

Isotope in der biochemischen Forschung*)

Von Dr.-Ing. habil. CURT ENDERS, Wiss. Station f. Brauerei in München

Natürliche radioaktive Elemente.

Die Tatsache, daß durch radioaktive Strahlung noch 10^{-17} g eines Stoffes nachgewiesen werden können, während selbst durch Spektroskopie nur Mengen bis 10^{-10} g und durch die genauesten gewichts- und maßanalytischen Methoden solche bis zu $\sim 10^{-8}$ g erfaßbar sind, veranlaßte Hevesy bereits 1921, die Möglichkeit der Verwendung natürlicher Radioelemente als Indikatoren bei biochemischen Studien zu prüfen. Dabei ergab sich, daß von vornherein nur etwa 8 Elemente der Uran-, Thorium- und Aktiniumreihen auf Grund ihrer mehr oder weniger günstigen Halbwertszeiten verwendbar sind.

Läßt man eine Pflanze in einer bleihaltigen Lösung wachsen, dann wandert dieses Element über die Wurzeln in alle Teile der Pflanze und kann quantitativ in der Asche des Stengels, der Blätter, der Früchte usw. bestimmt werden. Wenn die Pflanze nach einer gewissen Zeit in eine gewöhnliche Nährlösung, die kein Blei enthält, gebracht wird, bleibt die aufgenommene Bleimenge in der Pflanze, so daß man annehmen könnte, sie sei fest gebunden. Wenn man eine Pflanze aber zunächst in einer Nährlösung mit radioaktivem Blei wachsen läßt, bis sich ein Gleichgewicht einstellt, und dann in eine Lösung mit derselben Konzentration an gewöhnlichem Blei bringt, dann findet man, daß die radioaktiven Atome die Pflanze verlassen und an ihre Stelle gewöhnliche Bleiatome treten. Die Bleiatome sind also nicht fest in der Pflanze eingebaut, sondern ständig in Bewegung. Man muß demnach einen ständigen Abbau und Aufbau der organischen Bleiverbindungen annehmen. Diese Labilität der Verbindungen und die Beweglichkeit der Atome im lebenden Organismus ist unerwartet und erstaunlich. Sie konnte jedoch auch bei entsprechenden Versuchen mit anderen Isotopen, auf die später eingegangen wird, mehrfach bestätigt werden.

Mit dem Wismutisotop Radium E als Indicator wurde der Verbleib des Wismuts im Körper bei Syphiliskuren studiert und gefunden, daß ein beträchtlicher Betrag dieses Metalls längere Zeit im Körper verbleibt und die antisyphilitische Wirkung aufrechterhält. Wertvolle Aufschlüsse konnten auch über die Resorption verschiedener Wismutverbindungen im Körper gewonnen werden. So wird z. B. im Tumor ungleich mehr Wismut aufgespeichert als im normalen Gewebe.

Eine interessante Anwendung fand der Indicator Thorium B zur Bestimmung der Blutmenge eines lebenden Tieres. Eine kleine Menge defibrinierten Blutes eines Kaninchens wurde mit einer schwach alkalischen Lösung von Thorium B versetzt und eine kleine Menge dieses Genisches in eine Vene injiziert. Dieses radioaktive Blut mischte sich rasch mit dem Blut des ganzen Kreislaufsystems, so daß aus der Radioaktivität von Blutproben die gesamte Blutmenge errechnet werden konnte.

Eine Grundlage für das Studium des organischen Stoffwechsels konnten die radioaktiven Schwermetalle nicht darstellen, da sie im Organismus immer als Fremdkörper erscheinen und man von ihnen auch in Spuren physiologische Störungen zu erwarten hatte. Nach diesen ersten Versuchen *Hevesy* wurde es daher bald still um die Isotope als Indikatoren im Organismus.

Natürlich vorkommende inaktive Isotope.

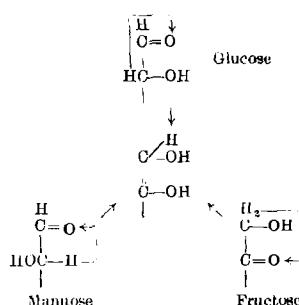
Größere Möglichkeiten waren erst geschaffen, als es 1933 gelungen war, das schwere Isotop des Wasserstoffs, das Deuterium¹⁾, zu isolieren. Damit konnte man erstmalig eines jener Elemente, die in Form der organischen Verbindungen Träger des Lebens sind, markieren, ohne befürchten zu müssen, Fremdkörper in den Organismus zu bringen, wie das z. B. bei Chlor- oder Phenylderivaten der Fall ist.

