

und sicher sortieren kann<sup>10)</sup>. Gerlach<sup>11)</sup> zeigte auch, daß bei Blei-Gold-Legierungen das Blei nicht gleichmäßig verteilt ist, sondern vorzugsweise in den Korngrenzen sitzt. Diese Feststellung ist nur möglich durch den außerordentlich geringen Materialverbrauch der Spektralanalyse und läßt sie als Helferin der Metallographie erscheinen.

Auch bei der Aufklärung von Berufskrankheiten ist die Methode bereits herangezogen worden. Blei läßt sich im Blut und Harn bereits feststellen<sup>12)</sup>, wenn die übrigen Symptome noch nicht zur Diagnose Bleivergiftung ausreichen.

<sup>10)</sup> F. Twyman, F. Honegger, M. Smith, Ztschr. Ver. Dtsch. Ing. 1929, 196.

<sup>11)</sup> Klostermann, Naturwiss. 14, 1116 [1926].

<sup>12)</sup> Ztschr. Metallkunde 20, 248 [1928].

Aber nicht nur selbständig wird die Methode herangezogen. Zur Kontrolle und zur Befestigung von auf chemischem Wege gewonnenen Resultaten kann sie ebenfalls wertvolle Dienste leisten. Sie kann zur Prüfung der Reinheit von Niederschlägen dienen, oder auch zu ihrer Identifizierung. Geringste Mengen von Niederschlägen und Rückständen sind so noch zu fassen. Die bisherigen Erfolge der Methode berechtigen zu der Hoffnung daß sie sich besonders in der Technik ein rasch steigendes Anwendungsgebiet erobern wird.

Für Unterstützung durch apparative Hilfsmittel, die unserer Arbeit zugute kamen, möchte ich der Notgemeinschaft der deutschen Wissenschaft, ferner den Firmen R. Fuess, Berlin-Steglitz, und der Transformatoren- und Apparatefabrik H. Magnus, Nürnberg, meinen besten Dank aussprechen. [A. 122.]

## Zum Mechanismus der Enzymwirkung, zugleich Beitrag zur Brotbereitung<sup>1)</sup>

Von Dr. F. F. NORD.

Physiologisches Institut der Tierärztlichen Hochschule Berlin.

(Eingeg. 5. Juni 1929.)

In früheren Arbeiten<sup>2)</sup> wurde versucht, sowohl unter Zuhilfenahme der Katalyse als auch auf Grund ökonomischer Betrachtungen zu einer besseren Ausnutzung verschiedener Rohstoffe zu kommen. Das gleiche Ziel haben die vorliegenden, aus theoretischen Überlegungen entstandenen Versuche über verschiedene enzymatische Vorgänge.

Beim Abbau der Kohlenhydrate durch die verschiedenartigsten Enzyme bzw. Mikroorganismen kennen wir die Ausgangsmaterialien und Endprodukte dieser biochemischen Prozesse, stehen aber erst in der Entwicklung einer Periode, die es sich zur Aufgabe gemacht hat, in den Mechanismus dieser Vorgänge biochemisch einzudringen<sup>3)</sup>. Ohne daß bisher die Erscheinung eine auch nur annähernd befriedigende Deutung gefunden hätte, ist z. B. durch Harden und Young bzw. Iwanow die Notwendigkeit des Vorhandenseins von phosphorsauren Salzen für die alkoholische Gärung nachgewiesen worden. Für eine spätere Phase der durch Fermente zu bewirkenden Zertrümmerung des Zuckermoleküls ist dann im Jahre 1910 das intermediäre Auftreten von Brenztraubensäure experimentell glaubhaft gemacht worden, nachdem bereits mehrere Jahre vorher Magnus-Levy den Acetaldehyd als ein wahrscheinliches Abbauprodukt des Zuckers bezeichnet hat. Dieser konnte dann tatsächlich durch ein im Laufe des Krieges bekanntgewordenes Verfahren isoliert werden, welches nachher in den Händen zahlreicher Forscher wesentliche analytische Einblicke in die Abbauverhältnisse der Kohlenhydrate durch verschiedene Enzyme und Mikroorganismen gezeigt hat.

