</sup>: Dem Blute etwa isotonisch sind Galle (untersuchte Spezies: Mensch, Rind, Schwein), sowie Milch. Da die Milch stets bedeutende Mengen an Milchzucker enthält, ist folglich der Salzgehalt herabgesetzt im Vergleich mit dem des Blutserums. Das Kolostrum soll stets etwas hypertonisch sein. Auch ist der Salzgehalt desselben dem der normalen Milch gegenüber vermehrt. Amniosflüssigkeit ist dem Blute isotonisch (Kuh, Kaninchen, Hündin) oder etwas hypotonisch (Frau, Schaf). Entschieden hypotonisch sind Speichel und Schweiß.

Als Typus einer Sekretionsflüssigkeit, welche einen größeren osmotischen Druck als das Blut besitzt, gilt der Harn. Nur der Säuglingsharn soll dem Blute hypotonisch sein<sup>4)</sup>. Konstant hypertonisch, wenn auch in geringerem Grad, ist der Darmsaft von Hund und Mensch. Die Gefrierpunktserniedrigung des Harns bewegt sich innerhalb Grenzen, die etwas verschieden angegeben werden. Diese Grenzen sind nach einer Zusammenstellung von Hamburger für Menschen<sup>5)</sup>:

$1^0,30$	bis	$2^0,20$	(Korányi),
1,402	„	2,145	(Bugarsky),
1,30	„	2,39	(Lindemann),

<sup>1)</sup> Korányi und Richter: Physik. Chem. u. Med. II, S. 51.

<sup>2)</sup> Pflügers Arch. **72**, 554 (1898).

<sup>3)</sup> Korányi und Richter: Handbuch I, S. 513.

<sup>4)</sup> Ebenda S. 517.

<sup>5)</sup> Osmotischer Druck und Ionenlehre II, S. 317.

0,8 bis 1,03	(Roth),
1,5 „ 2	(Albarran),
0,9 „ 2	(H. KümmeI).

Göthlin fand bei Menschen auf gemischter Kost  $0^0,97$  bis  $1^0,88$  und bei Hunden auf Fleischdiät  $3^0,37$ — $3,52^1$ ). Hierzu ist zunächst zu bemerken, daß die größte Zahl der im Harn vorkommenden Moleküle bei Säugetieren vom Harnstoff geliefert wird. Da dieser beim Menschen rund  $2^0/0$  des Harns ausmacht und das Molekulargewicht 60 ist, so bedingt der Harnstoff allein eine molekulare Konzentration von 0,33 pro Liter. Kochsalz kommt im Menschenharn in einer Menge von rund  $1^0/0$  vor und bedingt mit einem Molekulargewicht von 58,5 und fast vollständiger Dissoziation eine Konzentration der Moleküle + Ionen von etwa 0,3 pro Liter. Harnstoff und Kochsalz vertreten also zusammen 0,63 Grammoleküle, was einer Gefrierpunktserniedrigung von  $1^0,17$  entspricht. Außerdem kommen aber auch geringere Mengen von Sulfaten, Phosphaten, anderen Salzen und organischen Stoffen im Harn vor. Aus der Gefrierpunktserniedrigung des Harnes ( $\Delta$ ) bekommt man durch Teilung mit der molekularen Gefrierpunktserniedrigung (1,86) die molekulare Konzentration des

Harnes  $\frac{\Delta}{1,86}$ . Göthlin bezeichnet die Zahl  $\frac{\Delta \cdot M}{1,86 \cdot P}$ , wo M die Tagesmenge des Harnes und P das Körpergewicht des Individuums bedeutet, als reduzierte molare Absonderung der Nieren. Dieselbe gibt den Bruchteil eines Moles an, welcher pro 1 kg Körpergewicht und 24 St. in gelöster Form durch den Harn ausgeschieden wird<sup>2</sup>). Für diese Zahl fand Göthlin bei gemischter Kost Werte, welche für Menschen zwischen 9 und 26 Millimol schwankten; bei vegetabilischer Kost schwankte die Zahl zwischen 9 und 11 Millimol. Für Hunde, die auf reine Fleischdiät gesetzt waren, wurde die Zahl 60 erhalten, was offenbar mit der Bildung von großen Mengen Harnstoff zusammenhängt.

Viele Forscher sind bemüht gewesen, aus der molekularen Konzentration des Harnes allein oder aus dem Verhältnis zwischen dieser und dem molekularen NaCl-Gehalt des Harnes unter Berücksichtigung dessen Menge für die Diagnostik von Herz- und Nierenkrankheiten anwendbare Schlüsse zu ziehen. So gibt Korányi an, daß bei mangelnder Kompensation von Klappenfehlern die regulierende Wirksamkeit der Nieren auf die molekulare Konzentration des Blutes gestört sein soll, indem einerseits das eingenommene Wasser langsamer ausgeschieden wird als sonst<sup>3</sup>), andererseits auch die Ausscheidung von Kochsalz verlangsamt ist<sup>4</sup>). Bei Nierenkranken soll die Akkommodationsbreite der Nieren bei ihrer regulatorischen Wirksamkeit herabgesetzt sein. Mit Akkommodationsbreite wird die Differenz zwischen der maximalen und minimalen Gefrierpunktserniedrigung des Harnes gemeint. Folgende Zahlen beleuchten das eben Gesagte<sup>5</sup>):

	Maximale Gefr.-Erniedr.	Minimale Gefr.-Erniedr.
Nierengesunde Menschen . . . . .	etwa $3^0,5$	$0^0,08$
Nephr. interst. chron. . . . .	$0^0,63$ — $2^0$	$0^0,12$ — $0^0,38$
Nephr. par. chron. . . . .	$0^0,68$ — $1^0,11$	$0^0,36$ — $0^0,47$
Nephr. par. subac. . . . .	$0^0,75$ — $1^0,27$	$0^0,53$ — $0^0,83$

<sup>1</sup>) Skand. Arch. Physiol. 25 (1911).

<sup>2</sup>) Skand. Arch. Physiol. 25 (1911).

<sup>3</sup>) Kövesi und Róth-Schultz: Berl. klin. Wochenschr. 1900, S. 321.

<sup>4</sup>) Loeper: Mécanism régul. d. l. composition du sang. Paris 1903.

<sup>5</sup>) Korányi und Richter: Handbuch II, S. 136.

Aus dem bereits Gesagten geht hervor, daß die Zellen das Vermögen besitzen auf Änderungen des Wasseranziehungsvermögens der Außenflüssigkeit durch Änderungen ihres Volumens unter Aufnahme oder Abgabe von Wasser zu antworten. Folglich können die Zellen der höheren Organismen sich derart einrichten, daß dieselben mindestens innerhalb gewisser Grenzen mit dem Blute oder Gewebeflüssigkeiten in osmotischem Gleichgewichte sich befinden; das Wasseranziehungsvermögen des Zellinhaltes und das der Außenflüssigkeit halten folglich einander im Gleichgewicht, wobei wahrscheinlich innerhalb der Zellen etwa vorhandener mechanischer Widerstand gegen Änderungen des Zellenvolumens in der einen oder anderen Richtung tätig sein kann. Es ist auch hervorgehoben worden, daß eine solche Regulierung des osmotischen Druckes innerhalb der Zellen nur solchen Stoffen gegenüber geschehen kann, welche von den Zellen nicht aufgenommen oder abgegeben werden. Diejenigen Stoffe, welche in die Zellen eindringen und dieselben verlassen können, erzeugen offenbar keine Verschiedenheit des osmotischen Druckes innerhalb und außerhalb der Zellen und folglich auch keine Volumenänderungen. Wird eine Zelle von einer Lösung umgeben, welche beiderlei Stoffe (eindringende und nicht eindringende) enthält, so wird das Volumen der Zelle nur den letzteren gegenüber reguliert. Der durch nicht eindringende Stoffe erzeugte osmotische Druck wird aus diesem Grunde effektiv genannt. Diese Stoffe, welche in genügender Konzentration den Gewebezellen Wasser entziehen, decken sich praktisch mit den sog. Lymphagoga zweiter Ordnung von Heidenhain. Auch wirken diese nach Heidenhain dadurch, daß sie nach Einspritzung in das Blut den Körperzellen Wasser entziehen, wodurch eine Vermehrung der Lymphe erfolgt, welche reicher an Wasser wird als die normale<sup>1)</sup>. Der osmotische Druck der normalen Lymphe ist nach Untersuchungen von Hamburger<sup>2)</sup> und von Leathes<sup>3)</sup> etwas höher als der des Blutes, was wohl an der Aufnahme seitens der Lymphe von Stoffwechselprodukten niedrigen Molekulargewichtes liegen dürfte. Inwieweit solche Produkte auf die Zellen wasserentziehend und demnach lymphtreibend wirken können, ist noch unklar. Indessen gibt es auch andere lymphtreibende Mittel meistens von nicht bekanntem chemischen Bau, nämlich Heidenhains sog. Lymphagoga erster Ordnung, z. B. Extrakte von Krebsmuskeln, Blutegeln und verschiedenen animalen Organen, ferner Pepton und Hühnereiweiß. Nach der allgemeinen Ansicht liegt der vermehrte Lymphfluß nach der Einführung solcher Stoffe an einer Vermehrung der Drüsenlymphe, besonders der der Leber. Dies soll nach Heidenhain und nach Hamburger an einer sekretorischen Tätigkeit der Kapillarendothelzellen liegen, nach Starling<sup>4)</sup> und nach Cohnstein<sup>5)</sup> beruht der vermehrte Lymphfluß auf einer vermehrten Durchlässigkeit der Gefäßwände. L. Asher stellt den Lymphfluß mit einer gesteigerten Tätigkeit der Drüsen in Zusammenhang<sup>6)</sup>, und für eine solche Ansicht spricht besonders die Tatsache, daß die Lymphagoga erster Ordnung auch die Sekretion der Drüsen anregen. Auf dem gegenwärtigen Standpunkt der Frage nach der Lymphbildung läßt sich aber nicht entscheiden, ob die Wirkung der Lymphagoga erster Ordnung durch irgendwelche physi-

1) Pflügers Arch. **49**, 209 (1891); **56**, 632 (1894).

2) Osmotischer Druck und Ionenlehre II, S. 50.

3) Journ. of Physiol. **19**, 1 (1895).

4) Journ. of Physiol. **14**, 139 (1893); **16**, 224 (1894).

5) Pflügers Arch. **63**, 587 (1896).

6) Biochem. Zentralbl., **4**, 1, 45.

kalisch-chemische Vorgänge zustande kommt oder ob hierbei besondere, nicht näher definierbare sog. sekretorische Kräfte mitwirken.

## Durchlässigkeit tierischer Membranen.

Es liegt auf der Hand, daß animale Membranen in bezug auf ihre Permeabilität besonders dann leicht zu prüfen sind, wenn man die auf beiden Seiten der Membran befindlichen Flüssigkeiten zu analysieren imstande ist. Andererseits läßt sich im voraus erwarten, daß die Durchlässigkeit einer Membran von derjenigen der Zellen, aus welchen dieselbe aufgebaut ist, verschieden sein kann, da die Membran außer den Zellen noch Interzellulärsubstanzen, vielleicht auch Interzellulärlücken und Bindegewebe je nach dem verschiedenen Zusammenhang der Zellen enthalten kann. Besonders sind in dieser Beziehung die in Wasser lebenden Tiere von Interesse, weil das Verhalten der Leibesflüssigkeiten zu dem umgebenden Medium einen Hinblick gewährt in die Durchlässigkeitsverhältnisse der die beiden Flüssigkeiten trennenden Membranen. Es hat sich herausgestellt, daß die fraglichen Tiere in zwei Klassen eingeteilt werden können, je nachdem die Körperflüssigkeiten mit der Außenflüssigkeit in osmotischem Gleichgewicht sich befindet oder nicht <sup>1)</sup>.

Zu der Klasse, welche den gleichen osmotischen Druck wie die Umgebung besitzen, gehören die niedrigsten Meertiere in der Reihe hinauf bis zu den Knochenfischen (also die Knorpelfische einbegriffen). Und da der Salzgehalt des Meerwassers an verschiedenen Stellen nicht unbeträchtlich schwankt, so folgt auch, daß die Leibesflüssigkeit dieser Tiere je nach dem Meere, wo sie leben, einen verschiedenen osmotischen Druck besitzen kann. Wenn sie aus einer Lösung von gegebener Konzentration in eine andere von verschiedener Konzentration versetzt werden, können sie sich auch der letzteren anpassen, wenn nur der Übergang allmählich stattfindet. Nach Frédéricq wird folgende Tabelle angeführt <sup>2)</sup>:

	Gefrierpunktserniedrigung	
	Körperflüssigkeit	Meerwasser
Sipunculus nudus . . . . .	2,48	2,49
Asterias glacialis . . . . .	2,68	2,65
Holothuria tubulosa . . . . .	2,61	2,65
	Blut	
Aplysia depilans . . . . .	2,68	2,65
Octopus vulgaris . . . . .	1,60	1,60
Palinurus vulgaris . . . . .	2,80	2,98
Maja squinado . . . . .	2,88	2,98
Maja verucosa . . . . .	2,90	2,96
	2,94	2,98
	1,40	1,38

Bei den Knorpelfischen (Selachiern) hat es sich herausgestellt, daß der osmotische Druck wohl derselbe ist wie der der Umgebung, aber trotzdem ist der Druck des Blutes durch andere Stoffe bedingt als der des Meerwassers. Der Gehalt des Blutes an Salzen ist, wie sowohl die chemische Analyse (Frédéricq) wie das elektrische Leitvermögen (Bottazzi) beweisen, geringer als der

<sup>1)</sup> Die umfangreiche Literatur findet man zum Teil wie folgt: Bottazzi: Arch. Fisiol. **3**, 3, 416 (1906); **4**, 495 (1907); **5**, 243, 547 (1908); Frédéricq: Bull. acad. roy de Belgique **8**, 428 (1901); Arch. Zool. exp. **3**, 34 (1885); Arch. de Biol. **20**, 709 (1904); Rodier: Travaux Labor. Stat. Zool. d'Arachon 1899, S. 103; Garrey: Biol. Bull. **8**, 257 (1905); Quinton: Compt. rend. soc. biol. **51**, 197 (1899); Compt. rend. **131**, 952 (1900).

<sup>2)</sup> Arch. de Biol. **20**, 709 (1904).



der inneren Flüssigkeiten der niedrigeren Tiere, welche in dem gleichen Medium leben. Das osmotische Gleichgewicht mit der äußeren Flüssigkeit wird in der Hauptsache durch das Vorkommen im Blute von Harnstoff erreicht<sup>1)</sup>. Derselbe kann sogar 2,6<sup>0</sup>/<sub>10</sub> betragen. Ein Abfallprodukt des Stoffwechsels dient also in diesem Falle als Regulator des osmotischen Druckes. Über die Bedeutung des Harnstoffes für den Organismus der Selachier siehe auch Baglioni<sup>2)</sup>.

Bei den niedrigsten Organismen des Meeres, welche wie gesagt den gleichen osmotischen Druck wie das Meerwasser zeigen, scheint die Körperoberfläche für Salze nicht durchlässig zu sein, da gewisse Krustazeeen und Echinodermen je nach der Konzentration des Meerwassers ihr Volumen ändern<sup>3)</sup>. Dieser Versuch deutet zugleich darauf hin, daß die fraglichen Organismen reines Wasser durchlassen. Bei den Selachiern ist offenbar die Körperhülle sowohl für Salze wie für Harnstoff undurchlässig, da sonst Salze eintreten und Harnstoff austreten würde.

Es gibt, wie bereits angedeutet, Wassertiere, deren Blut einen osmotischen Druck besitzt, der von dem der Umgebung vollkommen verschieden ist. Zu diesen Tieren gehören die Teleostier (wenn auch in beschränktem Grade), Amphibien, gewisse Reptilien und die im Wasser lebenden Säugetiere. Hierher gehören auch die in süßem Wasser lebenden wirbellosen Tiere, z. B. der Flußkreb. Die Gefrierpunktserniedrigung des Blutes dieser Tiere ist beim Aufenthalt im Meere niedriger als die der Umgebung und für Süßwassertiere höher als die des umgebenden Mediums. Folgende Tabelle ergibt einige Werte für die Gefrierpunktserniedrigung des Blutes (Frédéricq<sup>4)</sup>):

Wirbellose:	<i>Astacus fluviatilis</i>	$\Delta = 0^{\circ},80,$
Teleostier:	<i>Anguilla vulgaris</i>	0,58—0,69
	<i>Esox lucius</i>	0,512
Amphibien:	<i>Rana esculenta</i>	0,465
Reptilien:	<i>Emys europaea</i>	0,474.
$\Delta$ kann für Süßwasser auf 0 <sup>0</sup> ,02—0 <sup>0</sup> ,06 geschätzt werden.		

Bei den Teleostiern soll nach einigen Forschern ein gewisses Vermögen vorhanden sein in bezug auf den Salzgehalt des Blutes nach der Umgebung sich einzurichten. So soll nach Quinton der Aal beim Aufenthalt in süßem Wasser und im Meerwasser für  $\Delta$  die Ziffer 0<sup>0</sup>,66 bzw. 0<sup>0</sup>,92 ergeben<sup>5)</sup>. Ähnliche Schwankungen sind von W. J. Dakin für *Pleuronectes platessa* je nach dem Salzgehalt des Meerwassers an verschiedenen Fundorten beobachtet worden<sup>6)</sup>. Für Süßwasserfischen hat Dekhuyzen als Medium für 3 Arten  $\Delta = 0^{\circ},521$  gefunden und für Meerwasserfischen als Mittelzahl für 38 Arten  $\Delta = 0^{\circ},724$  gefunden<sup>7)</sup>. Nach L. Backman besitzen sowohl gewisse Wasserkäfer wie auch Amphibien ein gewisses Vermögen den osmotischen Druck innerhalb des Körpers nach dem der Umgebung einzurichten<sup>8)</sup>. Ferner fanden Backman und Runnström, daß die osmotische Spannung des Froscheies, die etwa der des Froschserums gleichkommt, bei der Befruchtung bis auf  $\frac{1}{10}$  von der des Serums erniedrigt wird, so daß dieselbe der osmotischen Spannung des umgebenden Wassers gleich ist. Während der Entwicklung des Embryos steigt

<sup>1)</sup> v. Schröder: Zeitschr. physiol. Chem. 14, 576 (1890).

<sup>2)</sup> Zentralbl. Physiol. 19, 389 (1905).

<sup>3)</sup> Quinton: Compt. rend. 131 952 (1900); Henri und Lalou: Ebenda 137, 721 (1903).

<sup>4)</sup> Arch. de Biol. 20, 709 (1904). — <sup>5)</sup> Compt. rend. Soc. biol. 57, 470 (1904).

<sup>6)</sup> Biochem. Journ. 3, 21 (1908). — <sup>7)</sup> Arch. néerl. 10, 121 (1905).

<sup>8)</sup> Zentralbl. Physiol. 25 (1911); Pflügers Arch. 148 (1912).

aber der Druck allmählich, so daß derselbe nach 20—25 Tagen den Wert des erwachsenen Tieres erreicht<sup>1)</sup>.

Wie soll man nun den osmoregulatorischen Apparat bei solchen Tieren sich denken, die imstande sind, den osmotischen Druck des Blutes von dem der Umgebung mehr oder weniger unabhängig zu halten? Offenbar müssen die Membranen, welche das Blut von der Umgebung trennen, für die meisten in dem Blute sowie in der Umgebung aufgelösten Stoffe undurchlässig oder nur sehr schwer durchlässig sein. Sonst würde keine Differenz des osmotischen Druckes existieren. Dann kommt aber die Frage, ob die fraglichen Membranen das reine Wasser durchlassen. Diese Frage ist in verschiedener Weise beantwortet worden. Einerseits vertritt Bottazzi die Ansicht, daß die Membranen (z. B. die Kiemenmembranen bei den Fischen) auch für Wasser undurchlässig sein müssen, weil sonst die im Süßwasser lebenden Fische aufquellen und die im Meerwasser lebenden schrumpfen müßten<sup>2)</sup>. Andererseits hat aber Overton bei Fröschen eine wie es scheint unzweifelhafte Durchlässigkeit der Haut für Wasser dargetan<sup>3)</sup>. Wird ein solches Tier bis zu den Vorderbeinen in eine Salzlösung getaucht, deren osmotischer Druck größer ist als der des Froschblutes, etwa eine 0,8—1,2% Lösung von NaCl, so nimmt das Gewicht des Frosches ab, und zwar um so mehr, je konzentrierter die Lösung war. In sehr schwachen Salzlösungen sowie in reinem Wasser nehmen dagegen die Frösche in der gleichen Weise behandelt, Wasser auf und schwellen, wenn die Kloake nach künstlicher Entleerung der Harnblase verschlossen wurde. Unter gewöhnlichen Verhältnissen findet keine Wasseransammlung innerhalb des Körpers statt, weil das aufgenommene Wasser durch den Harn ausgeschieden wird. Auch in diesen Fällen scheinen also die Nieren diejenigen Organe zu sein, welche den osmotischen Druck innerhalb des Körpers regulieren. E. Wertheimer hat bei Versuchen mit der lebenden Froschhaut in entgegengesetzter Richtung eine verschiedene Durchlässigkeit gefunden (gerichtete oder irreziproke Permeabilität). Die Durchlässigkeit war aber in hohem Grade von der Lösung abhängig, die sich zur anderen Seite der Membran befand. Gewisse basische Farbstoffe gehen nur in der Richtung von innen nach außen und gewisse saure nur in der Richtung von außen nach innen<sup>4)</sup>.

Außer durch die äußere Haut bei den Wassertieren stehen die Tiere auch durch den Darm mit einem äußeren, mehr oder weniger flüssigen Medium, dem Darminhalt, in Berührung. Für den Austausch von Bestandteilen zwischen dem Darminhalt, und das Blut oder die Körperflüssigkeit bei niederen Tieren ist die Frage nach der Durchlässigkeit der Darmwand von erheblichem Interesse. Andererseits steht diese Frage mit der Lehre von der Resorption in sehr nahem Zusammenhang. Trotz der vielen Mühe, welche auf das Studium dieses Prozesses niedergelegt worden ist, wissen wir sehr wenig vom Mechanismus desselben. Ziemlich allgemein gibt man wohl nunmehr zu, daß Diffusions- und Filtrationsströme, d. h. Prozesse, welche durch Differenzen des osmotischen oder des hydrostatischen Druckes zustande kommen, für die Erklärung nicht genügen. Aus Untersuchungen von Cohnheim<sup>5)</sup> und von Reid<sup>6)</sup> ist nämlich

<sup>1)</sup> Upsala läkaref. förh. **16**, 350 (1911).

<sup>2)</sup> Korányi und Richter: Handbuch I, S. 495.

<sup>3)</sup> Verh. physik.-med. Ges. zu Würzburg **36**, 277 (1904); auch in Nagels Handb. d. Physiol. des Menschen. 1907, II, S. 846.

<sup>4)</sup> Pflügers Arch. **199**, 383; **200**, 82, 354 (1923).

<sup>5)</sup> Zeitschr. Biol. **38**, 419 (1899); **39**, 167 (1900); Zeitschr. physiol. Chem. **33**, 9 (1901).

<sup>6)</sup> Journ. Physiol. **26**, 436 (1901).

zu ersehen, daß ganz unabhängig von solchen Differenzen zu beiden Seiten der Darmhaut eine Strömung von Flüssigkeit in der Richtung vom Darmlumen ins Blut vor sich geht. Diese Strömung hört mit dem Absterben des Darmes allmählich auf und in der Gegenwart von Chloroform oder Fluornatrium kommt sie nicht zustande. Da diese Strömung auch ohne das Vorhandensein von Darmzotten (z. B. bei Holothurien) auftritt, kann sie nicht an irgendwelcher von diesen ausgehender Wirksamkeit liegen. Wahrscheinlich geht dieselbe in irgendwelcher Weise von den Epithelzellen aus und hört mit dem Leben dieser Zellen auf. Nach Cohnheim betrifft die Strömung nicht nur das Wasser, sondern auch in demselben aufgelöste Stoffe.

Nun nimmt Cohnheim ferner an, daß der lebende Darm auch gelöste Stoffe nur in der Richtung vom Darmlumen in das Blut durchläßt. Hier würde also eine einseitige Durchlässigkeit vorhanden sein<sup>1)</sup>. Andere Forscher, z. B. Höber, nehmen an, daß der Darm für gelöste Stoffe in beiden Richtungen durchlässig ist und glauben die experimentellen Ergebnisse durch die oben erwähnte Strömung vom Darmlumen ins Blut erklären zu können unter der weiteren Annahme, daß diese je nach den Konzentrationsverhältnissen durch Diffusionsströme verstärkt oder geschwächt wird<sup>2)</sup>. Infolge der genannten Strömung vom Lumen ins Blut kann z. B. NaCl dem Konzentrationsgefälle entgegen zur Resorption gelangen, aber die Resorption geht rascher mit dem Konzentrationsgefälle. Eine sehr konzentrierte Lösung kann der genannten Strömung entgegen zu Anfang eine Flüssigkeitsansammlung im Darmlumen erzeugen.

Die Durchlässigkeitsverhältnisse der Darmwand sind also ganz verschieden, je nachdem man mit lebendem oder totem Material arbeitet. Im ersten Falle findet die erwähnte Strömung von Epithelseite zum Blut statt mit oder ohne gleichzeitigen Diffusionsprozessen. Im letzteren sind nur Diffusionsprozesse zu beobachten.

Aus dem vorangehenden ist zu ersehen, daß die Gegenwart von Salzen und in osmotischer Hinsicht damit analog wirkenden Stoffen im Organismus dazu beiträgt, die Zellen in einem gewissen Tonus zu erhalten. Bei den höheren Organismen hält sich deshalb die Menge dieser osmotisch wirkenden Substanzen konstant, und der regulatorische Apparat, der hierfür sorgt, sind die Nieren und meistens auch die Schweißdrüsen. Bei den Selachiern lassen die Nieren so viel Harnstoff im Körper zurück, daß der osmotische Druck des Blutes dem des Außenmediums gleichkommt. Bei den Fröschen wird das durch die Haut eingesaugte Wasser durch die Nieren wieder ausgeschieden. In bezug auf die Durchlässigkeit der Froschnieren oder deren Glomerulummembran für Traubenzucker sind die Versuche von H. J. Hamburger und R. Brinkmann zu erwähnen. Diese Forscher fanden, daß der Zucker in einer Ringermischung von NaCl 0,7%, NaHCO<sub>3</sub> 0,2%, KCl 0,01% und CaCl<sub>2</sub> 0,0075% aufgelöst nur zum geringen Teile von den Nieren zurückgehalten wird. Wird aber der Lösung die folgende Zusammensetzung: NaCl 0,5%, NaHCO<sub>3</sub> 0,285%, KCl 0,01%, CaCl<sub>2</sub> 0,02% gegeben, wird 0,05% Glukose oder die Menge, die im Froschserum vorkommt, vollkommen zurückgehalten. Ferner fanden dieselben Forscher, daß d-Galaktose und l-Xylose unter allen Verhältnissen nur zum Teil durch die Nieren passierten, was sie in der Weise erklären wollen, daß von beiden Zuckerarten die bekanntlich in Lösung in zwei isomeren Formen,  $\alpha$  und  $\beta$ , existieren, nur die eine die Glomerulummembran durchzudringen vermag<sup>3)</sup>.

<sup>1)</sup> Zeitschr. Biol. **36**, 129 (1898); **37**, 433 (1899). — <sup>2)</sup> Korányi und Richter: Handbuch I, 294.

<sup>3)</sup> Biochem. Zeitschr. **88**, 97 (1918); **128**, 185 (1921).

## Zweites Kapitel.

# Kolloide.

---

### Allgemeines.

In dem vorhergehenden Kapitel sind wir von den einfachen Beziehungen ausgegangen, welche zwischen dem gasförmigen und dem gelösten Zustand bestehen und in dem van't Hoff'schen Gesetz der Lösungen ihren Ausdruck finden; die Bedeutung dieser Beziehungen wurde dann für verschiedene physiologische Fragen hervorgehoben. Es gibt aber manche Stoffe, für deren Lösungen die Gasgesetze nur eine sehr beschränkte Gültigkeit besitzen. Diese sind die Kolloide.

Das Wort Kolloid rührt von Graham her, der unter diesem Namen solche Substanzen zusammenfaßte, welche insofern mit dem Leim (Kolla) übereinstimmen, als dieselben nicht kristallisieren und nur in sehr beschränktem Grade diffundieren. Im Gegensatz dazu bezeichnete Graham diejenigen Stoffe, welche kristallisieren und leicht diffundieren als Kristalloide<sup>1)</sup>. Das verschiedene Diffusionsvermögen der Kolloide und der Kristalloide wird noch mehr ausgesprochen, wenn man der Diffusion eine Membran in dem Wege setzt. Dieser Prozeß wurde von Graham Dialyse genannt. Dabei dringen die Kristalloide durch die Membran, die Kolloide aber nicht. Dieser Prozeß ergibt zugleich ein Verfahren, die Kolloide von Kristalloiden zu befreien. Zu den Kolloiden gehören nach Graham lösliche Kieselsäure, sowie analoge Formen von Zinnsäure, Titansäure, Molybdänsäure und Wolframsäure, die Hydrate von Tonerde und analogen Metalloxyden, wenn dieselben in löslicher Form existieren, Ferrozyankupfer und Berlinerblau unter gewissen Bedingungen, ferner Stärke, Dextrin, die Gummiarten, Karamel, Tannin, Albumin, Leim. Gewisse Kolloide zeichnen sich dadurch aus, daß dieselben in stark wasserhaltiger, gallertartiger Form erstarren können. Wird Wasser als Lösungsmittel angewandt, so bezeichnet man mit Graham die gelöste Form als Hydrosol oder einfach Sol und die gallertartige als Hydrogel oder einfach Gel. Wenn das Wasser durch Alkohol oder Glycerin ersetzt wird, spricht man von Alkosol und Alkogel bzw. Glyzerosol und Glyzerogel. Neuerdings wird die Bezeichnung Gel auch für den wasserfreien oder nahezu wasserfreien Zustand gebraucht, in welchen die Kolloide unter gewissen Umständen aus ihren Lösungen sich ausscheiden können.

Der Unterschied zwischen den Kristalloiden und Kolloiden darf nicht in der Weise aufgefaßt werden, daß die zwei Klassen durch chemische Merkmale

<sup>1)</sup> Ann. Chem. Pharm. **121**, 1 (1862); Ann. Chim. et Phys. **3**, 127 (1864).

sich voneinander unterscheiden. Der Unterschied bezieht sich auf einen verschiedenen Zustand der Stoffe, wenn dieselben in Lösung vorhanden sind. In chemischem Sinne haben die als Kolloide bezeichneten Stoffe nichts Gemeinsames, was bereits aus der Tatsache hervorgeht, daß so verschiedene Stoffe, wie Metalle und Stärke in kolloider Form erscheinen; andererseits lassen sich aber verschiedene Stoffe in beiden Formen erhalten. So sind die Alkalihalogene, welche in Wasser aufgelöst als Kristalloide sich verhalten, unter anderen Verhältnissen als Kolloide erhalten worden<sup>1)</sup>. Die verschiedenen Zustände der gleichen Stoffe kommen in ungleichen Lösungsmitteln zustande. Andere Beispiele desselben Verhaltens ergeben die Seifen und mehrere Farbstoffe, welche in absolutem Alkohol aufgelöst wie Kristalloide sich verhalten, aber in Wasserlösung Kolloide sind (siehe S. 53). Wie wir finden werden, besteht der Unterschied zwischen dem kolloiden und dem kristalloiden Zustande im Grunde darin, daß die Stoffe im letzteren Zustande verhältnismäßig kleine Moleküle bilden, während die Kolloide als sehr große Moleküle oder wahrscheinlicher als Molekülkomplexe von wechselnder Größe existieren. Die Kristalloide sind folglich in Lösung feiner verteilt als die Kolloide, deren feinste Partikel, wie wir weiter unten ersehen werden, oft mit physikalischen Hilfsmitteln direkt nachgewiesen werden können, was mit den Molekülen der Kristalloide noch nicht gelungen ist. Deshalb sagt man, daß die Kristalloide homogene Lösungen bilden; die Lösungen der Kolloide sind dagegen heterogen in dem Sinne, daß dieselben zwei oder mehrere räumlich voneinander unterscheidbare Bestandteile oder sog. Phasen enthalten. Der aufgelöste, kleine Partikelchen bildende, kolloide Stoff bildet die sog. disperse Phase, während das Lösungsmittel, welches richtiger als Dispersionsmittel bezeichnet wird, eine andere Phase bildet. Unter Dispersitätsgrad versteht man das Verhältnis der Gesamtoberfläche der dispersen Teile zu ihrem Volumen.

Daß viele für den Biochemiker außerordentlich wichtigen organischen Substanzen zu den Kolloiden gehören, fand bereits Graham, der als solche u. a. auch Eiweiß und Stärke bezeichnete. Diese sowie andere Kolloide finden sich in der Natur fertig vor. Seit Graham ist unsere Kenntnis von kolloiden Stoffen besonders auf dem organischen Gebiete ziemlich viel erweitert worden. Da die anorganischen Kolloide in bezug auf die kolloiden Merkmale besser studiert sind und eindeutiger Ergebnisse als die organischen geliefert haben sowie auch für die Kenntnis der letzteren von sehr großer Bedeutung sind, soll hier eine kurze Übersicht ihrer Darstellungsmethoden gegeben werden. Aus derselben ist zugleich in der Hauptsache zu ersehen, welche anorganische Stoffe in kolloider Form erhalten worden sind.

Da die disperse Phase bei den anorganischen Kolloiden von Atom- oder Molekülkomplexen gebildet wird, so kann man mit Svedberg<sup>2)</sup> von vornherein zwei prinzipiell verschiedene Methoden zur Herstellung kolloider Lösungen sich denken: Kondensationsmethoden und Dispersionsmethoden. Die Kondensation unter Bildung von kolloiden Lösungen kommt dadurch zustande, daß in Ionenform befindlichen Elementen die elektrische Ladung entzogen wird. Die dabei gebildeten elektrisch neutralen Atome vereinigen sich darauf zu größeren Atomkomplexen, welche die disperse Phase einer kolloiden Lösung bilden. Bei den Dispersionsmethoden dagegen geht man von dichteren Formen der Materie aus (feine Pulver, Gele, Schwammbildungen, Metallstücke) und sucht in verschiedener Weise eine feinere Verteilung unter Lockerung des Molekülverbandes herbeizuführen.

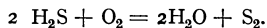
Unter den Methoden, die auf Kondensation beruhen, sind zu erwähnen:

<sup>1)</sup> Paal: Ber. chem. Ges. **39**, 1436; Ephraim: Ebenda **39**, 1705; Paal und Kühn: Ebenda **39**, 2863 (1906); **41**, 51, 58 (1908).

<sup>2)</sup> Die Methoden zur Herstellung von kolloiden Lösungen anorganischer Stoffe. Dresden 1909.

1. Reduktionsmethoden, die alle durch Reduktion von Metallsalzlösungen zu kolloiden Lösungen von Metallen, besonders zu solchen der Edelmetalle führen. Als Reduktionsmittel sind zu erwähnen: Wasserstoff, Kohlenoxyd, Phosphorwasserstoff, Schwefelwasserstoff, phosphorige Säure, schweflige Säure sowie viele organische Verbindungen, wie ätherische Öle, Äthyl- und Methylalkohol, Formaldehyd, Akrolein, Milchzucker, Maltose, Hydrazinhydrat, Hydroxylamin, Phenole.

2. Oxydationsmethoden. Hierher gehört die Oxydation von Schwefelwasserstoff, wobei kolloider Schwefel entsteht:



3. Hydrolysemethoden. Diese Methoden beruhen auf Hydrolyse von Salzen, vornehmlich der mehrwertigen Metalle oder der mehrwertigen Säuren. Die Salze zerfallen unter Aufnahme von Wasser in Metallhydroxyd und Säure. Durch Dialyse oder in gewissen Fällen durch Verdampfung wird der eine der entstandenen Spaltungsprodukte entfernt und der andere bleibt in kolloider Lösung zurück. In dieser Weise sind die Oxyde bzw. Hydroxyde vom Typus  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  in kolloider Form erhalten worden. Meist ist man von Azetaten oder Nitraten und Chloriden ausgegangen. In entsprechender Weise können gewisse Säuren, wie  $\text{SiO}_2$  und andere zuerst von Graham hergestellte kolloide Säuren aus den entsprechenden Salzen durch Dialyse erhalten werden. Mit dieser Methode verwandt ist das ursprünglich von Graham angewandte Verfahren die kolloide Metallhydrate herzustellen. Graham versetzte die gefallten Oxydhydrate mit den entsprechenden Chloriden, worauf das Ganze dialysiert wurde.

Auf Kondensation beruht auch die Herstellung von kolloiden Metallsulfiden durch Schwefelwasserstoff oder Alkalisulfhydrate. Wenn  $\text{H}_2\text{S}$  in verdünnte Lösungen von  $\text{As}_2\text{O}_3$ , weinsaurem Antimonoxyd oder Brechweinstein eingeleitet wird, erhält man die entsprechenden Sulfide als kolloide Lösungen; andere Sulfide, wie  $\text{CuS}$ , werden durch Auswaschen der ausgefallten Verbindungen mit Wasser hergestellt, wobei das Sulfid allmählich als Kolloid gelöst wird. Wird Silberhydrosol mit freien Halogenen behandelt, entstehen Chlor-, Brom- oder Jodsilber in Gestalt milchiger Flüssigkeiten, die gegen Elektrolyte sehr empfindlich sind und deshalb leicht ausgeflockt werden. Dieselben Kolloide können auch durch direkte Umsetzung von Hologenalkalien und Silbernitrat bei Gegenwart von Gelatine oder Eiweiß erhalten werden.

Zu den Dispersionsmethoden gehört vor allem das von Bredig inaugurierte elektrische Zerstäubungsverfahren<sup>1)</sup>. Bredig stellte kolloide Lösungen von Edelmetallen und Kadmium dadurch her, daß er unter reinem Wasser einen Gleichstromlichtbogen zwischen Stäben oder Drähten des zu zerstäubenden Metalles entstehen ließ. Dabei wurde die Kathode allmählich zerstäubt. Die Stromstärke war 10 bis 12 Ampère bei einer Spannung von 30 bis 110 Volt. Eine allgemeinere elektrische Dispersionsmethode wurde erst nach der Entdeckung Svedbergs der für diese Zwecke überaus günstigen Eigenschaften der oszillatorischen Entladung möglich (1905)<sup>2)</sup>. Durch Anwendung von Induktionsströmen ist es Svedberg gelungen, kolloide Lösungen von den meisten Metallen und Metalloiden herzustellen. Hierbei mußten oft organische Dispersionsmittel angewandt werden, namentlich für solche Stoffe, welche Wasser zersetzen.

Zu den eben genannten anorganischen Kolloiden kommen noch organische Kolloide, welche zum Teil in der Natur in wasserlöslicher Form fertig gebildet sind, zum Teil durch besondere Operationen in kolloider Lösung erhalten werden können. Diejenigen, welche für den Biochemiker das größte Interesse besitzen, sind die Proteinstoffe, Polysaccharide und Gummiarten, welche alle zum Teil in Wasser unlöslich sind. Zu den kolloiden Stoffen sind ferner die Fette zu rechnen, insofern als dieselben als Emulsionen fein verteilt vorkommen, ferner die Seifen in Wasserlösung. Überhaupt müssen wahrscheinlich alle Stoffe zu den Kolloiden gerechnet werden, welche in irgendwelchem Dispersionsmittel ohne echte Lösungen zu bilden hinreichend fein verteilt werden können mit oder ohne Hilfe von Schutzkolloiden (siehe weiter unten). Viele in Wasser unlösliche Stoffe, welche in anderen, mit Wasser mischbaren Flüssigkeiten löslich sind, bilden, wenn eine solche Lösung in viel Wasser gegossen wird, fein verteilte Partikelchen, welche im wesentlichen als die disperse Phase eines Kolloids sich verhalten. In der Weise sind Cholesterin und Lezithin sowie verschiedene Harze in kolloidem Zustand erhalten worden.

<sup>1)</sup> Anorganische Fermente. Leipzig 1901. S. 24.

<sup>2)</sup> Svedberg: Die Methoden zur Herstellung von kolloiden Lösungen. S. 423 ff.

## Einteilung der Kolloide.

Mit Rücksicht auf das Verhalten der Wasserlösungen werden die kolloiden Stoffe in zwei Gruppen eingeteilt. Diese Einteilung wurde zuerst von Perrin<sup>1)</sup> aufgestellt und derselben haben sich später Höber<sup>2)</sup>, A. Müller<sup>3)</sup>, Wo. Ostwald<sup>4)</sup> und Wo. Pauli<sup>5)</sup> angeschlossen, obwohl verschiedene Autoren für die zwei Klassen verschiedene Namen angewandt haben. Die Klassifikationen von Hardy<sup>6)</sup> und von Zsigmondy<sup>7)</sup> haben mit dieser Einteilung vieles gemeinsam.

Die erste Klasse wird

Emulsionskolloide (Emulsoide), hydrophile Kolloide (Perrin) [auch lyophile Kolloide (Freundlich)<sup>8)</sup>, oder Hydrokolloide (Pauli) genannt]; die zweite

Suspensionskolloide (Suspensoide), hydrophobe Kolloide (Perrin) [auch lyophobe Kolloide (Freundlich) oder Anhydrokolloide (Pauli)].

Die erste Klasse, die Emulsionskolloide, unterscheiden sich dadurch von der zweiten, daß bei den Emulsionskolloiden eine nähere Beziehung zwischen disperser Phase und dem Wasser angenommen werden muß, was bei den Suspensionskolloiden nicht mehr der Fall ist. Diese nähere Beziehung hat zur Folge, daß die hydrophilen Kolloide in Wasserlösung eine gewisse Zähigkeit (Viskosität) zeigen, welche um so mehr ausgesprochen ist, je konzentrierter die Lösung. Ferner erstarren die Lösungen gewisser Emulsionskolloide unter Umständen zu einer stark wasserhaltigen, halbfesten Masse, welche Gel oder Hydrogel genannt wird. In der Regel ist dieser Prozeß reversibel, d. h. die Gele können wieder in Wasser gelöst werden. Mit dem Vermögen zu gelatinieren hängt wahrscheinlich das Quellungsvermögen nahe zusammen (siehe weiter unten). Endlich sind die Lösungen der hydrophilen Kolloide im Vergleich mit denen der Suspensionskolloide nur sehr schwer durch Elektrolyte fällbar. Zu den hydrophilen Kolloiden gehören fast alle Kolloide organischen Ursprungs, nämlich Proteinkörper, Polysaccharide, Seifen in Wasserlösung, welche alle für die Biologie von allergrößter Bedeutung sind.

Im Gegensatz zu den Emulsionskolloiden werden die Kolloide vom Typus der kolloiden Metalle unter der Benennung Suspensionskolloide zusammengefaßt, da dieselben als im Lösungsmittel suspendierte feste Partikelchen betrachtet werden können, und keine nähere Beziehung zum Lösungsmittel angenommen zu werden braucht. Die Zähigkeit oder Viskosität der Lösungen ist von der des Lösungsmittels nur wenig verschieden; außerdem sind die Suspensionskolloide entweder nicht gelatinierbar oder auch ist, für den Fall, daß Gelatinieren eintritt, der Prozeß nicht oder nur unvollkommen reversibel (Sulfide)<sup>9)</sup>. Schließlich sind die Suspensionskolloide leicht durch Elektrolyte fällbar, und überhaupt zeichnen sich ihre Wasserlösungen im Gegensatz zu denen der Emulsionskolloide durch ihre Unbeständigkeit aus. Zu den Suspensionskolloiden gehören außer den Metallsolen auch die kolloiden Metallsulfide, Metall-

<sup>1)</sup> Journ. Chimie phys. **3**, 84 (1905).

<sup>2)</sup> Physikalische Chemie der Zelle und Gewebe. 2. Aufl. 1906, S. 208.

<sup>3)</sup> Allgemeine Chemie der Kolloide. 1907. S. 187.

<sup>4)</sup> Koll. Zeitschr. **1**, 331 (1907).

<sup>5)</sup> Kolloidchemie der Eiweißkörper. Dresden und Leipzig 1920.

<sup>6)</sup> Proc. Roy. Soc. **66**, 95 (1899).

<sup>7)</sup> Zur Erkenntnis der Kolloide. 1905, S. 16.

<sup>8)</sup> Koll. Zeitschr. **3**, 80 (1908).

<sup>9)</sup> Ssigmondy: Zur Erkenntnis der Kolloide. S. 176.

hydroxyde und kolloiden Säuren, und gewisse auf künstlichem Weg hergestellte kolloide Lösungen organischer Substanzen, z. B. von Mastix, Cholesterin (S. 47) und außerdem noch gewisse Farbstofflösungen sowie durch Erhitzen denaturiertes Eiweiß.

Es versteht sich von selbst, daß diese Einteilung keine scharfe sein kann. Es finden sich Übergangsformen einerseits zwischen den beiden Klassen von Kolloiden, andererseits zwischen diesen und anderen Zustandsformen der Materie. Die Emulsionskolloide stehen den Kristalloiden am nächsten und die Suspensionskolloide nähern sich in bezug auf ihre Eigenschaften zu fein verteilten festen Stoffen, was alles durch folgendes Schema veranschaulicht wird:

Kristalloide (Molekular- oder Ionendisperse Systeme),  
Hydrophile Kolloide (bilden große Moleküle oder Molekülkomplexe),  
Suspensionskolloide (bilden Molekülaggregate),  
Suspendierte feine Pulver.

Zwischen den Kristalloiden und den hydrophilen Kolloiden gibt es vielerlei Übergangsformen. Zu diesen gehören z. B. gewisse Bestandteile von Gemengen, welche bei der Aufspaltung von hydrophilen Kolloiden unter der Einwirkung von Säuren oder Enzymen entstehen. Solche Gemenge sind die aus Eiweiß entstandenen sog. Albumosen und Peptone. Die Albumosen und Peptone sind aus Wasserlösungen noch schwieriger fällbar als das Eiweiß und dieselben diffundieren, zum Unterschied von dem Eiweiß zum Teil recht gut durch Membranen. Da dieselben beim Aufspalten des Eiweißes entstehen, sind sie allem Anschein nach einfacher gebaut und besitzen ein geringeres Molekül als das Eiweiß. Bei deren vollständiger Spaltung werden Aminosäuren erhalten, welche entschieden den Kristalloiden angehören. In diesem Falle handelt es sich also um die Spaltung einer kolloiden Substanz, wobei schließlich Kristalloide entstehen. Den umgekehrten Weg ist E. Fischer gegangen. Ausgehend von einfachen Aminosäuren und ähnlichen Verbindungen ist er durch Kombination von mehreren solchen Molekülen zu Verbindungen mit größeren Molekülen emporgestiegen (Polypeptide). In der Weise ist eine Verbindung erhalten worden, welche im Molekül die Reste von 15 Glyzinmolekülen und von 3 Leuzinmolekülen enthält. Dieses Polypeptid (Octodecapeptid) mit einem Molekulargewicht von 1213 gibt mehrere von den Fällungsreaktionen des Eiweißes (Niederschlag mit Phosphorwolframsäure, Gerbsäure, Ammoniumsulfat)<sup>1)</sup>. Daß aber hierfür nicht ausschließlich die Molekulargröße maßgebend ist, geht daraus hervor, daß auch Tripeptide und Pentapeptide, welche Tyrosin enthalten, in gewissen Beziehungen wie Albumosen sich verhalten<sup>2)</sup>.

In der gleichen Weise wie das Eiweiß werden auch die Polysaccharide durch Säuren oder Enzyme gespalten, so daß Stoffe von niedrigerem Molekulargewicht gebildet werden, welche auf der Grenze zu den Kristalloiden stehen. So werden aus der Stärke Dextrin von verschiedenen Eigenschaften je nach dem Spaltungsgrad erhalten. Bei vollständiger Spaltung entsteht Traubenzucker, der ein ausgesprochener Kristalloid ist. In bezug auf den Einfluß des Molekulargröße auf den Zustand der Stoffe sind die fettsauren Salze von Interesse. Nach Untersuchungen von Kraft und Sturtz verhalten sich die Natronsalze der Fettsäuren von Essigsäure ab bis Kapronsäure wie Kristalloide. Bei den Na-Salzen der höheren Säuren treten die kolloiden Eigenschaften mit steigendem

<sup>1)</sup> Ber. d. chem. Ges. **40**, 1754 (1907).

<sup>2)</sup> Ebenda **40**, 3704.



Molekulargewicht immer deutlicher hervor, so daß das Palmitat, Stearat und Oleat in Wasser aufgelöst ausgesprochene Kolloide sind<sup>1)</sup>. (Siehe weiter unten.)

Andererseits gibt es auch zwischen den Suspensionskolloiden und in Wasser fein verteilten pulverförmigen Substanzen zahlreiche Zwischenglieder.

## Osmotischer Druck der Kolloide.

Als allgemeine Bemerkung mag vorausgeschickt werden, daß der Anschauungsweise von Einstein<sup>2)</sup> sowie von v. Smoluchowski<sup>3)</sup> zufolge vom molekularkinetischem Standpunkte aus gesehen, zwischen einem gelösten Molekül und einem suspendierten Teilchen kein Unterschied besteht, und daß also eine mechanische Suspension den gleichen osmotischen Druck zeigen muß wie eine wahre Lösung mit derselben Anzahl Teilchen pro Volumeneinheit — unter der Voraussetzung, daß die Verdünnung hinreichend groß ist. Leider sind die gewöhnlichen Methoden zur Bestimmung des osmotischen Druckes für die Prüfung dieser Theorie bei Kolloiden nicht verwendbar, weil sie viel zu ungenau sind. Indessen haben Einstein sowie v. Smoluchowski — unter der Voraussetzung der Gültigkeit der Gasgesetze — für verschiedene Prozesse (z. B. Brownsche Bewegung, Diffusion, Konzentrationsverteilung unter dem Einfluß der Schwere) Formeln hergeleitet, deren Übereinstimmung mit den experimentellen Ergebnissen dann von Svedberg<sup>4)</sup> und von Perrin<sup>5)</sup> dargetan wurde. Für sehr verdünnte kolloide Lösungen würden demnach die Gasgesetze in Geltung sein. Wenn andere Forscher zu anderen Resultaten gekommen sind, so liegt dies wahrscheinlich daran, daß sie mit zu konzentrierten Lösungen gearbeitet haben.

Da nach den Gesetzen des osmotischen Druckes äquimolekulare Lösungen verschiedener Nichtleiter den gleichen osmotischen Druck erzeugen, so verhalten sich die osmotischen Drücke von Nichtleitern, welche in Lösungen der gleichen prozentischen Konzentration vorhanden sind, den Molekulargewichten umgekehrt proportional. Ein Stoff übt also nach Gewicht gerechnet einen um so geringeren osmotischen Druck aus, je größer dessen Molekulargewicht ist. Die Kolloide, welche nach dem oben Gesagten sehr große Moleküle oder Partikelchen in einer Lösung bilden, müssen folglich einen sehr geringen osmotischen Druck erzeugen.

Bestimmung des osmotischen Druckes in absolutem Maße mit der Hilfe einer semipermeablen Membran ist für kristalloide Stoffe nur betreffs Zuckerarten ausgeführt worden, und zwar unter Benutzung einer Ferrozyan-kupfermembran. Irgendwelche andere Membran, die für diesen Zweck sich eignete, ist nicht aufgefunden worden. Anders stellt sich aber die Sache, wenn es sich um die Bestimmung des osmotischen Druckes einer kolloiden Substanz handelt. Diese werden bereits durch Pergamentmembranen zurückgehalten, und die direkte Bestimmungsmethode ist deshalb für diese am meisten angewandt worden. Ein solcher Apparat wird Osmometer genannt und ist prinzipiell wie die Pfeffersche Tonzelle konstruiert. Als Membran ist vegetabilisches Pergament oder Gelatine, gestützt durch eine Peritonealmembran angewandt worden. Wie B. Moore und Roaf hervorheben, lassen sich mit

<sup>1)</sup> Ber. d. chem. Ges. **29**, 1328 (1896).

<sup>2)</sup> Ann. Phys. **17** (1905); **19** (1906); Zeitschr. Elektrochem. **13** (1907); **14** (1908).

<sup>3)</sup> Ann. Phys. **21** (1906), **25** (1908).

<sup>4)</sup> Nova Acta Soc. Scient. Upsaliensis 1907; Koll. Zeitschr. **7** (1910); Zeitschr. physik. Chem. **76**, 145 (1910); **77**, 145 (1911).

<sup>5)</sup> Kolloidchemische Beihefte I, 221 (1910).

einem solchen Apparat Druckunterschiede bestimmen, welche durch Ermittlung des Gefrierpunktes nicht nachweisbar sind<sup>1)</sup>).

Die Proteinstoffe, welche am meisten bei den osmometrischen Bestimmungen als Material gedient haben, enthalten fast immer geringe Mengen von Salzen, welche für kleine osmotische Druckdifferenzen wohl verantwortlich gemacht werden können. Folglich müssen die Salze so vollständig wie irgend möglich durch Dialyse entfernt werden, und der Druck muß erst dann abgelesen werden, als derselbe einen konstanten Wert angenommen hat. Einige haben die Bestimmung gegen eine Lösung vorgenommen, welche eine gleiche Menge Salz enthielt wie die Eiweißlösung.

Nach sorgfältigem Waschen mit gesättigter  $\text{Am}_2\text{SO}_4$ -Lösung von mit dem gleichen Salze gefälltem Eialbumin und Serumalbumin sowie mit denselben Eiweißkörpern wiederholt kristallisiert, konnte Reid nach Wegdialysieren des Salzes im Osmometer keinen Druck nachweisen<sup>2)</sup>. Demgegenüber wird aber von B. Moore und Roaf sowie von Lillie<sup>3)</sup> betont, daß der osmotische Druck von Eiweißlösungen sehr an der Behandlung liegt, welche die Eiweißkörper vor der Bestimmung erfahren haben. Mit Eiweißpräparaten, welche einer weniger eingreifenden Vorbehandlung ausgesetzt worden waren (Serumprotein, Eialbumin) haben Starling<sup>4)</sup>, B. Moore und Parker<sup>5)</sup>, B. Moore und Roaf, Lillie sowie auch Reid (mit Hämoglobin)<sup>6)</sup> einen geringen osmotischen Druck nachweisen können, und zwar mit der osmometrischen Methode. Nach Starling entsprechen die Eiweißstoffe des Serums einem Drucke von 30—40 mm Hg und Reid fand für 1% Hämoglobinlösungen einen Druck von 3—4 mm. Pfeffer fand vermittelt der Ferrozyankupfermembran folgende osmotische Drücke für verschieden konzentrierte Lösungen von arabischem Gummi<sup>7)</sup>:

Konzentration	Osmotischer Druck in cm Hg
1%	6,9
6%	25,9
14%	70,0
18%	119,2

Aus diesen Ziffern ist zu ersehen, daß der osm. Druck nicht (wie bei den Kristalloiden) der Konzentration proportional steigt. Dasselbe fanden Duclaux und Wollmann für kolloide Lösungen im allgemeinen und diese Abweichung vom Boyle-Mariotteschem Gesetze tritt bereits bei sehr verdünnten Lösungen auf<sup>8)</sup>).

Den Einfluß zugesetzter Stoffe auf den osmotischen Druck von Eiweiß und Leim hat Lillie untersucht, und zwar in der Weise, daß die zu prüfende Substanz in gleicher Konzentration der Innen- und Außenflüssigkeit zugegeben wurde. Die Membran war aus Zelloidin hergestellt. Es wurde gefunden, daß Nichtleiter ohne Einwirkung waren, während Alkalien sowie Säuren den osmotischen Druck von Gelatine auf das 4—5fache erhöhen und Salze den Druck von Gelatine sowie den von Eialbumin erniedrigen. Zu ähnlichen Resultaten

1) Biochem. Journ. **2**, 34 (1906).

2) Journ. Physiol. **31**, 438 (1904).

3) Amer. Journ. Physiol. **20**, 127 (1907):

4) Journ. Physiol. **19**, 322 (1896).

5) Amer. Journ. Physiol. **7**, 261 (1902).

6) Journ. Physiol. **33**, 12 (1905).

7) Osmotische Untersuchungen. Leipzig 1877.

8) Compt. rend. **152** (1911).

in bezug auf den Einfluß von Salzen kamen B. Moore und Roaf<sup>1)</sup> sowie auch Adamson und Roaf<sup>2)</sup>. Erwärmen und Schütteln rufen nach Lillie Veränderungen des Aggregatzustandes hervor, welche nicht oder nur sehr langsam rückgängig sind. Auch die durch Salze hervorgerufene Erniedrigung des osmotischen Druckes führt Lillie auf veränderte Aggregatzustände zurück, indem die Kolloide durch Zugeben von Salzen wohl zu größeren Aggregaten vereinigt werden, wodurch der osmotische Druck erniedrigt wird, wenn nämlich der Druck mit der Zahl der Teilchen abnimmt. Das Eiweiß wird durch die Bildung größerer Teilchen gewissermaßen seinem Fällungspunkt näher gerückt. Andererseits ist neuerdings durch eine Untersuchung von Odén über den kolloiden Schwefel gezeigt worden, daß eine Schwefellösung durch Salzzusatz um so leichter gefällt wird, je größer die Teilchen sind<sup>3)</sup>. Dasselbe geht übrigens bereits aus den Untersuchungen von Bechhold bezüglich der Fällbarkeit von Albumosen hervor (s. S. 58). Die Einwirkung von Säuren und Alkalien hat Pauli von verschiedenen Seiten studiert und mit den Ergebnissen von Lillie zusammengestellt<sup>4)</sup>. Nach Pauli bildet das Eiweiß, mit Alkali oder Säuren versetzt, reichlich elektronegative und elektropositive Ionen, wodurch die Anzahl der in der Lösung befindlichen Partikelchen und zugleich der osmotische Druck ansteigt.

Die Frage, inwieweit die Verteilung eines Salzes zwischen Außen- und Innenflüssigkeit durch einen kolloiden Stoff in der einen Lösung bedingt sein kann, ist von Sørensen in Angriff genommen. Er arbeitete mit Eialbumin und Ammoniumsulfat und kam zu dem Resultat, daß die Verteilung des Salzes sehr nahe durch die Ziffer 1 repräsentiert wurde. Das Verhältnis liegt um so näher 1 je niedriger die Albuminkonzentration und um je höher die Salzkonzentration liegt. Bei einer Konzentration der Wasserstoffionen, welche etwas größer ist als diejenige, welche dem isoelektrischen Punkte (siehe weiter unten) entspricht, ist das Verhältnis genau = 1. Für die Bestimmung des osmotischen Druckes benutzte Sørensen einen osmometrischen Apparat, wo der entstandene Druck durch einen Gegendruck kompensiert und somit gemessen wurde. Der Druck fiel bei steigender Konzentration des Ammoniumsulfats, was nach Sørensen an dem Zusammenballen von zwei oder mehreren Eiweißpartikelchen lag. Innerhalb der H-Konzentrationen  $40 \cdot 10^{-6}$  und  $100 \cdot 10^{-6}$  hält sich der Druck einer Ammoniumsulfat-Albuminlösung einigermaßen konstant; nach der sauren Seite steigt er langsam, nach der alkalischen rasch<sup>5)</sup>.

Ähnliche Bestimmungen wurden auch von J. Loeb mit 1%igen Gelatine-lösungen ausgeführt. Er fand den osmotischen Druck in hohem Grade von der Wasserstoffionenkonzentration abhängig. Im isoelektrischen Punkt,  $p_H = 4,7$ , hat der osmotische Druck ein Minimum und steigt nach beiden Seiten. Auf der sauren Seite hatte der Druck ein Maximum bei  $p_H = 3,4$  und auf der alkalischen bei  $p_H = 8,4$ . (Wie wir weiter unten lernen werden, entspricht  $p_H = 7,07$  neutraler Reaktion, größere Ziffern bedeuten alkalische und kleinere saure Reaktion). Im ersteren Falle wird der Druck wesentlich durch das Anion der zugesetzten Säure und im letzteren durch das Kation des zugesetzten Alkalis beeinflusst, und zwar fällt der Druck mehr als doppelt so hoch aus, wenn das

<sup>1)</sup> Biochem. Journ. 2, 34 (1906).

<sup>2)</sup> Ebenda 3, 422 (1908).

<sup>3)</sup> Koll. Zeitschr. 8, 186 (1911).

<sup>4)</sup> Ebenda 7, 241 (1910).

<sup>5)</sup> Proteinstudier. Meddelelser fra Carlsberg. Lab. 12 (1917).

wirksame Ion einwertig ist als wenn zweiwertig. Bei  $p_H = 3,4$  wirken Salze und Säuren und bei  $p_H = 8,4$  Salze und Alkalien erniedrigend auf den Druck, und zwar steigt diese Wirkung mit der Wertigkeit des Anions im ersteren Falle und mit der Wertigkeit des Kations im letzteren<sup>1)</sup>. Auch Pauli findet im isoelektrischen Punkt ein Minimum des osmotischen Druckes für den Fall, daß der isoelektrische Punkt mit Hilfe von Pufferlösungen erreicht wird. Nach beiden Seiten steigt dann der Druck auf Maxima um dann wieder zu fallen<sup>2)</sup>.

Die Bestimmung der Gefrierpunktserniedrigung hat für Kolloide sehr niedrige Werte ergeben. In der Tat sind die gefundenen Zahlen kaum größer als die Versuchsfehler der Methode und sie können jedenfalls durch die Gegenwart geringer Salzmengen erklärt werden. Die Bestimmung der Siedepunkterhöhung ergibt auch sehr niedrige Werte, wozu noch kommt, daß die beim Sieden auftretenden Koagulationserscheinungen auf die Versuche störend einwirken.

Bei der Bestimmung der Gefrierpunktserniedrigung oder der Siedepunkterhöhung für dieselbe Substanz in verschiedenen Lösungsmitteln hat es sich herausgestellt, daß der molekulare Zustand gewisser Substanzen in verschiedenen Lösungsmitteln ungleich sein kann. F. Kraft fand für die Natriumsalze der Palmitin-, Stearin- und Oleinsäure in Wasserlösung keine Siedepunkterhöhung, was auf ein sehr großes Molekulargewicht hindeutet (s. S. 50), während dieselben Salze in wasserfreier Form in absolutem Alkohol aufgelöst eine Siedepunkterhöhung ergaben, welche den aus den chemischen Formeln berechneten Molekulargrößen entsprachen<sup>3)</sup>. In Wasser aufgelöst sind die fraglichen Stoffe also Kolloide, während dieselben in alkoholischer Lösung ein geringeres Molekül besitzen und demnach mehr als Kristalloide sich verhalten. Auch haben Mayer, Schaeffer und Terroine gefunden, daß die Alkalisalze der höheren Fettsäuren in Wasserlösung auch in anderen Beziehungen kolloide Eigenschaften zeigen<sup>4)</sup>. In der gleichen Weise wie die Seifen verhielt sich nach Kraft das Hexadezylaminchlorhydrat ( $C_{16}H_{33}NH_2 \cdot HCl$ ). Einige organische Farbstoffe, nämlich Rosanilinchlorhydrat, Methylviolett und Methylenblau ergaben auch in absolutem Alkohol normale Molekulargewichte, während dieselben in Wasser etwa die doppelte Molekulargröße besaßen. Für Gerbsäure fand Kraft durch Bestimmung der Gefrierpunktserniedrigung in Wasserlösung ein Molekulargewicht, das um das fünffache größer war als das aus der Formel berechnete.

## Diffusion der Kolloide.

Aus dem, was über den osmotischen Druck der Kolloide gesagt wurde, ist zu ersehen, daß derselbe nur ein sehr geringer sein kann. Da andererseits der osmotische Druck die Triebkraft bei der Diffusion abgibt, so folgt bereits aus diesem Grunde, daß das Diffusionsvermögen der Kolloide sehr gering angeschlagen werden muß. Dazu kommt noch, daß der Bewegung der kolloiden Teilchen infolge deren Größe ungewöhnlich große Widerstände sich in den Weg stellen müssen (siehe unter „innere Reibung“).

Die Diffusion von Kolloiden ist in dreierlei Weise untersucht worden, je nachdem die Diffusion

<sup>1)</sup> Nat. Acad. of Sciences 6, 211 (1920); Journ. of general Physiol. 1, 39, 237, 263, 483, 559 (1918—1919).

<sup>2)</sup> Kolloidchemie und Eiweißkörper. S. 31 ff.

<sup>3)</sup> Ber. d. chem. Ges. 29, 1328 (1896); 32, 1584 (1899).

<sup>4)</sup> Compt. rend. soc. biol. 64, (1908).

1. in das reine Lösungsmittel,
2. in ein der Lösung angrenzendes Gel oder
3. durch eine Membran geschieht.

Die Diffusion in das reine Lösungsmittel — zweckmäßig freie Diffusion genannt — wurde zuerst von Graham studiert. Derselbe schichtete gleiche Volumina von Lösungen verschiedener Stoffe der gleichen prozentischen Konzentration unter reines Wasser in hohen zylindrischen Gefäßen. Die stattgefunden Diffusion wurde durch Analyse von gleichen Flüssigkeitsschichten bestimmt, welche von der Oberfläche abgehoben wurden. Eine ungefähre Vorstellung von der Dialysierbarkeit gewinnt man aus folgenden Zahlen, welche die relativen Zeiten angeben, welche für die Diffusion gleicher Mengen der angegebenen Stoffe erforderlich waren<sup>1)</sup>:

HCl . . . . .	1
NaCl . . . . .	2,33
Zucker . . . . .	7
MgSO <sub>4</sub> . . . . .	7
Eiweiß . . . . .	49
Karamel . . . . .	98

Folgende Zahlen geben die Mengen Substanz, welche bei der Diffusion 10%iger Lösungen nach 14 Tagen in der obersten Schicht gefunden wurden:

NaCl . . . . .	0,104 g
Zucker . . . . .	0,005 g
Gummi arabicum . . . . .	0,003 g
Gerbsäure . . . . .	0,003 g

Über die freie Diffusion von kolloiden Sulfiden hat Picton Versuche ausgeführt<sup>2)</sup>. Mit der Methode von Graham fand er für As<sub>2</sub>S<sub>3</sub> und für Sb<sub>2</sub>S<sub>3</sub> in 24—32 Tagen keine Diffusion. In einem Falle mit kleineren Partikelchen konnte er eine gewisse Diffusion nachweisen. Picton und Linder konnten mit demselben Verfahren für koll. Eisenhydroxyd, Stärke, sowie für Kongorot keine Diffusion nachweisen<sup>3)</sup>.

Nach A. Fick ist für Diffusionsprozesse bei der freien Diffusion folgende Formel in Geltung

$$dm = K \cdot q \cdot \frac{dc}{ds} \cdot dt,$$

wo  $dm$  die in der Zeit  $dt$  diffundierte Menge,  $\frac{dc}{ds}$  die Verminderung der Konzentration auf dem Diffusionsweg oder das Konzentrationsgefälle,  $q$  der Diffusionsquerschnitt und  $K$  die sog. Diffusionskonstante bedeutet. Die Diffusionskonstante ist eine jeder Substanz charakteristische Zahl, welche das relative Diffusionsvermögen verschiedener Stoffe angibt. Dieselbe soll nach Euler der Wurzel aus dem Molekulargewicht umgekehrt proportional sein<sup>4)</sup>, woraus sofort zu ersehen ist, daß die Kolloide im Vergleich mit den Kristalloiden sehr langsam diffundieren müssen.

Seit Grahams grundlegenden Versuchen war man lange der Ansicht, daß kolloide Sole in Gallerte nicht hineindiffundieren, während Kristalloide fast ebenso rasch in Gele eindringen sollten wie reines Wasser. Indessen hat Spiro

<sup>1)</sup> Ann. Chem. Pharm. **121**, 1 (1862).

<sup>2)</sup> Journ. chem. Soc. **61**, 137 (1892).

<sup>3)</sup> Ebenda **61**, 148.

<sup>4)</sup> Wied: Ann. 1897.

beobachtet, daß sowohl aufgelöstes Eieralbumin wie Hämoglobin in Leimplatten eindringen<sup>1)</sup>, anderseits haben K. Meyer sowie Bechhold und Ziegler gefunden, daß die von Kristalloiden in Gelatine zurückgelegte Wegstrecke bedeutend kürzer sein kann als in reinem Wasser<sup>2)</sup>. Indessen kommen wohl bei solchen Versuchen auch Adsorptionsprozesse mit in Betracht.

Die Diffusion durch eine Membran (Dialyse) ist, wie bereits erwähnt, von Graham in die Wissenschaft eingeführt worden (S. 45). Aus seinen Ergebnissen mögen folgende Zahlen angeführt werden, welche alle mit derselben Pergamentpapiermembran erhalten wurden und die aus gleichen Volumina 10%iger Lösungen der angegebenen Stoffe in 24 Stunden ausdiffundierten Mengen angeben:

Gummi arabicum . . . . .	0,029 g
Traubenzucker . . . . .	2,000 g
Rohrzucker . . . . .	1,607 g
Milchzucker . . . . .	1,387 g
Mannit . . . . .	2,621 g
Glyzerin . . . . .	3,300 g
Alkohol . . . . .	3,570 g
NaCl . . . . .	7,500 g

Indessen verhalten sich bei der Dialyse auch verschiedene Membranen etwas ungleich. Wenn auch die Kolloide durch dichte Membranen nicht in merkbaren Mengen dringen, so gibt es Membranen, welche merkbaren Mengen kolloider Substanzen den Durchgang gewähren. So sind Kollodiummembranen je nach deren Dicke mehr oder weniger durchlässig für Toxine und Enzyme (siehe unter Enzymen). Wahrscheinlich beruht die Membranwirkung bei der Dialyse darauf, daß die kolloiden Partikelchen zu groß sind, um durch die Membranporen passieren zu können, was nicht für die Moleküle oder die Ionen der Kristalloide gilt. Indessen können hier auch andere Prozesse (z. B. Adsorption, Auflösung) mit ins Spiel treten (siehe die Filtration).

Die Membranen innerhalb des Organismus, welche für den Stoffaustausch eine wichtige Rolle spielen müssen, sind alle mehr oder weniger gequollen, und ihre Durchlässigkeit ist von ihrem Wassergehalt abhängig. Dieser Wassergehalt kann durch verschiedene Stoffe beeinflußt werden. Alkalien und Säuren erhöhen im allgemeinen die Quellung und Salze können in verschiedener Weise einwirken. Außerdem können aus der Grenzfläche zwischen einer festen Phase und einer Flüssigkeit Potentialdifferenzen auftreten, welche die Dialyse beeinflussen können.

In bezug auf den Verlauf der Dialyse hat F. G. Donnan wichtige theoretische Ausführungen geleistet, nach welchen die Gegenwart nicht dialysierbarer Ionen das Verhalten dialysierbarer Stoffe beeinflussen können<sup>3)</sup>. Auf die mathematische Begründung der Donnanschen Formeln soll nicht hier eingegangen werden. Nehmen wir an, daß an der einen Seite der Membran eine Lösung eines Salzes NaR sich befindet, für dessen Anion R die Membran undurchgängig ist, und an der anderen Seite eine NaCl-Lösung vorhanden ist, ferner daß die Salze vollkommen elektrolytisch dissoziiert sind und das Volumen der Lösungen zu den beiden Seiten der Membran das gleiche ist, so kann der Verlauf durch folgende Tabelle angegeben werden:

<sup>1)</sup> Hofmeisters Beiträge 5, 294 (1904).

<sup>2)</sup> Meyer: Ebenda 7, 393 (1905); Bechhold und Ziegler: Zeitschr. f. physik. Chem. 56, 105 (1906).

<sup>3)</sup> Zeitschr. f. Elektrochem. 17, 572 (1911).

	Ursprünglicher Zustand					Gleichgewichtszustand			
Na	R	Na	Cl		Na	R	Cl	Na	Cl
$c_1$	$c_1$	$c_2$	$c_2$		$c_1 + x$	$c_1$	$x$	$c_2 - x$	$c_2 - x$
	(1)		(2)		(1)			(2)	

Die einfache vertikale Linie soll in beiden Zuständen die Membran repräsentieren und die algebraischen Symbole bedeuten die molaren Konzentrationen der entsprechenden Ionen;  $x$  ist die molare Konzentration der beim eingetretenen Gleichgewicht von (2) in (1) hinüberdiffundierten Menge an Na- und Cl-Ionen. Nach Donnan ist beim Gleichgewichte

$$(c_1 + x)x = (c_2 - x)^2 \text{ oder } x = \frac{c_2^2}{c_1 + 2c_2},$$

woraus folgt

$$\frac{x}{c_2} = \frac{c_2}{c_1 + 2c_2},$$

$$\frac{c_2 - x}{x} = \frac{c_1 + c_2}{c_2}$$

Ist  $c_2$  klein im Vergleich mit  $c_1$ , kann man schreiben:

$$\frac{x}{c_2} = \frac{c_2}{c_1}, \quad \frac{c_2 - x}{x} = \frac{c_1}{c_2}.$$

Nehmen wir z. B.

$$c_2 = \frac{1}{100} c_1, \text{ so ist } \frac{x}{c_2} = \frac{1}{100}$$

oder es diffundiert nur 1% des ursprünglich vorhandenen NaCl von (2) nach (1). Ist dagegen  $c_1$  klein im Vergleich mit  $c_2$ , so folgt

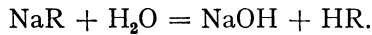
$$\frac{x}{c_2} = \frac{1}{2} \text{ und } \frac{c_2 - x}{x} = 1.$$

Obwohl die Membran an und für sich völlig permeabel für NaCl ist, kann eine genügende Konzentration von NaR diese Permeabilität in einer Richtung fast vollständig aufheben. Als Beispiele von elektrolytisch dissoziierten Alkalisalzen, welche nicht durch eine Membran von Pergamentpapier dialysieren, kann man die Alkaliverbindungen mit Eiweiß und Farbstoffsäuren betrachten.

In dem betrachteten Falle hatten die an beiden Seiten der Membran befindlichen Salze das Kation gemeinsam. Völlig analog wird das Ergebnis, wenn die beiden Salze das Anion gemeinsam haben und die Membran für dieses durchlässig ist. In ähnlicher Weise gelangt Donnan zu folgendem Resultat: Ist zu einer Seite einer Membran eine elektrolytisch dissoziierte Substanz mit nicht dialysierbarem Anion in genügend großer relativer Konzentration vorhanden, so wird sie das Kation eines zweiten, ganz verschiedenen (und sonst völlig dialysierbaren) Elektrolyten scheinbar stark „anziehen“, das Anion desselben in gleichem Maße scheinbar „vertreiben“. Die Worte Kation und Anion in dieser Aussprache können natürlich umgetauscht werden.