Die Bestimmung des Deuteriumgehaltes einer organischen Verbindung erfolgt durch Verbrennung wie bei der Elementaranalyse, nur mit dem Unterschied, daß das schwere Wasser nicht an ein

hygroskopisches Salz adsorbiert, sondern mit fester Kohlensäure ausgefroren wird. Durch nochmaliges Destillieren über erhitztes Kupferoxyd, nochmaliges Ausfrieren und schließlich Destillation im Vakuum über Ätzkali und Kaliumpermanganat wird ein absolut reines Gemisch aus Wasser und Deuteriumoxyd erhalten.

Das Deuterium kann in organischen Verbindungen labil gebunden sein, d. h. ohne weiteres durch den Wasserstoff von Wasser wieder ersetzt werden, wie in den Atomgruppen $-\text{C}-\text{OH}$, $=\text{C}-\text{OH}$, $=\text{N}-\text{H}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{COOH}$ u. a. Das an Kohlenstoffatome gebundene Deuterium ist dagegen i. allg. stabil eingebaut. Für Stoffwechselversuche, die über den Verbleib bestimmter, durch Deuterium markierter Verbindungen Aufschluß geben sollen, ist natürlich nur die stabile Bindung brauchbar. Es kann in diese Bindung entweder durch Totalsynthese durch einen in Deuteriumoxyd-Wasser-Gemisch wachsenden Organismus oder direkt mit sehr konzentrierten Deuteriumoxydösungen besonders in stark saurem Medium gebracht werden. Schließlich kann es im besonderen Fall der Reduktion eines Ketons über das Keto-Enol-Gleichgewicht direkt an Kohlenstoffatome stabil gebunden werden. Die katalytische Hydrierung von Doppelbindungen mit Deuteriumgas verläuft wegen der Trägheit des Deuteriums bedeutend langsamer als die mit Wasserstoff. Auch viele physiologische Reaktionen verlaufen in hohen Konzentrationen von schwerem Wasser langsamer als in gewöhnlichem Wasser; der Mechanismus dieser Beeinflussung ist jedoch noch nicht geklärt.

In Lösungen von Zucker in 95%igem Deuteriumoxyd wachsen Aspergillus- und Penicilliumarten nur halb so schnell wie in gewöhnlichem Wasser. Wenn auch beim Wachsen in geringeren Konzentrationen von Deuteriumoxyd die Vermehrung von *Saccharomyces cerevisiae* nicht beeinträchtigt wird, so scheint der schwere Wasserstoff doch den Stoffwechsel der Zellen zu beeinflussen, denn der Glykogengehalt der in schwerem Wasser gezüchteten Hefen wurde doppelt so hoch gefunden, wie der von in gewöhnlichem Wasser gezogenen Vergleichshefen. Als man Hefe 4 bis 14 Tage in 50%igem schweren Wasser unter Zusatz von Hexosen, Ammonstickstoff und Nährsalzen wachsen ließ²⁾), wurden 18,8 % der Hefetrockensubstanz durch Deuterium ersetzt. Von den Kohlenhydraten der Hefe enthielten am meisten Deuterium jeweils die Polysaccharide (Glucosane) der Zellwandmembran. Während der aus Mannose aufgebaute Hefegummi bei Anwendung von Mannose als Nährstoff nur die Hälfte (5,5 %) des Deuteriumgehalts wie bei Ernährung mit Glucose oder Fructose enthielt, wies Glykogen den niedrigsten Deuteriumgehalt bei Ernährung mit Fructose (4,5 %) auf. Da in der Hefe unabhängig von den Kohlenhydraten der Nährlösung stets die gleichen Polysaccharide gebildet werden, müssen Umwandlungsmöglichkeiten zwischen ihnen bestehen. Man nimmt an, daß dieser Umwandlungsmechanismus ähnlich



einander. Der stabile Einbau von Deuterium in eine Verbindung kann unter physiologischen Verhältnissen nur durch tiefgreifende Veränderungen erfolgen, so daß ein großer Deuteriumgehalt im Polysaccharid für einen längeren Reaktionsweg, ein geringer für einen kürzeren Reaktionsweg spricht. Da der Hefegummi aus Mannanen besteht, bestätigt der Befund, daß von den verschiedenen Nährhexosen die Mannose zum geringsten Deuteriumgehalt führt, die Erwartung. Überraschend ist jedoch, daß das aus Glucose aufgebaute Glykogen den niedrigsten Deuteriumgehalt in den

•) Öffentliche Probevorlesung vor der Chemischen Fakultät der T. H. München am 8. Juli 1939.