Keiner dieser Autoren hat es aber unternommen, sich von dem für diese Vorgänge unerläßlichen physikalisch-chemischen Mechanismus in der Zelle Rechenschaft zu geben. Wahrscheinlich unter der Voraussetzung, daß die den eigentlichen Abbruch des Zuckermoleküls einleitende Vereinigung der Hexosen mit an-

organischen Salzen außerhalb der Zelle stattfindet, hat Paine im Laboratorium von Harden Versuche zur Feststellung der Permeabilität der Hefenzelle für Hexophosphate angestellt. Harden sagt, „the yeast cell is at all events partially permeable to the sodium salt“. Höber meint, daß für Salze die Permeabilität nur gering, wenn nicht bloß durch oberflächliche Adsorption vorgetäuscht ist, und schließlich glaubte C. Neuberg aus der Darstellung entnehmen zu können, daß die Zelle für die hexose-di-phosphorsäuren Salze „durchaus“ permeabel ist.

Im Jahre 1924 haben wiederum Smedley MacLean und Hoffert die Ansicht geäußert, daß die Hexosephosphatmoleküle nicht fähig sind, die Hefenzellwand zu durchdringen, sondern daß Glucose und Phosphatmoleküle getrennt in die Zelle gelangen und sich dort vereinigen. Diese unbewußte Anwendung des Ruhland-Hoffmannschen Satzes, nach dem Verbindungen um so rascher in Pflanzenzellen eindringen sollen, je kleiner ihr Molekularvolumen ist, steht in schroffem Widerspruch zur Regel von Overton und ist dennoch wahrscheinlich, weil der fast unmögliche Nachweis der Hexosephosphate bei durch Hefezellen bewerkstelligten Gärungen mit der reichlichen Hexosephosphatbildung bei zellfreien Gärungen in gutem Einklange steht. Die Zellmembran dürfte für die Iwanowsche Synthese, welche die Veresterung des Zuckers bewirken soll, kaum durchlässig sein. Im Falle unversehrter Hefenzellen entsteht daher im Außenmedium nur eine geringe Menge Hexosediphosphat, für welches die Membran partiell durchlässig ist. Nehmen wir nunmehr an, daß auch die Hefenzellmembran ein dynamisches System darstellt, welches zum Teil mit einer Kupfer-Ferrocyanid-Membran vergleichbar ist und somit intermittierender Koagulation und Peptisation unterliegen kann, dann werden die Vorgänge leichter verständlich und dürften auch durch ein Bestreben zur Aufrechterhaltung des Membrangleichgewichtes im Sinne von Closes<sup>4)</sup> charakterisiert sein.

Sehr wahrscheinlich wird der größte Teil des Zuckers innerhalb der Zelle, also am Sitz der Gärungsfermente, verestert und dort auch wiederum frei. Wir müssen also in erster Linie eine Vorstellung

<sup>1)</sup> Über den Inhalt der folgenden Arbeit wurde in einem Vortrag vor dem Naturwissenschaftlichen Verein, biologische Fachgruppe, in Graz am 7. Dezember 1928 berichtet.

<sup>2)</sup> F. F. Nord, Ztschr. angew. Chem. 32, 305 [1919]; F. F. Nord u. G. G. Schweitzer, ebenda 38, 21 [1925].

<sup>3)</sup> Vgl. bzgl. der Literatur: F. F. Nord, Chem. Reviews 3, 41 [1926].

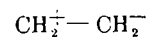
<sup>4)</sup> Journ. physical Chem. 20, 407 [1916].

vom Mechanismus des Zuckerzutritts haben. Demgegenüber ist es von sekundärer Bedeutung, ob das Hexosediphosphat über das Hexose-mono-phosphat entsteht; es zerfällt jedenfalls und läßt den Zucker in der leicht spaltbaren Transportform zurück, welche einer Rephosphorylierung nach Meyerhof nicht bedarf<sup>5)</sup>. Isochrone Umlagerungen bzw. intermittierende Vorgänge schließen selbstverständlich eine Stapelung irgendeines Zwischenproduktes bei normaler Gärung aus.