Die Ausführungen von Donnan beweisen auch, daß man streng gerechnet keine osmometrische Messung eines Salzes mit einem durch die Membran nicht passierenden Ions vornehmen kann, wenn zur anderen Seite der Membran ein dialysierbares Salz vorhanden ist. Findet sich an der anderen Seite nur reines Wasser, das immer erneuert wird, wird das Resultat ein anderes. Durch

hydrolytische Dissoziation des Salzes NaR entsteht wohl immer mehr oder weniger NaOH nach der Formel



Die gebildete Menge NaOH dialysiert weg und durch erneuerte Dissoziation entsteht eine neue Menge NaOH, die in der gleichen Weise entfernt wird. Schließlich steht nur die freie nicht dialysierbare Säure HR oder ihre Ionen zurück.

Beim Studium der Ionenverteilung im Blutserum sind Rona und P. György zu dem Schluß gekommen, daß die ungleiche Ionenverteilung im Sinne von Donnan für manche Fragen im Organismus von Bedeutung ist. „Im allgemeinen werden jedoch im Serum die von Donnan geforderten Verschiebungen nicht merklich hervortreten infolge des großen Überschusses der diffusiblen Elektrolyte gegenüber den nicht diffusiblen“<sup>1)</sup>.

### Filtration von Kolloiden.

Wie bereits erwähnt, beruht die Diffusion in einer Lösung auf verschiedenen Konzentrationsverhältnissen oder ungleichem osmotischem Druck zu verschiedenen Stellen in der Lösung. Bei der Filtration sind dagegen andere Kräfte wirksam; diese sind hydrostatische Druckdifferenzen. Die ersten Versuche, durch Filtration kolloide Teilchen vom Dispersionsmittel zu trennen, wurden mit porösen Tonfiltra ausgeführt. In der Weise wurden von Linder und Picton kolloide Partikelchen von  $\text{As}_2\text{S}_3$  abfiltriert<sup>2)</sup>. C. J. Martin dichtete Tonfiltra dadurch, daß er durch dieselben warme Lösungen von Gelatine preßte, welche dann in den Poren des Filters beim Erkalten erstarrten und dieselben ausfüllten<sup>3)</sup>. Solche Filtra hielten Partikelchen von Eiweiß und von Stärke fast vollständig zurück, erfordern aber einen erheblichen Druck für das Durchpressen des Dispersionsmittels. Für das Abfiltrieren von Bakterien von Kulturen sind außer Tonfiltra auch Säckchen von Kollodium (Malfitano) angewandt worden; solche sind auch für das Filtrieren von kolloiden Lösungen benutzt worden<sup>4)</sup>. Einen bedeutenden Fortschritt in der Technik der Filtration verdanken wir Bechhold<sup>5)</sup>. Das Verfahren wird nach seinem Vorschlag Ultrafiltration genannt. Bechhold wandte gewöhnliche rundgeschnittene Papierfiltra an, welche mit in Eisessig aufgelöstem Kollodium imprägniert waren. Nachdem die Filtra einige Zeit in der Lösung gelegen hatten, wurden dieselben in reines Wasser eingetaucht, wobei das Kollodium in den Poren koagulierte. Je nach der Konzentration der Kollodiumlösung wurden Filtra von verschiedener Porenweite erhalten. Die Filtra wurden darauf in der Weise verfestigt, daß dieselben durch ein Drahtnetz unterstützt den Boden eines zylindrischen Gefäßes bildeten, in welches die zu filtrierende Flüssigkeit gegossen wurde, worauf die Filtration nach Schließen des Gefäßes unter dem Druck eingepreßter Luft stattfand. Der Apparat erlaubt einen Druck von 10 Atmosphären, aber gewöhnlich genügen sehr niedrige Drucke für das Zustandekommen der Filtration. Außer dem Apparate von Bechhold sind auch andere Apparate zur Ausführung

<sup>1)</sup> Biochem. Zeitschr. **56**, 416 (1913).

<sup>2)</sup> Journ. chem. Soc. **67**, 63 (1895).

<sup>3)</sup> Journ. Physiol. **20**, 364 (1896).

<sup>4)</sup> Compt. rend. **139**, 1221 (1904).

<sup>5)</sup> Zeitschr. physik. Chem. **60**, 257 (1907).



der Filtration von E. Přibram<sup>1)</sup>, von P. Kirschbaum<sup>2)</sup> und von Wegelin<sup>3)</sup> beschrieben worden.

Bei Bechholds Versuchen stellte sich zunächst heraus, daß alle kolloide Lösungen Teilchen von verschiedener Größe enthalten. Trotzdem läßt sich für jede Lösung ein Filter auftreiben, dessen Poren eben eng genug sind, um alle Partikelchen zurückzuhalten. In der Weise konnte Bechhold die Kolloide in einer Reihe nach fallender Größe der kleinsten Partikelchen ordnen. Es stellte sich heraus, daß im allgemeinen die anorganischen Kolloide (Berlinerblau, Platin, Eisenoxyd, Gold, Silber) größere Teilchen bilden als die anorganischen (Gelatine, Hämoglobin, Serumalbumin, Albumosen, Dextrin). Hierbei ist doch zu bemerken, daß nach Zsigmondy die Teilchengröße desselben Kolloids bei der einen Darstellung anders ausfallen kann als bei der anderen, sowie daß die Teilchengröße beim Aufbewahren sich ändern kann<sup>4)</sup>.

Durch Filtrieren von Albumoselösungen durch ungleich dichte Filtra konnte Bechhold zeigen, daß die Albumosen um so größere Teilchen bilden, je leichter dieselben durch Ammoniumsulfat fällbar sind.

Indessen stellten sich für die Filtrationsversuche von Bechhold mehrere Unannehmlichkeiten hindernd in den Weg. Einmal wurden die Filterporen durch die kolloiden Teilchen verstopft, was zum Teil durch Rühren der Flüssigkeit vermieden werden konnte. Ferner wurden gewisse kolloide Substanzen beim Filtrieren durch das Filtermaterial adsorbiert (siehe weiter unten), was besonders für gewisse physiologisch wirksame Substanzen (Enzyme, Toxine) dargetan wurde.

Mit Rücksicht auf Gemengen von zwei verschiedenen kolloiden Stoffen konnte Bechhold nachweisen, daß der gröbere Stoff den anderen aufnehmen und folglich am Passieren durch ein Filter hindern kann. Umgekehrt können gewisse kolloide Stoffe durch ihre Gegenwart das Durchdringen eines anderen Kolloids durch ein Filter erleichtern, und zwar in der Weise, daß dieselben das Zusammenballen der Teilchen und die Reibung im Filter verhindern, indem dieselben gewissermaßen als Schmiermittel dienen (siehe Schutzkolloide weiter unten). Für die Durchlässigkeit eines Kollodiumfilters soll nach R. Brinkman und A. v. Szent-Györgi nicht nur die Porengröße, sondern auch die Kapillaraktivität einer in den Poren befindlichen Substanz von Bedeutung sein. Eine Kollodiummembran, welche Hämoglobin nicht durchließ, wurde nach Durchpressen von Na-Oleat für Hämoglobin permeabel. Die Filtrationsgeschwindigkeit von Wasser war dieselbe wie vorher, und das Vermögen, das Hämoglobin zurückzuhalten, wurde nach Entfernung des Na-Oleats aus den Poren wieder hergestellt<sup>5)</sup>.

## Innere Reibung von Kolloidlösungen.

Der Verschiebung von Flüssigkeitsteilchen gegeneinander stellt sich ein gewisser Widerstand entgegen, dessen Größe durch die innere Reibung gemessen wird. Je größer die innere Reibung ist, um so größer ist auch die Viskosität der Flüssigkeit und um so trägflüssiger ist dieselbe. Für physiologische Zwecke bestimmt man nur die sog. relative innere Reibung,

<sup>1)</sup> Biochem. Zeitschr. **44**, 297 (1912).

<sup>2)</sup> Ebenda **64**, 495 (1914).

<sup>3)</sup> Koll. Zeitschr. **18**, 225 (1916).

<sup>4)</sup> Zur Erkenntnis der Kolloide. 1905 sowie Zeitschr. Elektrotechn. **12**, 631 (1906).

<sup>5)</sup> Biochem. Zeitschr. **139**, 261 (1923).

indem man die Reibung von Wasser bei  $0^{\circ}$  oder bei der Versuchstemperatur als Einheit setzt. Die Zeit, welche ein gegebenes Volumen Flüssigkeit braucht, um durch eine Kapillare zu fließen, wird für die Messung der relativen inneren Reibung benutzt. Fließt die Flüssigkeit unter ihrem eigenen Druck, so wird die Reibung  $\eta$  aus der Formel

$$\eta : \mathbf{I} = st : t_0 \text{ oder } \eta = \frac{st}{t_0}$$

berechnet, wo  $s$  das spezifische Gewicht,  $t$  die Ausflußzeit der zu prüfenden Flüssigkeit bedeutet und  $t_0$  die Ausflußzeit des gleichen Volumens Wasser.

Bezüglich der theoretischen Behandlung der Viskosität heterogener Systeme hat Einstein unter der Voraussetzung, daß der mittlere Abstand der benachbarten suspendierten Kugeln sehr groß gegen ihren Radius ist, folgende Formeln aufgestellt:  $\eta = \eta_2 (1 + \varphi)$ , wo  $\eta_2$  die Viskosität des Dispersionsmittels und  $\varphi$  der von den Kugeln eingenommene Bruchteil des Volumens bedeutet<sup>1)</sup>.

Die hydrophilen Kolloide sind in genügend konzentrierten Lösungen sehr zähflüssig, was wahrscheinlich damit zusammenhängt, daß dieselben unter Umständen gelatinieren. Andererseits wird allgemein angenommen, daß die Suspensionskolloide in Lösung dieselbe innere Reibung zeigen, wie das reine Dispersionsmittel<sup>2)</sup>. Interessante Beobachtungen über die innere Reibung von Kolophoniumsuspensionen wurden von Friedländer gemacht<sup>3)</sup>. Zunächst mag erwähnt werden, daß Friedländer für kolloides Silber dieselbe innere Reibung fand, wie für das Dispersionsmittel (Wasser). Ferner fand er, daß, wenn eine schwache Lösung von Kolophonium in absolutem Alkohol in viel Wasser gegossen wurde, die gebildete Suspension dieselbe Reibung zeigte, wie eine Mischung von den angewandten Volumina an Wasser und Alkohol. Wurde dagegen zu einer starken Lösung von Kolophonium in absolutem Alkohol Wasser tropfenweise bis zur Entmischung zugesetzt, so zeigte die Suspension eine stärkere innere Reibung als die entsprechende Mischung von Wasser und Alkohol und überhaupt hatte dieselbe mehrere Eigenschaften, welche auch den hydrophilen Kolloiden zukommen, während die andere Kolophoniumsuspension wie ein Suspensionskolloid sich verhielt. Friedländer nahm in der Flüssigkeit mit der stärkeren Reibung einen kontinuierlichen Übergang der suspendierten Teilchen in die umgebende Flüssigkeit als Ursache der stärkeren Viskosität an; im anderen Falle war nach Friedländer die Grenze zwischen den beiden Phasen eine scharfe, und die Teilchen beeinflussten deshalb nicht die innere Reibung der Flüssigkeit. Auch wird allgemein angenommen, daß bei den hydrophilen Kolloiden eine nähere Beziehung zwischen Teilchen und Dispersionsmittel vorhanden ist als bei den Suspensionskolloiden.

J. Loeb findet für die Viskosität der Gelatine ein Minimum im isoelektrischen Punkt und überhaupt findet er, daß die Beeinflussung der Viskosität durch Ionen verschiedener Art der Kurve des osmotischen Druckes parallel geht<sup>4)</sup>. Auch Pauli und Matula fanden für Gelatine ein Viskositätsminimum im isoelektrischen Punkt in dem Falle, daß dieser Punkt durch Zugabe einer geeigneten Pufferlösung erreicht wurde<sup>5)</sup>. Pauli hat mit stark dialysiertem

<sup>1)</sup> Ann. d. Phys. **19**, 297 (1906).

<sup>2)</sup> z. B. Linder und Picton: Journ. chem. Soc. **61**, 137 (1892).

<sup>3)</sup> Zeitschr. physik. Chem. **38**, 385 (1901).

<sup>4)</sup> Journ. of general Physiol. **1**, 3 (1918, 1919, 1921).

<sup>5)</sup> Koll. Zeitschr. **12**, 222 (1913).

Serum Versuche über die innere Reibung ausgeführt<sup>1)</sup>. Wenn die Reibung von Wasser = 1000 gesetzt wird, so ergibt eine 1%ige Eiweißlösung die Zahl 1068. Zugabe von wenig Salz (bis 0,05 norm.) bewirkt ein Absinken der Reibung unter die der reinen Eiweißlösung. Dies wurde ausnahmslos für alle neutrale Salze gefunden. Die Salze allein beeinflussten nicht die Reibung von Wasser. Das Eiweiß erfuhr sowohl durch Säure wie durch Alkali in geringen Mengen (bis 0,02 norm.) eine mächtige Steigerung der Viskosität. Ausgedehnte Untersuchungen über den Einfluß zugesetzter Stoffe auf die Viskosität von Eiweißlösungen von Pauli und Handovsky bestätigen in der Hauptsache das eben Gesagte<sup>2)</sup>. Nach diesen Versuchen liegt für einen Eiweißgehalt von etwas über 1% bei etwa 0,016 norm. Gehalt an HCl ein Maximum der inneren Reibung von Salzsäureeweiß. Ein solches Maximum läßt sich auch für andere Säuren nachweisen. Zugabe von Salzen zu Säureeweiß ruft einen bedeutenden Fall der inneren Reibung hervor. Dies gilt auch für das Alkalieweiß. Woudstra hebt hervor, daß die innere Reibung von Eisenhydrosol durch Salze zunächst herabgesetzt wird, um bei gesteigerter Salzmenge durch ein Minimum zu passieren, worauf eine Erhöhung merkbar wird<sup>3)</sup>.

Mit Kaseinsolen fanden Chick und Martin, daß die Viskosität rascher als der Konzentration proportional wächst, was daran liegt, daß beim Auflösen des Kaseins eine Volumverminderung eintritt<sup>4)</sup>. Dasselbe berechnet sich aus dem Verhalten zwischen Dichte und Lösungsvolumen von Eier- und Serumalbumin sowie von Serumglobulin<sup>5)</sup>. Säuren und Alkalien erhöhen die Viskosität von Kaseinlösungen. Diese Resultate von Chick und Martin bestätigen frühere Beobachtungen von E. Laqueur und O. Sackur<sup>6)</sup>.

In diesem Zusammenhang sei an die Erhöhung des osmotischen Druckes von Gelatinelösungen durch Zusatz von Säure oder Alkali sowie an den Abfall des osmotischen Druckes von Eiweiß durch Salze erinnert (S. 52). Die Steigerung der inneren Reibung durch Säuren und Alkalien führt Pauli auf die Bildung von Eiweißionen zurück, welche Wasser aufnehmen sollen und eben in ihrer gequollenen Form die Reibung erhöhen sollen. Durch Salze wird die Dissoziation zurückgedrängt, wodurch neutrale Moleküle entstehen und die Viskosität herabgesetzt wird.

## Oberflächenspannung kolloider Lösungen.

Das theoretische über die Oberflächenspannung sowie die Methoden zu deren Bestimmung wurden bereits abgehandelt (S. 28). Es wurde einerseits die Steighöhemethode, andererseits die Tropfenmethode erwähnt. Nach dem S. 29 Gesagten ist die Anzahl der in einem gegebenen Volumen enthaltenen Tropfen der Oberflächenspannung umgekehrt proportional. Andererseits ist nach dem über die innere Reibung Gesagten die Ausflußzeit eines gegebenen Flüssigkeitsvolumens für die Viskosität der Lösung bestimmend. Mit der Steighöhemethode hat Quincke für die Oberflächenspannung folgende Werte erhalten:

<sup>1)</sup> Koll. Zeitschr. 3, 5 (1908).

<sup>2)</sup> Biochem. Zeitschr. 18, 340 (1909); 24, 239 (1910).

<sup>3)</sup> Koll. Zeitschr. 8, 73 (1911).

<sup>4)</sup> Koll. Zeitschr. 11, 102 (1912).

<sup>5)</sup> Ebenda 12, 69 (1913).

<sup>6)</sup> Hofmeisters Beitr. 3, 193 (1903).

Wasser . . . . .	$\gamma = 100$
Lösung von Agar-Agar . . . . .	95
„ „ Gummi arabicum (20%) . . . . .	91
„ „ Gelatine . . . . .	88
„ „ Gerbsäure (10%) . . . . .	79

Auch das Eiweiß soll die Oberflächenspannung des Wassers erniedrigen. Einer Beobachtung von Traube zufolge erniedrigen Albumosen die Oberflächenspannung des Wassers<sup>1)</sup>, was von Berczeller bestätigt wurde<sup>2)</sup>. Bottazzi fand, daß Serumalbumin die Oberflächenspannung des Wassers erniedrigt<sup>3)</sup>. Bei Eiweißlösungen, welche so wenig Salz enthalten, daß dieselben beim Aufkochen nicht koagulieren, soll beim Aufkochen die Oberflächenspannung nach Berczeller stark abnehmen und dann beim Aufbewahren wieder zunehmen. An der Tatsache, daß das Eiweiß die Oberflächenspannung des Wassers erniedrigen und folglich in der Oberfläche der Lösung in größerer Konzentration vorhanden sein soll als im Innern (S. 28), soll es liegen, daß Eiweißlösungen Häutchen auf der Oberfläche bilden. E. Walker hat den Einfluß von Seifen auf die Oberflächenspannung des Wassers untersucht. Die Seifen erniedrigen die Spannung ganz außerordentlich, und zwar steigt diese Fähigkeit in homologen Reihen zunächst an, um dann wieder abzunehmen. Für jede einzelne Seife ergibt sich, daß mit steigender Konzentration die herabsetzende Wirkung bis zu einem Maximum zunimmt, um dann zu fallen. Es wird daher angenommen, daß die Fähigkeit, die Oberflächenspannung zu erniedrigen, nicht nur von der Menge der gelösten Seife abhängt, sondern auch von dem Zustand, in dem sie sich vorfindet; und zwar sollen die komplexen Molekülaggregate diese Fähigkeit in geringerem Maße haben<sup>4)</sup>. Nach H. Freudenreich und W. Neumann besitzen die Lösungen der Suspensionskolloide die gleiche Oberflächenspannung wie das reine Lösungsmittel, während die Emulsionskolloide eine niedrigere Oberflächenspannung als das Lösungsmittel ergeben<sup>5)</sup>.

### Optische Eigenschaften der Kolloide.

Kolloide Lösungen zeigen bei seitlicher Beleuchtung Opaleszenz, was daran liegt, daß das Licht an den suspendierten Teilchen reflektiert wird; das reflektierte Licht ist zum Teil polarisiert. Dieses Phänomen (Tyndallphänomen) rührt also von der Gegenwart kleiner Teilchen in der Flüssigkeit her und wird als Kennzeichen kolloider Lösungen betrachtet. Doch gibt es kolloide Lösungen (z. B. gewisse Goldlösungen nach Zsigmondy), welche das Tyndallphänomen nicht zeigen, und andererseits sollen auch Lösungen von gewissen hochmolekularen Kristalloiden (Rohrzucker, Raffinose) das Phänomen hervorrufen können<sup>6)</sup>.

Das sog. Ultramikroskop von Siedentopf und Zsigmondy hat es ermöglicht die kolloiden Partikelchen einer direkten Beobachtung zugänglich zu machen<sup>7)</sup>. In diesem Apparat werden die kolloiden Teilchen durch direktes Licht möglichst stark beleuchtet, aber derart, daß kein Strahl der Beleuchtung direkt in das Auge des Beobachters gelangt. Die Teilchen werden dadurch

1) Ber. d. chem. Ges. **19** (1871).  
 2) Biochem. Zeitschr. **53** (1913).  
 3) Rend. Accad. Lincei 1912.  
 4) Journ. chem. soc. **119** u. **120**, 1521 (1921).  
 5) Koll. Zeitschr. **3**, 80 (1908).  
 6) Lobry de Bruyn und Wolff: Rec. trav. chim. des Pays-Bas **23**, 155 (1904).  
 7) Zsigmondy: Zur Kenntnis der Kolloide. Jena 1905. S. 83.

sichtbar, daß im seitlich abgebeugten Licht Beugungsscheiben entstehen, welche innerhalb der Grenzen mikroskopischer Sichtbarkeit liegen. Nur das von den Teilchen reflektierte Licht trifft das Auge des Beobachters, und die Teilchen erscheinen bei richtiger Verdünnung als helleuchtende Punkte in dem übrigens dunklen Gesichtsfelde. Von kolloiden Lösungen, in welchen die Teilchen dicht beieinander liegen, bekommt man im Mikroskop einen mehr oder weniger intensiven polarisierten Lichtkegel, wo die einzelnen Teilchen nicht voneinander zu unterscheiden sind. Dies wird erst durch Verdünnung der Lösung erreicht. Diejenigen Teilchen, welche durch Verdünnung der Lösung einzeln sichtbar gemacht werden können, werden Submikronen genannt; diejenigen, deren Lichteindruck beim Verdünnen allmählich verschwindet, Amikronen. Wenn ein zunächst homogener Lichtkegel bei Verdünnung in einzeln sichtbare Submikronen zerfällt, ist dieselbe auflösbar; treten beim Verdünnen keine Submikronen hervor, so enthält dieselbe nur Amikronen und dieselbe ist nicht auflösbar. Im letzteren Falle kann man bisweilen das Vorhandensein von außerordentlich fein verteilter Materie durch Zusetzen von optisch leeren (keine kolloide Partikelchen enthaltenden) Fällungsmitteln erweisen. Die Amikronen können dabei zu Submikronen anwachsen.

Wird die in der Volumeneinheit eines Metallsoles vorhandene Metallmenge sowie die Zahl der Teilchen ermittelt, so läßt sich daraus die durchschnittliche Größe der Teilchen einigermaßen berechnen, unter der Annahme, daß die Dichte der Partikelchen dieselbe ist, wie die des Metalles. In solcher Weise sind für die Submikronen einiger kolloiden Stoffe folgende lineare Dimensionen gefunden worden:

Kolloides Gold . . . . .	6—130 $\mu\mu$ <sup>1)</sup>
Silber . . . . .	50—77
Platin . . . . .	44
Jodsilber . . . . .	60

Nach Zsigmondy sind nur die Goldlösungen beständig, deren mittlere Teilchengröße höchstens 66  $\mu\mu$  beträgt. Bei einer Größe von 75  $\mu\mu$  beginnen die Teilchen bereits sich abzusetzen. Mit Zsigmondy unterscheidet man größere Aufschlemmungen mit linearen Dimensionen der Teilchen bis herab zu 0,1  $\mu$  und kolloide Lösungen mit Teilchen bis 0,1  $\mu\mu$  Durchmesser, an die sich mit abnehmender Teilchengröße die molekularen Lösungen anschließen. Interessant sind auch die Untersuchungen von Zsigmondy und anderen über das Anwachsen von kolloiden Metallteilchen. So wird die Reduktion von Goldchlorid durch z. B. Formaldehyd, wobei kolloides Gold entsteht, durch Zugabe von kolloidem Gold beschleunigt, und zwar wachsen die zugesetzten Teilchen auf Kosten des neu reduzierten Goldes<sup>2)</sup>. In der gleichen Weise wird die Reduktion von Silbernitrat mit Formaldehyd und Ammoniak durch Zugabe von kolloidem Gold beschleunigt, wobei das reduzierte Ag auf die Goldteilchen sich niederschlägt<sup>3)</sup>. Durch solche Prozesse können also aus Amikronen Submikronen entstehen.

Organische Kolloide sind auch mit dem Ultramikroskop untersucht worden. Raelmann fand zunächst, daß Glykogenlösungen zahlreiche Submikronen enthalten, welche unter dem Einfluß von Diastase verschwinden<sup>4)</sup>.

<sup>1)</sup> Zur Erkenntnis der Kolloide S. 104, 146 ff.

<sup>2)</sup> Zeitschr. physik. Chem. 56, 65 (1906).

<sup>3)</sup> Ebenda 56, 77.

<sup>4)</sup> Berl. klin. Wochenschr. 1904. Nr. 8, 186.

Gatin-Grużewska und W. Biltz konnte mit besonders reinem Glykogen neben leicht erkennbaren Submikronen auch Amikronen nachweisen, welche durch Zusatz von Alkohol zu einzeln nachweisbaren Submikronen zusammengeballt wurden<sup>1)</sup>.

Michaelis untersuchte organische Farbstoffe und fand unter ihnen drei Arten<sup>2)</sup>:

1. solche, deren wäßrige Lösungen auflösbar sind, d. h. nur ultramikroskopisch sichtbare Teilchen enthalten,
2. partiell auflösbare Lösungen,
3. völlig unauflösbare.

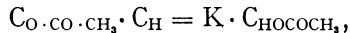
Die Eiweißlösungen sind nach Michaelis zum Teil in echter Lösung und folglich optisch unauflösbar zum Teil als Körnchen vorhanden. Die Zahl der letzteren ist verschieden, je nachdem man Wasser oder physiologische Kochsalzlösung als Verdünnungsmittel verwendet. Die Ansicht, daß das Eiweiß zum Teil in echter Lösung vorhanden sein soll, läßt sich nur schwer mit der Tatsache in Übereinstimmung bringen, daß gelöstes Eiweiß durch Filtrieren von dem Lösungsmittel sich vollständig entfernen läßt.

Vor einigen Jahren hat Siedentopf eine Verbesserung des Ultramikroskops für gewisse Zwecke erzielt. Durch dieselbe ist die Lichtstärke auf das zwanzigfache gegen die frühere erhöht worden<sup>3)</sup>. Der sog. Spiegelkondensator von Reichert ist auch auf dem Prinzip der Dunkelfeldbeleuchtung gegründet und ermöglicht es auch, kolloide Teilchen, z. B. kolloide Metalle, direkt zu beobachten<sup>4)</sup>.

## Elektrische Fortführung kolloider Teilchen.

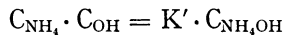
Für das Verständnis der zu der Fortführung kolloider Teilchen gehörenden Verhältnisse wird es von Bedeutung sein, sich folgender Verhältnisse zu erinnern.

Für die Dissoziation schwach dissoziierter Stoffe, z. B. Essigsäure,  $\text{HOCO} \cdot \text{CH}_3$ , gilt nach dem Massenwirkungsgesetz folgende Gleichung:



wo C je nach dem Index die molekulare Konzentration der betreffenden Ionen resp. Molekülart und K die sog. Dissoziationskonstante der Essigsäure bedeutet. Die Dissoziationskonstante ist für schwach dissoziierte Elektrolyte von dem Verdünnungsgrad der Lösung weitgehend unabhängig.

Für eine schwache Base, z. B.  $\text{NH}_4 \cdot \text{OH}$  gilt die analoge Gleichung



wo  $K'$  die Dissoziationskonstante von Ammoniumhydroxyd bedeutet.

Diese Gleichungen müssen für alle Lösungen, wo überhaupt die in denselben eingehenden Ionen- oder Molekülartungen vorkommen, in Geltung sein. Setzen wir nun zu der Essigsäurelösung ein Azetat mit einer starken Base, z. B. Natriumazetat und zu der Ammoniumhydroxydlösung ein Ammoniumsalz mit einer starken Säure, z. B. Chlorammonium, so wird im ersteren Falle die Konzentration der Azetationen, im letzteren die der Ammoniumionen sehr stark vermehrt, da die zugesetzten Salze stark dissoziiert sind. Infolgedessen wird, da die obigen Gleichungen fortwährend in Geltung sind, die Konzentration der nicht dissoziierten Essigsäuremoleküle,  $\text{C}_{\text{HOCOCH}_3}$ , und die der nicht dissoziierten Chlorammoniummoleküle,  $\text{C}_{\text{NH}_4\text{Cl}}$ , stark vermehrt oder, was auf dasselbe hinauskommt,

<sup>1)</sup> Pflügers Arch. **105**, 115 (1904).

<sup>2)</sup> Deutsche med. Wochenschr. 1904. Nr. 42, 1535.

<sup>3)</sup> Verh. physik. Ges. **12**, 6 (1910).

<sup>4)</sup> Österr. chem. Ztg. **10**, Nr. 1, 5 (1907); auch Koll. Zeitschr. **1**, 274 (1907).

$C_H$  resp.  $C_{OH}$  werden hinabgedrückt. Da die Essigsäure resp. das Ammoniumhydroxyd sehr schwach dissoziiert sind, können in den obigen Gleichungen  $C_{HOCO.CH_3}$  resp.  $C_{NH_4OH}$  gegen die Konzentration der angewandten Essigsäure resp. des angewandten Ammoniumhydroxyds ausgewechselt werden; und da das Natriumazetat und das Chlorammonium fast völlig dissoziiert sind (in Konzentrationen unter 0,01 norm. bis zu über 90%), so können  $C_{OCOCH_3}$  und  $C_{NH_4}$  mit der Konzentration des zugesetzten Natriumazetats resp. des zugesetzten Salmiaks ersetzt werden. Wir bekommen also:

$$C_H = K \cdot \frac{C_{\text{Essigsäure}}}{C_{\text{Azetat}}} \quad \text{und} \quad C_{OH} = K' \cdot \frac{C_{\text{Ammoniumhydroxyd}}}{C_{\text{Salmiak}}}.$$

Wie ersichtlich, wird unter solchen Umständen  $C_H$  resp.  $C_{OH}$  dem Verhältnis der angewandten Essigsäure resp. des angewandten Ammoniumhydroxyds zu dem zugesetzten Salz proportional. Dieses Verhältnis ist innerhalb weiter Grenzen von der anwesenden Wassermenge unabhängig, und Mischungen von schwachen Säuren oder Basen mit deren stark dissoziierten Salzen werden deshalb vielfach angewandt, um Medien von leicht berechenbaren praktisch konstanten Konzentrationen von H oder OH herzustellen. Solche Mischungen werden Pufferlösungen genannt.

Wie wir weiter unten ersehen werden, drückt man nunmehr oft die Konzentration der H-Ionen durch die Zahl  $p_H$  aus, da die Konzentration als Normallösung der H-Ionen ausgedrückt =  $10^{-p_H}$ . Folglich ist  $p_H$  der negative Logarithmus der H-Ionenkonzentration. Für neutrale Lösungen ist  $p_H = 7,07$ , für saure  $< 7,07$  und für alkalische  $> 7,07$  ist (Kap. V).

Ein nicht zu schwacher elektrischer Strom besitzt die Fähigkeit kleine Flüssigkeitsmengen, die in einer Kapillare oder in einem porösen Diaphragma sich befinden, in Bewegung zu setzen. In einer Flüssigkeit suspendierte Teilchen wandern auch unter dem Einfluß des Stromes, und zwar je nach der Natur der Flüssigkeit und der Teilchen zur Anode oder Kathode. Wasser, welches durch eine poröse Tonwand in zwei Abteilungen getrennt, in einer U-förmigen Röhre sich befindet, bewegt sich in der Richtung zur Kathode. Dagegen wandert Terpentinöl in Berührung mit Glas zur Anode. In Wasser suspendierte Teilchen wandern in der Regel anodisch, in Terpentinöl suspendierte kathodisch<sup>1)</sup>. Nach Helmholtz nehmen zwei verschiedene Körper, die sich berühren, entgegengesetzte elektrische Ladungen an, und wenn einer von den Körpern beweglich ist, kann er unter Umständen unter Einfluß des elektrischen Stromes anodisch oder kathodisch wandern, je nachdem seine Ladung negativ oder positiv ist. Die Erscheinung wird Kataphorese genannt.

Die Wanderungsrichtung kolloider Teilchen ist bis zu einem gewissen Grade von der chemischen Natur des Kolloids abhängig. Die kolloiden Metallhydroxyde z. B. von Eisen, Aluminium, Thorium u. a. wandern zur Kathode d. h. dieselben besitzen positive Ladung. Nach Biltz wandern in dialysierten Wasserlösungen im allgemeinen die kolloiden Metallhydroxyde zur Kathode und die kolloiden Metalle, Schwefelmetalle und Säuren zur Anode<sup>2)</sup>. Doch kann, wie Billitzer dargetan hat, die Wanderungsrichtung durch Zusatz anderer Stoffe umgekehrt werden<sup>3)</sup>. Dies tritt sehr deutlich beim kolloiden

<sup>1)</sup> Coehn, Zeitschr. Elektr. 4, 63 (1897).

<sup>2)</sup> Ber. d. chem. Ges. 37, 1095 (1904).

<sup>3)</sup> Ann. Physik. 11, 902 (1903).

Platin zutage. Dasselbe führt in Wasser zerstäubt negative Ladung, da es anodisch wandert. Wird dagegen Platin unter absolutem Alkohol zerstäubt, so wandert es kathodisch; gibt man zu einer solchen Lösung Wasser, so kehrt sich die Wanderungsrichtung bei 70<sup>0</sup>/<sub>0</sub> Alkohol um. Wird kolloides Platin mit Sauerstoff geladen, so wandert es in schwachsaurer Lösung zur Kathode in alkalischer Lösung zur Anode.

In bezug auf das Verhalten von Eiweiß im elektrischen Stromgefälle liegen ältere Angaben von Hardy und von Pauli vor. Hardy<sup>1)</sup> arbeitete mit denaturiertem Eiweiß, Pauli<sup>2)</sup> mit nativem. Beide Forscher kamen zu denselben Resultaten. Nach diesen zeigt stark dialysiertes Eiweiß keine Kataphorese. Zugabe von sehr geringen Mengen Säure oder Alkali zu dem dialysierten Eiweiß erteilt aber dem Eiweiß positive bzw. negative Ladung, was daraus zu ersehen ist, daß das Eiweiß in saurer Lösung kathodisch wandert und in alkalischer anodisch.

Gegen die Versuchsanordnung von Hardy und Pauli wendet Michaelis ein, daß die Entstehung von saurer bzw. alkalischer Reaktion bei den Polen sich schwerlich vermeiden läßt. Deshalb wendet Michaelis eine solche Anordnung an, daß die Strecke, welche der Strom zu durchlaufen hat, z. B. folgendermaßen aufgeteilt wird<sup>3)</sup>.

Anode: Ag in NaCl-Lösung 1	Leitfähigkeits- Wasser 2	Stark dialysiertes Albumin 3	Leitfähigkeits- Wasser 4	Kathode: Cu in CuCl <sub>2</sub> 5
-------------------------------------	--------------------------------	---------------------------------------	--------------------------------	---

Bei der Anwendung einer solchen Anordnung soll das Auftreten schädlicher Reaktionsänderungen vermieden werden und die Diffusion der Salze aus den Räumen 1 und 5 in die mittleren Räume soll sehr gering sein. Nach dem Versuch wurde der Eiweißgehalt der Räume 2 und 4 untersucht und daraus die Wanderungsrichtung des Eiweißes bestimmt. Die Versuche von Michaelis zeigten nun, daß bei gut erhaltener neutraler Reaktion das Eiweiß stets eindeutig anodisch wanderte. Sobald aber die Albuminlösung mit einer Spur von Essigsäure versetzt wurde, wanderte das Eiweiß einsinnig rein kathodisch. Nach einer Ausführung von Michaelis kann man also zwischen der neutralen Reaktion des Wassers (Konzentration der H-Ionen =  $10^{-7}$ ) und der Reaktion der angewandten Essigsäurelösung (Konzentration der H-Ionen =  $10^{-5}$ ) einen Aziditätsgrad interpolieren, bei dem das Eiweiß keine bestimmte elektrische Ladung besitzt oder „isoelektrisch“ ist. In der Tat gelang es auch durch Mischen von saurem und basischem Natriumphosphat eine Lösung herzustellen, welche mit einer Wasserstoffkonzentrationskette (siehe Kap. 5) untersucht eine Konzentration der H-Ionen von rund  $10^{-6}$  zeigte. Wurde eine solche Lösung im Überführungsapparat anstatt reinen Wassers angewandt, so stellte sich nach 24stündiger Kataphorese heraus, daß das Eiweiß in beiden Richtungen gewandert war. Im isoelektrischen Punkt wandert also das Eiweiß anodisch und kathodisch, und man könnte sagen, daß die Lösung positiv und negativ geladene Teilchen enthält. Die Konzentration der H-Ionen im isoelektrischen Punkt wird von Michaelis und seinen Mitarbeitern folgendermaßen angegeben:

<sup>1)</sup> Journ. Physiol. **24**, 288 (1899).

<sup>2)</sup> Hofm. Beitr. **7**, 531 (1906); auch Biochem. Zeitschr. **18**, 356 (1909).

<sup>3)</sup> Ebenda **16**, 81; **19**, 181 (1909).



Serumglobulin . . . . .	$0,36 \cdot 10^{-5}$
Gliadin . . . . .	$6 \cdot 10^{-10}$
Edestin . . . . .	$1,3 \cdot 10^{-7}$
Stromasubstanz . . . . .	$1 \cdot 10^{-5}$
Hämoglobin . . . . .	$1,8 \cdot 10^{-7}$
Denat. Serumalbumin . . . . .	$0,4 \cdot 10^{-5}$
Natives Serumalbumin . . . . .	$2 \cdot 10^{-5}$
Gelatine . . . . .	$2,5 \cdot 10^{-5}$
Kasein . . . . .	$2,5 \cdot 10^{-5}$ 1).

Das Eiweiß ist nach der durch diese Versuche bedingten Vorstellung als ein amphoterer Elektrolyt (oder Ampholyt) zu betrachten, der je nach der Reaktion der Flüssigkeit, in welcher er sich befindet, verschiedene Ladung annimmt: in genügend saurer Lösung positive und in alkalischer negative. Der Übergang zwischen beiden wird durch den isoelektrischen Punkt angegeben. Für die meisten der bis jetzt untersuchten Eiweißkörper liegt der isoelektrische Punkt etwas nach der sauren Seite vom Neutralpunkt. Folgende theoretische Ausführung über das Verhalten des Eiweißes rührt von Michaelis her<sup>2)</sup>.

Da das Eiweiß als Säure oder als Base sich verhält oder Anionen sowie Kationen bilden kann, sind für die Dissoziationsverhältnisse folgende Gleichungen in Geltung:

$$C_A \cdot C_H = K_a \cdot x \quad (1) \quad \text{und} \quad C_K \cdot C_{OH} = K_b \cdot x \quad (2),$$

wobei  $C_A$  und  $C_K$  die Konzentrationen der Eiweißanionen bzw. Kationen,  $C_H$  und  $C_{OH}$  die Konzentrationen der H bzw. OH-Ionen,  $K_a$  und  $K_b$  die Säure- bzw. Basendissoziationskonstante und  $x$  das nicht dissoziierte Eiweiß bedeuten. Wenn  $E$  die ganze Eiweißmenge bedeutet, so ist  $x = E - C_A - C_K$ , oder nach den Gleichungen (1) und (2)

$$x = E - \frac{K_a \cdot x}{C_H} - \frac{K_b \cdot x}{C_{OH}}$$

$$\text{und} \quad \frac{E}{x} = \frac{K_a}{C_H} + \frac{K_b}{C_{OH}} + 1$$

$$\text{oder} \quad \frac{x}{E} = \frac{1}{\frac{K_a}{C_H} + \frac{K_b}{C_{OH}} + 1}.$$

$\frac{x}{E}$  ist der nicht dissoziierte Bruchteil des Eiweißes. Bezeichnen wir mit  $K$  die Dissoziationskonstante des Wassers, so wird  $C_H \cdot C_{OH} = K$  und  $C_{OH} = \frac{K}{C_H}$  (Kap. V) und wir haben

$$\frac{x}{E} = \frac{1}{\frac{K_a}{C_H} + \frac{K_b \cdot C_H}{K} + 1}.$$

In dieser Gleichung ist  $\frac{x}{E}$  durch  $C_H$  eindeutig bestimmt und erreicht sein Maximum, wenn der Nenner ein Minimum hat. Dies trifft ein, wenn der Nenner

<sup>1)</sup> Die hier angegebenen Ziffern können leicht in die Form  $10^{-pH}$  gebracht werden, da z. B. für Kasein  $10^{-pH} = 2,5 \cdot 10^{-5}$  oder  $pH = 5 - \log 2,5 = 4,6$ .

<sup>2)</sup> Siehe z. B. Die Wasserstoffionenkonzentration. Berlin 1914.

differenziert = 0 ist oder wenn  $\frac{K_a}{C_H^2} = \frac{K_b}{K}$ ; wird hier  $K = C_H \cdot C_{OH}$  gesetzt, bekommen wir  $\frac{K_a}{K_b} = \frac{C_H}{C_{OH}}$ .

Dies bedeutet nach den obigen Gleichungen (1) und (2), daß  $C_A = C_K$  oder daß die Eiweißanionen und Eiweißkationen in gleicher Konzentration vorhanden sind, was nach der obigen Darstellung der Fall ist im isoelektrischen Punkt. Folglich haben hier die nichtdissoziierten Moleküle ihre größte Konzentration. Andererseits scheint es sehr wahrscheinlich, daß unter solchen Verhältnissen die günstigsten Bedingungen für die Ausflockung des Eiweißes geschaffen sind; die Ionen können nämlich als solche nicht ausfallen. Zu beiden Seiten des isoelektrischen Punktes ist das Eiweiß dissoziiert und kommt in größeren oder geringeren Mengen als Ionen vor, die andere Eigenschaften besitzen als das nicht dissoziierte Eiweiß.

Daß das Eiweiß im isoelektrischen Punkte leichter ausfällt als sonst, ist für gewisse Eiweißstoffe bewiesen, welche im isoelektrischen Zustande direkt ausflocken (Globulin, Kasein, Edestin, Gliadin<sup>1)</sup>; für andere hat es sich herausgestellt, daß dieselben im isoelektrischen Punkt bei Alkoholzusatz leichter ausflocken als bei anderer Reaktion<sup>2)</sup>. Mit diesem Verhältnis hängt es wohl zusammen, daß nach J. Loeb Gelatine im isoelektrischen Punkte sich leichter reinigen läßt als sonst<sup>3)</sup>. Dasselbe fanden van Slyke und Baker in bezug auf Kasein<sup>4)</sup>.

Ferner zeigt nach dem oben gesagten (S. 52 u. 59) sowohl der osmotische Druck wie die Viskosität im isoelektrischen Punkt ein Minimum, was auch auf ein verschiedenes Verhalten der undissoziierten Moleküle und der Ionen hindeutet.

Die eben wiedergegebene theoretische Ausführung von Michaelis setzt im Voraus, daß bei der Dissoziation des Eiweißes nur zweierlei Eiweißionenarten vorliegen, die Eiweißanionen und die Eiweißkationen mit den Konzentrationen  $C_A$  bzw.  $C_K$ . Aus den obigen Gleichungen (1) und (2) finden wir, wenn

$$C_A = C_K, \quad C_H = \sqrt{\frac{K_a \cdot K}{K_b}}, \quad \text{da } K = C_H \cdot C_{OH}.$$

Nach dieser Gleichung wäre also  $C_H$  im isoelektrischen Punkt ganz unabhängig von der Menge des anwesenden Eiweißes. Dies ist nach Michaelis und auch nach Sørensen<sup>5)</sup> der Fall, und auch Pauli stimmt dieser Ansicht bei für den Fall, daß der isoelektrische Punkt durch Zugabe von Azetat-Essigsäuregemisch (S. 64) erreicht wird. Für salzfreie Eiweißkörper in stärkeren Säuren haben aber nach Pauli die oben dargelegte Vorstellung keine Geltung. Auch in solchen Fällen existiert „eine Konzentration, in welcher ein Maximum von Neutralteilchen vorhanden ist, das sowohl mittels der Viskosimetrie als auch der Alkoholfällung nachweisbar ist, allein dieser Punkt ist zum Unterschied von Pufferversuchen in hohem Maße von der Eiweißkonzentration abhängig“<sup>6)</sup>. In

<sup>1)</sup> Michaelis und Rona: Biochem. Zeitschr. **28**, 193 (1910) und Michaelis und Pechstein: Ebenda **47**, 260 (1912).

<sup>2)</sup> Pauli: Kolloidchemie und Eiweißkörper. S. 32.

<sup>3)</sup> Journ. general Physiol. **1**, 237 (1918—1919); Journ. Amer. chem. Soc. **44**, 213 (1922).

<sup>4)</sup> Journ. biol. chem. **35**, 127 (1918); vgl. auch Northrop: Journ. of general Physiol. **5**, 749 (1923).

<sup>5)</sup> Ergebn. d. Physiol. **12**, 503 (1912).

<sup>6)</sup> Kolloidchemie und Eiweißkörper, S. 34 ff.

solchen Fällen fällt das Maximum an Neutralteilchen nicht mit dem Punkte der isoelektrischen Überführung zusammen. Mit einer 1%igen Gelatin- oder Albuminlösung findet mit stärkeren Säuren symmetrische Kataphorese bei einer H-Ionenkonzentration statt, welche tief unter der mit Azetat-Essigsäure-Puffern erhaltenen liegt. Nach Pauli werden mit steigendem Säurezusatz positive Eiweißionen neu gebildet, wodurch die Säure gebunden wird.

Unter anderen hydrophilen Kolloiden ist auch das Glykogen bezüglich der Wanderungsrichtung untersucht worden. Gatin-Grużewska fand, daß dasselbe deutlich und regelmäßig zur Anode wandert; an der Kathode wird die Lösung völlig frei von Glykogen<sup>1)</sup>. Zur Anode wandern auch einer Angabe von Coehn zufolge Gerbsäure, Karamel und Stärke.

## Brownsche Bewegung.

Wenn man im Mikroskope kleine, in einer Flüssigkeit suspendierte Teilchen beobachtet, so findet man bisweilen, daß dieselben anstatt je nach seiner Dichte zu fallen oder steigen, ganz und gar unregelmäßige Bewegungen ausführen ohne jemals zu gänzlichem Stillstand zu kommen. Das Phänomen ist nach seinem Entdecker die Brownsche Bewegung genannt worden<sup>2)</sup>. Dieselbe ist auch bei den kolloiden Partikelchen zu beobachten. Bereits Linder und Picton beobachteten, daß kolloide Sulfidpartikel Bewegungen ausführen<sup>3)</sup>, und nach der Erfindung des Ultramikroskops ist man imstande gewesen, die Bewegung genauer zu studieren. Mit kolloidem Gold hat Zsigmondy beobachtet, daß die Bewegung nicht eine Folge von Konzentrationsänderungen durch Verdunstung sein kann und auch nicht von der Dauer und Intensität der Lichtbestrahlung. Kleine Partikelchen bewegen sich viel lebhafter als große; doch werden zuweilen auch große Teilchen angetroffen, welche sich lebhaft bewegen. Die Teilchen scheinen einander etwas zu beeinflussen, indem die Lebhaftigkeit der Bewegung durch Verdünnung der Goldlösung meist etwas abnimmt. Auch alte Goldlösungen können lebhaft Bewegungen zeigen<sup>4)</sup>. Svedberg konnte nachweisen, daß die Bewegung von Silberteilchen auch im isoelektrischen Punkt, wo keine Kataphorese stattfand und die Teilchen folglich ungeladen waren, völlig normal war. Der isoelektrische Zustand wurde durch allmähliches Hinzufügen von Aluminiumsulfat hergestellt (siehe weiter unten)<sup>5)</sup>.

Inzwischen hatte Einstein (und auch v. Smoluchowski) unter der Annahme, daß die Brownsche Bewegung eine Teilerscheinung der allgemeinen Bewegung der Teilchen der Materie ist, aus welcher z. B. der Gasdruck und der osmotische Druck hergeleitet werden können, eine Formel für dieselbe berechnet. Die Formel lautet:

$$\lambda_x = \sqrt{\tau} \cdot \sqrt{\frac{R \cdot T}{N} \cdot \frac{1}{3 \pi \cdot \eta \cdot P}},$$

wo  $\lambda_x$  die Projektion der mittleren Lageänderung eines Teilchens auf die x-Achse,  $\tau$  die Zeit der Lageänderung, R die Gaskonstante, T die absolute Temperatur, N die wirkliche Anzahl der Moleküle in einem Gram-Molekül,  $\eta$  die Viskosität des Mediums, P der Radius eines Teilchens und  $\pi$  die Kreiszahl bedeutet. Um die Gültigkeit der Formel zu prüfen und damit auch die molekularkinetische Grundlage derselben sind nun verschiedene Versuche ausgeführt worden. Svedberg hat die Lageänderung einzelner Partikelchen von derselben Größe zu bestimmten Zeiten photographisch registriert.

1) Pflügers Arch. **103**, 287 (1904).

2) Edinb. Phil. Journ. **5**, 358 (1828); **8**, 41 (1830).

3) Journ. chem. Soc. **61**, 148 (1892).

4) Zur Erkenntnis der Kolloide.

5) Studien zur Lehre der kolloiden Lösungen. Upsula 1907. S. 128.

Hier war außer R und N auch P eine konstante Größe, und, da die Temperatur konstant gehalten wurde, auch T und  $\eta$ . Folglich bekam obige Formel folgendes Aussehen:

$$\lambda_x = \text{konst.} \sqrt{\tau}.$$

Folgende Tabelle enthält einige Resultate von Svedbergs Messungen <sup>1)</sup>:

Zeit in Sek.	$\lambda_x$ beob. in $\mu$	$\lambda_x$ berechn. in $\mu$	Anzahl Einzelwerte von $\lambda_x$	
a	1	1,2	—	18
	2	1,6	1,7	17
	3	2,0	2,0	16
	4	2,4	2,4	15
	5	2,5	2,8	14
b	1	1,2	—	22
	2	1,5	1,6	21
	3	1,8	2,0	20
	4	2,4	2,3	19
c	1	4,0	—	49
	2	5,4	5,7	40
	3	6,2	6,9	35
	4	7,8	8,0	29

Zur selben Zeit wie Svedberg hat Perrin dieselbe Frage behandelt <sup>2)</sup>. Er führte Messungen über die Lageveränderungen von Gummigutti- und Mastixeteilchen aus. Die Stellung eines Körnchens wurde in der Hellkammer von  $\frac{1}{2}$  Minute zu  $\frac{1}{2}$  Minute markiert. Da in der Formel von Einstein  $\lambda_x$  und  $\tau$  aus den Messungen erhalten wurden, waren alle in der Formel vorkommenden Größen mit Ausnahme von N bekannt und N konnte folglich berechnet werden. In der Weise wurden mit sowohl Gummigutti- als Mastixeteilchen Werte für N erhalten (Mittelwert =  $70 \cdot 10^{22}$ ), welche mit auf andere Weise erhaltenen Zahlen leidlich übereinstimmen. Die Zahl N wird als die Avogadro'sche Konstante bezeichnet.

Auf Grund der Untersuchungen von Perrin und von Svedberg ist anzunehmen, daß die molekularkinetischen Anschauungen, worauf die Einsteinsche Formel sich gründet, ihre Gültigkeit besitzen auch für die Brownsche Bewegung, und daß also für die gleichförmigen Suspensionen in sehr verdünntem Zustande die Gasgesetze sich anwenden lassen.

## Zustandsänderungen der Kolloide, Adsorption.

Die Reaktionen, in welchen kolloide Stoffe teilnehmen, bieten manche Ähnlichkeiten mit Prozessen, welche zwischen fein verteilten festen Stoffen und gelösten Substanzen sich abspielen. Schon lange ist es bekannt, daß z. B. Kohle aus Lösungen färbende Stoffe aufnimmt. Für solche Prozesse wird der Name Adsorption benutzt. Mit dieser Terminologie haben wir also zwischen Adsorption und Absorption zu unterscheiden. Der Unterschied zwischen beiden Ausdrücken geht aus folgender Ausführung hervor.

Wenn in einem Systeme zwei räumlich voneinander unterschiedene Bestandteile (Phasen) vorhanden sind, z. B. zwei nicht miteinander mischbare Flüssigkeiten oder eine Flüssigkeit und ein festes Pulver, so können beim Zugabe eines neuen Stoffes verschiedene Fälle eintreffen, unter welchen wir besonders zwei ins Auge fassen wollen:

1. Der zugesetzte Stoff verteilt sich auf beide Phasen in der Weise, daß das Verhältnis zwischen dessen Konzentration in beiden dasselbe bleibt unabhängig von dessen Menge. Das klassische Beispiel dieses Falles ist die Verteilung von Bernsteinsäure zwischen Wasser und Äther, die von Berthelot

<sup>1)</sup> Koll. Zeitschr. 7, 1 (1910).

<sup>2)</sup> Kolloidchemische Beihefte 1, 221 (1910).

und Jungfleisch untersucht wurde<sup>1)</sup>. Sind  $c_1$  und  $c_2$  die Mengen Bernsteinsäure nach eingetretenem Gleichgewicht in 100 ccm Wasser bzw. Äther, so gilt also die Regel  $\frac{c_1}{c_2} = k$ , wo  $k$  eine Konstante bedeutet, die von der Totalmenge Bernsteinsäure unabhängig ist. Dasselbe Gesetz hat sich auch für die Verteilung eines Gases zwischen einer gasförmigen und einer flüssigen Phase bewährt (Henrys Absorptionsgesetz). Bei einer solchen Verteilung zwischen zwei Phasen spricht man von Absorption. In diesen Fällen fragt es sich um ein homogenes Durchdringen des absorbierenden Stoffes durch das absorbierte, und man sagt deshalb auch, daß die zugesetzte Substanz in den zwei Phasen aufgelöst ist.

2. Wenn kein homogenes Durchdringen stattfindet, spricht man dagegen von Adsorption. Es versteht sich von selbst, daß dies hauptsächlich bei der Aufnahme von gasförmigen oder aufgelösten Substanzen seitens fester Stoffe in Frage kommt. Es ist auch in solchen Fällen nicht ausgeschlossen, daß ein homogenes Durchdringen stattfinden kann, und es liegt in dem Falle eine sog. feste Lösung vor. Gewöhnlich geschieht aber die Aufnahme einer gelösten Substanz durch feste Stoffe, z. B. Kohle, in der Weise, daß aus einer schwachen Lösung prozentisch mehr aufgenommen wird als aus einer konzentrierten. Mit steigender Konzentration der Lösung nimmt die aufgenommene Menge prozentisch ab, aber in absolutem Maße zu, so daß die absolute aufgenommene Menge oft einem Maximum (Sättigungsgrenze) sich nähert.

Küster untersuchte die Aufnahme von Jod durch Stärke<sup>2)</sup>. Es stellte sich heraus, daß die Verteilung von Jod zwischen der Stärke und der Lösung durch die Formel  $c_1 = k \cdot c_2^{\frac{1}{10}}$  ausgedrückt werden konnte, wo  $c_1$  die Konzentration von Jod auf der Stärke und  $c_2$  die in der Lösung nach eingetretenem Gleichgewicht bedeutet<sup>3)</sup>. G. C. Schmidt untersuchte die Verteilung von Jod zwischen Kohle und Lösung und fand für diesen Prozeß die Formel  $c_1 = k \cdot c_2^{\frac{1}{4}}$ , wo wie oben  $c_1$  die Konzentration auf der festen Phase bedeutet<sup>4)</sup>. Appleyard und Walker haben die Aufnahme von organischen Säuren aus wäßrigen und alkoholischen Lösungen durch Seide studiert<sup>5)</sup>. Die Verteilung konnte durch eine Formel wiedergegeben werden, welche den eben angeführten ähnlich war. Überraschend ist es, daß die Verteilung von  $As_2O_3$  zwischen frisch gefälltem Eisenhydroxyd und Wasserlösung auch einer solchen Formel folgt. Dieses wurde zuerst von W. Biltz gefunden, der für die Verteilung die Formel  $c_1 = 0,631 \cdot c_2^{\frac{1}{5}}$  aufstellte, wo  $c_1$  die Konzentration von  $As_2O_3$  auf dem Eisenhydroxyd und  $c_2$  die in der Lösung bedeuten<sup>6)</sup>. Freundlich hat die Adsorption von hauptsächlich organischen Säuren und Halogenen aus verschiedenen Lösungsmitteln geprüft. Als Adsorptionsmittel (Adsorbens) wurde hauptsächlich Kohle angewandt<sup>7)</sup>.

<sup>1)</sup> Ann. chim. phys. **26**, 396 (1872).

<sup>2)</sup> Ann. Chem. Pharm. **283**, 360 (1894).

<sup>3)</sup> Vgl. indessen auch Euler und K. Myrbäck: Ark. f. kemi, Mineral. och Geol. (K. Svenska vetenskaps akad.) **8**, 1 (1921); A. Lottermoser: Zeitschr. Elektroch. **27**, 496 (1921); Euler und S. Bergmann: Koll. Zeitschr. **31**, 81 (1922); Euler und S. Landergren: Ebenda **31**, 89 (1922).

<sup>4)</sup> Zeitschr. physik. Chem. **15**, 56 (1894).

<sup>5)</sup> Journ. chem. Soc. **69**, 1334 (1896).

<sup>6)</sup> Ber. d. chem. Ges. **37**, 3138 (1904); auch Koll. Zeitschr. **7**, 273 (1911).

<sup>7)</sup> Kapillarchemie. Leipzig 1909.

Die Formel hat sich auch bei den Versuchen von Freundlich bewährt. Am meisten findet man dieselbe in folgender Form:

$$\frac{x}{m} = k \cdot c^{\frac{1}{n}} \dots 1.$$

Hier bedeutet  $x$  die Menge des adsorbierten Stoffes nach eingetretenem Gleichgewicht,  $m$  die Menge des Adsorbens (also  $\frac{x}{m}$  die „Konzentration“ des adsorbierten Stoffes auf dem Adsorbens) und  $c$  die Konzentration des nicht adsorbierten Anteils in der Lösung.  $k$  und  $n$  sind Konstanten, und zwar hat es sich herausgestellt, daß  $n$  für fast alle Substanzen  $> 1$  ist. Bezeichnet man mit  $a$  die Gesamtmenge gelöster und adsorbierter Substanz, so ist  $c = \frac{a-x}{v}$ , wo  $v$  das Volumen der Lösung bedeutet. Die obige Formel kann dann auch folgendermaßen geschrieben werden:

$$\frac{x}{m} = k \cdot \left( \frac{a-x}{v} \right)^{\frac{1}{n}} \dots 2.$$

Die Formel ist rein empirisch und besagt, daß eine gegebene Menge Adsorbens aus einer schwachen Lösung verhältnismäßig mehr aufnimmt als

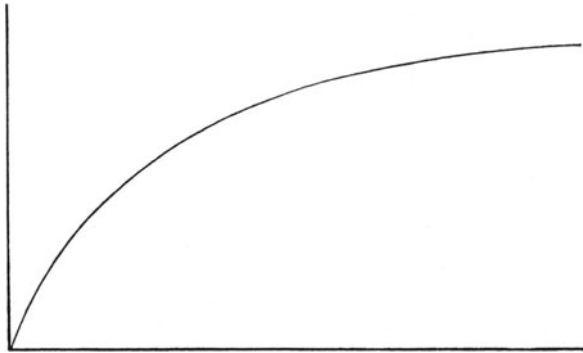


Fig. 2.

aus einer konzentrierteren. Graphisch läßt sich die Abhängigkeit der adsorbierten Menge von der Konzentration in der Lösung durch Fig. 2 wiedergeben, wo man sich die Werte von  $c$  auf der Abszisse und die von  $\frac{x}{m}$  auf der Ordinate abgesetzt denken muß.

Logarithmieren wir die obige Gleichung 1, so ergibt sich

$$\log \frac{x}{m} = \log k + \frac{1}{n} \cdot \log c \dots 3.$$

Da hier  $k$  und  $n$  Konstante sind, während  $\frac{x}{m}$  und  $c$  mit der Menge der zu adsorbierenden Substanz variieren, so müssen, wenn  $\log \frac{x}{m}$  und  $\log c$  auf die  $y$ - bzw.  $x$ -Achse eines Koordinatensystemes eingetragen werden, die Punkte, welche verschiedenen Konzentrationen entsprechen, auf einer geraden Linie liegen. Dies ist die einfachste und gewöhnlichste Weise, die Gültigkeit der Formel 1

für einen gegebenen Fall zu prüfen. Aus der Formel 3 geht hervor, daß  $\frac{1}{n}$  die Tangente des Winkels bedeutet, unter dem die Gerade die Abszisse schneidet, und  $\log k$  die Entfernung des Schnittpunktes vom Origo.

Bei der von Freundlich untersuchten Adsorption von kristalloiden Substanzen stellte sich die endgültige Verteilung der Substanzen zwischen der festen und der flüssigen Phase (oder das schließliche Gleichgewicht) rasch ein, und zwar wurde diese Verteilung dieselbe, gleichgültig ob die Substanz am Anfang in der flüssigen oder der festen Phase enthalten war. Kürzer wird dies so ausgedrückt, daß das Gleichgewicht rasch von beiden Seiten sich erreichen läßt. Dies bedeutet andererseits, daß der Prozeß leicht reversibel ist. Der Temperatureinfluß war bei Freundlichs Versuchen gering. Die Formel wurde ausreichend genug gefunden für verschiedene Lösungsmittel und auch für verschiedene adsorbierende Stoffe für den Fall, daß nur die Gesamtmenge der zu adsorbierenden Substanz variiert wurde. Später hat aber Morawitz gefunden, daß die Adsorptionsformel die tatsächlichen Verhältnisse nicht wiedergibt bei verhältnismäßig kleinen Mengen Adsorbens, daß vielmehr unter solchen Verhältnissen bisweilen mit unveränderter Anfangskonzentration der gelösten Substanz und abnehmenden  $m$ -Werten (oder, was auf dasselbe hinauskommt, mit unverändertem  $m$ -Wert und wachsendem  $c$ ) eine Abnahme der  $\frac{x}{m}$  Werte eintreten

kann, was mit der Formel unvereinbar ist<sup>1)</sup>. Die Alkalihaloide zeigen mit Holzkohle die Eigenschaft der negativen Adsorption aus wässrigen Lösungen, d. h. die Konzentration der Salze wird erhöht, wahrscheinlich infolge der Adsorption von Wasser seitens der Kohle<sup>2)</sup>.

Wenn Aminosäuren und Polypeptide durch Tierkohle adsorbiert werden, nähert sich die Adsorptionskurve nach Versuchen von Abderhalden und Fodor in ihrem ersten Verlauf einer Geraden, d. h. die Verteilung geschieht bei großem Überschuß an Adsorbens wie zwischen zwei Lösungsmitteln<sup>3)</sup>.

In Bezug auf die sog. substantive Färbung, d. h. diejenige, welche ohne Anwendung von Beizen stattfindet, ist nach zahlreichen Untersuchungen besonders von G. C. Schmidt<sup>4)</sup>, Appleyard und Walker<sup>5)</sup>, Georgievics<sup>6)</sup>, W. Biltz<sup>7)</sup>, Freundlich und Loser<sup>8)</sup>, Bayliss<sup>9)</sup>, Pelet und Grand<sup>10)</sup>, Pelet und Jolivet<sup>11)</sup>, Freundlich und A. Poser<sup>12)</sup> dargetan worden, daß dieselbe der Adsorptionsformel im allgemeinen folgt.

Die organischen Farbstoffe sind meistens hochmolekulare Verbindungen, unter welchen man insofern als sie in Wasser löslich sind, zwischen basischen und sauren unterscheidet. Die basischen Farbstoffe sind Salze von organischen Basen mit meist anorganischen Säuren. Die Basen werden in Lösung durch Gerbsäure gefärbt. Die sauren Farbstoffe sind Salze von organischen Säuren mit anorganischen Basen und werden nicht durch Gerbsäure gefällt.

<sup>1)</sup> Koll. chem. Beihefte **1**, 30 (1910).

<sup>2)</sup> Journ. chem. Soc. (London) **119/120**, 1278 (1921).

<sup>3)</sup> Fermentforschung **2**, 151 (1918; Koll. Zeitschr. **27**, 58 (1920).

<sup>4)</sup> Zeitschr. physik. Chem. **15**, 60 (1894).

<sup>5)</sup> Journ. chem. Soc. **69**, 1334 (1896).

<sup>6)</sup> Chemikerzeitung **26**, 139 (1902).

<sup>7)</sup> Ber. d. chem. Ges. **37**, 1772 (1904); **38**, 2963 (1905).

<sup>8)</sup> Zeitschr. physik. Chem. **59**, 284 (1907).

<sup>9)</sup> Biochem. Journ. **1**, 178 (1906).

<sup>10)</sup> Koll. Zeitschr. **2**, 41 (1907).

<sup>11)</sup> Ebenda **3**, 242 (1908).

<sup>12)</sup> Kolloidchem. Beih. **6**, 297 (1914).

In bezug auf die Natur der Wasserlösungen haben Freundlich und Neumann dieselben mit Rücksicht auf deren Diffusionsvermögen mit und ohne Membran sowie auf deren Verhalten unter dem Ultramikroskop folgende Klassen unterschieden <sup>1)</sup>:

A. Wahre Lösungen in Wasser bilden Chrysoidin, Bismarckbraun, Alizarinrot, Auramin, Pyronin, Fluoreszein, Eosin, Thionin, Methylenblau, Safranin, Magdalarot, Pikrinsäure, Rhodamin.

B. Halbkolloidale Lösungen in Wasser bilden Methylviolett, Kristallviolett, Fuchsin, Neufuchsin, Diamantfuchsin, Capriblau, Nilblau, Neutralrot.

C. Kolloide Lösungen in Wasser bilden Kongorot, Kongoechtblau, Benzopurpurin, Azoblau, Benzazurin, Diaminreinblau, wasserlösliches Anilinblau, Alkaliblau, wasserlösliches Indulin, Nachtblau.

Die letzte Klasse läßt sich wiederum in zwei Gruppen aufteilen, welche den Suspensionskolloiden und den Emulsionskolloiden entsprechen. Zu den Kennzeichen, welche diese zwei Gruppen unterscheiden und welche oben (S. 48) angeführt wurden, fügen Freundlich und Neumann noch, daß die Lösungen der Suspensionskolloide die gleiche Oberflächenspannung zeigen wie das Lösungsmittel, während die Emulsionskolloide die Oberflächenspannung erniedrigen. Aus dem Grunde wird z. B. das Kongorot in Wasserlösung zu den Suspensionskolloiden gerechnet und das Nachtblau zu den Emulsionskolloiden.

Wenn also die Salze der Farbstoffe in Wasserlösung zum Teil den Kristalloiden, zum Teil den Kolloiden zuzurechnen sind, so haben nach Michaelis die meisten Farbbasen und sehr viele Farbsäuren in freiem Zustande, soweit man sie überhaupt in wäßrige Lösung bringen kann, kolloiden Charakter <sup>2)</sup>.

Dem Gesagten zufolge kann die substantive Färbung nunmehr als ein Adsorptionsprozeß betrachtet werden. Es muß doch dabei bemerkt werden, daß diese Art von Adsorption in solchen Fällen, wo die Färbung waschecht ist, in einer wichtigen Beziehung von den bisher besprochenen Adsorptionsprozessen sich unterscheidet. Solche Färbungsprozesse sind nämlich nicht reversibel, da der Farbstoff nicht von der Faser entfernt werden kann. Dies liegt wahrscheinlich daran, daß die Farbstoffe zum großen Teil kolloide Stoffe sind, und auch wenn gewisse Farbstoffe in Wasserlösung als Kristalloide sich verhalten, liegt immerhin die Möglichkeit vor, daß dieselben auf der Faser ihre Natur ändern und wie Kolloide sich verhalten können. Hiermit hängt wahrscheinlich die Tatsache zusammen, daß bei der Färbung mit basischen Farbstoffen häufig eine Spaltung des Farbstoffes in Farbbase und Säure stattfindet, wobei die Farbbase von der Faser adsorbiert wird und die Säure nachher in der Lösung quantitativ nachgewiesen werden kann. Dies geschieht sowohl bei der Färbung von Faser <sup>3)</sup> wie bei der Aufnahme von Farbstoff seitens Kohle <sup>4)</sup>. Besonders anschaulich hat Michaelis die Aufnahme von Farbbase unter Zurücklassen der Säure mit eosinsaurem Methylenblau nachgewiesen <sup>5)</sup>. Wenn dieser Farbstoff auf Zellulose getropfelt wird, bildet sich ein rein mit Methylenblau gefärbtes Zentrum, während die Eosinsäure weiter diffundiert. Die freien Farbbasen sind, wie oben erwähnt wurde, entweder in Wasser unlöslich oder treten dieselben meistens als Kolloide auf, wodurch wahrscheinlich das Irreversibelwerden des Färbungsprozesses für gewisse Fälle erklärt werden kann. Das Irreversibelwerden des Färbungsprozesses oder die Verfestigung des Farbstoffes an der Faser bietet mancherlei Ähnlichkeiten mit der Art und Weise, in welcher andere kolloide Substanzen durch feste Stoffe aufgenommen werden und welche weiter unten besprochen werden.

<sup>1)</sup> Koll. Zeitschr. **3**, 80 (1908).

<sup>2)</sup> Hofmeisters Beitr. **8**, 38 (1906).

<sup>3)</sup> Knecht: Ber. d. chem. Ges. **21**, 1556 (1888).

<sup>4)</sup> Freundlich und Losev: Zeitschr. physik. Chem. **59**, 284 (1907).

<sup>5)</sup> Pfügers Arch. **97** (1903).



Unter dem Namen „anomale Adsorption“ haben Biltz und Steiner eine Erscheinung besprochen, welche bei der Adsorption von den basischen Farbstoffen Nachtblau und Viktoriablau in nicht dialysierter Form beobachtet wurde und darin bestand, daß bei unveränderter Menge Adsorbens und Anwendung von schwachen Farbstofflösungen die aufgenommene Menge anfangs normal mit der Konzentration der Farbstofflösung wuchs, aber dann in stärkeren Lösungen deutlich abnahm<sup>1)</sup>. Auch andere Beobachtungen, nämlich von Frenlich<sup>2)</sup> und von W. Biltz und E. Marcus<sup>3)</sup> geben ähnliche abnorme Adsorptionskurven. Vgl. auch die S. 71 besprochenen Versuche von Morawitz. Diese Erscheinung führen Biltz und Steiner auf eine hydrolytische Spaltung des zu adsorbierenden Stoffes zurück, während A. Lottermoser, der ein ähnliches Verhalten bei der Adsorption von Jodkalium durch Jodsilber observierte, als Ursache eine Zunahme der Teilchengröße also eine Abnahme der Gesamtoberfläche des adsorbierenden Jodsilbers erkannte<sup>4)</sup>. Nach Bayliss sind die anwesenden Salze für die anomale Adsorption verantwortlich<sup>5)</sup>. Die Adsorption von Farbstoffen beruht nämlich nach Bayliss auf dem Ausgleich entgegengesetzter elektrischer Ladungen. Die elektronegative Faser adsorbiert die elektropositive Farbbase. Wird aber die elektrische Ladung der Faser durch die Aufnahme des Kations eines anwesenden Elektrolyts vermindert, so geht die Adsorption zurück. Da nun die zugesetzte Salzmenge für konzentriertere Farbstofflösungen größer ist als für verdünnte, so wird die Salzwirkung im ersten Falle deutlicher als im letzteren.

Ein anderer industrieller Prozeß, bei welchem Adsorptionserscheinungen mitwirken, ist die Gerbung. Stiasny hat zuerst darauf hingewiesen<sup>6)</sup>. Bei der Gerbung hat man von kolloid-chemischem Standpunkte drei Vorzüge zu unterscheiden:

1. Die Verwandlung der Haut in Blöße, d. h. die gereinigte, enthaarte, für die Gerbung vorbereitete Haut. Dieser Prozeß besteht theoretisch in der Ausgestaltung der Lederhaut zu einem besonders adsorptionskräftigen Gel.

2. Der eigentliche Gerbprozeß. Bei diesem werden die Gerbstoffe (Tannin, Salze von Chrom, Aluminium oder Eisen aus ihren kolloiden Lösungen durch die Haut adsorbiert.

3. Dann wird der adsorbierte Gerbstoff sekundär verändert, wobei er unlöslich wird und der Gerbvorgang irreversibel sich gestaltet.

Die Aufnahme des Gerbstoffes durch Hautpulver folgt, wie Untersuchungen von v. Schröder gezeigt haben, der Adsorptionsformel<sup>7)</sup>.

Von kolloidchemischem Standpunkte aus betrachtet würden also die Färbung und die Gerbung analoge Prozesse sein.

Die physikalisch-chemischen Prozesse der Färbung sind oben etwas eingehend behandelt worden, weil dieselben besser bekannt sind als ähnliche Prozesse, welche für den physiologischen Chemiker von ungemein größerer Bedeutung sind. Hierher gehört die Aufnahme von Eiweißkörpern seitens fein pulverisierter fester Stoffe, welche bei vielen Pulvern beobachtet worden ist. Landsteiner und Uhlirz haben bereits Messungsreihen über die Aufnahme von Euglobulin und anderen Eiweißkörpern durch Kaolin ausgeführt<sup>8)</sup>. Bei der Adsorption von Euglobulin war die Aufnahme mit zunehmender Konzentration der Euglobulinlösung absolut gesteigert, aber relativ vermindert.

<sup>1)</sup> Koll. Zeitschr. **7**, 113 (1910).

<sup>2)</sup> Zeitschr. physik. Chem. **73** (1910).

<sup>3)</sup> Zeitschr. anorg. Chem. **64** (1909).

<sup>4)</sup> Koll. Zeitschr. **9**, 135 (1911).

<sup>5)</sup> Ebenda **8**, 2 (1910).

<sup>6)</sup> Ebenda **2**, 257 (1908).

<sup>7)</sup> Koll. chem. Beihefte **1**, 1 (1909).

<sup>8)</sup> Zentralbl. Bakteriöl. **40**, 266 (1905).

Euglobulin, Pseudoglobulin und Albumin wurden durch Kaolin in demselben Maße adsorbiert, in dem sie durch  $\text{Am}_2\text{SO}_4$  gefällt wurden. Michaelis und Rona haben mehrere Beobachtungen gemacht über die Entfernung von Eiweiß aus Lösungen durch fein verteilte feste Stoffe (Kohle, Eisenhydroxyd, Kaolin)<sup>1)</sup> oder in der Flüssigkeit ausgefällte, suspendierte Stoffe (Mastix)<sup>2)</sup>. Mit Hilfe großer Mengen solcher Stoffe läßt sich z. B. aus dem Blutserum das Eiweiß quantitativ entfernen. Der Prozeß ist bei geeigneter Reaktion praktisch irreversibel, und zwar gilt dies sowohl für den Fall, daß genuines Eiweiß aufgenommen wird wie für den Fall, daß die nächsten Spaltungsprodukte desselben, die Albumosen zur Adsorption gelangen. Wir finden also hier dieselbe Verfestigung des adsorbierten Stoffes auf dem Adsorbens, wie wir oben beim Färbungsprozeß und bei der Gerbung besprochen haben. Daß die durch Mastix in irreversibler Weise aufgenommenen Albumosen nicht zerstört sind, geht daraus hervor, daß dieselben beim Auflösen des Harzes in Chloroform zum Teil wiedergewonnen werden. Ein anderer Teil geht aber mit dem Mastix in Lösung, was auf eine eigenartige Veränderung hindeutet, da Albumosen normal nicht in Chloroform löslich sind.

