

Tabelle 3. Angew. Mengen: Benzin 500 cm<sup>3</sup> (= 11,51 g S), Adsorptionsmittel: 100 g; Temp. 200°; Versuchsdauer 1 h.

	Gel III g S	akt. Kohle g S
Filtrat . . . . .	9,28	8,27
Wasser dampfdestillat . . . . .	—	1,32
Alkohol. Extrakt . . . . .	0,82	0,55
Adsorptionsmittel . . . . .	—	0,92
	10,10	11,06

## Ergebnisse.

Eine technische Verwendung von Adsorptionsmitteln allein kommt für die Raffination eines Braunkohlenbenzins, wie die Versuche zeigen, nicht in Frage. Zu-

nächst ist hierfür die erforderliche Menge an Adsorptionsmitteln viel zu hoch und der erzielbare Entschwefelungseffekt zu gering. Hinzu kommt noch die unerwünschte Adsorption von Kohlenwasserstoffen, die aus der Abnahme der Olefine zu erkennen ist. Es besteht jedoch die Möglichkeit, daß richtig gewählte Adsorptionsmittel nach einer vorhergehenden anderweitigen Raffination zur Entfernung geringer Mengen von unerwünschten Stoffen mit Vorteil verwendet werden können.

Herrn Prof. Dr. S. Hilpert, Braunschweig, sei auch an dieser Stelle unser verbindlichster Dank ausgesprochen für sein reges Interesse und die freundliche Unterstützung, die er uns bei Durchführung der Versuche hat zuteil werden lassen.

[A. 71.]

## Fortschritte der physiologischen Chemie seit 1929.

## II. Enzyme\*).

## Fermenthämme.

Von Dr. ALBERT REID, Darmstadt.

(Eingeg. 10. April 1934.)

Inhalt: Hämme, Hämme, Hämochromogene — Atmungsmechanismus (Azotobakter) — Cytochrom — Das gelbe Ferment — Katalase — Peroxydase.

Bei einem Überblick über den Stand der Erkenntnis der katalytischen Wirkung von Hämverbindungen wird man unmittelbare Beziehungen zur angewandten Chemie vergeblich suchen; das Studium der Zellatmung hat bisher zwar wissenschaftlich sehr interessante und auch aufschlußreiche Ergebnisse gezeigt, aber man hat daraus noch keinen technischen Nutzen ziehen können. Es mag sein, daß spätere Zeiten technisch z. B. für die Züchtung von Mikroorganismen diese Befunde verwerten können, im Vordergrund des Interesses der Erforschung dieses Gebietes stehen jedoch augenblicklich medizinische Fragen. Viele Krankheiten beruhen auf oder zeigen sich an in einer Änderung des normalen Zellstoffwechsels. Es besteht also ein medizinisches Interesse, zunächst einmal die chemischen Reaktionen des normalen Zellstoffwechsels kennenzulernen. Die wichtigsten energieliefernden Reaktionen in der Zelle (Atmung und Gärung) sind Fermentreaktionen. Da man über eine Reaktion, deren Teilnehmer man nicht kennt, überhaupt nichts aussagen kann, ist es besonders wichtig, vor allem die chemische Natur der Fermente zu ermitteln. Wir werden sehen, wie weit dies im Falle der Zellatmung gelungen ist.

An einem Beispiel ist im übrigen zu erkennen, welche unvermuteten und vorläufig noch unklaren Beziehungen zwischen den Fermenten und in ihrer medizinischen und auch therapeutischen Bedeutung bereits besser erkannten Naturstoffen, z. B. den Vitaminen, gelegentlich bestehen. Der Farbstoff des „gelben Atmungsfermentes“ (s. u.) erwies sich als identisch mit dem Vitamin B<sub>2</sub><sup>1</sup>).

Schüttelt man die wäßrige Lösung eines organischen Brennstoffes, z. B. von Glucose, mit Luft, so wird kein Sauerstoff aufgenommen, die Glucose wird nicht oxydiert, organische Brennstoffe sind bei Zimmertemperatur gegenüber dem Luftsauerstoff beständig. Gibt man zu einer Glucoselösung von entsprechender Konzentration lebende Zellen und schüttelt mit Luft, so findet eine Verbrennung statt, d. h. Glucose und Sauerstoff reagieren unter Bil-

dung von Wasser und Kohlensäure. Offenbar handelt es sich hier um eine katalytische Wirkung der lebendigen Substanz. Es soll im folgenden berichtet werden, welche Fermente diese Katalyse bewirken.

Wer die verschiedenen früher aufgestellten Theorien über die zelluläre Oxydation verfolgt hat, wird sich der Schlagworte „Dehydrierung“ und „Aktivierung“ entsinnen. Seitdem wir wissen, daß der erste Schritt von der Seite des Sauerstoffs bei der Atmung der normalerweise aerob lebenden Organismen darin besteht, daß Ferroeisenatome zu Ferrieisenatomen oxydiert werden, und bei der Atmung normalerweise anaerob lebender Organismen — die also eine „unphysiologische“ Atmung besitzen — darin, daß der Sauerstoff die Leukoform eines „gelben Fermentes“ oxydiert, scheinen die genannten Schlagworte in ihrer früheren Bedeutung überlebt. Wir wissen heute, daß nicht irgendeine „aktive“ Form der Glucose durch molekularen Sauerstoff angegriffen wird, wir wissen aber auch, daß die oxydierten Formen der bekannten Fermente nicht imstande sind, gelöste Glucose direkt zu oxydieren. Der Atmungsvorgang besteht also sowohl in einer geeigneten Vorbereitung der Brennstoffe (z. B. Phosphorylierung der Glucose) als auch in der Überführung des molekularen Sauerstoffs in eine reaktionsfähige Form.

