

Neuere Enzymforschungen.

Von HEINRICH LÜERS,
Professor an der Technischen Hochschule München.

(Eingeg. 16.10. 1922.)

Die Vollendung der organisch-chemischen Methoden, die Fortschritte der Biochemie, der physikalischen Chemie und der Kolloidchemie haben vereinten Anteil daran, daß in den letzten Jahren unsere Vorstellungen über das Wesen der Enzyme eine wesentliche Förderung erfahren durften. Seit ihrem Bekanntwerden ist die wichtigste Frage der Enzymforschung immer wieder die nach der Natur dieser rätselhaften Werkzeuge der organischen Welt gewesen. Sind die Enzyme genau definierte, charakteristische Stoffe, bestimmte Verbindungen, oder sind es Systeme mehrerer unter günstigen Bedingungen zusammenwirkender Stoffe, oder sind ihre Wirkungen durch einen besonderen physikalischen Zustand organischer Massenteilchen charakterisiert? Die endgültige Antwort auf diese fundamentalen Fragen kann nur dann eindeutig gefaßt werden, wenn es gelingt, ein Enzym in völlig reinem Zustand darzustellen und es mit den Methoden der organischen Chemie zu analysieren.

Liegen bereits früher Versuche vor, dieses Ziel zu erreichen, so war ihnen infolge der Unzulänglichkeit der gesamten Methodik zumeist nur in bescheidenem Maße Erfolg beschieden. In neuerer Zeit haben H. C. Sherman bei der Reinigung der Amylase und H. v. Euler mit seinen Mitarbeitern insbesondere an der Saccharase erhebliche Fortschritte gemacht. Die derzeitig wertvollsten Arbeiten aber, auf dem organisch-präparativen Wege der Enzyme habhaft zu werden, verdanken wir R. Willstätter und seinen Mitarbeitern Stoll, Racke, Steibelt, Kuhn, Oppenheimer u. a. Der Erfolg Willstätters liegt darin, daß er die Methodik, die sich auf verwandt Gebiete, bei den Chlorophyll- und Anthocyancarbeiten bereits bewährt hatte, auch für die Darstellung der Enzyme übernahm und mit systematischer Konsequenz ans Werk ging: Jeder Schritt der präparativen Arbeit wurde durch gewissenhafte Ausbeute- und Wirksamkeitsbestimmungen auf seine Zweckmäßigkeit geprüft.

Die beiden Enzyme, deren Isolierung Willstätter und seine Mitarbeiter zuerst in Angriff nahmen, waren die Peroxydase und die Saccharase, denn sie zeichnen sich durch einen einfachen, leicht überblickbaren Reaktionsmechanismus aus, so daß für sie von vornherein einfacher gelagerte Verhältnisse anzunehmen waren. Zur Reindarstellung möglichst hochwertiger Enzympräparate mußten die das Enzym hartenäckig verunreinigenden Begleitstoffe, ohne dieses selbst zu schädigen, entfernt werden. Bei der Peroxydasedarstellung ließen sich durch Dialyse des Pflanzenmaterials (Rübe) schon eine Menge Ballaststoffe entfernen, besonders als die Dialyse unter Oxalsäuregegenwart fortgesetzt wurde. Es trat dadurch Fixierung des Enzyms an die Zellkolloide ein, während unter Abbau des Protoplasmas eine neuere Abgabe von Zellstoffen ans Außenwasser erfolgte. Barytwasser zerlegte dann die Adsorptionsverbindung und brachte das Ferment in Lösung. Aus der Lösung geht es mit Begleitstoffen an Aluminiumhydroxyd und wird durch Wasser und Kohlensäure in wesentlich reinerem Zustand eluiert. Die letzte Befreiung von dem Enzym sehr nahestehenden Stoffen gelingt mit Quecksilberchlorid. Die Reinigung ist bis zum Verschwinden der Eiweißreaktionen getrieben worden. Auf aschefreie Substanz bezogen enthält das Präparat 8,5% Stickstoff, 30–36% Pentose, daneben noch einen anderen Zucker, wahrscheinlich von Hexosecharakter. Dem ganzen Anschein nach ist die Peroxydase ein nicht besonders hochmolekulares Glucosid. Ein anfangs als integrierend betrachteter Eisengehalt erwies sich bei weiteren Studien als belanglos.