W. Biltz hat Bestimmungen über die Aufnahme von Eiweiß durch das Hydrogel von Eisenoxyd, Zellulose und Kaolin ausgeführt<sup>3)</sup>. Die erhaltenen Kurven zeigen vielerlei Ähnlichkeit mit Adsorptionskurven. Der Prozeß ist nach Biltz ein kontinuierlich in Abhängigkeit von der Konzentration der Lösung verlaufender Adsorptionsvorgang, der nur unvollkommen reversibel ist. Anwesende Salze sind nicht von sehr erheblichem Einfluß. Freundlich und A. Poser, welche die Adsorption von kolloidem Arsentrisulfid und Eisenhydroxydol seitens Tonerde, Bolus und Blutkohle untersuchten, fanden, daß die oben gegebene Adsorptionsformel in diesem Falle nicht gilt, sondern daß die reagierenden Stoffe unabhängig von der Wassermenge und den vorhandenen Proportionen annähernd in konstanten Verhältnissen sich verbinden<sup>4)</sup>.

Unter anderen Prozessen, welche als Adsorptionsvorgänge aufzufassen sind, sei die Aufnahme von  $\text{HgCl}_2$  seitens Blutkörperchen erwähnt. Morawitz fand, daß diese Aufnahme durch die Adsorptionsformel ausgedrückt wird<sup>5)</sup>, und in Anschluß zu der starken Adsorbierbarkeit von  $\text{HgCl}_2$  entwickelt Morawitz eine Theorie, nach welcher die Wirkung von Protoplasmagiften an deren Adsorbierbarkeit liegen soll<sup>6)</sup>. Zu ähnlichen Resultaten sind in bezug auf die Giftigkeit von Seewasser für gewisse Tiere Wo. Ostwald und Dernoscheck gekommen<sup>7)</sup>. Etwa dieselbe Ansicht mit Rücksicht auf den Mechanismus der Desinfektion hat auch Bechhold ausgesprochen, wobei er sich auf die Beobachtung Freundlichs<sup>8)</sup> stützt, daß die Gegenwart von Phenylgruppen sowie von Halogenen in einer Substanz deren Adsorption begünstigen, während Sulfogruppen schwach adsorbiert werden<sup>9)</sup>. In der Tat haben Ehrlich und Bechhold durch Häufung von Phenylgruppen Stoffe von sehr starker Desinfektionswirkung erzielt und gerade die Einführung von Halogenen hat diese

<sup>1)</sup> Biochem. Zeitschr. 5, 365 (1907).

<sup>2)</sup> Biochem. Zeitschr. 2, 219 (1906); 3, 109; 4, 11 (1907).

<sup>3)</sup> Ebenda 23, 27 (1910).

<sup>4)</sup> Kolloidchem. Beihefte 6, 297 (1914).

<sup>5)</sup> Koll. Zeitschr. 6, 259 (1910).

<sup>6)</sup> Koll. chem. Beihefte 1, 317 (1910).

<sup>7)</sup> Koll. Zeitschr. 6, 297 (1910).

<sup>8)</sup> Über die Adsorption in Lösungen. Leipzig 1906. S. 61.

<sup>9)</sup> Bechhold: Koll. Zeitschr. 5, 22 (1909).

Wirkung sehr verstärkt. Dabei wurde auch gefunden, daß die Einführung der Sulfogruppe die Desinfektionswirkung außerordentlich herabsetzt<sup>1)</sup>. Dem gegenüber hebt Reichel hervor, daß die Verteilung von Phenol zwischen Wasser und Eiweiß ein konstantes Verhältnis aufweist, wie bei den Lösungen der Fall ist, daß also das Phenol bei der Desinfektion in der festen Phase (Bakterien) aufgelöst sein kann und daß folglich keine Adsorptionserscheinung in diesem Falle vorzuliegen braucht<sup>2)</sup>. In bezug auf die Frage nach der Desinfektion sei ferner bemerkt, daß nach R. O. Herzog und R. Betzel Silbernitrat und Chloroform durch Hefe nach der Adsorptionsformel aufgenommen werden<sup>3)</sup>. Dieselben haben außerdem noch gefunden, daß die Aufnahme seitens Hefezellen von Sublimat und Phenol innerhalb gewisser Grenzen der Adsorptionsformel folgt<sup>4)</sup>. Es scheint nach dem Gesagten sehr wahrscheinlich, daß das erste Stadium der Desinfektion, bei welchem die Mikroben das Gift aufnehmen, einen Adsorptionsprozeß darstellt. Wenn dies der Fall ist, dann muß man auch erwarten, daß die Desinfektion aufgehoben oder jedenfalls vermindert werden muß durch andere Substanzen, welche wie die Mikroben auch das Gift aufzunehmen vermögen. Mit Rücksicht hierauf sind Versuche von Bechhold und Ehrlich zu erwähnen, nach welchen gewisse Bakteriengifte auf Bouillonkulturen kräftig wirkten, aber auf Serumkulturen fast wirkungslos waren. Dies war z. B. der Fall mit Tetrachlor-o-Biphenol<sup>5)</sup>. Später konnte Bechhold durch Filtrationsversuche zeigen (S. 57), daß ein Filter, das die Eiweißkörper des Serums vollkommen zurückhielt aber das Desinfiziens in wäßriger Lösung durchließ, nur einem geringen Teil von dem Desinfiziens den Durchgang gewährte, wenn dasselbe im Serum aufgelöst war. Das Bakteriengift war durch die das Filter nicht durchdringende Bestandteile des Serums aufgenommen worden<sup>6)</sup>. Mehrere Beispiele ähnlicher Prozesse sind später von Bechhold und R. Reiner ausgeführt worden<sup>7)</sup>.

Durch ultramikroskopische Beobachtungen der Lösungen der sog. Lipide in organischen Lösungsmitteln, sowie durch Bestimmung des Dampfdruckes der Lösungen kommt Loewe zu dem Schluß, daß die sog. Lipide im allgemeinen in den genannten Lösungsmitteln als Kolloide sich verhalten. Eine Ausnahme bildet besonders das Cholesterin, welches mindestens zum Teil echt gelöst zu sein scheint. Die als Kolloide gelösten Substanzen (Kephalin, Cerebrosid, „Restlipide“) nehmen aus einer wäßrigen Lösung Methyleneblau nach der Adsorptionsformel auf. Andererseits ist mindestens beim Kephalin die Adsorption von der Menge des als Dispersionsmittel für das Kephalin benutzten Chloroforms unabhängig<sup>8)</sup>. Der Prozeß war reversibel, was wahrscheinlich mit der Tatsache zusammenhängt, daß das Methyleneblau in Wasser eine echte Lösung bildet.

### Adsorption aus einer Lösung mehrerer Stoffe.

Hierüber liegen Untersuchungen von Michaelis und Rona vor, welche Forscher die gleichzeitige Adsorption von Essigsäure und Azeton an Kohle

<sup>1)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. **47**, 173 (1906).

<sup>2)</sup> Biochem. Zeitschr. **22**, 149 (1909).

<sup>3)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. **67**, 309 (1910).

<sup>4)</sup> Ebenda **74**, 221 (1911).

<sup>5)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. **47**, 173 (1906).

<sup>6)</sup> Zeitschr. physik. Chem. **60**, 316 (1907).

<sup>7)</sup> Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **96**, 17 (1922).

<sup>8)</sup> Biochem. Zeitschr. **42** (1912).

studierten<sup>1)</sup>. Die Adsorption einer der beiden Stoffe wurde einerseits ohne die Gegenwart des anderen bestimmt, andererseits in Anwesenheit desselben. Es stellte sich heraus, daß einer der zwei Stoffe stets einen Teil des anderen von der Oberfläche der Kohle verdrängt, und zwar war die verdrängende Wirkung des einen Stoffes auf eine gegebene Menge des anderen um so größer, je mehr vom ersteren zugegen war. Die verdrängende Wirkung sowie die Adsorption selbst wächst mit zunehmender Substanzmenge zunächst bedeutend, dann immer weniger. Die verdrängende Wirkung äquivalenter Mengen homologer Alkohole auf eine gegebene Menge Essigsäure stieg mit zunehmendem Molekulargewicht.

Über die gleichzeitige Adsorption verschiedener Stoffe haben auch Freundlich und Masius Messungen ausgeführt<sup>2)</sup>. Diese Forscher prüften mit Kohle Mischungen von Oxalsäure und Bernsteinsäure sowie von Oxalsäure und Benzoesäure. Die zwei ersten Säuren unterscheiden sich nur wenig voneinander in ihrer Adsorbierbarkeit, während von den zwei letzteren, wenn sie einzeln zugegen sind, die Benzoesäure viel stärker adsorbiert wird als Oxalsäure. Es ergab sich bei gleichzeitiger Adsorption folgendes: Die Einstellung des Gleichgewichtes erfolgt in kurzer Zeit. Die im Adsorptionsgleichgewicht aufgenommenen Säuremengen verhalten sich etwa wie die Adsorbierbarkeit der beiden Säuren, wenn sie in Lösung allein vorhanden sind. In dem Falle Oxalsäure-Bernsteinsäure wird also, wenn die beiden Säuren in äquivalenten Konzentrationen vorhanden sind, etwa äquivalente Mengen adsorbiert. Dagegen verdrängt die Benzoesäure sehr stark die Oxalsäure, da die Benzoesäure in reiner Lösung stärker adsorbiert wird als die Oxalsäure. Im Falle Oxalsäure-Bernsteinsäure verdrängt die in größeren molekularen Konzentrationen vorhandene Säure sehr merkbar die andere. In der Mischung Oxalsäure-Benzoesäure wird erstere erheblich verdrängt, auch wenn ihre Konzentration die der letzteren stark überwiegt. Für den Stoff, dessen Adsorption durch die Gegenwart des anderen nur wenig gestört wird, gilt die Adsorptionskurve noch weitgehend; ebenso gilt sie, wenn zwei etwa gleich stark adsorbierbare Stoffe in etwa äquivalenten Konzentrationen anwesend sind. Rona und v. Tóth fanden, daß der Traubenzucker von der Kohleoberfläche durch verschiedene Urethane verdrängt wird, und daß die homologen Urethane hierbei um so wirksamer waren, je mehr dieselben die Oberflächenspannung des Wassers erniedrigen<sup>3)</sup>.

In diesem Zusammenhange mag auf die analogen Versuche von Hedin hingewiesen werden, bei welchen durch Kohle adsorbierte Enzyme durch andere Stoffe von der Kohleoberfläche verdrängt und folglich in aktive Form überführt wurden (Kap. 4).

## Theoretisches über die Adsorption.

Da wir nun zur Besprechung der theoretischen Unterlage der Adsorptionserscheinungen übergehen, so mag zunächst daran erinnert werden, daß der oben angeführte mathematische Ausdruck, an dem die Adsorptionserscheinungen mehr oder weniger sich anpassen, rein empirischer Natur ist und gar nichts über die theoretische Erklärung der Adsorptionsphänomene aussagt. In bezug hierauf sei sofort gesagt, daß irgendwelche befriedigende und leicht verständ-

<sup>1)</sup> Biochem. Zeitschr. **15**, 202 (1908).

<sup>2)</sup> van Bemmelen's Gedenkboek 1910. S. 88.

<sup>3)</sup> Biochem. Zeitschr. **64**, 288 (1914).

liche Erklärung noch nicht gegeben worden ist. Zunächst ist klar, daß es mindestens für solche Fälle, wo die Formel  $\frac{x}{m} = k \cdot c^{\frac{1}{n}}$  gültig ist und  $n > 1$ , nicht um eine Auflösung der adsorbierten Substanz die Frage sein kann, weil in dem Falle die Formel die Form  $\frac{x}{m} = k \cdot c$  annehmen würde (S. 69).

Um eine salzartige Verbindung zwischen dem Adsorbens und dem adsorbierten Stoff kann es auch nicht sich handeln. Einmal ist es höchst unwahrscheinlich und ohne Beispiel, daß z. B. Kohle, die zu den kräftigsten Adsorbentien gehört, Salze bildet, und zweitens fehlt die erste Bedingung, welche man bei den Salzen erfüllt zu finden gewohnt ist, besonders wenn dieselben, wie es hier der Fall ist, in fester Form vorhanden sind, nämlich konstante Proportionen zwischen den Bestandteilen. Zwar könnte man sich denken, daß die Verbindung in irgendwelcher Weise dissoziiert wäre, in welchem Falle konstante Proportionen nicht vorhanden zu sein brauchten. Einer solchen Auffassung steht wiederum die Adsorptionsformel in dem Wege. Für die reversiblen Adsorptionsprozesse (Adsorption von Kristalloiden) müßte dann die Formel der Gleichgewichtslage entsprechen. In dem Falle von Eisenhydroxyd und  $As_2O_3$  würde die molekulare Konzentration von  $As_2O_3$  auf dem Eisenhydroxyd ( $c_1$ ) und in der Lösung ( $c_2$ ) durch die Formel  $c_1^5 = 0,631 \cdot c_2$  verbunden sein (S. 70). Dies würde bedeuten, daß 5 Moleküle der Eisenhydroxyd- $As_2O_3$ -Verbindung unter Bildung von einem Moleküle  $As_2O_3$  dissoziiert werden, was wohl sehr unwahrscheinlich ist. Dann müßte als Faktor neben  $c_2$  die molekulare Konzentration des freien Eisenhydroxyds in der Formel auch vorhanden sein. Wenn die Reaktionsformel  $a + b = ab$  wäre, dann müßte nämlich das Gleichgewicht durch die Formel  $[a] \cdot [b] = k [ab]$  angegeben sein, wo die eingeklammerten Buchstaben die molekularen Konzentrationen der Stoffe  $ab$ ,  $a$  und  $b$  bedeuten. Hierzu kommt noch, daß viele Adsorptionsprozesse, nämlich diejenigen, bei welchen kolloide Substanzen adsorbiert werden, nicht oder nur unvollständig reversibel sind. Die Formel des Gleichgewichtes nach dem Massenwirkungsgesetz setzt aber im voraus, daß die Reaktion in beiden Richtungen vor sich gehen kann. Das Gleichgewicht ist erreicht, wenn der in der einen Richtung stattfindende Umsatz dem Umsatz in der entgegengesetzten Richtung gleich ist. Nun geht aber die Adsorption kolloider Substanzen nur in einer Richtung und von irgendwelchem Gleichgewicht kann folglich nicht gesprochen werden.

Nach allem dem können folglich die Adsorptionerscheinungen weder auf Lösung noch auf gewöhnlichen chemischen Prozessen beruhen. Gewöhnlich nimmt man an, daß dieselben durch Oberflächenkräfte hervorgerufen werden, welche an der Berührungsfläche zweier Phasen eines Systemes auftreten. Hierauf haben bereits mehrere Forscher hingewiesen, wie G. C. Schmidt<sup>1)</sup>, J. Traube<sup>2)</sup>, Freundlich<sup>3)</sup> u. a.

In Anlehnung an die Ausführungen, welche S. 28 ff. in Zusammenhang mit Traubes Theorie über den Haftdruck gemacht wurden, sei hier nur daran erinnert, daß an der Berührungsfläche zwischen einem festen Körper und einer Flüssigkeit eine Oberflächenspannung besteht, welche als positiv anzusehen ist, d. h. dieselbe strebt die Berührungsfläche zu vermindern. Die hierdurch

<sup>1)</sup> Zeitschr. physik. Chem. **15**, 56 (1894).

<sup>2)</sup> Literatur Fußnote 2, S. 31.

<sup>3)</sup> Kapillarchemie, Leipzig 1909.

bedingte Oberflächenenergie ist das Produkt der Oberflächengröße und der Oberflächenspannung. Als potentielle Energie strebt dieselbe einem Minimum zu, d. h. dieselbe sucht solche Veränderungen im System hervorzurufen, wodurch entweder die Oberflächenspannung oder die Größe der Berührungsfläche der zwei Phasen vermindert werden kann.

Ist nun die eine Phase ein in einer Flüssigkeit suspendiertes Pulver oder kolloide Partikelchen, so kann, worauf wir weiter unten zurückkommen werden, die Berührungsfläche dadurch vermindert werden, daß kleinere Partikelchen zu größeren sich vereinigen, wodurch Fällungserscheinungen hervortreten. Wenn aber die Zahl der Partikelchen und damit auch die Berührungsfläche der zwei Phasen unverändert bleibt, so kann die Oberflächenenergie nur durch Reduktion der Spannung an der Berührungsfläche vermindert werden. Wird daher die Spannung mit steigender Konzentration einer in der Flüssigkeit aufgelösten Substanz vermindert, so wird diese Substanz bestrebt sein, sich in der Berührungsfläche in größerer Konzentration anzusammeln als in anderen Teilen der Flüssigkeit [Ostwald<sup>1)</sup>, Freudenreich<sup>2)</sup>]. Dies wäre also die Ursache dazu, daß die gelöste Substanz durch das feste Pulver aufgenommen wird. Daß aus einer schwachen Lösung verhältnismäßig mehr Substanz aufgenommen wird als aus einer konzentrierten, würde daran liegen, daß geringe Mengen die Spannung an der Berührungsfläche relativ stärker erniedrigen als größere Mengen. Der Oberflächenenergie entgegen wirkt offenbar der osmotische Druck der Lösung, der die Homogenität der Lösung zu bewahren bestrebt ist. Bestimmend für die Adsorption ist also die Frage, ob die zu adsorbierende Substanz die Oberflächenspannung zwischen dem festen Pulver und das reine Lösungsmittel erniedrigt oder nicht. Wird die fragliche Spannung erniedrigt, erfolgt Adsorption, sonst nicht. Nun weiß man aber von der Oberflächenspannung fest-flüssig nur so viel, daß dieselbe positiv ist, aber sonst große Unterschiede aufweisen kann [Ostwald<sup>3)</sup>, Hulett<sup>4)</sup>]. Da man also die Oberflächenspannung fest-flüssig nicht messen kann, hat Traube versucht, für dieselbe die Oberflächenspannung der Lösung gegen Luft, welche für Messungen zugänglich ist, einzuführen (S. 31). Wie wir gefunden haben, werden gewisse Substanzen, welche die Oberflächenspannung gegen Luft erniedrigen, stark adsorbiert; aber für andere Fälle besteht keine solche Parallelität.

Da die Oberflächenenergie das Produkt aus Oberflächengröße und Oberflächenspannung ist, wird es nach dieser Theorie leicht erklärlich, daß feine Pulver und kolloide Substanzen, welche gegen die Umgebung eine große Oberfläche besitzen, ceteris paribus ein großes Adsorptionsvermögen besitzen müssen. Hieraus folgt, daß dasselbe Adsorbens je nach dessen verschiedenem physikalischem Zustande (Körnchengröße oder Oberflächengröße) ein verschiedenes Adsorptionsverhalten zeigen muß.

Neben der Oberflächenspannung kommt noch die elektrische Ladung der festen Partikel und der zu adsorbierenden Substanzen für die Adsorption mit in Betracht. In gewissen Fällen hat es sich nämlich herausgestellt, daß entgegengesetzt geladene feine Partikelchen miteinander sich verbinden können. Michaelis und Rona unterscheiden sogar zwischen mechanischer und

<sup>1)</sup> Lehrb. der anorg. Chem. 2. Aufl. 1906, 2. Bd. 3. Teil, S. 237.

<sup>2)</sup> Über die Adsorption in Lösungen, S. 50—51.

<sup>3)</sup> Zeitschr. physik. Chem. **34**, 495 (1900).

<sup>4)</sup> Ebenda **37**, 385 (1901).

elektrochemischer Adsorption<sup>1)</sup>. Die Stoffe, welche mechanisch adsorbiert werden, erniedrigen die Oberflächenspannung des Wassers gegen Luft (Ausnahme Zucker)<sup>2)</sup>; die mechanische Adsorption soll, mindestens wenn echt gelöste Stoffe adsorbiert werden, reversibel sein und folglich zu einem wahren Gleichgewicht führen; ferner kann ein mechanisch adsorbierter Stoff durch einen anderen verdrängt werden. Zu den Substanzen, welche elektrochemisch adsorbiert werden, gehören eiweißartige Körper und Farbstoffe, welche irreversibel adsorbiert werden sollen. Bei der elektrochemischen Adsorption, welche zum Beispiel stattfinden kann, wenn Kaolin (elektronegativ) oder Eisenhydroxyd (elektropositiv) als Adsorbentien angewandt werden, ist ferner die Reaktion der Lösung von Bedeutung<sup>3)</sup>. Kohle soll mechanisch adsorbieren und diese Adsorption wird, wenn Kolloide adsorbiert werden, sehr oft irreversibel (z. B. die Adsorption von Farbstoffen und von Eiweißkörpern). Überhaupt dürfte es auch gegenwärtig schwierig sein einen konsequenten Unterschied zwischen mechanischer und elektrochemischer Adsorption durchzuführen. Daß bei der Adsorption eine hydrolytische Zerlegung der zu adsorbierenden Substanz in Base und Säure stattfinden kann, wonach nur die eine adsorbiert wird, ist bereits erwähnt (S. 72)<sup>4)</sup>. Näheres über die durch Ausgleich entgegengesetzter elektrischer Ladungen bewirkten Fällungserscheinungen kolloider Substanzen ist aus folgendem Abschnitt zu ersehen.

### Ausfällung der Suspensionskolloide.

Zunächst mag daran erinnert werden, daß die Suspensionskolloide sehr unbeständige Sole oder disperse Systeme bilden. Dieselben können sogar spontan ohne jedes Hinzutun ausflocken. Mit Rücksicht auf die fällenden kristalloiden Substanzen kann hervorgehoben werden, daß Nicht-Elektrolyte verhältnismäßig unwirksam sind bei der Ausfällung von allen Arten von Kolloiden. Dagegen sind mindestens für die Suspensionskolloide die Elektrolyte vortreffliche Fällungsmittel, was darauf hinweist, daß die elektrischen Kräfte in irgendwelcher Weise bei den Fällungserscheinungen mitspielen. Die hierbei stattfindende Zustandsänderung — sehr oft Ausflockung genannt — kann nicht durch Entfernung des Fällungsmittels rückgängig gemacht werden; der Fällungsprozeß ist folglich irreversibel. Das Ausflockungsvermögen eines Elektrolyts wird in der Weise bestimmt, daß die schwächste Konzentration — in Millimole (= 0,001 Grammolekül) pro Liter ausgedrückt — bestimmt wird, welche eben genügt um innerhalb einer gegebenen Zeit eine sichtbare Ausflockung hervorzurufen. Hierbei ist zu bemerken, daß auch die Konzentration des Kolloids von Bedeutung sein kann, insofern als eine konzentrierte Lösung unter sonst gleichen Umständen oft leichter Ausflockung ergibt als eine verdünnte. So ist z. B. die schwächste ausflockende Konzentration von NaCl in bezug auf Mastixsuspensionen annähernd umgekehrt proportional der Dichte der Suspension, die von HCl aber innerhalb weiter Grenzen von der Dichte der Suspension unabhängig<sup>5)</sup>. Auch scheint es von Bedeutung zu sein, ob das Fällungsmittel

<sup>1)</sup> Biochem. Zeitschr. **15**, 196 (1908).

<sup>2)</sup> Ebenda **16**, 489 (1909).

<sup>3)</sup> Biochem. Zeitschr. **25**, 359 (1910).

<sup>4)</sup> Siehe ferner über derartige Fragen Michaelis und Rona: Biochem. Zeitschr. **97**, 57 (1909), **162**, 268 (1920).

<sup>5)</sup> Michaelis, Pincussohn und Rona: Biochem. Zeitschr. **6**, 1 (1907).

auf einmal oder in Fraktionen zugegeben wird. Wie nämlich Freundlich<sup>1)</sup> mit gewissen Suspensionskolloiden sowie Höber und Gordon<sup>2)</sup> mit Eiweiß gefunden haben, ist das fällende Vermögen einer Substanz geringer, wenn dieselbe langsam zugegeben wird, als wenn die ganze Menge auf einmal hinzugefügt wird. Im allgemeinen sind für die Ausflockung von Suspensionskolloiden sehr geringe Elektrolytmengen erforderlich.

Zuerst hat Hardy auf die Tatsache hingewiesen, daß bei der Ausflockung anodisch wandernder (negativer) Kolloide das Kation (positive Ion) des fällenden Elektrolyts die Hauptrolle spielt und bei kathodisch wandernden (positiven) Kolloiden das Anion (negative Ion), ohne daß der Einfluß des Anions im ersten Falle und des Kations im letzten zu vernachlässigen wäre<sup>3)</sup>. Diese Regel wird durch folgende Tabellen von Hardy über die ausflockende Konzentration von verschiedenen Säuren auf einerseits das elektronegative Mastix, andererseits das positive Eisenhydroxyd beleuchtet. Da die Leitfähigkeit der Säuren praktisch der Konzentration der H-Ionen proportional ist, folgt aus der ersten Tabelle, daß Mastix etwa bei der gleichen Konzentration der H-Ionen gefällt wird, woraus andererseits zu schließen ist, daß diese Ionen die bei der Ausflockung wirksamen sind. Aus der zweiten Tafel ergibt sich, daß Eisenhydroxyd bei Konzentrationen der H-Ionen gefällt wird, welche sehr große Unterschiede aufweisen, und diese Ionen können folglich nicht die Hauptrolle bei der Ausflockung spielen.

Mastix (negativ).		
Ausflockende	Konzentration	Leitfähigkeit $\times 10^{13}$
735,3	Millimole Essigsäure	12,6
9,09	„ $\frac{1}{2}$ Oxalsäure	14,4
4,35	„ $\frac{1}{2}$ H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	13,2
3,85	„ HCl	14,5
3,85	„ HNO <sub>3</sub>	14,3
Eisenhydroxyd (positiv).		
2	Millimole $\frac{1}{2}$ Oxalsäure	3,4
2	„ $\frac{1}{2}$ H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	6,8
555,5	„ HCl	1650
500	„ HNO <sub>3</sub>	1589

In diesem Zusammenhang soll eine Beobachtung von Linder und Picton besprochen werden, nach welcher bei der Fällung von As<sub>2</sub>S<sub>3</sub> mit Hilfe von BaCl<sub>2</sub> Baryum in den Flocken enthalten blieb, während in der Lösung eine entsprechende Menge HCl zurückgelassen wurde<sup>4)</sup>. Das Baryum kann aus dem Niederschlag nicht ausgewaschen werden, wohl aber durch Behandeln mit z. B. CaCl<sub>2</sub> gegen Ca ausgewechselt werden. Nach Versuchen von Whitney und Ober wird beim Ausflocken von As<sub>2</sub>S<sub>3</sub> mit Hilfe von KCl, CaCl<sub>2</sub>, SrCl<sub>2</sub>, BaCl<sub>2</sub> das entsprechende Kation im Niederschlage zurückgehalten und zwar in etwa äquivalenten Mengen<sup>5)</sup>. Beim Ausflocken eines positiven Sols wird entsprechend Anion mitgefällt (Linder und Picton). Indessen sind alle Ionen der gleichen elektrischen Ladung unter sich als fällungserregende Faktoren nicht gleichwertig. Einmal ist nach Freundlich die Wanderungsgeschwindigkeit von Bedeutung, indem gleich stark dissoziierte Stoffe, welche dasselbe Anion und

1) Zeitschr. physik. Chem. **44**, 143 (1903).

2) Hofmeisters Beitr. **5**, 432 (1903).

3) Zeitschr. physik. Chem. **33**, 385 (1900).

4) Journ. chem. Soc. **67**, 63 (1895).

5) Zeitschr. physik. Chem. **39** 633 (1902)



verschiedene Kationen enthalten, geringe Verschiedenheiten des Fällungsvermögens aufweisen, welche der Wanderungsgeschwindigkeit der Kationen einigermaßen parallel gehen, was aus folgender Tabelle von Freundlich hervorgeht<sup>1)</sup>.

Fällende Konz.		As <sub>2</sub> S <sub>3</sub> (negativ)	
		Wanderungsgeschwindigkeit	
HCl	42,9 Millimole	H =	318
KCl	69,1 „	K	64,67
NaCl	71,2 „	Na	43,55
LiCl	81,5 „	Li	33,44
$\frac{1}{2}$ H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	42,0 „	H	318
$\frac{1}{2}$ K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	91,5 „	K	64,67
$\frac{1}{2}$ Li <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	99,8 „	Li	3,44

Das Fällungsvermögen scheint also mit der Wanderungsgeschwindigkeit des fällenden Ions zu steigen.

Zweitens liegt das Fällungsvermögen auch an der Wertigkeit der Ionen und zwar steigt dasselbe sehr stark mit der Wertigkeit, was zuerst von H. Schulze nachgewiesen wurde<sup>2)</sup>; dasselbe wurde u. a. auch von Hardy bestätigt<sup>3)</sup> und wird besonders durch folgende von Freundlich ausgeführte Versuche zum Ausdruck gebracht<sup>4)</sup>.

Fällende Konz.		As <sub>2</sub> S <sub>3</sub> (negativ)	
		Fällende Konz.	
$\frac{K_2SO_4}{2}$	65,6 Millimole	MgCl <sub>2</sub>	0,717 Millimole
KCl	49,5 „	MgSO <sub>4</sub>	0,810 „
KNO <sub>2</sub>	50,0 „	CaCl <sub>2</sub>	0,649 „
NaCl	51,0 „	SrCl <sub>2</sub>	0,635 „
LiCl	58,4 „	BaCl <sub>2</sub>	0,691 „
$\frac{H_2SO_4}{2}$	30,1 „	Ba(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	0,687 „
HCl	30,8 „	ZnCl <sub>2</sub>	0,685 „
		UrO <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	0,642 „
		AlCl <sub>3</sub>	0,0932 „
		Al(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	0,0982 „

Die fällende Wirkung von Anionen auf ein positives Hydrosol ist aus folgender Tafel von Freundlich zu ersehen:

Fällende Konz.		Eisenhydroxyd (positiv)	
		Fällende Konz.	
KCl	9,03 Millimole	K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0,204 Millimole
KNO <sub>3</sub>	11,9 „	TiSO <sub>4</sub>	0,219 „
NaCl	9,25 „	MgSO <sub>4</sub>	0,217 „
$\frac{BaCl_2}{2}$	9,64 „	K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	0,194 „

Indessen kommen Fällungserscheinungen vor, welche durch die oben gegebene Wertigkeitsregel nicht erklärt werden können, und Freundlich ergänzt daher die Regel folgendermaßen<sup>5)</sup>:

Bei einem negativen Sol steigt die fällende Wirkung stark mit der Wertigkeit der Kationen; gleichwertige Kationen wirken in äquivalenten Mengen

<sup>1)</sup> Zeitschr. physik. Chem. **44**, 135 (1903).

<sup>2)</sup> Journ. prakt. Chem. **25**, 431 (1882).

<sup>3)</sup> Proc. roy. Soc. **66**, 110 (1899).

<sup>4)</sup> Koll. Zeitschr. **1**, 289 (1907).

<sup>5)</sup> Ebenda **1**, 323 (1907).

ungefähr gleich stark flockend; H-Ionen, die Ionen der Schwermetalle und organische Kationen haben viel kleinere Fällungskonzentrationen (also stärkeres Fällungsvermögen) als es ihrer Wertigkeit entspricht; OH-Ionen und organische Anionen wirken den fällenden Eigenschaften der Kationen entgegen.

Umgekehrt steigt bei einem positiven Sol die fällende Wirkung mit der Wertigkeit der Anionen; äquivalente Mengen gleichwertiger Anionen wirken etwa gleich stark; OH-Ionen und organische Anionen haben viel kleinere Fällungskonzentrationen als es ihrer Wertigkeit entspricht. H-Ionen und organische Kationen wirken den fällenden Eigenschaften der Anionen entgegen.

Mit Rücksicht auf die Fällbarkeit von Suspensionskolloiden bleibt noch übrig die sog. unregelmäßigen Reihen zu berücksichtigen. Diese Erscheinung, welche zuerst von Neißer und Friedeman beschrieben wurde<sup>1)</sup>, äußert sich darin, daß die Fällbarkeit einer Suspension innerhalb eines gewissen Konzentrationsgebietes des Fällungsmittels aufhört. Für die Ausflockung von Mastix durch Ferrinitrat fanden Neißer und Friedeman folgende Ergebnisse, wobei + Ausflockung bedeutet und o keine Wirkung:

Fe(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> normale Lösung	Ursprüngliche Emulsion	1/5 der ursprüngl. Emulsion	1/25 der ursprüngl. Emulsion
0,000025	o	o	o
0,00005	o	o	+++
0,0001	o	o	+++
0,00025	o	+++	+++
0,0005	+	+++	+++
0,001	+++	+	o
0,0025	+++	o	o
0,005	++	o	o
0,01	o	o	o
0,025	o	o	o
0,05	+	o	o
0,1	+++	+++	o
0,25	+++	+++	+++
0,5	+++	+++	+++
1	+++	+++	+++

Weitere Beobachtungen über unregelmäßige Reihen sind von Buxton veröffentlicht worden<sup>2)</sup> sowie auch von Porges und Neubauer<sup>3)</sup>. Die letzteren arbeiteten mit Lezithinsuspensionen, welche nach ihren Ergebnissen am ehesten den hydrophilen Kolloiden zuzurechnen sein dürften.

In ähnlicher Weise wie die Suspensionskolloide werden auch andere in Wasser aufgeschlämmte fein verteilte Stoffe ausgeflockt. So fand Schulze, daß Trübungen von Tonteilchen mit klärenden Zusätzen (Alaun, Kalk) einen voluminöseren Bodensatz geben als ohne solche<sup>4)</sup>. Schloessing beobachtete, daß Tonrübungen, welche sonst monatelang nicht sedimentierten, durch minimale Mengen von Kalk oder Magnesia in 24—48 Stunden gefällt wurden<sup>5)</sup>. Derselbe wies auf die wesentliche Rolle hin, welche die Salze des Seewassers bei der Sedimentation des einfließenden, getrübbten Flußwassers spielen müssen (Deltabildung).

<sup>1)</sup> Münch. med. Wochenschr. 1904. Nr. 11.

<sup>2)</sup> Koll. Zeitschr. 5, 138 (1909).

<sup>3)</sup> Biochem. Zeitschr. 7, 152 (1908).

<sup>4)</sup> Ann. Phys. 129, 366 (1866).

<sup>5)</sup> Compt. rend. 70, 1345 (1870).

Mit Rücksicht auf die oben erwähnten Verhältnisse, unter welchen die Suspensionskolloide durch Elektrolyte ausgeflockt werden, ist das gegenseitige Fällungsvermögen von Suspensionskolloiden von erheblichem Interesse. Nach dem Gesagten können die Kolloide als Träger der Elektrizität betrachtet werden, und es hat sich auch herausgestellt, daß entgegengesetzt geladene Kolloide einander ausfällen können. Diese Regel wurde zuerst von Linder und Picton aufgestellt<sup>1)</sup> und ist seitdem von verschiedenen Forschern bestätigt worden. Besonders hat W. Biltz systematische Untersuchungen hierüber angestellt, wobei auch konstatiert wurde, daß gleichartig geladene Kolloide sich nicht ausfällen<sup>2)</sup>. Zur gegenseitigen völligen Ausfällung elektrisch entgegengesetzt geladener Kolloide ist die Innehaltung bestimmter Mengenverhältnisse nötig. Bei der Einwirkung der zwei Kolloide aufeinander in wechselnden Mengenverhältnissen ist ein Optimum der Fällungswirkung zu bemerken; beim Überschreiten der günstigsten Fällungsbedingungen nach beiden Seiten findet überhaupt keine Fällung statt. Bezüglich dieser Frage sind noch die Arbeiten von Buxton und Teague zu berücksichtigen<sup>3)</sup>. Nach Buxton und Teague ist die gegenseitige Ausflockung vollständig und die Ausflockungszone eng in demselben Maße als die zwei Stoffe ausgeprägte kolloide Eigenschaften besitzen (oder eine ausgesprochene Ladung zeigen). In Übereinstimmung mit dieser Regel fällen einander die Suspensionskolloide sehr vollständig innerhalb eines engen Konzentrationsbereiches, während die hydrophilen Kolloide nur unvollständig gefällt werden und der Bezirk, wo diese Ausfällung stattfindet ziemlich weit ist.

In Analogie mit dem gegenseitigen Fällungsvermögen von Kolloiden nimmt W. Biltz an, daß das besonders große Vermögen der meisten Schwermetallsalze, Kolloide auszufällen, an den hydrolytisch abgespaltenen und kolloid aufgelösten Metallhydroxyden liegt. Mit dieser Annahme stimmt die Tatsache gut überein, daß ein Überschuß des fällenden Metallsalzes in gewissen Fällen den einmal gebildeten Niederschlag wieder auflöst. Dies ist z. B. der Fall bei der Ausfällung von Eiweiß mit Hilfe von neutralem oder basischem Bleiazetat. Das Wiederauflösen des einmal gebildeten Niederschlages beweist offenbar nicht, daß der Fällungsprozeß reversibel verläuft. Das Auflösen geschieht nämlich auf Zugeben von neuen Mengen Fällungsmittel, und es kommt also ein neuer auf den Zustand der gefällten Körper einwirkender Faktor hinzu. Ob dieses Wiederauflösen der Fällung mit dem Ausbleiben des Niederschlages innerhalb eines gewissen Konzentrationsbereiches in den sog. unregelmäßigen Reihen (S. 83) in Zusammenhang steht, muß dahingestellt bleiben. Eigentlich könnte man sich wohl vorstellen, daß beim Ausflocken von Mastix mit Ferrinitrat im S. 83 angeführten Versuch auch kolloides Eisenhydroxyd mitspielt nach der eben besprochenen Ansicht von Biltz. In dem Falle wäre auch die Ausflockung von Mastix ein Fall von gegenseitiger Ausfällung zweier Kolloide und das Ausbleiben des Niederschlages bei Zusatz von mehr Ferrinitrat könnte daran liegen. Doch bliebe auch in diesem Falle das Wiederauftreten des Niederschlages auf Zugabe von noch mehr Ferrinitrat unaufgeklärt.

<sup>1)</sup> Journ. chem. Soc. **71**, 572 (1897).

<sup>2)</sup> Ber. d. chem. Ges. **37**, 1905 (1904).

<sup>3)</sup> Koll. Zeitschr. **2**, Suppl.-Heft **2**, XLVI (1908).

## Schutzkolloide.

Gewisse hydrophile Kolloide, welche nach dem bereits Gesagten nur schwer durch Elektrolyte fällbar sind, besitzen das Vermögen, Suspensionskolloide gegen die fällende Wirkung der Elektrolyte zu schützen. Zunächst haben E. v. Meyer und Lottermoser bei Silberhydrosol gefunden, daß die Gegenwart von Eiweißsubstanzen die Ausflockung durch Elektrolyte hindert<sup>1)</sup>. Dann hat Zsigmondy die relative Wirkung der schützenden Kolloide untersucht und dabei beträchtliche Unterschiede gefunden<sup>2)</sup>. Diejenige Anzahl von Milligrammen Kolloid, welche eben nicht mehr ausreichte, um 10 ccm einer für den Zweck hergestellten Goldlösung (0,0053—0,0058%) gegen die Wirkung von 1 ccm 10%iger NaCl-Lösung zu schützen, wurde als Goldzahl des betreffenden Kolloids bezeichnet. Am besten schützt Leim; dann kommen an die Reihe Hausenblase, Kasein, Eialbumin, Gummiarabikum, Karagheen, Dextrin, Stärke. In der gleichen Weise werden auch kolloide Sulfide ( $\text{As}_2\text{S}_3$ ,  $\text{Sb}_2\text{S}_3$ ,  $\text{CdS}$ ) gegen Elektrolyteinflüsse geschützt, wie A. Müller und Artmann gezeigt haben<sup>3)</sup>. Auch anorganische Kolloide können als Schutzkolloide dienen. So wies W. Biltz nach, daß Zirkoniumhydroxyd Gold besser zu schützen vermag als sogar Leim<sup>4)</sup>.

Durch Zusatz von organischen Schutzkolloiden kann die sonst irreversibel verlaufende Eintrocknung von anorganischen Kolloiden reversibel geleitet werden, indem der trockene Rückstand sich wieder in Wasser löst. Hierauf beruht die Anwendung der Schutzwirkung zur Herstellung haltbarer anorganischer Hydrosole, die sich in zahlreichen Fällen bewährt hat.

Nach Bechhold wird auch die Filtrierbarkeit von Suspensionskolloiden durch Kollodiumfiltra beim Zugeben von organischen Kolloiden erhöht<sup>5)</sup>. Auch dürfte es allgemein bekannt sein, daß gewisse pulverförmige Substanzen (z. B. Kohle) in Gegenwart von Eiweißstoffen leichter durch ein Filter passieren als ohne Eiweiß.

Die Wirkung der Schutzkolloide wird gewöhnlich nach einer Theorie von Quincke auf die gegenseitigen Oberflächenspannungen der beteiligten Stoffe zurückgeführt<sup>6)</sup>, und der Prozeß gehört nach dieser Theorie zu den bereits besprochenen Adsorptionserscheinungen. Nach der Theorie breitet sich unter gewissen Bedingungen das Schutzkolloid wie eine Hülle um die zu schützenden Teilchen aus. Hierdurch nimmt das Ganze die Eigenschaften des Schutzkolloids an und wird infolgedessen ebensowenig wie das Schutzkolloid durch Elektrolyte gefällt; beim Filtrieren wirkt das Schutzkolloid gewissermaßen wie ein Schmiermittel. Diese Theorie der Kolloidumhüllung hat eine gewisse Stütze in Versuchen von Michaelis und Pincussohn erhalten. Diese Forscher fanden nämlich, daß, wenn Suspensionen von Indophenol und Mastix miteinander vermischt werden, die ultramikroskopisch wahrnehmbaren Teilchen an Zahl abnehmen; nach dem Mischen kommen die physikalischen Eigenschaften des Indophenols (Pseudofluoreszenz, positive Kataphorese) nicht mehr zum Vorschein<sup>7)</sup>.

<sup>1)</sup> Journ. prakt. Chem. (2), **56**, 241 (1897).

<sup>2)</sup> Zeitschr. analyt. Chem. **40**, 697 (1901).

<sup>3)</sup> Österr. Chem. Ztg. **7**, 149 (1904).

<sup>4)</sup> Ber. d. chem. Ges. **85**, 4431 (1902).

<sup>5)</sup> Zeitschr. physik. Chem. **60**, 301 (1907).

<sup>6)</sup> Ann. Phys. (3) **35**, 580 (1888).

<sup>7)</sup> Biochem. Zeitschr. **2**, 251 (1907).

## Theoretisches über die Ausflockung der Suspensionskolloide.

Zum mindesten für die Suspensionskolloide dürfte es wohl außer Zweifel gestellt sein, daß dieselben einerseits durch Ionengattungen, die eine elektrische Ladung tragen, welche der der Kolloidteilchen entgegengesetzt ist, andererseits durch andere Kolloide entgegengesetztes Ladungssinnes ausgeflockt werden. Dieser Tatsache trägt die Theorie von Hardy Rechnung, nach welcher die Ausflockung ein Neutralisationsvorgang ist, bei welchem die Ladung des Kolloids eben neutralisiert wird und das Kolloid deswegen ausfällt<sup>1)</sup>. Das Gemisch, welches bei der Fällung entsteht, hat sich nämlich als elektrisch neutral (isoelektrisch) erwiesen, indem die gefällten Teilchen keine Kataphorese zeigen. In dieser Weise wird es auch leicht verständlich, daß mehrwertige Ionen stärker fällend wirken als einwertige, da die elektrische Ladung von z. B. dreiwertigen Ionen dreimal so groß ist wie die der einwertigen. Sonst könnte auch das größere Fällungsvermögen mehrwertiger Ionen auf die größere hydrolytische Spaltung der Salze zurückgeführt werden (S. 84).

Den Mechanismus der in der Hardyschen Theorie angenommenen Ausfällung der isoelektrischen Lösung erklärt Bredig folgendermaßen<sup>2)</sup>: An der Grenze zwischen suspendierten Teilchen und Lösungsmittel herrscht eine gewisse Oberflächenspannung, welche bestrebt ist, die gesamte Berührungsfläche zwischen den zwei Medien zu verkleinern, was dadurch geschehen kann, daß kleine Teilchen sich zu größeren vereinigen, wodurch andererseits Ausflockung herbeigeführt wird. Der Oberflächenspannung entgegen wirkt die elektrische Ladung der Teilchen, infolge welcher gleichsinnig geladene Teilchen einander abstoßen. Wird die elektrische Ladung aufgehoben, was im isoelektrischen Punkt geschieht, erreicht die Oberflächenspannung ihren größten Wert und die günstigen Bedingungen für die Ausflockung werden hergestellt.

Die Richtigkeit der Behauptung Hardys, daß Ausflockung eben in dem isoelektrischen Zustand der Teilchen erfolgt, wird von Billitzer auf Grund besonderer Versuche bestritten. Das Isoelektrischwerden der Teilchen genügt nicht, um die Ausflockung herbeizuführen. Kolloides Platin kann sogar durch Zugabe von Alkohol umgeladen werden (S. 65), ohne daß Ausflockung erfolgt. Bestimmend für das Zustandekommen der Ausflockung ist außer der elektrischen Entladung noch die Größe der gebildeten Teilchenkomplexe. Billitzer nimmt an, daß die Ionen eine viel größere Ladung besitzen als die Kolloidteilchen. Ein Ion wird also entgegengesetzt geladene Kolloidteilchen um sich sammeln, und während dieses Neutralisationsprozesses kann es eintreffen, daß der ganze Komplex eine solche Größe erreicht, daß er sichtbar wird und infolge der Schwerkraft zum Boden sinkt.

Im allgemeinen läßt sich sagen, daß die Stabilität eines Kolloids um so größer ist, je kleiner *et. par.* seine Teilchen sind; denn die Wahrscheinlichkeit, daß eine für die Ausflockung genügende Zahl von Teilchen zusammengeführt werden kann, ist dann geringer. Bei gleicher Teilchengröße wird die Stabilität eines Kolloids von der Größe der Ladung abhängen, welche die Teilchen tragen. Allzu schwach und sehr stark geladene Kolloide werden relativ am stabilsten sein; die ersten wegen der großen Zahl, die ein Ion um sich sammeln muß, damit Ausflockung erfolgt, die zweiten weil die für das Neutralisieren nötige Zahl

<sup>1)</sup> Zeitschr. physik. Chem. **33**, 385 (1900).

<sup>2)</sup> Anorganische Fermente 1901. S. 15.

von Teilchen vielleicht so gering ist, daß die für Ausflockung nötige Größe des Komplexes nicht erreicht wird<sup>1)</sup>. Nach der Theorie von Billitzer müssen also die ausgeflockten Kolloidteilchen diejenigen Ionen einschließen, durch welche die Ausflockung herbeigeführt wurde. Wie wir gesehen haben, stimmt dies mindestens in gewissen Fällen mit gefundenen Tatsachen überein (S. 81).

Demselben Verhalten trägt auch eine andere Theorie, welche von Freundlich vertreten wird, Rechnung. Nach derselben wäre die Ausflockung als ein Adsorptionsvorgang zu betrachten; dabei kommt für das Fällungsvermögen eines Elektrolyts einerseits die elektrische Ladung der fällenden Ionen in Betracht, andererseits auch die Fähigkeit des zu fällenden Kolloids dieselben zu adsorbieren<sup>2)</sup>. Für diese Ansicht spricht ein gewisser Parallelismus zwischen Adsorbierbarkeit und fällender Wirkung. Diesen Parallismus hat Freundlich in der Weise darzutun versucht, daß für die untersuchten Stoffe in der gleichen molekularen Konzentration einerseits die Konzentration auf der Kohle ( $\frac{x}{m}$ ) (S. 71) bei Adsorptionsversuchen bestimmt wurde, andererseits die minimale fällende Konzentration für ein Arsensulfidsol.

	$\frac{x}{m}$ in Millimole pro Gramm Blutkohle	Min. fäll. Konz. in Millimole pro Liter
KCl . . . . .	0,01	49,5
Guanidinnitrat . . . . .	0,27	10,4
Anilinchlorid . . . . .	0,416	2,52
Toluidinsulfat . . . . .	0,638	1,71
2		
p-Chloranilinchlorid . . . . .	1,33	1,08
Neufuchsin . . . . .	3,16	0,114

Es muß bemerkt werden, daß nach Freundlich die Reihenfolge, in welcher verschiedene Stoffe adsorbiert werden, für verschiedene adsorbierende Stoffe die gleiche sein soll<sup>3)</sup>. Im obigen Versuche würde also die Kohle die Stoffe in derselben Reihenfolge adsorbieren wie das Arsentrisulfidsol. Zwischen der Kolloidfällung und der Adsorption von Schwermetallsalzen bestehen nach Morawitz insofern Beziehungen, als die stark absorbierbaren Salze auch stark kolloidfällend wirken<sup>4)</sup>. Ähnliche Resultate bekam auch N. Ishizaka mit  $Al(OH)_3$ Sol und einer Anzahl Salze<sup>5)</sup>.

Das Zustandekommen der elektrischen Ladung der kolloiden Teilchen denkt man sich im allgemeinen in der Weise, daß die positiven Kolloide negative OH-Ionen und negative Kolloide positive H-Ionen in irgendwelcher (nicht leicht verständlichen) Weise abdissoziieren; der Rest des Kolloids bekommt dadurch eine der Ladung der abdissoziierten Ionengattung entgegengesetzte elektrische Ladung. Die Tatsache, daß die positiven Kolloide durch OH-Ionen (Alkalien) und negative durch H-Ionen (Säuren) gefällt werden, erklärt Michaelis in der Weise, daß in beiden Fällen die angenommene Dissoziation zurück-

<sup>1)</sup> Zeitschr. physik. Chem. **45**, 327 (1904); **51**, 129 (1905); auch Ber. Akad. Wien. **113**, 1159 (1905).

<sup>2)</sup> Koll. Zeitschr. **1**, 321 (1907).

<sup>3)</sup> Über Adsorption in Lösungen S. 83; auch Zeitschr. physik. Chem. **59**, 284 (1907).

<sup>4)</sup> Koll. chem. Beihefte **1**, 301 (1910).

<sup>5)</sup> Zeitschr. physik. Chem. **83**, 97 (1913).

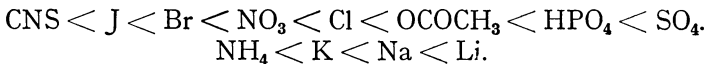
gedrängt wird. Andererseits soll nach Michaelis die Löslichkeit in elektrisch neutralem Zustande (im isoelektrischen Punkt) (S. 67) die geringste sein. Daneben findet aber auch nach Michaelis bei Zusatz von Elektrolyten eine Adsorption von entgegengesetzt geladenen Ionen seitens der kolloiden Teilchen (im Sinne Freundlichs) statt<sup>1)</sup>.

### Ausfällung von Eiweiß durch Elektrolyte.

Unter den hydrophilen Kolloiden sind fast nur die Eiweißkörper auf ihre Fällbarkeit durch Elektrolyte systematisch untersucht worden. Zunächst mag daran erinnert werden, daß das Eiweiß in stark dialysierter Form meistens anodisch wandert, also negativ geladen ist. Mit Säure versetzt nimmt so behandeltes Eiweiß positive Ladung an und mit Alkali versetzt behält es die negative Ladung. Über den isoelektrischen Punkt und über die Fällungsverhältnisse des Eiweißes im isoelektrischen Zustande siehe S. 65 ff.

Die Salze der Alkalien fällen nach dem oben Gesagten die Suspensionskolloide bereits bei schwacher Konzentration. Gegen die hydrophilen Kolloide verhalten sich aber die Salze ganz verschieden. Zum Teil mag wohl dies darin seinen Grund haben, daß die hydrophilen Kolloide viel weniger als die Suspensionskolloide eine ausgesprochene elektrische Ladung besitzen. Indessen wird auch das Eiweiß vielfach durch Alkalisalze aus seinen Lösungen gefällt. Aber dafür sind erstens meist beträchtliche Konzentrationen erforderlich und zweitens sind die Niederschläge des nativem Eiweißes wieder in Wasser löslich im Gegensatz zu denjenigen der Suspensionskolloide. Der Fällungsprozeß ist also umkehrbar. In bezug auf die Fähigkeit verschiedener Alkalisalze fällend zu wirken sind gewisse Gesetzmäßigkeiten aufgefunden worden, die aber keiner allgemeinen Regel sich unterordnen lassen.

Durch Vergleichen der eben fällenden molekularen Konzentrationen verschiedener Salze, wobei einerseits dasselbe Anion mit verschiedenen Kationen verbunden, andererseits dasselbe Kation mit wechselnden Anionen kombiniert geprüft wurde, hat Pauli die verschiedenen Anionen und Kationen in folgenden Reihenfolgen steigenden Fällungsvermögens ordnen können:



Das bei den Versuchen benutzte Eiweiß war Eierklar. Nach Pauli wirken einige Ionen fällend, andere lösend. Die Wirkung eines Salzes liegt sehr an der Konzentration und entspricht der algebraischen Summe der Wirkungen der Ionen.

Indessen hat Spiro darauf hingewiesen, daß die Art des Eiweißstoffes, sowie dessen Konzentration für die Fällungswirkung von Belang sind<sup>2)</sup>, und außerdem findet Höber, daß auch die Reaktion der Eiweißlösung von Bedeutung ist, indem die Stufenfolgen



bei alkalischer Reaktion gültig sind, daß aber die Reihenfolgen bei saurer Reaktion umgekehrt lauten. Bei annähernd neutraler Reaktion kommen gelegentlich unregelmäßige Ionenreihen vor, welche als Übergangsrerien zwischen den eben angeführten Endreihen aufzufassen sind<sup>3)</sup>. Daß die Reaktion des

<sup>1)</sup> Koranyi und Richter, Handbuch 2, 377 (1908).

<sup>2)</sup> Hofmeisters Beitr. 4, 300 (1903).

<sup>3)</sup> Ebenda 11, 35 (1908).

Eiweißes für die Fällbarkeit von größter Bedeutung sein muß, scheint eigentlich von vornherein sehr wahrscheinlich, in Anbetracht der Tatsache, daß das Eiweiß erst beim Zusatz von Säure oder Alkali eine entschiedene elektrische Ladung annimmt.

Beim Erhitzen einer Eiweißlösung wird das Eiweiß tiefgehend verändert. Unter Umständen fällt es dabei in unlöslicher Form mehr oder weniger vollständig aus, und diese Zustandsänderung ist irreversibel, d. h. das ausgeschiedene Eiweiß geht beim Abkühlen nicht wieder in Lösung. Aber auch für den Fall, daß keine Gerinnung des Eiweißes beim Erhitzen erfolgt, wird das Eiweiß in tiefgehender Weise verändert. Dasselbe wird nämlich in irreversibler Weise in eine Modifikation verwandelt, welche man denaturiertes Eiweiß nennt. Im Ultramikroskop erscheint beim Erhitzen die Bildung von neuen sichtbaren Teilchen. Wenn man nämlich eine Eiweißlösung stark mit Wasser verdünnt, so daß nur vereinzelte Körnchen im Ultramikroskop zu sehen sind, so erscheinen nach dem Kochen in derselben Lösung massenhaft neue Körperchen<sup>1)</sup>. Die Veränderungen, welche das Eiweiß beim Denaturieren erfährt, können wohl verschieden sein je nach der Reaktion der Lösung und dem Salzgehalt. Wird eine neutrale Lösung durch Erhitzen denaturierten Eiweißes mit einer Spur von Säure bzw. Alkali versetzt, so nimmt das Eiweiß positive bzw. negative Ladung an und verhält sich nunmehr wie ein Suspensionskolloid mit der gleichen elektrischen Ladung (Hardy)<sup>2)</sup>. Das elektropositive denaturierte Eiweiß wird also ganz unabhängig vom Kation durch geringe Mengen aller Salze des zweiwertigen  $\text{SO}_4$ -Ions gefällt, während die Salze mit einwertigen Anionen unwirksam sind; das elektronegative Eiweiß wird durch alle Salze der mehrwertigen Metalle unabhängig vom Anion gefällt, während die Salze der einwertigen Metalle unwirksam sind. Folgende Ergebnisse, welche von Hardy herrühren, bestätigen das Gesagte:

Elektropositives Eiweiß (Spur von Säure).

Sofort gefällt durch	Unwirksam waren
$\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$	$\text{CuCl}_2$
$\text{CuSO}_4$	$\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$
$\text{K}_2\text{SO}_4$	$\text{BaCl}_2$
$\text{Na}_2\text{SO}_4$	$\text{NaCl}$
$\text{MgSO}_4$	

Elektronegatives Eiweiß (Spur von Alkali).

Sofort gefällt durch	Beim gelinden Erwärmen auch durch
$\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$	$\text{MgSO}_4$
$\text{CdSO}_4$	$\text{BaCl}_2$
$\text{CuSO}_4$	$\text{CaCl}_2$
$\text{CuCl}_2$	
	Unwirksam waren
	$\text{Na}_2\text{SO}_4$
	$\text{K}_2\text{SO}_4$
	$\text{NaCl}$

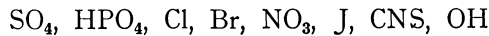
Bei Untersuchungen über die Einwirkung von Ionen auf die Ausfällung von hitzeokoagulierte Eiweiß fanden Michaelis und Rona, daß die Fällbarkeit zwar in erster Annäherung durch die Konzentration der H-Ionen bedingt ist

<sup>1)</sup> Raelmann, Berl. klin. Wochenschr. 1904, S. 186, sowie Michaelis: Virchows Arch. **179**, 195 (1905).

<sup>2)</sup> Zeitschr. physik. Chem. **33**, 385 (1900).



(günstigste Bedingungen im isoelektrischen Punkt), aber daß auch andere Ionen beteiligt sein können und zwar so, daß alle Anionen, die überhaupt wirksam sind, die zur Flockung günstigste  $C_H$  nach der sauren Seite zu verschieben und alle Kationen, die überhaupt wirksam sind, nach der alkalischen Seite zu. Kombiniert man ein Salz aus einem wirksamen Anion und einem wirksamen Kation, so wird die optimale  $C_H$  gewissermaßen nach beiden Seiten hin verbreitet und verschoben, d. h. die Fällung kann so gut wie unabhängig von  $C_H$  werden. Außer dieser verschiebenden Wirkung haben aber die Ionen nach Michaelis und Rona noch eine die optimale Fällung hemmende oder begünstigende Wirkung. Die Erklärung für diese Wirkung ist die Konkurrenz dieser Ionen mit den H- und OH-Ionen bei der Adsorption oder Bindung an das Eiweiß<sup>1)</sup>. Ähnliche Ergebnisse wurden mit Kasein erhalten<sup>2)</sup>. Dieselben Forscher fanden bei Versuchen über die Adsorption von Elektrolyten an Kohle folgende Reihe zunehmender Adsorption der Anionen:

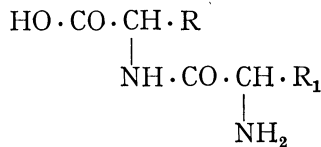


und der Kationen:



Ein stärker adsorbierbares Ion verdrängt ein schwächer adsorbierbares nach Maßgabe der Mengenverhältnisse. Alle Adsorptionen sind reversibel und führen zu echten Gleichgewichten<sup>3)</sup>. Irgendwelchen Zusammenhang zwischen der Adsorbierbarkeit der Ionen und deren Einfluß auf die Ausflockung des Eiweißes dürfte wohl kaum mit Hilfe dieser Versuche nachgewiesen werden können. Nach K. Umetsu sollen saure Farbstoffe das Flockungsoptimum nach der sauren Seite verschieben und basische nach der alkalischen<sup>4)</sup>.

In bezug auf die Einwirkung von Elektrolyten auf Eiweißkörper nehmen einige Forscher an, daß sowohl Alkalien und Säuren sowie auch Salze mit dem Eiweiß eine Art chemischer Verbindung bilden, wobei das Eiweiß einerseits als Säure, andererseits als Base in Verbindung treten kann (Pauli<sup>5)</sup>, Hardy<sup>6)</sup>, Robertson<sup>7)</sup>, Michaelis<sup>8)</sup>). Nach dieser Ansicht wäre das Eiweiß nach dem Typus der Verkettung von Aminosäuren zu Polypeptiden gebaut, z. B.



mit entzündigen HOCO und  $\text{NH}_2$ -Gruppen. Hier kann man sich ein Salz mit Basen dadurch gebildet denken, daß ein Metallatom für H in der HOCO-Gruppe eingetreten ist und ein Salz mit einer Säure z. B. HCl dadurch, daß HCl an  $\text{NH}_2$  gebunden wird, in derselben Weise wie aus  $\text{NH}_3$  das Salz  $\text{NH}_4\text{Cl}$  entsteht. Wir haben also als Typen der Salze:

<sup>1)</sup> Biochem. Zeitschr. **94**, 225 (1919).

<sup>2)</sup> Ebenda **103**, 178 (1920)

<sup>3)</sup> Ebenda **94**, 240 (1919).

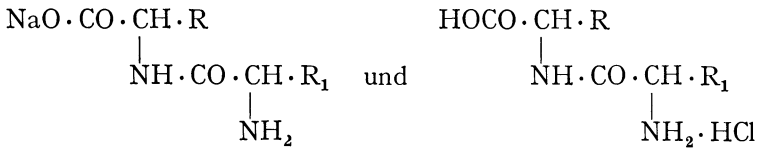
<sup>4)</sup> Biochem. Zeitschr. **137**, 258 (1923).

<sup>5)</sup> Pflügers Arch. **78**, 315 (1899).

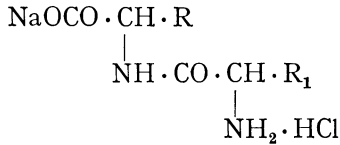
<sup>6)</sup> Proc. roy. Soc. **66**, 95 (1901); auch Journ. of Physiol. **33**, 251 (1905).

<sup>7)</sup> Journ. physik. Chem. **2**, 437 (1907).

<sup>8)</sup> Virchows Arch. **179**, 195 (1905).



Die Verbindung mit z. B. NaCl wäre demnach z. B.



Alle diese Arten von Verbindungen können zum Teil elektrolytisch dissoziiert sein, wobei wasserlösliche Ionen entstehen, andererseits auch unter Aufnahme von Wasser hydrolytisch gespalten werden, wobei in gewissen Fällen unlösliches Eiweiß gebildet wird. Nach dem oben Gesagten ist die Anzahl der nicht elektrolytisch dissoziierten Eiweißmoleküle im isoelektrischen Punkt am größten, wodurch die günstigsten Bedingungen für die Ausfällung geschaffen werden. Zu beiden Seiten dieses Punktes werden aber aus den da existierenden Eiweißsalzen Eiweißionen gebildet, was durch eine Erhöhung des osmotischen Druckes und der Viskosität bis zu einem gewissen Maximum sowie durch Verminderung der Fällbarkeit auf ein Minimum sich kundgibt. Die vermehrte Viskosität zu beiden Seiten des isoelektrischen Punktes wird von mehreren Forschern auf das Wasserbindungsvermögen (Hydratisierung) der Ionen zurückgeführt.

Beim weiteren Zusatz von Alkali oder Säure fällt wieder der osmotische Druck und die Viskosität, was von Pauli in der Weise erklärt wird, daß die Dissoziation des Eiweißsalzes im ersteren Falle durch die Gegenwart von dem Alkali, mit welchem das Eiweißsalz das Metallion gemeinsam hat, und im letzteren durch die Gegenwart von Säure, mit welcher das Eiweißsalz das negative Ion gemeinsam hat, zurückgedrängt wird, wodurch neutrale Moleküle entstehen, welche einen geringeren Einfluß auf osmotischen Druck und Viskosität ausüben als die bei der Dissoziation der Eiweißsalze gebildeten Ionen.

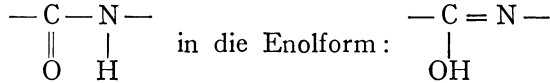
Dieser Paulischen Ansicht gegenüber hebt J. Loeb hervor, daß die Konzentration der Eiweißionen (gemessen durch die Leitungsfähigkeit) beim Maximum des osmotischen Druckes nicht durch ein Maximum geht. Er lehnt daher Paulis Ansicht von dem Zurückdrängen der Dissoziation der Eiweißsalze ab und glaubt das Maximum des osmotischen Druckes in der Weise erklären zu können, daß beim Messen des Druckes auch andere Ionen als die Eiweißionen zu beiden Seiten der Membran in Übereinstimmung mit der Donnanschen Theorie in verschiedener Konzentration vorhanden sind, und daß der gemessene osmotische Druck zum Teil daher rührt<sup>1)</sup>.

In den Eiweißsalzen mit Säuren wird wohl die Säure zunächst, wie oben angegeben wurde, an die endständige  $\text{NH}_2$ -Gruppe gebunden. Indessen hat es sich herausgestellt, daß auch nach Entfernung der  $\text{NH}_2$ -Gruppe mit  $\text{HNO}_2$  und Ersetzen derselben mit einer  $\text{OH}$ -Gruppe das gebildete Desaminoprotein Säuren binden kann (L. Blasel und J. Matula)<sup>2)</sup>, was wohl an die im Desaminoprotein noch vorhandenen Imidgruppen,  $\text{NH}$ , in der gleichen Weise wie vorher an die  $\text{NH}_2$ -Gruppen geschehen kann.

<sup>1)</sup> Journ. gener. physiol. 3, 247 (1920) und Journ. Amer. chem. Soc. 44, 1930 (1922).

<sup>2)</sup> Biochem. Zeitschr. 58, 417 (1914).

Für die Bindung von Alkali werden wohl in erster Hand wie oben angedeutet die endständigen HOCO-Gruppen in Anspruch genommen; doch läßt sich durch Methylierung der Eiweißkörper, wobei in erster Linie die freien Karboxylgruppen gedeckt werden, zeigen, daß auch dann ein erhebliches Bindungsvermögen für Laugen übrigbleibt<sup>1)</sup>. Auch diese Bindung soll an der Vereinigung zweier Aminosäuremoleküle geschehen, nachdem die Ketoform:



übergeführt worden ist. Das Metallatom kann dann für H in die letztere eintreten.

Die eben wiedergegebene Ansicht, daß Eiweiß mit Alkalien und Säuren Salze bildet, wird durch Versuche von Hardy gestützt, wobei es sich zeigte, daß eine gegebene Menge von Globulin durch etwa molekularäquivalente Mengen von den Säuren HCl, HNO<sub>3</sub>, HOCO · CH<sub>2</sub>Cl, HOCO · CHCl<sub>2</sub>, HOCO · CCl<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Oxalsäure, Weinsäure, Zitronensäure, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> eben aufgelöst wird. Die mehrbasischen Säuren müssen also bei der Auflösung des Globulins vollständig gesättigt werden und die sauren Salze scheinen nicht aufgelöst zu werden. In der gleichen Weise fand Hardy, daß Globulin in molekularäquivalenten Mengen von den Basen KOH, NaOH, NH<sub>4</sub>OH und Ba(OH)<sub>2</sub> eben aufgelöst wird<sup>1)</sup>.

Einige Forscher (Hardy, Michaelis) nehmen an, daß Eiweißlösungen zweiphasige Systeme von Eiweiß bilden, indem einerseits das Eiweiß als kolloide Partikelchen vorhanden ist, andererseits ein Teil des Eiweißes in echter Lösung sich befinden soll. Das quantitative Verhältnis zwischen beiden Phasen beruht auf der Menge und Beschaffenheit der anwesenden Elektrolyte. Nach Michaelis wird in einer Globulinlösung die körnige (kolloide) Phase auf Verdünnung mit Wasser unter dem Ultramikroskop immer massenhafter. Indessen läßt sich eine Eiweißlösung durch Ultrafiltration nach Bechhold vollkommen frei von Eiweiß (geprüft mit Gerbsäure) filtrieren, was wohl mit dem Vorhandensein eines Teiles des Eiweißes in echter Lösung sich kaum verträgt.

Es gibt aber auch Forscher, welche der Ansicht sind, daß die Bindungsfähigkeit der Proteine für fremde Ionen (Basen, Säuren und Salze) von deren Oberflächenbeschaffenheit abhängig ist und daß die Verbindungen selbst in die Kategorie der Adsorptionsverbindungen gehören (Abderhalden, Fodor)<sup>2)</sup>.

Es kann auch auf das oben über die Adsorption von Ionen durch Suspensionskolloide Gesagte verwiesen werden (S. 86 ff). Es braucht wohl kaum hervorgehoben zu werden, daß die Verhältnisse beim Eiweiß viel verwickelter liegen als bei den Suspensionskolloiden, da beim Eiweiß keine Vergleichung ausgeführt werden kann zwischen Adsorbierbarkeit und Fällungsvermögen der Elektrolyte.

## Gallerte.

Wie S. 45 bereits erwähnt wurde, treten gewisse Kolloide unter Umständen in stark wasserhaltigen, halbfetten Formen auf, welche Gallerte oder Gele genannt werden. Einige Gallerte entstehen in hinlänglich konzentrierten Lösungen

<sup>1)</sup> T. B. Robertson, Die physikalische Chemie der Proteine. Dresden 1912.

<sup>2)</sup> Journ. Physiol. **33**, 251 (1905).

<sup>3)</sup> Koll. Zeitschr. **27**, 49, 58 (1920).

spontan (Kieselsäure, gewisse Metallhydroxyde); diese lösen sich nicht wieder in Wasser auf, und die Gelbildung ist folglich in diesen Fällen nicht reversibel. Andere Gele, wie die von Leim, Hausblase und Agar-Agar, entstehen durch Abkühlen der hinlänglich konzentrierten Lösungen und sind auf Erhitzen wieder löslich.

Was die Struktur der Gallerte betrifft, hat Hardy mit Gel von Agar-Agar nachweisen können, daß dasselbe aus zwei voneinander mechanisch trennbaren Phasen besteht, einer festen und einer flüssigen, welche beide sowohl Agar-Agar wie Wasser enthalten; nur ist der Gehalt an Agar-Agar größer in der festen Phase als in der flüssigen<sup>1)</sup>. Auch haben sowohl Hardy<sup>2)</sup> wie Bütschli<sup>3)</sup> mittelst des Mikroskops Strukturen beobachten können, und zwar hat Hardy bei Gelatine ein Netzwerk beobachten können, falls die Konzentration mehr als ungefähr 7% betrug und Fixierung durch Alkohol oder Formaldehyd erfolgt war. Nach der Ansicht Hardys ist die Gebildung des Leims ein Entmischungsvorgang, wobei eine Scheidung in zwei Flüssigkeiten erfolgt, von welchen die eine im weiteren Verlauf erstarrt. Gegen diese Ansicht von der Inhomogenität der Gele vertritt W. Pauli die Meinung, daß die Gele durch alle Zwischenstufen mit dem entsprechenden Sol verbunden sind und folglich in demselben Sinne wie die Sole homogene Bildungen sind. Alle Strukturen sind nach Pauli als Gerinnungs- und Eintrocknungsprodukte zu betrachten<sup>4)</sup>. Auch konnte Menz bei ultramikroskopischer Untersuchung einen steten Übergang zwischen flüssiger und fester Gelatine ohne Auftreten von Strukturen beobachten<sup>5)</sup>.

Wenn die Gele durch Erhitzen oder in anderer Weise möglichst von Wasser befreit sind, zeigen dieselben gegen Wasser ein besonderes Aufnahmevermögen, welches durch verschiedene Prozesse bedingt sein mag, die aber unter dem gemeinsamen Begriff der Quellung zusammengefaßt werden. Die Ansichten über die Quellung sind sehr unklar. Einerseits spielen dabei Oberflächenerscheinungen eine Rolle. Nach van Bemmelen sind die Verbindungen von kolloiden Metalloxyden mit Säuren und Wasser nicht als wirkliche chemische Verbindungen aufzufassen, sondern als Komplexe variabler Zusammensetzung, für die keine fixe Formeln sich aufstellen lassen; dadurch unterscheidet sich ein Kolloid von den wahren chemischen Hydraten. Auch die Art der Wasserabgabe bzw. Wasseraufnahme aus der Umgebung ist eine andere, indem bei konstanter Temperatur soviel Wasser aufgenommen oder abgegeben wird, bis das Kolloid und die Umgebung gleiche Dampfspannung besitzen. Jede Temperaturveränderung bringt eine Änderung der Spannkraft mit sich, wobei der Wassergehalt sich stetig ändert. Die Spannkraft ist ferner bei den nicht völlig reversiblen Gelen von gewissen nicht umkehrbaren Prozessen abhängig, welche beim Erhitzen oder Trocknen der Kolloide eintreten<sup>6)</sup>. Andererseits steht die Quellung zu dem osmotischen Drucke in naher Beziehung, was sofort einleuchtet, wenn man den osmotischen Druck einer Substanz als deren Wasseranziehungsvermögen definiert. Besonders dürfte wohl der Zusammenhang zwischen Quellung und osmotischem Druck in solchen Fällen ein enger sein,

1) Proc. roy. Soc. **66**, 95 (1900).

2) Journ. physiol. **24**, 158 (1899).

3) Verh. naturh. med. Ver. zu Heidelberg **6**, 287 (1900).

4) Biochem. Zeitschr. **18**, 367 (1909).

5) Zeitschr. physik. Chem. **66**, 129.

6) Rec. trav. chim. Pays-Bas. **7**, 39 (1888).

wo die Substanz sich schließlich in Wasser auflöst. Auf einen engen Zusammenhang zwischen der Quellung und dem osmotischen Druck deuten auch die unten zu erwähnenden Versuche von J. Loeb über die Einwirkung von verschiedenen Ionen auf die Quellung.

Wird ein Hydrogel anstatt in reines Wasser in eine Salzlösung gebracht, so erfahren die Quellungerscheinungen wesentliche Veränderungen. Diese sind zuerst von F. Hofmeister unter Benutzung von Leimplatten studiert worden<sup>1)</sup>. Der Prozeß ist ein ziemlich verwickelter, da einerseits Salz und andererseits Wasser durch die Leimplatte aufgenommen werden, und die Aufnahme von Wasser durch die aufgenommene Salzmenge beeinflußt wird. Zunächst wurde gefunden, daß, wenn Leimplatten mit Lösungen steigender Konzentration desselben Salzes behandelt werden, die Aufnahme von Salz anfangs mit der Salzkonzentration wächst, dann verlangsamt sie sich schnell und strebt einem Maximum zu, um dann annähernd stationär zu bleiben. Solange die Salzaufnahme steigt, wächst auch die Menge des in den Leim eintretenden Wassers; mit dem Aufhören des Salzeintrittes fällt sie. Ferner wurde gefunden, daß das Maximum von Salzaufnahme für Sulfate, Tartrate und Zitate bei viel niedrigerer mol. Konzentration erreicht wurde als für die Chloride, Nitrate und Bromide. Daraus folgt, daß innerhalb gewisser Konzentrationsgrenzen die Sulfate, Tartrate und Zitate hemmend, die Chloride, Nitrate und Bromide begünstigend auf die Quellung einwirken.