Die Transportform einer Verbindung zeichnet sich hauptsächlich durch ihre Fähigkeit aus, intermittierende Reaktionen in der Zelle zu ermöglichen, oder aber nicht umkehrbare Vorgänge, in welchen die Verwendung eines potentiell höheren Energiegehaltes in Frage kommt, zu fördern. Es war deshalb zu prüfen, ob auch Enzyme der Zellen ihre Reaktionsfähigkeit entsprechend dem jeweiligen Grad ihres kolloidchemischen Zustandes ändern können. Zu diesem Zwecke wurden Zymaselösungen hergestellt, von welchen bisher angenommen wurde, daß sie nach 24 Stunden oder bei 0° in zwei Tagen ihre Wirksamkeit verlieren, was vor allem auf die schädliche Wirkung der Hefenproteasen zurückzuführen sein soll. Dagegen ergaben amerikanische Unterhefen, welche der Gruppe der Saccharomycetaceen, der zweiten Untergruppe der Hansen-Guilliermond-Einteilung, angehören, Lösungen, die sich bei vollkommener Zellfreiheit als praktisch dauernd haltbar zeigten und außerdem noch eine bemerkenswerte Eigenschaft aufwiesen: ihre Reaktionsfähigkeit, gemessen an der in einer Minute bei der Vergärung von Glucose produzierten Kohlensäure, stieg wahrscheinlich durch Peptisierung dermaßen, daß diese Kohlensäuremenge kurz nach Beendigung der Induktionskraft bis zu 6,6 cm<sup>3</sup> betrug, um nachher bald auf das übliche Maß zurückzufallen. Die durch die Peptisierung bedingte graduelle Steigerung in der Kohlensäureproduktion hört am vierten bis fünften Tage auf, um dann praktisch gleichmäßig zu bleiben. Die sich täglich einstellenden Unterschiede sind natürlich nicht sehr groß. Wir haben deshalb die biologischen Befunde auf physikalischem Wege kontrolliert und gleichzeitig mit den Vergärungen auch die Oberflächenspannung bzw. die Viscosität der Lösungen gemessen, wobei sich ein deutlicher Anstieg der Oberflächenspannung und ein Sinken der Viscosität ergab.

Aus den früher veröffentlichten<sup>6)</sup> Gärkurven war infolge des Maßstabes nicht genau ersichtlich, daß die Spitzenleistungen in der Reaktionsfähigkeit dieser Zymaselösungen nach den ersten Minuten, unabhängig von der kaum veränderten Zuckerkonzentration, auf das übliche Maß zurückfallen. Wir schlossen daraus, daß die im Vergleich mit den sonst gewonnenen Lösungen vielleicht höher oberflächenwirksame Zymasen dem Reaktionsverlauf und den Reaktionsprodukten gegenüber empfindlicher sind, und suchten deshalb nach einem Verfahren, um auf die Aufrechterhaltung der Oberflächenverhältnisse der betreffenden Enzyme günstig einzuwirken. Hierfür scheinen Gase geeignet, von welchen so geringe Mengen erforderlich waren, daß sie bei der Reaktion zwischen Enzymen und Substrat chemisch nicht in Betracht kamen. Die Überlegung stützte sich einerseits auf die Versuche von Sugden, Reed und Wilkins, die die Existenz von zwei verschiedenen Typen von Doppel-

bindungen experimentell geprüft haben. Auch können bei solchen Verbindungen, wie z. B. dem Äthylen, im Zustande der Adsorption die entgegengesetzten Ladungen



neutralisiert oder sonst irgendwie verändert werden<sup>7)</sup>.

Vermutlich schützt der vorerwähnte Adsorptionsfilm die Enzymoberfläche und hindert nach der Reversion das Reagieren mit dem eigentlichen Substrat durchaus nicht. Wenn also in einer biochemischen Reaktion das ideale Verhältnis zwischen wirksamer und unwirksamer Enzymmenge 1 beträgt, so werden die dem Adsorptionsfilm zugeschriebenen schützenden Eigenschaften wahrscheinlich die Verschiebung des eben erwähnten Quotienten zugunsten der unwirksamen Enzymoberfläche verlangsamen. Von den biologischen Gründen, die für die Verwendung solcher Verbindungen sprachen, sind die Versuche des russischen Botanikers N el j u b o w<sup>8)</sup>, der eine Beeinflussung der horizontalen Nutation von Pflanzenstengeln durch „verdorbene Luft“ beobachtet hat, und die Untersuchungen von Weber<sup>9)</sup> zu erwähnen.