Die an der Atmung beteiligten bisher genauer erkannten Fermente sind Farbstoffe. Dieser Eigenschaft verdanken wir auch die Möglichkeit, daß wir sie in der Zelle erkennen können im Gegensatz zu farblosen Fermenten. Ein Ferment, das im Ultraviolettspektrum absorbiert, wäre in lebenden Zellen spektrographisch kaum nachzuweisen, da zu viele andere Stoffe in weit höherer Konzentration in den Zellen enthalten sind, die ebenfalls kurzwelliges Licht absorbieren. Mit Ausnahme des oben erwähnten „gelben Fermentes“, das kein Schwermetall enthält, sind die gefärbten Fermente der Atmung Hämverbindungen. Um aus den in lebenden Zellen sichtbaren Absorptionsstreifen auf die chemische Natur der Hämverbindungen und ihrer Umwandlungen schließen zu können, seien zunächst die bekannten, isolierten Hämverbindungen im Hinblick auf ihr Absorptionspektrum besprochen.

Hämme sind bekanntlich Eisenporphyrinverbindungen. Das Eisen in ihnen kann sich im zwei- und im dreiwertigen Zustande befinden. Die Ferro- und Ferri-

\*) Bereits erschienen der Abschnitt „Naturstoffe“, vgl. diese Ztschr. 47, 447 [1934]. Aus dem Abschnitt „Enzyme“ ist erschienen: Ammon: „Esterasen und Lipasen“, ebenda 47, 447 [1934]; Weidenhagen: „Carbohydrasen“, ebenda 47, 451 [1934]; Waldschmidt-Leitz: „Proteasen“, ebenda 47, 475 [1934]; Nord: „Gärung“, ebenda 47, 491 [1934].

<sup>1</sup>) Vgl. auch den Beitrag „Flavine“, S. 318.

ähmung zeigen charakteristische Unterschiede der Absorptionsspektren (vgl. Abb. 2). Durch Bindung des Eisens an verschiedene Porphyrine erhält man Hämione, die sich ebenfalls spektral unterscheiden. Man unterscheidet prinzipiell zwischen roten, mischfarbenen und grünen Hämionen. Vertreter aller drei Klassen kommen in lebenden Zellen vor. Die Hämione vereinigen sich mit organischen Stickstoffbasen, z. B. auch mit Proteinen, zu bisweilen sehr festen Verbindungen. Die Bindung an eine solche Base bewirkt ebenfalls eine charakteristische Änderung des Spektrums. Auf diese Weise lassen sich die Absorptionsbanden jedoch nicht beliebig weit verschieben, so daß man auch am Spektrum eines an eine Base gebundenen Hämins noch erkennen kann, ob es sich um ein grünes, mischfarbenes oder rotes Hämoglobin handelt.

Als Beispiel eines Hämoglobin-Absorptionsspektrums ist hier in Abb. 1 das absolute Absorptionsspektrum der Kohlenoxydverbindung des Protohämms (der Name „Hämione“ kommt korrekterweise nur den Ferri-Porphyrinen zu, die Ferro-Porphyrine heißen „Häm“) wiedergegeben.

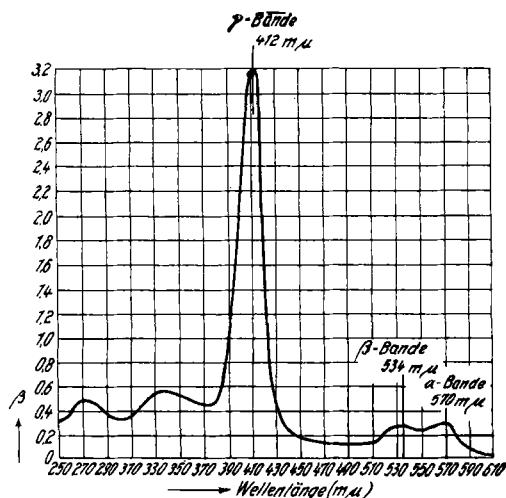


Abb. 1. Absolutes Absorptionsspektrum der Kohlenoxydverbindung des Protohämms in wässriger Cysteinlösung<sup>a)</sup>. Dimension des Absorptionskoeffizienten  $\beta$  : [cm<sup>3</sup>/Grammatome Fe].

Für die Beobachtung der Absorptionsbanden mit dem Auge ist trotz ihrer Höhe die Bande im Violett, die alle Hämione besitzen, nicht geeignet, besonders nicht für die Beobachtung in Zellsuspensionen, da das kurzwellige Licht viel stärker zerstreut und absorbiert wird als das langwellige. Unter günstigen Umständen kann man zuweilen nach Ausschaltung des grünen und gelben Lichtes durch Filter auch in Zellen direkt die Violettbanden der in ihnen in größter Menge enthaltenen Hämione sehen und photographieren (1). Bei allen Methoden, die mit geringer Gesamtlichtabsorption in den Zellen arbeiten, stören Streuung und Absorption durch andere Zellbestandteile nicht. In diesen Fällen läßt sich daher die hohe Violettbande auch viel leichter nachweisen, als die niedrigen langwirigen Banden. So verhält es sich z. B. bei der „indirekten“ photochemischen Methode von Warburg (2, 3), mit der zuerst der Nachweis der Häminkonstitution des sauerstoffübertragenden Fermentes der Atmung erbracht worden ist.