3) Über die Anwendung von Isotopen in der chemischen Forschung vgl. den Aufsatz von *Geb*, diese Ztschr. 51, 622 [1938], der auch über Vorkommen, Herstellung u. Bestimmung der Isotopen unterrichtet. Über das Deuterium vgl. die Diskussionstagung der Deutschen Bunsengesellschaft im September 1937, ebenda 59, 955 [1937].

²⁾ Salter u. Bonhoeffer, Z. physik. Chem. Abt. A **176**, 202 [1936]; Günther u. Bonhoeffer, ebenda **180**, 185 [1937].

Hefen hatte, die mit Fructose ernährt worden waren. Man muß daraus schließen, daß die Glykogensynthese im pflanzlichen Organismus von einem Umwandlungsprodukt sowohl von Glucose als auch von Fructose ausgeht, welches der Fructose chemisch näher steht. Diese Vorstellung findet eine Stütze in der Feststellung *Meyerhofs*³), daß die Glykogenbildung in der Leber leichter aus Fructose als aus Glucose erfolgt.

Vielelleicht können die mit Deuterium gewonnenen Vorstellungen über die Umwandlungen der Hexosen in Glykogen Licht in unsere Kenntnis über die erste Phase der alkoholischen Gärung bringen, bei der nach verschiedenen jüngeren Untersuchungen⁴⁾ eine primäre Glykogenbildung stattfinden kann.

Die alkoholische Gärung von Glucose und Saccharose verläuft um so langsamer, je höher der Deuteriumgehalt der Lösung ist. In 100%igem Deuteriumoxyd erfolgt sie nur halb so schnell wie in reinem Wasser⁵). Dabei wurde ein Alkohol der Zusammensetzung $\text{CH}_2\text{D}\cdot\text{CD}_2\text{OH}$ erhalten. Ebenso wie auf den Zymasekomplex konnte eine Hemmwirkung des schweren Wassers auch für andere Enzyme, z. B. für Dehydrogenasen, Amylasen u. a. festgestellt werden. Diese Beeinträchtigung scheint auf einem Angriff des schweren Wassers auf das Enzymsystem, nicht auf das Substrat, zu beruhen, denn die Aktivität eines Amylasepräparates nahm durch Behandlung mit Deuteriumoxyd ab, während sich in der Verzuckerungsgeschwindigkeit einer mit Deuteriumoxyd behandelten Stärke kein Unterschied gegenüber normaler Stärke zeigte.

Für das Studium derjenigen enzymatischen Reaktionsmechanismen, bei denen Wasserstoffverschiebungen eine Rolle spielen, wird — nach einigen schon vorliegenden Arbeiten⁶⁾ — zu schließen — die Anwendung von Deuterium noch recht wertvoll werden.

Für die Verwendung des schweren Wasserstoffs als Indicator für Stoffwechselversuche ist seine physiologische Wirkung in hohen Konzentrationen belanglos, denn hier genügen wegen der leichten Nachweisbarkeit schon ganz geringe Mengen Deuterium. Die Tatsache, daß das Verhältnis von Deuterium zu Protium (Wasserstoff der Masse 1) in den Flüssigkeiten der Organe und in Pflanzensaft das gleiche ist wie im natürlichen Wasser, beweist, daß dem Organismus das Unterscheidungsvermögen zwischen den Wasserstoffisopen in geringen Konzentrationen fehlt.

Ohne auf die mit Hilfe von Deuterium als Indicator von *Hevesy* u. Mitarb.⁷⁾ durchgeführten Permeabilitätsuntersuchungen an der Froschhaut und an Fischeiern näher einzugehen, die zum erstenmal eine quantitative Verfolgung des Wasseraustauschs ermöglichten, sei im folgenden das Wesentliche der wohl bedeutendsten Arbeiten auf dem Gebiete der Stoffwechselversuche mit Isotopen, der von *Schönheimer* u. *Rittenberg*⁸⁾, wiedergegeben.