Mit ganz ähnlicher Methodik gelang es Willstätter und Racke, aus der Hefe ein Saccharasepräparat darzustellen, das die bisher bekannten reinsten Präparate H. v. Eulers noch an Wirksamkeit bedeutend übertraf. Im Verlaufe dieser hochbedeutsamen Arbeit konnten die genannten Autoren eine Reihe neuer Tatsachen auffinden oder solche von bisher allgemeiner Gültigkeit richtigstellen. So ist z. B. die Annahme, daß die Saccharase von der lebenden Zelle an die umgebende Flüssigkeit abgegeben werde, nur insoweit richtig, als es sich dabei um einen sehr geringen Bruchteil des Invertingehaltes der Zelle handelt. Erst bei der Autolyse, dem allgemeinen Abbau des Protoplasmas, wird das in der Zelle an und für sich in ungebundenem Zustand vorhandene Enzym in Lösung gebracht, und zwar erfolgt dieses in-Lösung-bringen des Invertins durch einen enzymatischen Vorgang, der im allgemeinen Protoplasmaabbau unter geeigneten Bedingungen einzeln zu beeinflussen ist. Der Gang der Isolierung geschieht derart, daß nach der Autolyse der Hefezelle mittels Essigester zunächst die Eiweißkörper durch Pepsin abgebaut werden. Diastase führt sodann die Kohlehydrate und mit ihnen das Invertin in Lösung über. Von seinen Begleitstoffen wird es auf dem Wege zahlreicher systematischer Adsorptionen und Elutionen aus den Adsorbaten befreit, wobei experimentelle Hilfsmittel, wie Adsorption in aceton-

haltiger Lösung die Methodik quantitativer zu gestalten vermögen. Die reinsten, höchstwirksamen Saccharasepräparate haben einen Stickstoffgehalt von 4%, 41,7% Kohlenstoff und 7,1% Wasserstoff auf aschefreie Substanz berechnet. Protein ist nicht mehr nachweisbar, Hefegummi kein integrierender Bestandteil. Die Präparate enthielten Phosphor in ziemlich fester organischer Bindung. Nach Euler und Svanberg geht Phosphorgehalt und Inversionstätigkeit parallel, so daß sie die Wirksamkeit des Invertinmoleküls Nucleinsäuregruppen zuschreiben. Demgegenüber konnte Willstätter neuerdings den Phosphorgehalt auf 0,006% herabdrücken und keine Anhaltspunkte für das Vorhandensein von Nucleinsäuregruppen gewinnen.

Bei den Adsorptionsversuchen mit in verschiedenem Reinheitsgrad vorliegenden Enzymen machte Willstätter die wichtige Beobachtung, daß je nach der Reinheit das Enzym an ein und dasselbe Adsorbens z. B. Kaolin oder Aluminiumhydroxyd völlig verschieden adsorbiert und aus der Adsorptionsverbindung eluiert wird. Willstätter nimmt zur Erklärung dieses Verhaltens unter den Begleitstoffen der Enzyme sogenannte Koadsorbentien und Koeluentien an, welche die Adsorption und Elution aus dem Adsorbat bedingen. Die enge Beziehung der Enzyme zu den Begleitstoffen der Zelle geht daraus klar hervor, desgleichen ergibt sich daraus die Notwendigkeit, durch systematische Auswahl der Adsorbentien zu höherem Reinheitsgrad des Enzyms zu gelangen. Ein allgemein geübtes Verfahren, die elektrische Ladung eines Enzyms durch Kataphoresis festzustellen, wird im Licht dieser Erkenntnisse zweifelhaft, denn der Wanderungssinn im elektrischen Felde sagt uns lediglich darüber etwas aus, mit welcher Art von Kolloiden das Enzym in Bindung getreten ist.

Die Arbeiten Willstätters und seiner Mitarbeiter brachten uns auch eine Richtigstellung hinsichtlich der Frage, ob Maltase und Laktase von der autolyzierten Hefezelle abgegeben werden. Im Gegensatz zur bisherigen Ansicht fanden die genannten Autoren, daß die beiden Enzyme quantitativ in Lösung gehen, sofern nur dauernd die während der Autolyse sich bildende Säure neutralisiert wird. Die beiden Enzyme sind gegen Säure sehr empfindlich, durch ihre leichte Zerstörbarkeit unter dem Einfluß der Wasserstoff-Ionen wurde der Anschein ihrer Unlöslichkeit erweckt.