<sup>a)</sup> Über die chemische Konstitution der verschiedenen Hämione unterrichtet der Beitrag „Blutfarbstoff und Chlorophyll“ dieser Reihe, S. 294.

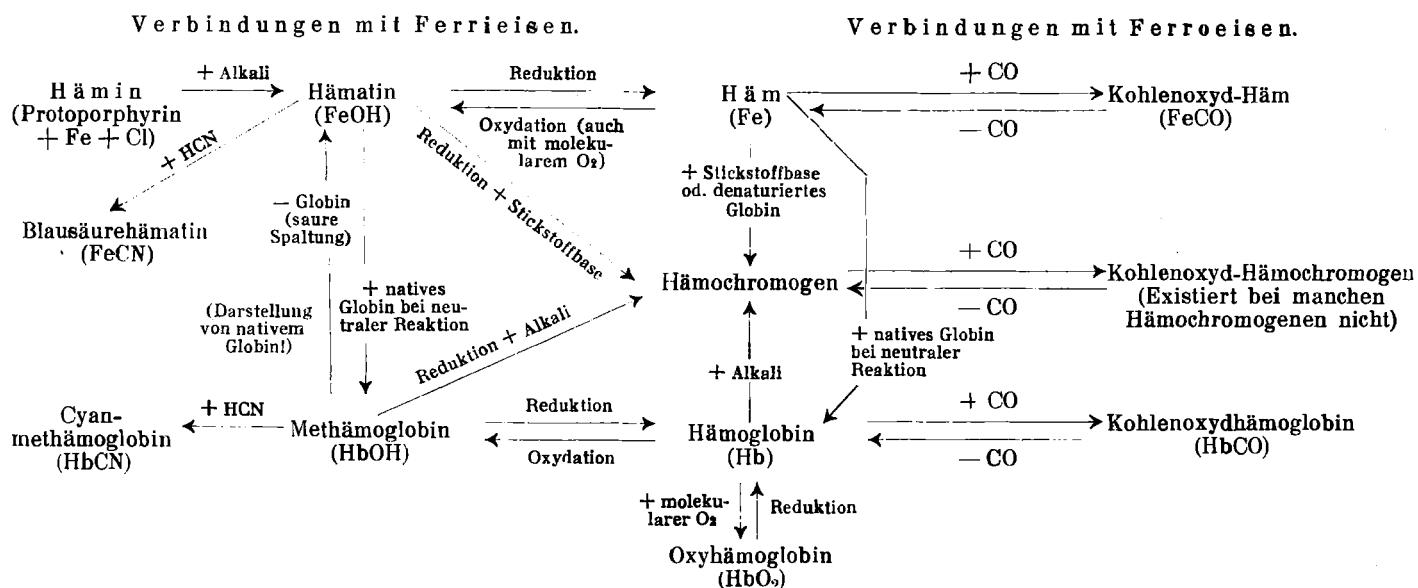
<sup>b)</sup> Nach Warburg u. Negelein, Biochem. Ztschr. 214, 64 [1929]. Spektren anderer Häminkomplexe sind bereits früher in dieser Zeitschrift wiedergegeben worden: Warburg, diese Ztschr. 45, 1 [1932].

In dem Häminspektrum der Abb. 1 erkennt man weiter zwei relativ niedrige Banden im Grün und Gelb, die sogenannten  $\beta$ - und  $\alpha$ -Banden. Diese Banden sind gut sichtbar, man charakterisiert daher die Häminkomplexe häufig nur nach der Lage der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Banden oder nach der Lage der (meist stärkeren)  $\alpha$ -Bande allein. Die roten, mischfarbenen und grünen Hämione unterscheiden sich nach Lage ihrer Banden derart, daß die Banden der roten Hämione am weitesten nach dem kurzwirigen, die der grünen Hämione am weitesten nach dem langwirigen Teil des Spektrums verschoben sind. Die Banden der mischfarbenen Hämione liegen dazwischen. Z. B. hat das Protohäm, der typische Vertreter der roten Hämione, die  $\alpha$ -Bande seines Pyridinhämochromogens (s. u.) bei 557 m $\mu$ . Die  $\alpha$ -Bande des Pyridinhämochromogens eines typischen mischfarbenen Hämions, des Spirographishämins, liegt bei 584 m $\mu$ . Die  $\alpha$ -Bande eines grünen Hämions, des Eisenphäophorbids b liegt bei 610 m $\mu$  (600—620 m $\mu$ ). Dies ist die Bande der Ferriverbindung, da die Hämochromogenbanden dieses Hämions zu undeutlich für genauere Charakterisierung sind.