Überträgt man diese Erfahrungen auf Enzyme in Hefenzellen selbst unter Anwendung von Äthylen, Acetylen und dgl., so ergibt sich aber ein bemerkenswerter Unterschied. Sowohl bei der ersten als auch bei der Nachgärung war die Dauer der Induktionsperioden bei der Kontrolllösung und bei den mit einem Adsorptionsfilm versehenen, besonders rasch gärenden Mazerations-säften aus amerikanischen Unterhefen praktisch gleich, dagegen erwiesen sich bei einer Zellgärung die Induktionsperioden im Vergleich mit der Reaktion, in welcher geschützte Enzyme vorhanden waren, als durchweg kürzer. Bei einer wiederholten Gärung mit derselben Suspension wird dieser Unterschied noch charakteristischer. Besonders scharf lassen sich diese Eigenschaften im Verlauf der Vergärung einer 1%igen Brenztraubensäurelösung in einer 10%igen Hefeaufschlammung demonstrieren, welcher nach Beendigung der Vergärung der Brenztraubensäure, Verschwinden der Reaktion auf Brenztraubensäure und wiederholtem sorgfältigem Auswaschen der Hefe bzw. Aufschlännen in der gleichen Menge Wasser, die Vergärung von 1 g Glukose gefolgt war.

Auf Grund dieser Ergebnisse ist zu vermuten, daß sich diese Verbindungen nicht nur auf der Enzymoberfläche adsorbieren lassen, sondern — wie dies u. a. auch bei der Teiggärung oder an der Pflanzenkatalase<sup>10)</sup> bzw. bei der keimenden Gerste<sup>11)</sup> studiert werden konnte — daß sie auch die Zellpermeabilität erhöhen.

Die hierzu weiter erforderlichen, und von Dr. H. Pollet in dankenswerter Weise ausgeführten Backproben wurden vorbereitet durch Beladung der 10%igen Aufschlammung einer gewöhnlichen Bäckereihefe mit ungereinigtem, durch Überleiten von Alkoholdämpfen über Tonerde bei 300° hergestelltem Äthylengas in mäßigem Strom während der in der Tabelle angegebenen Zeiten. Ihre Ausführung erfolgte nach dem Wiener Verfahren mittels Vorteig. — Der Teig wurde von Hand aus geknetet und durchgestoßen und

7) F. F. Nord, Mechanism of Enzyme Action and associated cell Phenomena, Monographie, Baltimore 1929.

8) Ber. Botan. Ges. 29, 105 [1911].

9) Sitzungsber. Acad. Wien, Abt. I, 125, 189 [1916].

10) F. F. Nord u. K. W. Franke, Journ. biol. Chemistry 79, 27 [1928].

11) F. F. Nord u. J. Weichherz, Ztschr. physiol. Chem. 183 [1929].

5) F. F. Nord, Protoplasma 2, 300 [1927].

6) F. F. Nord u. Kurt W. Franke, Protoplasma 4, 547 [1928].

bestand aus 150 g Vorteig, 340 g Mehl, 200 cm<sup>3</sup> Wasser, 5 g Hefe, 5 g Salz und 2 g Zucker. Gebacken wurde bei 250°. Die Gesamtgärzeit betrug etwa 4h10', die Backdauer 40'.

Hefe	Wasser- aufnahme	Vo- lumen	Teigbeurteilung		Gebäcks- beur- teilung
			Ruselzeit	Gärzeit	
unbeladen	59 <sup>0</sup> / <sub>10</sub>	1910 cc	Normal Form 1 Festigkeit 2	etwas leblos Form 3 Festigkeit 3	3
18' beladen	59 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> <sup>0</sup> / <sub>10</sub>	1990 cc	Normal Form 3 Festigkeit 1	etwas fest Form 1 Festigkeit 1	2
15' beladen	59 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> <sup>0</sup> / <sub>10</sub>	1970 cc	Normal Form 2 Festigkeit 2	sehr schön Form 2 Festigkeit 2	1
unbeladen	58 <sup>1</sup> / <sub>4</sub> <sup>0</sup> / <sub>10</sub>	1830 cc	Normal 3	bleibt etwas zurück	1
18' beladen	59 <sup>0</sup> / <sub>10</sub>	1860 cc	Normal, wird fester 2	schön	2
15' beladen	59 <sup>0</sup> / <sub>10</sub>	1840 cc	Normal, wird fester 1	am schönsten	wird im Ofen kleiner 2
unbeladen	57 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> <sup>0</sup> / <sub>10</sub>	1800 cc	Normal, etwas weich	normal	etwas breit
22' beladen	59 <sup>0</sup> / <sub>10</sub>	1880 cc	anfangs breit, kurz u. weich wird < norm.	schön	hoch
18' beladen	59 <sup>0</sup> / <sub>10</sub>	1910 cc	anfangs weich u. etw. feucht, wird aber fester	schön und hoch	hoch
15' beladen	59 <sup>0</sup> / <sub>10</sub>	1900 cc	anfangs feucht, wird zäh und fest	geht hoch	hoch

Auch aus diesen Versuchen geht in Übereinstimmung mit den früheren Vorversuchen hervor, daß die zymatische Wirkung infolge Erhöhung der Zellpermeabilität erheblich gesteigert werden konnte.