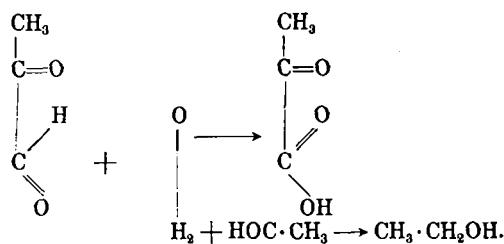
Eine wichtige Frage der Enzymforschung beschäftigt sich mit der Spezifität der Enzymwirkung. Emil Fischer erkannte die große Bedeutung der räumlichen Konfiguration von Enzym und Substrat und wies nachdrücklich auf die gegenseitigen engen Beziehungen hin. In den letzten Jahren wurde der Begriff der Spezifität der Fermentwirkung über die von E. Fischer entwickelten Vorstellungen hinaus noch erweitert. E. Abderhalden und H. Handovski konnten zeigen, daß ein Tetrapeptid z. B. das Glycyl-d-Leucyl-Glycyl-l-Leucin von Hefeprotease nicht gespalten wird, weil lediglich die d-Leucylkomponente eine in der Natur nicht vorkommende Gruppe darstellt. Es genügt in der langen Peptidkette ein fremdes Glied, um den Angriff des Enzyms überhaupt zu verhindern.

Ferner konnten Willstätter und seine Mitarbeiter wahrscheinlich machen, daß eine Reihe von verschiedenen Enzymwirkungen, die E. Fischer ein und demselben Enzym zuschrieb, mehreren speziellen Enzymen zukommen müssen, da sich eine Inkonstanz der Quotienten Zeitwert des Enzyms A für verschiedene Ausgangsmaterialien z. B. Zeitwert des Enzyms B für verschiedene Heferassen und verschiedene Enzympräparate nachweisen ließ, während bei Koinzidenz der verschiedenen Fermentwirkungen auf ein einziges Enzym der Quotient hätte logischerweise konstant sein müssen. So ergab sich z. B., daß die Saccharose und die Raffinose, für deren Saccharosekomponente man bisher eine Spaltung durch Saccharase annahm, von zwei voneinander unabhängigen Enzymen angegriffen werden. Invertase und Raffinase sind also nicht identisch. Das gleiche gilt für die bisher ebenfalls als identisch erachtete Maltase und α -Methylglucosidase. Schließlich konnte auf dem gleichen Wege auch die Vielheit des aus bitteren Mandeln hergestellten Emulsins nachgewiesen werden.

Auch für den Zymasekomplex konnten Willstätter, Steibelt und Oppenheimer neue Ansichten entwickeln. Nach den bisherigen Annahmen (E. Fischer) vergären die Hefen Polysaccharide nur dann, wenn sie Enzyme besitzen, welche diese zu den gärfähigen Monosacchariden hydrolyseren. Die genannten Autoren fanden jedoch, daß selbst maltasefreie Hefen Maltose rasch zu vergären vermögen; das gleiche gilt hinsichtlich der Laktosegärung. Die Intensität der Gärung des Disaccharides stimmte nicht mit der seiner enzymatischen Hydrolyse, selbst bei solchen Hefen, die reich an Maltase und Laktase sind, überein. Dies führte die Autoren zur Annahme einer besonderen Laktose- und Maltosezymase, welche die Disaccharide ohne vorangehende Hydrolyse direkt zu vergären vermögen, wenngleich nicht zu leugnen ist, daß jene disaccharidspaltenden Enzyme (Maltase, Laktase) der Gärung unterstützend zu Hilfe kommen. So würde sich auch die interessante Feststellung erklären, daß Brennereihelen, die Maltose ausgezeichnet vergären, trotzdem sehr arm an dem dieses Saccharid spaltenden Enzyme sind. H. v. Euler und K. Josephson ziehen

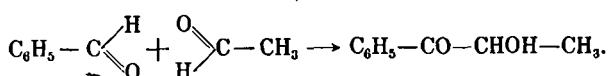
diese von Willstätter vertretene Ansicht einer Vielheit von Zymasen vorerst noch in Zweifel.