Koppelt man Hämione an stickstoffhaltige organische Basen, so treten, wie schon erwähnt, kleine Verschiebungen auf. Besonders charakteristische und scharfe Banden besitzen meist die Hämochromogene, Verbindungen von Hämien mit Pyridin, Nicotin, denaturiertem Eiweiß und ähnlichen Körpern. In einem häminhaltigen Rohprodukt läßt sich durch Zugabe von z. B. Pyridin und Reduktionsmitteln am so erzeugten scharfen Hämochromogenspektrum häufig das darin enthaltene Hämion erkennen und identifizieren, wie dies z. B. im Falle der Katalase und Peroxydase (s. u.) geschehen ist. — Von den Komplexverbindungen Häminkomplexe sind zu unterscheiden Hämione, die im Porphyrinkern stickstoffhaltige Substituenten tragen. In den Komplexverbindungen vermittelt das Eisenatom die Bindung, im anderen Falle bleibt der stickstoffhaltige Teil auch nach Entfernung im Molekül und verleiht dem Porphyrin charakteristische physikalische Eigenschaften (Unlöslichkeit in Äther). Solche Porphyrine sind von Zeile (4) dargestellt worden, möglicherweise haben einige Zellhämione (Keilins Cytochrom c, (5) s. u.) eine ähnliche Konstitution. Hämione werden durch milde Oxydationsmittel, auch durch molekularen Sauerstoff, zu Hämoxiden oxydiert, dieser Eigenschaft verdankt das sauerstoffübertragende Ferment der Atmung seine katalytische Wirkung. In einigen Ausnahmefällen ist aber auch Ferro-Häm-Eisen gegen molekularen Sauerstoff beständig, z. B. in den Cytochromhämionen der Zelle. Hämoglobine, Verbindungen der verschiedenen Hämione mit nativem Globin (6), werden ebenfalls durch molekularen Sauerstoff nicht zu Ferriverbindungen oxydiert. Diese Körperlasse bindet reversibel nach Maßgabe des Sauerstoffdruckes pro Atom Eisen ein Mol O<sub>2</sub>, das Hämoglobin des Blutes ist also ein Sauerstoffträger, nicht -überträger.

Hämione, nicht Hämione, reagieren mit Kohlenoxyd im allgemeinen unter Bildung einer CO-Verbindung, die pro Atom Eisen ein Mol CO enthält. Die CO-Verbindungen weichen nach Lage der Banden meist nur geringfügig von den Hämospktren ab (vgl. Abb. 1 und 2). Die Cytochromhämione reagieren auch in der Ferroform nicht mit Kohlenoxyd. — Hämione haben im allgemeinen eine große Affinität zu Blausäure, pro Atom Eisen wird ein Mol HCN gebunden. Die Affinität der Hämione zu Blausäure ist meist geringer. Die Blausäurehämione haben im langwirigen Teil des Spektrums keine scharfen Banden. Methämoglobin, eine Ferri-Häminkomplexverbindung z. B. hat eine deutliche Bande bei 608 m $\mu$ , bei Zusatz von Blausäure (Bildung von Cyanmethämoglobin) verschwindet

## Übersicht über die verschiedenen Eisenporphyrinverbindungen.



die Bande und es tritt eine sehr verwaschene Absorption im Grün auf. — Über die Lage der Absorptionsbanden verschiedener Protohämminverbindungen orientiert als Beispiel die Abb. 2, das obige Schema soll die Nomenklatur und die chemischen Zusammenhänge der verschiedenen Komplexverbindungen veranschaulichen.

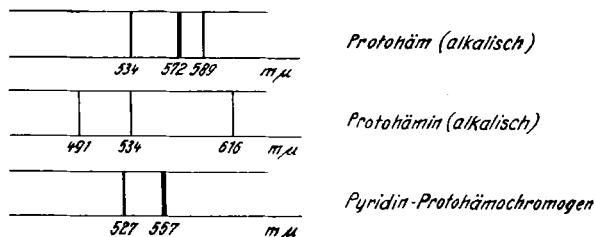


Abb. 2. Absorptionsbanden des Protohämmins, wie man sie im Handspektroskop sieht. (Zahlen nach K. Zeile und H. Hellström, Ztschr. physiol. Chem. 192, 171 [1930].)

Nachdem die spektralen und chemischen Eigenchaften der verschiedenen Hämminverbindungen erläutert wurden, soll jetzt beschrieben werden, welche Banden man in lebenden Zellen beobachten kann. Es wird gezeigt werden, welche Schlüsse auf den Mechanismus der Atmung sich daraus ziehen lassen. Um Verwirrung zu vermeiden, wollen wir hier nur ein Objekt (Azotobakter) betrachten. Azotobakter hat eine sehr große Atmung, bei 28° werden pro Milligramm Trockengewicht in der Stunde 2000 mm<sup>3</sup> O<sub>2</sub> verbraucht. Es ist klar, daß man in derartig fermentreichen Zellen am leichtesten das Ferment nachweisen kann. Durchlüftet man eine substratarme dichte Suspension von Azotobakter (Herbeiführung des „aeroben Zustandes“), so erblickt man im Spektroskop hinter der beleuchteten Suspension eine schwache Bande bei 647 m $\mu$  (7) (vgl. Abb. 3, I). Stellt man die Sauerstoffzufuhr ab (Herbeiführung des anaeroben Zustandes), so verschwindet die Bande bei 647 m $\mu$  und es tauchen eine etwas stärkere bei 632 m $\mu$  und zwei starke Banden bei 563 und 550 m $\mu$  auf (Abb. 3, II). Leitet man in die anaerobe Suspension Kohlenoxyd ein, so verschiebt sich die Bande von 632 nach 637 m $\mu$ , die beiden anderen bleiben unverändert (Abb. 3, III). Zusatz von Blausäure zur anaeroben Lösung bewirkt keine Änderung des Spektrums (Abb. 3, II), bei Zusatz von Blausäure zur durchlüfteten Suspension verschwindet schnell die Bande bei 647 m $\mu$  und die beiden starken Banden erscheinen allein (Abb. 3, IV). Zur Deutung