Ferner hat Pauli den Einfluß von Salzlösungen auf den Erstarr- und Schmelzpunkt von Gelatine untersucht<sup>2)</sup>. Ordnet man die Salze nach ihrer steigenden Fähigkeit, den Erstarrpunkt von Leimgallerte zu erniedrigen, so gelangt man zu der Reihe Sulfat, Zitrat, Tartrat, Azetat, (Wasser), Chlorid, Chlorat, Nitrat, Bromid, Jodid, also im großen zu der gleichen Reihenfolge wie Hofmeister.

Einen ganz besonderen Einfluß auf Leim üben Säuren und Alkalien aus, indem beide in sehr verdünnten Lösungen die Quellung mächtig begünstigen (Spiro<sup>3)</sup>, Wo. Ostwald<sup>4)</sup>).

Nach neuerdings von J. Loeb über die Quellung von Gelatine ausgeführten Untersuchungen geht die Beeinflussung der Quellung durch Säuren, Alkalien und Salzen derjenigen des osmotischen Druckes, der Viskosität und der Fällbarkeit durch Alkohol parallel. Im isoelektrischen Punkte ( $p_H = 4,7$ ) ist also die Quellung am geringsten, wird durch Zugabe von Säure oder Alkali gesteigert und geht bei  $p_H = 3,4$  durch ein Maximum. Die Quellung durch Säure wird durch die Anionen zugesetzter Salze verhindert und zwar sind bei gleichem  $p_H$  die einwertigen Anionen in gleichen Konzentrationen von der gleichen Wirkung; die zweiwertigen Anionen hemmen stärker als die einwertigen und sind unter sich von derselben Wirkung. In entsprechender Weise wird von Alkalien erzeugte Quellung durch Kationen verhindert. Da gleichwertige Anionen in gleichen Konzentrationen bei dem nämlichen  $p_H$  denselben Einfluß auf die Quellung ausüben, so spricht Loeb der Hofmeisterschen Reihe jede Bedeutung ab. Das Übersehen der Einwirkung der zugesetzten Salze auf die H-Ionenkonzentration sowie überhaupt die Nichtbeachtung der Bedeutung

<sup>1)</sup> Arch exp. Pathol. u. Pharm. **28**, 210 (1891).

<sup>2)</sup> Pflügers Arch. **71**, 333 (1898).

<sup>3)</sup> Hofmeisters Beitr. **5**, 276 (1904).

<sup>4)</sup> Pflügers Arch. **108**, 563 (1905).

der Reaktion führte nach Loeb zu dem „Irrtum der Hofmeisterschen Reihen“<sup>1)</sup>.

Die Diffusion gelöster Stoffe in Gallerte hinein ist bereits etwas berührt worden (S. 54). K. Meyer fand, daß die Konzentration kolloider Medien für die in ihnen stattfindenden Diffusionsvorgänge in dem Sinne von Bedeutung sind, daß bei höherer Konzentration der diffundierende Stoff in gleicher Zeit weniger tief in die Gallerte eindringt (den Diffusionsweg verkürzt), während die in der Zeiteinheit hineindiffundierende Gewichtsmenge keine entsprechende Abnahme erfährt; dagegen ist die Diffusionsmenge in hohem Grade von einem selektiv wirkenden Adsorptionsvermögen der Gallerte abhängig<sup>2)</sup>. Dann haben Bechhold und Ziegler diese Frage in Angriff genommen. Sie fanden auch, daß der Diffusionsweg in Gelatine und Agar-Agar von Elektrolyten und Nicht-elektrolyten gegen den Diffusionsweg in Wasser um ein bedeutendes vermindert (bis um 60%) ist. Ferner wird aber auch durch die Gegenwart von Elektrolyten und Nichtletern die Durchlässigkeit von Gelatine und Agargallerte für die Diffusion dritter Stoffe beeinflusst. So vermindern Natriumsulfat, Traubenzucker, Glycerin und Alkohol die Durchlässigkeit von Gelatine und Agar-Agar, Harnstoff wirkt begünstigend auf dieselbe ein, während für Chlornatrium und Jodnatrium eher ein begünstigender als ein hemmender Einfluß sich ergab<sup>3)</sup>. Nell fand, daß die Diffusion und das elektrische Leitvermögen (Ionenwanderung) in Gelatine gleichmäßig beeinträchtigt werden<sup>4)</sup>. Die Wegstrecke, welche eine diffundierende Substanz in einer Gallerte zurücklegt oder der Diffusionsweg ( $P$ ) wird von O. v. Fürth und F. Bubnowiç durch die Formel  $P = \text{konst. } \sqrt{t}$ , angegeben, wo  $t$  die Diffusionszeit bedeutet<sup>5)</sup>.

Ein der Quellung analoger Prozeß ist auch bei anderen organischen Gebilden als bei Gelen beobachtet worden und solche Prozesse spielen bei gewissen industriellen Vorgängen eine wichtige Rolle. So kann bei der Gerbung und bei der Färbung in gewissen Fällen die Aufnahme und Fixierung des Gerbstoffes bzw. des Farbstoffes nicht ohne gehörige vorangehende Quellung der Haut bzw. der Faser geschehen (S. 71 u. 74). Ferner haben M. Fischer und G. Moore gefunden, daß trockenes, gepulvertes Fibrin in Säuren und Alkalien stärker quillt als in Wasser, und daß die Säure- bzw. Alkali-quellung durch die Gegenwart von Salzen gehemmt wird, während Nichtelektrolyte ohne Einfluß sind<sup>6)</sup>. Die Tatsache, daß Organe in situ (Nieren, Leber, Froschbeine) nach Unterbindung der zugehörigen Venen oder Arterien ödematös anschwellen, führt M. Fischer auf Quellung unter dem Einfluß gebildeter Säure zurück<sup>7)</sup>. Eine solche vermehrte Bildung von Säure findet nach Versuchen von Araki<sup>8)</sup> und von Zillessen<sup>9)</sup> im Organismus statt, sobald die Sauerstoffzufuhr in irgendwelcher Weise gestört wird. Auch die sog. trübe Schwellung gewisser Organe bei verschiedenen akuten Entzündungen will M. Fischer auf Säurebildung mit darauffolgender Quellung zurückführen<sup>10)</sup>. Gegen die Fischersche Lehre über das Zustandekommen des Ödems durch Säurewirkung sind doch sehr schwerwiegende Einwände erhoben worden von Marchand<sup>11)</sup>, Bauer, Bauer und Ames<sup>12)</sup>, Murachi<sup>13)</sup>, Beutner<sup>14)</sup>, sowie von S. J. Henderson, W. P. Palmer und E. H. Newburgh<sup>15)</sup>.

<sup>1)</sup> Journ. biol. Chem. **34**, 77 (1918); Journ. general physiol. **3**, 247, 391 (1920, 1921).

<sup>2)</sup> Hofmeisters Beitr. **7**, 393 (1905).

<sup>3)</sup> Zeitschr. physik. Chem. **56**, 105 (1906).

<sup>4)</sup> Ann. Phys. **18**, 323 (1905).

<sup>5)</sup> Biochem. Zeitschr. **90**, 265 (1918). Vgl. auch W. Stiles: Biochem. Journ. **14**, 58 (1920).

<sup>6)</sup> Amer. Journ. Physiol. **20**, 330 (1907) sowie Pflügers Arch. **125**, 99 (1908).

<sup>7)</sup> Koll. Zeitschr. **5**, 197 (1909) sowie Koll. chem. Beihefte **1**, 93 (1910).

<sup>8)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. **15**, 335, 546 (1891); **19**, 422 (1894).

<sup>9)</sup> Ebenda **15**, 387 (1891).

<sup>10)</sup> Koll. Zeitschr. **8**, 159 (1910).

<sup>11)</sup> Zentralbl. Path. **22** (1911).

<sup>12)</sup> Arb. neurol. Inst. Wien **19** (1912).

<sup>13)</sup> Ebenda.

<sup>14)</sup> Biochem. Zeitschr. **48** (1913).

<sup>15)</sup> Journ. Pharm. **5**, 449 (1914).

Nach v. Fürth und Lenk soll die Totenstarre unter dem Einfluß der postmortalen Säurebildung zustande kommen, während die Lösung der Starre an einer darauf folgenden Gerinnung des Muskeleiweißes, welche mit einem verminderten Wasserbindungsvermögen einhergeht, liegen soll. Nach der älteren Ansicht von Kühne wird die Totenstarre durch die Gerinnung des Muskelplasmas bewirkt, nach der von v. Fürth und Lenk erfolgt die Lösung der Totenstarre durch die Gerinnung des Plasmas<sup>1)</sup>.

In einer umfangreichen Arbeit setzt E. Příbram die verschiedensten physiologischen und pathologischen Prozesse mit der Quellung und Entquellung des Zellinhaltes in Verbindung<sup>2)</sup>. und die Bildungs- und Lösungsgeschwindigkeit sowie die Quellung von Gelatine wird von J. Traube und F. Köhler für die Erklärung mancher Prozesse innerhalb des Organismus herangezogen<sup>3)</sup>.

<sup>1)</sup> Biochem. Zeitschr. **33**, 341 (1911).

<sup>2)</sup> Koll. chem. Beihefte **2**, 1 (1910).

<sup>3)</sup> Intern. Zeitschr. physik.-chem. Biol. **2**, 42 (1914).

## Aus der chemischen Reaktionslehre.

Wenn zwei oder mehrere Körper, welche aufeinander einzuwirken imstande sind, miteinander in Berührung gebracht werden, so verläuft die Reaktion in gewissen Fällen so rasch, daß dieselbe der Messung sich entzieht; in anderen Fällen kann man durch geeignete Mittel beobachten, wie die Reaktion allmählich fortschreitet. Beispiele von Reaktionen letzterer Art sind die Inversion von Rohrzucker durch eine sehr verdünnte Säure und die Saponifikation eines Esters durch Alkali. Im ersten Falle kann der Umsatz z. B. polarimetrisch verfolgt und im letzteren die Menge des nicht an Säure gebundenen Alkalis durch Titration bestimmt werden. In dem Maße wie der Ester zerlegt wird, geschieht nämlich die Bindung der freigewordenen Säure an das Alkali. Die Menge Substanz in Grammoleküle pro Liter, welche in der Zeiteinheit sich umsetzt, wird die Reaktionsgeschwindigkeit genannt.

Handelt es sich um eine Reaktion in einem homogenen Medium, das heißt ein System, das in allen seinen Punkten physikalisch und chemisch die gleiche Beschaffenheit besitzt, so kann die Reaktionsgeschwindigkeit nach dem sog. Gesetz der Massenwirkung, das zuerst von Guldberg und Waage ausgesprochen wurde, mathematisch hergeleitet werden. Das Gesetz besagt, daß die Reaktionsgeschwindigkeit in jedem Augenblicke der jeweiligen molekularen Konzentration der reagierenden Substanzen proportional ist. Sind die Molekulgattungen, welche in einer Reaktion teilnehmen  $A_1, A_2, A_3 \dots$  mit den molekularen Konzentrationen  $c_1, c_2, c_3 \dots$ , so ist nach dem Massenwirkungsgesetz und, unter der Voraussetzung, daß von jeder Molekulgattung nur ein Molekül in der Reaktion teilnimmt, die Reaktionsgeschwindigkeit

$$v = k \cdot c_1 \cdot c_2 \cdot c_3 \dots$$

wo  $k$  bei gegebener Temperatur eine von den Konzentrationen unabhängige Konstante bedeutet, welche der Geschwindigkeitskoeffizient (auch Geschwindigkeitskonstante) genannt wird. Nehmen von einer Molekulgattung zwei bzw. drei Moleküle in der Reaktion Teil, können wir die entsprechende Modifikation des obigen Ausdruckes der Reaktionsgeschwindigkeit dadurch herleiten, daß wir im ersten Falle  $c_2 = c_3$  setzen und im letzteren  $c_1 = c_2 = c_3$ . Wir bekommen dann für die Reaktionsgeschwindigkeit

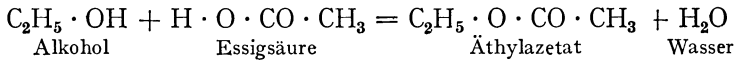
$$v = k \cdot c_1 \cdot c_2^2 \dots \text{ bzw. } v = k \cdot c_1^3 \dots$$

Es liegt in der Natur der Sache, daß infolge der Reaktion die Konzentrationen  $c_1, c_2, c_3 \dots$  in jedem Augenblicke vermindert werden; daraus folgt, daß auch die Reaktionsgeschwindigkeit in absolutem Maße stetig abnehmen muß, obwohl dieselbe immer den augenblicklichen Konzentrationen der darin

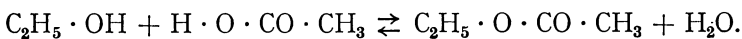


teilnehmenden Molekülgruppen proportional bleibt. Denken wir uns, daß  $c_1, c_2, c_3 \dots$  zu Anfang des Versuches alle = 1 sind und daß die infolge der Reaktion verbrauchten Moleküle durch Zugabe von neuen ersetzt werden und zwar ohne daß das Volumen der Lösung verändert wird, so würde nach der obigen Gleichung die Reaktionsgeschwindigkeit  $v = k$  bleiben. Hieraus folgt also, daß  $k$  die Reaktionsgeschwindigkeit bedeuten würde für den Fall, daß die Konzentrationen die ganze Zeiteinheit = 1 (ein Grammolekül pro Liter) gehalten werden könnte und alle störenden Einflüsse, z. B. die gebildeten Produkte entfernt würden. Je nach der Anzahl der Moleküle, welche in einer Reaktion teilnehmen und infolge derselben ihre Konzentration vermindern, werden die Reaktionen mono-, bi-, tri- usw. molekular oder Reaktionen erster, zweiter, dritter usw. Ordnung genannt. So ist z. B. die Vereinigung von Alkohol und Essigsäure unter Bildung von Äthylazetat und Wasser eine bimolekulare Reaktion.

Für das leichtere Verständnis wollen wir bei den folgenden Ausführungen ein konkretes Beispiel einer Reaktion wählen; aus mehreren Gründen eignet sich hierfür vorzüglich die eben berührte Reaktion zwischen Alkohol und Essigsäure. Die Reaktionsformel ist



Diese Reaktion ist ausgesprochen umkehrbar oder reversibel, d. h. dieselbe kann in beiden Richtungen vor sich gehen: werden Alkohol und Essigsäure zusammengemischt, geht die Reaktion von links nach rechts, werden Äthylazetat und Wasser miteinander in Berührung gebracht, findet der Umsatz von rechts nach links statt. Finden sich zur selben Zeit alle die vier Substanzen vorhanden, so kann die Reaktion in beiden Richtungen vor sich gehen. Nach dem Vorgange von van't Hoff führt man in die Reaktionsgleichung, um anzudeuten, daß es um einer umkehrbaren Reaktion sich handelt, anstatt des Gleichheitszeichens zwei übereinander stehende, nach entgegengesetzten Richtungen zeigende Pfeile ein ( $\rightleftharpoons$ ). Die obige Gleichung gestaltet sich also folgendermaßen:



Mischen wir Alkohol und Essigsäure und sind die molekularen Konzentrationen der Stoffe im Gemenge  $C_A$  bzw.  $C_E$ , so ist nach dem Massenwirkungsgesetze die Reaktionsgeschwindigkeit von links nach rechts

$$v_1 = k_1 \cdot C_A \cdot C_E,$$

wo  $k_1$  die Geschwindigkeitskonstante dieser Reaktion bedeutet. Zu Anfang, so lange als nur sehr geringe Mengen von Äthylazetat und Wasser gebildet sind, ist die Reaktionsgeschwindigkeit in der entgegengesetzten Richtung auch gering. In demselben Maße, wie größere Mengen von Äthylazetat und Wasser infolge der Reaktion entstehen, gewinnt aber die Reaktion von rechts nach links in Bedeutung. Sind in einem gegebenen Augenblicke  $C_{Ae}$  und  $C_w$  die molekularen Konzentrationen von Äthylazetat und Wasser, so ist nach dem Massenwirkungsgesetz die Reaktionsgeschwindigkeit dieser Reaktion

$$v_2 = k_2 \cdot C_{Ae} \cdot C_w,$$

wo  $k_2$  die Geschwindigkeitskonstante dieser Reaktion bedeutet. Die analytisch gemessene Reaktionsgeschwindigkeit der Bildung von Äthylazetat entspricht also der Differenz

$$k_1 \cdot C_A \cdot C_E - k_2 \cdot C_{Ae} \cdot C_w.$$

Mit der Zeit nimmt die Reaktionsgeschwindigkeit von links nach rechts ( $k_1 \cdot C_A \cdot C_E$ ) ab und die von rechts nach links ( $k_2 \cdot C_{Ae} \cdot C_w$ ) zu, und schließlich werden beide gleich, d. h. der Umsatz in beiden Richtungen ist derselbe. Von der Zeit ab können analytisch keine Veränderungen mehr im System nachgewiesen werden, und das System befindet sich in Gleichgewicht. Die besprochene Reaktion verläuft in keiner Richtung vollständig oder bis zum vollkommenen Verbrauch der reagierenden Bestandteile, sondern sie macht vorher Halt, indem bei eingetretenem Gleichgewicht alle vier reagierenden Bestandteile nebeneinander in Lösung vorhanden sind. In eben behandeltem Falle sind wir von einer Mischung von Alkohol und Essigsäure ausgegangen. Gehen wir umgekehrt von einem Gemenge entsprechender Mengen von Äthylazetat und Wasser aus, so gelangen wir auch schließlich zu einem Gleichgewichtszustand, wo sowohl Alkohol und Essigsäure wie Äthylazetat und Wasser zur selben Zeit vorhanden sind, und zwar sind die Mengen der vier Stoffe die gleichen wie im ersten Falle, wo von Alkohol und Essigsäure ausgegangen wurde. Man sagt deshalb, daß bei reversiblen Reaktionen derselbe Gleichgewichtszustand von beiden Seiten erreicht wird. Bringen wir also, um den einfachsten Fall zu wählen, 1 Mol Alkohol (46 g) mit 1 Mol Essigsäure (60 g) zusammen, oder 1 Mol Äthylazetat (88 g) mit 1 Mol Wasser (18 g), so enthält, wie die Erfahrung lehrt, das Reaktionsgemisch nach eingetretenem Gleichgewicht  $\frac{1}{3}$  Mol Alkohol,  $\frac{1}{3}$  Mol Essigsäure,  $\frac{2}{3}$  Mol Äthylazetat,  $\frac{2}{3}$  Mol Wasser.

Wie oben auseinandergesetzt wurde, ist im Gleichgewichtszustand

$$k_1 \cdot C_A \cdot C_E = k_2 \cdot C_{Ae} \cdot C_w$$

oder

$$\frac{C_A \cdot C_E}{C_{Ae} \cdot C_w} = \frac{k_2}{k_1} = K.$$

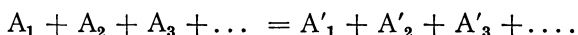
Da  $C_A$ ,  $C_E$ ,  $C_{Ae}$ ,  $C_w$  Größen sind, welche analytisch bestimmt werden können, läßt sich also der Quotient  $\frac{k_2}{k_1}$  berechnen, ohne daß  $k_1$  und  $k_2$  bekannt sind. Dieser Quotient ( $K$ ) wird die Gleichgewichtskonstante genannt. Sind  $k_1$  und  $k_2$  bekannt, läßt sich auch aus deren Werte  $K$  berechnen.

Häufig unterscheidet man zwischen umkehrbaren und nicht umkehrbaren Reaktionen. Letztere gehen bis zum vollständigen Verbrauch der beteiligten Stoffe, während die umkehrbaren irgendwo in der Mitte stehen bleiben. Doch dürfte es kaum angängig sein eine scharfe Grenze zwischen beiden Arten von Reaktionen zu ziehen. Im Gegenteil scheint es wahrscheinlich, daß in einem homogenen Systeme alle Reaktionen umkehrbar verlaufen, wenn auch in gewissen Fällen die Gleichgewichtslage so nahe dem vollständigen Umsatz nach der einen Seite liegt, daß der Unterschied analytisch sich nicht nachweisen läßt. Außerdem ist zu beachten, daß der Gleichgewichtszustand von der Temperatur abhängig ist, und daß folglich die Reversibilität einer Reaktion bei geeigneter Temperatur hervortreten könnte. An dieser Stelle soll auch der Unterschied zwischen exothermen und endothermen Reaktionen etwas besprochen werden. Die exothermen Reaktionen verlaufen unter Freiwerden von Wärme und die endothermen unter Aufnahme und Bindung derselben in latenter Form. Die freiwillig verlaufenden Reaktionen sind gewöhnlich exotherm. Wenn eine Reaktion exotherm verläuft, so geschieht die umgekehrte Reaktion endotherm, Ob in einem System die Reaktionen endotherm oder exotherm verlaufen, liegt nach dem Gesagten in hohem Grade an der Temperatur.

## Katalyse in einem homogenen Medium.

Bei der eben behandelten Reaktion zwischen Alkohol und Essigsäure geht die Reaktion rascher, d. h. die Reaktionsgeschwindigkeit wird größer, wenn dem Reaktionsgemische etwas Mineralsäure zugegeben wird. Dies gilt von der Reaktion in beiden Richtungen, und in der Gegenwart der zugesetzten Säure wird folglich die Gleichgewichtslage rascher erreicht als ohne derselben. Die Säure fördert die Reaktion ohne nachweisbar in derselben teilzunehmen.

Schon Berzelius hatte gefunden, daß gewisse Körper durch ihre bloße Gegenwart und nicht durch ihre Verwandtschaft die bei einer gegebenen Temperatur schlummernden Verwandtschaften zu erwecken vermögen<sup>1)</sup>. Solche Erscheinungen werden nach Berzelius katalytische genannt. Nach der heutigen, von W. Ostwald formulierten Anschauung ist Katalyse die Beschleunigung (oder Verlangsamung) eines chemischen Vorganges durch die Gegenwart eines fremden Stoffes<sup>2)</sup>. Diejenige Substanz, welche in eben genannter Weise eine Reaktion beeinflusst, wird Katalysator genannt. Dieselbe erleidet infolge der Reaktion keine wesentlichen Änderungen. Nach dieser Ansicht wird der Gleichgewichtszustand ausschließlich durch das Massenwirkungsgesetz bestimmt. Ist die Reaktionsformel

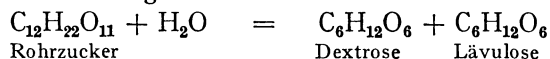


und die entsprechenden molekularen Konzentrationen  $c_1, c_2, c_3, \dots$  bzw.  $c'_1, c'_2, c'_3, \dots$ , so ist, wie oben auseinandergesetzt wurde, das Gleichgewicht durch die Formel  $k_1 \cdot c_1 \cdot c_2 \cdot c_3 \dots = k'_1 \cdot c'_1 \cdot c'_2 \cdot c'_3 \dots$  (1)

bestimmt. Der Katalysator wirkt auf die Gleichgewichtslage nicht ein, nur auf die Geschwindigkeit, mit welcher dieselbe erreicht wird. Deshalb ist sowohl die Menge des Katalysators wie auch dessen Art für das schließliche Gleichgewicht ohne Belang. Von dieser Regel bilden diejenigen Fälle eine Ausnahme, wo der Katalysator in der Reaktion teilnimmt, z. B. bei der Zersetzung eines Esters mit Hilfe von Alkali als Katalysator, wo das Alkali durch die freigemachte Säure gebunden wird.

Die weitere Ausführung bezüglich der Katalyse geschieht am besten an der Hand von Beispielen.

Die katalytisch beeinflussbaren Reaktionen sind namentlich von Wilhelm<sup>3)</sup>, van't Hoff<sup>4)</sup>, Wilh. Ostwald<sup>5)</sup>, Arrhenius<sup>6)</sup> und Bredig<sup>7)</sup> studiert worden. Vor allen anderen Substanzen sind Säuren und Alkalien katalytisch wirksam. Ein wohl bekanntes Beispiel einer durch Katalyse ausführbaren Reaktion besitzen wir in der Inversion des Rohrzuckers. Diese Reaktion geschieht bekanntlich nach folgender Formel:



Bedeutet in einem gegebenen Augenblicke die mol. Konzentrationen von Rohrzucker und Wasser  $c_1$  bzw.  $c_2$ , so ist also der Ausdruck der Reaktionsgeschwindigkeit in diesem Augenblicke  $= k \cdot c_1 \cdot c_2$ , wo  $k$  der Geschwindigkeitskoeffizient bedeutet. Geschieht die Reaktion in verdünnter Lösung, so kann die infolge der Reaktion stattfindende Veränderung der Konzentration des Wassers

<sup>1)</sup> Arsberättelse om framstegen i Fysik och Kemi **13**, 245 (1836).

<sup>2)</sup> Lehrb. d. allg. Chem. 2. Aufl. II, **1**, 515.

<sup>3)</sup> Poggend. Ann. **81**, 413 (1850). <sup>4)</sup> Etudes de dynam. chim. 1884.

<sup>5)</sup> Lehrb. d. allg. Chem. 2. Aufl. **2**, 199.

<sup>6)</sup> Zeitschr. physik. Chem. **4**, 226 (1889).

<sup>7)</sup> Anorg. Fermente 1901, Biochem. Zeitschr. **6**, 283 (1907).

vernachlässigt werden;  $c_2$  kann folglich als konstant betrachtet und in  $k$  einbegriffen werden. Der obige Ausdruck der Reaktionsgeschwindigkeit nimmt also folgende Form an  $k \cdot C$ , wenn wir nunmehr die Konzentration des Rohrzuckers mit  $C$  bezeichnen, und die Reaktion kann als monomolekular betrachtet werden, da nur eine Molekülart infolge derselben ihre Konzentration ändert und deren Konzentration im mathematischen Ausdruck der Reaktionsgeschwindigkeit nur in der ersten Potenz vorkommt. Beträgt nun die Konzentration des Rohrzuckers zu Anfang  $C$  Mole und sind zur Zeit  $t$  bereits  $x$  Mole umgewandelt, so sind zu der Zeit noch  $C-x$  Mole übrig. Diese Zahl gibt uns folglich die Konzentration des Rohrzuckers zur Zeit  $t$ . Da diese Konzentration in jedem Augenblicke sich ändert, müssen wir den Umsatz für eine so kurze Zeit in Rechnung nehmen, daß die Konzentration des Rohrzuckers während dieser Zeit ohne merkbaren Fehler als konstant betrachtet werden kann. Ist diese Zeit  $dt$  und ist  $dx$  der entsprechende Umsatz von Rohrzucker, so ist  $\frac{dx}{dt}$  die Reaktionsgeschwindigkeit.

Zur Zeit  $t$  haben wir also

$$\frac{dx}{dt} = k \cdot (C - x).$$

Für den praktischen Gebrauch wird diese Gleichung durch Integration in die folgende übergeführt:

$$k = \frac{1}{t} \cdot \log \text{nat} \frac{C}{C-x} \cdot 2.303.$$

Wenn die theoretischen Erwägungen, auf welche die Formel sich gründet, richtig sind, müssen die mit Hilfe der polarimetrisch ermittelten anfänglichen Konzentration ( $C$ ) und der Konzentration ( $C-x$ ) zur Zeit  $t$  berechneten Werten für  $k$  konstante Zahlen ergeben. In folgender Tabelle sind die aus den Versuchsziffern von Wilhelmy berechneten Zahlen eingetragen<sup>1)</sup>:

$t$	Drehungswinkel	$\log \frac{C}{C-x}$	$\frac{1}{t} \cdot \log \frac{C}{C-x}$
0	46,75	—	—
15	43,75	0,0204	0,001306
30	41	0,0399	0,001330
45	38,25	0,0605	0,001344
60	35,75	0,0799	0,001332
75	33,25	0,1003	0,001337
90	30,75	0,1217	0,001352
105	28,25	0,1441	0,001371
120	26	0,1655	0,001379
150	22	0,1981	0,001321
180	18,25	0,2480	0,001378
210	15	0,2880	0,001371
240	11,50	0,3358	0,001399
270	8,25	0,3851	0,001425
330	2,75	0,4843	0,001465
390	— 1,75	0,5842	0,001499
450	— 4,50	0,6611	0,001471
510	— 7	0,7447	0,001463
570	— 8,75	0,8142	0,001431
630	— 10,80	0,8735	0,001386
$\infty$	— 18,70	—	—

<sup>1)</sup> Über die Herleitung dieser Formel sowie anderer, welche Kenntnis der Integralrechnung voraussetzen, siehe z. B. „Einführung in die mathematische Behandlung der Naturwissenschaften“ von Nernst und Schönflies, 10. Aufl. 1923.

<sup>2)</sup> Ostwald: Lehrbuch der allgemeinen Chemie. II, 2, 202.

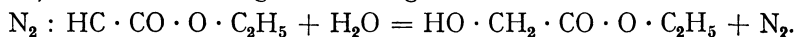
Zur Zeit  $t = 0$  ist der Drehungswinkel der der ursprünglichen Zuckerlösung; für die Zeit  $t = \infty$  entspricht der Drehungswinkel der vollständig invertierten Zuckerlösung. Folglich ist  $C = 46,75 + 18,70 = 65,45$  und  $x$  ist gleich  $46,75$  minus dem jeweilig beobachteten Drehungswinkel zu setzen. Nach der Theorie würden die Zahlen der letzten Kolumne gleich sein, welche Forderung auch annähernd erfüllt ist. Das Anwachsen der Werte bis  $t = 390$  und ihre Abnahme darüber hinaus, erklärt sich völlig aus der wechselnden Temperatur, welcher die Lösung ausgesetzt war. Diese betrug anfangs  $15,5^{\circ}$ , war bei  $t = 360$  auf  $18^{\circ}$  gestiegen und nahm schließlich wieder bis auf  $14,5^{\circ}$  ab.

Die gleichen Werte für  $k$  werden folglich zu verschiedenen Zeiten mit demselben Reaktionsgemisch, d. h. mit unveränderter Menge Säure erhalten. Bei unveränderter Katalysatormenge ist also  $k$  konstant. Wird aber in verschiedenen Versuchen die Menge des Katalysators (der Säure) verschieden genommen, so erweisen sich die erhaltenen Werte für  $k$  der Konzentration der H-Ionen proportional, mindestens wenn sehr verdünnte Säure angewandt wird. So fand Palmaer mit Salzsäure folgende Werte<sup>1)</sup>:

Konz. der Säure norm.	Konz. der H-Ionen, $C_H$	$k$	$\frac{k}{C_H}$
0,00995	0,00984	0,001833	0,1863
0,00704	0,00699	0,001303	0,1863
0,00500	0,00498	0,0009248	0,1857
0,002057	0,002057	0,0003793	0,1844
0,00089	0,00089	0,0001830	0,1851

Diese Tatsache, die auch für andere durch Säuren vermittelte katalytische Reaktionen sich bewährt hat, ist so gedeutet worden, daß die katalytische Wirkung der Säuren durch die H-Ionen bedingt ist (Arrhenius)<sup>2)</sup>. Allerdings kommen hier Unregelmäßigkeiten vor, indem bei höheren Säurekonzentrationen die Inversionsgeschwindigkeit mit starken Säuren rascher als der Säurekonzentration proportional ansteigt, während mit den H-Ionen nach den Dissoziationsgesetzen das Umgekehrte der Fall ist (S. 11). Dieses Verhältnis ist von Arrhenius so formuliert worden, daß durch die Gegenwart anderer Ionen die katalytische Wirksamkeit der H-Ionen gesteigert wird. Die negativen Ionen der starken Säuren erhöhen also in irgendwelcher Weise die Wirkung der H-Ionen. Auch nimmt die invertierende Wirkung einer starken Säure in der Gegenwart ihrer Neutralsalze zu, was auf die Salzionen zurückgeführt wird. Schwache Säuren dagegen werden in ihrer Wirkung durch die Gegenwart ihrer Salze stark gehemmt. Dies liegt andererseits daran, daß bei schwach dissoziierten Stoffen die Zugabe einer Substanz, welche mit dem ersten ein gemeinsames Ion besitzt, die Dissoziation des ersten Stoffes zurückdrängt. So wird z. B. die Dissoziation der Essigsäure durch die Gegenwart eines Azetates stark zurückgedrängt. Die theoretische Begründung dieser Verhältnisse ist bereits oben angegeben (S. 63 u. 64).

Eine schöne Bestätigung für den Satz, daß der Geschwindigkeitskoeffizient der Konzentration der H-Ionen proportional ist, hat Fraenkel in der Zersetzung von Diazoessigäther unter dem Einfluß von verschiedenen Säuren gefunden<sup>3)</sup>. Die Reaktion geht wie folgt:



<sup>1)</sup> Zeitschr. physik. Chem. **22**, 492 (1894).

<sup>2)</sup> Ebenda **4**, 226 (1889).

<sup>3)</sup> Ebenda **60**, 202 (1907).

Der Verlauf kann durch Messung des freigelegten Stickstoffs verfolgt werden. Folgende Zahlen mögen angeführt werden:

Säure	Konz. d. Säure in Mol. per Liter	$\frac{C_H}{\text{Leitfähigkeit}}$ Konz. d. H-Ionen aus elektr. Leitfähigkeit	$k$ Geschwindig- keitskoeffizient	$\frac{k}{C_H}$
Salpetersäure . . . . .	0,00182	0,00182	0,0703	38,7
	0,000909	0,000909	0,0346	38
Pikrinsäure . . . . .	0,000909	0,000909	0,0356	39,2
	0,000364	0,000364	0,014	38,3
m-Nitrobenzoesäure . . . . .	0,0099	0,00168	0,0632	37,7
Fumarsäure . . . . .	0,00364	0,00146	0,0571	39,1
Bernsteinsäure . . . . .	0,00909	0,000724	0,025	38,5
Essigsäure . . . . .	0,0182	0,000563	0,0218	38,7

Da  $\frac{k}{C_H}$  für verschiedene Säuren und Säuremengen die gleichen Werte gibt, ist der Geschwindigkeitskoeffizient auch hier der Konzentration der H-Ionen proportional.

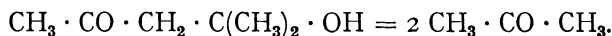
Wie oben erwähnt, wird die Bildung von Estern ebenso wie deren Zerlegung in Alkohol und Säure durch die Gegenwart einer Säure beschleunigt (S. 98). Beide Prozesse können durch Titrieren mit Alkali verfolgt werden. Über den letzteren Verlauf, wobei die titrierbare Menge Säure mit der Zeit zunimmt, hat Ostwald folgende Messungsserie ausgeführt, wobei Methylazetat in sehr verdünnter Lösung mit Salzsäure als Katalysator zerlegt wurde.

t	x	$\log \frac{C}{C-x}$	$\frac{1}{t} \cdot \log \frac{C}{C-x}$
14	0,92	0,0292	0,00209
34	2,14	0,0716	0,00211
59	3,52	0,1249	0,00212
89	4,91	0,1858	0,00209
119	6,1+	0,2487	0,00209
159	7,59	0,3354	0,00211
199	882,	0,4260	0,00214
239	977,	0,5129	0,00214
299	10,88	0,6402	0,00214
399	12,13	0,8539	0,00214
539	13,09	1,1427	0,00213
00	14,11	—	—

Die zweite Spalte ergibt die Menge des zersetzten Esters in ccm Barytwasser ausgedrückt. Wie ersichtlich, sind die Ziffern der letzten Spalte praktisch dieselben, was mit der Theorie übereinstimmt. Wie zu erwarten war, ist folglich auch diese Reaktion in verdünnter Lösung eine monomolekulare.

Wie die katalytische Wirkung der Säuren durch die H-Ionen bedingt ist, so liegen die katalytischen Eigenschaften der Basen an den OH-Ionen. Der erste kinetisch gemessene Fall dieser Art war die Umwandlung von Hyoscyamin in das stabilere Atropin<sup>1)</sup>.

Einen besonders schönen Fall von katalytischer Wirkung der OH-Ionen hat Koelichen bei dem Zerfall des Diazetonalkohols zu Azeton untersucht<sup>2)</sup>:



<sup>1)</sup> Ber. d. chem. Ges. **21**, 2777 (1888).

<sup>2)</sup> Zeitschr. physik. Chem. **33**, 129 (1900).

Die Reaktion ist reversibel und aus folgender Tabelle ist zu ersehen, daß die Gleichgewichtskonstante für verschiedene Konzentrationen desselben Katalysators, sowie auch beim Gebrauch verschiedener Basen die nämliche bleibt.

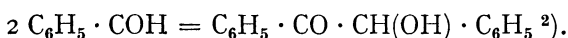
Katalysator	Konz. des Katalysator	Gleichgewichtskonstante
Piperidin . . . . .	0,109	0,038
Triäthylamin . . . . .	0,49	0,036
Ammoniak . . . . .	0,55	0,038
Tetraäthylammoniumhydroxyd .	} 0,076 0,0076	0,037
		0,037
Natriumhydroxyd . . . . .	} 0,0725 0,0072	0,036
		0,035

Hierdurch wird der von van't Hoff und Ostwald auf thermodynamischen Weg bewiesene Satz bestätigt, daß das Gleichgewicht bei konstanter Temperatur mit der Menge und der Art des Katalysators sich nicht verschieben kann, wenn der Katalysator durch die Reaktion nicht verändert wird (S. 100)<sup>1)</sup>.

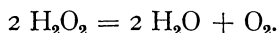
Außer den H- und OH-Ionen können auch andere Ionengattungen katalytisch wirksam sein. Zu diesen gehören

1. Jodionen, welche  $\text{H}_2\text{O}_2$  zerlegen,

2. Zyanionen, welche z. B. Benzaldehyd zu Benzoin nach folgender Gleichung überführen



Unter solchen Reaktionen wollen wir die Zerlegung von  $\text{H}_2\text{O}_2$  unter dem Einfluß von J-Ionen etwas näher ins Auge fassen. Diese Reaktion geschieht nach der Formel



Die Zerlegung folgt, wie Bredig und Walton fanden, der oben gegebenen Gleichung einer monomolekularen Reaktion<sup>3)</sup>. Die aus der Formel

$$k = \frac{1}{t} \cdot \log \frac{C}{C-x}$$

berechneten Werte für k waren also konstant. Die J-Ionen wurden in Form von Jodiden zugegeben. Mit stark verdünnten Alkalijodiden wurden für k Werte erhalten, welche den Konzentrationen der Jodide oder (der Jodionen) proportional waren.

Der Quotient  $\frac{k}{\text{Konzentration}}$  wurde also konstant gefunden. Mit KJ wurden folgende Werte erhalten:

$\text{C}_{\text{KJ}}$ Mol. per Liter	k	$\frac{k}{\text{C}_{\text{KJ}}}$
0,00699	0,00945	1,35
0,01032	0,01393	1,35
0,02065	0,02787	1,35
0,02317	0,03088	1,33
0,03082	0,04100	1,33
0,03684	0,04761	1,29

<sup>1)</sup> van't Hoff: Vorlesungen 1, 211.

<sup>2)</sup> Stern: Zeitschr. physik. Chem. 50, 513 (1905).

<sup>3)</sup> Ebenda 47, 185 (1904).

Mit Kadmiumjodid, bei welchem Salze die Dissoziation sehr mit der Konzentration sich ändert, indem dieselbe viel stärker als bei den Alkalijodiden mit der Verdünnung zunimmt, erwies sich aber der Quotient  $\frac{k}{C_{CdJ_2}}$  von der Konzentration des Salzes in hohem Grade abhängig, wie aus folgender Tafel hervorgeht:

$C_{CdJ_2}$ Mol. per Liter	k	$\frac{k}{C_{CdJ_2}}$
0,00976	0,00947	0,97
0,0389	0,02796	0,72
0,0842	0,0453	0,54

Zusatz von Stoffen wie Jod oder  $HgCl_2$ , welche mit dem Jodion komplexe Ionen bilden und dadurch die Konzentration der Jodionen vermindern, verzögerte die Reaktion, und diese Verzögerung war der Konzentrationsabnahme des Jodions direkt proportional.

Aus den angeführten Beispielen von Reaktionen erster Ordnung (monomolekularen Reaktionen), welche katalytisch beeinflußt werden, geht also folgendes hervor:

1. Bei gegebener Katalysatormenge ist die Reaktionsgeschwindigkeit der jeweiligen Konzentration der reagierenden Substanz proportional. Dies geht aus der Tatsache hervor, daß aus der Formel

$$k = \frac{1}{t} \cdot \log \frac{C}{C-x}$$

für k nach verschiedenen Zeiten die gleiche Zahl erhalten wird.

2. Wird in verschiedenen Versuchen die Katalysatormenge variiert, so wird k der Menge des Katalysators proportional gefunden. Nach der S. 98 hergeleiteten Bedeutung von k kann dies auch so ausgedrückt werden, daß bei konstant gehaltener Konzentration der reagierenden Substanz die Reaktionsgeschwindigkeit der Katalysatormenge proportional ist.

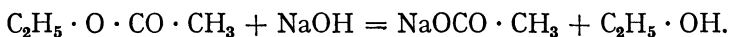
Fassen wir das unter 1 und 2 Gesagte zusammen, so ergibt sich, daß die Reaktionsgeschwindigkeit der jeweiligen Konzentration der sich umsetzenden Substanz sowie auch der des Katalysators proportional ist. Dies ist aber nichts anderes als der mathematische Ausdruck für das Massenwirkungsgesetz, das wir also auch für die angeführten katalytischen Reaktionen bestätigt gefunden haben. Da indessen die Konzentration des Katalysators nicht durch die Reaktion beeinflußt wird, bleibt die Reaktion eine der ersten Ordnung. Für den Fall, daß Wasser in der Reaktion teilnimmt (hydrolytische Spaltungsprozesse) setzt die obige Ausführung im voraus, daß die Reaktion in einer so verdünnten Lösung vor sich geht, daß die infolge der Reaktion stattfindende Verminderung der Konzentration des Wassers vernachlässigt werden kann.

In einem der oben angeführten Versuche finden wir auch den Satz experimentell bestätigt, daß das schließliche Gleichgewicht von der Art und Menge des Katalysators unabhängig ist (S. 104).

Die bisher kinetisch behandelten Reaktionen waren alle erster Ordnung. Diese haben auch bis jetzt vom biologischen Standpunkte das größte Interesse. Es erübrigt aber auch die Reaktionen höherer Ordnungen etwas zu berühren. Dies geschieht wiederum am besten durch konkrete Beispiele. Das klassische Beispiel einer Reaktion zweiter Ordnung bildet die Verseifung der Ester. Bringt man eine Base mit einem Ester zusammen, so bildet sich allmählich der betreffende Alkohol und das Salz der Base mit der im Ester vorhandenen



Säure. In dem Falle von Äthylazetat und Natronlauge verläuft also die Reaktion nach der Formel:



Der Einfachheit wegen wollen wir annehmen, daß die beiden reagierenden Substanzen anfangs in äquivalenten Mengen vorhanden sind. Ist also A diese molekulare Konzentration und sind zur Zeit t bereits x Mole Salz oder Alkohol gebildet, so ist zu der Zeit die molekulare Konzentration der beiden reagierenden Substanzen (A—x) Mole. Folglich haben wir nach dem Massenwirkungsgesetz für die Reaktionsgeschwindigkeit

$$\frac{dx}{dt} = k \cdot (A - x) (A - x) = k (A - x)^2.$$

Durch Integration erhält man

$$k = \frac{x}{t (A - x) A}.$$

Da (A — x) durch Titration der zur Zeit t vorhandenen Menge Base leicht und scharf bestimmt werden kann, so läßt sich also k zu verschiedenen Zeiten berechnen. A bedeutet die anfängliche molekulare Konzentration des Esters und der Lauge und ist folglich konstant. Die obige Gleichung kann folgendermaßen umgeformt werden

$$Ak = \frac{x}{t (A - x)},$$

wo Ak eine konstante Zahl sein muß, wenn die theoretischen Voraussetzungen, auf welche die Formel sich gründet, richtig sind.

Folgende Tabelle über Zahlen, die Warder mit Äthylazetat und NaOH erhielt, bestätigt dies<sup>1)</sup>:

t (Min.)	x	$\frac{x}{A-x}$	Ak
5	5,76	0,563	0,113
15	9,87	1,601	0,107
25	11,68	2,705	0,108
35	12,59	3,69	0,106
55	13,69	5,94	0,108
120	14,90	13,55	0,113

A war hier = 16 ccm Säure.

Messungen von Reicher<sup>2)</sup> ergeben, daß die starken Basen NaOH, KOH, Ca(OH)<sub>2</sub>, Sr(OH)<sub>2</sub>, Ba(OH)<sub>2</sub> in äquivalenten Konzentrationen für k nahezu die gleichen Werte ergeben, während NH<sub>3</sub> einen viel geringeren Wert liefert. Die Ester verschiedener Fettsäuren werden um so langsamer verseift, je größere Moleküle sie besitzen. Die Verseifung durch verschiedene Basen ist von Ostwald eingehend untersucht worden<sup>3)</sup>. Derselbe fand, daß unter den Basen einerseits Kali und Natron am schnellsten und andererseits Ammoniak und Allylamin am langsamsten verseifen. Bei Anwendung von starken Basen fand er konstante Werte für k, bei den schwachen Basen wie Ammoniak und den meisten Aminen versagt aber die obige Formel durchaus. Bei der Verseifung von Äthylazetat mit Ammoniak wurden für k folgende Zahlen erhalten:

<sup>1)</sup> Ber. d. chem. Ges. **14**, 1361 (1881).

<sup>2)</sup> Ann. Chem. Pharm. **228**, 257 (1885).

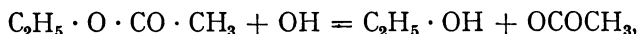
<sup>3)</sup> Journ. pr. Chem. **35**, 112 (1887).

t	k
60	1,64
160	1,17
240	1,04
420	0,817
1470	0,484

Den Grund dieser Erscheinung fand Ostwald in dem während der Reaktion gebildeten Ammoniumazetat, und die Erklärung wurde bald darauf von Arrhenius gegeben.

Arrhenius fand nämlich zunächst, daß die Verseifungsgeschwindigkeit mit starken Basen durch die Gegenwart von äquivalenten Mengen Neutralsalzen derselben Base nur gering (um weniger als 1<sup>0</sup>/<sub>10</sub>) geändert wird, während diejenige mit Ammoniak durch die Gegenwart von Ammoniumsalzen außerordentlich stark herabgedrückt wird<sup>1)</sup>.

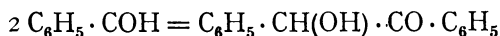
Nimmt man nun an, daß die OH-Ionen der Basen das bei der Reaktion wirksame Agens sind, nach der Formel



so kommt nur der dissoziierte Anteil der Base für die Reaktion in Betracht. Bestimmend für die Reaktionsgeschwindigkeit wird also nicht die molekulare Konzentration des Alkalihydrates, sondern die der OH-Ionen. Bei den starken Basen, die nahe ebensoweit wie das bei der Reaktion entstehende Neutralsalz dissoziiert sind, bleibt der Dissoziationsgrad der Base während des Reaktionsverlaufes konstant; werden nämlich zwei gleichionige, gleich dissoziierte Elektrolyte vermischt, erfahren dieselben dabei keine Änderung des Dissoziationsgrades. Die Konzentration der OH-Ionen erfährt also infolge der Salzbildung keine wesentliche Änderung<sup>2)</sup>.

Anders liegt aber die Sache, wenn eine schwache Base, z. B. Ammoniak, angewandt wird. Der Dissoziationsgrad der Base ist nämlich in dem Falle viel geringer als der des gebildeten Salzes. Darum wird derselbe durch die Gegenwart des Salzes in hohem Grade zurückgedrängt in der gleichen Weise wie die Dissoziation einer schwachen Säure durch ein Salz derselben (S. 63 u. 64). Daraus folgt aber, daß die Verminderung der Konzentration der OH-Ionen einer schwachen Base während der Verseifung größer sein muß als die, welche dadurch zustande kommt, daß ein Teil der Base an die Säure gebunden wird. Deshalb muß der Geschwindigkeitskoeffizient (k) mit der Zeit abnehmen.

Ein Beispiel einer katalytisch beeinflussbaren Reaktion zweiter Ordnung finden wir auch in der oben (S. 104) besprochenen Benzoinbildung unter dem Einfluß von Cy-Ionen nach der Formel



Die Formel

$$k = \frac{1}{t} \frac{x}{(A-x)A}$$

ergab also nach verschiedenen Zeiten in demselben Versuche konstante k-Werte und ferner erwiesen sich die mit verschiedenen Konzentrationen der Cy-Ionen

<sup>1)</sup> Zeitschr. physik. Chem. 1, 110 (1887).

<sup>2)</sup> Ebenda 2, 284 (1888).

erhaltenen  $k$ -Werten den Konzentrationen der Cy-Ionen, oder da die Alkalizyanide sehr weitgehend dissoziiert sind, der Alkalizyanide proportional. Diese Proportionalität ist aus folgender Tafel zu ersehen.

Mol. Benzaldehyd per Liter	$C_{\text{KCy}}$	$k$	$\frac{k}{C_{\text{KCy}}}$
0,3181	0,050	0,0045	0,090
0,5299	0,067	0,0061	0,091
0,3821	0,100	0,0086	0,086
0,2641	0,132	0,0122	0,092
0,7641	0,200	0,0177	0,089
0,5293	0,200	0,0186	0,093
0,3800	0,200	0,0179	0,089
0,2316	0,200	0,0178	0,089
0,5277	0,264	0,0226	0,086
0,5304	0,300	0,0258	0,086
0,2636	0,400	0,0340	0,085

Für Reaktionen dritter Ordnung, für den Fall, daß äquivalente Mengen ( $A$ ) der drei reagierenden Substanzen vorhanden sind, ergibt sich die Formel

$$\frac{dx}{dt} = k \cdot (A - x)^3$$

oder integriert

$$k = \frac{1}{t} \cdot \frac{x(2A - x)}{2A^2(A - x)^2}$$

Solche Reaktionen haben aber bisher kein biologisches Interesse und dieselben werden folglich hier übergangen.

In der vorangehenden Darstellung ist die Reaktionsgeschwindigkeit nur in einer Richtung der Reaktionsformel berücksichtigt worden. Nun verlaufen aber viele Reaktionen in beiden Richtungen, d. h. sie sind nach der bereits angewandten Terminologie umkehrbar. In solchen Fällen ist der analytisch gemessene Umsatz die algebraische Summe der in beiden Richtungen stattgefundenen Reaktionen. Die Invertierung des Rohrzuckers geht praktisch bis zum vollständigen Verbrauch des Rohrzuckers; die Reaktion ist nicht nachweisbar reversibel und die Formel

$$\frac{dx}{dt} = k \cdot C$$

$$\text{oder} \quad k = \frac{1}{t} \cdot \log \frac{C}{C - x}$$

ist für den ganzen Verlauf in Geltung. Anders stellt sich aber die Sache bei einer umkehrbaren Reaktion. Zu diesen gehört, wie bereits erwähnt, die Bildung und Spaltung von Estern mit oder ohne die Gegenwart von Säure (S. 98). Geht man von  $a$  Molen Alkohol und  $a$  Molen Essigsäure aus und ist  $x$  die zur Zeit  $t$  gebildete Estermenge in Molen, so ist zu der Zeit die Konzentration der zurückgebliebenen Mengen von Alkohol und Essigsäure ( $a - x$ ) und die Mengen von Ester und Wasser  $x$ . Die Geschwindigkeit der Esterbildung ist folglich nach dem Gesagten  $= k(a - x)^2$  und die der Esterspaltung  $= k_1 x^2$ . Der gemessene Umsatz entspricht also

$$\frac{dx}{dt} = k(a - x)^2 - k_1 x^2,$$

wo  $k$  und  $k_1$  die Geschwindigkeitskonstanten der beiden Reaktionen bedeuten<sup>1)</sup>.

<sup>1)</sup> Über die Integration dieser Formel siehe Nernst und Schönflies, Einführung in die mathematische Behandlung der Naturwissenschaften.

Setzt man zu viel Alkohol und Wasser nur wenig Säure, so kann die Konzentration des Wassers sowie die des Alkohols als konstant betrachtet werden. Beide Reaktionen werden alsdann monomolekular, und die Reaktionsgeschwindigkeit vereinfacht sich zu

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

wo  $a$  die anfängliche Konzentration der Säure bedeutet und  $x$  die zur Zeit  $t$  gebildete Estermenge. Diese Differentialgleichung ergibt beim Integrieren

$$k + k_1 = \frac{1}{t} \cdot \log \text{nat} \frac{K \cdot a}{K \cdot a + (1 + K) \cdot x}$$

wo  $K = \frac{k}{k_1}$  bedeutet.  $K$  ist also die Gleichgewichtskonstante und kann aus dem Gleichgewichtszustand bestimmt werden (S. 99). Der auf der rechten Seite stehende Ausdruck kann also zu jeder beliebigen Zeit bestimmt werden und muß konstante Werte ergeben. Bei Überschuß an Wasser (nicht an Alkohol) geht die Reaktion praktisch nur in einer Richtung bis zur vollständigen Aufspaltung des Esters (S. 103).

## Reaktionsgeschwindigkeit und Temperatur.

Bei den obigen Ausführungen über Reaktionsgeschwindigkeit und Gleichgewicht wurde vorausgesetzt, daß die Temperatur konstant gehalten wurde. Die Reaktionsgeschwindigkeit wird nämlich in sehr hohem Grade durch Temperaturunterschiede beeinflußt. Nach van't Hoff zeigen die meisten Reaktionen beim Ansteigen der Temperatur um  $10^0$  eine Verdoppelung bis Verdreifachung der Reaktionsgeschwindigkeit <sup>1)</sup>. Die Geschwindigkeitskonstante  $k$  bei verschiedenen Temperaturen stellte sich bei Versuchen von Spöhr über die Inversion von Rohrzucker mit HBr und mit Essigsäure folgendermaßen <sup>2)</sup>:

HBr		Essigsäure	
Temp.	$k$	Temp.	$k$
25 <sup>0</sup>	9,67	25 <sup>0</sup>	0,067
40	75,35	40	0,537

Die Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Temperatur wird meistens durch eine von Arrhenius zunächst empirisch begründete Formel von folgendem Aussehen wiedergegeben <sup>3)</sup>:

$$k_{T_1} = k_{T_0} \cdot e^{A \left( \frac{1}{T_0} - \frac{1}{T_1} \right)}$$

wo  $k_{T_1}$  und  $k_{T_0}$  die Geschwindigkeitskoeffizienten bei den absoluten Temperaturen  $T_1$  und  $T_0$ ,  $A$  eine Konstante und  $e$  die Basis des natürlichen Logarithmus-systems bedeuten. Von der theoretischen Begründung der Formel wird hier abgesehen. Für den praktischen Gebrauch der Formel wird dieselbe logarithmiert:

$$\lg k_{T_1} = \lg k_{T_0} + A \left( \frac{1}{T_0} - \frac{1}{T_1} \right) 0,4343,$$

da  $\log e = 0,4343$ .

<sup>1)</sup> Chem. Dynamik S. 225.

<sup>2)</sup> Journ. prakt. Chem. **32**, 32 (1885).

<sup>3)</sup> Zeitschr. physik. Chem. **4**, 226 (1889).

In den meisten observierten Fällen stimmt die Formel sehr gut mit der Erfahrung überein. Bei der Verseifung von Äthylazetat mit NaOH fand Warder folgende Zahlen für  $k$ , welche unter  $k$  ber. mit den nach Arrhenius' Formel erhaltenen verglichen werden<sup>1)</sup>:

Temp.	$k$	$k$ ber.	Temp.	$k$	$k$ ber.
3 <sup>o</sup> ,6	1,42	1,48	23,6	6,01	5,78
5,5	1,68	1,70	27,0	7,24	7,16
7,2	1,92	(1,92)	28,4	8,03	7,81
11,0	2,56	2,51	30,4	8,88	8,82
12,7	2,87	2,82	32,9	9,87	10,24
19,3	4,57	4,38	34,0	10,92	(10,92)
20,9	4,99	4,86	35,0	11,69	11,60
			37,7	13,41	13,59

Aus dem Gesagten ist zu ersehen, daß der Geschwindigkeitskoeffizient einer Reaktion in sehr hohem Grade von der Temperatur abhängig ist. Da die Gleichgewichtskonstante von den Geschwindigkeitskoeffizienten der beiden entgegengesetzten Reaktionen abhängig ist (S. 99), so wird auch in den meisten Fällen die Gleichgewichtslage von der Temperatur abhängig. Mit Rücksicht hierauf gilt die Regel, daß, wenn ein System bei konstant erhaltenem Volumen erwärmt wird, so findet eine Verschiebung des Gleichgewichtes nach derjenigen Seite hin statt, nach welcher die Reaktion unter Wärmeverbrauch verläuft. Der Umsatz von Essigsäure und Alkohol zu Wasser und Ester ist mit keiner merklichen Wärmeentwicklung oder Wärmeabsorption begleitet; folglich ist der Gleichgewichtszustand zwischen diesen Stoffen von der Temperatur praktisch unabhängig.

Die Abhängigkeit des Gleichgewichtszustandes von dem Drucke folgt einem mit dem erwähnten parallelen Gesetz, das folgendermaßen formuliert werden kann: Komprimieren wir ein chemisches System bei konstant erhaltener Temperatur, so findet eine Verschiebung des Gleichgewichtes nach derjenigen Seite hin statt, nach welcher die Reaktion mit einer Volumenverminderung verknüpft ist. Die Löslichkeit eines Salzes in Wasser z. B. wird mit dem Druck zunehmen, wenn das Auflösen des Salzes mit einer Kontraktion von Lösungsmittel + Salz verbunden ist, und umgekehrt abnehmen, wenn das Totalvolumen beim Auflösen zunimmt.

Da die Reaktionsgeschwindigkeit mit der Temperatur zunimmt, so kann es eintreffen, daß eine beim Erhitzen glatt verlaufende Reaktion bei niedriger Temperatur so langsam von statten geht, daß keine merkbare Veränderung zu beobachten ist und eine Gleichgewichtslage hervorgetäuscht wird, obwohl das System vom wirklichen Gleichgewichte weit entfernt ist. Wird nun durch Erhitzen das Gleichgewicht erreicht, so kann die Umwandlung bei darauf folgender Abkühlung nicht wieder rückgängig werden, weil das System vielleicht nunmehr in einem stabileren Zustand sich befindet als vor dem Erwärmen. Hierdurch erklärt sich vielleicht die Existenz von gewissen nicht merkbar umkehrbaren Zersetzungen oder von nur in einem Sinne verlaufenden Reaktionen.

Wie aus dem Obigen hervorgeht, liegt der Gleichgewichtszustand eines homogenen Systems, wo reversible Reaktionen stattfinden können, an folgenden Faktoren:

I<sup>o</sup> an den Konzentrationen der reagierenden Stoffe, was sofort aus der Abhängigkeit des Gleichgewichtskoeffizienten von den Konzentrationen hervorgeht.

II<sup>o</sup> an der Temperatur nach dem eben Gesagten.

III<sup>o</sup> an dem Druck.

<sup>1)</sup> Bericht d. chem. Ges. 14, 1361 (1881).

Außerdem mag daran erinnert werden, daß die schließliche Gleichgewichtslage in der Regel mit und ohne Katalysator dieselbe bleibt; auch bleibt das Gleichgewicht dasselbe, unabhängig von dem Weg, auf welchem dasselbe erreicht wurde, z. B. unabhängig von der Reihenfolge, in welcher die reagierenden Substanzen vermischt wurden.

### Reaktionen in einem heterogenen Medium.

Wie bereits erwähnt, kann man in einem heterogenen Medium durch mechanische Hilfsmittel z. B. Ultrafiltration verschiedene, nebeneinander existierende Phasen unterscheiden. Zu den heterogenen Systemen gehören folglich solche, die neben Wasser oder in Wasser aufgelösten kristalloiden Stoffen auch kolloide Substanzen enthalten und die Reaktionen in heterogenen Systemen haben also für die biologische Chemie ein ganz besonderes Interesse. Trotzdem sind solche Prozesse lange nicht in dem gleichen Grade aufgeklärt wie die in homogenen Systemen stattfindenden Reaktionen.

Wenn es um eine Reaktion sich handelt, wo eine feste und eine flüssige Phase das Material für die Auflösung eines Stoffes oder für die Bildung einer chemischen Verbindung liefern, kann die Reaktionsgeschwindigkeit sehr auf der Berührungsfläche der beiden Phasen beruhen sowie auf den an derselben sich abspielenden Diffusionsprozessen. Noyes und Whitney haben für die Geschwindigkeit der Auflösung von Benzoesäure in Wasser folgende Formel aufgestellt

$$\frac{dx}{dt} = k \cdot (S - x),$$

wo S die Konzentration einer gesättigten Wasserlösung von Benzoesäure, x die Konzentration der Lösung zur Zeit t und k eine Konstante bedeutet. Die Berührungsfläche zwischen Benzoesäure und Wasser war die ganze Zeit konstant und für die Homogenität der Lösung wurde durch gute Umrührung gesorgt<sup>1)</sup>. Wie ersichtlich, ist die Gleichung formell eben die für die Reaktionsgeschwindigkeit einer monomolekularen Reaktion gefundene (S. 101). Beim Integrieren ergibt sich also wie vorher

$$k = \frac{1}{t} \cdot \log \text{nat} \frac{S}{S - x}.$$

Die analytisch erhaltenen Resultate waren in drei Versuchsserien

t (Min.)	k	k <sub>1</sub>	k <sub>2</sub>
10	112	163,0	112,7
30	109,1	157,1	117,4
60	107,5	160,1	110,9

Noyes und Whitney faßten den Verlauf als einen Diffusionsprozeß auf. An der Grenzfläche zwischen festem Körper und Lösung soll nämlich in jedem Augenblicke die Konzentration der Sättigung herrschen, weil die Auflösung stets mit sehr großer Geschwindigkeit vor sich geht. Von dieser gesättigten Grenzschicht diffundiert der gelöste Stoff (Benzoesäure) in die Lösung hinein. Für die durch einen Querschnitt eines Diffusionszylinders in einer sehr kurzen Zeit diffundierende Substanzmenge gilt aber nach dem von Fick formulierten Diffusionsgesetze (S. 54), daß dieselbe dem Konzentrationsgefälle zu beiden Seiten des Querschnittes proportional ist. Ist S die Konzentration

<sup>1)</sup> Zeitschr. physik. Chem. 23, 689 (1897).

der gesättigten Schicht und  $x$  die augenblickliche Konzentration der übrigen Lösung, so ist folglich  $S - x$  das Konzentrationsgefälle, und wir haben alsdann die Gleichung

$$\frac{dx}{dt} = k(S - x),$$

wo  $k = D \cdot q$ . Hier ist  $D$  die sogenannte Diffusionskonstante und  $q$  die Fläche des Querschnittes.

Dieser Diffusionshypothese schließt sich Nernst<sup>1)</sup> an, und Brunner hat dieselbe durch eingehende Experimentaluntersuchungen gestützt<sup>2)</sup>. Es liegt in der Natur der Sache, daß die Reaktionsgeschwindigkeit durch die Diffusion nur in solchen Fällen wiedergegeben werden kann, wo andere Prozesse, welche in dem ganzen Verlauf mit inbegriffen sind, z. B. Auflösung, Salzbildung u. a., im Vergleich mit der Diffusion schnell von statten gehen. Nach Nernst und Brunner ist dies auch beim Auflösen von Magnesia in Säuren unter Umrühren der Fall, und die gemessene Reaktionsgeschwindigkeit wird durch die Diffusionsformel

$$\frac{dx}{dt} = \frac{O \cdot D}{\delta} (a - x)$$

wiedergegeben. Hier ist  $O$  die Größe der Berührungsfläche,  $D$  die Diffusionskonstante der Säure,  $\delta$  die Dicke der Schicht, wo die Diffusion stattfindet,  $a$  die anfängliche Konzentration der Säure und  $x$  die bereits gebundene Säure.

Die Konzentration der Säure zur Zeit  $t$  ist also  $(a - x)$ ;  $\frac{dx}{dt}$  ist folglich die Geschwindigkeit, mit welcher die Säure zum Magnesiumoxyd zur Zeit  $t$  diffundiert.

Theoretisch läßt sich außer dem eben erwähnten Fall, wo die für die Diffusion gebrauchte Zeit im Vergleich mit der für andere Prozesse gebrauchten überwiegt, noch ein anderer Grenzfall denken, nämlich derjenige, wo die Diffusionsprozesse zeitlich gegen rein chemische Prozesse zurücktreten. Dies dürfte wohl der Fall sein bei Reaktionen zwischen Gasen und flüssigen Körpern, weil die Diffusion in Gasen weit schneller vor sich geht als z. B. in Lösungen. Ein anderes Beispiel einer Reaktion dieser Art hat Goldschmidt geliefert<sup>3)</sup>. Derselbe untersuchte die Verseifung von in Benzol gelösten Estern durch wäßrige Säurelösungen, sowie durch wäßrige Baryumhydroxydlösungen. Die Reaktion findet hier nur in der wäßrigen Phase statt und zwar so langsam, daß bei kräftigem Schütteln sowohl der Ester als die Verseifungsprodukte in jeder Phase für sich gleichmäßig verteilt und in beiden Phasen nach dem Verteilungsgesetze (S. 69) aufgenommen sind. Aus der bekannten Reaktionsgeschwindigkeit in wäßriger Lösung (monomolekular in saurer, bimolekular in alkalischer Lösung) und der gleichweise bekannten Verteilung zwischen den beiden Phasen wurde die Verseifungsgeschwindigkeit berechnet und in vorzüglicher Übereinstimmung mit dem Versuch gefunden..

Zu den Reaktionen in heterogenen Systemen gehören auch die bereits besprochenen Adsorptionsprozesse, bei welchen echt oder kolloid gelöste Stoffe durch feste oder kolloide Partikelchen aufgenommen werden (S. 69 ff). Wie bereits hervorgehoben wurde, stellen sich die Verhältnisse wesentlich verschieden, je nachdem kristalloide oder kolloide Stoffe adsorbiert werden. Im

<sup>1)</sup> Zeitschr. physik. Chem. 47, 52 (1904).

<sup>2)</sup> Ebenda 47, 56.

<sup>3)</sup> Ebenda 31, 235 (1899).

ersteren Falle ist der Prozeß umkehrbar und das Gleichgewicht wird sehr rasch erreicht; im letzteren handelt es sich mindestens in der Regel um nicht oder nur sehr schwer umkehrbare Prozesse, welche verhältnismäßig langsam verlaufen.

Die Geschwindigkeit der Adsorption kristalloider Stoffe ist zuerst von Lagergren studiert worden<sup>1)</sup>. Er fand für gewisse Adsorptionsprozesse die Formel

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

$$\text{integriert} \quad k = \frac{1}{t} \log \text{nat} \frac{a}{a - x},$$

wo  $a$  die im Gleichgewicht nach genügend langer Zeit adsorbierte Menge,  $x$  die zur Zeit  $t$  adsorbierte und  $k$  ist eine Konstante bedeutet. In einem Falle, wo Bernsteinsäure durch Tierkohle adsorbiert wurde, erhielt er folgende Zahlen:

t (Min.)	x $\left( \frac{\text{Millimole}}{\text{Gramme Kohle}} \right)$	k
5	0,183	0,034
10	0,325	0,033
30	0,752	0,034
60	1,06	0,041

a war = 1,16.

Auch wenn die obige Formel allgemeine Gültigkeit für die Adsorptionsprozesse besäße, würde dieselbe nichts über die Natur der Adsorption aussagen. Die Formel kann nämlich nach dem oben Angeführten die Geschwindigkeit einer monomolekularen chemischen Reaktion darstellen (S. 101) oder die eines Diffusionsvorganges (S. 111) und schließlich könnte dieselbe vielleicht in noch anderer Weise gedeutet werden. Nach später publizierten Untersuchungen von Dietl besitzt aber die Formel von Lagergren nur eine sehr beschränkte Gültigkeit. Besser paßt nach Dietl die Gleichung der sog. negativen Autokatalyse<sup>2)</sup>. Bei dieser entsteht im Laufe der Zeit und infolge der Reaktion ein Stoff, der, sich ständig vermehrend, die Reaktion zu hemmen sucht. In diesem Falle könnte man sich denken, daß die Bedingungen für die Adsorption sich mit der Zeit ändern, z. B. durch Änderung der adsorbierenden Oberfläche, so daß die Adsorption eben abgebremst wird, und der sonst nach der monomolekularen Formel verlaufende Vorgang den Charakter der negativen Autokatalyse annimmt. Die mathematische Formulierung eines solchen Vorganges ist gegeben durch die Gleichung:

$$\frac{dx}{dt} = k_1(a - x) - k_2x(a - x).$$

Dieselbe gibt integriert und für  $\frac{k_2}{k_1} = \eta$  gesetzt

$$k_1(1 + \eta a) = \frac{1}{t} \cdot \log \text{nat} \frac{a(1 + \eta x)}{a - x}.$$

Die Formel wurde bei verschiedenen Messungen geprüft, wo Wolle als Adsorbens und eine größere Anzahl wäßriger Säurelösungen als Adsorbenda benutzt wurden. Ziemlich konstante Werte für  $k_1$  wurden erhalten. Es darf aber nicht verhehlt werden, daß die Gleichung der negativen Autokatalyse nur empirischen Charakter hat. Rein empirischer Natur ist auch die Gleichung,

<sup>1)</sup> Bihang svenska Vet. Akad. Handl. 24 (1899).

<sup>2)</sup> Koll. chem. Beihefte 6, 127 (1914).



welche das Gleichgewicht vieler Adsorptionsprozesse wiedergibt und S. 71 angeführt wird.

Kinetische Untersuchungen über die Adsorption kolloider Substanzen sind nicht ausgeführt worden. Die Adsorption von Enzymen gehört auch hieher, wird aber erst weiter unten besprochen.

Katalytische Prozesse in heterogenen Systemen kommen auch vor und zwar kann dabei der Katalysator oder reagierende Substanzen in der Form fester oder kolloider Stoffe vorhanden sein. In der Tat waren die ersten als katalytisch bezeichneten Prozesse dieser Art. Hierher gehören z. B. die Vereinigung von Knallgas, die Synthese von  $\text{SO}_3$  (aus  $\text{SO}_2 + \text{O}$ ) und die Zerlegung von  $\text{H}_2\text{O}_2$ , wenn diese Reaktionen durch Platin katalytisch beschleunigt werden. Solche Vorgänge haben ein besonderes Interesse gewonnen, seitdem Bredig nachweisen konnte, daß die von ihm zuerst hergestellten kolloiden Metalle auch katalytisch wirksam sein können<sup>1)</sup>. Der am besten studierte hierher gehörende Verlauf ist die Zerlegung von  $\text{H}_2\text{O}_2$  durch kolloides Platin, Gold und andere Metalle oder Oxyde (z. B.  $\text{MnO}_2$ ,  $\text{PbO}_2$ ). Zunächst ist die geringe Quantität Katalysator hervorzuheben, die hinreicht, um  $\text{H}_2\text{O}_2$  zu zersetzen. So ist noch die Wirkung von 1 g Atom Pt in 70 Millionen Liter Reaktionsgemisch wahrnehmbar. Dann hat die Zersetzung von  $\text{H}_2\text{O}_2$  bei der Platinkatalyse in nahezu neutraler oder schwach saurer Lösung als eine monomolekulare Reaktion sich erwiesen.

Doch bestehen gewisse Abweichungen von den bei der homogenen Katalyse gefundenen Verhältnissen. Einmal steigt in gewissen Versuchen der Wert für  $k$  nicht unbedeutend im Verlauf der Katalyse, und zweitens ist  $k$  nicht der Fermentkonzentration proportional, sondern steigt rascher wie diese.

Im Anschluß an diese Versuche hat Bredig die Ansicht ausgesprochen, daß eine Analogie besteht zwischen den katalytischen Prozessen der anorganischen Welt und den Enzymwirkungen in der organischen.

Die wichtigsten Tatsachen, die Bredig als Stützen für diese Ansicht anführt, sind die folgenden:

1. In beiden Fällen handelt es sich um katalytische Vorgänge, indem die Metallsole und die Enzyme schon in sehr geringen Mengen wirksam sind und während der Reaktion keinen wesentlichen Veränderungen unterworfen sind.

2. Bei der Zerlegung von  $\text{H}_2\text{O}_2$  sowohl durch Platinsol wie durch das Enzym Hämasase ist die Reaktion eine monomolekulare.

3. Sowohl Metallsole wie Enzyme werden durch gewisse Gifte (z. B. HCN,  $\text{H}_2\text{S}$ ) in ihrer Wirksamkeit gelähmt.

4. Beide Körperklassen sind kolloide Substanzen und besitzen also eine ungeheure Oberflächenentwicklung, wodurch die katalytischen Eigenschaften bedingt werden könnten.

Nach Neilson werden noch folgende Reaktionen sowohl durch Platinschwarz wie durch Enzyme vermittelt, nämlich die Zerlegung von Äthylbutyrat, von Salizin und von Amygdalin<sup>2)</sup>.

Weitere Beispiele katalytischer Reaktionen in heterogenen Medien werden wir in der folgenden Abteilung (über die Enzyme) kennen lernen.

Ausführliche Untersuchungen, wobei die zersetzende Einwirkung auf  $\text{H}_2\text{O}_2$  einerseits von kolloidem Ag, andererseits von dem Enzym Katalase studiert wurde, sind neuerdings von Santesson ausgeführt worden<sup>3)</sup>.

1) Anorganische Fermente. Leipzig 1901. S. 42.

2) Amer. Journ. Physiol. **10**, 191 (1904).

3) Skand. Arch. f. Physiol. **44**, 262 (1923).

## Viertes Kapitel.

# Die Enzyme.

---

### Natur der chemischen Prozesse im Tierkörper.

Zu den innerhalb des lebenden Tierkörpers sich abspielenden chemischen Umsetzungen gehören gewisse Reaktionen, welche mit totem Material entweder nicht ausgeführt worden sind oder nur unter Verhältnissen, welche lebende Zellen vernichten würden. So ist die Synthese von Glykogen und Stärke sowie die von Eiweiß außerhalb des Organismus und ohne Zuhilfenahme von innerhalb der Zellen hergestellten Agentien noch nicht gelungen. Andererseits kann man wohl ohne Hilfe von Produkten der Tätigkeit der lebenden Zellen Eiweiß und Stärke in einfachere Produkte spalten, aber hierfür ist die Einwirkung von Säuren oder Alkalien in solchen Konzentrationen erforderlich, daß dieselben die lebenden Zellen töten würden. Dagegen ist es in gewissen Fällen gelungen, solche Reaktionen mit Hilfe von innerhalb der lebenden Zellen gebildeten Stoffen auch außerhalb des Organismus auszuführen.