Diesen amerikanischen Forschern gelang es, mit Hilfe des Deuteriums, eine Reihe von neuen Erkenntnissen über den **Fettstoffwechsel** zu erhalten.

Während man bisher annahm, daß die Fettdepots im Körper sozusagen eine Rücklage für Notzeiten darstellen, konnten nun *Schönheimer* u. *Rittenberg* zeigen, daß dies nicht der Fall ist, sondern daß ganz allgemein auch im Hungerrzustand durch die Nahrung zugeführte Fettsäuren zunächst im Fettdepot abgelagert werden und erst von da aus ihr weiterer Abbau erfolgt. So fanden sie bei sonst nur mit Kohlenhydraten ernährten Mäusen nach viertägiger Fütterung mit 1% deuterofetthaltiger Nahrung (durch katalytische Deuterierung der ungesättigten Fettsäuren des Leinöls erhaltenen Deuterofettsäuren) 47% des Deuterofettes in den Depots wieder.

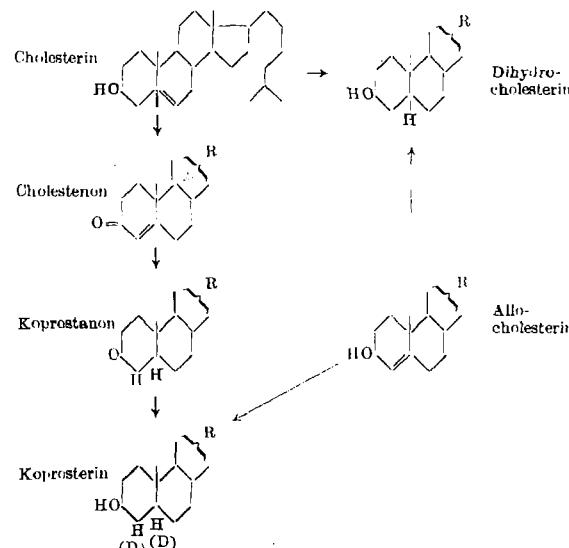
Seit 25 Jahren vermutet man, nach einer von *Leathes* u. *Wedell* aufgestellten Theorie, daß der Abbau der Fettsäuren im Organismus neben anderen Reaktionsmechanismen, wie z. B. der β -Oxydation, über primär gebildete ungesättigte Fettsäuren verläuft. Trotz vieler früherer Versuche

konnte eine eindeutige experimentelle Bestätigung für diese Ansicht erst durch *Schönheimer* u. *Rittenberg* erbracht werden. Mäuse wurden bestimmte Zeiten mit Deuterofettsäurestern gefüttert, getötet und ihr Gesamtfett isoliert. Die durch Verseifung erhaltenen Fettsäuren wurden durch eine neuartige Methode, bei der Deuterium als Indicator verwendet wird, in die gesättigten und ungesättigten Säuren getrennt. Der hohe Deuteriumgehalt der ungesättigten Fettsäuren beweist den primären Übergang der Fettsäuren bei ihrem physiologischen Abbau in den ungesättigten Zustand.

Eine weitere äußerst interessante Studie betrifft die Synthese der Fettsäuren. Es zeigte sich, daß bei Erhöhung des Deuteriumoxydgehaltes des Blutes von nur mit Weißbrot ernährten Mäusen nach 6—8 Tagen eine maximale Bildung an deuteriumhaltigen Fettsäuren erfolgte. Damit ist bewiesen, daß der Körper die Kohlenhydrate in verhältnismäßig kurzer Zeit in Fette umbauen kann. Die Möglichkeit, daß am Fettsäuremolekül selbst ein Austausch von Wasserstoff gegen das Deuterium des schweren Wassers, z. B. enzymatisch, erfolgt, konnte verneint werden, denn die Fettsäuren von sich entwickelnden Hühnereiern, die alle im Tierkörper auftretenden bekannten Enzymsysteme enthalten, nehmen kein Deuterium auf, wenn man die Eier in einem Medium von schwerem Wasser zur Entwicklung gelangen läßt.