Die bisherigen Beobachtungen erstrecken sich im wesentlichen nur auf hydrolysierende Enzyme. Aber auch auf dem Gebiete der Oxydases und Reduktasen, jener Enzyme, die der Energiegewinnung im Organismus dienen, sind in den letzten Jahren ebenfalls neue Erkenntnisse zutage gefördert worden, die wir im wesentlichen H. Wieland verdanken. Wieland konnte an Modellversuchen nachweisen, daß den enzymatischen Reduktions- und Oxydationsvorgängen ein gemeinsamer Prozeß, eine korrelative Oxydoreduktion zugrunde liegt. Die Reduktasen verlieren ihre Sonderstellung, denn je nach dem Substrat, von dem aus man sie betrachtet, wirken sie auch als Oxydases. Das Grundphänomen dieser Reaktionen ist nicht die bisher immer angenommene Aktivierung des Sauerstoffes, sondern nur Aktivierung des Wasserstoffes in der zu oxydierenden Verbindung. Die Oxydation läuft also auf eine Dehydrierung hinaus. Der Sauerstoff dient als Acceptor für den aktivierte Wasserstoff und kann durch andere geeignete Wasserstoffacceptoren z. B. Wasserstoffsuperoxyd perschweifsaure Salze, Methylenblau, Nitrodisulfonsaures Kali usw. ersetzt werden. Wie die interessanten Versuche von Battelli und Stern zeigten, gehen die oxydierenden und reduzierenden Eigenschaften der Gewebe und Organextrakte parallel. Lippchitz und Gottschalk wiesen für die Zellatmung und die Reduktionswirkung nicht nur völlige Parallelität nach, so daß die Reduktionswirkung als Maß der energieliefernden chemischen Zellvorgänge betrachtet werden kann, sondern es wurden beide Prozesse sogar in quantitativer gleicher Weise durch Narkotika beeinflußt. Auch für die anoxybiontischen Zellen konnten die genannten Autoren zeigen, daß im Gärungsvorgang ein Teilprozeß der Atmung und der Gärung sich ähnelt und auf einer intramolekularen Wasserstoffwanderung beruht. Wielands Vorstellungen haben, wie daraus ersichtlich, sich als zutreffend erwiesen. Ein typisches Beispiel von korrelativer Oxydoreduktion ist im Verlauf der alkoholischen Gärung bei der Dismutation des Methylglyoxals zu Brenztraubensäure gegeben (Neuberg). Der bei der Dehydrierung des Methylglyoxals aktivierte Wasserstoff wird von einem Molekül Acetaldehyd als Acceptor gebunden, so daß sich der Vorgang folgendermaßen darstellen läßt:



Während nun in Wielands Modellversuchen Palladium und Tierekohle auch auf fremde Wasserstoffacceptoren und verschiedene zu dehydrierende Substrate eingestellt sind, kommt dem Enzym Katalase eine spezifische Wirkung sowohl hinsichtlich des Dehydranten als auch des Wasserstoffacceptors (Hydrant) zu. Die dehydrierenden (Oxydations-)Fermente scheinen fernerhin auf den Acceptor Sauerstoff nur bis zum Grade seiner halben Aufnahmefähigkeit, die durch das Wasserstoffsuperoxyd gegeben ist, eingestellt zu sein. Das Wasserstoffsuperoxyd kann ihnen nicht mehr weiter als Wasserstoffacceptor dienen. Hier wird nun die Bedeutung der Katalasen, die in letzter Zeit als nebensächlich oder überhaupt nicht als substanziell betrachtet wurden, klar. Sie schaffen neuen Sauerstoff unter gleichzeitiger Zerstörung des für die Zelle giftigen Hydroperoxydes. Damit erklärt sich auch der Befund, daß in allen sauerstoffbedürftigen Lebewesen im Gegensatz zu den Anaerobiern reichlich Katalase nachzuweisen ist.

Das Wesen aller von Enzymen katalysierten Vorgänge liegt in der Lösung oder der Synthese von $-\text{C}-\text{O}$ - oder von $-\text{C}-\text{N}$ -Bindungen. Im Organismus muß dagegen unbedingt auch die Möglichkeit der Aneinanderreihung oder der Spaltung von $-\text{C}-\text{C}$ -Bindungen gegeben sein. Die Spaltung von $-\text{C}-\text{C}$ -Bindungen ist am einfachsten in der Carboxylasewirkung, durch welche Brenztraubensäure in Acetaldehyd und Kohlensäure aufgespalten wird, verwirklicht. In jüngster Zeit gelang es nun Neuberg und Hirsch unter den Enzymen der Hefezelle ein $-\text{C}-\text{C}$ -verknüpfendes Enzym, die Carboligase aufzufinden. Mit Hilfe lebender Hefe, aber auch rein enzymatisch durch Hefepreßsaft konnte aus Benzaldehyd und Acetaldehyd (bei der Hexosegärung sich bildend) ein Ketonalkohol synthetisiert werden.



Eine direkte Aneinanderreihung zweier Kohlenstoffatome haben bereits 1913 Lintner und Liebig mit Hilfe lebender Hefe bei der Bildung des Furyltrimethylenglykols aus Furfurol und Acetaldehyd erhalten. Die Entdeckung der „Carboligase“ hat dadurch theoretisches Interesse, daß für die natürliche Entstehung der Fette aus Kohlehydratkörnchen, ferner für die Synthese komplizierter Proteinbausteine und den Aufbau der Alkaloide, die enzymatische Aneinanderreihung von $-\text{C}-\text{C}$ -Bindungen ein unerlässliches Erfordernis ist.