des Geschehenen müssen wir uns vergegenwärtigen, wie Kohlenoxyd und Blausäure auf die Atmung wirken. Beide Substanzen hemmen in genügender Konzentration die Atmung vollständig [vgl. hierzu (2) und (3)], d. h. die Sauerstoffübertragung wird durch Fermente bewerkstelligt, die mit Kohlenoxyd und Blausäure unter Bildung katalytisch unwirksamer Verbindungen reagieren. — Die anaerob sichtbaren Banden (Abb. 3, II) sind offenbar Ferroverbindungen zuzuordnen, die bei Reduktion in der Zelle vollständig in dieser Form vorliegen. Die starken Banden bei 563 und 550 m $\mu$  — dem Typ nach Hämochromogenbanden — reagieren, wie am Spektrum zu sehen, nicht mit Kohlenoxyd, sie stellen also nicht das mit dem Sauerstoff reagierende Ferment dar. Die Bande bei 632 dagegen reagiert mit Kohlenoxyd unter Verschiebung nach 637 m $\mu$ , sie ist daher als die Hämbande des sauerstoffübertragenden Fermentes anzusehen. Die entsprechende Hämminbande ist offenbar die Bande bei 647 m $\mu$ , denn diese reagiert, wie es die Theorie der Hemmung für das Ferment verlangt, mit Blausäure, indem sie verschwindet.

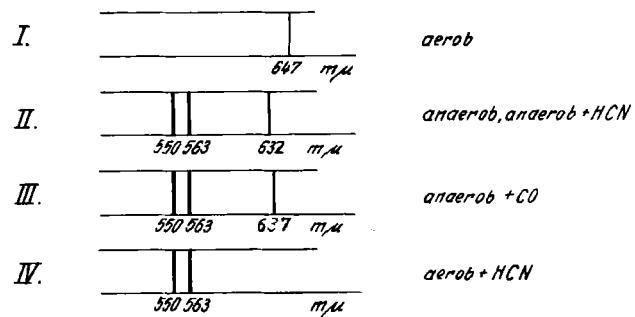


Abb. 3. Spektroskopische Erscheinungen in Azotobakter.

Die Lage der Banden ist nicht bei allen Zellen die gleiche, in Hefe und Essigbakterien z. B. liegt die  $\alpha$ -Bande der Kohlenoxydverbindung des sauerstoffübertragenden Fermentes bei 593 m $\mu$  (gegen 637 bei Azotobakter). Das Ferment der Hefe und der Essigbakterien ist, wie an der Lage der Banden zu erkennen, offenbar ein mischfarbenes Hämmin, das Ferment des Azotobakters ein grünes Hämmin. Die katalytische Wirkung der Fermenthämme ist also nicht an eine spezifische Konfiguration des Hämminmoleküls gebunden, wichtiger für die Wirkung scheint die Bindung an stickstoffhaltige Körper zu sein. Wie schon gesagt wurde, sind nicht alle Häm-Komplexverbindungen autoxydabel. Da die Atmung an die lebende intakte Zelle

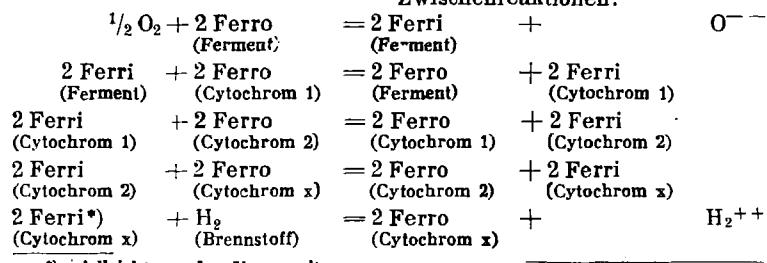
gebunden ist — die „Atmung“ von Zellextrakten verläuft nicht über kohlenoxydempfindliche Eisenverbindungen, sondern meist wohl über das „gelbe Ferment“ —, ist außer der Bindung des Hämins an vielleicht ein Protein der Sitz des Eisenatoms an einer Oberfläche wohl wesentlich für seine Wirksamkeit.

Dem diesem Gebiet ferner Stehenden werden die Verhältnisse zunächst so kompliziert erscheinen, daß er sich in dem Gewirr der verschiedenen Banden kaum zu rechtfindet. Weitere in Hefe und in Essigbakterien beobachtete Häminbanden (8, 9) sollen daher auch nicht behandelt werden, zumal deren Bedeutung noch nicht ohne weiteres zu erklären ist. Auf die Bedeutung der beiden intensiven Banden im Azotobakter (bei 563 und 550 m $\mu$ ) soll aber noch kurz eingegangen werden, weil das Verständnis für die Reaktionen des Atmungsvorganges dadurch erleichtert werden kann. Die starken Banden wollen wir zur Unterscheidung von den Fermentbanden Cytochrombanden nennen. Dies geschieht im Anschluß an den Vorschlag von *Warburg* (10), denn es besteht keine Veranlassung, den 1925 von *Keilin* (11) für die weitverbreiteten *McMunn*schen „Histohämatine“ geprägten Namen Cytochrom [vgl. auch (5)] auf die nach den Eigenschaften ihrer Banden deutlich verschiedenen Fermentbanden auszudehnen. Cytochrom sind die nicht-autoxydablen, nicht mit Kohlenoxyd und nicht mit Blausäure reagierenden Zellhämme, deren  $\alpha$ -Banden im Grün und im Gelb liegen, eine andere Verwendung des Namens „Cytochrom“ würde zu großen Verwirrungen führen.