In diesem Zusammenhange mag in bezug auf die Natur der im lebenden Organismus vor sich gehenden chemischen Reaktionen folgendes bemerkt werden. Diejenigen Stoffe, welche als Nahrungsstoffe innerhalb des Tierkörpers Wärme und Arbeit erzeugen, sind in der Hauptsache Kohlehydrate (Polysaccharide), Fett und Eiweiß. Diese Substanzen werden zunächst bei der Verdauung zum größten Teil in einfachere Stoffe gespalten und zwar unter Aufnahme von Wasser. Es entstehen in der Weise aus einem Teil der Fette Glycerin und Fettsäuren, aus den Polysacchariden einfache Hexosen und aus dem Eiweiß hauptsächlich Aminosäuren.

Wesentlich in Form der genannten Spaltungsprodukte kommen die Nahrungsstoffe zur Resorption. Danach können dieselben zweierlei Veränderungen erleiden. Einmal können dieselben weiter abgebaut werden (Spaltungen, Desamidierung), um schließlich unter Oxydation in die Endprodukte Kohlensäure, Wasser und Harnstoff übergeführt zu werden. Zweitens können aus den resorbierten Stoffen entweder direkt oder nach weiteren Veränderungen durch synthetische Prozesse Fett, Kohlehydrate und Eiweiß zurückgebildet werden. So viel wir wissen, können auch in den Geweben unabhängig von der Verdauung die Bestandteile der verschiedenen Organe in ähnlicher Weise wie bei der Verdauung abgebaut werden, um dann weiter bis zur Bildung der schließlichen Absonderungsprodukte des Organismus in eben angedeuteter Weise abgebaut und oxydiert zu werden.

Im großen und ganzen finden also im tierischen Organismus Spaltungsprozesse und Oxydationen sowie auch Synthesen statt, und zwar sind die Spaltungsprozesse mit Oxydationen hier überwiegend, was zur Genüge daraus hervorgeht, daß die einfachsten Oxydationsprodukte, nämlich Kohlensäure und Wasser vom Tierorganismus abge sondert werden. Bei den Pflanzen ist das Umgekehrte der Fall. Hier werden aus einfachem Material ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  und Stickstoff in der Form von Nitrat oder Ammoniak) synthetisch Kohlehydrate, Fett und Eiweiß gebildet und zwar unter Reduktion (Abscheidung von  $\text{O}_2$ ) und unter Bindung von Wärme oder Energie in irgendwelcher Form. Neben diesen vorherrschenden Reaktionen geschieht die Respiration der Pflanzen unter Oxydation mit Aufnahme von  $\text{O}_2$  und Abscheidung von  $\text{CO}_2$  und  $\text{H}_2\text{O}$ . Die Synthese überwiegt in den grünen Pflanzenteilen und bei Sonnenlicht, während die Oxydation im Dunkel mehr als die Synthese hervortritt.

## Enzyme oder Fermente.

Gewisse der erwähnten Reaktionen sind wahrscheinlich mit der organischen Struktur und dem Leben der Zellen in irgendwelcher Weise eng verknüpft, andere scheinen durch Katalysatoren im gewöhnlichen Sinne des Wortes zustande zu kommen; wieder andere und, wie es scheint, eine große Zahl der Prozesse werden durch besondere, für die organische Welt eigene, katalytisch wirksame Substanzen vermittelt; dieselben werden Enzyme, lösliche Fermente oder schlechthin Fermente genannt.

Der wesentlichste Unterschied zwischen den gewöhnlichen im vorhergehenden besprochenen Katalysatoren, z. B. Säuren und Basen, einerseits und den Enzymen andererseits, ist die Eigenschaft der letzteren durch genügendes Erhitzen außer Wirkung gesetzt zu werden, während die gewöhnlichen Katalysatoren durch Hitze nicht zerstört werden. Andere Unterschiede werden weiter unten besprochen.

Früher wurde ein scharfer Unterschied aufgestellt zwischen sog. geformten oder unlöslichen Fermenten und löslichen Fermenten. Erstere waren mit gewissen Mikroben identisch (z. B. Hefezellen, Bakterien), welche imstande sind, chemische Reaktionen einzuleiten ebenso wie die Enzyme. Der Unterschied in der Wirkungsweise der beiden Arten von Fermenten ist vielleicht nicht mehr scharf aufrecht zu halten, seitdem es durch eine bedeutungsvolle Untersuchung von E. Buchner sich herausgestellt hat, daß sowohl die Hefe, wie auch verschiedene andere Mikroben, welche chemische Reaktionen verursachen, durch lösliche Fermente wirksam sein können<sup>1)</sup>. Er fand nämlich, daß, wenn gewaschene Hefe zunächst mit Kieselgur derart behandelt wird, daß die Zellen zerrieben werden, und die Masse danach einem sehr hohen Druck ausgesetzt wird, ein Saft ausgepreßt wird, welcher, obwohl keine lebende Zellen darin vorhanden sind, Zucker lebhaft vergärt. Das vergärende Enzym wird Zymase genannt. Ein anderes Verfahren zur Herstellung eines sterilen Preßsaftes hat v. Lebedew angegeben<sup>2)</sup>. Auch können die Hefezellen nach Abtötung mit Alkohol-Äther oder mit Azeton<sup>3)</sup> und Trocknen für Gärversuche angewandt werden.

<sup>1)</sup> Ber. d. chem. Ges. **30**, **31**, **32** (1897—1899).

<sup>2)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. **73**, 447 (1911).

<sup>3)</sup> Ber. d. chem. Ges. **33**, 3775 (1900); **35**, 2376 (1902).

Die Bildung von Essigsäure aus Alkohol geschieht unter der Einwirkung von Bakterien, welche ebenfalls durch ein Enzym wirksam sind, das nach dem Abtöten der Bakterien noch Essigsäure zu bilden vermag<sup>1)</sup>. In der gleichen Weise verhalten sich die Bakterien, welche die Bildung von Milchsäure aus Zucker veranlassen<sup>2)</sup>. Dieselben können nämlich mit Methylalkohol oder Azeton abgetötet werden, worauf das Pulver den Zucker unter Milchsäurebildung spaltet.

Wenn es nach allem dem wahrscheinlich ist, daß die Mikroben durch Enzyme wirksam sind, so muß doch zugegeben werden, daß dies nur für wenige Fälle bewiesen ist und auch für diejenigen Zellen, wo der Beweis erbracht ist, scheint es nicht außer Zweifel gestellt zu sein, daß die ganze Wirkung an Enzymen liegt. Nach neuerdings ausgeführten Untersuchungen von Rubner soll sogar in den lebenden Hefezellen nur ein geringer Bruchteil der Gärung (1,6—4,6<sup>0</sup>/o) auf Enzymwirkung zurückzuführen sein. Er fand nämlich, daß die lebenden Hefezellen eine viel kräftigere Wirkung ausführen als dieselbe Zellmenge in zerriebenem Zustande. Beim Zerreiben wird also das gärungserregende Vermögen der Zellen in hohem Grade vermindert, und diese Verminderung führt Rubner auf die Zerstörung der organischen Struktur der Zellen zurück. Andererseits führte Rubner Parallelversuche mit lebender und durch Toluol abgetöteter Hefe aus, wobei er die bei der Gärung entwickelte Wärmemenge in beiden Fällen maß. Stets fand er eine größere Wärmeentwicklung mit lebender Hefe als mit abgetöteter und zwar wurde der Unterschied mit der Dauer des Versuches mehr ausgesprochen. Es muß auch bemerkt werden, daß nach Rubner die ganze Wärmeentwicklung der Hefezellen an dem Gärungsprozeß liegt<sup>3)</sup>. Auf eine Abhängigkeit der Oxydationsprozesse in verschiedenen Zellen von der organischen Struktur derselben deuten auch Arbeiten von Warburg, sowie von Warburg und Meyerhof hin<sup>4)</sup>. Auch die im Tierkörper stattfindenden Oxydationsprozesse finden nach Batelli und Stern zum Teil nur in der Gegenwart von lebenden Zellen statt<sup>5)</sup>.

Es gibt keine für alle Enzyme oder Fermente gemeinschaftlichen chemischen Reaktionen im gewöhnlichen Sinne, und ein jedes Enzym ist nur durch seine Wirkung und die Verhältnisse, unter welchen die letztere sich entfaltet, charakterisiert. Da die Wirkung eines Enzyms auf einen Stoff oder wenige verwandte Stoffe bzw. Gruppen beschränkt ist, so wird dieser Stoff bzw. Stoffgruppe als das Substrat des Enzyms bezeichnet.

In bezug auf die Terminologie sei bemerkt, daß ein Enzym oft nach dem Substrat genannt wird (Amylase, Protease, Lipase); in anderen Fällen ist die Art der Wirkung das bestimmende (Oxydase, Reduktase), und schließlich wird auch ein bei der Wirkung entstehendes Produkt dem Namen zugrunde gelegt (Alkoholase).

Die wichtigsten der bis jetzt studierten enzymatischen Prozesse sind die folgenden:

1. Spaltungsprozesse, welche meistens als hydrolytische bezeichnet werden können.
2. Oxydationsprozesse.

<sup>1)</sup> E. Buchner und Gaunt: *Ann. Chem. Pharm.* **349**, 140 (1906).

<sup>2)</sup> E. Buchner und Meisenheimer: *Ebenda* **349**, 125; siehe auch *Ber. d. chem. Ges.* **36**, 634 (1903) sowie *Zeitschr. physiol. Chem.* **37** (1903).

<sup>3)</sup> *Arch. (Anat. u.) Physiol.* 1912 Suppl.

<sup>4)</sup> *Pflügers Arch.* **145**, 277; **148**, 295 (1912); *Münch. med. Wochenschr.* 1912, S. 2550.

<sup>5)</sup> *Biochem. Zeitschr.* **21**, 487; **30**, 172 (1910); **33**, 315 (1911).

Von diesen Reaktionen sind die hydrolytischen Spaltungsvorgänge die am besten erforschten und die hier zu erwähnenden allgemeinen Eigenschaften der Enzyme beziehen sich deshalb hauptsächlich auf die hydrolytisch spaltenden Enzyme. Unter diesen sind in erster Linie folgende zu erwähnen:

1. Enzyme, welche Fett und andere Ester unter Bildung von dem entsprechenden Alkohol und Säure spalten. Diese werden Lipasen und Esterasen genannt.

2. Enzyme, welche zusammengesetzte Kohlehydrate unter Bildung von einfacher gebauten aufspalten. Hierher gehören:

a) Disaccharide zerlegende Enzyme, z. B. Saccharase (Invertase, Invertin), Maltase, Laktase, welche auf die entsprechenden Disaccharide, Saccharose (Rohrzucker), Maltose und Laktose (Milchzucker) einwirken.

b) Polysaccharide spaltende Enzyme, z. B. Amylase, Ptyalin. Oft wird der Name Diastase für alle derartig wirkende Enzyme benutzt. In naher Beziehung zu diesen Enzymen stehen auch die besonders in höheren Pflanzen vorkommenden glykosidspaltenden Enzyme; unter welchen das in Mandeln vorkommende Emulsin am besten bekannt ist.

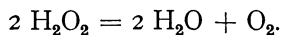
3. Enzyme, welche auf Proteinstoffe oder ihre nächsten Spaltungsprodukte einwirken. Zu diesen sind zu rechnen:

a) Peptidasen und Erepsin, welche Polypeptide bzw. Peptone aufspalten und

b) Proteasen, welchen Proteinstoffe als Substrat dienen (Pepsin, Trypsin, autolytische Enzyme).

Zu den hydrolytischen Enzymen des Tierreiches sind ferner zu rechnen die Arginase, welche das Arginin in Harnstoff und Ornithin spaltet, und das hippursäurespaltende Histozyim. Hierher gehören wahrscheinlich auch folgende zwei Gruppen, nämlich die Nukleasen, welche Nukleinsäuren spalten, und die koagulierenden Enzyme, Lab und Trombin, welche wahrscheinlich als Proteasen wirksam sind. Die desamidierenden Enzyme, welche aus Aminoverbindungen die Gruppe  $\text{NH}_2$  abspalten, sind mindestens in gewissen Fällen zu den hydrolytischen Enzymen zu rechnen. Dies ist z. B. der Fall mit der Adenase und der Guanase, welche unter Abspaltung von Ammoniak die beiden Stoffe Adenin und Guanin in Hypoxanthin bzw. Xanthin überführen; hierher gehört ferner die harnstoffspaltende Urease.

Unter Spaltungsprozessen, welche nicht als hydrolytisch zu bezeichnen sind, können die Alkoholgärung von Zucker sowie auch verschiedene andere Gärungsprozesse und ferner die Zerlegung von  $\text{H}_2\text{O}_2$  unter Einwirkung von Katalase erwähnt werden. Letztere Reaktion geschieht nach der Formel



Die Enzyme können nur durch ihre Wirkung erkannt werden, und diese wird einerseits durch das allmähliche Verschwinden des Substrates, andererseits durch das Auftreten der dabei gebildeten Produkte nachgewiesen.

Nach dem Gesagten werden die Enzyme innerhalb der lebenden Zellen gebildet, aber, soviel wir wissen, sind dieselben imstande, ihre Wirkung auszuüben, auch nachdem sie die Zellen verlassen haben oder die Zellen abgetötet sind, vorausgesetzt, daß die Enzyme selbst nicht mit den Zellen zusammen zerstört wurden.

In der Form von fertigen Enzymen oder Vorstufen derselben werden manche Enzyme von den Zellen abgesondert, und mehrere Autoren unter-

scheiden zwischen Enzymen, welche außerhalb der Zellen ihre Wirkung ausüben und demnach extrazelluläre Enzyme genannt werden und den sog. intrazellulären Enzymen, welche nur innerhalb der Zellen, wo sie gebildet werden, normal wirksam sind. Als Typus der letzteren Gruppe wird die Zymase betrachtet. Mit Rücksicht auf die Versuche von Rubner betreffs der Gärwirkung der Hefezellen kann es aber in Frage gestellt werden, ob nicht die Wirkung der sog. intrazellulären Enzyme zum Teil durch die organische Struktur der lebenden Zellen bedingt sein könnte.

Für die Herstellung der Enzyme gibt es keine allgemein gültige Methode. Gewisse Enzyme sind, wie eben erwähnt, als solche oder als Proenzyme in Sekreten von Drüsen enthalten; diese können nach Aufsammeln des Sekretes entweder direkt oder event. nach Aktivierung in Arbeit genommen werden. Dies ist der Fall mit den bei der Verdauung wirksamen Enzymen. Andere Enzyme können durch Zerquetschen der Zellen und Auspressen des Zellsaftes erhalten werden (Zymase, Organenzyme). Wieder andere können durch geeignete Extraktionsmittel aus den Zellen ausgelöst werden. Vielfach angewandt als Extraktionsmittel ist Glyzerin, das sehr haltbare Lösungen liefert; sonst wird wohl am meisten Wasser gebraucht. Gewisse Enzyme sind nicht in Wasser löslich. Hierher gehören besonders einige Lipasen, z. B. die in Rizinus-Samen und Brassica-Samen vorhandenen. In solchen Fällen hat man die Preßkuche, welche bei der Entölung der Samen übrig bleibt als Enzym verwendet; dieselbe wird also mit der zu spaltenden Fetteulsion in innige Berührung gebracht. In anderen Fällen hat man mit Alkohol und Äther darin lösliche Substanzen entfernt und den ungelösten Rest als Enzym angewandt. Schließlich werden die das Enzym enthaltenden Zellen bzw. Organe entweder direkt als Enzym gebraucht oder in gewissen Fällen zweckmäßiger nach Herstellen mit Hilfe von Alkohol-Äther, Azeton oder anderen Mitteln von sog. Dauerpräparaten (Hefe, Milchsäurebakterien). Wenn die erhaltenen Enzymlösungen bzw. festen Präparate nicht sofort in Arbeit genommen werden, setzt man etwas Toluol oder ein anderes antiseptisches Mittel zu, um dieselben vor Fäulnis zu schützen.

Alle die genannten Methoden liefern Enzyme, welche mit anderen Stoffen, besonders mit Eiweiß stark verunreinigt sind. Nur in Ausnahmefällen z. B. bei der Saccharase ist es gelungen, die Eiweißkörper so weit zu entfernen, daß die Lösung die üblichen Eiweißreaktionen nicht gibt, was andererseits die Reinheit des Enzyms in keiner Weise garantiert. In nachweisbar reiner Form ist bis jetzt kein Enzym erhalten worden, und die chemische Zusammensetzung sowie der Bau der Enzyme ist folglich unbekannt. In physikalischer Hinsicht verhalten sich die Enzyme wie Kolloide. Freilich muß man bis auf weiteres unentschieden lassen, ob dies so zu deuten ist, daß die Enzyme selbst kolloide Substanzen sind, oder daran liegen könne, daß dieselben immer mit kolloiden Stoffen vergesellschaftet auftreten. Die Enzyme haben nämlich die Eigenschaft, an andere, besonders fein verteilte feste Stoffe adsorbiert zu werden, und mehr oder weniger intim an denselben zu haften. Auch durch kolloide Stoffe werden die Enzyme aufgenommen. Auch wenn die Enzyme keine Kolloide wären, könnten sie vielleicht durch das Anhaften an Kolloiden kolloide Eigenschaften erwerben.

In bezug auf die Adsorption von Enzymen sei bemerkt, daß dieselbe selektiv wirken kann, was wohl zuerst von Hedin beobachtet wurde. Er fand, daß zwei in der Milz vorhandene proteolytisch wirkende Enzyme bei der

Adsorption aus neutraler Lösung durch Kieselgur verschieden sich verhalten. Das eine, in alkalischer Lösung wirkende Enzym wird sehr stark adsorbiert, während das andere, in saurer Lösung wirkende, entweder nicht oder in sehr beschränktem Grade aufgenommen wird. Knochenkohle adsorbierte beide Enzyme in dem gleichen Umfange<sup>1)</sup>.

Der Umstand, daß verschiedene Enzyme in ungleichem Maße durch feste Stoffe adsorbiert werden können, sowie daß die Begleitstoffe der Enzyme bei den Adsorptionsprozessen mit den Enzymen verschieden sich verhalten können, ist besonders von Willstätter und seinen Mitarbeitern zur Reinigung der Enzyme benutzt worden. Dabei wurde gefunden, daß ein Enzym je nach dem Reinheitsgrade gegen Adsorptionsmittel sich verschieden verhalten kann, sowie auch, daß diejenigen Stoffe, welche die Enzyme aus den Adsorptionsverbindungen frei setzen, bei verschiedener Reinheit des Enzyms ungleich sein können. Mit Rücksicht auf die Saccharase hatte Michaelis und Mitarbeiter gefunden, daß dieselbe wohl durch Tonerde aber nicht durch Kaolin adsorbiert wird<sup>2)</sup>. Willstätter fand, daß dies nur für ziemlich unreines aus Hefeautolysaten direkt erhaltenes Enzym zutrifft. Wenn eine solche Saccharase an Tonerde adsorbiert und aus der Adsorptionsverbindung z. B. mit verdünntem Ammoniak frei gemacht wird, wird sie nachher sowohl durch Kaolin als durch Tonerde adsorbiert<sup>3)</sup>. Später hat es sich herausgestellt, daß die Saccharase aus einem beliebigen Autolysat durch Kaolin adsorbiert wird, wenn nur eine genügende Menge Säure zugesetzt wird<sup>4)</sup>. Ein von Michaelis aufgestellter Satz, nach welchem die Adsorptionsverhältnisse der Saccharase daran liegen, daß die adsorbierende und die adsorbierte Substanz entgegengesetzte elektrische Ladungen besitzen, kann aber auch für Willstätters gereinigtes Enzym in Geltung sein. Michaelis' unreines Enzym wanderte nämlich immer anodisch, war also negativ und wurde nur durch die positive Tonerde adsorbiert. Willstätters reineres Enzym war dagegen amphoter, zeigte bereits bei  $p_H = 6$  katodische Wanderung und würde also nach Michaelis Regel bei diesem  $p_H$  durch das negative Kaolin adsorbiert werden<sup>5)</sup>. Auch auf die Wanderungsrichtung der Enzyme können also die Begleitstoffe Einfluß ausüben. Das an Tonerde adsorbierte Enzym soll ebenso wirksam sein wie dieselbe Enzymmenge in nicht-adsorbiertem Zustand, was vielleicht an dem eluierenden Vermögen des Rohrzuckers dem adsorbierten Enzym gegenüber liegen könnte<sup>6)</sup>.

Neben der eben erwähnten sog. elektrochemischen Adsorption kommt auch nach Michaelis bei den Enzymen Fälle von sog. mechanischer Adsorption vor, vor allem bei der Adsorption durch Kohle und andere elektrisch indifferente Substanzen. Manche Beispiele von Aufnahme der Enzyme seitens Pulver sind von Glaessner<sup>7)</sup> und Dauwe<sup>8)</sup> gegeben. Letzterer faßte den Adsorptionsprozeß als die Bildung einer sog. festen Lösung des Enzyms in dem Pulver auf. Mehr eingehende Untersuchungen über denselben Gegenstand sind von

<sup>1)</sup> Biochem. Journ. **2**, 112 (1906).

<sup>2)</sup> Biochem. Zeitschr. **7**, 488 (1907); **10**, 283; **12**, 26 (1908).

<sup>3)</sup> Liebigs Ann. d. Chem. **425**, 1, und zwar **55** (1921/22) sowie Zeitschr. physiol. Chem. **116**, 53 (1921); **123**, 1 (1922).

<sup>4)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. **133**, 193 (1924).

<sup>5)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. **123**, 1 und zwar **55** u. **73** (1922).

<sup>6)</sup> Ebenda S. 51 u. 52.

<sup>7)</sup> Hofmeisters Beitr. **1**, 13 (1902).

<sup>8)</sup> Ebenda **6**, 426 (1905).

Hedin ausgeführt worden<sup>1)</sup>. Derselbe prüfte zunächst die Aufnahme von Trypsin durch Knochenkohle und fand, daß das Verhältnis zwischen der Konzentration auf der Kohle und der in der Lösung nicht konstant ist, wie es sein sollte, wenn es um eine feste Lösung sich handelte (S. 69), sondern mit der Abnahme der Kohle (oder, was auf dasselbe hinauskommt, Zunahme der totalen Enzymmenge) sinkt, wie es gewöhnlich bei Adsorptionsprozessen geschieht. Die adsorbierte Enzymmenge nimmt bis zu einer gewissen Grenze mit der Zeit zu. Bei 37° wird mehr Enzym adsorbiert als bei niedrigerer Temperatur. Wird aber Kohle, welche bei 37° Enzym aufgenommen hat, auf 0° abgekühlt, so gibt es kein Enzym ab. Ebenso wenig läßt sich das Trypsin mit Wasser aus der Kohle ausziehen, womit das Verhältnis in Zusammenhang steht, daß die bei dem Adsorptionsprozeß anwesende Wassermenge ohne Einfluß auf die schließlich adsorbierte Trypsinmenge ist. Nach diesen zwei Tatsachen zu urteilen, ist der Prozeß nicht in gewöhnlichem Sinne umkehrbar. Bei umkehrbaren Vorgängen wird nämlich im allgemeinen das Gleichgewicht verschoben, sowohl wenn die Temperatur wie wenn die Konzentration eines in der Reaktion teilnehmenden Stoffes geändert wird (S. 110). Für eine irreversible oder nur schwer reversible Bindung des Enzyms an der Kohle spricht auch das sog. Reihenfolgephänomen, oder die Tatsache, daß mehr Enzym aufgenommen wird, wenn man zunächst die Kohle einige Zeit auf das Enzym einwirken läßt und dann die Menge wirksamen Enzyms durch Zugabe von Kasein als Substrat bestimmt, als wenn das Substrat bereits vom Anfang ab zugegen ist. Das Kasein verhindert also bis zu einem gewissen Grade die Aufnahme von Trypsin seitens der Kohle. Es wurde sogar gefunden, daß Kasein, wenn es einer Kohlesuspension zugegeben wird, in welcher vorhandenes Trypsin bereits vollständig durch die Kohle aufgenommen ist, einen geringen Teil des Enzyms wieder in aktive Form überführen kann, wahrscheinlich aus dem Grunde, daß das Kasein selbst durch die Kohle adsorbiert wird. Dadurch könnte ein geringer Teil des vorher seitens der Kohle adsorbierten Trypsins freigemacht und wieder in aktive Form übergeführt werden<sup>2)</sup>. Daß das Trypsin in diesem Falle infolge eines Adsorptionsprozesses frei und wirksam wird, ist auch aus dem Grunde wahrscheinlich, daß mehr Enzym frei wird, je höher die Temperatur ist, bei welcher das Kasein auf die Kohlesuspension einwirkt; ebenso ist die Menge des anwesenden Wassers ohne Belang für die Menge des freigesetzten Trypsins. Dies bedeutet, daß die durch die Kohle adsorbierte Kaseinmenge mit der Temperatur zunimmt und von der Verdünnung unabhängig ist, in der gleichen Weise wie die adsorbierte Trypsinmenge (siehe oben). Infolge des Zusatzes von Kasein, das an der Kohle verfestigt wird, geschieht also in sehr beschränktem Grade eine Loslösung des bereits vorher an der Kohle adsorbierten Trypsins. An der Tatsache, daß um so weniger Enzym freigemacht wird, eine je längere Zeit dasselbe mit der Kohle in Berührung mit dem Enzym gelassen wurde, bevor das Kasein zugesetzt wurde, liegt das oben besprochene sog. Reihenfolgephänomen. Da die freigebliebene Enzymmenge immer auf Grund deren Einwirkung auf zugesetztes Substrat bestimmt werden muß, so geht aus dem Gesagten hervor, daß die freie Enzymmenge größer ausfallen wird, wenn die Einwirkung auf das Substrat in der Gegenwart der für die Adsorption angewandten Kohle geschieht als wenn die Kohle zunächst abfiltriert wird (siehe ferner hierüber die Hemmung der Enzymwirkung). Aus dem

<sup>1)</sup> Biochem. Journ. 1, 484 (1906).

<sup>2)</sup> Ebenda 2, 81 (1906).



Gesagten erleuchtet, daß das Trypsin gewissermaßen an der Kohle verfestigt wird, daß aber das einmal aufgenommene Enzym durch Zusatz von Kasein zum geringen Teil wieder freigemacht werden kann. Das Enzym wird folglich bei der Aufnahme seitens der Kohle nicht vernichtet. Einige der Befunde von Hedin mit Trypsin wurden von E. Falk und A. Sticker nachgeprüft und bestätigt<sup>1)</sup>.

Die wichtigsten der mit Knochenkohle und Trypsin gewonnenen Resultate wurden später von Hedin auch bei Versuchen mit Kohle und Lab erhalten<sup>2)</sup>. Nur konnte hier das durch Kohle adsorbierte Enzym außer durch gewisse kolloide Substanzen (mit HCl behandeltes Serum oder Eierklar sowie irgendwelchen Bestandteil der Milch) auch in sehr geringen Mengen durch konzentrierten Traubenzucker in Freiheit gesetzt werden.

Saponin wird auch durch Kohle adsorbiert und aus diesem Grunde ist dasselbe imstande, die Aufnahme seitens der Kohle von Lab und von Trypsin zu beeinträchtigen. Bereits adsorbiertes Lab kann durch Saponin zum geringen Teil wieder in Freiheit gesetzt werden. In ähnlicher Weise wie das Saponin wirkt auch in einigen Beziehungen sehr fein verteiltes Cholesterin (Jahnsen-Blom)<sup>3)</sup>.

Schüttelinaktivierung der Enzyme. Es ist von verschiedenen Forschern beobachtet worden, daß Enzymlösungen, wenn dieselben geschüttelt werden, an Wirksamkeit einbüßen<sup>4)</sup>. Am eingehendsten ist diese sog. Schüttelinaktivierung an dem Kalbslab von S. und S. Schmidt-Nielsen studiert worden. Dieselben fanden, daß wenn eine Lablösung, nachdem sie durch kräftiges Schütteln einen Teil ihrer Wirksamkeit verloren hat, ruhig stehen gelassen wird, bald wieder an Wirksamkeit zunimmt. Wird aber die geschüttelte Enzymlösung sofort von dem Schaume getrennt, so nimmt dieselbe nicht an Wirksamkeit zu. Sobald im geschüttelten Systeme der Schaum völlig verschwunden ist, findet keine Zunahme der Aktivität mehr statt. Wird der beim Schütteln gebildete Schaum sofort herausgehoben, zeigt die aus demselben nachher gebildete Flüssigkeit eine vermehrte Labung erregende Fähigkeit. Dies wird alles darauf zurückgeführt, daß während des Schüttelns infolge Oberflächenkräfte eine Konzentrierung des Enzyms an der Oberfläche des gebildeten Schaumes stattfindet. Nach dieser Ansicht liegt also hier ein Adsorptionsvorgang vor. Da aber das Enzym nur zum Teil reaktiviert werden kann, liegt die Schüttelinaktivierung nur zum Teil an Adsorption im Schaume. Verschiedene Stoffe wie Salzsäure und besonders Saponin haben das Vermögen, die Schüttelinaktivierung des Labs herabzusetzen bzw. zu verhindern. Harlow und Stiles schüttelten Lösungen von Speicheldiastase mit Glasperlen; dabei verlor die Enzymlösung an Wirksamkeit. Rauh gemachte Glasperlen wirkten energischer als durch Schmelzen in der Flamme geglättete. Die Inaktivierung wurde hier auf Adsorption des Enzyms durch die Perlen zurückgeführt.

Kataphorese der Enzyme. Überführungsversuche mit Enzymen scheinen zuerst von Bierry, Henri und Schaeffer ausgeführt worden zu sein<sup>5)</sup>. Mehrere

<sup>1)</sup> Münch. med. Wochenschr. 57 (1910).

<sup>2)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. 60, 85, 63, 143 (1909).

<sup>3)</sup> Ebenda 82, 178 (1912).

<sup>4)</sup> Abderhalden und Guggenheim: Zeitschr. physiol. Chem. 54, 331 (1907); Signe und Sigvald Schmidt-Nielsen: Ebenda 68, 426 (1909); 68, 317 (1910); Shaklee und Meltzer: Zentralbl. Physiol. 23, 3 (1909); Harlow und Stiles, Journ. biol. Chem. 6, 359 (1909).

<sup>5)</sup> Compt. rend. Soc. biol. 1907, S. 226.

Enzyme wurden untersucht und zwar in sehr stark dialysierten Lösungen. Nur eines der geprüften Enzyme, nämlich die Diastase aus dem Pankreassaft des Hundes wanderte zur Kathode; alle die übrigen Enzyme wurden zur Anode überführt. Dann hat Michaelis die Wanderungsrichtung von Enzymen bei verschiedener Reaktion geprüft<sup>1)</sup>. Saccharase wanderte anodisch sowohl in neutraler Lösung wie in schwach saurer. Trypsin und Pepsin wanderten anodisch in neutraler Lösung aber kathodisch in schwach saurer. Malzdiastase wanderte bei neutraler und schwach saurer Reaktion zur Kathode, bei alkalischer zur Anode. Nach Michaelis verhält sich also die Saccharase wie eine ausgesprochene Säure, während die übrigen untersuchten Enzyme amphotere Eigenschaften besitzen: Trypsin und Pepsin seien in neutraler Lösung negativ geladen, werden aber durch Säure umgeladen, während Malzdiastase bei neutraler Reaktion positiv geladen sei und durch Alkali umgeladen werde. Demnach gäbe es für die amphoteren Enzyme einen isoelektrischen Punkt, wo die Enzyme in beiden Richtungen wandern (vgl. S. 65 ff.). Indessen fanden Pekelharing und W. E. Ringer, daß die Wanderungsrichtung des Schweinepepsins durch die Zugabe von Serumalbumin sowie von einer geringen Menge von Albumosen sehr wesentlich beeinflußt wird, und die Lage des isoelektrischen Punktes bezieht sich folglich nur auf das benutzte Pepsin-Albumingemisch<sup>2)</sup>. In diesem Zusammenhang mag auch auf die eben besprochenen Versuche von Willstätter hingewiesen werden, nach welchen auch die Wanderungsrichtung der Saccharase in hohem Grade von den Begleitstoffen bedingt ist (S. 120). Die über die Wanderungsrichtung und die Lage des isoelektrischen Punktes von Enzymen ausgeführten Untersuchungen sind also in hohem Grade einer Revision bedürftig.

Optimale Reaktion für die Enzymwirkung. Mit der elektrischen Ladung der Enzyme sowie auch mit ihrer verschiedenen Resistenzfähigkeit gegen die Einwirkung von Alkalien und Säuren hängt wahrscheinlich in irgend welcher Weise die Tatsache zusammen, daß ihre Wirkung von der Reaktion der Lösung in hohem Grade abhängig ist. So wirkt bekanntlich das Pepsin in saurer und das Trypsin am besten in sehr schwach alkalischer Lösung. Die Bedeutung der Reaktion für die Enzymwirkung hat besonders Sørensen hervorgehoben und er hat auch selbst eingehende Untersuchungen über die Bedeutung der Konzentration der H-Ionen bei der Wirkung von Saccharase, Katalase und Pepsin ausgeführt<sup>3)</sup>. Derselbe fand, daß die optimale Konzentration der H-Ionen bei der Saccharasewirkung beinahe dieselbe und unabhängig von der Art und Menge des Enzyms  $10^{-4.5}$  normal bleibt. Da bei neutraler Reaktion die Konzentration der H-Ionen  $= 10^{-7.07}$  ist, so bedeutet dies, daß die Saccharase bei sehr schwach saurer Reaktion am besten wirkt. Die optimale Reaktion verschiebt sich mit wachsender Versuchsdauer ein wenig gegen die alkalische Seite hin. Die Katalase zeigt nach Sørensen ihre beste Wirkung in der Nähe des Neutralpunktes und sowohl bei Katalase- wie bei der Pepsin-Wirkung wird die optimale H-Ionen-Konzentration mit zunehmender Versuchsdauer gegen die saure Seite verschoben. Michaelis und Davidsohn bestimmten die optimale H-Ionenkonzentration bei der Saccharasewirkung zu  $10^{-5}$ — $10^{-4}$  oder etwa die gleiche Zahl wie die Sørensen gefunden hatte<sup>4)</sup>; für die Maltase-

1) Biochem. Zeitschr. **16**, 81, 486; **17**, 231 (1909).

2) Zeitschr. physiol. Chem. **75**, 282 (1911); vgl. auch **76**, 385 (1911).

3) Biochem. Zeitschr. **21**, 131 (1909).

4) Biochem. Zeitschr. **35**, 386 (1911).

Wirkung fanden Michaelis und Rona die Zahl  $10^{-6,1}$ — $10^{-6,8}$  oder gerade eben saure Reaktion<sup>1)</sup>.

Für die Lage der optimalen H-Konzentration scheint aber nicht das Enzym und dessen Begleitstoffe allein bestimmend zu sein. Auch die Natur und der physikalische Zustand des Substrates spielt dabei eine Rolle. Dies erhellt besonders aus Versuchen von W. E. Ringer über die Pepsinwirkung. Wenn es um ein ungelöstes Substrat sich handelt, nimmt im allgemeinen die Einwirkung des Pepsins mit dem Quellungsgrad des Substrates zu. Mit Karinfibrin als Substrat fand Ringer die maximale Quellung und das Wirkungsoptimum bei etwa demselben  $p_H$  für eine gegebene Säure. Verschiedene Säuren ergaben aber für diesen Punkt verschiedene  $p_H$ -Werte, wie folgende Zahlen für  $p_H$  bei der maximalen Wirkung zeigen:

Salzsäure . . . . .	2,23	Schwefelsäure . . . . .	3,16
Oxalsäure . . . . .	2,24	Essigsäure . . . . .	2,81
Milchsäure . . . . .	2,42	Zitronensäure . . . . .	2,36
Phosphorsäure . . . . .	2,04		

Mit Azidalbuminat als Substrat fand Sörensen für  $p_H$  bei der optimalen Pepsinwirkung die Ziffer 1,63. Michaelis und Mitarbeiter erhielten mit Kasein die Ziffer 1,77 und mit Edestin die Zahl 1,4 und zwar im letzteren Falle mit verschiedenen Säuren.

Daß bei Ringers Versuchen mit verschiedenen Säuren das optimale  $C_H$  verschieden gefunden wurde, liegt nach Ringer an dem durch die negativen Ionen der Säuren ausgeübten Einfluß auf die Quellung des Fibrins. Eine ähnliche Einwirkung wird auch von Salzen ausgeübt und zwar durch deren Anionen, welche nach Ringer in dem Maße die Pepsindigestion hindern, in welchem sie der Quellung entgegenwirken<sup>2)</sup>. Einer ähnlichen Auffassung bezüglich der Quellung schließt sich J. Traube an<sup>3)</sup>. Michaelis konnte das Zusammenfallen der optimalen Wirkung mit dem Quellungsmaximum nicht für alle Fälle betätigen<sup>4)</sup>, und nach J. Northrop, der die Geschwindigkeit der Pepsinwirkung der Konzentration der Pepsin-Eiweißverbindung proportional setzt, liegt die Bedeutung der Art des Substrates und der H-Ionen in deren Einfluß auf die Menge gebildeter Pepsin-Eiweißverbindung und nicht in der Quellung oder Viskosität des Eiweißes. Die Pepsin-Eiweißverbindung ist ein Salz des Pepsin-anions und des Eiweißkations; die Ionisation verschiedener Eiweißkörper ist aber bei der gleichen H-Konzentration verschieden und wird außerdem durch einen Überschuß an gleichionigen Salzen herabgedrückt; folglich wird die Pepsinwirkung durch gewisse Neutralsalze sowie durch exzessive Ansäuerung vermindert<sup>5)</sup>.

Die optimale Reaktion für die Trypsinwirkung scheint auch von der Art des Substrats abhängig zu sein. S. Palitsch und L. E. Walbum erhielten, indem sie die Erstarrungsfähigkeit des Leims zum Maßstab der Verdauung machten, bei  $37^0$   $p_H = 9,7$ <sup>6)</sup>. K. Meyer fand mit Kasein als Substrat  $p_H = 8$ <sup>7)</sup> und Michaelis und Davidsohn mit Pepton die gleiche Ziffer<sup>8)</sup>.

<sup>1)</sup> Biochem. Zeitschr. **57**, 70 (1913).

<sup>2)</sup> Koll. Zeitschr. **19**, 253 (1916).

<sup>3)</sup> Biochem. Zeitschr. **107**, 295 (1920).

<sup>4)</sup> Deutsche med. Wochenschr. **46**, 126 (1920).

<sup>5)</sup> Journ. general. Physiol. **3**, 211 (1920).

<sup>6)</sup> Biochem. Zeitschr. **47**, 1 (1912).

<sup>7)</sup> Ebenda **32**, 274 (1911).

<sup>8)</sup> Ebenda **36**, 280 (1911).

## Zerlegung der Enzyme.

Die Enzyme verlieren bei genügender Erhitzung der wäßrigen Lösungen ihre spezifische Wirkungsfähigkeit, und bereits bei gewöhnlicher Temperatur werden dieselben allmählich zerlegt. Die Gegenwart gewisser Stoffe, z. B. Säuren oder Alkalien wirkt bisweilen auf die Enzyme schädlich. Andererseits können die Enzyme durch die Anwesenheit gewisser anderer Stoffe vor Zerstörung geschützt werden. Die reinsten Enzyme sind überhaupt gegen schädliche Einflüsse die empfindlichsten. Die schützende Einwirkung einiger Stoffe liegt wahrscheinlich daran, daß dieselben eine Verbindung irgendwelcher Art, z. B. Adsorptionsverbindungen mit den Enzymen einzugehen imstande sind. Gewöhnlich werden die Enzyme bei genügender Erhitzung ihrer neutralen wäßrigen Lösungen auf 60—70° dauernd vernichtet. Eine saure oder alkalische Lösung wird oft bei niedrigerer Temperatur zerlegt. Bei der Gegenwart von denjenigen Stoffen, auf welche die Enzyme einwirken können, sind dieselben mehr widerstandsfähig. Dies wurde von O'Sullivan und Tompson für Invertin mit Rohrzucker konstatiert<sup>1)</sup>, ferner von Bayliss und Starling<sup>2)</sup> sowie von Hedin<sup>3)</sup> für Trypsin mit Eiweiß, von Hedin für die  $\beta$ -Protease der Milz mit Eiweiß<sup>4)</sup>, von Taylor für Lipase mit Fett<sup>5)</sup>. Ferner fand Rosenthaler, daß Emulsin, Diastase und Invertin durch Eiweiß geschützt werden<sup>6)</sup>. Andererseits fanden Euler und Kullberg, daß die im wässrigen Extrakt der Trockenhefe anwesenden Eiweißstoffe und Kohlenhydrate auf die Hitzebeständigkeit des Invertins keinen oder nur einen sehr geringen Einfluß ausüben, sofern man dafür sorgt, daß die Konzentration der H-Ionen die gleiche bleibt. Die Schutzwirkung des Rohrzuckers ist nach Euler und Kullberg gering<sup>7)</sup>.

Madsen und Wahlbum haben die Zersetzung von Enzymen bei verschiedenen Temperaturen verfolgt und gefunden, daß die Zersetzung von Trypsin, Pepsin und Lab bei gegebener Temperatur monomolekular verläuft, d. h. daß die Geschwindigkeit der Reaktion in jedem Augenblicke der jeweiligen Konzentration des Enzyms proportional ist<sup>8)</sup>. Dasselbe fanden auch Hudson und Paine für die Zerstörung von Invertin durch Säure<sup>9)</sup>. Wenn A die anfängliche Wirksamkeit des Enzyms bedeutet und x die Wirkung des zur Zeit t zerlegte Menge desselben, so kann der Geschwindigkeitskoeffizient der Enzymzerstörung durch die Formel einer monomolekularen Reaktion

$$k = \frac{1}{t} \log \frac{A}{A-x}$$

ausgedrückt werden. Hudson und Paine bekamen bei Messungen folgende Zahlen. Das Enzym wurde mit 0,02 normal HCl behandelt.

t (Min.)	Aktivität	k
0	50,5	—
20	39	0,0045
40	33,1	0,0046

<sup>1)</sup> Journ. chem. Soc. **57**, 926 (1890).

<sup>2)</sup> Journ. Physiol. **30**, 71 (1904).

<sup>3)</sup> Ebenda **32**, 474 (1905).

<sup>4)</sup> Ebenda **30**, 173 (1904).

<sup>5)</sup> Journ. biol. chem. **2**, 90 (1906).

<sup>6)</sup> Biochem. Zeitschr. **26**, 9 (1910).

<sup>7)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. **71**, 134 (1911).

<sup>8)</sup> Arrhenius: Immunochemie. Leipzig 1907. S. 58; vgl. jedoch Michaelis und Rothstein: Biochem. Zeitschr. **105**, 60 (1920).

<sup>9)</sup> Journ. Amer. chem. Soc. **32**, 774 (1910).

t (Min.)	Aktivität	k
55	28,4	0,0044
70	24,9	0,0044
85	22	0,0042
115	17,7	0,0040

Mit verschieden starker Säure wurden folgende Zahlen erhalten

Konz. von HCl	k
0,5 norm.	365
0,4 —	96
0,3 —	42
0,02 —	4
0,015 —	1
0,01 —	0

Analoge Resultate wurden bei der Zerlegung von Invertin mit Alkali erhalten.

Auch gegen Licht sind gewisse Enzyme empfindlich. So fand Schmidt-Nielsen, daß Lab durch Licht geschädigt wird und zwar durch die ultravioletten Strahlen<sup>1)</sup>. Zu den gleichen Ergebnissen gelangten bei Versuchen mit Invertin Jodlbauer und Tappeiner<sup>2)</sup>. Auch die sichtbaren Strahlen können indessen in gewissen Fällen (Peroxydase, Hämase) in Gegenwart von Sauerstoff schädigend einwirken<sup>3)</sup>. In diesem Falle wird bisweilen die Lichtwirkung durch Zusatz von fluoreszierenden Substanzen (z. B. Eosin) um das vielfache beschleunigt. Dies wurde mit Diastase, Papayotin und Invertin konstatiert<sup>4)</sup>, ferner mit Hefe und Azetondauerhefe<sup>5)</sup> sowie auch mit Lab<sup>6)</sup> und Katalase<sup>7)</sup>. Die schädigende Einwirkung des Lichtes auf Invertin bei Sauerstoffanwesenheit wird durch Rohrzucker sowie durch verschiedene andere Kohlehydrate gehemmt (Jodlbauer)<sup>8)</sup>. Da die Schädigung der Enzyme durch die sichtbaren Strahlen nach dem Gesagten möglicherweise als ein Oxydationsprozeß aufzufassen ist, so hat Jodlbauer geprüft, ob die Anwesenheit von Sauerstoff auch für die Zerstörung von Invertin durch Wärme von Belang ist; dies war nicht der Fall<sup>9)</sup>. H. Agulhon teilt die von ihm untersuchten Enzyme je nach der Strahlenwirkung in drei Gruppen ein<sup>10)</sup>:

1. Saccharase, Laccase (Oxydase) und Tyrosinase, welche bei Anwesenheit von Sauerstoff durch gewöhnliche Lichtstrahlen angegriffen werden, weniger rasch bei Anwesenheit von Sauerstoff.

2. Katalase und Emulsin, welche in Vakuum durch allerlei Strahlen zerlegt werden, jedoch weniger rasch als bei Sauerstoffanwesenheit.

3. Lab, das durch ultraviolette Strahlen bei Gegenwart oder Abwesenheit von Sauerstoff stark angegriffen wird.

Über die Einwirkung der ultravioletten Strahlen auf Pankreassaft, Magensaft und die Enzyme verschiedener Organe und Gewebe sind Untersuchungen

<sup>1)</sup> Hofmeisters Beitr. **5**, 355 (1904); **8**, 481 (1906).

<sup>2)</sup> Deutsch. Arch. klin. Med. **87**, 373 (1906).

<sup>3)</sup> Jamada und Jodlbauer: Biochem. Zeitschr. **8**, 61 (1907); Ber. d. chem. Ges. **41**, 225 (1908).

<sup>4)</sup> Tappeiner: Ber. d. chem. Ges. **36**, 3035 (1903).

<sup>5)</sup> Tappeiner: Biochem. Zeitschr. **8**, 47 (1908).

<sup>6)</sup> Huber: Arch. f. Hygiene **54**, 53 (1905).

<sup>7)</sup> Zeller: Inaug.-Diss. München 1907. S. 44 (nach Biochem. Zentralbl. **8**, S. 62).

<sup>8)</sup> Biochem. Zeitschr. **3**, 488 (1907).

<sup>9)</sup> Ebenda **3**, 483.

<sup>10)</sup> Ann. Inst. Pasteur **26**, 38 (1912).

von Delezenne und Lisbonne<sup>1)</sup> sowie von N. Sieber<sup>2)</sup> ausgeführt worden.

Der Reaktionsverlauf bei der Vernichtung der Enzyme durch die ultravioletten Strahlen ist zuerst von Dreyer und Hanssen verfolgt worden<sup>3)</sup>. Dabei stellte sich heraus, daß die Abschwächung der Wirkung von Hefe, Trypsin und Papayotin bei fortgesetzter Belichtung nach der Gleichung einer monomolekularen Reaktion verläuft. Dasselbe konnten S. und S. Schmidt-Nielsen für die Abschwächung der Labwirkung konstatieren<sup>4)</sup>. Der Geschwindigkeitskoeffizient der Enzymzerlegung war von der Temperatur, wenn dieselbe 24° nicht überstieg, fast unabhängig.

Röntgenstrahlen üben nach Richter und Gerhartz keine Einwirkung auf Lab, Pepsin, Trypsin und Papayotin aus<sup>5)</sup>. Dagegen fanden H. Meyer und Fr. Behring eine geringe zerlegende Wirkung von Röntgenstrahlen auf Peroxydase und Meerrettig und auf die Protease des Hefepreßsaftes<sup>6)</sup>.

Die Einwirkung von Radium auf Enzyme ist Gegenstand zahlreicher Untersuchungen gewesen. Dabei hat man aber zu berücksichtigen, daß die Einwirkung verschieden ist, je nachdem ein Salz, die Emanation oder die Bestrahlung angewandt wird. Auch lassen sich andere Resultate erwarten, je nachdem das Enzym oder das Enzym + Substrat der Behandlung unterworfen werden. Das Radium entsendet, wie bekannt,  $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\gamma$ -Strahlen, von welchen die  $\alpha$ -Strahlen aus Heliumatomen und die  $\beta$ -Strahlen aus negativ geladenen Elektronen gebildet werden. Erstere werden bereits durch geringe Schichtdicken des Mediums, der Luft, oder des umschließenden Glases, Glimmers oder Metalles absorbiert. Der Unterschied zwischen den Behandlungsarten kann nach Körösy darauf zurückgeführt werden, daß ein Radiumsalz, direkt angebracht, alle drei Arten von Strahlen aussendet, während die Emanation als solche nur die  $\alpha$ -Strahlen und die Radiumstrahlung  $\beta$ - und  $\gamma$ -Strahlen enthalten. Körösy hat die Ergebnisse verschiedener Forscher über die Einwirkung der Strahlen auf Enzyme zusammengestellt<sup>7)</sup>. Die Ergebnisse sind etwas strittig, was sich wohl aus verschiedener Reinheit der angewandten Präparate erklären läßt. Es scheint aber ein bestimmter Unterschied zu existieren zwischen den Wirkungsweisen von einerseits Salz und Emanation und andererseits Bestrahlung besonders in bezug auf die Proteolyse. Loewenthal ist auf Grund der experimentellen Befunde geneigt anzunehmen, daß die biologisch nachweisbaren Wirkungen der Radiumemanation in einer Aktivierung der Körperfermente zu suchen ist<sup>8)</sup>.

#### Diffusion von Enzymen.

Was zunächst die freie Diffusion betrifft, so erleidet es wohl keinen Zweifel, daß die Enzyme, wie andere Kolloide, nur sehr langsam diffundieren. Über diesen Verlauf haben Herzog und Kasarnowski Messungen ausgeführt, welche für die Diffusionskonstante folgende Werte ergaben<sup>9)</sup>:

<sup>1)</sup> Compt. rend. **155**, 788 (1912).

<sup>2)</sup> Zitiert nach Biochem. Zentralbl. **15**, Nr. 1498.

<sup>3)</sup> Compt. rend. **145**, 564 (1907).

<sup>4)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. **58**, 233 (1908).

<sup>5)</sup> Berl. klin. Wochenschr. **45**, 646 (1908).

<sup>6)</sup> Fortschr. Röntgenstr. **17**, 33 (1912).

<sup>7)</sup> Pflügers Arch. **137**, 125 (1911).

<sup>8)</sup> Berl. klin. Wochenschr. **48**, Nr. 7 (1910).

<sup>9)</sup> Koll. Zeitschr. **2**, 1 (1907).

Pepsin . . . . .	0,070
Lab . . . . .	0,066
Invertin . . . . .	0,033
Emulsin . . . . .	0,036

Die entsprechende Ziffer war für

Ovalbumin . . . . .	0,059
Ovomukoid . . . . .	0,044

Derartige Bestimmungen haben nur einen begrenzten Wert, da die Enzyme nicht rein erhalten werden können und die Verunreinigungen die Diffusion der Enzyme wahrscheinlich beeinflussen.

Versuche über die Membrandiffusion oder Dialyse der Enzyme sind von M. Jacoby unter Benutzung besonders präparierter Amnionmembranen gemacht worden<sup>1)</sup>. Derselbe fand, daß sowohl Pepsin wie Lab nach 6—7 Tagen in nachweisbaren Mengen durch die Membran passiert waren. Ebenso passieren nach Bierry und Schaeffer Laktase sowie Emulsin von dem Verdauungskanal der Schnecken leicht durch eine Kollodiummembran. Wird dagegen die Membran mit Lezithin oder Cholesterin imprägniert, so wird die Passage sehr erschwert<sup>2)</sup>. Levy fand, daß Ptyalin, Lab, Pepsin und Taka-Diastase durch Kollodium dialysieren, nicht aber das Trypsin<sup>3)</sup>. Nach Vandevelde vermögen Invertin, Maltase, Lab, Zymase und Katalase nicht durch eine Zellulosemembran zu dringen<sup>4)</sup>. Auch sonst gilt es wohl als eine allgemeine Erfahrung, daß die Enzyme durch Dialyse durch Pergamentpapier von dialysablen Stoffen geschieden werden können.

Es mag schließlich mit Rücksicht auf derartige Versuche daran erinnert werden, daß das Verschwinden der Enzymwirkung der im Dialysierschlauch enthaltenen Lösungen nicht beweist, daß das Enzym weggedialysiert ist, da dasselbe durch das Material des Dialysierschlauches adsorbiert oder während des Versuches einfach zerlegt sein könnte. Nur wenn das Enzym nach der Anwendung einer dichten Membran im Außenwasser nachgewiesen werden kann, ist dessen Dialyse als bewiesen anzusehen. Auch kann es eintreffen, daß eine für die Enzymwirkung notwendige Substanz weggeht, während das eigentliche Enzym zurückbleibt (siehe S. 130).

In diesem Zusammenhange soll auch die Filtration von Enzymlösungen abgehandelt werden. Bierry und Schaeffer fanden bei ihren eben erwähnten Membranversuchen, daß die Lösungen von Laktase und Emulsin beim Filtrieren durch Kollodiumsäckchen, welche mit Lezithin oder Cholesterin imprägniert waren, stark konzentriert wurden, indem wohl das Wasser aber nicht die Enzyme durch die Membran drangen. Levy fand das Verhalten folgender Enzyme beim Filtrieren durch die angegebenen Filtra wie folgt:

	Gehärtetes Filtrierpapier	Berkefeld	Kollodium
Ptyalin . . . . .	—	+	—
Lab . . . . .	—	—	—
Pepsin . . . . .	—	zum Teil	—
Taka-Diastase . . .	+	+	zum Teil
Trypsin . . . . .	—	zum Teil	—

+ bedeutet, daß das Enzym durch das Filter passiert, — daß es nicht passiert<sup>5)</sup>. Ausgedehntere Untersuchungen mit Kollodiummembranen sind von Strada

<sup>1)</sup> Biochem. Zeitschr. **1**, 63 (1906).

<sup>2)</sup> Compt. rend. soc. biol. **62**, 723 (1907).

<sup>3)</sup> Journ. inf. diseases **2**, 1 (1905).

<sup>4)</sup> Biochem. Zeitschr. **1**, 408 (1906).

<sup>5)</sup> Journ. inf. dis. **2**, 1 (1905).

ausgeführt worden<sup>1)</sup>. Nach diesen wird das Pepsin durch die Membran zurückgehalten. Das Trypsinogen passiert unverändert durch die Membran und kann nachher aktiviert werden; die Enterokinase bleibt dagegen zurück.

Bei allen Membranversuchen, sei es, daß dieselben als Diffusions- oder Filtrationsversuche angeordnet sind, darf man aber nicht vergessen, daß das Membranmaterial einen bedeutenden Teil der zu prüfenden Stoffe adsorbieren kann. Als Beweis hierfür mag nach Bechhold eine Zusammenstellung der Ergebnisse von Versuchen zitiert werden, welche von Levy mit verschiedenen Enzymen ausgeführt wurden<sup>2)</sup>. Es bedeutet o nicht adsorbiert, t teilweise adsorbiert und s stark adsorbiert.

	Filtermaterial:		
	Gehärtetes Filtrierpapier	Berkefeld	Kollodiumhaut
Ptyalin . . . . .	s	o	o
Taka-Diastase . . . . .	o	o	t
Lab . . . . .	s	s	s
Pepsin . . . . .	s	t	s
Trypsin . . . . .	s	s	s

Aus Bechholds eigenen Filtrationsversuchen geht hervor, daß Lab durch Eisessigkollodiumfiltra in hohem Grade adsorbiert wird. Dasselbe ist auch der Fall mit anderen physiologisch wirksamen Stoffen, z. B. Arachnolysin und Staphylolysin; dagegen wurde Diphtherietoxin nicht adsorbiert.

Auch die Reaktion der Lösung soll für die Filtration von Bedeutung sein, wie aus Versuchen von Holderer hervorzugehen scheint<sup>3)</sup>.

Zusammengesetzte Enzyme. Ebensowenig wie es bis jetzt gelungen ist, ein Enzym frei von nichtenzymatischen Verunreinigungen herzustellen, ebensowenig darf man behaupten, daß nicht ein sog. Enzym ein Gemenge von mehreren verwandten Enzymen sein könnte. In der Tat geschehen mehrere enzymatische Prozesse stufenweise, und es wäre wohl möglich, daß die verschiedenen Stufen durch ungleiche Enzyme bedingt wären. So könnte die Zersetzung von Eiweiß bis zur Bildung von Aminosäuren über Albumosen, Peptone und Polypeptide als Zwischenprodukte das Resultat der Wirksamkeit mehrerer Enzyme sein, die nacheinander oder miteinander parallel in Wirksamkeit treten. Vermag doch das Erepsin genuine Eiweißkörper im allgemeinen nicht anzugreifen, wohl aber den Spaltungsprozeß fortzusetzen, wenn derselbe durch andere Enzyme (Pepsin, Trypsin) angefangen worden ist. Daß das Emulsin als ein Gemenge von mehreren Enzymen aufzufassen ist, scheint aus den Untersuchungen von Rosenthaler hervorzugehen (S. 156 ff.).

Aktivierung der Enzyme. Wie bereits erwähnt, werden die Enzyme innerhalb der lebenden Zellen gebildet, obwohl dieselben in gewissen Fällen ihre hauptsächliche Wirkung außerhalb der Zellen entfalten. In einigen solchen Fällen sondern die Zellen nicht die fertigen Enzyme ab, sondern Substanzen, welche erst nachher in wirksame Enzyme übergeführt werden. Diese unwirksamen Muttersubstanzen der Enzyme werden in einigen Fällen Proenzyme oder Zymogene genannt. Solche Proenzyme von Pepsin und Lab sind in der Magenschleimhaut vorhanden, und die genannten Enzyme kommen in einer neutralen Infusion der Magenschleimhaut zum größten Teil als Zymogene

<sup>1)</sup> Ann. inst. Past. **22**, 982 (1908).

<sup>2)</sup> Zeitschr. physik. Chem. **60**, 285 (1907).

<sup>3)</sup> Zitiert nach Biochem. Zentralbl. **12** Nr. 306 (1911).



vor. Diese werden beide durch die von der Magenschleimhaut abgesonderte Salzsäure in die wirksamen Enzyme übergeführt. Wie Hedin wahrscheinlich gemacht hat, besteht das Labzymogen vielleicht aus Lab und einer hemmenden Substanz, welche bei der Aktivierung des Zymogens mit Salzsäure zerlegt wird<sup>1)</sup>. Andererseits ist es ihm gelungen in gewissen Fällen, z. B. in dem Labzymogen des Kalbmagens, durch Behandlung mit schwachem Ammoniak das Lab zum Teil zu zerstören, wodurch die Hemmungswirkung zur Geltung kommt. Auch das Trypsin wird gewöhnlich in unwirksamer Form von der Pankreasdrüse abgesondert. Der inaktive Pankreassaft wird einerseits durch die von der Darm-schleimhaut abgesonderte Enterokinase aktiviert, andererseits durch Zusatz von löslichen Ca-Salzen. Über den bei der Aktivierung wirksamen Mechanismus ist nichts sicheres bekannt. Da die Enterokinase durch Hitze zerlegt wird, betrachtet man auch dieselbe gewöhnlich als ein Enzym. Indessen wird das Trypsinogen, d. h. das Zymogen des Trypsins, auch im wäßrigen Infuse der Drüse aktiviert; es gibt also auch noch andere Faktoren als die oben genannten, welche für die Aktivierung von Bedeutung sind. Neuerdings findet E. Waldschmidt-Leitz, daß aus der Pankreasdrüse eine Substanz gebildet wird, welche in ihrem Verhalten mit der Enterokinase weitgehend übereinstimmt. So wird sie gleich wie diese durch Tonerde adsorbiert und es gelingt auf diese Weise gleichfalls, sie vom Trypsin zu trennen und das Enzym in inaktiver, aktivierbarer Form zu erhalten. Er nimmt deshalb an, daß diese Substanz mit der Enterokinase identisch ist und hält das aktive Trypsin für eine Verbindung zwischen dem inaktiven Trypsinogen und der Enterokinase<sup>2)</sup>.

Die Pankreaslipase wird nach Willstätter und Mitarbeitern durch verschiedene Substanzen (CaCl<sub>2</sub>, Albumin, glykocholsaures Natrium u. a.) aktiviert, was auf Adsorptionsprozesse zurückgeführt wird, wodurch für die Enzymwirkung günstigere Verhältnisse geschaffen werden<sup>3)</sup>.

Außer den genannten Enzymen gibt es auch andere, welche als Proenzyme bekannt sind.

Unter der Benennung Co-Enzyme (auch Aktivatoren) sind gewisse Stoffe zusammengefaßt worden, welche meistens hitzebeständig und dialysabel sind und folglich nicht mit den eigentlichen Enzymen in gleicher Linie zu stellen sind, aber trotzdem für die Wirkung gewisser Enzyme unentbehrlich oder jedenfalls nützlich sind. Es erleidet wohl keinen Zweifel, daß die Wirkung der Co-Enzyme in verschiedenen Fällen ungleich zu deuten ist. Die Enzyme, deren Wirkung von der Gegenwart eines Co-Enzyms abhängig sind, verlieren meistens durch genügende Dialyse ihre Wirkungsfähigkeit. Dies ist z. B. der Fall mit Leberlipase, welche nach Magnus beim Dialysieren ihr Vermögen Amylsalicylat zu spalten verliert, aber diese Fähigkeit durch Zugabe von gekochtem Enzym oder von konzentriertem Dialysat wieder gewinnt<sup>4)</sup>. Nach Centanni wird die Leberamylase durch Extraktion mit Äther inaktiviert, kann aber durch Zugabe von Ätherextrakt von Leber wieder aktiviert werden. Die aktivierende Substanz ist hitzebeständig, aber nicht dialysierbar<sup>5)</sup>. Beobachtungen von Bierry, Giaja und Henri erwiesen zuerst, daß lange dialysierter Pankreassaft fast ohne Einfluß auf Stärke ist; Bierry machte dieselbe Beobachtung

<sup>1)</sup> Zeitschr. physiol. Chem **72**, 187 (1911).

<sup>2)</sup> Ebenda **132**, 181 (1923).

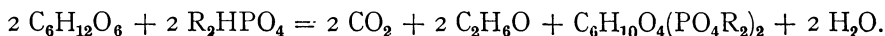
<sup>3)</sup> Ebenda **125**, 93 (1922).

<sup>4)</sup> Ebenda **42**, 149 (1904).

<sup>5)</sup> Biochem. Zeitschr. **29**, 389 (1910).

bezüglich der Maltase im Pankreas und der Saccharase des Darmes<sup>1)</sup>. Wohlgemuth fand, daß außer der Pankreasdiastase auch die Speicheldiastase durch Dialyse geschwächt wird<sup>2)</sup>. In allen diesen Fällen gewinnen die dialysierten Enzyme ihre Wirkung wieder beim Zusatz von Chloriden oder Bromiden. Nach Bierry behält pflanzliche Diastase ihr Spaltungsvermögen, auch wenn Chloride oder Bromide fehlen. Das am besten studierte Co-Enzym ist das in der Hefe und in dem Hefepreßsaft. Harden und Young fanden nach Filtrieren von Hefepreßsaft durch mit Gelatine gedichtete Tonfilter verschiedene Bestandteile der Zymase auf dem Filter und im Filtrate. Auf dem Filter findet sich das eigentliche Enzym, das beim Erhitzen zerlegt wird. Dieses ist für sich unwirksam, wird aber gärungserregend, wenn das Co-Enzym, das durch das Filter passiert ist und dialysierbar sowie hitzebeständig ist, zugegeben wird. Letzteres wird in dem Laufe der Gärung verbraucht, und infolgedessen wird das Enzym unwirksam. Nach neuem Zusatz von Co-Enzym am besten in der Form von gekochtem Preßsaft fängt aber die Gärung wieder an<sup>3)</sup>. Nach Buchner und Klatt wird das Co-Enzym durch Lipase zerlegt<sup>4)</sup>. Außer durch gekochten Preßsaft wird das unwirksame Enzym auch durch sekundäres Natriumphosphat zu neuer Wirksamkeit erregt.

Die Phosphorsäure ist nach Ablauf der Preßsaftgärung zum Teil nicht mehr durch Magnesiamischung fällbar (Harden und Young). Nach Harden und Young hat man sich die Einwirkung von gekochtem Preßsaft und von Phosphaten so zu denken, daß zunächst ein Hexosephosphorsäureester unter gleichzeitiger Bildung von Kohlensäure und Alkohol nach folgender Formel entsteht:



Das Hexosephosphat kann nachher durch ein besonderes Enzym in Phosphat und Hexose gespalten werden. Die Hexosephosphorsäure ist von Young in Form von Bleisalz isoliert worden. Dextrose, Fruktose und Mannose erzeugen bei ihrer Vergärung die gleiche Hexosephosphorsäure. Nach Iwanoff ist die Phosphorsäureverbindung ein Triosephosphat<sup>5)</sup>, das durch abgetötete aber nicht durch lebende Hefe unter Bildung von CO<sub>2</sub>, Alkohol und Phosphorsäure vergoren wird. Dagegen findet Lebedew für den Phosphorsäureester dieselbe Formel wie Young<sup>6)</sup>. Sowohl Iwanoff wie auch Euler und seine Mitarbeiter nehmen an, daß die Bildung des Phosphorsäureesters durch ein besonderes Enzym herbeigeführt wird<sup>7)</sup>. Nach den Ansichten von Iwanoff und von Lebedew wird der Zucker vergoren erst nachdem er mit der Phosphorsäure sich verbunden hat. In welcher Weise die Hexosephosphorsäure für die Gärung von Bedeutung ist, bleibt unentschieden. Neuberg und Mitarbeiter heben hervor, daß deren Bildung am besten mit abgetöteter Hefe geschieht, und da dieselbe nicht durch lebende Hefe vergoren wird, sprechen dieselben der Säure jede Bedeutung für die eigentliche alkoholische Gärung ab<sup>8)</sup>.

<sup>1)</sup> Compt. rend. soc. biol. **60**, 479 (1906); Biochem. Zeitschr. **40**, 357 (1912).

<sup>2)</sup> Ebenda **9**, 1 (1908).

<sup>3)</sup> Proc. physiol. Soc. **32** (1904); Proc. chem. Soc. **21**, 189 (1905); Proc. roy. Soc. **77**, 405; **78**, 369 (1906).

<sup>4)</sup> Biochem. Zeitschr. **8**, 520 (1908).

<sup>5)</sup> Zentralbl. f. Bakt. **24**, 1 (1909).

<sup>7)</sup> Biochem. Zeitschr. **36**, 248 (1911).

<sup>6)</sup> Euler und Kullberg: Zeitschr. physiol. Chem. **74**, 15 (1911); **80**, 175 (1912); Biochem. Zeitschr. **37**, 133 (1911).

<sup>8)</sup> Ebenda **83**, 244 (1917).

### Bildung oder Mobilisierung der Enzyme.

In bezug hierauf liegen Beobachtungen von Pawlow und seinen Mitarbeitern vor. Nach diesen ist die Beschaffenheit der Absonderung der Magendrüsen sowie die der Bauchspeicheldrüse in hohem Grade von der Menge und Zusammensetzung der Nahrung abhängig. Diese Abhängigkeit betrifft nach Pawlow nicht nur die Menge des sezernierten Saftes, sondern auch das Verhältnis zwischen den im Pankreassaft enthaltenen Enzymen und zwar in der Weise, daß diejenigen Enzyme abgesondert werden, welche die zugeführte Nahrung am besten zu digerieren vermögen. Wenn man z. B. einen Hund wochenlang lediglich mit Milch und Brot ernährt und ihn dann auf eine ausschließliche Fleischkost überführt, die viel mehr Eiweißkörper und keine Stärke enthält, so kann man eine stetige Zunahme des Trypsinogens im Pankreassaft beobachten. Wenn umgekehrt ein Hund, der lange mit Fleisch ernährt worden war, und dessen Pankreassaft nach Aktivieren sehr energisch auf Eiweiß einwirkte, auf Brot- und Milchdiät gesetzt wurde, so nahm das eiweißverdauende Vermögen des Saftes stetig ab, während das stärkeverdauende zunahm<sup>1)</sup>. Zu ähnlichen Schlüssen kam auch Brocard bei der Prüfung der Leichtigkeit, mit welcher verschiedene kohlehydrathaltige Nahrung von verschiedenen Tierarten und Individuen digeriert wird<sup>2)</sup>. Analog mit den Befunden Pawlows fand Weinland, daß die Pankreasdrüse, welche normalerweise keine Laktase enthält, nach Ausfütterung mit Milch oder Milchzucker dieses Enzym absondert<sup>3)</sup>, was auch von Bainbridge bestätigt wurde<sup>4)</sup>. Andererseits wird die Richtigkeit dieser Beobachtungen über die Laktase von Bierry<sup>5)</sup> und von Plimmer<sup>6)</sup> bestritten. Letzterer weist auf die Fehler der Methoden der früheren Forscher hin. Der Ansicht entgegen, daß die Absonderung der Verdauungsenzyme der Beschaffenheit der Nahrung sich anpaßt, haben auch mit besonderer Rücksicht auf den Mundspeichel folgende Forscher sich geäußert: Wohlgemuth<sup>7)</sup>, Carlson und Crittenden<sup>8)</sup>, L. Mendel<sup>9)</sup>. Ferner haben Mendel und seine Mitarbeiter bei eingehenden Untersuchungen über gewisse im embryonalen Darm und anderen embryonalen Geweben enthaltene Enzyme keinen markierten Unterschied finden können zwischen diesen und den Enzymen des erwachsenen Tieres<sup>10)</sup>. Diese Ergebnisse sprechen gegen den angenommenen Einfluß der Nahrung und der Nahrungsaufnahme auf die Bildung der Enzyme. Neuere Untersuchungen von London und seinen Mitarbeitern haben ergeben, daß wohl die Mengen der abgesonderten Säfte von der Zusammensetzung der Nahrung abhängig sind, aber nicht der Enzymgehalt derselben<sup>11)</sup>.

Als im speziellen Sinne sekretionsbefördernd sind in bezug auf den Magensaft nach Pawlow Peptonpräparate wirksam und in bezug auf den Pankreassaft Salzsäure in Duodenum. Diese letztere Einwirkung beruht nach Bayliss und Starling auf der Bildung im Duodenum unter der Einwirkung der Salz-

1) Pawlow: Arbeit der Verdauungsdrüsen. Wiesbaden 1898. S. 51.

2) Journ. d. physiol. pathol. 4, 41, 69 (1902).

3) Zeitschr. Biol. 38, 607 (1899); 40, 386 (1900).

4) Journ. Physiol. 31, 98 (1904).

5) Compt. rend. soc. biol. 58, 701 (1905).

6) Journ. Physiol. 34, 93 (1906).

7) Biochem. Zeitschr. 9, 1 (1908).

8) Amer. Journ. Physiol. 26, 169 (1910).

9) Collected Papers, Lab. physiol. Chem. New Haven 1907—1910.

10) Amer. Journ. Physiol. 20 (1907); 21 (1908).

11) Zeitschr. physiol. Chem. 68, 366 (1910).

säure von einem spezifisch sekretionsbefördernden Stoffe, dem sog. Sekretin. Wenn dieses in das Blut eingespritzt wird, tritt eine Steigerung der Pankreassekretion ein<sup>1)</sup>. Ein ähnlicher Stoff, welcher die Sekretion von Magensaft fördern soll, wird nach Edkins aus der Magenschleimhaut erhalten<sup>2)</sup>. Diese Sekretine sind hitzebeständig und ihrer chemischen Zusammensetzung nach völlig unbekannt; auch der Mechanismus ihrer Wirkung ist sehr unklar.

Daß einzelne Zellen durch geeignete Nahrungsmittel in bezug auf die in denselben produzierten Enzyme beeinflusst werden können, scheint aus Versuchen von Dubourg hervorzugehen. Er fand, daß Hefen, welche keine merkbare Fähigkeit besitzen, Rohrzucker zu invertieren, dieses Vermögen erlangen, wenn dieselben in einer stickstoffreichen Nährlösung kultiviert werden, welche 5% Traubenzucker und 5% Rohrzucker enthält<sup>3)</sup>. Ferner führte F. Dienert Gärungsversuche mit Hefen aus, die an Glukose bzw. Galaktose gewöhnt waren. Letztere vergoren leicht Galaktose, was aber nicht bei den ersteren der Fall war<sup>4)</sup>. Ähnliche Resultate wurden sowohl von Harden und Norris<sup>5)</sup>, wie von Euler und D. Johansson<sup>6)</sup> erzielt. Andererseits vertrat E. Chr. Hansen die Ansicht, daß es nicht gelingt Hefezellen so zu verändern, daß sie Enzyme bilden, welche sie vorher nicht besitzen<sup>7)</sup>, und Kölcker konnte die Resultate von Dubourg nicht bestätigen<sup>8)</sup>.

In diesem Zusammenhang sollen auch Untersuchungen über die Einführung gewisser Stoffe in den Organismus mit Umgehung des Darmkanales erwähnt werden.

Wie Abderhalden und seine Mitarbeiter gefunden haben, erwirbt das Serum eines Tieres, wenn Eiweiß, Gelatine oder Pepton subkutan oder intravenös (parenteral) dem Tiere eingespritzt wird, die Eigenschaft, Eiweißkörper sowie Peptone abzubauen. Dieses Vermögen ist nicht spezifisch, sondern das fragliche Serum wirkt auf allerlei Eiweißstoffe ein. Die Einspritzung von Pepton bewirkt also dasselbe wie die Einspritzung von Eiweiß; doch darf der eingespritzte Stoff nicht zu tief abgebaut sein; Aminosäuren sind wirkungslos. Die wirksamen Stoffe im Serum werden beim Erhitzen auf 60—65° zerlegt und schwinden allmählich aus dem Serum. Gibt man einem Hunde große Mengen von Eiereiweiß per os, dann gelingt es auch auf diesem Wege, eine spaltende Wirkung des Blutserums Eiweiß und Peptonen gegenüber herbeizuführen. Bei einer derartigen Überfütterung tritt unverändertes oder doch wenig abgebautes Eiweiß in die Blutbahn über, und wir erhalten darum den gleichen Effekt wie bei der parenteralen Zufuhr von Eiweißstoffen<sup>9)</sup>. Nach Abderhalden sind die im Serum vorhandenen abbauenden Substanzen als Enzyme zu betrachten, da sie einerseits bei etwa 60° zerlegt werden, andererseits aus Eiweiß Stoffe herstellen, welche dialysierbar sind und die Biuretreaktion ergeben. Die Wirkung der Enzyme wurde zunächst durch die Änderung des Rotationsvermögens

<sup>1)</sup> Journ. Physiol. **29**, 174 (1903).