Neben diesen beachtenswerten Fortschritten der präparativ-analytischen und allgemein erkenntnismäßigen Enzymforschung sind

auch die physikalische Chemie und die Kolloidchemie nicht ohne Erfolg geblieben. Man darf vielmehr mit Fug und Recht behaupten, daß gerade die physikalisch-chemische Forschung die Grundlage einer exakten präparativen Arbeit abgab. Im Gegensatz zur rein willkürlichen bisherigen Definition der enzymatischen Wirkungen (und an diesen allein können wir vorerst die Enzyme messen) ist heute eine exakte physikalisch-chemische Charakterisierung getreten. Statt willkürlicher „Punkte“ stellt heute die Kinetik des vom Enzym katalysierten Prozesses das Maß der Wirksamkeit dar. Insbesondere ist es das Verdienst H. v. Eulers und seiner Schule, dieser exakten Definition allgemeinen Eingang verschafft zu haben. Die Proportionalität von Enzymmenge und Reaktionsgeschwindigkeit ist ein Fundamentalsatz, das immer wieder wenigstens für ein breites Intervall der Enzymkonzentration bewiesen wurde. An Stelle der Reaktionskonstanten kann bei besonders gelagerten Fällen eine ihr adäquate Größe treten, z. B. bei der Invertase die Zeit des halben Umsatzes oder die Zeit, die bis zur Nulldrehung des Reaktionsgemisches verstreicht. Mit Hilfe des Produktes aus Zeitwert eines Ausgangsmaterials, eines Enzympräparates usw. und der Menge des zur Verwendung kommenden Materials, des sogenannten „Menge-Zeit-Produktes“ oder seiner reziproken Größe, des „Menge-Zeit-Quotienten“ läßt sich Ausbeute und Wirksamkeit beim präparativen Arbeiten exakt kontrollieren. In den Arbeiten Willstätters und seiner Schule dienten diese Größen zur systematischen Kontrolle jeglicher vorgenommenen Operation.

Unentbehrlich bei allen Enzymstudien ist die Rücksichtnahme auf die Wasserstoffionenkonzentration des Mediums. Sörensen und Michaelis haben hier die Grundlagen geschaffen, die heute Gemeingut eines jeden auf Fortschritt bedachten Forschers geworden sind.

Was Willstätter auf dem präparativ-analytischen Wege anstrebt, sucht H. v. Euler auf physikalisch-chemischem Wege zu erreichen, nämlich dem Wesen des in größter Reinheit isolierten Enzyms näher zu kommen. Durch quantitative Studien über die Vergiftung der Invertase durch Silber-, Quecksilber- und Kupfersalze, durch Verfolgung der Hemmung durch Amine usw. ließ sich auf Grund der gewonnenen Affinitätskonstanten und ihres Vergleiches mit denen anderer bekannter Körper die Gegenwart von SH- und CHO-Gruppen im Invertasemolekül wahrscheinlich machen.

Was die Kinetik der Enzymreaktionen anbelangt, so haben sich in zahlreichen Fällen auch die für die anorganische Katalyse gültigen Gesetzmäßigkeiten, z. B. rein monomolekulare Verlauf, nachweisen lassen. Sehr oft war aber auch trotz aller Vorsichtsmaßregeln die Abweichung vom monomolekularen Reaktionstypus unverkennbar. Eine vollkommene Analyse einer enzymatischen Reaktion in bezug auf die Reaktionskinetik haben Michaelis und Menten für die Inversion der Saccharose durch Saccharase gegeben. Sie betrachten das Enzym als Elektrolyten und unterwerfen es in ihren Berechnungen wie einen echt gelösten Stoff dem Gesetze der chemischen Massenwirkung. Dem enzymatischen Abbau des Zuckers geht eine Verbindung des Zuckers mit dem Enzym voraus. Die Geschwindigkeit der Reaktion hängt von der jeweiligen Konzentration der Saccharose-Invertaseverbindung ab und ist ihr proportional. Da aber auch die Reaktionsprodukte eine, wenn auch schwache Affinität zum Enzym besitzen, die sich mit dem Fortschritt der Reaktion mehr und mehr äußert, mußte auch ihr gebührend Rechnung getragen werden. Der komplizierte Ausdruck der Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten nimmt folgende allgemeine Form an:

$$K \cdot t = m \cdot \ln \frac{a}{a-x} + n \cdot x,$$

also eine Superponierung einer geraden und einer logarithmischen Funktion. Die theoretischen Schlüssefolgerungen ließen sich in befriedigender Weise durch das Experiment bestätigen.

Die von Michaelis und Menten für die Saccharasewirkung aufgestellte Theorie läßt sich in etlichen Teilabschnitten auch für das System Stärke-Amylase, wie H. Lüers und W. Wasmund zeigen konnten, wahrscheinlich machen. Auch hier muß mit einer Verbindung von Stärke und Amylase, die dem Massenwirkungsgesetz unterworfen ist, gerechnet werden und auch für den hemmenden Einfluß der Spaltprodukte konnte das gleiche Gesetz in Anspruch genommen werden.