Sind die Cytochromhämme überhaupt an der Atmung, d. h. also am Elektronentransport beteiligt? Solange man die Menge des Cytochromeisens nicht feststellen konnte, war eine Entscheidung nicht möglich; die Reduktion und Oxydation der Cytochromhämme konnte ein neben der eigentlichen Atmung einherlaufender, im übrigen physiologisch aber belangloser Vorgang sein. Kürzlich ist es *Haas* im Institut von *Warburg* gelungen, die Menge des Cytochromeisens der Bande bei 550 m $\mu$  zu messen, und zwar durch Vergleich der Intensität des durch eine einmal aerobe, dann anaerobe Hefesuspension gegangenen Lichtes der Wellenlänge 550 m $\mu$  auf lichtelektrischem Wege (12). Da die Höhe der absoluten Absorption einer Hämin- $\alpha$ -Bande ziemlich genau geschätzt werden kann, läßt sich aus der Lichtabsorption die Häminmenge berechnen. *Haas* fand weiter, daß die Reduktion des Cytochroms nach Luftabschluß mit derselben Geschwindigkeit wie die Atmung verläuft. Würde ein Teil des Elektronentransportes der Atmung nicht über das Cytochromeisen verlaufen, so müßte die Cytochromreduktion langsamer sein, als der Atmung entspricht. Dies ist aber nicht der Fall. Da also alle Elektronen das Cytochromeisen mit der Bande bei 550 m $\mu$  passieren, ist es wahrscheinlich, daß auch die Eisenatome der anderen Cytochromhämme in den Transport eingreifen. Die Atmung vollzieht sich also über folgende Zwischenreaktionen:

Schematische Übersicht über den Reaktionsverlauf bei der Zellatmung.

Zwischenreaktionen:



\*) vielleicht noch über weitere Zwischenfermente

Das Ferment wird durch den Luftsauerstoff sehr schnell oxydiert, schon bei gerade maximaler Atmung liegt das Ferment praktisch vollständig in der Ferriform vor. Die physiologische Bedeutung der Cytochromhämme könnte daher wohl darin bestehen, die Atmungsgeschwindigkeit von der Seite der Brennstoffe her möglichst konstant zu halten. Vielleicht ist aber der Elektronentransport über mehrere Stufen dazu erforderlich, damit die Zelle die ihr zufließende Energie in geeigneter Weise verwenden kann. Die Natur tut nichts umsonst, und in dem komplizierten Mechanismus der Atmung ist wohl auch eine Schutzmaßnahme gegen „unfreiwillige“, regellose Oxydation in der Zelle zu erblicken, die durch Verbrennung lebenswichtiger Stoffe schnell den Tod des Organismus herbeiführen könnte.

Rückblickend können wir feststellen, daß die Reduktion des molekularen Sauerstoffs durch die lebende Zelle uns heute kein Rätsel mehr ist. Der Sauerstoff wird durch Ferrohämmeisen reduziert, wie wir dies beispielsweise mit Protohäm in Reagensglas demonstrieren können. Größere Schwierigkeiten bietet uns heute noch die Erklärung der zellulären Oxydation der Brennstoffe durch dreiwertiges Hämineisen. Wie schon eingangs erwähnt, vermag Ferrihämmeisen nicht Glucose zu oxydieren. *Warburg* fand, ausgehend von der Sauerstoffatmung cytolysierter Blutzellen in Gegenwart von Methylenblau, daß die *Robisonsche* Hexosemonophosphorsäure in diesem System oxydiert wird, während Glucose nicht angegriffen wird. Zur Vorbereitung der Brennstoffe gehört also im Falle der Glucose zunächst eine Phosphorylierung, ähnlich wie sie im Verlaufe der Glykolyse und Gärung auftritt. *Warburg* stellte weiter fest, daß ein „Coferment“ und ein „Zwischenferment“ für die Vorbereitung des Brennstoffs erforderlich sind (13, 14). — In diesen Versuchen diente Methylenblau als „sauerstoffübertragendes Ferment“. Es leistet in entsprechender Menge das gleiche wie ein Hämin, seine Leukoverbindung ist besonders in Gegenwart geringer Kupfermengen autoxydabel. Bei der weiteren Untersuchung wurde festgestellt, daß das Methylenblau, also gleichsam das Ferrihämmeisen nicht direkt „aktiviert“ Brennstoffe oxydiert, sondern seinerseits ein weiteres Zwischenferment, einen gelben, schwermetallfreien Farbstoff, den von *Warburg* „gelbes Ferment“ (13, 14) genannten Körper.

Das gelbe Ferment besteht aus einer Farbstoffkomponente und einem hochmolekularen Träger, wahrscheinlich einem Protein. Der Farbstoff erwies sich in der Prüfung durch *Kuhn*, *György* und *Wagner-Jauregg* als identisch mit dem Vitamin B<sub>2</sub> (15\*).