<sup>2)</sup> Ebenda **34**, 133 (1906).

<sup>3)</sup> Compt. rend. **128**, 440 (1899).

<sup>4)</sup> Ann. Inst. Pasteur **14**, 139 (1900).

<sup>5)</sup> Proc. Roy. Soc. **82**, 645 (1910).

<sup>6)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. **78**, 246 (1912).

<sup>7)</sup> Medd. Carlsbergs Lab. **5**, 1 (1900).

<sup>8)</sup> Ebenda **5**, 55 (1900) sowie **10**, 90 (1911).

<sup>9)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. **61**, **62** (1909); **64**, **66**, **69** (1910); **71** (1911). Vgl. auch Abwehrfermente des tierischen Organismus, 2. Aufl. Berlin 1913.

bestimmt, welche ein Gemisch von dem Serum und z. B. Seidenpepton beim Aufbewahren erfuhr.

Analoge Versuche mit Kohlehydraten wurden zuerst von Weinland ausgeführt, der nach Injektion von Rohrzucker einen diesen Zucker spaltenden Stoff im Plasma nachweisen konnte<sup>1)</sup>. Seine Resultate wurden von Abderhalden und seinen Mitarbeitern bestätigt und erweitert. Dieselben fanden, daß ähnlich wirkende Stoffe auch nach parenteraler Zufuhr von Stärke und von Milchzucker im Serum auftreten. Die Stoffe werden bei 60° zerlegt und werden als Enzyme angesprochen. Ähnlich wie beim Eiweiß werden die wirksamen Stoffe des Serums auch durch Überfütterung mit Zucker erhalten<sup>2)</sup>. Kumagai sowie Röhmann und Kumagai konnten diese Beobachtungen nicht bestätigen. Röhmann fand nach Einspritzungen von Rohrzucker nur gelegentlich Invertin im Serum<sup>3)</sup>. Neuerdings gibt Abderhalden zu, daß Invertin nicht immer im Serum erscheint<sup>4)</sup> und E. O. Folkmar konnte überhaupt kein Invertin nachweisen<sup>5)</sup>. Die Verhältnisse nach der parenteralen Zufuhr von Kohlehydraten sind somit gegenwärtig nicht leicht zu überblicken. Auch läßt sich zur Zeit nicht entscheiden, ob die zugeführten Stoffe (Proteinstoffe oder Kohlehydrate) eine Neubildung von Enzymen veranlassen oder nur die Aufnahme bereits fertiger Enzyme in das Blut herbeiführen. Das letztere wird wohl wahrscheinlich der Fall sein.

Bei parenteraler Einfuhr von Fett scheinen die Verhältnisse noch komplizierter zu liegen als nach Zufuhr von Kohlehydraten, zumal der experimentelle Nachweis von Lipasen im Blute durch titrimetrische Bestimmung der freigesetzten Fettsäure mit Schwierigkeiten verbunden ist. Indessen glauben Abderhalden und Rona nachgewiesen zu haben, daß nach übermäßiger Zufuhr von Fett per os das Fettspaltungsvermögen des Blutes stark vermehrt ist<sup>6)</sup>.

Ausgehend von der Anschauung, daß zwar körpereigene, jedoch blutfremde Stoffe in gleicher Weise wie vollständig fremdartige Proteinstoffe bewirken, daß Enzyme mobil gemacht werden, die einen Abbau der etwa ins Blut eingedrungenen Stoffe bewirken, hat Abderhalden nach solchen Enzymen bei Schwangeren gesucht. Nach diesen Versuchen bewirkt Blutplasma oder Serum Schwangerer einen Abbau von zugesetztem Plazentaeiweiß oder Plazenta-pepton, was einerseits durch Beobachtung der Änderung des Drehungsvermögens des Plasma- bzw. Serums substratgemisches festgestellt wird, andererseits durch Dialysieren des genannten Gemisches und Nachweisen von Abbauprodukten im Dialysate. Für diesen Nachweis wird Triketohydrindenhydrat angewandt, das mit allen Verbindungen, die in  $\alpha$ -Stellung eine  $\text{NH}_2$ -Gruppe und mindestens ein Karboxyl besitzen, eine charakteristische Farbenreaktion ergibt<sup>7)</sup>. Auch andere Methoden sind für den Nachweis der Spaltungsprodukte angewandt worden. Da das im Blute Schwangerer zirkulierende Enzym nur das Plazentaeiweiß bzw. Pepton angreifen soll, muß es streng spezifischer Natur sein im Gegensatz zu den eben erwähnten nach Einspritzen von artfremdem Eiweiß auftretenden Enzymen. Der Nachweis der Schwangerschaftsenzyme scheint

<sup>1)</sup> Zeitschr. Biol. **47**, 279 (1906).

<sup>2)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. **71**, 367 (1911).

<sup>3)</sup> Biochem. Zeitschr. **57**, 380 (1913); Zeitschr. physiol. Chem. **75**, 30 (1911); **61**, 464; **72**, 26 (1914).

<sup>4)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. **90**, 388 (1914).

<sup>5)</sup> Biochem. Zeitschr. **76**, 1 (1916).

<sup>6)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. **75**, 30 (1911).

<sup>7)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. **81**, 90 (1912); s. auch die Abderhaldensche Reaktion. Berlin 1922.

eine ziemlich große Übung in der Methodik vorauszusetzen und besonders soll das Präparieren des Plazentaeiweißes mit Schwierigkeiten verbunden sein. Auch werden von verschiedenen Seiten Einwände gegen Abderhaldens Versuche und Schlußfolgerungen erhoben<sup>1)</sup>, während andere Forscher die Ergebnisse bestätigen konnten<sup>2)</sup>.

**Wärmetönung bei enzymatischen Spaltungen.** Als Wärmetönung einer Reaktion bezeichnet man die Summe der dabei entwickelten Wärmemenge und der geleisteten äußeren Arbeit, beide in Kalorien ausgedrückt; die Wärmetönung kann sowohl positiv wie negativ sein, indem bei einer Reaktion Wärme sowohl entwickelt wie absorbiert, Arbeit sowohl geleistet wie verbraucht werden kann. Die Arbeit, welche bei enzymatischen Spaltungsprozessen in Rechnung kommt, ist wohl in den meisten Fällen diejenige, die beim Auflösen der gebildeten Spaltungsprodukte verbraucht bzw. erzeugt wird. Es läßt sich wohl denken, daß die bei einer Reaktion etwa gebildete Wärme für die Auflösung verbraucht wird und daß folglich die kalorimetrisch gemessene Reaktionswärme = 0 ausfällt. Grafe fand bei Verdauungsprozessen, welche mit Pepsin und mit Trypsin in einem Rubnerschen Kalorimeter stattfanden, daß keine meßbare Wärmemenge weder produziert noch verbraucht wurde<sup>3)</sup>. Andererseits fand Hari, der den Kalorienwert von Albumin vor und nach der Verdauung durch Verbrennung bestimmte, bei der tryptischen Verdauung des Eiweißes keinen meßbaren Verlust an chemischer Energie, während die Verdauung mit Pepsinsalzsäure mit einer geringen positiven Wärmetönung einhergeht<sup>4)</sup>. Jedenfalls scheinen die hydrolytischen Spaltungen der physiologisch wichtigen Substanzen nach bereits befindlichen Untersuchungen keinen größeren Energievorrat für den Organismus zu schaffen. Die für den Organismus nötige Energie wird bei den auf die Spaltungen folgenden Oxydationsprozessen geleistet.

Die bei der Vergärung von Zucker mittelst Hefezellen gebildete Wärme ist von Rubner kalorimetrisch bestimmt worden. Die so erhaltene Wärmemenge erwies sich als identisch mit der Differenz zwischen der Verbrennungswärme des Zuckers und derjenigen der Gärungsprodukte. Daraus schließt Rubner, daß der Vergärungsprozeß die einzige Energiequelle der lebenden Hefezelle darstellt. Die Wärmemenge, welche bei der Gärung von 1 g Rohrzucker erhalten wurde, war inklusive der Invertierungswärme und für CO<sub>2</sub> als Gas im Mittel 149,5 Gramkalorien. Dieselbe war einigermaßen unabhängig von der Temperatur und der Verdünnung des Zuckers<sup>5)</sup>.

## Wirkungsweise der Enzyme.

Nach der obigen Darstellung verhalten sich die Enzyme — in der Form, in welcher sie bis jetzt erhalten worden sind — als Kolloide, d. h. sie treten als größere Partikelchen auf als die Krystalloide. Zugleich wurde hervorgehoben, daß es bis auf weiteres dahingestellt werden muß, ob die kolloiden Eigenschaften den Enzymen selbst zuzuschreiben sind, oder ob dieselben an Begleitstoffen

<sup>1)</sup> Siehe z. B. E. Frank, F. Rosenthal, H. Biberstein: Münch. med. Wochenschr. 1913. H. 29; E. Heilner und Th. Petri: ebenda H. 32.

<sup>2)</sup> F. Pregl: Fermentforschung 1, 1 (1914); de Crinis: ebenda 1, 13 (1914); Paul Hirsch: Zeitschr. physiol. Chem. 91, 440 (1914); Fermentforschung 1, 33 (1914).

<sup>3)</sup> Arch. f. Hygiene 62, 216 (1907).

<sup>4)</sup> Pflügers Arch. 115, 11 (1906); 121, 459 (1908).

<sup>5)</sup> Arch. (Anat. und) Physiol. 1912. Suppl.-Bd.

liegen. Es wurde auch bereits dargehalten, daß bis jetzt kein Enzym in nachweisbarer reiner Form erhalten wurde und daß deren Bau folglich unbekannt ist. Hierüber hat Willstätter, im Anschluß an seine Versuche über die Reinigung der Enzyme durch Adsorption, die Ansicht ausgesprochen, daß das Enzymmolekül aus einem kolloiden Träger und einer rein chemisch wirkenden aktiven Gruppe besteht. Die Gegenwart beider Bestandteile ist für die Wirkung unerlässlich. Mit dem kolloiden Träger können andere Stoffe sich verbinden, und diese Anlagerung, die meistens durch Adsorption zustande kommen dürfte, ist in gewissen Fällen ohne Einfluß auf die an der wirksamen Gruppe verlaufende enzymatische Wirksamkeit. In anderen Fällen wird auch die aktive Gruppe durch die Anlagerung beeinflusst und mehr oder weniger außer Wirkung gesetzt oder vielleicht zur Wirksamkeit stimuliert. Nach dieser Ansicht würden also bei der Enzymwirkung sowohl physikalische wie auch chemische Prozesse zu berücksichtigen sein<sup>1)</sup>. Es gibt aber auch Forscher, welche meinen, daß die enzymatischen Prozesse ausschließlich wie chemische Reaktionen in einem homogenen Medium vor sich gehen, welche durch das Massenwirkungsgesetz in seiner einfachsten Form geregelt werden. Einer solchen Ansicht schließt sich Michaelis an. Nach ihm sind die Enzyme Ampholyte, welche also im isoelektrischen Punkte am wenigsten dissoziiert sind und zur sauren Seite des isoelektrischen Punktes Kationen, zur alkalischen Anionen abdissoziieren. Die Wirksamkeit der Enzyme komme entweder den Anionen, den Kationen oder den undissoziierten Molekülen zu; um welchen dieser Bestandteile es sich in jedem Falle handelt, wird durch Überführungsversuche bestimmt<sup>2)</sup>. Mit Rücksicht auf die von Ringer und von Willstätter hervorgehobene Tatsache, daß die Wanderungsrichtung der Enzyme von deren Reinheit abhängig ist, muß man sich fragen, ob eine solche Bestimmung gegenwärtig möglich ist. Willstätter und R. Kuhn haben auch andere Einwände gegen die Michaelische Theorie erhoben<sup>3)</sup>. Eine wesentliche Stütze für die Ansicht, daß bei den enzymatischen Prozessen auch der Umstand berücksichtigt werden muß, daß die Prozesse in einem heterogenen Medium sich abspielen, ist in gewissen unten zu besprechenden Hemmungserscheinungen zu ersehen, welche wohl mindestens zum Teil als Adsorptionsprozesse zu betrachten sind. Wie oben gesagt, können nach Willstätter auch gewisse in der Natur zusammen mit den Enzymen vorkommende sog. Begleitstoffe durch Adsorption die Enzymwirkung begünstigen oder hemmen. Nur bei der Saccharase scheinen solche Stoffe keine Rolle für die quantitativen Verhältnisse der Enzymwirkung zu spielen und deshalb glaubt Willstätter für dieses Enzym das Massenwirkungsgesetz in Anwendung bringen zu dürfen<sup>4)</sup>. Die Menge des freien und des mit der Saccharase verbundenen (und daher wirksamen, S. 137ff.) Enzyms wäre also durch folgende Gleichung geregelt:

$$(\text{freies Enzym}) \times (\text{freie Saccharase}) = K \times (\text{Kombination Enzym-Saccharase}).$$

Nach einer von Michaelis angegebenen Theorie und Methode, auf welche hier nicht eingegangen werden kann, wird die anfängliche Enzymwirkung als ein Maß der Kombination Enzym-Saccharose angenommen und schließlich die

<sup>1)</sup> Ber. d. Chem. Ges. **55**, 3601 (1922).

<sup>2)</sup> Zusammenfassung von Michaelis Theorie in Michaelis: Die Wasserstoffionenkonzentration. 2. Aufl.

<sup>3)</sup> Zeitschr. f. physiol. Chem. **125**, S. 28, und zwar S. 44 (1922).

<sup>4)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. **123**, S. 1, und zwar S. 45 (1922).

Dissoziationskonstante  $K$  berechnet<sup>1)</sup>. Die Affinität wechselt mit den Begleitstoffen und man kann deshalb saccharosespaltende Enzyme verschiedener Herkunft mit Hilfe ihrer Wirkung ihrer Menge nach nicht vergleichen. In der Bestimmung von  $K$  hat man nach Willstätter und Kuhn ein Mittel, zu entscheiden, ob zwei von derselben Enzymlösung ausgeübte Wirkungen von demselben Enzym herrühren oder nicht. Wenn das Verhältnis zwischen den Dissoziationskonstanten der beiden Wirkungen immer dasselbe bleibt, werden die zwei Wirkungen durch dasselbe Enzym verursacht, sonst nicht<sup>2)</sup>.

Die Pankreas-Lipase, welche nach Willstätter und Mitarbeitern durch Adsorption an Tonerde und Ellution mit Ammoniak von den anderen Pankreasenzymen befreit werden kann, verhält sich in ausgesprochener Weise von der Saccharase verschieden, indem die Begleitstoffe hier in hohem Maße für die Wirkung bestimmend sind<sup>3)</sup>. „Das Zufällige und Wechselnde im enzymatischen System wird überwunden, Unterschiede im Wirkungsvermögen werden ausgeglichen, indem man die Lipase entweder bei alkalisch beginnender, sauer endigender Ölsplattung durch Zusammenwirken geeigneter Mengen von Albumin und Kalziumchlorid so stark aktiviert, daß die natürlich vorkommenden Aktivatoren keine weitere Steigerung bewirken können, oder dadurch, daß man bei Hydrolyse in saurem Medium die Lipase mit Albumin in entsprechendem Maße hemmt. Die zahlreichen Erscheinungen der Lipase-Aktivierung lassen sich mit der Annahme erklären, daß die Aktivierung auf der Erzeugung von Kolloidteilchen beruht, die zugleich auf Enzym und Substrat adsorbierend wirken“<sup>4)</sup>.

Mit Rücksicht auf den enzymatischen Prozeß ist es aus mehreren Gründen sehr wahrscheinlich, daß die Enzyme vor ihrer Einwirkung auf das Substrat in irgendwelcher Weise mit demselben sich verbinden. Für eine solche Annahme spricht vor allem die Tatsache, daß die Wirkung gewisser Enzyme von dem sterischen Bau des Substrates abhängig ist. Die Hefe z. B. vermag nur gewisse der möglichen Hexosen von der Formel  $C_6H_{12}O_6$  zu vergären. Eine in gewissem Sinne sterische Übereinstimmung zwischen Enzym und Substrat scheint mindestens in gewissen Fällen erforderlich zu sein. Eine solche Übereinstimmung würde aber wahrscheinlich ohne Bedeutung sein, wenn nicht eine Verbindung zwischen beiden gebildet würde. In anderen Fällen scheint eine so intime Übereinstimmung zwischen Enzym und Substrat für die Wirkung nicht notwendig zu sein, aber immerhin spricht die sog. spezifische Wirkung der Enzyme für die Bildung einer Verbindung, welche in dem Sinne temporär ist, daß sie mit der Spaltung des Substrats aufhört.

Für die Annahme einer Verbindung Enzym-Substrat spricht ferner die Tatsache, daß in gewissen Fällen das Substrat das Enzym gegen schädliche Einflüsse gewissermaßen zu schützen vermag (S. 125).

Außerdem vermögen aber die Enzyme nach dem oben gesagten auch mit anderen Substanzen Verbindungen einzugehen, welche je nach der verschiedenen Natur dieser Substanzen (Kolloide oder Kristalloide) wahrscheinlich verschieden sind. Da die Bildung solcher Verbindungen die Vereinigung des Enzyms mit dem Substrat beeinträchtigen können und da ferner das Zustandekommen einer Verbindung zwischen Substrat und Enzym eine Bedingung ist für die Wirkung

<sup>1)</sup> Die Wasserstoffionenkonzentration.

<sup>2)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. **125**, 28 (1922); **129**, 33 (1923).

<sup>3)</sup> Ebenda S. 132.

<sup>4)</sup> Ber. d. Chem. Ges. **55**, S. 3601, und zwar S. 3608.



des letzteren, so kann diese Wirkung durch andere anwesende Substanzen, welche sich mit dem Enzyme verbinden, ohne von demselben angegriffen zu werden, gehemmt werden. (Siehe Hemmung der Enzymwirkung.) Da die Enzyme als Kolloide auftreten und andere Substanzen, mit welchen die Enzyme sich verbinden, oft auch kolloider Natur sind, so unterscheiden sich die angedeuteten Verbindungen in wichtigen Beziehungen von Verbindungen zwischen kristalloiden Substanzen. Dies wird besonders daraus deutlich, daß mindestens gewisse Verbindungen zwischen Enzymen und kolloiden hemmenden Stoffen nicht durch Wasser zerlegt werden oder mit anderen Worten ausgedrückt, daß der Umfang der Hemmung oder die Menge der gebildeten Verbindung Enzym-Hemmungskörper von der Menge des anwesenden Wassers unabhängig ist. Die fragliche Verbindung ist also irreversibler Natur in dem Sinne, daß sie nicht von Wasser zerlegt wird (S. 121). In der gleichen Weise scheint mindestens in gewissen Fällen die Verbindung zwischen Enzym und Substrat von der Menge des Wassers unabhängig zu sein. Es geht nämlich aus mehreren Beobachtungen von Hedin hervor, daß für die Größe der tryptischen Verdauung in einer gegebenen Zeit die Menge des anwesenden Wassers ohne Belang ist. Wenn nämlich stark dialysierte Lösungen von gekochtem Serumalbumin, gekochtem Eierklar oder Wittes Pepton mit ebenfalls stark dialysiertem und möglichst von Eiweiß freiem Trypsin digeriert wurden, so war der totale Umsatz von der Verdünnung unabhängig oder, was auf dasselbe hinauskommt, der Umsatz für gleiche Volumina war der Konzentration der reagierenden Stoffe proportional<sup>1)</sup>. So wurden mit Serumalbumin nach zweier Tage Digestion mit Trypsin folgende Zahlen erhalten:

Konzentration c	Umsatz in gleichen Volumina (u)	$\frac{u}{c}$
1	3,15	3,15
1,5	4,75	3,17
2	6,35	3,18
3	9,25	3,08
4	12,35	3,09

In den angeführten Fällen war folglich die Reaktionsgeschwindigkeit für gleiche Volumina der Konzentration des Reaktionsgemisches proportional, d. h. wenn zugleich die Konzentration des Substrates und die des Enzyms verdoppelt wird, so wird auch die Reaktionsgeschwindigkeit oder der Umsatz in einem gegebenen Volumen verdoppelt. Ganz anders verhält sich nach dem Massenwirkungsgesetz eine Reaktion zwischen zwei Stoffen, welche in echter Lösung sich befinden. Wenn die Konzentrationen in einem Falle  $c_1$  und  $c_2$  sind, so ist die Reaktionsgeschwindigkeit  $= k \cdot c_1 \cdot c_2$  (S. 96). Bei n-facher Konzentration der Lösung sind die Konzentrationen  $nc_1$  und  $nc_2$  und folglich die Reaktionsgeschwindigkeit  $= k \cdot nc_1 \cdot nc_2 = n^2 \cdot k \cdot c_1 \cdot c_2$  oder  $n^2$  Mal die vorige. Bei Verdoppelung der Konzentration der reagierenden Lösung wird also die Reaktionsgeschwindigkeit 4 mal größer wie vorher. Dies ist z. B. der Fall, wenn Rohrzucker invertiert wird unter dem Einfluß von Säure, wie aus folgendem Versuch von Hedin hervorgeht<sup>2)</sup>. Die Säure kam in so verdünnter Lösung zur Verwendung, daß die Konzentration der H-Ionen derjenigen der Säure proportional angenommen werden konnte.

<sup>1)</sup> Journ. Physiol. **32**, 479 (1905).

<sup>2)</sup> Nicht sonst publizierte Untersuchung.

Zusammensetzung der Lösung	Relative Konz. (c)	Verminderung der Rotation (u)	$\frac{u}{c^2}$
20 ccm 20 <sup>0</sup> / <sub>100</sub> Rohrzucker-Lösung + 5 ccm 0,05 n. HCl . . . . .	4	31,76 <sup>0</sup>	1,98
20 ccm 20 <sup>0</sup> / <sub>100</sub> Rohrzucker-Lösung + 5 ccm 0,05 n. HCl + 25 ccm H <sub>2</sub> O . . . .	2	8,38 <sup>0</sup>	2,09
20 ccm 20 <sup>0</sup> / <sub>100</sub> Rohrzucker-Lösung + 5 ccm 0,05 n. HCl + 50 ccm H <sub>2</sub> O . . . .	4/3	3,48 <sup>0</sup>	1,95
20 ccm 20 <sup>0</sup> / <sub>100</sub> Rohrzucker-Lösung + 5 ccm 0,05 n. HCl + 75 ccm H <sub>2</sub> O . . . .	1	1,99 <sup>0</sup>	1,99

Der Unterschied in dem Verhalten der Abhängigkeit des Umsatzes von der Konzentration in den Systemen Säure-Rohrzucker und Trypsin-Eiweiß ist also sehr markiert. Und es erleidet wohl keinen Zweifel, daß dies daran liegt, daß in jenem Falle nur echt gelöste Stoffe in der Reaktion teilnehmen, während in diesem beide die reagierenden Stoffe Kolloide sind. In der Tat ist die Reaktionsgeschwindigkeit im Systeme Säure-Rohrzucker aus dem Grunde dem Quadrate der Konzentration proportional, weil die zwei in der Reaktion teilnehmenden Stoffe bei Wasserezusatz zugleich und in der gleichen Weise ihre Konzentration ändern. Analog würde im Systeme Trypsin-Eiweiß der Umsatz dem Quadrate der Konzentration proportional sich ändern, wenn die beiden Stoffe unabhängig voneinander ihre Konzentration änderten. Da nun der Versuch zeigt, daß der Umsatz nur der ersten Potenz der Konzentration proportional sich ändert, so bedeutet dies, daß nur ein Stoff beim Zusatz von Wasser seine Konzentration ändert, wovon man durch eine einfache Überlegung sich überzeugen kann. Dieser Stoff ist die Verbindung Trypsin-Eiweiß. Die enzymatische Spaltung verläuft also in den Trypsin-Eiweißpartikelchen und ist der Zahl dieser Partikelchen proportional unabhängig von der Menge des anwesenden Wassers. Wenn bei unverändertem Verhältnis zwischen Trypsin und Eiweiß nur die Wassermenge geändert wird, behält offenbar die Trypsin-Eiweißverbindung ihre Zusammensetzung unverändert. Die Trypsin-Eiweißverbindung ist wahrscheinlich derselben Natur wie die Verbindung zwischen Trypsin und kolloiden hemmenden Stoffen. Zwischen den zwei Fällen existiert jedoch der Unterschied, daß im ersten Falle das Eiweiß von dem Trypsin angegriffen und zerlegt wird, wodurch das Trypsin wieder frei wird, während aus der Verbindung zwischen Trypsin und hemmender Substanz meistens kein Enzym freigesetzt wird; die Verbindung wird im Gegenteil immer fester. Die Tatsache, daß das Eiweiß durch das Trypsin angegriffen werden kann, oder daß die Enzyme überhaupt auf das Substrat einzuwirken vermögen, deutet auf eine gewisse Übereinstimmung im chemischen Bau beider; die zunächst kolloide Verbindung zwischen Trypsin und Eiweiß geht wahrscheinlich später in eine chemische über, worauf die die Spaltung des Substrats erfolgt.

Nehmen wir nun in Übereinstimmung mit dem Gesagten an, daß das Enzym vor der Einwirkung auf das Substrat sich mit demselben verbindet, so ist das Zustandekommen dieser Verbindung in erster Linie für die Wirksamkeit des Enzyms bestimmend. Wir haben also folgendes zu berücksichtigen:

1. Die Geschwindigkeit, mit welcher das Enzym mit dem Substrate sich verbindet;
2. wieviel von dem vorhandenen Enzym durch das Substrat gebunden wird, und

3. die Geschwindigkeit des durch das Enzym vermittelten chemischen Prozesses.

Diese drei Fragen lassen sich im allgemeinen nicht experimentell voneinander unabhängig behandeln und sie werden deshalb weiter unten zusammen besprochen. Nur möchte ich zunächst einige Bemerkungen in bezug auf 1 und 2 machen.

Die Geschwindigkeit der Bindung des Enzyms am Substrat ist der direkten Messung nicht zugänglich. Indessen können wir in gewissen Fällen in indirekter Weise Auskunft darüber erhalten. Es hat sich nämlich bei gewissen enzymatischen Reaktionen herausgestellt, daß beim Überschuß an Substrat und einer geringen Enzymmenge der Umsatz in gleichen aufeinander folgenden Zeitintervallen der gleiche bleibt. Dies deutet darauf hin, daß die Verbindung zwischen Substrat und Enzym in einer Zeit erfolgt, welche im Vergleich mit der für die darauf folgende Spaltung des Substrats nötigen Zeit vernachlässigt werden kann. Wäre dies nicht der Fall, d. h. nähme die Entstehung der Verbindung zwischen den zwei Stoffen eine verhältnismäßig lange Zeit in Anspruch, dann würde die Menge der Verbindung Enzym-Substrat zu Anfang mit der Zeit zunehmen und folglich würde auch der Umsatz während gleicher Zeitintervallen anfangs mit der Zeit anwachsen. Dies ist aber nicht der Fall; im Gegenteil bleibt der Umsatz in mehreren observierten Fällen konstant, um nachher in dem Maße die Substratmenge vermindert wird, zu sinken. So fand Hedin bei der Digestion von Kasein mit Trypsin, daß bei genügendem Überschuß an Kasein der Umsatz der Zeit proportional ausfällt<sup>1)</sup>. Folgende Ziffern bestätigen das Gesagte:

Zeit (t)	Umsatz (u)	$\frac{u}{t}$
1	2,9	2,9
2	5,85	2,93
3	8,65	2,88
4	10,75	2,69

Dasselbe Resultat ergibt sich aus Versuchen von Brown und Glendinning bezüglich der Einwirkung von Diastase auf Stärke<sup>2)</sup> sowie aus Beobachtungen von O'Sullivan und Tompson<sup>3)</sup>, von Duclaux<sup>4)</sup> und auch von Hudson<sup>5)</sup> über die Inversion von Rohrzucker durch Enzym. Dasselbe fand E. F. Armstrong bei Untersuchung der Spaltung von Maltose und Laktose durch die entsprechenden Enzyme<sup>6)</sup>. Für die Annahme, daß das vorhandene Enzym mit Substrat sehr rasch sich verbindet, spricht auch die Gültigkeit in gewissen Fällen von dem Enzym-Zeit-Gesetz, nach welchem die Reaktionsgeschwindigkeit der anwesenden Enzymmenge proportional ist. Dies könnte offenbar nicht der Fall sein, wenn nicht die Verbindung zwischen Enzym und Substrat für verschiedene Enzymmengen sehr rasch zustande gebracht würde. (Siehe hierüber S. 146 ff.)

Mit Substrat verbundene Enzymmenge. Wenn überhaupt die Bildung einer Verbindung zwischen Enzym und Substrat eine Bedingung ist für die

<sup>1)</sup> Journ. Physiol. **32**, 471 (1905).

<sup>2)</sup> Trans. chem. Soc. **81**, 388 (1902).

<sup>3)</sup> Ebenda **57**, 844 (1890).

<sup>4)</sup> Traité de Biol. 1899, **2**, 137.

<sup>5)</sup> Journ. amer. chem. Soc. **30**, 1575 (1908).

<sup>6)</sup> Proc. roy. Soc. **73**, 500 (1904).

Wirkung des Enzyms, so wird nur diejenige Enzymmenge wirksam sein, welche mit dem Substrat verbunden ist. Diese Menge muß überhaupt dem Umsetze proportional sein, zum mindesten wenn die Zeit des Umsatzes genügend kurz genommen wird. In dem eben behandelten Falle Trypsin-Eiweiß in neutralem Medium war in dieser Weise bestimmt die Menge der mit Substrat verbundenen Enzymmenge von der Menge des anwesenden Wassers unabhängig, und die Verbindung wird folglich nicht durch Wasser zerlegt. In der Tat wird die Verbindung Trypsin-Eiweiß nur durch die Zerstörung des Eiweißes aufgehoben. In der gleichen Weise ist wahrscheinlich die gebildete Menge Enzym-Substrat in solchen Fällen von der Wassermenge unabhängig, wo nicht nur das Enzym, sondern auch das Substrat ein kolloider Stoff ist. Ähnlichen Verhältnissen begegnen wir nämlich auch bei den Verbindungen zwischen Enzymen und kolloiden hemmenden Substanzen. Da der hemmende Stoff nicht zerlegt wird, bleibt aber in diesem Falle die Verbindung bestehen. Aus mehreren Gründen ist es wahrscheinlich, daß die ganze Enzymmenge mit dem Substrat sich verbindet. Dafür kann aber die Zusammensetzung der gebildeten Verbindung von den relativen Enzym- und Substratmengen abhängen, mindestens wenn die Substratmenge einen gewissen Wert nicht erreicht (S. 146 ff.). Sind aber hemmende Substanzen zugegen, müssen auch diese, wie wir weiter unten ersehen werden, einen Teil des Enzyms für sich in Anspruch nehmen und dadurch die Zusammensetzung der Enzym-Substrat-Verbindung beeinflussen.

Reaktionsgleichung der Enzymwirkung. Gewöhnlich betrachtet man die enzymatischen Prozesse als katalytische, da das Enzym wie ein Katalysator wirkt. In dem Falle, daß nur eine Molekülgattung infolge der Reaktion ihre Konzentration ändert, wäre die Reaktion folglich als eine monomolekulare zu betrachten. Ein wesentlicher Unterschied zwischen den bereits abgehandelten monomolekularen Reaktionen und den Enzymwirkungen liegt aber in der Tatsache, daß letztere in einem heterogenen Medium sich abspielen. Nach dem oben über solche Reaktionen Gesagten spielen dabei außer dem rein chemischen Verlaufe auch Diffusionsprozesse mit und je nachdem letztere oder ersterer langsamer verlaufen, erhält die ganze Reaktionsgeschwindigkeit den Charakter eines Diffusionsprozesses oder einer chemischen Reaktion. Aus oben angeführten Gründen scheint es aber im allgemeinen wahrscheinlicher, daß die chemische Spaltung der langsamere Verlauf ist und daß folglich in der Formel

$$\frac{dx}{dt} = k(C - x)$$

C die anfängliche Konzentration des Substrates x die zur Zeit t umgesetzte Menge desselben und k der Geschwindigkeitskoeffizient der Reaktion bedeuten würde, wenn überhaupt diese Formel für die Enzymwirkung gültig ist.

Wenn die oben entwickelte Anschauungsweise die richtige ist, nach welcher die eigentliche chemische Reaktion in der zunächst gebildeten neuen Phase von Enzym und Substrat stattfindet, so könnte man vielleicht auch aus diesem Grunde erwarten, daß die Reaktion annähernd wie eine Reaktion in einem homogenen Medium sich verhalten würde. Zwar stehen einer solchen Betrachtungsweise viele Bedenklichkeiten in dem Wege, aber trotzdem ist viel Mühe darauf angewandt worden, die Anwendbarkeit der obigen Formel für die enzymatischen Spaltungen darzutun. Wie wir ersehen werden, gibt es auch einige Beobachtungen, welche mit der Ansicht, daß der Verlauf ein monomolekularer ist, sich in Einklang bringen lassen. Für eine katalytisch beeinflusste Reaktion

erster Ordnung gilt, wie wir bereits gesehen haben, daß die Reaktionsgeschwindigkeit proportional ist

1. der jeweiligen Konzentration des Substrates, sowie
2. der Konzentration des Katalysators (in diesem Falle des Enzymes).

Wir haben also nachzusehen, ob dies für die enzymatischen Spaltungen zutrifft. Bei Versuchen über das Verhalten zwischen Reaktionsgeschwindigkeit und Substratkonzentration muß die Konzentration der wirksamen Enzymmenge konstant gehalten werden. Eine praktisch unveränderte Enzymmenge kann dadurch erzielt werden, daß bei einem Überschuß an Enzym die Substratmenge variiert wird. Eine etwaige Abnahme der Enzymmenge bleibt dabei für den Verlauf der Reaktion ohne Belang. In mehreren solchen Fällen hat es sich herausgestellt, daß die Reaktionsgeschwindigkeit oder die in einer gegebenen Zeit umgesetzte Substratmenge der überhaupt vorhandenen Menge Substrat proportional ist. Eine solche Proportionalität wurde von A. J. Brown bei der Invertierung von Rohrzucker gefunden <sup>1)</sup>. Zudem gleichen Schluß gelangten auch E. F. Armstrong bei der enzymatischen Spaltung von Laktose und Maltose <sup>2)</sup>, sowie Hedin bei der Spaltung von Kasein und Serumalbumin mit Trypsin <sup>3)</sup>. Als Beleg mag folgende Versuchsserie von Hedin angeführt werden:

ccm Kasein (c)	Umsatz (u)	$\frac{u}{c}$
0,6	1,55	2,58
0,8	2,05	2,56
1	2,60	2,60
1,2	3,05	2,54
1,6	4,10	2,56
2	5,15	2,58
3	7,05	2,35
4	8,85	2,21
5	10,4	2,08
6	11,8	1,97
8	13,75	1,72
10	15,45	1,55

Wie ersichtlich ist der Umsatz für sehr niedrige Kaseinmengen (bis 2 ccm) diesen Mengen proportional, was daraus hervorgeht, daß der Quotient  $\frac{u}{c}$  für diese Werte konstant bleibt. Für größere Kaseinmengen fällt der Quotient  $\frac{u}{c}$  allmählich, was wahrscheinlich daran liegt, daß das Enzym im Vergleich mit dem Kasein nicht länger in Überschuß vorhanden war und vielleicht auch durch Digestionsprodukte von dem Kasein abgelenkt wurde (siehe unten).

Wie oben (Kap. 3) auseinandergesetzt wurde, wird die Proportionalität zwischen Reaktionsgeschwindigkeit und Substratkonzentration auch dadurch dargetan, daß der aus der Formel

$$\frac{dx}{dt} = k \cdot (C - x)$$

hergeleitete Ausdruck

$$k = \frac{1}{t} \cdot \log \frac{C}{C - x}$$

<sup>1)</sup> Trans. chem. Soc. **81**, 387 (1902).

<sup>2)</sup> Proc. roy. Soc. **73**, 500 (1904).

<sup>3)</sup> Journ. Physiol. **32**, 476 (1905).

zu verschiedenen Zeiten für  $k$  den gleichen Wert ergibt. Bedingung für die Anwendbarkeit dieses Ausdruckes ist aber, daß die wirksame Enzymmenge bei verschiedenen Stadien des Prozesses dieselbe bleibt. Vieles deutet aber darauf hin, daß die wirksame Enzymmenge während eines Verlaufes sich ändern kann, indem Enzym einerseits in unbekannter Weise zerlegt werden kann, andererseits durch die gebildeten Produkte in irgendwelcher Weise von dem Substrat abgelenkt wird. Für den Fall, daß der Spaltung entgegengesetzte Reaktionen (Synthese von Produkten zu komplizierteren Verbindungen) stattfinden, ist die obige Formel auch nicht anwendbar. In solchen Fällen wird nämlich die Reaktionsgeschwindigkeit durch die Differenz zwischen der Geschwindigkeit der Spaltung und der der Synthese ausgedrückt (siehe S. 108). In wieder anderen Fällen genügen unsere analytischen Hilfsmittel nicht, um für den Umsatz zu verschiedenen Zeiten vergleichbare Zahlen zu erhalten. So besonders bei der Spaltung des Eiweißes oder überhaupt bei Reaktionen, welche stufenweise verlaufen und bei welchen die verschiedenen Stadien nicht analytisch voneinander abgegrenzt werden können. Nur wenn es in verschiedenen Versuchen um genau dasselbe Stadium sich handelt, was z. B. der Fall ist, als bei der Proteolyse entweder das Enzym oder das Substrat in Überschuß vorhanden ist, können die Analyseresultate quantitativ miteinander verglichen werden. Auf diese Frage nach der Unzulänglichkeit der analytischen Methoden werden wir weiter unten zurückkommen.

Trotz der genannten Schwierigkeiten hat man in einigen Fällen mit besonders einfachem Reaktionsverlauf zu Anfang, solange die Menge der Reaktionsprodukte gering und die wirksame Enzymmenge noch unverändert ist, konstante Werte für  $k$  nach der obigen Formel erhalten. Solche Fälle sind z. B. die Zersetzung von  $H_2O_2$  durch Katalase verschiedenen Ursprunges (Senter, Issajew, Euler)<sup>1)</sup> und die Spaltung von Estern (Euler, Taylor, Nicloux, Rona)<sup>2)</sup>. Als Beleg mag folgender Versuch von Issajew über die Zerlegung von  $H_2O_2$  mit Hefekatalase bei 25° angeführt werden:

Zeit in Min.	0,4343 · k
5	0,02457
10	0,02464
15	0,02455
20	0,02454
25	0,02450
30	0,02469

Aber sogar bei einem scheinbar so einfachen Verlauf wie der Invertierung des Rohrzuckers durch Saccharase liegen die Verhältnisse noch nicht klar. Viele Versuche über diesen Prozeß sind aus dem Grunde erfolglos geblieben, weil der Umsatz polarimetrisch bestimmt wurde und daß dabei die Mutarotation des Traubenzuckers nicht aufgehoben war. Auf diese Fehlerquelle hat besonders Hudson hingewiesen<sup>3)</sup>. Hudson hebt die Mutarotation in der Weise auf, daß die Lösung am Ende des Versuches mit einer geringen Menge Alkali versetzt wird. Folgender Versuch von ihm zeigt zugleich, daß ohne Alkalizusatz

<sup>1)</sup> Senter: Zeitschr. physik. Chem. **44**, 257 (1902); Issajew: Zeitschr. physiol. Chem. **42**, 102 (1904); **44**, 546 (1905); Euler: Hofm. Beiträge **7**, 1 (1906).

<sup>2)</sup> Euler: Hofm. Beiträge **7**, 1 (1906); Taylor: Journ. biol. Chem. **2**, 93 (1906); Nicloux: Compt. rend. Soc. biol. **56**, 840 (1904); Rona: Biochem. Zeitschr. **33**, 413 (1911).

<sup>3)</sup> Journ. amer. chem. Soc. **30**, 1160, 1564 (1908).

die Formel einer monomolekularen Reaktion nicht bestätigt wurde, wohl aber mit Alkalizusatz.

Zeit in Min.	Drehung		k	
	ohne Alk.	mit Alk.	ohne Alk.	mit Alk.
0	12,20	12,20	—	—
5	10,75	9,57	0,0083	0,0157
15	8,07	5,89	0,0087	0,0146
25	5,45	2,97	0,0096	0,0151
35	3,25	0,83	0,0103	0,0155
50	0,80	—1,17	0,0109	0,0159
65	—0,85	—2,24	0,0114	0,0159
90	—2,17	—2,87	0,0112	0,0141
∞	—3,72	—3,72	—	—

Es muß aber hervorgehoben werden, daß Hudson ausdrücklich darauf hinweist, daß konstante k-Werte nur mit geringen Zuckerkonzentrationen (niedriger als 0,1 norm. Lösung oder 3,4%) und bei schwach saurer Reaktion erhalten werden. Auch Sørensen fand, daß der Versuch nur bei passender Konzentration der Wasserstoffionen gelingt<sup>1)</sup>. Auch Willstätter und seine Mitarbeiter haben keine genügend konstante Werte für k erhalten können, obwohl ihre Versuche mit gereinigter Saccharase ausgeführt wurden<sup>2)</sup>.

Die Spaltung von Salizin durch Emulsin hat auch nach Hudson und H. S. Paine als eine monomolekulare Reaktion sich erwiesen<sup>3)</sup>. Die Versuche wurden bei neutraler Reaktion ausgeführt und die Mutarotation wurde durch Zugabe von Alkali aufgehoben. Folgender Versuch zeigt genügend konstante k-Werte:

Zeit	Drehung	k
0	—62	—
10	—54,5	0,00360
20	—48,7	0,00330
30	—41,6	0,00353
35	—39,5	0,00339
85	—15,8	0,00344
145	+ 2,9	0,00350
∞	+32,2	—

Die Einwirkung der Entstehung der Verbindung Enzym-Substrat auf die gemessene Reaktionsgeschwindigkeit wird verschieden, je nachdem die Verbindung im Vergleich mit dem eigentlichen chemischen Prozeß langsam oder rasch gebildet wird und je nachdem das Enzym vollständig gebunden wird oder ein Teil davon frei und folglich unwirksam bleibt. Unter der Annahme, daß die Bildung der Verbindung rasch verläuft und daß der Prozeß nur unvollständig und reversibel stattfindet, so daß ein Teil des Enzyms besonders in der Gegenwart von nur geringen Substratmengen frei bleibt und daß das Gleichgewicht durch das Massenwirkungsgesetz reguliert wird, bekam Henri für den ganzen Verlauf eine Formel von dem allgemeinen Aussehen

$$t = m \cdot \log \text{nat} \frac{C}{C-x} + nx,$$

wo m und n Konstante sind und t, C und x dasselbe bedeuten wie vorher<sup>4)</sup>.

<sup>1)</sup> Biochem. Zeitschr. **21**, 256 (1909).

<sup>2)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. **123**, 1 und zwar 63 (1922).

<sup>3)</sup> Journ. amer. chem. Soc. **31**, 1242 (1909).

<sup>4)</sup> Lois générales de l'action des diastases. Paris 1903, S. 92.

Nachher hat Barendrecht auf anderem Weg für den Verlauf eine Formel von dem gleichen Aussehen wie Henri aufgestellt; in seinen Versuchen wandte Barendrecht für die Bestimmung des Invertzuckers eine Reduktionsmethode an und bekam bei genügender Konzentration des Rohrzuckers in dem Laufe desselben Versuches stimmende Werte für  $k$ , berechnet nach der Formel

$$k = \frac{1}{t} \left\{ \log \text{nat} \frac{C}{C-x} - nx \right\}^1).$$

Eine Reaktionsgleichung von derselben Form wiedergibt nach Barendrecht die Zerlegung von Milchsucker durch Kefirlaktase und nach Philoche die von Maltase durch Takamaltase<sup>2)</sup>. Ferner fanden Abderhalden und Michaelis für die Zersetzung von d-Alanyl-d-Alanin durch Hefepreßsaft eine Gleichung von derselben Form<sup>3)</sup>.

Bedeutung der Enzymmenge. Wir haben eben den Einfluß der Substratkonzentration auf den Reaktionsverlauf untersucht. Es erübrigt den Einfluß der Enzymkonzentration zu erörtern. Mit Rücksicht hierauf ist daran zu erinnern, daß bei reinen Kontaktreaktionen die Reaktionsgeschwindigkeit der Katalysatorkonzentration proportional sich verhält, was analytisch daraus hervorgeht, daß der Geschwindigkeitskoeffizient  $k$  in der Formel  $\frac{dx}{dt} = k \cdot (C-x)$  oder  $k = \frac{1}{t} \log \text{nat} \frac{C}{C-x}$  der Katalysatorkonzentration proportional sich erweist.

Bei enzymatischen Prozessen kann in verschiedener Weise geprüft werden, ob eine solche Proportionalität existiert. Es könnte z. B. untersucht werden, ob bei einem Überschuß an Substrat, in welchem Falle die Substratmenge als konstant betrachtet werden kann, der Umsatz der Enzymmenge proportional ist. Oder man konnte in solchen Fällen, wo die Formel  $k = \frac{1}{t} \log \frac{C}{C-x}$  als gültig sich erwiesen hat, den Wert von  $k$  mit verschiedenen Enzymmengen ermitteln. Ist die besprochene Proportionalität vorhanden, so erweisen sich die erhaltenen  $k$ -Werte den angewandten Enzymmengen proportional. Bedingung für das Gelingen des Versuches ist, daß die wirksame Enzymmenge in dem Laufe eines Versuches unverändert bleibt. Unter Annahme der Gültigkeit der Formel  $k = \frac{1}{t} \log \frac{C}{C-x}$  benutzt Willstätter für Pankreas-Amylase, die mit einer gegebenen Menge Stärke erhaltenen  $k$ -Werte als Maß der Enzymmenge oder der in einem Enzympräparate vorhandenen Enzymeinheiten. Der Reinheitsgrad des Enzympräparates oder dessen Enzymwert ist die Anzahl Enzymeinheiten in 1 cg des Präparates<sup>4)</sup>.

Beobachtungen nach der ersten der beiden genannten Methoden (mit einem Überschuß von Substrat) sind z. B. von Kastle und Loewenhardt mit Buttersäureester und Esterase<sup>5)</sup>, von Bayliss mit Gelatine und Trypsin<sup>6)</sup>, von

<sup>1)</sup> Zeitschr. physik. Chem. **49**, 456 (1904), **54**, 367 (1906), Bioch. Journ. **7**, 549 (1913).

<sup>2)</sup> Journ. chim. et phys. **6**, 254 (1908).

<sup>3)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. **52**, 326 (1907).

<sup>4)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. **126**, 143 und besonders 156 (1923).

<sup>5)</sup> Amer. Journ. Physiol. **24**, 491 (1900).

<sup>6)</sup> Arch. Sc. biol. XI. Suppl. 261 (1905).



Armstrong mit Kefirlaktase <sup>1)</sup> und von Hedin mit Trypsin und Kasein als Substrat <sup>2)</sup> gemacht worden. Letzterer fand mit 100 ccm 2,5<sup>0</sup>/<sub>100</sub> schwach alkalischer Kaseinlösung folgende Ziffern:

Trypsinmenge in ccm (p)	Umsatz (u)	$\frac{u}{p}$
1	2,40	2,40
2	4,95	2,48
3	7,55	2,52
4	9,85	2,46
5	12,45	2,49
6	14,85	2,48
7	17,35	2,48
8	19,10	2,39
9	20,60	2,29
10	22,75	2,28

Wie ersichtlich, ist der Umsatz der Enzymmenge proportional für niedrige Enzymmengen bis 7 ccm, worauf derselbe zu fallen anfängt.

Nach der zweiten der oben genannten Methoden wurde der Geschwindigkeitskoeffizient in einigen Fällen der Enzymmenge proportional gefunden: für Katalase aus Blut (Senter) <sup>3)</sup>, für Erepsin mit Glyzyglyzin als Substrat (Euler) <sup>4)</sup>, für Pankreaslipase (Kastle und Loevenhart) <sup>5)</sup>; in anderen Fällen konnte keine solche Proportionalität nachgewiesen werden: für Katalase aus *Boletus scaber* (Euler), für Lipase aus Schweinefett (Euler) <sup>6)</sup>. Als Beleg mögen folgende Ziffern aus Eulers Versuchen mit Erepsin und Glyzyglyzin angeführt werden:

Enzym- menge (e)	1000 k	$\frac{1000 k}{e}$
2	2,78	1,39
3	4,28	1,43
4	5,28	1,32
5	6,45	1,29

Es gibt aber noch eine Methode, die Proportionalität zwischen dem Geschwindigkeitskoeffizient und der Enzymmenge darzutun, welche von mehreren Fehlerquellen frei ist, welche den eben genannten anhaften, oder jedenfalls von denselben weniger abhängig ist als diese. Dieselbe fußt auf der zunächst experimentell für mehrere enzymatische Prozesse begründeten Tatsache, daß die für einen bestimmten Umsatz einer gegebenen Substratmenge erforderliche Zeit der angewandten Enzymmenge umgekehrt proportional sich erweist. Die ersten mehr eingehenden Untersuchungen über diesen Gegenstand wurden von Sjöqvist ausgeführt <sup>7)</sup>. Derselbe bestimmte, wieviel von einer gegebenen Eiweißmenge bei gegebenem Volumen und Salzsäuregehalt durch verschiedene Mengen Pepsin nach Zeiten, welche den Pepsinmengen umgekehrt proportional waren, aufgelöst war. Die Ergebnisse sind in

<sup>1)</sup> Proc. Roy. Soc. **73**, 500 (1904).

<sup>2)</sup> Journ. Physiol. **32**, 472 (1905).

<sup>3)</sup> Zeitschr. physik. Chem. **44**, 257 (1903).

<sup>4)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. **51**, 213 (1907).

<sup>5)</sup> Amer. chem. Journ. **24**, 491 (1900).

<sup>6)</sup> Hofm. Beiträge **7**, 1 (1906).

<sup>7)</sup> Skand. Arch. Physiol. **5**, 1 (1895).

folgende Tabelle eingetragen, wo P die Pepsinkonzentration bedeutet und t die Digestionszeit.

P. t = . . . . .	2	3	4	6	8	10	12	16	20	24	30
P = 1/2. . . . .	4,05	4,70	5,20	6,10	6,87	7,60	8,12	8,92	—	—	—
= 1 . . . . .	4,12	4,74	5,25	6,07	6,72	7,25	7,76	8,50	9,01	9,45	9,95
= 2 . . . . .	—	—	5,27	6,12	6,77	7,24	7,67	8,40	8,95	9,45	10,00
= 4 . . . . .	—	—	—	—	7,00	7,40	7,80	8,35	8,85	9,19	9,60

Die Ziffern derselben Kolumne sind praktisch gleich und das Resultat kann kurz so angegeben werden, daß der Umsatz nach der gleichen Zahl Enzym-Zeiteinheiten derselbe bleibt. Trotzdem ist aber der Umsatz weder der Enzymmenge noch der Zeit und auch nicht dem Produkt von beiden proportional. Zu den gleichen Ergebnissen ist Hedin bei der Untersuchung der tryptischen Digestion von Kasein in sehr schwach alkalischer Lösung gelangt<sup>1)</sup>. Seine Zahlen, welche den Umsatz wiedergeben, waren wie folgt:

P. t = . . . . .	1	2	2,5	5	7,5	10	15	20
t = 1 . . . . .	5,80	10,35	12,95	20,15	24,5	26,95	31,0	34,05
2 . . . . .	5,85	10,75	13,25	20,40	24,65	27,8	31,7	—
3 . . . . .	5,70	10,85	13,35	20,30	24,35	27,0	31,05	33,75
4 . . . . .	6,10	10,75	13,15	19,90	23,85	26,95	30,75	33,55

Dasselbe Resultat erhielt Hedin auch bei der tryptischen Digestion von denaturiertem und stark dialysiertem Serumalbumin und Eialbumin sowie von stark dialysiertem Wittes Pepton bei neutraler Reaktion, und zwar bei der Anwendung von verschiedenen Analysemethoden. Die Tatsache, daß die Digestion unter angegebenen Bedingungen auf verschiedenen Stadien für denselben Wert von P · t denselben Umsatz zeigt, bedeutet, daß die Digestion des Eiweißes mit verschiedenen Enzymmengen gleichsam dem gleichen Wege folgt; nur muß die Zeit der Einwirkung, um dasselbe Stadium des Umsatzes zu erreichen, den Enzymmengen umgekehrt proportional variiert werden. Hieraus läßt sich folgendermaßen beweisen, daß der Geschwindigkeitskoeffizient der Enzymmenge proportional ist<sup>2)</sup>. Die Herleitung ist nicht auf solchen Reaktionen beschränkt, welche durch die Formel einer monomolekularen Reaktion wiedergegeben werden, sondern wir können ganz allgemein die Reaktionsgeschwindigkeit  $\frac{dC}{dt}$  als eine unbekante Funktion (F) der Substratkonzentration C schreiben:

$$\frac{dC}{dt} = k \cdot F(C) \text{ oder } \frac{dC}{F(C)} = k \cdot dt,$$

wo k der von der Enzymmenge abhängige Geschwindigkeitskoeffizient ist. Durch Integration zwischen den Zeiten 0 und t und den zugehörigen Konzentrationen C<sub>0</sub> und C<sub>t</sub> bekommen wir

$$\varphi(C_0) - \varphi(C_t) = k \cdot t . . . . . (I)$$

φ bedeutet das Symbol irgendeiner durch Integrieren erhaltenen Funktion.

Ist nun mit einer anderen Enzymmenge der Gang der Zerlegung einer gleichen Substratmenge vollkommen derselbe, so haben wir

$$\frac{dC}{dt} = k^1 \cdot F(C),$$

<sup>1)</sup> Journ. Physiol. 32, 469 (1905); 34, 370 (1906); auch Zeitschr. physiol. Chem. 57, 468 (1908); 64, 82 (1909).

<sup>2)</sup> Hedin: *Ergebn. d. Physiol.* 9, 444; s. auch *Zeitschr. physiol. Chem.* 57, 468 (1908).

wo nur der Geschwindigkeitskoeffizient ein anderer ist als vorher. Integrieren wir hier zwischen den Zeiten 0 und  $t^1$  mit den entsprechenden Konzentrationen  $C_0$  und  $C_{t^1}$ , so bekommen wir

$$\varphi(C_0) - \varphi(C_{t^1}) = k^1 \cdot t^1 \quad \dots \quad (2)$$

Wählen wir nun die Zeit  $t^1$  so, das  $C_t = C_{t^1}$ , d. h. so, daß der Umsatz in den beiden Fällen mit verschiedenen Enzymmengen der gleiche bleibt, so ist

$$\varphi(C_0) - \varphi(C_t) = \varphi(C_0) - \varphi(C_{t^1})$$

und es folgt aus (1) und (2)

$$k \cdot t = k^1 \cdot t^1 \quad \text{oder} \quad \frac{k}{k^1} = \frac{t^1}{t} \quad \dots \quad (3)$$

Andererseits ergibt sich aus der Gültigkeit des obigen Enzym-Zeitgesetzes, daß, wenn  $t$  und  $t^1$  Zeiten gleichen Umsatzes bedeuten und  $P$  und  $P^1$  die entsprechenden Enzymmengen,

$$P \cdot t = P^1 \cdot t^1 \quad \text{oder} \quad \frac{P}{P^1} = \frac{t^1}{t} \quad \dots \quad (4)$$

Aus (3) und (4) ergibt sich also

$$\frac{k}{k^1} = \frac{P}{P^1}$$

oder die Geschwindigkeitskoeffizienten sind den zugesetzten Enzymmengen proportional. Mit Rücksicht auf die oben gegebene Definition des Geschwindigkeitskoeffizienten (S. 98) bedeutet dies, daß die Reaktionsgeschwindigkeit bei konstant gehaltener Substratkonzentration den Enzymmengen proportional ist.

Wie oben hervorgehoben wurde, darf dieses nur für solche Fälle als streng bewiesen angesehen werden, wo das Enzym-Zeitgesetz für verschiedene Stadien des enzymatischen Prozesses zutrifft. Da die Enzyme vor ihrer chemischen Wirkung in irgendeiner Weise mit dem Substrat sich verbinden, so ist die mit dem Substrat verbundene Enzymmenge als das wirksame Enzym oder die aktive Masse des Enzyms zu betrachten. Wenn nur ein einziges Substrat vorhanden ist, so bedeutet die Regel, nach welcher die Geschwindigkeitskonstante der zugesetzten Enzymmenge proportional ist, daß die mit dem Substrat verbundene Enzymmenge der zugesetzten proportional ist. Nun entstehen aber besonders bei den proteolytischen Spaltungsprozessen verschiedene Spaltungsprodukte, welche durch das Enzym weiter gespalten werden und welche folglich auch mit dem Enzym Verbindungen bilden. Die verschiedenen Produkte werden aber mit ungleicher Geschwindigkeit zerlegt. Die obige Regel muß also bedeuten, daß bei einem gegebenen Digestionsgemisch die von jedem Stoffe aufgenommene Enzymmenge der zugegebenen Enzymmenge proportional ist oder daß die Verteilung des Enzyms zwischen den anwesenden Stoffen unabhängig von der zugesetzten Enzymmenge die gleiche bleibt. Nun ist aber nach den analytischen Ergebnissen das Digestionsgemisch nach der gleichen Zahl von  $P \cdot t$  das gleiche und man kann folglich auch sagen, daß die Verteilung des Enzyms bei gleichem Umsatz die gleiche bleibt, unabhängig von der Enzymmenge. Aus dem Gesagten folgt auch, daß, solange das obige Gesetz seine Gültigkeit besitzt, eine etwaige Zerlegung von Enzym nach dem Verlauf von der gleichen Anzahl von  $P \cdot t$  der zugegebenen Enzymmenge proportional sein muß. Wenn die Zerlegung von Enzym in anderem Verhältnis geschieht, kann das Enzym-Zeitgesetz nicht in Geltung sein und dies ist wahrscheinlich eine Ursache dazu,

daß die Regel z. B. mit Trypsin und denaturiertem Serumalbumin in schwach alkalischer Lösung nicht bestätigt wird.

Das Enzym-Zeitgesetz deutet, wie eben auseinandergesetzt wurde, darauf hin, daß die Verteilung von Enzym unabhängig von dessen Menge dieselbe bleibt. Dies schließt ein, daß die Geschwindigkeit, mit welcher die Verbindung Enzym-Substrat gebildet wird, auch dieselbe bleiben muß bei verschiedener Enzymmenge. Wahrscheinlich verbindet sich die ganze Enzymmenge mit Substrat bis zur Sättigung derselben. In den meisten Fällen wird wohl die vorhandene Substratmenge für die vollständige Sättigung des Enzyms genügen. Es läßt sich aber der Fall denken, daß eine gegebene kleine Substratmenge für die Sättigung einer geringen Enzymmenge genügt, aber nicht für die Sättigung einer größeren. Wenn das einträte, dann würde offenbar die geringere Enzymmenge in einer gegebenen Zahl von  $P \cdot t$  einen größeren Umsatz erzeugen als die größere und das Enzym-Zeitgesetz würde folglich nicht in Geltung sein. Dieser Zustand wurde von Hedin bei der Digestion von stark dialysiertem, denaturiertem Serumalbumin mit bis auf Spuren von eiweißfreiem Trypsin aufgesucht, und zwar dadurch, daß bei gegebenen großen Enzymmengen die Substratmenge vermindert wurde <sup>1)</sup>:

	Dig. Zeit Min.	Umsatz (u)	$\frac{u}{c}$
{ 400 Trypsin + 40 alb. . . . .	30	30,0	7,5
{ 200 „ + 40 alb + 200 H <sub>2</sub> O . . . . .	60	30,55	7,61
{ 400 „ + 20 alb + 20 H <sub>2</sub> O . . . . .	30	16,6	8,3
{ 200 „ + 20 alb + 220 H <sub>2</sub> O . . . . .	60	17,35	8,68
{ 400 „ + 10 alb + 30 H <sub>2</sub> O . . . . .	30	8,45	8,45
{ 200 „ + 10 alb + 230 H <sub>2</sub> O . . . . .	60	9,45	9,45

Die Ziffern der letzten Säule, welche den Umsatz für 10 ccm Substrat angeben, zeigen, daß das Enzym-Zeitgesetz für 40 ccm Substrat deutlich gilt, weniger deutlich in den Versuchen mit 20 ccm und gar nicht in den mit 10 ccm. Dasselbe Resultat ergab ein anderer Versuch mit 10 ccm Substrat, wo das Verhältnis zwischen den Enzymmengen 4 : 1 war:

	Min.	u
400 Trypsin + 10 alb . . . . .	15	7,25
100 „ + 10 alb + 300 H <sub>2</sub> O . . . . .	60	9,15

Schließlich sei in diesem Zusammenhange auch erwähnt, daß die Gegenwart gewisser hemmender Substanzen das Enzym-Zeitgesetz außer Geltung setzen kann, da dieselben von einer geringen Enzymmenge verhältnismäßig mehr aufnehmen als von einer größeren. Siehe hierüber den Abschnitt über die Hemmung der Enzymwirkung.

Außer den eben besprochenen Enzymen, welche das Enzym-Zeitgesetz unter Umständen hervortreten lassen, seien noch folgende erwähnt. Hudson hat bei seinen bereits besprochenen Versuchen über die Invertierung von Rohrzucker und Saccharase auch Versuche über den Zusammenhang zwischen Enzymmenge und Zeit ausgeführt. Denselben entnehmen wir folgende Ziffern <sup>2)</sup>:

<sup>1)</sup> Journ. Physiol. **32**, 483 (1905).

<sup>2)</sup> Journ. amer. chem. Soc. **30**, 1575 (1908).

		Anfängliche Konzentration der Zuckerlösung					
		4,55%		9,09%		27,3%	
P . t =		30	60	30	60	30	60
P = 0,25		73,1%	92,7%	45,2%	74,7%	10,9%	21,9%
0,50		72,9	92,7	45,2	74,5	11,4	22,6
1,00		72,9	93	45,3	74,7	11,5	22,3
1,50		73,2	92,8	44,8	74,5	11,2	22,7
2,00		73,2	93	45,3	74,2	11,2	22,0

Die eingetragenen Ziffern sind die Prozentzahlen der gespalteten Zuckermenge. Auch aus diesen Zahlen geht deutlich hervor, daß das Enzym-Zeitgesetz für verschiedene Stadien der Reaktion seine Gültigkeit behält. Auch hier ist folglich der Geschwindigkeitskoeffizient der Enzymmenge proportional.

Für Kalbslab hat besonders Fuld die Gültigkeit des Enzym-Zeitgesetzes dargetan, indem die Gerinnungszeit der Milch der Enzymmenge umgekehrt proportional gefunden wurde<sup>1)</sup>; ferner hat Vernon eine leidliche Übereinstimmung für peptonspaltende Enzyme gefunden<sup>2)</sup>, während Martin eine genügende Übereinstimmung für Fibrinfermente der Schlangengifte<sup>3)</sup> und Madsen für Pepsin, Lab, Trypsin und Pyocyaneusprotease fanden<sup>4)</sup>. Schließlich haben D. van Slyke und Cullen in einer Arbeit über die Urease auch für dieses Enzym das besprochene Gesetz gültig gefunden<sup>5)</sup>.

Es liegt in der Natur der Sache, daß die Gültigkeit des Gesetzes für die koagulationerregenden Enzyme (Lab und Fibrinferment) nur in bezug auf ein einziges Stadium ihrer Wirkung hat geprüft werden können, nämlich für das Stadium, wo die Gerinnung eben stattfindet. Der Beweis, daß der Gang des Umsatzes für den ganzen Verlauf mit verschiedenen Enzymmengen derselbe bleibt, fehlt folglich in diesem Falle. Das Enzym-Zeitgesetz bei der Labwirkung hat ein besonderes Interesse auf sich gezogen. Nach dem oben Gesagten gilt das Gesetz für das Kalbslab. Doch geht aus neuerdings von Hammarsten ausgeführten Versuchen hervor, daß das Gesetz nur bei Bruttemperatur einigermaßen deutlich hervortritt, während bei Zimmertemperatur eine ausgesprochene Abweichung in dem Sinne hervortritt, daß geringe Labmengen im Vergleich mit größeren zu niedrige Gerinnungszeiten ergeben<sup>6)</sup>. Hedin fand das besprochene Gesetz auch für Schafslab bei 37° gültig<sup>7)</sup>. Alle anderen daraufhin geprüften Labenzyme scheinen bei 37° in der Weise von dem besprochenen Gesetz abzuweichen, daß eine geringe Labmenge eine verhältnismäßig längere Zeit in Anspruch nimmt für die Gerinnung von Milch als eine größere Menge. Wenn z. B. die Labkonzentration 1 eine Gerinnungszeit von 10 Minuten ergibt, so verlangt vielleicht die Labkonzentration  $\frac{1}{2}$  eine Zeit von 30 Minuten anstatt 20 Minuten. Die Ursache dieses Verhältnisses ist möglicherweise in Zerstörung von Enzym während des Versuches zu suchen, welche Zerstörung offenbar um so ausgeprägter sein wird, je länger das Erhitzen auf 37° dauert oder je geringer die zugesetzte Enzymmenge ist.

Bisweilen bedient man sich des eben erwähnten Gesetzes, um für die wirksamen Mengen eines Enzyms vergleichbare Ausdrücke zu bekommen. So sind

<sup>1)</sup> Hofm. Beiträge 2, 169 (1902).

<sup>2)</sup> Journ. Physiol. 30, 334 (1903).

<sup>3)</sup> Ebenda 32, 207 (1905).

<sup>4)</sup> Arrhenius: Immunochemie 1907. S. 46 ff.

<sup>5)</sup> Journ. biol. Chem. 19, 141 (1914).

<sup>6)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. 92, 119 (1914).

<sup>7)</sup> Nicht sonst veröffentlichte Unters.

verschiedene Mengen derselben Lablösung, welche in verschiedenen Zeiten eine gegebene Milchmenge zum Koagulieren bringen, den erhaltenen Koagulationszeiten umgekehrt proportional. Michaelis und Davidsohn sind bemüht gewesen, für Saccharasemengen vergleichbare Ziffer bei ungleichen  $C_H$  zu bekommen, und zwar in folgender Weise:

Zunächst wurde für irgendeine  $C_H$  der Umsatz  $x$  als Funktion der Zeit  $T$  graphisch dargestellt und die dabei erhaltene Kurve wurde als Standardkurve bezeichnet. Dann stellten sie bei einer anderen Azidität für die Zeiten  $t_1, t_2$  usw. den zugehörigen Umsatz  $x_1, x_2$  usw. fest und suchten auf der Standardkurve diejenigen Zeiten  $T_1, T_2$  usw., welche den Umsätzen  $x_1, x_2$  ebenfalls entsprachen.

Die Quotienten  $\frac{T_1}{t_1}, \frac{T_2}{t_2}$  usw., welche die relativen Umsatzgeschwindigkeiten angeben, sind dann ein Maß für die wirksamen Enzymmengen, bezogen auf die des Standardversuches<sup>1)</sup>. Diese Überlegung setzt im voraus, einerseits, daß die Verbindung Enzym-Saccharose in einer Zeit gebildet wird, die im Vergleich mit der für die Aufspaltung der Saccharose gebrauchten vernachlässigt werden kann, andererseits, daß die Zerfallsgeschwindigkeit der Saccharose-Rohrzucker-Verbindung unabhängig von der  $C_H$  verläuft, was nach Willstätter und R. Kuhn nicht der Fall sein soll<sup>2)</sup>. Außerdem dürfte zu beachten sein, daß, wo das eben besprochene Enzym-Zeitgesetz sich bewährt, das Verhältnis zwischen dem freien Enzym und dem am Substrat gebundenen vom theoretischen Standpunkte nicht durch das Massenwirkungsgesetz geregelt werden kann. Nach diesem Gesetz ist nämlich

(Freies Enzym)  $\times$  (Freies Substrat) =  $K \times$  (Enzym-Substrat-Verbindung),  
 wo  $K$  die Gleichgewichtskonstante bedeutet und die eingeklammerten Substanzen in molekulären Konzentrationen in Rechnung genommen werden. Wird die ganze Enzymmenge in einem Falle =  $a$  gesetzt und die ganze Substratmenge =  $b$  und ist die mit dem Substrat verbundene Enzymmenge =  $x$ , so wird die obige Gleichung

$$(a - x)(b - x) = K \cdot x \quad \dots \quad 1$$

Wird nun in einem anderen Falle zu derselben Substratmenge die Enzymmenge  $n \cdot a$  gegeben und ist das Enzym-Zeitgesetz gültig, so ist nach dem S. 148 Gesagten die mit dem Substrat verbundene Enzymmenge  $n \cdot x$ , und die Formel 1 nimmt folgende Form an:

$$(n \cdot a - n \cdot x)(b - n \cdot x) = K \cdot n \cdot x \quad \dots \quad 2$$

Wird 2 mit 1 dividiert, erhalten wir:

$$\frac{n(a - x)(b - nx)}{(a - x)(b - x)} = \frac{K \cdot nx}{Kx}$$

oder  $n = 1$ .

Wenn also die beiden Gesetze — das Enzym-Zeitgesetz und das Massenwirkungsgesetz — für eine gegebene Enzymmenge zugleich gültig sind, so können sie sich für keine andere Enzymmenge zugleich bewähren. Es folgt demnach, daß z. B. in dem Falle der Saccharase, für welches Enzym das Enzym-Zeitgesetz sich weitgehend bestätigt hat (S. 150), das Verhältnis zwischen dem freien und dem am Substrat gebundenen Enzym nicht durch die Formel

(Freies Enzym)  $\times$  (Freies Substrat) =  $K \times$  (Enzym-Substrat-Verbindung)  
 ausgedrückt werden kann.

<sup>1)</sup> Biochem. Zeitschr. 35, S. 386, und zwar S. 403 (1911).

<sup>2)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. 125, S. 1, und zwar S. 44.

Schützische Regel. Bei der Bestimmung von Enzymmengen spielt die sog. Schützische Regel eine gewisse Rolle. In ihrer neuesten Form besagt dieselbe, daß der Umsatz der Quadratwurzel aus der Enzymmenge und der Zeit proportional ist oder  $\text{Umsatz} = k \cdot \sqrt{p \cdot t}$ , wo  $k$  eine Konstante,  $p$  die Enzymmenge und  $t$  die Zeit der Einwirkung bedeutet. Die Regel wurde zuerst von E. Schütz für das Pepsin aufgestellt, und zwar in der Form  $\text{Umsatz} = k \cdot \sqrt{p}$ , da die Zeit ( $t$ ) konstant gehalten wurde<sup>1)</sup>. Die Form  $\text{Umsatz} = k \cdot \sqrt{p \cdot t}$  wurde ihr von E. Schütz und Huppert gegeben<sup>2)</sup>. Nach Pawlow soll die Regel auch für die Trypsinverdauung sich bewähren<sup>3)</sup>. Die Regel ist nur für einen gewissen Bereich der Verdauung gültig, und es leuchtet sofort ein, daß der Gültigkeitsbereich sehr von der für die Bestimmung des Umsatzes angewandten Methode abhängig sein muß, da mit verschiedenen Methoden verschiedene Digestionsprodukte bestimmt werden. Ferner sei bemerkt, daß innerhalb des ganzen Bereiches, wo die Schützische Regel sich bewährt, dem gleichen Wert für  $p \cdot t$  auch der gleiche Umsatz entspricht und folglich auch das eben behandelte Enzym-Zeitgesetz gültig sein muß. Die Schützische Regel ist auch für die Wirkung von Magen- und Pankreaslipase bestätigt worden<sup>4)</sup>. Nach Arrhenius läßt die Gültigkeit der Regel unter der Annahme sich erklären, daß das Enzym mit den Reaktionsprodukten sich verbindet, so daß die aktive Masse des Enzymes der Menge der Reaktionsprodukte umgekehrt proportional sich ändert<sup>5)</sup>.

Enzymwirkung und Temperatur. Im allgemeinen steigt die Enzymwirkung mit der Temperatur bis zu einer gewissen Grenze, um bei höheren Temperaturen wieder abzunehmen. In bezug auf den Temperatureinfluß ist zu bemerken:

1. daß wohl die rein chemischen Prozesse mit der Temperatur zunehmen (S. 109)

2. daß die Enzyme bei höheren Temperaturen zerlegt werden (S. 125) und daß dieser Prozeß von mehreren Umständen ( $C_H$ , Gegenwart anderer Stoffe, Versuchsdauer) abhängig ist.

Die Einwirkung der Temperatur auf das gemessene Resultat der Enzymwirksamkeit ist die Folge beider Faktoren, von welchen ersterer bei niedriger Temperatur überwiegt und letzterer bei höherer Temperatur. Schon lange hat man sog. Optimaltemperaturen für enzymatische Prozesse bestimmt und dieselben dürften wohl für die Mehrzahl der Enzyme zwischen  $37^{\circ}$  und  $53^{\circ}$  liegen, aber da von den beiden oben hervorgehobenen Faktoren besonders der zweite von zufälligen Verhältnissen abhängig ist, haben solche Bestimmungen höchstens für das angewandte Enzympräparat Bedeutung. Die Temperaturkonstante  $A$  in der Formel S. 109 ändert sich bei nicht enzymatischen Reaktionen in der Regel nicht mit der Temperatur. Nach v. Euler und J. Laurin nimmt derselbe bei der Saccharasewirkung mit der Temperatur recht bedeutend ab<sup>6)</sup>.

<sup>1)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. **9**, 577 (1895).

<sup>2)</sup> Pflügers Arch. **80**, 470 (1900).

<sup>3)</sup> Arbeit der Verdauungsdrüsen. Wiesbaden 1898. S. 33.

<sup>4)</sup> Stade: Hofmeisters Beiträge **3**, 318 (1903); Engel: Ebenda **7**, 77 (1906); Fromme: Ebenda **7**, 51 (1909).

<sup>5)</sup> Medd. Nobel Inst. **1**, Nr. 9 (1908).

<sup>6)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. **110**, 55 (1920).