Im Gegensatz zur elektrochemischen Auffassung von Michaelis u. a. betrachten Abderhalden und Fodor die enzymatischen Vorgänge von rein kolloidchemischen Gesichtspunkten aus. Sie stützen sich dabei darauf, daß uns zahlreiche Enzyme z. B. die Hefeprotease, die Zymase nur als Ferment-Kolloid-Komplexe bekannt sind und nur in diesen Verbindungen das Enzym zur Wirksamkeit gelangt. Es ließ sich zeigen, daß die Wirksamkeit des Fermentsystems empfindlich von Veränderungen des Dispersitätsgrades, z. B. unter dem Einfluß der (H^+) und der Neutralsalze beeinflußt wird. Dispersitätsgraderhöhung steigert bis zu einem gewissen Grade die Wirksamkeit des Hefephosphoproteins. Nach Fodor liegen die Verhältnisse kurz folgendermaßen: das Hefephosphoprotein wird durch geringe Mengen Natriumhydroxyd dispergiert und bildet dabei Enzymen von der allgemeinen Form $(\text{Pr.}-\text{PO}_4 \longleftrightarrow \text{OH}^-)(\text{H}^+)$, worin das Wasserstoffion auch durch Na^+ ersetzt sein kann. Der Eintritt der Fermentwirkung wird darin gesehen, daß das Substrat unter teilweiser Aufhebung des bestehenden Adsorptionspotentials an der Oberfläche des Fermentkolloides adsorbiert wird. Dadurch werden die bis jetzt aufladenden Ionen entladen, aktiviert und bewirken die enzymatische

Reaktion. Die Spaltprodukte diffundieren aus der Oberfläche, und unter günstigen Bedingungen wird das Fermentsystem wieder zum ursprünglichen Zustand regeneriert. Bei dieser Vorstellung des enzymatischen Geschehens beherrscht also die Adsorption mit ihren energetischen Folgeerscheinungen den Vorgang. Deshalb versuchte Fodor auch die Kinetik solcher in ausgesprochen kolloidem Medium verlaufenden enzymatischen Prozesse unter Berücksichtigung der Adsorption darzustellen. Die allgemeine Form des kinetischen Verlaufes lässt sich durch die Formel $\frac{dx}{dt} = k(a - x)^n$ darstellen. Sie bringt zum Ausdruck, daß bei zunehmender Konzentrationsverminderung des Substrates während der Reaktion relativ mehr an das Fermentkolloid adsorbiert und damit gespalten wird. Durch das Dazwischenreten eines Diffusionsvorganges und eines Gleichgewichtsprozesses von der Form $f(a - x)$ kann somit das Bild eines rein monomolekularen Vorganges so beeinflußt werden, daß er das Aussehen einer positiven Autokatalyse annehmen kann, ohne jedoch mit dieser irgendeine Wesensgemeinschaft zu besitzen. Für die Spaltung der Amylose durch Amylase konnten H. Lüers und W. Wasmund die Kinetik der Reaktion ebenfalls durch die von Fodor angegebene Gleichung $\frac{dx}{dt} = k(a - x)^n$ darstellen.

Mit der Annahme der Kolloidnatur des Fermentkomplexes und der Variabilität des kolloiden Zustandes versteht es sich von selbst, daß z. B. das Optimum der Wasserstoffionenkonzentration für die betreffende Fermentwirkung je nach den sonst noch vorliegenden Verhältnissen, z. B. dem Gehalt an anderen Ionen, ein verschiedenes und wechselndes sein kann. Abderhalden und Fodor haben dies an der Hefeprotease, A. Hahn und seine Mitarbeiter an der Amylase bestätigt.