Das gelbe Ferment wird durch Reduktionsmittel in seine farblose Leukoform verwandelt, die zwei Elektronen mehr enthält als die oxydierte Form. Die Leukoform wird durch Oxydationsmittel wie Methylenblau schnell, durch molekularen Sauerstoff langsamer oxydiert. In einigen normalerweise nicht atmenden Organismen, z. B. Milchsäurebazillen, die, an die Luft gebracht, Sauerstoff verbrauchen, versieht dieses gelbe Ferment die Funktion des sauerstoffübertragenden Ferments. Es ist in Milchsäurebazillen in relativ großer Menge enthalten und kann dort an seinen charakteristischen Banden (450—460 und 480—490 m $\mu$ ), wie in aerob lebenden Zellen die Hämine, erkannt werden. Es konnte nachgewiesen werden, daß Farbstoffreduktion und „Atmung“ der Milchsäurebazillen quantitativ gleich schnell ver-

\* Hierüber und über die chemische Konstitution, soweit bisher erkannt, unterrichtet der Beitrag „Flavine“ in der Reihe dieser Fortschrittsberichte, S. 318.

laufen (16), womit bewiesen ist, daß der gesamte verbrauchte Sauerstoff in diesen Zellen seinen Weg über das gelbe Ferment nimmt. Eine direkte Reaktion von molekularem Sauerstoff mit „aktivierten“ Brennstoffen, wie dies eine früher aufgestellte Theorie annahm, findet also auch in Milchsäurebazillen nicht statt.

Bisher haben wir vorwiegend Reaktionen in lebenden Zellen betrachtet. Zweifellos sind lebende Zellen das geeignete Objekt zur Erforschung der in ihnen physiologisch verlaufenden Prozesse. Das Gebiet der Fermentthämine ist aber durch das Studium einiger Zellextrakte letztthin noch bereichert worden, und zwar der Fermente **Katalase** und **Peroxydase**. Unbefriedigend ist hier, daß wir über die physiologische Bedeutung dieser Fermente weniger orientiert sind. Über die Funktion der Peroxydase in den Zellen wissen wir, wie auch *Hand* hervorhebt (17), nichts. Eine Katalase spielt wahrscheinlich eine wichtige Rolle in der Assimilation, wo primär gebildete Peroxyde zersetzt werden müssen, wobei der Sauerstoff der Assimilation gebildet wird. Da Katalase wohl in allen aerob lebenden Zellen reichlich vorhanden ist, muß man annehmen, daß sie dort benötigt wird; wofür wissen wir nicht, denn es ist nicht bekannt, ob sich bei der physiologischen Atmung Wasserstoffperoxyd bildet. Dies konnte nicht nachgewiesen werden, weil es nicht gelang, die Wirkung der Katalase durch irgendeinen Komplexbildner auszuschalten, ohne daß — wie z. B. mit Blausäure — gleichzeitig die Atmung gestoppt wurde. Die häminfreien Anaerobier, wie Milchsäurebazillen, enthalten keine Katalase, das bei ihrer unphysiologischen Atmung entstehende Wasserstoffperoxyd sammelt sich daher in beträchtlichem Maße an.

Mit dem Studium der katalatischen Wirkung von Leber und Kürbissamen hat sich vornehmlich *Zeile* beschäftigt (18). Er fand einen Zusammenhang zwischen den Häminbanden, die in den Lösungen zu beobachten waren, und katalatischer Wirkung. Die Banden der katalasehaltigen Lösung liegen bei 500, 540 und 629 m $\mu$ . Ein Hämin mit diesen Banden konnte aus den wirksamen Lösungen aber nicht isoliert werden, bei der chemischen Aufarbeitung wurde Protohämin erhalten. *Zeile* nimmt daher an, daß die Katalase Protohämin in Bindung an einen unbekannten Träger enthält, wodurch die ihrem Typ nach „Hämatin“-Banden in der genannten Weise verschoben werden sollen. Unbefriedigend hieran ist, daß das Katalasespektrum nicht durch Zusatz von Hydrosulfit verändert wird, denn Ferrihämine werden im allgemeinen durch Hydrosulfit reduziert. Da auch Oxydationsmittel wie Ferricyankalium die Katalasebanden unbeeinflußt lassen, kann aber auch kein Häm vorliegen. Die Identität der sichtbaren Häminverbindung mit der Katalase wird gesichert durch die Feststellung, daß bei der Beobachtung der Dissoziation der inaktiven Katalase-Blausäureverbindung sowohl am Spektrum als auch an der Wirksamkeit entsprechende Werte erhalten werden.

Das Katalasespektrum sieht man sowohl in Leber- als auch in Kürbissamenpräparaten, die Kürbiskatalase wurde von *Zeile* im Verhältnis zum Hämingehalt allerdings als dreimal wirksamer befunden als die Leberkatalase.

Protohämin selbst besitzt schon eine geringe katalatische Wirkung. In der Katalase, die nach *Stern* (19) ein Molekulargewicht von 68 900 besitzt (wie Hämoglobin), ist das Hämin wahrscheinlich an ein Protein, und zwar ein albuminähnliches Protein gebunden, da der isoelektrische Punkt der Katalase bei pH 5,58 liegt.