## Spezifische Wirkung der Enzyme.

Die oben (Kap. 3) behandelten Katalysatoren von bekannter chemischer Zusammensetzung sind im allgemeinen imstande, sehr verschiedene Reaktionen zu beeinflussen, d. h. auf verschiedene Substrate einzuwirken. So können die Säuren die Spaltung von sowohl Kohlehydraten und Glykosiden wie auch von Fett und Eiweiß besorgen; außerdem können Säuren auch verschiedene synthetische Prozesse, z. B. Synthesen von Glykosiden, vermitteln. Aus diesem Grunde spricht man im allgemeinen nicht von irgendwelcher spezifischen Wirkung solcher Katalysatoren. Nur in vereinzelten Fällen und speziell in solchen, wo Alkaloide als Katalysatoren wirksam sind, ist eine spezifische katalytische Wirkung beobachtet worden. Dies bedeutet, daß ein gegebener Katalysator nur eine mehr oder weniger begrenzte Wirkung ausübt. So ist es Bredig und Fajans gelungen, nachzuweisen, daß ein optisch aktives Lösungsmittel den Zerfall von optischen Antipoden in ungleichem Grade beeinflussen kann. So zerfällt von den optischen Antipoden der Kamphokarbonsäure, wenn dieselben in Nikotin aufgelöst sind oder wenn Nikotin als mitgelöster Katalysator vorhanden ist, der d-Form um 17% schneller als der l-Form, während beide Formen in optisch indifferenten Lösungsmitteln und ohne Nikotin als Katalysator gleich rasch zerlegt werden. Die Spaltung geschieht folglich asymmetrisch in der Gegenwart von Nikotin<sup>1)</sup>. Ein anderes Beispiel einer asymmetrischen katalytischen Wirkung bietet die S. 157 besprochene, von Bredig und Fiske beobachtete überwiegende Bildung von d-Mandelsäurenitril aus Benzaldehyd und Zyanwasserstoff, wenn Chinin als Katalysator angewandt wurde, und von l-Mandelsäurenitril, wenn Chinidin zugegen war<sup>2)</sup>.

Besonders bei den Enzymen finden wir eine mehr oder weniger ausgesprochene spezifische Wirkung. Daß ein grober Unterschied in bezug auf die Wirksamkeit der Enzyme existiert in dem Sinne, daß dieselben nur auf bestimmte Körperklassen (z. B. Proteinstoffe, Kohlehydrate oder Fett) einwirken, ist schon lange bekannt. Dann existieren aber Differenzen in der Weise, daß verschiedene Enzyme derselben Gruppe auf ungleiche Vertreter derselben Substratklasse eingerichtet sind. Die am besten bekannten Beispiele einer solchen Spezifizität sind die Enzyme, welche verschiedene Disaccharide in einfache Hexosen spalten. Hierher gehören Saccharase (Invertin), Laktase und Maltase. Freilich können verschiedene Enzyme auf dasselbe Substrat einwirken, dabei wird aber das Substrat in ungleicher Weise umgewandelt. So wird Zucker durch Zymase in Alkohol und Kohlensäure aufgespalten, während derselbe bei anderer Behandlung Milchsäure liefert.

Schließlich kann es auch eintreffen, daß ein Enzym die eine von zwei optisch isomeren Formen angreift, während die andere entweder nicht beeinflußt wird oder nur in geringerem Grade. Dieses Verhalten wurde zuerst von E. Fischer klargelegt. Derselbe fand, daß von den vielen bekannten Aldohexosen nur drei, d-Glukose, d-Mannose und d-Galaktose und von den Ketohexosen nur eine, d-Fruktose, vergärbare sind und dann, daß synthetisch hergestellte, wahrscheinlich stereoisomere Glykoside sich zu Enzymen verschieden verhalten. So wird von zwei isomeren Methyl-d-Glykosiden das eine ( $\alpha$ -) nur durch Hefe und das andere ( $\beta$ -) nur durch Emulsin angegriffen, während die

<sup>1)</sup> Ber. d. chem. Ges. **41**, 152 (1908).

<sup>2)</sup> Biochem. Zeitschr. **46**, 7 (1912).



entsprechenden Methyl-1-Glykoside durch keines von diesen Enzymen gespalten werden. In der gleichen Weise verhalten sich die entsprechenden, aus Galaktose erhaltenen Glykoside <sup>1)</sup>). Im Anschluß an diese Beobachtungen sprach Fischer die Theorie aus, daß für die Wirkung eines Enzyms eine gewisse Übereinstimmung des sterischen Baues von Enzym und Substrat vorhanden sein muß; das Enzym muß für das Substrat passen etwa wie ein Schlüssel zum Schloß.

Dann kamen ähnliche Beobachtungen von H. D. Dakin, welcher fand, daß razemische Mandelsäureester bei unvollständiger Hydrolyse durch Leberpreßsaft eine stark rechtsdrehende Säure liefern, während die zurückbleibenden Ester linksdrehend sind. Der rechtsdrehende Ester war also schneller hydrolysiert worden als der linksdrehende <sup>2)</sup>). Schließlich sind die Untersuchungen von E. Fischer und Abderhalden über die Spaltung von Polypeptiden durch Pankreassaft zu erwähnen <sup>3)</sup>). Aus einem reichhaltigen Material wird der Schluß gezogen, daß diejenigen Polypeptide, welche ausschließlich aus den in der Natur vorkommenden optischen Formen der Aminosäuren bestehen, hydrolysiert werden, andere nicht; kommt in einer razemischen Form neben einem aus natürlichen Aminosäuren bestehenden Polypeptid auch ein anderes vor, so wird nur das erstere hydrolysiert. Außerdem sind aber auch andere Faktoren von Belang. So wird l-Leuzylglyzin nicht hydrolysiert, obwohl beide Bestandteile in der Natur vorkommen. Auch die Molekulargröße scheint von Bedeutung zu sein, indem Mono-, Di- und Triglyzylglyzin keine Änderung erleiden, aber Tetraglyzylglyzin gespalten wird.

An dieser Stelle sollen auch Versuche von Dakin und Dudley erwähnt werden, nach welchen Kasein, das durch langdauerndes Behandeln mit schwachem Alkali bei 37° unter Abgeben von Ammoniak „razemisiert“ und dann durch Säure ausgefällt worden war, durch Trypsin, Pepsin oder Erepsin nicht angegriffen wurde. Dasselbe war der Fall mit einem anderen bei der Alkalibehandlung entstandenen Spaltungsprodukt, welcher nicht mit Säure ausgefällt wurde. Beide Substanzen ergaben bei der Spaltung mit Säure fast nur inaktive Aminosäuren <sup>4)</sup>).

Schließlich mögen auch in diesem Zusammenhange einige unter dem Einfluß lebender Zellen stattfindende asymmetrische Spaltungen erwähnt werden, welche wahrscheinlich an Enzymwirkungen liegen, obwohl der Beweis hierfür streng genommen nicht geliefert worden ist. Die asymmetrische Spaltung einer razemischen Form durch Mikroben wurde zuerst von Pasteur beobachtet, der in einer mit Nährsalzen versehenen Lösung von r-Weinsäure als Am-Salz nach Aussaat von *Penicillium glaucum* l-Weinsäure erhielt, indem die d-Form von dem *Penicillium* assimiliert wurde. Hierher gehören u. a. auch die Untersuchungen von F. Ehrlich über das Verhalten der razemischen Aminosäuren bei der Alkoholgärung <sup>5)</sup>). Bei der Einwirkung von stickstoffarmer Hefe auf die razemischen Aminosäuren in der Gegenwart einer genügenden Menge Zucker ohne andere Nahrungsstoffe sättigt sich die Hefe mit Stickstoff. Dies geschieht auf Kosten derjenigen Komponente der Aminosäure, welche im natürlichen Eiweiß vorkommt; die andere Komponente bleibt zum größten Teil in der Lösung unverändert zurück. Ausnahmen von dieser Regel bilden r-Asparagin-

<sup>1)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. **26**, 60 (1898). (Zusammenfassung von Fischers Arbeiten.)

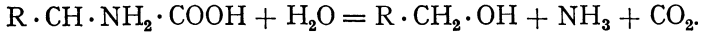
<sup>2)</sup> Journ. of Physiol. **30**, S. 253 (1903); **32**, S. 199 (1905).

<sup>3)</sup> Zeitschr. f. physiol. Chem. **46**, S. 52 (1905); **51**, S. 264 (1907).

<sup>4)</sup> Journ. biol. Chem. **15**, 271 (1913).

<sup>5)</sup> Biochem. Zeitschr. **1**, 8 (1906); **8**, 438 (1908); **63**, 379 (1914).

säure, r-Prolin und r-Tyrosin, welche symmetrisch gespalten werden. Bei der asymmetrischen Spaltung geschieht die Reaktion wahrscheinlich nach der Formel



Bei der Reaktion entstehen folglich die im Fuselöl vorhandenen primären Alkohole aus den entsprechenden Aminosäuren <sup>1)</sup>. Zu ähnlichen Resultaten ist auch Pringsheim gelangt <sup>2)</sup>.

Es sei ferner auf das verschiedene Verhalten optischer Antipoden im Organismus höherer Tiere hingewiesen. Neuberg und Wohlgemuth beobachteten, daß von den zwei optischen Antipoden der Arabinose die l-Komponente im Kaninchenkörper stärker angegriffen wird als die d-Komponente <sup>3)</sup>. Wohlgemuth stellte an Kaninchen Fütterungsversuche mit den razemischen Formen von Tyrosin, Leuzin, Asparaginsäure und Glutaminsäure an <sup>4)</sup>. Sämtliche Versuche hatten das gleichsinnige Resultat, daß die Säuren im Organismus zerlegt werden, so zwar, daß die im Körper selber vorkommende Komponente annähernd entsprechend ihrer Assimilationsgrenze verbrannt, während die andere, „körperfremde“ Komponente zum Teil oder fast völlig durch den Harn wieder unverändert ausgeschieden wurde. Dasselbe fanden Abderhalden und Samuely für Leuzin <sup>5)</sup>, sowie Abderhalden mit Katzenstein <sup>6)</sup> und mit Schittenhelm <sup>7)</sup> für Alanin.

## Enzymatische Synthesen und Reversibilität der Enzymreaktionen.

Bei der Besprechung der katalytischen Reaktionen wurde hervorgehoben, daß derselbe Katalysator in gewissen Fällen eine Reaktion in beiden Richtungen beeinflussen kann, je nach der Konzentration der reagierenden Stoffe. Da nun offenbar mehrere Analogien zwischen den enzymatischen Reaktionen und gewöhnlichen katalytischen Prozessen bestehen, so kann man die Frage aufwerfen, ob auch die Enzyme einen Prozeß in beiden Richtungen beeinflussen oder ob die enzymatischen Reaktionen reversibel geleitet werden können. Da die Enzymreaktionen, welche wir bis hierher abgehandelt haben, ausschließlich als Spaltungen zu betrachten sind, so gilt die obige Frage in erster Linie, ob die Enzyme auch synthetische Prozesse vermitteln können. Mit dieser Formulierung kann die Frage unbedingt bejahend beantwortet werden.

Das erste Beispiel einer solchen Reaktion wurde von Croft-Hill erbracht. Derselbe behandelte eine 40%ige Traubenzuckerlösung mit Maltase bei 30° während einer sehr langen Zeit und schloß aus der dabei stattgehabten Veränderung des Drehungs- und Reduktionsvermögens, daß etwas Maltose aus dem Traubenzucker gebildet worden war <sup>8)</sup>. Indessen konnte bald darauf Emmerling konstatieren, daß es nicht um die Synthese von Maltose, sondern um die eines isomeren Kohlehydrats, Isomaltose, sich handelte, das nicht durch

<sup>1)</sup> Ber. chem. Ges. **40**, 1027 (1907).

<sup>2)</sup> Biochem. Zeitschr. **3**, 121; **8**, 119, 128 (1907).

<sup>3)</sup> Ber. chem. Ges. **34**, 1745 (1901).

<sup>4)</sup> Ebenda **38**, 2064 (1905).

<sup>5)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. **47**, 346 (1906).

<sup>6)</sup> Zeitschr. exp. Pathol. und Therap. **2**, 560 (1906).

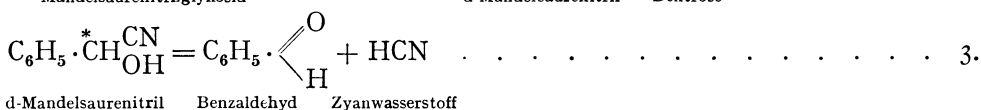
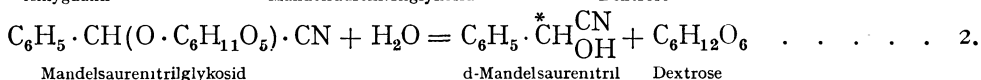
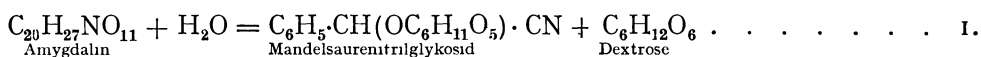
<sup>7)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. **51**, 323 (1907).

<sup>8)</sup> Journ. chem. Soc. **73**, S. 634 (1898).

Maltase gespalten wird <sup>1)</sup>. Nach F. Armstrong soll Emulsin Isomaltose spalten, aber nicht Maltose, dafür aber aus Traubenzucker Maltose synthetisieren können <sup>2)</sup>. Eine ähnliche Reaktion hatten schon vorher E. Fischer und Armstrong nachgewiesen, indem Kefirlaktase aus Galaktose und Dextrose nicht Laktose, sondern Isolaktose aufbaut <sup>3)</sup>. Nach Cremer besitzt Hefepreßsaft das Vermögen, aus Traubenzucker oder Fruchtzucker Glykogen zu bilden <sup>4)</sup>.

Wie ersichtlich handelt es sich in den angeführten Fällen um unzweifelhafte Synthesen unter dem Einfluß von Enzymen, aber es werden dabei andere Produkte gebildet als diejenigen, welche die angewandten Enzyme zu spalten vermögen. Aus den angeführten Ergebnissen läßt sich also nicht ohne weiteres folgern, daß die Enzyme denselben Prozeß in beiden Richtungen zu beeinflussen vermögen.

Mit den kohlehydratspaltenden Enzymen sind diejenigen nahe verwandt, welche Glykoxide zu spalten imstande sind. Unter solchen Prozessen ist die Spaltung von Amygdalin am eingehendsten studiert worden. Die Spaltung des Amygdalins bis zur Bildung von Glykose, Benzaldehyd und Zyanwasserstoff geschieht in drei Stadien <sup>5)</sup>:



Der ganze Verlauf bis zur Bildung der Endprodukte Zucker, Benzaldehyd und Zyanwasserstoff findet unter dem Einfluß von Emulsin aus Mandeln statt. Der Teilprozeß 1 geschieht gesondert unter dem Einfluß von Hefe [Fischer <sup>6)</sup>]. Rosenthaler unterscheidet in dem Emulsin zwischen drei verschiedenen Enzymen Amygdalase, Prunase und Oxynitrilase, welche die drei oben angegebenen Teilreaktionen vermitteln <sup>7)</sup>. Die Prunase kommt auch in den Blättern von Prunaceen vor.

Von den drei oben angegebenen Teilreaktionen sind 1 und 3 mit Hilfe von Enzymen rückgängig geleitet worden, und zwar 1 unter Benutzung von Hefe [Emmerling <sup>8)</sup>] und 3 mit Emulsin [Rosenthaler <sup>9)</sup>]. Im letzteren Falle verlief die Reaktion asymmetrisch, indem vorzugsweise die d-Form des Mandelsäurenitrils gebildet wurde. Das asymmetrische C-Atom ist in der Reaktionsformel markiert.

Rosenthaler vertritt die Ansicht, daß diejenigen Bestandteile des Emulsins, welche das Oxynitril (Mandelsäurenitril) zu spalten und zu synthetisieren

<sup>1)</sup> Ber. d. d. chem. Gesellsch. **34**, S. 600 und 2207 (1901).

<sup>2)</sup> Proc. roy. Soc. (ser. B) **76**, S. 592 (1905).

<sup>3)</sup> Ber. d. d. chem. Gesellsch. **35**, S. 3151 (1902).

<sup>4)</sup> Ebenda **32**, S. 2062 (1899).

<sup>5)</sup> Über abweichende Ansichten über die Spaltung sowie über eine andere Terminologie der Enzyme s. Bertrand und Compton: Ann. Inst. Past. **26**, 161 (1912).

<sup>6)</sup> Ber. d. chem. Ges. **28**, 1508 (1896).

<sup>7)</sup> Biochem. Zeitschr. **50**, 486 (1913); vgl. auch H. E. und E. F. Armstrong und E. Horton: Proc. roy. Soc., Ser. B. **85**, 359, 363 (1912).

<sup>8)</sup> Ber. d. chem. Ges. **34**, 3810 (1901).

<sup>9)</sup> Biochem. Zeitschr. **14**, 238 (1908).

vermögen, verschieden sind und er bezeichnet dieselben mit den Namen Oxynitrilase bzw. Oxynitrilase. In diesem Falle wäre also die spaltende und die synthetische Wirkung durch verschiedene Bestandteile derselben Enzymlösung vermittelt<sup>1)</sup>. Die Existenz einer besonderen Oxynitrilase wird indessen von E. Nordefeldt bestritten<sup>2)</sup>. Besonders eingehende Untersuchungen über das Emulsin sind von Willstätter und Mitarbeitern veröffentlicht worden<sup>3)</sup>. Über die Synthese des Disaccharids Zellobiose aus Glukose unter dem Einfluß von Emulsin berichten Bourquelot und M. Briedel<sup>4)</sup>.

Mit Rücksicht auf die Ansichten über den Bau und die Wirkungsart der Enzyme ist es von erheblichem Interesse, daß es neuerdings Bredig und Fiske gelungen ist, mit Hilfe von optisch aktiven Katalysatoren aus Benzaldehyd und Zyanwasserstoff die zwei optischen Antipoden des Mandelsäurenitrils herzustellen. Neben der Racemform wurde unter Benutzung von Chinin als Katalysator das rechtsdrehende und unter Benutzung des (mit Chinin isomeren, aber im Drehungsvermögen entgegengesetzten) Chinidins das linksdrehende Nitril gebildet<sup>5)</sup>. Dies deutet darauf hin, daß möglicherweise auch die Enzyme einen asymmetrischen Bau besitzen.

Mit Hilfe von Emulsin ist es Rosenthaler gelungen, auch aus anderen Aldehyden und Zyanwasserstoff entsprechende Oxynitrile aufzubauen, welche im allgemeinen rechtsdrehende waren<sup>6)</sup>.

Abgesehen von der bereits besprochenen Synthese von Amygdalin aus Mandelsäurenitrilglykosid und Dextrose (Emmerling) scheint van't Hoff der erste gewesen zu sein, der mit Hilfe von Emulsin Glykoside synthetisch hergestellt hat<sup>7)</sup>. Mit tertiären Alkoholen und Glykose wurde keine Synthese erzielt, wohl aber mit Glyzerin und Glykose, welche Stoffe in molekularen Konzentrationen etwa 70% Glykosid ergaben. Die Resultate von van't Hoff sind neuerdings von Bayliss nachgeprüft worden. In dem Systeme Glyzerin, Glykose, Glyzeringlykosid, Wasser wurde von beiden Seiten dasselbe Gleichgewicht erhalten. Das gebildete Glykosid wurde durch Emulsin hydrolysiert. Nach Bayliss ist der Prozeß völlig reversibel und er bezweifelt die Existenz besonders synthetisch wirkender Enzyme<sup>8)</sup>.

Durch Einwirkung von Zucker auf Alkohole in der Gegenwart von HCl war es Fischer gelungen, zwei Serien von Glykosiden herzustellen, von welchen die eine ( $\alpha$ ) durch Hefe und die andere ( $\beta$ ) durch Emulsin gespalten wurden (S. 153)<sup>9)</sup>. Bourquelot und seine Mitarbeiter haben mit Zucker in alkoholischer Lösung in der Gegenwart von Emulsin Glykoside erhalten, welche in Wasserlösung von Emulsin hydrolysiert wurden ( $\beta$ -Glykoside). Mit Hilfe eines aus Hefe bereiteten Enzyms konnten sie dagegen die Bildung von Glykosiden erzielen, welche in Wasser aufgelöst von diesem Enzym, aber nicht von Emulsin gespalten wurden ( $\alpha$ -Glykoside). In der Gegenwart von viel Alkohol geschieht überwiegend Synthese mit mehr Wasser Spaltung. Für gewisse Fälle wird nachgewiesen, daß dasselbe Gleichgewicht von beiden Seiten erhalten

<sup>1)</sup> Biochem. Zeitschr. **17**, 257 (1909); **28**, 408 (1910); **50**, 486 (1913).

<sup>2)</sup> Biochem. Zeitschr. **118**, 15 (1921).

<sup>3)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. **117**, 172 (1921); **121**, 183 (1922).

<sup>4)</sup> Compt. rend. **168**, 1016 (1919).

<sup>5)</sup> Biochem. Zeitschr. **46**, 7 (1912).

<sup>6)</sup> Ebenda **17**, 257 (1909).

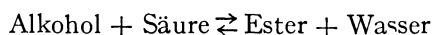
<sup>7)</sup> Ber. preuß. Akad. Wiss. 1909. S. 1065; 1910. S. 963.

<sup>8)</sup> Journ. Physiol. **46**, 236 (1913).

<sup>9)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. **26**, 60 (1898).

wird <sup>1)</sup>). Hämläinen konnte mit Hilfe von Emulsin die Bildung von  $\beta$ -Glykoside aus Glykose und Terpenalkohol erzielen <sup>2)</sup>).

Eine unzweifelhafte Synthese ist auch für Fett und andere esterartige Verbindungen der Fettsäuren bekannt. Zunächst wiesen Kastle und Loewenhardt die Bildung von Äthylbutyrat aus Alkohol und Buttersäure unter dem Einfluß von einem Pankreasenzym nach <sup>3)</sup>). In analoger Weise erhielt Hanriot aus Buttersäure und Glycerin mit Blutserum Monobutyryn <sup>4)</sup>). Ebenso gelang es Pottevin mittels eines Pankreasenzym Ölsäure und Glycerin zunächst in Mono- und dann in Triolein umzuwandeln, sowie auch Ölsäureester von einatomigen Alkoholen zu erhalten <sup>5)</sup>). Die Synthese geht am besten in Abwesenheit von Wasser, da Wasser die Aufspaltung der gebildeten Ester ermöglicht. Welter erzielte mit Hilfe des fettsplattendes Enzyms der Rizinussamen eine Synthese von Fettsäuren und Glycerin. Auch hier trat die synthetische Wirkung ein, erst wenn die Wassermenge wesentlich verringert wurde <sup>6)</sup>). Die synthetische Wirkung von Pankreas ist von Dietz eingehend studiert worden <sup>7)</sup>). Das von ihm angewandte Enzym war in Wasser unlöslich und dessen Wirkung wurde mit i-Amylalkohol und n-Buttersäure oder dem entsprechenden Ester geprüft. Zunächst wurde festgestellt, daß die Reaktion auf der unlöslichen Phase (Enzym) stattfand. Aus der Reaktionsformel



ergibt sich, wenn die molekularen Konzentrationen von Alkohol, Säure, Ester und Wasser mit  $C_A$ ,  $C_S$ ,  $C_E$  und  $C_W$  bezeichnet werden, die Reaktionsgeschwindigkeit der Esterbildung für ein homogenes System:

$$\frac{dx}{dt} = k_1 C_A \cdot C_S - k_2 C_E \cdot C_W \quad (\text{S. } 108),$$

welche Gleichung, da Alkohol und Wasser in Überschuß vorhanden waren und ihre Konzentrationen folglich als konstant betrachtet und in den Konstanten  $k_1$  und  $k_2$  mit einbegriffen werden können, zu folgender Form sich vereinfacht

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

Beim Gleichgewicht war also

$$k_1 C_S = k_2 C_E \text{ oder } \frac{C_E}{C_S} = \frac{k_1}{k_2} = K. \quad (\text{S. } 99).$$

Da die ganze vorhandene Säuremenge oder  $C_E + C_S$  bekannt war und außerdem  $C_S$  nach eingetretenem Gleichgewicht bestimmt wurde, konnte  $C_E$  berechnet werden und folglich war  $\frac{k_1}{k_2}$  oder die Gleichgewichtskonstante  $K$  auch bekannt. Es stellte sich heraus, daß das Gleichgewicht dasselbe blieb, gleichgültig ob man von Alkohol + Säure oder von den äquivalenten Mengen Ester + Wasser ausging. Ferner war das Gleichgewicht von der Vorgeschichte sowie von der Menge des Enzyms unabhängig.

<sup>1)</sup> Journ. Pharm. Chim. 1912 und 1913; auch in Compt. rend.

<sup>2)</sup> Biochem. Zeitschr. **52**, 409, 423 (1913).

<sup>3)</sup> Amer. chem. Journ. **24**, 491 (1900).

<sup>4)</sup> Compt. rend. **132**, 212 (1901).

<sup>5)</sup> Compt. rend. **136**, 1152; **138**, 378 (1903); Ann. Inst. Past. **20**, 901 (1906).

<sup>6)</sup> Zeitschr. angew. Chem. **24**, 385 (1911).

<sup>7)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. **52**, 279 (1907).

Wenn die Reaktion in einem homogenen Systeme stattfände und wie oben angenommen Wasser und Alkohol in Überschuß vorhanden wären, dann würden die Geschwindigkeitskonstanten  $k_1$  und  $k_2$  sowie auch die Gleichgewichtskonstante  $K$  von den Konzentrationen der reagierenden Stoffe unabhängig sein. Bei den Versuchen von Dietz zeigte es sich indessen, daß sowohl  $k_2$  wie auch  $K$  mit der Konzentration des Esters immer sich änderte. Wenn aber der Berechnung nach der obigen Formel nicht  $C_E$ , sondern  $\sqrt{C_E}$  zugrunde gelegt wurde, konnte eine bessere Übereinstimmung der berechneten  $K$ -Werte erlangt werden. Die in der Reaktion teilnehmende Menge des Esters war folglich nicht der Konzentration der in der Lösung vorhandenen Estermenge proportional, sondern der Quadratwurzel aus der Konzentration. Da nun die Reaktion auf der Enzymphase stattfand, ist der erwähnte Befund nach Dietz so zu erklären, daß die durch das Enzym aufgenommene Estermenge der Quadratwurzel aus der Esterkonzentration in der Lösung proportional war. Es wäre demnach, wenn  $C_{\text{Lösung}}$  und  $C_{\text{Enzym}}$  die Konzentration des Esters in der Lösung und auf dem Enzym bedeuten,

oder

$$C_{\text{Enzym}} = \sqrt{C_{\text{Lösung}}}$$

$$C^2_{\text{Enzym}} = k \cdot C_{\text{Lösung}},$$

welche Gleichung die Verteilung bei einem Adsorptionsprozeß angibt (S. 71). In diesem Falle wird folglich das Substrat von der Enzymphase adsorbiert. Während also die Geschwindigkeit der Esterspaltung der Quadratwurzel aus der Esterkonzentration proportional verlief, war die der Esterbildung der Konzentration der Säure sowie der des Enzyms proportional.

Nach dem oben (S. 104) Gesagten muß das Gleichgewicht bei einer umkehrbaren Reaktion von der Natur und Menge des Katalysators unabhängig sein, vorausgesetzt, daß der Katalysator nicht im Gleichgewicht teilnimmt. Diese Unabhängigkeit der Gleichgewichtslage von dem Katalysator war bei Dietz's Versuchen nur insofern vorhanden, als das Gleichgewicht von der Vorgeschichte und Menge des Enzyms unabhängig sich erwies; aber mit Säuren (z. B. Pikrinsäure) als Katalysator wurde ein anderes Gleichgewicht erhalten als mit dem Pankreasenzym, und zwar derselbe mit Säure nach der Esterseite hin verschoben. Dies ist vorderhand nicht zu erklären.

Zu den enzymatischen Estersynthesen ist auch die zuerst von Harden und Young beobachtete Bildung von Kohlehydratphosphorsäureester in gärenden Zuckerlösungen zu rechnen (S. 131). Sowohl die im Preßsaft vorhandenen wie auch zugesetzte Phosphate werden in solche Form übergeführt, daß dieselben nicht mit Magnesiamixtur fällbar sind. Nach Euler und Kullberg kommt das hierbei wirksame Enzym in Zuckerlösungen nach kurzem Vergären mit Trockenhefe und Filtrieren vor. Diese Enzymlösung soll die Spaltung des Esters nicht bewirken können<sup>1)</sup>.

A. Danilewski soll zuerst beobachtet haben, daß konzentrierte Lösungen peptischer Spaltungsprodukte von Proteinstoffen unter dem Einfluß von Lab eine unlösliche Substanz abscheiden. Das Phänomen ist seitdem von verschiedenen Forschern beobachtet worden und der Niederschlag ist von Sawjalow<sup>2)</sup> Plastein, von Lawrow<sup>3)</sup> Koagulose genannt worden. Die Plasteinbildung

<sup>1)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. **74**, 15 (1911).

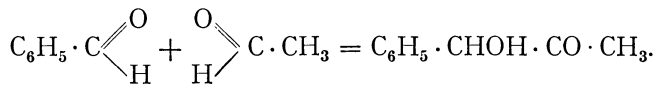
<sup>2)</sup> Ebenda **54**, 119 (1907).

<sup>3)</sup> Ebenda **51**, 1; **53**, 1 (1907); **56**, 343 (1908); **60**, 520 (1909).

wird auch mit anderen proteolytischen Enzymen erhalten <sup>1)</sup>. Die Plasteine sind von verschiedenen Forschern als synthetisch gebildetes Eiweiß betrachtet worden. Die besten Beweise für eine solche Ansicht sind von Henriques und Gjaldbäk geliefert worden. Dieselben wiesen mit der Formoltitrierungsmethode nach, daß der formoltitrierbare Stickstoff bei der Reaktion abnimmt; ferner fanden sie, daß der mit Gerbsäure fällbare Stickstoff bei der Plasteinbildung vermehrt wird. In einer späteren Arbeit teilen dieselben Autoren mit, daß peptische Spaltungsprodukte des Eiweißes unter dem Einfluß von Pepsin-Salzsäure in konzentrierter Lösung Plasteinbildung zeigen, in verdünnter dagegen weiter gespalten werden, aus welchem Befunde sie folgern, daß der Prozeß reversibel verläuft. Sogar Eiweiß, das durch Säure oder Alkali zum Teil aufgespalten ist, soll mit Pepsin-Salzsäure Plasteinbildung zeigen <sup>2)</sup>.

Unter den enzymatischen Synthesen soll auch die von Ascoli und Izar nachgewiesene Harnsäurebildung in der Leber bei Abwesenheit von Sauerstoff Erwähnung finden <sup>3)</sup>. Dasselbe geschieht auch im mit CO<sub>2</sub> gesättigten Blute, wenn dasselbe durch die Leber geleitet wird <sup>4)</sup>. Als Material für die Harnsäurebildung können Dialursäure + Harnstoff dienen <sup>5)</sup>, sowie bei den Vögeln Ammoniumkarbonat + Harnstoff <sup>6)</sup>. Preti behauptet, daß die Synthese durch ein im Serum vorhandenes Enzym bewirkt wird <sup>6)</sup>, und Izar fand ferner, daß außer dem im Blute vorhandenen thermolabilen Enzym auch ein in der Leber zu findendes alkohollösliches und thermostabiles sog. Co-Enzym notwendig ist <sup>7)</sup>. In der Gegenwart von Sauerstoff findet in der Leber eine Zerstörung von Harnsäure statt <sup>8)</sup>.

Nach dem oben Gesagten sind durch Enzyme vermittelte synthetische Prozesse wohl bekannt. Ob dies in der Weise zu deuten ist, daß die enzymatischen Spaltungen unter geänderten Konzentrationsverhältnissen rückläufig werden können und also dasselbe Enzym spaltend oder synthetisch wirken kann, oder ob die Synthese durch besondere Enzyme vermittelt wird, die Frage dürfte wohl in verschiedenen Fällen verschieden zu beantworten sein. Indessen kennt man spaltende Enzyme, die nach den bisherigen Erfahrungen nicht synthetisch wirken können, z. B. die Saccharase. Neuerdings ist es Neuberg und Mitarbeitern gelungen, in Hefe ein Enzym nachzuweisen, das den bei der Alkoholgärung gebildeten Azetaldehyd mit zugesetztem Benzaldehyd zu 1-Phenyl-Azetyl-Carbinol zu verbinden imstande ist nach der Formel



Das Enzym vermag die synthetisch gebildete Verbindung nicht zu spalten und der Prozeß ist also nicht resersibel <sup>9)</sup>. Das bei dieser Synthese wirksame Enzym wird Carbolignase genannt. Es ist insofern von besonderem Interesse, als es zwei Kohlenstoffatome miteinander verkettet. In den vorher

<sup>1)</sup> Kurajeff: Hofmeisters Beiträge **4**, 476 (1904); Nürnberg: Ebenda **4**, 543 (1904).

<sup>2)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. **71**, 485 (1911); **81**, 439 (1912).

<sup>3)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. **58**, 529 (1909).

<sup>4)</sup> Ebenda **62**, 229 (1909).

<sup>5)</sup> Ebenda **62**, 347.

<sup>6)</sup> Ebenda **62**, 354 (1909).

<sup>7)</sup> Ebenda **73**, 317 (1911).

<sup>8)</sup> Ebenda **58**, 529 (1909).

<sup>9)</sup> Biochem. Zeitschr. **115**, 282; **121**, 311 (1921); **127**, 327; **128**, 608, 610 (1922).

beobachteten enzymatischen Synthesen handelt es sich nämlich um eine Bindung von C an O oder an N.

## Hemmung der Enzymwirkung.

Viele Substanzen erzeugen, wenn sie Enzymlösungen zugesetzt werden, eine Verminderung der vom Enzym herbeigeführten Wirkung. Hierbei ist zu beachten, daß die Art der hemmenden Wirkung sehr von dem angewandten Substrate abhängen kann, was wohl am meisten bei den proteolytischen Enzymen zu berücksichtigen sein dürfte.

Zunächst ist zu erwähnen, daß viele Forscher nachgewiesen haben, daß Salze schwerer Metalle die Enzymwirkung beeinträchtigen, was wohl an der Bildung einer Verbindung zwischen dem Enzymkomplex und dem Metall liegen dürfte. Der Inaktivierungsprozeß ist in dem Sinne umkehrbar, daß das Enzym nicht zerstört, sondern auf Zugabe von Stoffen, welche diese Verbindung zerlegen (z. B. in gewissen Fällen  $H_2S$ ) wieder aktiv wird. Am eingehendsten scheint die Einwirkung von Hg- und Ag-Salzen auf Saccharase untersucht worden zu sein, und zwar von Euler und Svanberg <sup>1)</sup>.

Die Salze der Alkalien und alkalischen Erden können auch die Enzymwirkung beeinflussen, aber diese Wirkung hat sich bis jetzt keinem allgemeinen Gesichtspunkte unterordnen lassen und diese Salzwirkung kann deshalb hier nur gelegentlich besprochen werden.

Auch verschiedene organische Stoffe sind von Euler und Svanberg in bezug auf ihre Einwirkung untersucht worden, wobei besonders die Wirkung von Anilin auf Saccharase als die Folge der Bildung einer reversiblen Verbindung zwischen beiden gedeutet wird <sup>2)</sup>.

Säuren und Alkalien in genügenden Konzentrationen zugesetzt zerlegen die Enzyme und letztere können also nicht wieder in Wirksamkeit gerufen werden.

Es wird wohl von den meisten Forschern angenommen, daß die spaltenden Enzyme vor ihrer Wirkung mit dem Substrat sich verbinden und wir haben bereits verschiedene Gründe für eine solche Ansicht angeführt. Wenn diese Ansicht richtig ist, muß jede Substanz, welche die Verbindung zwischen Enzym und Substrat verhindert, auf die Enzymwirkung hemmend einwirken und in der Weise wurden auch die eben besprochenen Hemmungen gedeutet. Aus diesem Grunde ergeben auch gewisse Stoffe, welche die Enzyme adsorbieren, eine Hemmung. Bei der Adsorption entsteht eine Verbindung zwischen dem Adsorbens und dem Enzym, welcher Prozeß wohl immer in dem Sinne nicht umkehrbar ist, daß das Enzym nicht mit Wasser ausgewaschen werden kann. Ob eine Hemmung zustande kommt, dürfte daran liegen, ob das zugesetzte Substrat das Enzym frei setzen kann oder nicht. Wird das Enzym durch das Substrat in genügender Menge frei gemacht, braucht keine Hemmung einzutreten. Bleibt das Enzym auch nach Zugabe des Substrates an der festen Substanz haften, so tritt Hemmung ein. Es läßt sich wohl auch der Fall denken, daß sowohl das Enzym wie das Substrat an die feste Substanz adsorbiert werden, in welchem Falle ihre Verbindung und somit die Enzymwirkung begünstigt werden könnte (S. 137). Die Versuche von Hedin über die Adsorption

<sup>1)</sup> Fermentforschung 3, 330 (1920).

<sup>2)</sup> Fermentforschung 4, 29 (1920). Vgl. auch U. Olsson: Zeitschr. physiol. Chem. 126, 29 (1922).



von Trypsin und von Lab durch Kohle sind bereits an gehöriger Stelle erwähnt worden (S. 121 ff.). Es erübrigt hier den Zusammenhang zwischen der Adsorption und der Hemmung etwas ausführlicher zu besprechen. Die Trypsinversuche wurden mit Kasein als Substrat und die Labversuche mit Milch als Substrat ausgeführt. Zunächst ist der Grad der Hemmung von der Reihenfolge abhängig, in welchem Enzym, Adsorbens und Substrat vermischt werden. Werden Enzym und Adsorbens zunächst vermischt und das Substrat darauf zugegeben, so wird die Hemmung ausgiebiger als bei anderer Reihenfolge des Mischens. Dies liegt daran, daß das Kasein nur sehr wenig von dem bereits adsorbierten Enzym frei setzen kann, aber wenn es zuerst adsorbiert wird, der nachfolgenden Adsorption von Enzym entgegenwirkt. Da die Adsorption mit der Zeit, während welcher und mit der Temperatur, bei welcher die Mischung von Enzym und Adsorbens vor der Zugabe des Substrates gehalten wird, zunimmt, so folgt dasselbe auch in bezug auf die Hemmung. Für den Fall, daß Adsorbens und Enzym zunächst vermischt werden, können die Versuche über die Hemmung in zweierlei Weise ausgeführt werden: entweder wird die Kohle zusammen mit dem adsorbierten Enzym vor dem Zusatz des Substrates entfernt oder dieselbe bleibt auch während der Wirkung des Enzymes zugegen. Im ersteren Falle wird mindestens bei der Anwendung gewisser Substrate eine kräftigere Hemmung erhalten als im letzteren. Dies liegt daran, daß im letzteren Falle das Substrat einen Teil des adsorbierten Enzymes aktiviert, und zwar in der Weise, daß das Substrat selbst durch das Adsorbens aufgenommen wird. Dies ergibt sich aus der Tatsache, daß bereits mit dem Substrat gesättigte Kohle ohne Einfluß ist auf den enzymatischen Prozeß. Auch andere Substanzen, welche durch Kohle adsorbiert werden, können deren Hemmungswirkung verhindern oder bereits adsorbiertes Enzym wieder zum geringen Teil in Freiheit setzen (Jahnsen-Blohm). Aus diesem Grunde muß das bei solchen Versuchen verwendete Trypsin so frei wie irgend möglich von Eiweiß sein. Der Einfluß von Zeit und Temperatur auf die Adsorption von Kalbslab durch Kohle geht aus folgendem Versuch hervor. Die Gerinnungszeiten sind den freigebliebenen Labmengen umgekehrt proportional (Enzym-Zeitgesetz S. 150).

		Kohle + Lablösung gehalten bei	
		16°	37°
Nach	5 Minuten waren die Gerinnungszeiten	9 Minuten	11½ Minuten
„ 10	„ „ „ „	9½ „	15 „
„ 15	„ „ „ „	10 „	15 „
„ 20	„ „ „ „	10½ „	15 „
„ 25	„ „ „ „	10½ „	15 „
„ 30	„ „ „ „	10½ „	15 „

Die Gerinnungszeiten wurden alle bei 37° bestimmt. Ohne die Gegenwart von Kohle gerann die Milch in 8½ Minuten.

Daß Kohle, welche durch Adsorption mit säurebehandeltem Serum (das sein Hemmungsvermögen verloren hat, S. 165) gesättigt ist, nicht mehr die Labwirkung hemmt, ist aus folgendem Versuch zu ersehen:

	Gerinnungszeiten
Lab ohne Kohle . . . . .	22 Minuten
„ mit Kohle, gesättigt mit Serum . . . . .	23½ „
„ „ „ nicht behandelt mit Serum . . . . .	106 „

Schließlich sei in bezug auf die Hemmung der Enzymwirkung durch Adsorption des Enzymes an feste Pulver bemerkt, daß dieselbe unabhängig ist von

der Menge Wasser, welche während der Adsorption zugegen ist, wenn nur die Mischung Adsorbens-Enzym vor der Zugabe des Substrates solange aufbewahrt wird, daß das Maximum von Adsorption erreicht worden ist.

Außer durch feste Pulver verschiedener Art werden die Enzyme auch durch gewisse organische Substanzen, welche wahrscheinlich in kolloider Lösung sich befinden, in ihrer Wirkung mehr oder weniger gehemmt. In dieser Weise wird die Wirkung gewisser Enzyme durch normales Serum beeinflusst. So weit die experimentelle Erfahrung reicht, geschieht die Hemmung der Einwirkung von Trypsin auf Kasein durch normales Serum in der gleichen Weise wie durch feste Pulver. Nur ist die experimentelle Prüfung der Hemmung durch Serum aus dem Grunde erschwert, weil in diesem Falle die hemmende Substanz nicht aus der Lösung unter Zurücklassung des freien Enzyms sich entfernen läßt. Das Reihenfolgephänomen sowie der Einfluß von Zeit und Temperatur ist in den beiden Fällen von Hemmung gleich. Die Bedeutung der Zeit und Temperatur geht aus folgendem Versuch von Hedin hervor, der mit Trypsin und Serumalbumin als hemmender Stoff ausgeführt wurde. Die Mischung von Trypsin + Serumalbumin wurde einerseits bei 20°, andererseits bei 37° verschiedene Zeiten vor dem Zugeben des Kaseins gehalten, worauf die wirksame Enzymmenge nach Digestion von Kasein bei 37°, Fällung mit Gerbsäure und Bestimmung des nicht fällbaren Stickstoffes ermittelt wurde<sup>1)</sup>.

Ohne Serumalbumin entsprach die nicht fällbare Stickstoffmenge 15,65 ccm 0,1 ccm Normalsäure.

	20°	37°
Nach 15 Minuten entsprach die N-Menge . . . . .	9,05 ccm	6,04 ccm
„ 30 „ „ „ „ . . . . .	8,75 „	5,75 „
„ 1 Stunde „ „ „ „ . . . . .	8,40 „	5,15 „
„ 1½ Stunden „ „ „ „ . . . . .	8,10 „	4,8 „
„ 2 „ „ „ „ . . . . .	8,05 „	4,8 „
„ 2½ „ „ „ „ . . . . .	8,00 „	4,6 „
„ 3 „ „ „ „ . . . . .	8,00 „	4,65 „

Trotz der Bedeutung von Zeit und Temperatur ist die Menge Wasser, welche während der Einwirkung des hemmenden Stoffes auf das Enzym zugegen ist, ohne Einfluß auf die Hemmung, wenn nur die Mischung solange aufbewahrt wird, daß die maximale Hemmung erreicht ist. Dies wurde von Hedin sowohl für die Hemmung des Trypsins durch Serumalbumin wie für die Hemmung des Labs durch Serum gefunden<sup>2)</sup>. Besonders dieser Befund deutet darauf hin, daß die Reaktion, welche die Hemmung mit sich bringt, in einer Phase stattfindet, welche nicht in dem Wasser aufgelöst ist. Diese Phase ist wahrscheinlich eine Verbindung zwischen der hemmenden Substanz und dem Enzym, in der gleichen Weise wie bei der Hemmung durch Kohle, diese mit dem Enzym eine ungelöste Phase bildet. In der gleichen Weise wie die Kohle kann das Serumalbumin als hemmende Substanz des Trypsins derart mit Trypsin gesättigt werden, daß von einer neuen zugegebenen Menge nichts mehr aufgenommen wird, oder daß keine weitere Hemmung stattfindet. Außerdem ist aber die Verbindung zwischen hemmender Substanz und Enzym auch von anderen anwesenden Stoffen abhängig. Das oben besprochene Reihenfolgephänomen zeigt, daß das Substrat in gewissen Fällen die Hemmung beeinträchtigen kann. Möglicherweise ist das Substrat in solchen Fällen imstande, etwas Enzym

<sup>1)</sup> Journ. Physiol. **32**, 392 (1905).

<sup>2)</sup> Biochem. Journ. **1**, 474 (1906); Zeitschr. physiol. Chem. **60**, 364 (1909).

aus der Verbindung mit der hemmenden Substanz frei zu setzen. In der Weise wäre es vielleicht zu erklären, daß es unmöglich ist, auch mit einem Überschuß von Serumalbumin die Trypsindigestion des Kaseins völlig zu verhindern <sup>1)</sup>).

Dieses Freiwerden von Enzym unter dem Einfluß des Substrates stellt sich wahrscheinlich bei der Anwendung von verschiedenen Substraten verschieden. Die Verteilung des Trypsins strebt einer gewissen Gleichgewichtslage zu und es ist folglich von ausschlaggebender Bedeutung, wie rasch diese Lage erreicht wird. Mit Kasein als Substrat nimmt das Erreichen des Gleichgewichts eine Zeit in Anspruch, welche im Vergleich mit der für die Aufspaltung des Kaseins gebrauchten Zeit gar nicht vernachlässigt werden kann und deshalb tritt hier das Reihenfolgephänomen sehr deutlich hervor. Bei der Anwendung von anderen, langsamer spaltbaren Substraten kann das Gleichgewicht vielleicht rascher erreicht werden oder jedenfalls in einer Zeit, die im Vergleich mit der für die Aufspaltung nötigen keine Rolle spielt und in solchen Fällen wird vielleicht das Reihenfolgephänomen nicht nachweisbar. In der Weise wird es erklärlich, daß R. G. Hussey und G. H. Northrop mit Gelatine als Substrat das Reihenfolgephänomen vermißten <sup>2)</sup>).

Hussey und Northrop sind der Ansicht, daß die Bindung des Trypsins durch folgende Formel geregelt wird:

$$(\text{Freies Trypsin}) \times (\text{Freier Hemmungskörper}) = K (\text{Verbindung Trypsin-Hemmungskörper}).$$

Die Verbindung Trypsin-Hemmungskörper wäre völlig reversibel nach dem Massenwirkungsgesetz. Das „freie Trypsin“ in der obigen Formel soll dagegen in nicht reversibler Verbindung völlig an dem Substrat gebunden sein, und zwar unabhängig von der Natur des Substrates.

Im wesentlichen wie die Trypsinwirkung auf Kasein durch Serumalbumin gehemmt wird, wird auch die koagulierende Wirkung, welche Kalbslab auf Kuhmilch ausübt, durch normales Serum (besonders Pferdeserum) und durch Eierklar beeinträchtigt (Hedin) <sup>3)</sup>.

Daß normales Serum die Trypsinwirkung hemmt, ist seit lange bekannt. Über diejenige Fraktion des Serums, welche als Träger der Trypsinhemmung anzusehen ist, gehen die Ansichten auseinander. Glaeßner fand die Hemmung für Pferdeblut im Euglobulin <sup>4)</sup>, während Landsteiner dieselbe in der Albuminfraktion fand <sup>5)</sup>. Hedin beobachtete im Euglobulin des Rindserums ein proteolytisches Enzym, das wie Trypsin durch die Albuminfraktion in seiner Wirksamkeit gehemmt wurde <sup>6)</sup>. Von der chemischen Art der hemmenden Substanzen weiß man ebensowenig wie von der der Enzyme. Einerseits könnte man sich vorstellen, daß das Hemmungsvermögen an der physikalischen Beschaffenheit gewisser nativen Eiweißkörper läge; andererseits ließe sich wohl auch denken, daß die hemmende Substanz von den Eiweißkörpern unabhängig wäre und nur gewissen Fraktionen derselben anhaftete. So behaupten G. W. Gobling und W. F. Petersen, daß die Hemmung durch Seifen von ungesättigten Fettsäuren und ungesättigte Lipoide zustande kommt und sie gründen diese Ansicht wesentlich auf die Tatsache, daß die Hemmung durch Extraktion des Serums mit

<sup>1)</sup> Hedin: *Biochem. Journ.* **1**, 474 (1906).

<sup>2)</sup> *Journ. gen. Physiol.* **5**, 335 (1922).

<sup>3)</sup> *Zeitschr. physiol. Chem.* **60**, 85, 364; **63**, 143 (1909).

<sup>4)</sup> Hofmeisters Beiträge **4**, 79 (1904).

<sup>5)</sup> *Zentralbl. Bakt.* **27**, 357 (1900).

<sup>6)</sup> *Journ. Physiol.* **30**, 195 (1903); **32**, 390 (1905); *Biochem. Journ.* **1**, 474 (1906).

Äther oder Chloroform beseitigt wird; dazu soll die Hemmung in direktem Verhältnis zu der Jodzahl der Fettsäuren stehen<sup>1)</sup>.

Beim genügenden Erhitzen geht in den meisten Fällen das Hemmungsvermögen verloren. Dasselbe geschieht auch in gewissen Fällen durch weniger eingreifende Behandlung. Das native Serumalbumin verliert durch Behandlung mit 0,2%iger Essigsäure bei 37° binnen einiger Stunden das Hemmungsvermögen (vgl. doch S. 166 ff.), wie aus folgendem Versuch von Hedin zu ersehen ist:

	Tryptische Wirkung
Trypsin ohne Serumalbumin . . . . .	35,95
„ mit nativem Serumalbumin . . . . .	1,98
„ mit Serumalbumin, behandelt 8 Stunden bei 37° mit 0,2% Essigsäure und neutralisiert	35,45

Wird aber die Behandlung mit Essigsäure vorgenommen, nachdem das Serumalbumin auf Trypsin eingewirkt und wahrscheinlich mit dem Trypsin in irgendwelcher Weise sich verbunden hat, so geht das Hemmungsvermögen nicht verloren. Das Trypsin gewinnt nämlich bei dieser Behandlung sein Wirkungsvermögen nicht wieder<sup>2)</sup>.

In ähnlicher Weise verhält sich diejenige Substanz des normalen Serums, welche in neutraler Lösung die Labwirkung hemmt. Wird nämlich das neutralisierte und verdünnte Serum mit 0,2% HCl eine genügende Zeit behandelt, so verliert das Serum sein Hemmungsvermögen und dies geschieht auch, nachdem die hemmende Substanz mit Lab sich verbunden hat. Infolgedessen gewinnt Lab, das bereits mit Serum inaktiv geworden ist, durch Behandlung mit HCl sein gerinnungserregendes Vermögen zum größten Teil wieder. Die besprochenen Verhältnisse sind aus folgenden zwei Versuchen zu ersehen:

## I.

	Gerinnungszeiten
Lab ohne Serum . . . . .	9 Minuten
„ mit Serum, behandelt mit HCl und neutralisiert . . . . .	10 „
„ mit Serum, nicht behandelt mit HCl . . . . .	135 „

## II.

Lab ohne Serum . . . . .	13 Minuten
Lab-Serum-Gemisch, nicht behandelt mit HCl . . . . .	mehr als 6 Stunden
Lab-Serum-Gemisch, behandelt mit HCl und neutralisiert . . . . .	21½ Minuten

Natives und neutralisiertes Eierklar hemmt auch die Wirkung des Kalbslaba und dieses Hemmungsvermögen verschwindet ebenfalls beim Behandeln mit Säure. Bereits durch Eierklar neutralisiertes Lab gewinnt bei Säurebehandlung das gerinnungserregende Vermögen vollkommen wieder [Hedin<sup>3)</sup>].

Die eben angeführten Fälle, wo bereits neutralisiertes oder an der hemmenden Substanz gebundenes Enzym wieder wirksam und frei gemacht werden kann, beweisen, daß es in diesen Fällen von Enzymhemmung nicht um eine etwaige Zerstörung von Enzym sich handeln kann. Die Tatsache, daß durch Serumalbumin neutralisiertes Trypsin nicht wieder in wirksamer Form erhalten wurde, beweist offenbar nicht, daß das Enzym zerlegt worden ist, sondern kann in der Weise erklärt werden, daß die Verbindung zwischen Enzym und hemmender Substanz eine größere Festigkeit besitzt als die zwischen Lab und hemmenden

<sup>1)</sup> Journ. exp. med. **19**, 459 (1914).

<sup>2)</sup> Biochem. Journ. **1**, 479 (1906).

<sup>3)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. **60**, 85, 364 (1909).

Stoffen. Anderweitige Beispiele verschieden fester Bindung sind auch bekannt. So fand Jahnson-Blohm, daß Saponin das Kalbslab aus der Verbindung mit Normalserum verdrängen kann, aber nicht aus der mit Immunserum von Kaninchen <sup>1)</sup>, während nach Beobachtungen von Hedin Salzsäurebehandlung in beiden Fällen Lab frei macht, obwohl vielleicht mit verschiedenener Leichtigkeit <sup>2)</sup>.

Aus angeführten Gründen handelt es sich in den bereits behandelten Fällen von Hemmung der Enzymwirkung um eine relative Verfestigung des Enzyms am Hemmungskörper. Es sind aber verschiedene Fälle von Hemmung bekannt, wo eine solche Verfestigung nicht stattfindet. Solche Fälle sind z. B. die, wo ein Enzym zur selben Zeit auf zwei verschiedene Substrate einwirkt. In solchen Fällen wird die Spaltung des einen Substrates durch die Gegenwart des anderen gehemmt, und zwar aus dem Grunde, weil letzteres einen Teil des vorhandenen Enzyms für sich in Anspruch nimmt. Daß dem so ist, wird besonders für solche Fälle leicht nachweisbar, wo das eine Substrat leichter zerlegbar ist als das andere. Hedin hat einige Fälle solcher Hemmung — welche er als Enzymablenkung bezeichnet — studiert <sup>3)</sup>. Nach dem oben S. 165 Gesagten verliert das native Serumalbumin bei Behandlung mit Essigsäure das Vermögen, die Verdauung des Kaseins zu hemmen. Dies gilt aber nur für den Fall, daß nur geringe Mengen säurebehandeltes Serumalbumin zugesetzt werden. Werden größere Mengen zugesetzt, so besteht auch jetzt eine Hemmung und zugleich wird eine geringe Verdaulichkeit des Serumalbumins nachweisbar, was vor der Säurebehandlung nicht der Fall war. Die nach der Säurebehandlung bestehende Hemmung zeigt nicht mehr das Reihenfolgephänomen und ist folglich nicht mit irgendwelcher Verfestigung des Enzyms am Serumalbumin verbunden. Die in folgende Tabelle eingetragenen Ziffern sind die Kubikzentimeter Säure, welche zum Neutralisieren der aus gleichen Volumina des Gerbsäurefiltrates nach Kjeldahl erhaltenen Ammoniakmenge erforderlich waren. Aus 1 und 2 ist die verschiedene Verdaulichkeit der angewandten Lösungen von Kasein und Serumalbumin zu ersehen. Aus 3 und 4 verglichen mit 1 findet man die durch das Serumalbumin erzeugte Hemmung, welche nach 3 und 4 das Reihenfolgephänomen nicht zeigt.

			Tryptischer Effekt
1.	5 ccm Trypsin + 25 ccm Kasein	+ 25 ccm H <sub>2</sub> O . . . . .	17,1
2.	5 „ „ + 25 „ Serumalb.	+ 25 H <sub>2</sub> O . . . . .	0,5
3.	5 „ „ + 25 Serumalb.	+ 25 Kasein . . . . .	4,3
4.	5 „ „ + 25 Kasein	+ 25 Serumalb. . . . .	4,35

Bei der Säurebehandlung verliert folglich das native Serumalbumin das Vermögen, das Trypsin an sich zu verfestigen. Es liegt in der Natur der Sache, daß die Hemmung, welche ohne Verfestigung des Enzyms am Hemmungskörper zustande kommt, viel schwächer sein muß als die mit Verfestigung. Als Beleg mag folgender Versuch von Hedin angeführt werden, wo die gleichen Kasein- und Trypsinmengen einerseits mit 0,5 ccm mit Essigsäure nicht behandeltem nativem Serumalbumin versetzt wurden, andererseits mit derselben Menge desselben Serumalbumins nach Behandlung mit Essigsäure und Wegdialysieren der Säure. Im ersteren Falle geschah die Hemmung unter

<sup>1)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. **82**, 178 (1912).

<sup>2)</sup> Ebenda **77**, 229 (1912).

<sup>3)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. **52**, 412 (1907).

Verfestigung des Enzyms (2 und 3), im letzteren ohne Verfestigung (siehe obigen Versuch).

				Tryptischer Effekt
1.	15	Trypsin + 50 Kasein	+ 0,5 H <sub>2</sub> O . . . . .	34,5
2.	15	„ + 0,5 nat. Serumalb.	+ 50 Kasein . . . . .	15,1
3.	15	„ + 50 Kasein	+ 0,5 nat. Serumalb. . . . .	23,3
4.	15	„ + 0,5 säurebeh. Serumalb.	+ 50 Kasein . . . . .	34,2

Im letzteren Falle war sogar die Hemmung mit der geringen Menge Serumalbumin nicht deutlich nachweisbar (vgl. 1 und 4).

In der gleichen Weise wie das säurebehandelte Serumalbumin wirkt auch Eierklar auf die tryptische Verdauung des Kaseins ein. Das Eierklar ist nämlich sowohl in nativer wie in erhitzter Form im Vergleich mit Kasein nur sehr schwer durch Trypsin angreifbar. In beiden Formen hemmt es auch die Kaseinverdauung, und zwar ohne daß das Reihenfolgephänomen hervortritt. Dasselbe ist nach Hedin auch der Fall mit gewissen Spaltungsprodukten des Eiweißes, welche durch Trypsin weiter gespalten werden können <sup>1)</sup>. Schließlich sei noch bemerkt, daß Versuche von Henri und Larguier de Barcelas, nach welchen der Umsatz der tryptischen Verdauung einer Mischung von Kasein und Gelatine geringer ist als die Summe des Umsatzes des Kaseins und des Gelatines für sich mit derselben Enzymmenge, auf Enzymablenkung beruhen muß, und das Ergebnis der Versuche wird auch von den Forschern als Beweis für die Bildung einer Verbindung Enzym-Substrat aufgefaßt <sup>2)</sup>.

Daß die Produkte der enzymatischen Tätigkeit die Enzymwirkung hemmend beeinflussen, ist schon längst bekannt. Die Einwirkung derjenigen Spaltungsprodukte, welche weiter gespalten werden (z. B. Albumosen bei der Wirkung der proteolytischen Enzyme), kann, wie eben hervorgehoben wurde, als ein Ablenkungsphänomen gedeutet werden. Schwieriger zu erklären ist die Hemmungswirkung, welche durch gewisse Endprodukte der enzymatischen Spaltung ausgeübt wird.

Daß die Inversion von Rohrzucker durch Invertzucker gehemmt wird, wird von mehreren Seiten behauptet [Henri <sup>3)</sup>, A. J. Brown <sup>4)</sup>, Barendrecht <sup>5)</sup>], und zwar gibt Barendrecht an, daß sowohl Dextrose wie Lävulose hemmend wirken und dann auch Galaktose, welche stärker hemmen soll wie die direkten Spaltungsprodukte des Rohrzuckers.

Von den zwei Formen der Glukose hemmt nach Willstätter und Kuhn die  $\beta$ -Glukose, welche in älteren Traubenzuckerlösungen vorhanden ist, die Invertinwirkung, während die  $\alpha$ -Glukose ohne Einfluß ist <sup>6)</sup>.

H. E. und E. F. Armstrong <sup>7)</sup> fanden, daß Invertin, Maltase und Laktase eben durch diejenigen Zuckerarten in ihrer Wirksamkeit gehemmt werden, welche dabei entstehen. Die Anhäufung von amylytischen Spaltungsprodukten wirkt nach Sh. Lea hemmend auf die Wirkung des Speichels <sup>8)</sup>.

Die hemmende Wirkung von Aminosäuren auf die Zersetzung von Glyzyl-L-Tyrosin durch Hefepreßsaft ist von Abderhalden und Gigon studiert

<sup>1)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. **52**, 421 (1907).

<sup>2)</sup> Compt. rend. soc. biol. **55**, 866 (1903).

<sup>3)</sup> Zeitschr. physik. Chem. **39**, 194 (1901).

<sup>4)</sup> Journ. chem. Soc. **81**, 382 (1902).

<sup>5)</sup> Zeitschr. physik. Chem. **49**, 456 (1904).

<sup>6)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. **127**, 234 (1923).

<sup>7)</sup> Proc. roy. Soc. (ser. B) **79**, 360 (1907).

<sup>8)</sup> Journ. of Physiol. 1911.

worden<sup>1)</sup>. Dabei ergab sich, daß die Spaltung des Peptids durch diejenigen optisch aktiven Aminosäuren, welche in dem Eiweiß vorkommen, gehemmt wird. Dieser Befund ist bemerkenswert in Anbetracht der Beobachtung von Fischer und Abderhalden, daß nur diejenigen Polypeptide durch Pankreassaft gespalten werden, welche aus natürlichen optisch aktiven Aminosäuren bestehen (S. 154). Die Arginasewirkung wird nach E. Groß stark durch Ornithin, das bei der Spaltung des Arginins entsteht, aber nicht durch den andere Spaltungsprodukt, den Harnstoff, gehemmt<sup>2)</sup>.

Schließlich ist zu erwähnen, daß Tammann bei Studien der Spaltung von Amygdalin durch Emulsin den hemmenden Einfluß der drei Endprodukte Benzaldehyd, Zyanwasserstoff und Traubenzucker auf den Prozeß konstatieren konnte<sup>3)</sup>. Besonders in diesem Falle und mit Rücksicht auf die Tatsache, daß das Emulsin synthetisch wirkende Enzyme zu enthalten scheint (S. 156), ist die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß die Hemmung auf synthetischen Prozessen beruhen könnte, welche offenbar nach Zugeben von solchen Produkten, welche das Material für die Synthese abgeben, in größerem Umfang als sonst stattfinden würden. Dieselbe Erklärung könnte vielleicht für die Wirkung der Endprodukte überhaupt herangezogen werden. Auch könnte man an einer Art spezifischer Affinität des Enzyms zu den Endprodukten denken, welche die Bildung einer Verbindung Enzym-Endprodukte mit sich bringen würde.

Indessen gibt es auch Fälle von Hemmung, wo keine dieser Erklärungsweisen zu Hilfe gezogen werden können. Hierher gehören gewisse Hemmungserscheinungen, welche durch andere Stoffe als die Produkte erzeugt werden. Unter solchen Stoffen sind besonders verschiedene Salze zu nennen. Aus den überaus zahlreichen Untersuchungen über die Einwirkung von Salzen auf enzymatische Prozesse sind keine übersichtlichen Schlüsse zu ziehen. Je nach der verschiedenen Natur und der Konzentration des Salzes kann die Einwirkung ungleich ausfallen. Unter den Versuchen, den Einfluß von Salzen sowie von ähnlich wirkenden Stoffen zu erklären, seien die von Michaelis und Mitarbeitern erwähnt. Die Wirkung wird auf folgende Ursachen zurückgeführt:

1. Entweder nimmt der hemmende Stoff infolge chemischer Affinität zum Enzym einen Teil des Enzyms in Beschlag. Beispiele dieser Hemmung sind bei der Maltasewirkung Glukose und LiCl und bei der Invertinwirkung Fruktose.

2. Oder wird die Geschwindigkeit verkleinert, mit welcher die Verbindung Enzym-Substrat unter Spaltung des Substrates gesprengt wird. In dieser Weise soll bei der Maltasewirkung NaCl, NaNO<sub>3</sub> und Glycerin, bei der Invertinwirkung Glycerin und  $\alpha$ -Methylglykoxid hemmen<sup>4)</sup>.

Schließlich muß in bezug auf die Versuche über Enzymhemmung hervor gehoben werden, daß dieselben nur dann als beweisend angesehen werden können, wenn eine Zerlegung von Enzym ausgeschlossen werden kann. Analytisch ist nämlich in den meisten Fällen nicht möglich zu entscheiden, ob eine etwaige Verminderung der Enzymwirkung an Zerstörung von Enzym oder an Hemmung ohne Zerstörung liegt. Besonders in solchen Fällen, wo die enzymatische Reaktion bei alkalischer oder saurer Reaktion vor sich geht, ist die Gefahr der Enzymzerlegung eine naheliegende. Am geringsten dürfte wohl im allgemeinen diese Gefahr bei neutraler Reaktion sein.

1) Zeitschr. physiol. Chem. **53**, 251 (1907).

2) Ebenda **112**, 236 (1921).

3) Ebenda **16**, 271 (1891).

4) Biochem. Zeitschr. **60**, 62, 79 (1914).

Spezifische Hemmung. Unter den oben erwähnten hemmenden Substanzen haben die im lebenden Organismus und besonders die im Plasma oder Serum vorhandenen ein besonderes Interesse erregt, da dieselben möglicherweise für die Lebensprozesse von Bedeutung sein könnten. Indessen scheint es sehr zweifelhaft, ob eine solche Bedeutung wirklich existiert. Wären nämlich die in normalem Blute gefundenen hemmenden Substanzen von irgendwelcher Bedeutung für die Lebensprozesse, so wäre zu erwarten, daß dieselben speziell auf die Hemmung der bei derselben Tierart vorkommenden Enzyme eingerichtet sein sollten. Dem scheint aber nicht so zu sein. Wohl hat Glaeßner das Hemmungsvermögen des normalen Serums dem Trypsin gegenüber für artspezifisch erklärt <sup>1)</sup>, aber diese Erfahrung haben spätere Forscher nicht bestätigen können <sup>2)</sup>. In bezug auf das zuerst nachgewiesene Hemmungsvermögen von Normalserum, nämlich das von Pferdeserum dem Lab gegenüber findet man sogar, daß Pferdelaab kaum gehemmt wird, während die Einwirkung auf das Kalblab sehr ausgesprochen ist; das Kalbserum hemmt verschiedene Labenzyme etwa gleich stark [Hedin] <sup>3)</sup>.

Indessen sind auch Fälle observiert worden, wo die Hemmung nur oder vorzugsweise das arteigene Enzym betrifft und in diesem Sinne spezifisch wirkte. Hierher gehören gewisse von Hedin aus der Magenschleimhaut hergestellte Hemmungskörper des Labenzym <sup>4)</sup> (S. 130). In neutralen Infusionen der Magenschleimhäute von Kalb, Meerschweinchen, Hecht und Schwein wurde unter Innehaltung gewisser Volumenverhältnisse durch Behandlung mit Ammoniak das freie Lab zerlegt und nach Neutralisieren eine hemmende Substanz zum Vorschein gebracht. Die erhaltene Lösung hemmt nämlich die Wirkung zugesetzten Labs. Dabei ist das Reihenfolgephänomen vorhanden und es tritt folglich eine Verfestigung zwischen Enzym und Hemmungskörper ein. Außerdem ist in den erwähnten Fällen die Hemmung artspezifisch. Nur hemmt die aus dem Kalbsmagen erhaltene Lösung außer der Wirkung des Kalbslabs auch, obwohl in geringerem Grade, die des Schafslabs. Dies liegt wahrscheinlich an der Verwandtschaft der beiden Tiergruppen. Als Beleg mag eine Versuchsserie angeführt werden, welche mit hemmender Substanz aus Kalbsmagen und verschiedenen Labenzymen ausgeführt wurde.

		Gerinnungszeiten	
		ohne Hemmungskörper	mit Hemmungskörper
Lab vom	Kalb . . . . .	16 Minuten	79 Minuten
„ „	Schaf . . . . .	15 „	25 „
„ „	Schwein . . . . .	16 „	11 „
„ „	Kaninchen . . . . .	16 „	15 „
„ „	Meerschweinchen . . . . .	15 „	16 „
„ „	Pferd . . . . .	13 „	12 „
„ „	Hecht . . . . .	14 „	13 „

Bei Behandlung mit 0,1—0,2%iger HCl verschwindet das Hemmungsvermögen und die Lösung wirkt nach Neutralisieren labungserregend. Ferner fand Hedin, daß bei der Immunisierung von Kaninchen mit einer neutralen Infusion des Kalbsmagens oder auch mit dem durch Behandlung der Infusion mit Salzsäure erhaltenen Lab eine Substanz im Serum auftritt, welche die

<sup>1)</sup> Hofmeisters Beiträge 4, 79 (1904).

<sup>2)</sup> v. Eisler: Ber. Wien. Akad. Wiss. 114, 119 (1905); K. Meyer: Biochem. Zeitschr. 23, 68 (1909).

<sup>3)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. 77, 229 (1912).

<sup>4)</sup> Ebenda 72, 187; 74, 242 (1911).



Wirkung des Kalbslafs sowie auch die des Schafslafs hemmt, aber auf keines der übrigen untersuchten Labenzyme einwirkt, wie aus folgender Tabelle zu ersehen ist <sup>1)</sup>.

Lab vom Kalb. . . . .	Gerinnungszeiten	
	ohne Immuneserum 11 Minuten	mit Immuneserum > 60 Minuten
„ „ Schaf . . . . .	9 „	18 „
„ „ Schwein . . . . .	9 „	9 „
„ „ Pferd . . . . .	9 „	9 „

Auch hier ist folglich die Hemmung artspezifisch; außerdem ist das Reihenfolgephänomen vorhanden. Bei Behandlung des Serums mit schwacher Salzsäure geht das Hemmungsvermögen verloren.

Das Reihenfolgephänomen ist wahrscheinlich vorhanden bei den meisten durch Immunisierung erhaltenen Hemmungskörpern. Die Immunisierung geschieht dadurch, daß das Enzym wiederholt eingespritzt wird in derselben Weise wie Antisera gegen bakterielle Toxine erzeugt werden (S. 173). Die Hemmungskörper sind im Serum des behandelten Tieres enthalten und werden Antienzyme genannt. Die Wirkung des zuerst in dieser Weise erhaltenen Antienzymes, des Antiemulsins, ist möglicherweise in anderer Weise zu deuten. Morgenroth erzeugte zum ersten Male durch Immunisierung von Ziegen ein Antilab; ein pflanzliches Lab (Cynarase) und tierisches Lab ergaben Immunesera, welche spezifisch nur die Wirkung des bei der Immunisierung angewandten Labs hemmten <sup>2)</sup>. Moro erhielt mit Kalbslab ein Serum, das wohl Kalbslab, aber kaum Menschenlab hemmte <sup>3)</sup>. v. Eisler stellte durch Immunisierung von Gänsen mit Lab, Pepsin und Trypsin von verschiedenen Tierspezies Sera her, welche vorzugsweise die Wirkung des angewandten Enzyms hemmten <sup>4)</sup>. Gegen Fibrinferment erzeugten Bordet und Gengou ein Antiserum, indem sie Meer-schweinchen mit Kaninchenblutserum immunisierten. Das erhaltene Serum hemmte in hohem Grade die Gerinnung von Kaninchenblut, während anderes Blut nur ganz schwach oder gar nicht beeinflußt wurde <sup>5)</sup>. Bertarelli konstatierte die Bildung von Antilipasen nach Immunisierung mit pflanzlichen Lipasen, während die Immunisierung gegen animale Lipasen nicht gelang <sup>6)</sup>. Auch gegen die proteolytischen Enzyme in Bakterienkulturen des *Bacillus prodigiosus* und des *Bacillus pyocyaneus* gelang es Meyer, durch Immunisierung von Kaninchen spezifisch wirkende Antienzyme zu erzeugen <sup>7)</sup>, nachdem bereits vorher v. Dungern nach Infektion mit Staphylokokken ein spezifisch wirkendes Antiserum beobachtet hatte <sup>8)</sup>.

Unter den ziemlich zahlreichen Arbeiten, welche nur auf die Bildung von Antienzymen, aber nicht auf deren artspezifische Wirkungen sich beziehen, seien folgende erwähnt:

Sachs erhielt durch Immunisierung einer Gans ein Antipepsin <sup>9)</sup>. Eine Antilaktase erhielt Schütze durch Immunisierung von Kaninchen und Hühnern <sup>10)</sup>.

<sup>1)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. **77**, 229 (1912).

<sup>2)</sup> Zentralbl. Bakt. Parasitenk. **26**, 349 (1899); **27**, 357 (1900)

<sup>3)</sup> Ebenda **37**, 485 (1904).

<sup>4)</sup> Ber. Wien. Akad. Wiss. **104**, Abt. 3, 119 (1905).

<sup>5)</sup> Ann. inst. Past. **15**, 129 (1901).

<sup>6)</sup> Zentralbl. Bakt. **40**, 231 (1905).

<sup>7)</sup> Biochem. Zeitschr. **32**, 280 (1911).

<sup>8)</sup> Münch. med. Wochenschr. 1898, 1040.

<sup>9)</sup> Fortschr. Med. **20**, 593 (1901).

<sup>10)</sup> Zeitschr. Hyg. **48**, 457 (1904).

Immunisatorische Erzeugung von Antidiastase wurde von Preti sowie von Schütze und Braun für gewisse Fälle gefunden <sup>1)</sup>. Die Hemmung des normalen Serums der Trypsinwirkung gegenüber ist von verschiedenen Forschern durch Injektion von Trypsinpräparaten um ein geringes erhöht worden <sup>2)</sup>. Das normale Serum vermag dagegen nicht die Erepsinwirkung zu beeinflussen [Glaeßner und Stauber<sup>3)</sup>]. Auch konnten Berghell und Schütze nicht durch Immunisierung mit Trypsin dem Serum hemmende Eigenschaften dem Enzym gegenüber, das die Polypeptide des Tyrosins und Leuzins spaltet, verleihen <sup>4)</sup>.

Fassen wir zusammen, was über die Hemmung der Enzymwirkung gesagt worden ist, so ergibt sich, daß die Hemmung in den meisten der erwähnten Fälle auf der Bildung einer Verbindung zwischen Enzym und hemmender Substanz beruht, wodurch die Bildung einer Verbindung zwischen Enzym und Substrat verhindert wird. Daß diese Erklärungsweise die richtige ist, dürfte wohl in solchen Fällen für bewiesen angesehen werden können, wo das sog. Reihenfolgephänomen vorhanden ist. In solchen Fällen wird die Hemmung bis zu einer gewissen Grenze um so ausgiebiger, eine je längere Zeit das Enzym und die hemmende Substanz aufeinander einwirkten und je höher die Temperatur war, bei welcher diese Einwirkung stattfand. Daß das Resultat dieser Einwirkung nicht in einer Zerstörung von Enzym liegt, ist aus dem Grunde wahrscheinlich, weil die Hemmung bei gegebener Temperatur eine gewisse Grenze nicht überschreitet; daß keine Zerstörung stattfindet, kann mindestens für gewisse Fälle dadurch bewiesen werden, daß das Enzym durch zugesetzte Stoffe wieder aktiviert werden kann.