Die Befunde H. v. Eulers an den bisher reinsten Invertasepräparaten lassen dieses Enzym als einen nicht allzu kompliziert und hochmolekular zusammengesetzten Körper von Mol.-Gew. rund 20000 erscheinen. Nichtsdestoweniger aber existieren zahlreiche Fermente, die sich durch ausgesprochen kolloiden Charakter auszeichnen. Entweder kommt er ihnen als Ferment selbst zu, oder aber das vielleicht einfach gebaute Enzym ist mit einem Kolloid zwangsläufig verbunden und macht alle Alterationen des Kolloids unter Äußerungen einer veränderten Wirksamkeit mit. In dieser Beziehung ist auch die Frage nach der Antigenatur der Enzyme und der Möglichkeit der Bildung spezifischer Antienzyme im Tierkörper von Interesse. Die älteren Versuche lassen darüber keine Entscheidung zu, da die Urteile völlig widersprechend sind. Eine Studie von Krafft-Lenz aus jüngster Zeit über Hefesaccharase, mit moderner zuverlässiger Methodik ausgeführt, ergab keine nennenswerte Antisaccharasebildung. H. Lüers und F. Albrecht erhielten kürzlich durch wiederholte subkutane Injektion hochwertiger nach Sherman dargestellter Malzamylasepräparate ein Serum von starker antiamylatischer Wirksamkeit. Die Bindung von Enzym und Antienzym folgt bis zu einer Wirkungshemmung von 75%, rein stöchiometrischen Gesetzen, erst von 80% Hemmung an nahm die Menge des erforderlichen Immunserums mehr und mehr zu. Die Antiamylase war spezifisch nur auf Malzamylase wirksam, auf Speichel- und Pankreasamylase völlig unwirksam. Die hemmende Wirkung der Antiamylase kann darauf zurückgeführt werden, daß der im Immunserum enthaltene Antieiweißkörper mit dem Antigeneiweiß der Amylase unter Präcipitierung zu einer Adsorption des eigentlichen Enzyms führt, daß also die Wirkung keine direkte, sondern eine indirekte sekundäre ist. Die Präcipitinreaktion ließ sich denn auch mit aller Deutlichkeit nachweisen. Als man nun in Gegenwart von Amylase eine Präcipitinreaktion mit Eialbumin als Antigen und seinem Immunserum hervorrief, zeigte sich nicht die geringste Hemmung des Enzyms. Daraus kann man folgern, daß entweder tatsächlich ein artspezifisches Antienzym gebildet wurde, oder, was das wahrscheinlichere ist, daß die Verleitung der Amylasefunktion mit einem Eiweißkörper des Malzes eine ganz spezifische und für die Wirksamkeit des Komplexes unerlässlich ist.

Es ist nicht möglich, im Rahmen eines derartig kurzen Berichtes auf alle in den letzten Jahren zutage geförderten Erkenntnisse auf dem Enzymgebiet einzugehen. Aus dem Referierten geht wohl hervor, daß die Auffassungen über diese wichtigen und geheimnisvollen Werkzeuge der lebenden Natur noch weit auseinandergehen, wie aber anderseits auf verschiedenen Wegen die Forschung dem Wesen der Enzyme näher zu kommen sucht. Zwei Meister der Chemie, Willstätter und Haber betonten in letzter Zeit, daß für die chemische Forschung nach der Vollendung der auf Destillation und Kristallisation beruhenden Methoden nunmehr die Zeit gekommen sei, einen großen Schritt vorwärts zu machen, nämlich die Methoden der Pflanzen nachzuahmen und bei gewöhnlicher Temperatur in wässrigem Medium mit gelinden Mitteln und den reaktionsfähigsten Atomgruppen und den feinsten katalytischen Helfern die lebenswichtigen Stoffe aufzubauen. Dies wird aber nur dann erreichbar sein, wenn wir erst einmal über das Wesen der Enzyme völlig im klaren sind. Dann wird es sich auch zeigen, ob die Bildung der Enzyme ein Vorrecht des lebenden Protoplasmas ist, oder ob es möglich sei n. wird, der organischen Materie die Funktionen des Lebens zu verleihen. Der alte Streit zwischen der mechanistischen und vitalistischen Auffassung wird damit vollends sein Ende finden.

[A. 242.]

Die Bestimmung des Kohlenstoffs im Nickel.

Von Dr. K. BREISCH und Dr. K. CHALUPNY.

Mitteilungen aus der Metallurgischen Versuchsanstalt der Berndorfer-Metallwarenfabrik A. Krupp, A.-G., Berndorf (Niederösterreich).

(Eingeg. 23.8. 1922.)

Vorliegende Arbeit, zu der uns unser Chef, Herr Dr. Rudolf Krulla, die Anregung und manchen wertvollen Rat gegeben hat, wurde von uns aus folgenden Gründen durchgeführt:

Angaben über die Bestimmung des Kohlenstoffs im Nickel sind sowohl in den Zeitschriften als auch in den analytischen Lehrbüchern nur wenige und dann sehr karge zu finden.

Die bisher wohl allgemein verwendete Methode, die Bestimmung des Kohlenstoffs durch Verbrennung mit Chromschwefelsäure nach Corleis vorzunehmen, ist sehr langwierig, und außerdem sind die Materialkosten (Chemikalien, Gas und Verschleiß an Apparatur) sehr hoch.

Über die direkte Verbrennung im elektrischen Ofen, die nicht ohne weiteres durchführbar ist, sind in der Literatur nur ungenügende Hinweise zu finden.