Die Deutung der bisher mitgeteilten Ergebnisse verursachte eine doppelte Schwierigkeit. Einerseits wurde auf Grund der Urversuche von Levy<sup>12)</sup> bzw. Efferont<sup>13)</sup> angenommen, daß Abietinsäure auf gärende Hefe „aktivierend“ wirkt. Diese Beobachtung wurde einige Jahre später von einer ganzen Reihe von Forschern auf andere Verbindungen übertragen, und ohne der Bezeichnung „Aktivierung“ eine irgendwie geartete Definition zu geben, glaubte man zeitweilig, daß gewisse, besonders leicht reduzierbare Substanzen im Bereich der Zymasen liegende enzymatische Reaktionen „aktivieren“ können. Es läßt sich nun nicht bestreiten, daß Acetylen und Äthylen sehr einfache, leicht reduzierbare aliphatische Verbindungen sind. Die andere Schwierigkeit lag darin, daß nach Luckhardt und Carter dem Äthylen auch eine narkotische Wirkung zukommt. Sollte also die Reduzierbarkeit einerseits, die narkotische Wirkung andererseits, wenn auch nicht zwangsläufig miteinander verknüpft, aber zumindest getrennt, bei diesen Reaktionen von Bedeutung sein, dann standen wir vor rätselhaften Beobachtungen, zumal wir, und dies hat sich inzwischen bei Anwendung einer anderen Methodik auch bestätigt, bei quantitativer Eintragung dieser Verbin-

dungen in eine Hefenaufschlammung eine graduelle verschiedene, deutliche Beschleunigung des Reaktionsverlaufes, verglichen mit dem Verlauf einer Reaktion, bei welchem die Zellen diesen Verbindungen nicht ausgesetzt waren, wahrnehmen konnten. Gleichzeitig fanden wir, daß auch die narkotische Wirkung tatsächlich eintrat und die Gärung dementsprechend langsamer vor sich ging. Wurde nunmehr zu dieser Maische, welche natürlich auch das Hauptstoffwechselprodukt der Hefe, den Alkohol, enthält, eine weitere und nachher eine dritte und vierte Zuckermenge hinzugefügt, dann konnte eine fortschreitende Erhaltung der größeren Geschwindigkeit bei derjenigen Gärung beobachtet werden, deren Hefezellen mit den erwähnten Gasen beladen waren.

Auf Grund dieser Beobachtungen war die Möglichkeit einer rascheren Vermehrung der Hefenzellen in Betracht zu ziehen. Um diesen Unsicherheitsfaktor auszuschließen, haben wir bei den einzelnen Gärungen nicht nur Zellzählungen vorgenommen, sondern auch bei Gärungen mit sogenannten Zympräparaten, in welchen die Zellen getötet sein sollen, Untersuchungen angestellt. Es konnte aber weder eine erhöhte Zellvermehrung festgestellt werden, noch haben sich die Zympräparate grundsätzlich anders verhalten.

Die frühere allgemeine Annahme, daß den Narkotica eine die Zellpermeabilität verringemde Wirkung zuzuschreiben ist, haben Weber und Hoefler<sup>14)</sup> widerlegt. Wir können deshalb die Erscheinung in der einfachsten Weise erklären, vorausgesetzt natürlich, daß wir, entsprechend der kolloidchemischen Struktur des Plasmas, auch die Hefezelle als ein dynamisches System auffassen.

Die mit den kolloidalen Zymaselösungen ausgeführten Vergärungen gaben nach der Beladung mit Äthylen oder Acetylen am Anfang der Reaktion keine meßbar gesteigerte Kohlensäuremenge, wohl aber geschah das bei denjenigen Reaktionen, welche mit Zellsuspensionen ausgeführt wurden, die entweder auf „unphysiologische“ Brenztraubensäure oder auf Glukose selbst einwirkten.