In einigen Fällen, wo das Reihenfolgephänomen nicht vorhanden war, scheint es trotzdem wahrscheinlich, daß die Hemmung durch die Bildung einer Verbindung zwischen Enzym und hemmender Substanz zustande kommt. Es ist z. B. sehr wahrscheinlich, daß ein Substrat durch die Bildung einer Verbindung mit dem Enzym die Einwirkung desselben Enzyms auf ein anderes Substrat beeinträchtigen kann. Die Verbindung Enzym-Substrat ist aber unter Aufspaltung des Substrates zerlegbar und das Enzym wird also nicht an der hemmenden Substanz verfestigt wie in den Fällen mit Reihenfolgephänomen. Deshalb ist auch die Hemmung durch andere Substrate weniger ausgiebig als die Hemmung durch Substanzen, welche das Enzym an sich verfestigen.

Schließlich gibt es Fälle, wo die Bildung einer Verbindung zwischen Enzym und hemmender Substanz nicht für bewiesen und vielleicht auch nicht für wahrscheinlich gehalten werden kann. Hierher gehört die Hemmung durch gewisse Endprodukte der Enzymwirkung und durch gewisse Salze. In einigen Fällen von Hemmung durch die Produkte dürfte die Hemmung nur scheinbar und durch synthetische Prozesse hervorgerufen sein. In anderen könnte vielleicht entweder die Bildung der Enzym-Substrat-Verbindung oder deren Zerlegung unter Aufspaltung des Substrates verlangsamt sein.

Die Natur der Verbindung zwischen hemmender Substanz und Enzym bleibt einstweilen unklar und dürfte vielleicht in verschiedenen Fällen in

<sup>1)</sup> Biochem. Zeitschr. **4**, 6 (1907); Zeitschr. klin. Med. **64** (1907); Zeitschr. exp. Path. und Therap. **6**, 307 (1909).

<sup>2)</sup> Dean: Trans. Path. Soc. **52**, 127 (1902); Jochmann und Kantarowicz: Zeitschr. klin. Med. **66**, 153 (1908); v. Bergmann und Bamberg: Berl. klin. Wochenschr. **45**, 1396 (1908).

<sup>3)</sup> Biochem. Zeitschr. **25**, 204 (1910).

<sup>4)</sup> Zeitschr. Hyg. **50**, 305 (1905).

verschiedener Weise aufzufassen sein. Daß es bei der Hemmung durch feste Pulver um einen physikalischen Prozeß sich handelt, ist wohl nach dem über die Adsorption Gesagten klar. Diese Adsorption unterscheidet sich aber in wichtigen Beziehungen von der Adsorption kristalloider Stoffe, indem dieselbe einerseits von der Menge des anwesenden Wassers unabhängig ist, andererseits mit der Temperatur entschieden zunimmt. Bei den vielen Ähnlichkeiten, welche zwischen fein verteilten festen Stoffen und kolloid gelösten Substanzen bestehen, und mit Rücksicht auf die Analogien, welche zwischen den Hemmungserscheinungen in den beiden Fällen nachgewiesen sind, könnte man geneigt sein, auch die Hemmung durch die kolloiden Stoffe der Sera als einen Adsorptionsprozeß oder allgemeiner ausgedrückt, als eine kolloide Reaktion zu betrachten. Nach dieser Betrachtungsweise würde die Verbindung durch physikalische Kräfte zustande gebracht werden. Unsere gegenwärtige Kenntnis solcher Prozesse reicht aber nicht aus für die Erklärung der besprochenen Verbindungen und besonders nicht für die Erklärung der in mehreren Fällen beobachteten spezifischen Hemmung. Es muß wohl doch zugegeben werden, daß gegenwärtig auch keine andere Theorie für die Erklärung der Spezifität ausreicht. Über diese Frage siehe ferner den Abschnitt über Antigene und Antikörper, sowie besonders Ehrlichs Seitenkettentheorie.

Für die Beurteilung der Frage nach der Natur der Verbindung zwischen Enzym und hemmender Substanz ist es von einiger Bedeutung, die quantitativen Verhältnisse zu kennen, in welchen die beiden reagierenden Substanzen miteinander sich verbinden. Hierbei muß man aber sich erinnern, daß nach dem oben Gesagten die bereits gebildete Verbindung beim Zugeben des Substrates in ihrer Zusammensetzung geändert werden kann. Die analytische Bestimmung der wirksam gebliebenen Enzymmenge entspricht der durch das Substrat modifizierten Zusammensetzung der fraglichen Verbindung. In bezug auf die durch natives Serumalbumin neutralisierte Trypsinmenge fand Hedin mit Kasein als Substrat, daß eine geringe Serumalbuminmenge von einer gegebenen Trypsinmenge verhältnismäßig mehr neutralisiert als eine größere. Von konstanten Proportionen kann folglich keine Rede sein. Eine gegebene Serumalbuminmenge kann mit einem Überschuß an Trypsin derart gesättigt werden, daß neues zugesetztes Trypsin nicht beeinflusst wird <sup>1)</sup>. Das oben (S. 146 ff.) abgehandelte Enzym-Zeitgesetz besagt, daß mit verschiedenen Enzymmengen derselbe Umsatz erhalten wird, wenn die Zeiten den angewandten Enzymmengen umgekehrt proportional variiert werden. Wie S. 147 ff. gezeigt wurde, beweist dies, daß die Enzymwirkung der zugesetzten Enzymmenge proportional ist <sup>2)</sup>. Am einfachsten wird dies so gedeutet, daß das Enzym immer mit Substrat gesättigt ist; wenn das Substrat nicht hierfür genügt, ist das Enzym-Zeitgesetz nicht in Geltung (S. 147 ff.). Wird aber bei Versuchen über das Enzym-Zeitgesetz die gleiche Menge gewisser hemmenden Substanzen den Proben mit verschiedenen Enzymmengen zugegeben, so ist das Gesetz für diese Proben nicht gültig, sondern der Umsatz mit einer geringen Enzymmenge fällt geringer aus als der mit einer größeren. Dies bedeutet offenbar, daß eine geringe Enzymmenge von der hemmenden Substanz verhältnismäßig mehr aufgenommen hat als eine größere Enzymmenge. Als Beleg mag ein Versuch angeführt werden, wo gekochtes und neutrales Serumalbumin einerseits für sich mit verschiedenen Mengen Trypsin verdaut wurde, andererseits, mit einer gegebenen Menge neutrales

<sup>1)</sup> Biochem. Journ. 1, 474 (1906).

<sup>2)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. 57, 468 (1908).

Eierklar versetzt, der gleichen Behandlung ausgesetzt wurde. Die Versuchsergebnisse sind aus folgender Tabelle zu ersehen:

Enzym- menge	Digestionszeit Tage	Umsatz mit Serumalb.	Umsatz mit Serumalb.+Eierklar
15 ccm	1	10,95	8,8
7,5 „	2	10,8	5,0
5 „	3	10,85	2,85

Die gleichen Ergebnisse wurden mit Lab und Milch bzw. Milch + Pferdeserum sowie Milch + Eierklar erhalten <sup>1)</sup>.

Anhang:

## Antigene und Antikörper.

Im Anschluß an die Hemmung der Enzymwirkung sollen auch andere ähnliche Prozesse etwas berührt werden. Unter dem Namen Antigene werden Substanzen zusammengefaßt, welche, Tieren wiederholt eingespritzt, im Organismus die Bildung von Stoffen veranlassen, mit welchen die Antigene in irgendwelcher Weise zu reagieren vermögen. Der Prozeß wird Immunisierung und die gebildeten Stoffe Antikörper oder in gewissen Fällen Immunkörper genannt. Meistens sind diese Substanzen spezifisch in dem Sinne, daß dieselben nur mit dem entsprechenden Antigen reagieren. Die chemische Zusammensetzung der Antigene sowie die der Antikörper ist nicht bekannt; dieselben dürften wohl immer zu den Kolloiden gehören oder zum mindesten mit Kolloiden vergesellschaftet auftreten.

Die Antigene sind entweder in Wasser in kolloider Form lösliche Substanzen oder treten dieselben als Bestandteile von Zellen auf. Zuerst sollen die löslichen Antigene besprochen werden.

Zu diesen gehören in erster Linie gewisse giftige Substanzen tierischen oder vegetabilischen Ursprungs (Toxine), z. B. Schlangengifte, Bakteriengifte, Rizin (aus den Samen von *Ricinus communis*), ferner Enzyme, sowie auch gewisse Eiweißkörper ohne spezielle Wirkungen. Die Reaktion mit den Antikörpern, welche im Blutserum der Tiere enthalten sind, äußert sich bei den Giften durch Aufhebung der Giftwirkung, bei den Enzymen durch Hemmung der Enzymwirkung und bei gewissen Eiweißkörpern durch Bildung eines Niederschlages, der sowohl das Antigen wie die Antikörper enthält. Antikörper von letzterem Typus werden Präzipitine genannt.

Am besten bekannt [durch die bahnbrechenden Untersuchungen von v. Behring <sup>2)</sup>] und am meisten studiert sind diejenigen Antikörper, welche durch Toxine erzeugt werden und welche die Wirkung der Toxine auf den animalen Organismus neutralisieren (Antitoxine). Nach einer älteren Ansicht geschah dies durch irgendwelche Einwirkung des Antitoxins auf die gegen die Toxine empfindlichen Zellen. Nachdem es sich aber herausgestellt hat, daß die Toxine auch *in vitro* durch die Antikörper neutralisiert werden, ist man nunmehr allgemein der Ansicht, daß die Neutralisierung durch die Bildung irgendwelcher Verbindung zwischen dem Toxin und dem Antikörper zustande kommt. Über die Natur dieser Verbindung und über die Weise, in welcher dieselbe gebildet wird, darüber gehen die Ansichten sehr auseinander.

<sup>1)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. **64** 82 (1909).

<sup>2)</sup> Deutsch. med. Wochenschr. 1892; Zeitschr. Hyg. **12** (1892).

Die älteste Theorie, welche sehr zur Kenntnis hierher gehöriger Verhältnisse beigetragen hat, rührt von P. Ehrlich her, dem man die Methode verdankt, eine Toxinmenge durch Einspritzung an Tieren zu messen. Als Einheit wird diejenige Toxinmenge gewählt, welche eben genügt, um ein Meerschweinchen von gegebenem Gewicht in einer gewissen Zeit zu töten. Nach der sog. Seitenkettentheorie von Ehrlich <sup>1)</sup> besitzen die Toxine einerseits eine sog. haptophore Gruppe, mittels welcher das Toxin sich an gewissen Zellen festzuhalten vermag und andererseits eine sog. toxophore Gruppe, durch die das Toxin seine giftige Wirkung ausübt. Die Bildung der Antikörper nach dem Einspritzen der Toxine liegt nach Ehrlich daran, daß diejenigen Zellen, welche durch die Toxine angegriffen werden, mit sog. Rezeptoren ausgerüstet sind, welche für die Haftorgane der Toxine eben passen; die Toxine werden also an den fraglichen Zellen verankert und können erst dann mit Hilfe der toxophoren Gruppe ihre Wirkung anfangen. Durch die Inanspruchnahme der Rezeptoren werden die Zellen zu erneuter Produktion von Rezeptoren gereizt, und zwar werden so viele Rezeptoren hergestellt, daß dieselben abgestoßen werden und frei im Blutplasma erscheinen. Diese im Blute zirkulierenden Rezeptoren sind die Antikörper. Da dieselben imstande sind, das Toxin, unter dessen Einfluß sie gebildet wurden, zu binden, vermögen sie die mit solchen Rezeptoren versehenen Zellen gegen das Toxin zu schützen. Die toxophore Gruppe der Toxine kann beim Aufbewahren allmählich zerstört werden. Ein so verändertes Toxin kann sich fortwährend an Zellrezeptoren verankern und dadurch die Bildung von Antikörpern auslösen, vermag aber keine giftige Wirkung auszuüben. Ein Toxin ohne toxophore Gruppe wird von Ehrlich Toxoid genannt. Aus dem Gesagten folgt auch, daß die Toxoide mit dem Antikörper sich verbinden können.

Beim Neutralisieren eines Toxins entsteht nach Ehrlich eine chemische Verbindung zwischen dem Toxin und dem Antikörper, und zwar wird von dieser Verbindung soviel gebildet, daß entweder das Toxin oder der Antikörper vollständig verbraucht wird. Nun sind aber die Bakteriengifte keine einfachen Körper, sondern Mischungen von mehreren Giften von verschiedener Giftigkeit und verschiedener Avidität zum Antikörper. Meistens werden die giftigsten zuerst neutralisiert, aber es kommt auch vor, daß ein weniger giftiger oder sogar ungiftiger Körper zunächst durch den Antikörper gebunden wird (Protoxoide) oder daß ungiftige Körper parallel mit den eigentlichen Toxinen gebunden werden (Syntoxoide). Etwa nach der Bindung der eigentlichen Toxine gebundene weniger giftige oder ungiftige Stoffe werden Toxone (auch Epitoxoide) genannt. Je nach den relativen Mengen und der Avidität der verschiedenen Bestandteile der Giftlösungen kann der Erfolg der Zugabe einer gegebenen Menge Antikörper ganz verschieden ausfallen.

Der Theorie von Ehrlich gegenüber vertritt Arrhenius die Ansicht, daß die Verbindung zwischen Toxin und Antikörper zwar chemischer Natur ist, aber daß deren Bildung nicht bis zum Verbrauch des einen Komponenten verläuft. Vielmehr stellt sich zwischen einerseits dem freien Toxin und dem freien Antikörper und andererseits der Verbindung von beiden ein Gleichgewicht ein, wie es das Massenwirkungsgesetz verlangt, nach der Formel

$$C_{\text{Toxin}} \cdot C_{\text{Antikörper}} = K \cdot C_{\text{Toxin} + \text{Antikörper}}^n \quad (\text{S. 100}).$$

<sup>1)</sup> Siehe z. B. Michaelis: Die Bindungsgesetze von Toxin und Antoxin. Berlin 1905 oder P. Ehrlich: Beiträge zur experimentellen Pathologie und Chemotherapie. Leipzig 1909.

Die Giftwirkung, welche Mischungen aus Toxin und Antikörper geben, rührt von denjenigen Toxinmengen her, welche nach obiger Formel immer frei bleiben müssen <sup>1)</sup>. Nach dieser Theorie ist also das Toxin ein einheitliches Gift; indessen nimmt Arrhenius nunmehr mit Ehrlich an, daß das Gift langsam in eine ungiftige oder weniger giftige Substanz sich verwandelt, die dasselbe Bindungsvermögen für Antitoxin hat wie das Toxin selbst <sup>2)</sup>.

Sowohl die Theorie von Ehrlich, ebenso wie die von Arrhenius, nehmen also eine chemische Bindung zwischen dem Antigen und dem Antikörper an. Nach Ehrlich kann außerdem noch das Substrat (oder die gegen das Antigen empfindlichen Zellen) mit dem Antigen sich verbinden, was mit der Theorie von Arrhenius unvereinbar ist.

Die Verbindung Toxin-Antitoxin entsteht erst allmählich, und zwar wird es nunmehr von allen Seiten angenommen, daß das Toxin durch einen sekundären Prozeß am Antikörper verfestigt wird (Ausnahme: Kobragifte). Die Bildung der Verbindung Toxin-Antitoxin ist also nicht in gewöhnlichem Sinne ein reversibler Prozeß. Dies wird am einfachsten dadurch bewiesen, daß bis zu einer gewissen Grenze um so mehr Toxin neutralisiert wird, eine je längere Zeit verfließt, bevor die freigebliebene Toxinmenge durch Einspritzung an Tieren oder in anderer Weise bestimmt wird <sup>3)</sup>. Aus der Toxin-Antitoxinverbindung ist es in einigen Fällen gelungen, das Toxin wieder in wirksamer Form zu gewinnen, und zwar durch Behandlung mit sehr verdünnter Salzsäure [Morgenroth <sup>4)</sup>]. Vgl. auch S. 165 ff. über das Freiwerden von Lab aus der Verbindung mit normalem Serum und mit Eierklar. Aus der Verbindung von Lab mit Antilab, erhalten durch Immunisierung, konnte Hedin ebenfalls durch Behandlung mit Salzsäure und Neutralisieren das Lab wieder in wirksamer Form erhalten <sup>5)</sup>.

Neuerdings ist eine dritte Betrachtungsweise der Toxin-Antitoxinreaktion hervorgetreten, welche der Tatsache Rechnung trägt, daß die Reaktion in einem heterogenen System sich abspielt. Nach dieser wäre die Reaktion als ein Adsorptionsprozeß zu betrachten und als Stütze für diese Auffassung lassen sich mehrere Beispiele anführen, wo fein verteilte feste Stoffe oder kolloide Substanzen Toxine aufnehmen, und zwar in irreversibler Weise [Nernst <sup>6)</sup>, Biltz <sup>7)</sup>, Landsteiner <sup>8)</sup>].

Mit Rücksicht auf die geformten Antigene sei folgendes bemerkt:

Werden gewisse Zellen, z. B. Blutkörperchen, Bakterien, Spermatozoen Tieren eingespritzt, so werden Antikörper gebildet, welche Immunkörper (auch Ambozeptoren oder Sensibilisatoren) genannt werden. An und für sich sind die Immunkörper unwirksam, bilden aber zusammen mit Komplemente (oder Alexine), welche normal im Serum vorkommen, sog. Zytotoxine, welche die ihre Bildung auslösenden Zellengattungen zu zerstören vermögen. Solche Zytotoxine werden Bakteriolytine, Hämolytine usf. genannt, je nach der Art der angewandten Zellen. Die Immunkörper sind in ihrer Wirkung spezifisch, indem dieselben zusammen mit Komplementen nur

<sup>1)</sup> Zeitschr. physik. Chem. **44**, 7 (1903).

<sup>2)</sup> Immunochemie. Leipzig 1907, 132.

<sup>3)</sup> Martin und Cherry: Proc. roy. soc. 1898, 420.

<sup>4)</sup> Berl. klin. Wochenschr. 1905. Nr. 5; Festschr. z. Eröffnung d. pathol. Instit. Berlin 1906; Virchows Arch. **190**, 371 (1907).

<sup>5)</sup> Zeitschr. physiol. Chem. **77**, 229 (1912).

<sup>6)</sup> Zeitschr. Elektrochem. **10**, 379 (1904).

<sup>7)</sup> Ber. d. chem. Ges. **37**, 3147 (1904); Beitr. exp. Ther. **1**, 30 (1905).

<sup>8)</sup> Koll. Zeitschr. **3**, 221 (1908).

diejenige Zellenart angreifen, auf deren Anregung sie gebildet wurden, und dazu gegen Hitze beständig; die Komplemente können mit verschiedenen Immunkörpern zusammenarbeiten und sind dazu sehr labil, indem dieselben meistens bei 56° in einer halben Stunde zerlegt werden. Andere unter dem Einfluß von eingespritzten Zellen erzeugten Antikörper zeigen dadurch ihre Wirkung, daß die ihre Bildung auslösenden Zellen mit den Antikörpern behandelt zusammenflocken und aneinander kleben. Solche Antikörper werden Agglutinine genannt. Wieder andere, die sog. Opsonine, machen die eingespritzte Zellenart (z. B. Bakterien) für die Phagozyten aufnahmefähig.

In bezug auf die Immunkörper nahm Ehrlich an, daß dieselben einerseits mit der Zellengattung, unter deren Einwirkung sie entstanden sind, sich verbinden und andererseits auch mit dem Komplement. Sie dienen folglich dazu, die Komplemente, welche die eigentliche Wirkung ausüben, an den Zellen zu verfestigen, worauf der Name Ambozeptoren hindeutet. Die Immunkörper entsprechen nach Ehrlich der haptophoren Gruppe bei den Toxinen und die Komplemente der toxophoren. Nach der Ansicht von Bordet wirken die Immunkörper in der Weise auf die Zellen ein, daß letztere gegen die Komplemente empfindlich werden, was in dem Namen Sensibilisatoren zum Ausdruck kommt.

Als der Immunkörper mit dem entsprechenden Antigen sich verbindet, wird nach Ehrlich dessen Affinität zum Komplement in hohem Grade gesteigert. Hierauf beruht eine Methode, ein Antigen oder Ambozeptoren, welche für ein gegebenes Antigen angepaßt sind, nachzuweisen (Methode der Komplementablenkung). Derselben liegt außerdem folgende Überlegung zugrunde:

Wird ein gegebenes Immuneserum auf 56° erhitzt, so wird nach dem oben Gesagten das Komplement zerlegt und das Serum enthält nunmehr von dem ursprünglichen Zytotoxin nur den Immunkörper, welcher aber nach Zugabe von normalem Serum (Komplement) wieder wirksam wird. Wird also ein Antigen, das entsprechende Immuneserum auf 56° erhitzt und normales Serum in passenden Mengen miteinander vermischt, so wird das Komplement gebunden, so daß, wenn nachträglich serumfreie rote Blutkörperchen und eine bestimmte Menge eines durch Immunisieren mit den Blutkörperchen gewonnenen Immuneserums, das ebenfalls durch Erhitzen auf 56° seines Komplements beraubt worden ist, zugesetzt werden, keine Auflösung der roten Blutkörperchen (Hämolyse) stattfindet. Fehlte dagegen im ersten Gemenge entweder das Antigen oder der entsprechende Immunkörper, so wurde das Komplement nicht gebunden und es tritt nachträglich Hämolyse ein, weil das Komplement mit den zugesetzten hämolytischen Ambozeptoren sich verbinden kann.

## Fünftes Kapitel.

# Ionen- und Salzwirkung.

Wir haben schon verschiedene Prozesse erwähnt, welche auf den Einfluß von Ionen zurückzuführen waren. Hierher gehören z. B. die Ausfällung von Suspensionskolloiden durch Elektrolyte sowie auch verschiedene katalytische Prozesse. Daß es sich in dem letzteren Falle um Ionenwirkung handelt, wurde dadurch bewiesen, daß der Geschwindigkeitskoeffizient der Konzentration einer bestimmten Ionengattung proportional sich erwies. Indessen hat es sich gezeigt, daß der Geschwindigkeitskoeffizient z. B. bei der Inversion des Rohrzuckers durch Säure nur beim Gebrauch von verdünnten Säuren der Konzentration der H-Ionen proportional ist. Bei größeren Konzentrationen treten Störungen ein, welche der Einwirkung der negativen Ionen der Säuren zugeschrieben werden. In ähnlicher Weise können katalytische Prozesse durch zugesetzte Salze beeinflusst werden (Salzwirkung S. 102, 107).

Die Enzymwirkung hat in gewissen Fällen der Enzymmenge proportional sich erwiesen. Einen Zusammenhang zwischen Ionenwirkung und Enzymwirkung hat Euler durch die Annahme herzustellen versucht, daß die Enzyme eine Vermehrung derjenigen Ionen veranlassen, welche auch ohne die Gegenwart des Enzyms die Reaktion herbeizuführen vermögen <sup>1)</sup>. Andererseits nahm J. Loeb an, daß auch die Enzyme elektrisch dissoziiert werden und daß ihre Wirkung an deren Gehalt an Ionen liegt. So ist z. B. das Pepsin eine schwache Base, welche mit zugesetzter Salzsäure ein Salz bildet, das stärker dissoziiert ist als die freie Base, in der gleichen Weise wie die Ammoniumsalze stärker dissoziiert sind als das entsprechende Ammoniumhydrat; folglich wird die Wirkung des Pepsins durch Säure gesteigert <sup>2)</sup>. Nach Michaelis und seinen Mitarbeitern können auch andere Enzymwirkungen in ähnlicher Weise erklärt werden (S. 136).

Viele enzymatische Prozesse werden durch die Gegenwart von Salzen der Alkalien oder alkalischen Erden beeinflusst. So ist nach Beobachtungen von Bierri, Giaja und Henri sowie von Preti <sup>3)</sup> lange dialysierter Pankreassaft fast ohne Einfluß auf Stärke, wird aber durch Zugabe von NaCl oder anderen Salzen wieder wirksam. Nach Wohlgemuth kann die diastatische Kraft des Speichels durch Zusatz von NaCl um das Zehnfache gesteigert werden <sup>4)</sup>. Das Wirksame ist in beiden Fällen das Anion (vgl. S. 130 über Co-Enzyme). Bemerkenswert ist auch die stark hemmende Wirkung, welche NaFl auf die

<sup>1)</sup> Zeitschr. physik. Chem. **36**, 641 (1901).

<sup>2)</sup> Biochem. Zeitschr. **19**, 534 (1909).

<sup>3)</sup> Compt. rend. soc. biol. **60**, 479 (1906); **62**, 432 (1907); Biochem. Zeitschr. **4**, 1 (1907); **40**, 357 (1912).

<sup>4)</sup> Ebenda **9**, 1 (1908).



enzymatische Spaltung von Estern ausübt [Loevenhart und Peirce, Amberg und Loevenhart<sup>1)</sup>].

Auch andere Wirkungen von Salzen werden auf Ionenwirkungen zurückgeführt. Hierher gehören die Versuche von Dreser, nach welchen Quecksilbersalze, welche verhältnismäßig stark dissoziiert sind, auf organische Gebilde (Hefe, Froschherz) giftig wirken, während das Kaliumquecksilberhyposulfit fast ungiftig ist. Da das letztere Salz sehr wenig freie H-Ionen enthält, wird die Giftwirkung im ersteren Falle den Ionen zugeschrieben<sup>2)</sup>. Zu ähnlichen Resultaten gelangten Paul und Krönig, welche die Giftigkeit von Quecksilbersalzen für Sporen untersuchten. Dieselben fanden z. B., daß  $K_2Cy_4Hg$ , das kaum Hg-Ionen enthält, weit weniger giftig ist als eine äquivalente Lösung von  $HgCy_2$ <sup>3)</sup>. Ähnliche Verhältnisse wurden von Maillard mit Kupfersalzen nachgewiesen<sup>4)</sup>.

Es ist hauptsächlich das Verdienst Liebig's, den Nachweis geführt zu haben, daß die Mineralstoffe für die normale Zusammensetzung der Organe und Gewebe wie auch für den normalen Verlauf der Lebensvorgänge ebenso notwendig sind wie die organischen Körperbestandteile. Diese Bedeutung der Mineralbestandteile erhellt schon daraus, daß es kein tierisches Gewebe und keine tierische Flüssigkeit gibt, in welchen nicht Mineralstoffe enthalten sind, und ferner daraus, daß gewisse Gewebe und Gewebelemente regelmäßig vorwiegend gewisse und nicht andere Mineralstoffe enthalten. Diese Verteilung ist bezüglich der Alkaliverbindungen im allgemeinen derart, daß die Natriumverbindungen vorzugsweise in den Säften, die Kaliumverbindungen dagegen hauptsächlich in den Formelementen vorkommen. Dementsprechend enthält die Zelle in der Regel Kalium, hauptsächlich als Phosphat, während sie weniger reich an Natrium und Chlorverbindungen ist. Durch die grundlegenden Versuche von Forster wissen wir, daß anorganische Salze auch als Bestandteile der Nahrung für den tierischen Organismus unentbehrlich sind<sup>5)</sup>.

Wir haben bereits die Bedeutung der Salze für die Herstellung eines für jeden Organismus ziemlich konstanten osmotischen Druckes besprochen. Daß die Bedeutung der Salze nicht zu der Erhaltung des osmotischen Druckes beschränkt ist, geht zur Genüge daraus hervor, daß verschiedene Salzlösungen desselben osmotischen Druckes für die Erhaltung der Funktionsfähigkeit ausgeschnittener Organe nicht gleichwertig sind. Nachdem S. Ringer nachgewiesen hatte, daß verschiedene organische Gebilde am besten funktionsfähig erhalten bleiben in einer Lösung, die zur selben Zeit  $NaCl$ ,  $CaCl_2$  und  $KCl$  enthält<sup>6)</sup>, haben verschiedene Forscher die zweckmäßige Zusammensetzung solcher Lösungen angegeben. Für die Durchströmungsflüssigkeit des Säugetierherzens gibt Locke folgende Zusammensetzung an: 0,9—1%  $NaCl$ , 0,02—0,024%  $CaCl_2$ , 0,02—0,042%  $KCl$ , 0,01—0,03%  $NaHCO_3$ <sup>7)</sup>. Jedes der Salze  $NaCl$ ,  $CaCl_2$  und  $KCl$  übt für sich eine giftige Wirkung auf die Organe aus; diese Wirkung wird aber durch die Gegenwart der beiden anderen Salze aufgehoben (antagonistische Salzwirkung).

1) Journ. biol. Chem. **2**, 397 (1907).

2) Arch. exp. Pathol. Pharm. **32**, 456 (1893).

3) Zeitschr. physik. Chem. **31**, 411 (1896).

4) Compt. rend. soc. biol. **50**, 1210 (1898).

5) Zeitschr. für Biol. **9**, 297 (1873); **12**, 464 (1877).

6) Journ. Physiol. **6**, 154, 361 (1885); **7**, 118 (1886); **16**, 1; **17**, 23 (1895); **18**, 425 (1896).

7) Zentralbl. Physiol. **14**, 672 (1900).

Diese neutralisierende Wirkung der Salze ist später namentlich von J. Loeb und seinen Mitarbeitern studiert worden. Als allgemeines Resultat hat sich dabei ergeben, daß das für die Erhaltung des Lebens günstigste Mengenverhältnis der drei Salze NaCl, KCl und  $\text{CaCl}_2$  dasselbe ist wie das im Blute vorhandene. Besonders interessant sind die Versuche mit einem Meeresteleostier, *Fundulus heteroclitus*. Dieser Fisch kann merkwürdigerweise auch in destilliertem Wasser leben und ist also innerhalb weiter Grenzen von dem osmotischen Druck des umgebenden Mediums unabhängig. Folglich ist derselbe für das Studium der Giftwirkung von Salzen und Salzmischungen besonders geeignet. Auf diesen Fisch wirkt KCl in Konzentrationen, welche im Seewasser vorhanden sind, giftig, wenn es allein in der Lösung zugegen ist. Dasselbe gilt für NaCl. Dagegen leben die Fische beliebig lange in reinen Lösungen von  $\text{CaCl}_2$  von der Konzentration, in welcher dieses Salz im Seewasser enthalten ist. 1 Mol. KCl kann durch 17 Mol. NaCl ziemlich vollständig entgiftet werden oder durch  $8\frac{1}{2}$  Mol.  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ .  $\frac{1}{2}$  Mol.  $\text{K}_2\text{SO}_4$  ist ebenso giftig wie 1 Mol. KCl. Die Giftigkeit der Kaliumsalze ist folglich an den K-Ionen gebunden und die entgiftende Substanz ist das Na-Ion.  $\text{CaCl}_2$  entgiftet eine KCl-Lösung, wenn bereits  $\frac{1}{30}$  Mol.  $\text{CaCl}_2$  auf 1 Mol. KCl vorhanden ist.  $\text{SrCl}_2$  weist ein fast ebenso großes Entgiftungsvermögen auf wie  $\text{CaCl}_2$ . NaCl in Konzentrationen, in welchen dieses Salz im Seewasser enthalten ist, läßt sich nur unvollständig durch KCl entgiften; erst durch Zugabe von  $\text{CaCl}_2$  läßt sich eine vollständige Entgiftung herbeiführen. Die relative Giftigkeit der Ionen ändert sich wahrscheinlich mit der Konzentration. Die giftige Wirkung von Säuren auf *Fundulus* kann ebenso durch Neutralsalze aufgehoben werden <sup>1)</sup>. *Fundulus* kann an erhöhte Temperaturen sich anpassen; eine erhöhte Temperatur kann aber leichter ertragen werden, wenn die Konzentration des umgebenden Mediums zur selben Zeit erhöht wird. Ebenso kann der Fisch an eine sonst deletäre Konzentration der Umgebung sich anpassen, wenn nur die Erhöhung der Konzentration allmählich geschieht <sup>2)</sup>.

Die befruchteten Eier von *Fundulus* entwickeln sich nach Loeb ebenso gut in salzfreiem Wasser wie in Meereswasser. Bringt man aber die befruchteten Eier in eine NaCl-Lösung von dem osmotischen Drucke des Meereswassers, so sterben dieselben ab; die Giftigkeit der NaCl-Lösung kann aber durch geringe Mengen eines fast beliebigen Salzes mit mehrwertigem Kation aufgehoben werden. Nicht nur die Salze der Erdalkalien, sondern auch die der Schwermetalle (z. B. Zinksulfat oder Bleiazetat) können in passender Konzentration die Giftigkeit der NaCl-Lösung neutralisieren <sup>3)</sup>. Die Eier können also in Lösungen sich entwickeln, welche den fertigen Fisch töten.

Die antagonistische Wirkung von Salzen auf organische Gebilde liegt nach Loeb daran, daß die Salze in passenden Verhältnissen vermischt gleichsam eine „Gerbung“ der Protoplasmaoberfläche der Zellen bewirken, infolge welcher die Zellen für gewisse schädliche Substanzen, zu welchen auch die Salze selbst zu rechnen sind, undurchlässig werden. Die befruchteten Eier von *Fundulus* werden bereits durch NaCl und einen Schwermetallsalz gegerbt, nicht aber die fertigen Fische <sup>4)</sup>. Mehrere Beobachtungen deuten darauf hin,

<sup>1)</sup> Biochem. Zeitschr. **31**, 450; **32**, 155, 308; **33**, 480, 489 (1911); **39**, 167, 194; **43**, 181 (1912).

<sup>2)</sup> Journ. exp. Zool. **12**, 543 (1912); Biochem. Zeitschr. **53**, 391 (1913).

<sup>3)</sup> Pflügers Arch. **88**, 68 (1901).

<sup>4)</sup> Science **34**, 653 (1911).

daß die Eier nach der Befruchtung leichter permeabel sind als vor derselben <sup>1)</sup>.

In bezug auf die Wirkung der K-Ionen ist nach H. Zwaardemaker folgendes zu bemerken:

In zahlreichen lebendigen Systemen läßt sich das Kaliumatom funktionell ersetzen durch alle anderen radioaktiven Elemente, leichte so gut wie schwere, sofern die Dosierungen äquiradioaktiv sind. Das  $\beta$ -Strahlen aussendende Kalium kann also entweder durch das ebenfalls  $\beta$ -Strahlen entsendende Rubidium ersetzt werden oder durch die  $\alpha$ -Strahlen aussendenden Elemente Uran, Thor, kolloides Thor, Radium, kolloidales Ionium, kolloidales Lanthan, kolloidales Cer sowie durch Emanation. Bei gleichzeitiger Applikation sind aber die  $\alpha$ -Strahlen aussendenden und die  $\beta$ -Strahlen aussendenden Substanzen einander antagonistisch. Kalium ist als Träger der physiologischen Radioaktivität für viele Zellen ein Reiz, der die Funktion wiederherstellen und unterhalten kann, wenn das Kalium als freies diffundierbares Ion in der zirkulierenden Flüssigkeit mit der Oberfläche der Zellen in Berührung gebracht wird. Wenn das Kalium vorher aus dem Kreislauf entfernt war, kann freie radioaktive Strahlung an die Stelle des Kaliums treten. Die Größe der Dosis um z. B. ein zum Stillstand gebrachtes Herz wieder zum Schlagen zu bringen, hängt beim Kalium und bei seinen Substituenten von der Jahreszeit ab, indem im Winter mehr gebraucht wird als im Sommer. Für diese Verschiedenheiten sind wahrscheinlich Sensibilisatoren verantwortlich zu machen. Als solche sind neben einigen Anilinfarben, wie Eosin und Fluorescein, Alkaloide und andere Stoffe bekannt. Als Desensibilisatoren werden Kalzium, Strontium und Barium gefunden <sup>2)</sup>.

In diesem Zusammenhange mögen die hochinteressanten Untersuchungen von J. Loeb über künstliche Befruchtung von Eiern von niederen Meerestieren etwas besprochen werden. Nach diesen Versuchen werden nach der Befruchtung der Eier infolge einer Art von Zytolyse winzige Tröpfchen einer kolloiden Substanz an der Oberfläche des Eies gebildet. Diese Tröpfchen nehmen an Volumen zu und fließen zu einer kontinuierlichen Masse zusammen, während ihre Oberfläche zu einer straffen kontinuierlichen Membran — der Befruchtungsmembran — erhärtet. Der Prozeß der Membranbildung ist in der Tat der wesentlichste Schritt bei der Befruchtung. Außer durch Spermatozoen wird die Membranbildung durch verschiedene Eingriffe angeregt. Für manche Eier ist nichts weiteres nötig als die künstliche Hervorrufung des Membranbildungsprozesses, um die Eier zu veranlassen, zu normalen Larven sich zu entwickeln (z. B. Eier von Seesternen und gewissen Würmern). In anderen Fällen, z. B. bei den Eiern der Seeigel *Strongylocentrotus*, ist ein zweiter Eingriff nötig für die Erzielung normaler Larven. Die Hauptzüge der Behandlung solcher Eier sind folgende:

Die Bildung der Befruchtungsmembran kann dadurch erzielt werden, daß die Eier in Seewasser gebracht werden, das mit einer Fettsäure, z. B. Butter-säure, schwach angesäuert ist und nach  $1\frac{1}{2}$ —2 Minuten wieder in normales Seewasser eingelegt werden. Die Membranbildung erfolgt alsdann. Weniger wirksam als die Fettsäuren sind Oxysäuren und besonders die anorganischen

<sup>1)</sup> Lillie: Amer. Journ. of Physiol. **27**, 289 (1911); Mc Clendon: Ebenda **27**, 240; Science **32**, 122, 317; Lyon and Shackell: Ebenda **32**, 249 (1910).

<sup>2)</sup> Journ. of physiol. **53**, 273 (1920); Arch. intern. de physiol. **18**, 282 (1921). Bezüglich Einwände gegen die Zwaardemakersche Theorie s. Journ. of pharmacol. a. exp. therap. **18**, 423 (1922); **21**, 151 (1923).

Säuren. Für die Säurewirkung sind die H-Ionen ohne Belang und die Wirkung ist nach Loeb durch das Eindringen der undissoziierten Moleküle in die Eier bedingt. Parallel mit der Membranbildung setzen chemische Prozesse ein, unter welchen besonders Oxydationen zu bemerken sind. Diese Prozesse führen, wenn dieselben ungestört verlaufen, besonders bei 15° und darüber, rasch den Tod der Eier herbei. Dies kann aber dadurch verhindert werden, daß man 40—60 Minuten nach der Membranbildung die Oxydationsprozesse entweder durch Entziehung des Sauerstoffes oder durch Zugabe von etwas Zyankalium hemmt. Hierbei werden wahrscheinlich gewisse für das Ei schädliche Substanzen zerstört. Werden so behandelte Eier nach 2—3 Stunden in normales Seewasser zurückgebracht, so entwickeln sie sich in normaler Weise.

Die Membranbildung kann auch durch andere Agentien als Säuren hervorgerufen werden, z. B. durch Behandlung der Eier mit Saponin, Solanin, Digitalin, Seifen und fettlösenden Stoffen, wie Amylen, Benzol, Toluol, Chloroform, Äther, Alkohol. Das Seeigelei wird auch durch das Serum gewisser Tiere zur Membranbildung veranlaßt. Alkalien und Temperaturerhöhung können auch Membranbildung hervorrufen.

Andererseits können die chemischen Prozesse, welche, wenn sie ungestört verlaufen, den Tod des Eies herbeiführen, auch dadurch gehemmt werden, daß man die Eier etwa eine Stunde nach der künstlichen Membranbildung in eine hypertonsche Lösung überträgt (z. B. 50 ccm Seewasser und 8 ccm norm. NaCl) und sie nach 20—50 Minuten in normales Seewasser zurückbringt.

Nach Loeb beruht also die künstliche Befruchtung der Seeigeleier auf zwei besonderen Eingriffen, von welchen der erste durch Zytolyse die Membranbildung mit Oxydationsprozessen herbeiführt, während der zweite den letzteren Prozessen die für die Erhaltung des Lebens erforderliche Richtung geben.

Die nicht befruchteten reifen Eier gehen, wie Untersuchungen von Loeb an Seeigeleiern zeigten, bei genügend hoher Temperatur in 4—6 Stunden zugrunde. Der Tod des Eies kann indessen dadurch verhindert werden, daß man dem Ei den Sauerstoff entzieht oder die Oxydation durch Zusatz einer Spur von Zyankalium hemmt. Wird aber das reife Ei durch Spermatozoen befruchtet, so bleibt es ebenfalls am Leben, obwohl der Befruchtungsprozeß, wie Warburg fand<sup>1)</sup>, eine erhebliche Steigerung der Oxydation herbeiführt. Deshalb glaubt Loeb, daß die Spermatozoen das Leben des Eies dadurch retten, daß dieselben außer einem membranbildenden Stoffe noch andere Stoffe mit ins Ei bringen, welche einen schädlichen Stoff oder Bedingungskomplex des unbefruchteten Eies beseitigt oder unschädlich machen, so daß nunmehr selbst die gesteigerte Oxydation keinen Schaden mehr anrichten kann<sup>2)</sup>.

Die Reaktion einer Lösung. Die Reaktion, bei welcher ein chemischer Verlauf stattfindet, spielt in vielen Fällen eine wichtige Rolle. Da andererseits die saure oder alkalische Reaktion einer Lösung an deren Gehalt an H- bzw. OH-Ionen liegt, so ist es von Bedeutung, die Konzentration der genannten Ionengattungen bestimmen zu können. Diese läßt sich besonders in der Gegenwart von organischen Salzen nicht durch Titration mit Alkali bzw. Säure ermitteln. Bei dieser Titration wird nämlich das in der Lösung bestehende

<sup>1)</sup> Zeitschr. für physiol. Chem. **57**, 1; **60**, 443; **66**, 305 (1910).

<sup>2)</sup> Zusammenfassende Übersicht der Untersuchungen von Loeb und seinen Mitarbeitern mit Literatur findet man in Loeb's Vorlesungen über die Dynamik der Lebenserscheinungen. Leipzig 1906, 239. Über den chemischen Charakter des Befruchtungsvorganges. Leipzig 1908. Zeitschr. für physik. Chem. **70**, 220 (1910); Arch. für Entwicklungsmech. **31**, 658 (1910).

Gleichgewicht gestört und es finden folglich auch andere Umsetzungen statt als die Neutralisation der H- bzw. OH-Ionen. Die verbrauchte Menge an Alkali bzw. Säure entspricht folglich nicht der ursprünglichen Konzentration der H- bzw. OH-Ionen.

Nach dem Massenwirkungsgesetze besteht zwischen den bei der Dissoziation des Wassers gebildeten Ionen H und OH einerseits und der Konzentration der nicht dissoziierten Moleküle andererseits folgende Gleichung:

$$C_H \cdot C_{OH} = K_1 \cdot C_{H_2O},$$

wo  $C_H$ ,  $C_{OH}$ , die Konzentrationen der H- und OH-Ionen  $C_{H_2O}$  die der nicht dissoziierten Wassermoleküle und  $K_1$  eine Konstante bedeuten. Da  $C_{H_2O}$  in nur einigermaßen verdünnten Lösungen als konstant zu betrachten ist, so haben wir

$$C_H \cdot C_{OH} = K,$$

wo K die Dissoziationskonstante des Wassers genannt wird. Da K eine konstante Größe ist, läßt sich folglich die eine von den Zahlen  $C_H$  und  $C_{OH}$  berechnen, wenn die andere bekannt ist. Da  $C_H$  gewöhnlich bequemer als  $C_{OH}$  sich bestimmen läßt, wird  $C_H$  gewöhnlich auch für alkalisch reagierende Lösungen bestimmt. Umfassende Untersuchungen über diesen Gegenstand sind von Sørensen ausgeführt worden <sup>1)</sup>. Derselbe findet für K bei 18° den Wert  $10^{-14,14}$ .  $C_H$  wird in zweierlei Weise bestimmt. Die bessere Methode, die elektromotorische, gründet sich auf die von Nernst entwickelte Theorie für die elektromotorische Kraft der Gasketten <sup>2)</sup>. Wird nämlich ein mit Platinschwarz beladenes Platinblech in eine wäßrige Lösung getaucht und diese mit Wasserstoff gesättigt, so entsteht zwischen dem Platin und der Lösung eine elektrische Potentialdifferenz, deren Größe gesetzmäßig von der Konzentration der Wasserstoffionen in der Lösung abhängt. Auf diese Theorie und die Ausführung der Messung der Potentialdifferenz soll hier nicht des Näheren eingegangen werden <sup>3)</sup>. Wird die Konzentration der Wasserstoffionen  $C_H$  in Grammionen pro Liter durch die Zahl  $10^{-p}$  ausgedrückt, so wird nach dem Vorschlag von Sørensen der Name Wasserstoffionenexponent und die Bezeichnung  $p_H$  für den numerischen Wert des Exponenten dieser Potenz benutzt. Das Verhältnis zwischen  $p_H$  und der elektromotorischen Kraft  $\pi$  an der Berührung zwischen dem Platin und der Lösung läßt sich graphisch durch eine Gerade ausdrücken, infolgedessen, wenn  $\pi$  bekannt ist,  $p_H$  sehr leicht gefunden werden kann (die Exponentiallinie).

Die andere Methode, deren Sørensen für die Bestimmung von  $C_H$  sich bedient, ist eine kolorimetrische und beruht auf Anwendung von Indikatoren. Es werden nach vielen Prüfungen 20 Indikatoren empfohlen, von denen aber den einzelnen ein ganz bestimmtes Anwendungsgebiet zufällt <sup>4)</sup>. Sobald es um mehr als eine qualitative Schätzung sich handelt, müssen die durch die Indikatoren hervorgerufenen Farbnuancen mit den in Lösungen von bekannten Konzentrationen der H-Ionen durch dieselben Indikatoren erzeugten Nuancen verglichen werden. Solche Standardlösungen, welche es erlauben, die Konzentrationen der H-Ionen in beliebiger Weise zu variieren, werden von Sørensen angegeben und der Abhandlung wird eine Kurventafel beigegeben, aus welcher,

<sup>1)</sup> Biochem. Zeitschr. **21**, 131 (1909); auch *Ergebn. d. Physiol.* Bd. 11.

<sup>2)</sup> Zeitschr. für physik. Chemie **4**, 129 (1889); s. auch Nernst: *Theoretische Chemie*.

<sup>3)</sup> Die Literatur bezüglich der Bestimmung findet man in der zitierten Arbeit von Sørensen, 151. Die ganze Bestimmung wird von Michaelis in *Wasserstoffionenkonzentration* beschrieben.

<sup>4)</sup> Sørensen: *Enzymstudien*. Biochem. Zeitschr. **21**, 253 (1909).

wenn die Zusammensetzung einer Standardlösung bekannt ist, der entsprechende Wert von  $p_H$  abgelesen werden kann. Die Ziffer  $p_H$  ist für die Standardlösungen mit Hilfe der elektrometrischen Methode bestimmt. Die Standardlösungen sind so gewählt, daß dieselben als natürliche Schutzwehr gegen zu schroffe Änderungen von  $p_H$  dienen (sog. Puffer <sup>1)</sup>). Siehe auch S. 63.

Neue geeignete Indikatoren sind sowohl von Sørensen und S. Palitzsch <sup>2)</sup> wie von H. A. Lubbs und W. M. Clark <sup>3)</sup> vorgeschlagen worden. Michaelis hat auch eine Methode angegeben, um die Bestimmung ohne Gebrauch von Puffern auszuführen <sup>4)</sup>.

Wie oben gesagt, ist nach Sørensen die Dissoziationskonstante des Wassers =  $10^{-14,14}$  bei  $18^{\circ}$  oder  $C_H \cdot C_{OH} = 10^{-14,14}$ . Bei neutraler Reaktion ist  $C_H = C_{OH}$  und folglich  $C_H = 10^{-7,07}$  oder  $p_H = 7,07$ . Geringere Werte für  $p_H$  entsprechen saurer und größere alkalischer Reaktion.

Für elektrometrische Reaktionsbestimmungen kohlenensäurehaltiger Flüssigkeiten hat Hasselbalch eine Abänderung der Sørensenschen Methodik vorgeschlagen <sup>5)</sup>. Mit Hilfe derselben haben Hasselbalch und Lundsgaard Messungen über die Reaktion des Blutes ausgeführt <sup>6)</sup>. Aus denselben geht hervor, daß bei einer Temperatur von  $38,5^{\circ}$ , wo der Wert  $p_H = 6,78$  der neutralen Reaktion entspricht, für definiertes Ochsenblut die Zahl  $p_H = 7,36$  erhalten wird und die Reaktion folglich schwach alkalisch ist. Der Einfluß der respiratorischen Schwankungen der  $CO_2$ -Spannung auf die H-Ionenkonzentration des Blutes ist von meßbarer Größe. Das Gesamtblut besitzt größere H-Ionenkonzentration als das Serum bei gleicher  $CO$ -Spannung, aber kleiner als die Blutkörperchen. Für Menschenblut, mit  $CO_2$  unter 40 mm Spannung bei  $38^{\circ}$  gesättigt, fand Lundsgaard  $p_H = 7,19$  <sup>7)</sup>. Als Mittelwert des normalen Venenblutes des Menschen fanden Michaelis und Davidoff  $p_H = 7,35$  für  $37,5^{\circ}$  <sup>8)</sup>.

<sup>1)</sup> Ebenda S. 167. Die Kurventafel ist auch gesondert im Verlag von F. Springer, Berlin, erschienen.

<sup>2)</sup> Biochem. Zeitschr. **24**, 381 (1910).

<sup>3)</sup> Journ. of the Washington Acad. of Sciences **5**, 609 (1915).

<sup>4)</sup> Biochem. Zeitschr. **109**, 165 (1920).

<sup>5)</sup> Ebenda **30**, 317 (1910); **49**, 451 (1913).

<sup>6)</sup> Ebenda **38**, 77 (1911).

<sup>7)</sup> Ebenda **41**, 264 (1912).

<sup>8)</sup> Ebenda **46**, 131 (1912).

# Sachregister.

- Absorption 69, 70.  
Adenase 118.  
Adsorption 69—80, 112—114,  
119—122, 161.  
Agglutinine 170.  
Akkommodationsbreite 39.  
Aktivatoren 130.  
Alexine 175.  
Ambozeptoren 175, 176.  
Amikronen 62.  
Amygdalase 156.  
Amylase 118.  
Anhydrokolloide 48.  
Anionen 10, 32.  
Antagonistische Salzwirkung  
178, 179.  
Antigene 173—176.  
Antikörper 173—176.  
Arginase 118.  
Ausflußzeit 60.  
Ausfrieren 7.  
Autolytische Enzyme 118.  
Avogadrosche Konstante 69.  
Avogadros Gesetz 4.
- Bakteriolysine 175.**  
Blutkörperchen 15—17, 31—33.  
Boyle-Mariottes Gesetz 3, 24,  
51.  
Brownsche Bewegung 68, 69.
- Carbolignase 160.**  
Chemisches Gleichgewicht 98.  
Co-Enzyme 130, 131.
- Denaturiertes Eiweiß 89.**  
Desinfektion 75.  
Dialyse 45, 55, 128.  
Diastase 118.  
Diffusion 1, 53—57, 111, 112,  
127.  
Dispersionsmittel 46.  
Dispersitätsgrad 46.  
Dissoziationsgrad 10, 11.
- Elektrische Leitfähigkeit 11, 18.  
Elektrolytische Dissoziation 10  
bis 12.  
Emulsin 118, 156.  
Emulsionskolloide (Emulsoide)  
48.  
Endotherme Reaktionen 99.  
Enzymablenkung 166.  
Enzyme 115—173.  
Enzym-Zeitgesetz 146—151.  
Erepsin 118.  
Esterasen 118.  
Exotherme Reaktionen 99.  
Extrazelluläre Enzyme 119.
- Färbung 72, 73.  
Farbstoffe 72, 73.  
Fermente 116.  
Ferrozyankupfermembran 2, 3.  
Filtration 57, 58, 128.
- Gallerte 92—96.**  
Gasdruck 3—6.  
Gay-Lussacs Gesetz 3, 5.  
Gefrierpunktsbestimmung 8, 9.  
Gefrierpunkterniedrigung 8, 17,  
18, 20, 21.  
Gel 45.  
Geschwindigkeitskoeffizient 97,  
109, 110.  
Geschwindigkeitskonstante 97.  
Gleichgewicht 99, 110.  
Gleichgewichtskonstante 99.  
Goldzahl 85.  
Grammolekül 4.  
Guanase 118.
- Hämatokrit 15.**  
Hämolysine 175.  
Haftdruck 26.  
Halbdurchlässige Membranen  
1—3.  
Hemmung der Enzymwirkung  
161—173.
- Henrys Absorptionsgesetz 70.  
Heterogene Lösungen 46, 111,  
112.  
Histozytm 118.  
Homogene Lösungen 46.  
Hydratisierung 91.  
Hydrogel 45.  
Hydrokolloide 48.  
Hydrophile Kolloide 48.  
Hydrophobe Kolloide 48.  
Hydrosol 45.  
Hypertonische Lösungen 12.  
Hypotonische Lösungen 12.
- Immunisierung 170, 173—176.**  
Immunkörper 173, 175.  
Innere Reibung 58.  
Intrazelluläre Enzyme 119.  
Invertin 118.  
Ionenwirkung 177—183.  
Isoelektrischer Punkt 65—67.  
Isotonische Koeffizienten 13,  
16, 18.  
Isotonische Lösungen 12.
- Kapillargesetz 27.**  
Katalase 118.  
Katalysator 100—109.  
Katalyse 100—109.  
Katalytische Reaktionen 100  
bis 109, 114.  
Kataphorese 64, 122, 123.  
Kationen 10.  
Knorpelfischen 41.  
Koagulose 159.  
Kolloide 45—94.  
Komplementablenkung 176.  
Komplemente 175.  
Kristalloide 45.  
Künstliche Befruchtung 180  
bis 181.
- Lab 118, 130, 150, 165, 169, 170.**  
Laktase 118.

- Leukozyten 33.  
 Lipasen 118.  
 Lipaide 25.  
 Lymphagoga 40.  
 Lyophile Kolloide 48.  
 Lyophobe Kolloide 48.
- Maltase 118.  
 Massenwirkungsgesetz 97, 151.  
 Membranen, tierische 41.  
 Mol 4.  
 Molekulare Leitfähigkeit 11.  
 Molekulargewicht 9.
- Narkotika 26.  
 Nukleasen 118.
- Oberflächenspannung 26—30,  
 60, 61, 78.  
 Oponine 170.  
 Osmometer 50.  
 Osmotischer Druck 1—44.  
 Oxynitrilase 157.  
 Oxynitrilase 157.
- Parenterale Zufuhr 133, 134.  
 Pepsin 118.  
 Peptidasen 118.  
 Pflanzenzellen 12—14.
- Plasmolyse 12—14.  
 Plastein 159.  
 Polypeptide 49.  
 Präzipitine 173.  
 Proenzyme 129.  
 Proteasen 118.  
 Prunase 156.  
 Ptyalin 118.  
 Pufferlösungen 64, 183.
- Quellung 93.
- Radium 127.  
 Reaktionsgeschwindigkeit 97.  
 Reaktionslehre 97—114.  
 Reversible Reaktionen 98, 155  
 bis 161.  
 Rezeptoren 174.  
 Röntgenstrahlen 127.
- Saccharase 118.  
 Salzwirkung 177—183.  
 Schützche Regel 152.  
 Seitenkettentheorie 174.  
 Sekretin 133.  
 Selachiern 41.  
 Semipermeable Membranen 1.  
 Sensibilisatoren 175, 176.  
 Siedepunktserhöhung 7.  
 Spezifische Hemmung 172.  
 Spezifische Wirkung 153—155.
- Spirogyrazellen 12.  
 Stalagmometer 29.  
 Steighöhemethode 29.  
 Submikronen 62.  
 Substrat der Enzyme 117.  
 Suspensionskolloide 48.
- Toxine 173.  
 Toxoide 174.  
 Trombin 118.  
 Trypsin 118, 121, 130, 147, 162,  
 163, 164, 166, 167.  
 Tyndallphänomen 61.
- Ultrafiltration 57.  
 Ultramikroskop 61.  
 Umkehrbare Reaktionen 98,  
 155—161.  
 Urease 118.
- Verdampfung 7.  
 Viskosität 58, 60.
- Wasserstoffionenkoeffizient 182.  
 Wasserstoffionenkonzentration  
 181—183.
- Zymase 116.  
 Zymogene 129.  
 Zytotoxine 175.



## Autorenregister.

- Abderhalden 36, 72, 92, 122, 134, 135, 145, 154, 155, 167, 168.  
Adamson 52.  
Agulhon 126.  
Albarran 39.  
Amberg 178.  
Ames 95.  
Appleyard 70, 72.  
Araki 95.  
Armstrong, E. F. 140, 142, 146, 156, 167.  
Armstrong, H. E. 167.  
Arrhenius 10, 11, 18, 19, 100, 102, 107, 109, 110, 125, 133, 134, 152, 174, 175.  
Artmann 85.  
Ascher, L. 40.  
Ascoli 160.
- Backman, L.** 42.  
Baglioni 42.  
Bainbridge 132.  
Baker 67.  
Bamberg 171.  
Barendrecht 145, 167.  
Batelli 117.  
Bauer 95.  
Bayliss 72, 74, 125, 132, 145, 157.  
Bechhold 52, 55, 57, 58, 75, 85, 95, 129.  
Beckmann 8.  
Behring, v. 173.  
Behring, Fr. 127.  
Bemmelen, van 93.  
Berczeller 61.  
Berghell 171.  
Bergmann, v. 171.  
Bergmann, S. 70.  
Bertarelli 170.  
Berthelot 25, 69.  
Betzel 76.  
Beutner 95.
- Biberstein, H. 135.  
Bierry 122, 128, 130, 131, 132, 177.  
Billitzer 64, 86, 87.  
Biltz, W. 63, 64, 70, 72, 74, 75, 84, 85, 175.  
Blagden 8.  
Blasel, L. 91.  
Bordet 170, 176.  
Bottazzi 37, 38, 41, 43, 61.  
Bourquelot 157.  
Braun 171.  
Bredig 47, 86, 100, 104, 114, 153, 157.  
Breuer 35.  
Briedel, M. 157.  
Brinkmann, R. 44, 58.  
Brocard 132.  
Brown 68.  
Brown, A. G. 140, 142, 167.  
Brunner 112.  
Bubanowić, F. 95.  
Buchner, E. 116.  
Bütschli 93.  
Bugarsky 36, 38.  
Buxton 83, 84.
- Carlson** 132.  
Centanni 130.  
Cherry 175.  
Chick 60.  
Choquard, L. 26.  
Clark, W. M. 183.  
Claudius 10.  
Cohen, E. 6.  
Cohnheim 43, 44.  
Cohnstein 40.  
Collander, R. 24.  
Commelin, J. W. 6.  
Cremer 155.  
Crisis, de 135.  
Crittenden 132.  
Croft-Hill 155.  
Cullen 150.  
Czapek 28.
- Dakin, H. D. 154.  
Dakin, W. J. 42.  
Danilewski, A. 159.  
Dauwe 120.  
Davidoff 183.  
Davidsohn 123, 124, 151.  
Dean 171.  
Dekhuyzen 42.  
Delezenne 127.  
Demoor 35.  
Dernoscheck 75.  
Dienert, F. 133.  
Dietl 113.  
Dietz 158, 159.  
Döblin 23.  
Donnan, F. G. 22, 55, 56, 57, 91.  
Dreser 178.  
Dreyer 127.  
Dubourg 133.  
Duclaux 51, 140.  
Dudley 154.  
Dungern, v. 170.
- Edkins** 133.  
Ege 23, 24, 33.  
Ehrlich, F. 154.  
Ehrlich, P. 75, 76, 174, 175, 176.  
Einstein 50, 59, 68.  
Eisler, v. 169, 170.  
Emmerling 155, 157.  
Engel 152.  
Ephraim 46.  
Euler, v. 54, 70, 125, 131, 133, 143, 144, 152, 159, 161, 177.
- Fajans** 153.  
Falk, E. 122.  
Fischer, E. 49, 153, 154, 156, 157, 168.  
Fischer, M. 95.  
Fiske 153, 157.  
Fittig 18.  
Fodor 92.

- Folkmar, E. O. 134.  
 Forster 178.  
 Frank, B. E. 135.  
 Frank, E. 23.  
 Fraenckel 102.  
 Frédéricq 41, 42.  
 Freudenreich, H. 61.  
 Freundlich 48, 70, 71, 72, 73,  
 74, 75, 77, 78, 81, 82, 87,  
 88.  
 Friedeman 83.  
 Friedländer 59.  
 Fromme 152.  
 Fühner 27.  
 Fürth, O. v. 95, 96.  
 Fuld 150.
- Garrey** 41.  
 Gatin-Grużewska 63, 68.  
 Gaunt 117.  
 Gengou 170.  
 Georgievics 72.  
 Gerhartz 127.  
 Giaja 130, 177.  
 Gibbs 26.  
 Gigon 167.  
 Gjaldbäk 160.  
 Glaessner 120, 164, 169, 171.  
 Glendinning 140.  
 Gobling, G. W. 164.  
 Göthlin 39.  
 Goldschmidt 112.  
 Gordon 81.  
 Grafe 135.  
 Graham 45, 46, 47, 54, 55.  
 Grand 72.  
 Gregory 18.  
 Grijns 19, 21, 30.  
 Groß, E. 168.  
 Gürber 32.  
 Guggenheim 122.  
 Guldberg 97.  
 György, P. 57.
- Hämäläinen** 158.  
 Hamburger, H. J. 14—19,  
 31—34, 38, 40, 44.  
 Hammarsten, O. 150.  
 Handovský 60.  
 Hanriot 158.  
 Hansen, E. Chr. 133.  
 Hanssen 127.  
 Harden, A. 131, 133, 159.  
 Hardy 48, 65, 81, 82, 86, 89  
 bis 92.  
 Hari 135.  
 Harlow 122.  
 Hasselbalch 183.  
 Hirsch, P. 135.
- Hedin, S. G. 14—18, 20—23,  
 30, 32, 36, 119, 121, 122,  
 125, 130, 138, 140, 142, 146,  
 147, 149, 150, 161, 163—167,  
 169, 175.  
 Heidenhain 40.  
 Heilner, E. 135.  
 Helmholtz 64.  
 Henderson, S. J. 95.  
 Hendrix 35.  
 Henri 42, 122, 130, 144, 145,  
 167, 177.  
 Henriques 160.  
 Herzog, R. O. 76, 127.  
 Höber 24, 30, 33, 44, 48, 81,  
 88.  
 Hoff, van't 3, 5, 6, 7, 8, 9, 18,  
 98, 100, 104, 109, 157.  
 Hofmeister, F. 94.  
 Holderer 129.  
 Hollinger 23.  
 Huber 126.  
 Hudson 125, 140, 143, 144,  
 149.  
 Hulet 79.  
 Hussey, R. G. 164.  
 Huppert 152.
- Ishizaka, N. 87.  
 Issajew 143.  
 Ivanoff 131.  
 Izar 160.
- Jacoby, M.** 128.  
 Jahnson-Blom 122, 162, 166.  
 Yamada 126.  
 Jochmann 171.  
 Jodlbauer 126.  
 Johansson, D. 133.  
 Jolivet 72.  
 Jungfleisch 25, 70.
- Kahlenberg** 6.  
 Kantarowicz 171.  
 Kasarnowski 127.  
 Kastle 145, 146, 158.  
 Katzenstein 155.  
 Kirschbaum, P. 58.  
 Knecht 73.  
 Köhler, F. 96.  
 Kölcker 133.  
 Koelichen 103.  
 Köppe 15, 31.  
 Körösy 127.  
 Kövesi 39.  
 Kohlrauch 18.  
 Korányi 37, 38, 39.  
 Kozawa 23.  
 Kraft, F. 48, 53.
- Krönig 178.  
 Kühn 46.  
 Kühne 96.  
 Kümmel, H. 39.  
 Küster 70.  
 Kuhn, R. 136, 137, 151, 167.  
 Kullberg 125, 131, 159.  
 Kumagai 134.  
 Kurajeff 160.
- Lagergren** 113.  
 Lalou 42.  
 Landergren, S. 70.  
 Landsteiner 74, 164, 174.  
 Laqueur, E. 60.  
 Larguier de Barcel 167.  
 Laurin, J. 152.  
 Lawrow 159.  
 Lea, Sh. 167.  
 Lebedew, v. 116, 131.  
 Lenk 96.  
 Levy 128, 129.  
 Liebig 178.  
 Lier 32.  
 Lillie 51, 52, 180.  
 Lindemann 38.  
 Linder 54, 57, 59, 68, 81, 84.  
 Lisbonne 127.  
 Lobry de Bruyn 61.  
 Locke 178.  
 Loeb, J. 31, 52, 67, 91, 94, 95,  
 177, 179, 180, 181.  
 Loeper 39.  
 Loewe 25, 76.  
 Loewenhart 145, 146, 158, 178.  
 Loewenthal 127.  
 London 132.  
 Lóránt, O. 30.  
 Losev 72.  
 Lottermoser, A. 70, 74, 85.  
 Lubbs, H. A. 183.  
 Lundsgaard 183.  
 Lyon 180.  
 Lyttkens 23.
- Madsen, Th.** 125, 150.  
 Magnus 130.  
 Maillard 178.  
 Malfitano 57.  
 Marchand 95.  
 Marcus, E. 74.  
 Martin, C. J. 57, 60, 150,  
 175.  
 Masing 23.  
 Masius 77.  
 Matula 59, 91.  
 Mayer 53.  
 Mc Clendon 180.  
 Meier, Kl. 33.

- Meisenheimer 117.  
 Meltzer 122.  
 Memmesheimer, A. 24.  
 Mendel, L. 132.  
 Meyer, E. v. 85.  
 Meyer, H. 127.  
 Meyer, K. 55, 95, 169, 170.  
 Meyerhof 117.  
 Michaelis, L. 23, 63, 65—67, 73,  
 75, 76, 79, 80, 85, 87—90,  
 92, 120, 123, 124, 125, 136,  
 145, 151, 168, 177, 183.  
 Moore, B. 50, 51, 52.  
 Moore, G. 95.  
 Morawitz 72, 74, 75, 87.  
 Morgenroth 170, 175.  
 Moro 170.  
 Morse, H. N. 3—6.  
 Müller, A. 48, 85.  
 Murachi 95.  
 Myrbäck, K. 70.
- Nägeli 12.  
 Nasse 34.  
 Nast 30.  
 Nathanson 25.  
 Neilson 114.  
 Neisser 83.  
 Nell 95.  
 Nernst 101, 108, 112, 175,  
 182.  
 Neubauer 27, 83.  
 Neuberg 131, 155, 160.  
 Neumann, W. 61, 73.  
 Newburgh 95.  
 Nicloux 143.  
 Nordefeldt, E. 157.  
 Norris 133.  
 Northrop, J. 67, 124, 164.  
 Noyes 111.  
 Nürnberg 160.
- Ober 81.  
 Oker-Blom 22.  
 Olsson, U. 161.  
 Osterhout, W. 31.  
 Ostwald, Wilh. 79, 100, 103,  
 104, 106, 107.  
 Ostwald, Wo. 48, 75, 94.  
 O'Sullivan 125, 140.  
 Overton 14, 21, 24, 25, 26, 28,  
 35, 43.
- Paal 46.  
 Paine 125, 144.  
 Palitsch, S. 124, 183.  
 Palmaer, W. P. 95, 102.  
 Parker 51.
- Pasteur 154.  
 Paul 178.  
 Pauli, Wo., 48, 52, 53, 59, 60,  
 65, 67, 68, 88, 90, 91, 92,  
 94.  
 Pawlow 132, 152.  
 Peirce 178.  
 Peisser 35.  
 Pekelharing 123.  
 Pelet 72.  
 Perrin 48, 50, 69.  
 Petersen, W. F. 164.  
 Petri, Th. 135.  
 Pfeffer 2—6, 51.  
 Philoche 145.  
 Picton 54, 57, 59, 68, 81, 84.  
 Pincussohn 80, 85.  
 Plimmer 132.  
 Porges 83.  
 Poser 72, 75.  
 Pottevin 158.  
 Pregl, F. 135.  
 Preti 160, 171, 177.  
 Pribram, E. 58, 96.  
 Pringsheim 155.
- Quincke 60, 85.  
 Quinton 41, 42.
- Raelmann 62, 89.  
 Rault 7, 8, 10, 18.  
 Reichel 76.  
 Reicher 18, 106.  
 Reid 43, 51.  
 Reiner, R. 76.  
 Renaud 35.  
 Richter 127.  
 Ringer, S. 178.  
 Ringer, W. E. 123, 124, 136.  
 Roaf 50, 52.  
 Robertson 90, 91.  
 Rodier 41.  
 Röhmman 134.  
 Rona 23, 57, 67, 75, 76, 79,  
 80, 89, 90, 123, 134, 143.  
 Rosenthal, F. 135.  
 Rosenthaler 125, 129, 156, 157.  
 Roth 39.  
 Roth-Schultz 39.  
 Rothstein 125.  
 Rubner 23, 117, 119, 135.  
 Ruhland 25, 30.  
 Runnström 42.
- Sachs 170.  
 Sackur, O. 60.  
 Samuely 155.
- Sandgren 23.  
 Santesson 114.  
 Sawjalow 159.  
 Schackell 180.  
 Schaeffer 53, 122, 128.  
 Schittenhelm 155.  
 Schloessing 83.  
 Schmidt 36.  
 Schmidt, G. C. 70, 72, 78.  
 Schmidt-Nielsen, Signe 122,  
 127.  
 Schmidt-Nielsen, Sigvald 122,  
 126, 127.  
 Schönfließ 101, 108.  
 Schröder, v. 42, 74.  
 Schroeff, van der 34.  
 Schütz, E. 152.  
 Schütze 170, 171.  
 Schulze, H. 82, 83.  
 Senter 143, 146.  
 Shackell 180.  
 Shaklee 122.  
 Sieber, N. 127.  
 Siedentopf 61, 63.  
 Sjöqvist, J. 146.  
 Slyke, D. D. van 150.  
 Slyke, L. van 67.  
 Smoluchowsky, v. 50, 68.  
 Sörensen, S. P. L. 52, 67, 123,  
 124, 144, 182, 183.  
 Spiro 54, 84, 94.  
 Spohr 109.  
 Stade 152.  
 Starling 40, 51, 125, 132.  
 Stauber 171.  
 Steiner 74.  
 Stiasny 74.  
 Sticker, A. 122.  
 Stiles, W. 95, 122.  
 Strada 128.  
 Straub, H. 33.  
 Strauß 37.  
 Sturtz 49.  
 Svanberg 161.  
 Svedberg, T. 46, 47, 50, 68, 69.  
 Szent-Györgi, A. v. 58.
- Tahahashi 23.  
 Tamman 168.  
 Tangl 36, 38.  
 Tappeiner 126.  
 Taylor 125, 143.  
 Teague 84.  
 Terroine 53.  
 Tompson 125, 140.  
 Tóth, v. 77.  
 Traube, J. 26, 27, 28, 29, 30,  
 61, 68, 79, 96, 124.  
 Traube, M. 2, 24.

Uhlirz 74.  
Umetsu, K. 90.

Vandavelde 128.  
Vernon 150.  
Vries, de 12, 14, 16—18, 21.

Waage 97.  
Walbum, L. E. 124, 125.  
Waldschmidt-Leitz, E. 130.  
Walker, E. 61, 70, 72.  
Walton 104.

Warburg 117, 181.  
Warder 106, 110.  
Wegelin 58.  
Weinland 132, 134.  
Welter 158.  
Wertheimer, E. 43.  
Whitney 81, 111.  
Wilcox 6.  
Wilhelmy 100, 101.  
Willstätter 120, 123, 130, 136,  
137, 144, 145, 151, 157,  
167.  
Wohlgemuth 131, 132, 155, 177.  
Wolff 61.

Wollmann 51.  
Woudstra 60.

Young 131, 159.

Zeller 126.  
Ziegler 55, 95.  
Zillessen 95.  
Zsigmondy 48, 58, 61, 62, 68,  
85.  
Zuntz 32.  
Zwaardemaker 180.

**Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz, A. G., Würzburg.**

**Mikromethoden zur Blutuntersuchung.** Von Prof. Dr. Ivar Bang in Lund. Vierte und fünfte unveränderte Auflage. Mit 7 Abbildungen. 1922. 3,— Goldmark / 0,70 Dollar

**Chemie der Enzyme.** Von Prof. Dr. Hans Euler, Stockholm.

I. Teil: **Allgemeine Chemie der Enzyme.** Zweite nach schwedischen Vorlesungen vollständig umgearbeitete Auflage. Mit 32 Textabbildungen und 1 Tafel. 1920. 12,— Goldmark / 2,85 Dollar

II. Teil: **Spezielle Chemie der Enzyme.** 1. Abschnitt. Die hydrolysierenden Enzyme der Ester, Kohlenhydrate und Glukoside. Mit 44 Textabbildungen. 1922. 12,— Goldmark / 2,85 Dollar

**Deskriptive Biochemie** mit besonderer Berücksichtigung der chemischen Arbeitsmethoden. Von Prof. Dr. Sigmund Fränkel, Wien. Mit einer Spektraltafel. 1907. 17,— Goldmark / 4,05 Dollar; gebunden 18,60 Goldmark / 4,45 Dollar

**Dynamische Biochemie.** Chemie der Lebensvorgänge von Prof. Dr. Sigmund Fränkel, Wien. 1911. 18,60 Goldmark / 4,45 Dollar; gebunden 20,20 Goldmark / 4,80 Dollar

**Praktischer Leitfaden der qualitativen und quantitativen Harnanalyse** (nebst Analyse des Magensaftes) für Ärzte, Apotheker und Chemiker. Von Prof. Dr. Sigmund Fränkel, Wien. Dritte, umgearbeitete und erweiterte Auflage. Mit 6 Tafeln und 6 Blatt Erklärungen. 1919. Gebunden 4,— Goldmark / 0,95 Dollar

**Die Lehre von den flüssigen Kristallen und ihre Beziehung zu den Problemen der Biologie.** Von Professor O. Lehmann in Karlsruhe. (Sonderdruck aus Ergebnisse der Physiologie von L. Asher und K. Spiro.) Mit 572 Abbildungen im Text. 1918. 10,— Goldmark / 2,40 Dollar

**Festschrift, Olof Hammarsten** zu seinem 65. Geburtstage, den 21. August 1906, gewidmet. Upsala läkare förenings förtämlingar N. F. Bd. Suppl. XXXI. Mit Abbildungen, 1 Bildnis, 9 Tafeln und 3 farbigen Karten. 1906. 15,— Goldmark / 3,55 Dollar

**Die Bedeutung der Hämatoporphyrine in Physiologie und Pathologie** von Dr. Hans Günther, Privatdozent für innere Medizin an der Universität Leipzig. (Sonderabdruck aus Ergebnisse der „Allgemeinen Pathologie und pathologischen Anatomie des Menschen und der Tiere“ von O. Lubarsch und R. Ostertag. XX. Jahrgang. 1. Abt. 1922. 4,— Goldmark / 0,93 Dollar

**Physiologisches Praktikum für Mediziner.** Von Dr. R. F. Fuchs, Professor an der Universität Breslau. Zweite, verbesserte und erweiterte Auflage. Mit 110 Abbildungen. 1912. 8,— Goldmark / 1,90 Dollar