Die einzige ausführlichere Arbeit von Orth¹ schlägt als günstigste Art der Durchführung das Lösen des Nickels in einer neutralen Kupferammonchloridlösung unter Röhren, Abfiltrieren des zurückgebliebenen Kohlenstoffs auf ein Asbestfilter und Verbrennen des Rückstands im Corleis vor. Abgesehen davon, daß die von Orth¹ angegebene Lösungsdauer von 40 Min. für die meisten Nickelsorten nicht zutrifft, und die Lösung oft ganz wesentlich längere Zeit erfordert, ist auch bei der von ihm verlangten feinsten Zerkleinerung die Gefahr sehr groß, daß die Probe durch das Feilen mit Eisen verunreinigt zur Verwendung gelangt. Ein Pulverisieren durch Zerschlagen ist ja bei Nickel unmöglich. Nach unserem Ermessen müßte eine im Betriebslaboratorium zu verwendende Methode auch mit größerem Material, z. B. von den Dimensionen feiner Bohr- oder Hobelspäne durchführbar sein.

Für den Gang unserer Untersuchungen war einerseits die Möglichkeit, bestehende Methoden zu beschleunigen, und in zweiter Linie das Bestreben, eine Lösung nach neuen Gesichtspunkten zu suchen, maßgebend.

Verbrennung mit Chromschwefelsäure im Corleiskolben.

Die Bestimmung des Kohlenstoffs im Nickel durch Verbrennung mit Chromschwefelsäure im Corleiskolben leidet vor allem an der langen Dauer der Durchführung, während welcher, wenn brauchbare Resultate erzielt werden sollen, ständige Beaufsichtigung nötig ist. Da Verbesserungen an der Apparatur kaum in Betracht kommen, beschäftigen wir uns lediglich damit, die Lösungsdauer des Nickels durch entsprechende Zusammenstellung des Chromschwefelsäuregemisches herabzusetzen.

Die zur Kohlenstoffbestimmung in Eisen und Stahl verwendeten, Kupfersulfat enthaltenden Mischungen sind für Nickel völlig ungeeignet. Nach unseren Ermittlungen ist das Kupferion bei Nickel überhaupt von geringem Einfluß auf den Lösungsvorgang. Die Lösungsgeschwindigkeit nimmt mit zunehmender Schwefelsäure- und Chromsäurekonzentration zu, dies aber auch nur bis zu einem gewissen Grad, da hochkonzentrierte Schwefelsäure wieder wesentlich langsamer löst, so daß z. B. mit der von Orth¹ erwähnten Mischung von 20 ccm Chromsäurelösung (180 g Chromsäure in 100 ccm Wasser) und 150–200 ccm konzentrierter Schwefelsäure ein achtstündigiges Kochen der Probe notwendig ist. (Auf die Gefährlichkeit dieser Mischung bei event. Springen des Kolbens sei noch aufmerksam gemacht.)

Vergleichende Versuche mit einer größeren Anzahl Chromschwefelsäuremischungen ergaben als günstigste Zusammensetzung die folgende:

200 g Chromsäure in 400 g Wasser gelöst und mit 150 ccm konzentrierter Schwefelsäure versetzt. Davon werden zu einer Bestimmung 150 ccm verwendet und jedesmal erneuert. Mit diesem Gemisch gelingt es, 5 g Nickel in etwa 3 Stunden restlos aufzulösen. Bei einigen zu diesen Versuchen hergestellten Nickelspeziallegierungen, Silicium-, Wolfram- und Bornikel (je 1 %ig) dauert die Auflösung auch bei Verwendung dieser Mischung wesentlich länger.

Bezüglich der Trocknungs- und Absorptionsapparatur wäre nur auf eine Einzelheit hinzuweisen. Es ist nicht angängig, die zwischen Corleiskolben und dem Verbrennungsrohr mit Kupferoxyd unbedingt nötige Trocknung durch ein Chlorcalciumrohr vorzunehmen. In diesem bilden sich infolge der nicht unbeträchtlichen Wasserdampfmengen, welche durchpassieren, sehr bald geringe Mengen gesättigter Chlorcalciumlauge, die verhältnismäßig viel Kohlensäure absorbiert, auch dann, wenn das Chlorcalcium vorher mit Kohlensäure gesättigt war, was auch trotz jedesmaligem Wechsel zu größeren Kohlensäureverlusten führen kann. Einwandfrei verwendbar ist hier nur konzentrierte Schwefelsäure in einer Waschflasche. Als Absorptionsrohre verwendeten wir in allen Fällen U-Rohre mit Natronkalk und Chlorcalcium.

Die nach dieser Methode erhaltenen Kohlenstoffwerte können nicht unmittelbar mit nach anderen erhaltenen verglichen werden.

¹) Orth, Gießerei-Ztg. 1912, Nr. 8, S. 237.