Es wurde von Oskar Loew die Ansicht vertreten, daß die Enzyme kinetisch labile Atomgruppen besitzen, welche infolge dieser Eigenschaft befähigt sind, chemische Reaktionen auch bei verhältnismäßig niedriger Temperatur hervorzurufen. Diese Auffassung wurde in der letzten Zeit vielleicht wegen ihrer ungünstig heuristischen Formulierung immer mehr und mehr verdrängt, und es wurde bis heute in Übereinstimmung mit Bayliss angenommen, daß, ebenso wie bei den gewöhnlichen heterogenen Reaktionen, die Substrate an der Enzymoberfläche in einer Weise verdichtet werden, die lediglich mit der Adsorption vergleichbar ist. Bei solchen Reaktionen ist die Geschwindigkeit durch die Konzentration des Adsorptionskomplexes, in diesem Fall also des Substratenzymkomplexes, bedingt. Wenn wir diese Auffassung auf unsere Verhältnisse übertragen, dann wird der früher erwähnte Unterschied zwischen einer Zellreaktion und einer Reaktion mit freigelegten Enzymen klar. Im ersten Fall hängt die Konzentration des entstehenden Substratenzymkomplexes vom Grad der Permeabilität ab. Wird sie erhöht, dann kann offenbar an der unendlichen Enzymoberfläche mehr Substrat adsorbiert bzw. in der Zeiteinheit umgesetzt werden. Im Fall frei gelegter Enzyme bzw. kolloidaler Enzymlösungen kann die Oberfläche unter diesen Verhältnissen nicht mehr erhöht werden, und

<sup>12)</sup> Bull. Ass. Sucr. et Dist. 25, 221 [1907].

<sup>13)</sup> Compt. rend. Acad. Science 136, 1556 [1903].

<sup>14)</sup> Jahrb. wiss. Botanik 65, 643 [1926].

daher ist eine Reaktionsbeschleunigung am Anfang auch nicht denkbar.

Ohne auf den inzwischen aufgedeckten feineren Mechanismus<sup>15)</sup> der Permeabilitätserhöhung bzw. der Kinetik der Zellreaktion selbst<sup>16)</sup> hier näher einzugehen, gelangen wir daher zu dem Schluß, daß unter der Einwirkung gewisser Verbindungen sich die Reaktion dadurch beeinflussen läßt, daß die Zellpermeabilität erhöht wird und hierdurch eine erhöhte Konzentration am Enzymsubstratadsorptionskomplex entsteht. Diese Verbindungen sind befähigt, auch in das Zellinnere einzudringen und können auf der Enzymoberfläche selbst adsorbiert werden. Hierdurch entsteht ein in der Haftfestigkeit mit der spezifischen Konstitution einer Verbindung übereinstimmender Adsorptionsfilm, der die Enzymoberfläche vor schädlichen Eingriffen schützen kann (Protektor).

<sup>15)</sup> F. F. Nord u. J. Weichherz, Ztschr. physiol. Chem. 183 [1929].

<sup>16)</sup> F. F. Nord u. J. Weichherz, Ztschr. Elektrochem. 35 [1929] im Druck.

### Zusammenfassung:

Die oft beobachtete Erscheinung von Stimulation bzw. Depression, hervorgerufen durch die quantitativ ungleiche Anwendung einer Verbindung, ist einer verhältnismäßig einfachen Deutung zugänglich. Entsprechend der Haftfestigkeit geht das Beladen einer Oberfläche mit einem Adsorptiv so lange vor sich, bis der Adsorptionsfilm und die ungeladene Verbindung miteinander in Gleichgewicht gekommen sind. Bei Zellreaktionen selbst muß die gleichzeitig hervorgerufene Erhöhung der Permeabilität durch eine noch höhere Konzentration nicht beeinflußt werden, sondern entsprechend dem erreichten Gleichgewicht hört die gleichzeitige Adsorption des Substrates an der Enzymoberfläche auf, wodurch die Reaktion selbst aufhört, um erst dann wieder in Gang zu kommen, wenn das eben erwähnte Gleichgewicht gestört wurde und der Adsorptionsfilm eine Reversion erleidet.

Der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft sei für die Unterstützung der Arbeiten auch an dieser Stelle aufrichtig gedankt.

[A. 108.]

## Analytisch-technische Untersuchungen

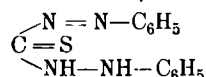
### Über den Nachweis von Schwermetallen mit Hilfe von „Dithizon“. (Diphenyl-thiocarbazon.)

Von Dr. HELLMUT FISCHER, Berlin-Siemensstadt.