Gereinigte Peroxydase Lösungen zeigen zwar keine scharfen Häminbanden, nach *Hand* (17) nur eine verwaschene Absorption bei 410 m $\mu$  ( $\gamma$ -Bande), aber sie geben deutliche Hämochromogenreaktion. Nach Lage der Banden handelt es sich hier ebenfalls um Protohämin, für die Identität des Hämins mit der Peroxydase spricht die beobachtete Parallelität zwischen Wirksamkeit und Hämingehalt. Protohämin selbst ist schon schwach peroxydatisch wirksam, wie im Falle der Katalase wird auch hier durch die Bindung an einen anderen Körper die Wirksamkeit außerordentlich gesteigert. Derartige Steigerungen sind auch an Modellen beobachtet worden, z. B. durch die Adsorption von Eisensalzen an Graphit ist die geringe katalatische Wirkung von Eisenionen außerordentlich gesteigert worden (20).

Über einen „Wirkungsmechanismus“ der Katalase und der Peroxydase können wir nicht viel aussagen. Ein Valenzwechsel des Eisens während der Reaktion ist nicht zu beobachten, und man nimmt an, daß diese Fermente nur in ihrer Ferriform die katalytischen Eigenschaften entfalten (20), wofür auch die Nichthembarkeit durch Kohlenoxyd spricht, das nur mit Ferroverbindungen reagiert, und die Hembarkeit durch Blausäure, die vorzüglich mit Ferriverbindungen reagiert.

#### Literatur.

- (1) *O. Warburg u. E. Negelein*, Biochem. Ztschr. 233, 486 [1931]; 238, 135 [1931]. — (2) *O. Warburg*, diese Ztschr. 45, 1 [1932]. — (3) *A. Reid*, Erg. Enzymf. 1, 325 [1932]. — (4) *K. Zeile*, Ztschr. physiol. Chem. 207, 35 [1932]; vgl. auch diese Ztschr. 45, 351 [1932]. — (5) *D. Keilin*, Erg. Enzymf. 2, 239 [1933]. — (6) *O. Warburg u. E. Negelein*, Biochem. Ztschr. 244, 9 [1932]. — (7) *E. Negelein u. W. Gerischer*, ebenda 268, 1 [1934]. — (8) *O. Warburg, E. Negelein u. E. Haas*, ebenda 266, 1 [1933]. — (9) *O. Warburg u. E. Haas*, Naturwiss. 22, 207 [1934]. — (10) *O. Warburg u. E. Negelein*, ebenda 22, 206 [1934]. — (11) *D. Keilin*, Proceed. Roy. Soc., London (B) 98, 312 [1925]. — (12) *E. Haas*, Naturwiss. 22, 207 [1934]. — (13) *O. Warburg u. W. Christian*, Biochem. Ztschr. 254, 438 [1932]. — (14) *O. Warburg u. W. Christian*, ebenda 266, 377 [1933]. — (15) *R. Kuhn*, *P. György u. Th. Wagner-Jauregg*, Mitt. d. Kaiser Wilhelm-Gesellschaft 2, 12 [1933]; vgl. auch diese Ztschr. 47, 105 [1934]. — (16) *O. Warburg u. W. Christian*, Biochem. Ztschr. 260, 499 [1933]. — (17) *D. B. Hand*, Erg. Enzymf. 2, 272 [1933]. — (18) *K. Zeile u. H. Hellström*, Ztschr. physiol. Chem. 192, 171 [1930]. *K. Zeile*, ebenda 195, 39 [1931]. — (19) *K. G. Stern*, ebenda 217, 273 [1933]. — (20) *R. Kuhn*, diese Ztschr. 45, 353 [1932].

[A. 45.]

Chemie und Bakteriologie für die Praxis durchaus nutzbringend ist<sup>2)</sup>. Die norwegische Fischindustrie, aus kleinen Anfängen zum viertgrößten Ausfuhrgewerbe Norwegens emporgestiegen, ist in steigendem Maße dazu übergegangen, Hand in Hand mit der Wissenschaft zu arbeiten. Sie hat zu diesem Zwecke den Verein norwegischer Konservenfabrikanten gegründet, der bei der Regierung den Erlass des Gesetzes vom 22. Juli 1928 über

<sup>2)</sup> Vgl. die Gründung des Fachausschusses für die Forschung in der Lebensmittelindustrie im Verein Deutscher Ingenieure und Verein deutscher Chemiker, diese Ztschr. 44, 144, 443 [1931]; 45, 419 [1932]; 46, 377 [1933]; 47, 392 [1934]; ferner „Forschung bei uns und im Ausland“, Chem. Fabrik 7, 189 [1934].

## VERSAMMLUNGSBERICHTE

### Forschung für die Lebensmittelindustrie im Auslande.

(Vortrag<sup>1)</sup> von Dr. Gulbrand Lunde, Direktor des Forschungslaboratoriums für die norwegische Konservenindustrie zu Stavanger).

Überall breicht sich auch in denjenigen Zweigen des Lebensmittelgewerbes, die bis in die jüngste Zeit hinein auf rein empirischer Grundlage arbeiteten, mehr und mehr der Gedanke Bahn, daß die Anwendung der Erkenntnisse der

<sup>1)</sup> Am 11. Juni 1934 im Institut für Meereskunde der Universität Berlin auf Einladung der Dozentenschaft.