Vorgetragen in der Fachgruppe für analytische Chemie anlässlich der 42. Hauptversammlung des V. d. Ch. in Breslau 1929.

(Eingeg. 19. Juni 1929.)

Das Diphenyl-thiocarbazon, welches der Einfachheit



halber mit dem abgekürzten Namen „Dithizon“ bezeichnet werden soll, ist ein Derivat des Thioharnstoffs und des Phenylhydrazins. Es besitzt eine Konstitution, die, wie es scheint, außerordentlich zur Bildung fester innerer Komplexverbindungen, insbesondere mit Schwermetallen befähigt ist.

Die koordinationschemische Wirksamkeit des Dithizons ist theoretisch vorläufig noch ungeklärt. Zu vermuten ist, daß die Stickstoffdoppelbindung eine gewisse Bedeutung für die Komplexbildung besitzt. Möglicherweise spielt hierbei auch der Schwefel die Rolle eines Bindegliedes für den Aufbau beständiger Fünfringe<sup>1)</sup>. Jedenfalls liefern eine Reihe von Schwermetallen mit dem Dithizon Verbindungen von deutlich innerkomplexer Natur.

Verbindungen, deren Eigenschaften auf den angedeuteten inneren Aufbau hinweisen, entstehen mit einer Reihe von Schwermetallen als Fällungen, wenn man eine alkalische oder ammoniakalische Lösung des Dithizons zu den wässrigen Metallsalzlösungen fügt. Die Niederschläge sind verschieden gefärbt und zeigen nicht die geringste Löslichkeit in Wasser. Typisch für die stark komplexe Natur dieser Verbindungen ist ihre zum Teil sehr leichte Löslichkeit in organischen Solventien, wie z. B. Chloroform, Tetrachlorkohlenstoff, Schwefelkohlenstoff usw. Diese Lösungen zeigen lebhaft, oft für manche Metalle charakteristische Färbungen. Für eine Nebenvaleanzsättigung der Metalle in den entsprechenden Dithizonverbindungen spricht vor allem die große Beständigkeit der Körper gegenüber wässrigem Am-

moniak. Sie sind darin unlöslich, selbst wenn das Metall, wie z. B. Silber, Kupfer, Zink usw., normalerweise leicht Ammoniak-Additionsverbindungen bildet.

Die einzelnen Elemente lassen sich bezüglich ihrer Reaktionsfähigkeit mit dem Dithizon in bestimmte Gruppen einteilen. In dem oben angedeuteten Sinne reagieren mit dem Dithizon vor allem die Elemente der Nebengruppen des periodischen Systems (vgl. Tab. 1).

Tabelle 1.

Neigung der verschiedenen Elemente zur Komplexbildung mit Dithizon. (Die reaktionsfähigen Elemente fett gedruckt.)

0	I		II		III		IV		V		VI		VII		VIII
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	
He	Li		Be		B		C		N		O		F		
Ne	Na		Mg		Al		Si		P		S		Cl		
Ar	K		Ca		Sc		Ti	V	Cr		Mn		Fe	Co	Ni
		Cu		Zn		Ga		Ge		As		Se		Br	
Kr	Rb		Sr		Y		Zr	Nb		Mo		Te		J	Ru Rh Pd
		Ag		Cd		In		Sn		Sb					
X	Cs		Ba		La		Ce	Ta		W					Os Ir Pt
		Au		Hg		Tl?		Pb		Bi		Po			
Em			Ra		Ac		Th			U					

Man kann z. B. in der ersten Gruppe des Systems eine grundsätzliche Verschiedenheit zwischen den Elementen der Hauptgruppe und den Elementen der Nebengruppe in ihrem Verhalten zum Dithizon wahrnehmen. Die Alkalimetalle liefern mit dem Dithizon durchweg leicht wasserlösliche, rotgefärbte Verbindungen. Sie sind in organischen Lösungsmitteln völlig unlöslich und tragen, was Dissoziation und Reaktionen der wässrigen Lösungen anbelangt, den Charakter normaler Salze. Ganz anders verhalten sich hingegen die Metalle Kupfer, Silber und Gold der Nebengruppe. Ihre Verbindungen mit Dithizon lösen sich nicht in Wasser. Die Goldverbindung besitzt eine gelbe, die

<sup>1)</sup> Den Hinweis auf diese auch auf Grund gefundener Analysenzahlen mögliche Auffassung verdanke ich Herrn Dr. F. Feigl.