Mit der gleichen Methode wurde auch die Verteilung des Deuteriums auf das Körpereiweiß von Mäusen studiert. Nachdem in vitro-Versuchen die Bedingungen für den Eintritt von Deuterium in die verschiedenen Aminosäuren und die Stabilität des Aminosäure-Deuteriums untersucht waren, wurden Mäuse, deren Körperflüssigkeit man längere Zeit auf einen erhöhten Deuteriumgehalt gebracht hatte, getötet und in 20%iger Salzsäure hydrolysiert. Mit Ausnahme des Lysins enthielten alle isolierten Aminosäuren stabil gebundenes Deuterium, u. zw. mehr als sie bei der Behandlung in vitro aufgenommen hatten.

Für die Brauchbarkeit der Isotope auch zur Aufdeckung ganz spezifischer Reaktionsmechanismen haben *Schönheimer*, *Rittenberg* u. Mitarb. in der **Steringruppe** einige schöne Beispiele gebracht.



Es ist bekannt, daß Cholesterin im Tierkörper, besonders bei Fleischnahrung, unter Mitwirkung der Darmbakterien in den Fäces als Koprosterin ausgeschieden wird. Diese Umwandlung kann nicht auf einer einfachen biochemischen Hydrierung der Doppelbindung des Cholesterins beruhen, denn man erhält bei der Reduktion von Cholesterin niemals Koprosterin, sondern das mit ihm sterisch isomere Dihydrocholesterin. Andererseits wird aus dem Allocholesterin mit der Doppelbindung in 4,5-Stellung bei der katalytischen Hydrierung ein Gemisch von Kopro- und Dihydrocholesterin gebildet. Diese Reaktion dürfte jedoch im Körper nicht stattfinden, da man niemals Allocholesterin im Organismus auch nur in Spuren fand. Dagegen kann, wie *Grashoff*⁹⁾ sowie *Ruzicka* u. Mitarb.¹⁰⁾ gezeigt haben, das Cholesterin ausschließlich in Koprosterin übergeführt werden, wenn es zuerst zu Cholestenon

³⁾ *Meyerhof* u. *Lohmann*, Biochem. Z. **271**, 89 [1934], **272**, 80 [1934], **273**, 73 [1934], **276**, 289 [1935].

⁴⁾ *Willstätter* u. *Rhodewald*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **209**, 38 [1932]; *Schäffner* u. *Krusen*, ebenda **243**, 149 [1936]; *Silberstein*, Woch. Brauerei **53**, 317, 330, 331 [1936].

⁵⁾ *Reitz*, Z. physikal. Chem. Abt. A **175**, 257 [1936].

⁶⁾ *Sonderhoff* u. *Thomas*, Naturwiss. **24**, 570 [1936]; *Liebigs Ann. Chem.* **530**, 195 [1937].

⁷⁾ *Hevesy*, *Hofer* u. *Krogh*, Skand. Arch. Physiol. **72**, 199 [1935]; *Bonhoeffer*, Z. Elektrochem. angew. physik. Chem. **48**, 87 [1938].

⁸⁾ *Schönheimer*, *Rittenberg* u. Mitarb., J. biol. Chem. **111**, 163, 169, 175, 183 [1935]; **113**, 505; **114**, 381; **115**, 635 [1936]; **117**, 485; **120**, 155 [1937].

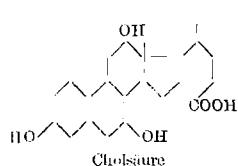
⁹⁾ *Grashoff*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **223**, 250 [1934], **225**, 197 [1934].

¹⁰⁾ *Ruzicka* u. Mitarb., Helv. chim. Acta **17**, 1407 [1934].

oxydiert wird, wobei eine Verschiebung der Doppelbindung in 4,5-Stellung erfolgt. Diese kann mit Palladium-Wasserstoff reduziert werden; durch weitere katalytische Reduktion der Ketogruppe des erhaltenen Koprostanons mit Platin und Wasserstoff entsteht schließlich Koprosterin.

Wenn dieser Reaktionsmechanismus tatsächlich auch im Körper stattfindet, muß bei Verfütterung dieser Zwischenstufen ebenfalls Koprosterin ausgeschieden werden. Durch Verfütterung von Koprostanon 4,5-D₂, das durch katalytische Hydrierung von Cholestanon mit Deuteriumgas in trockenem Äther und anschließende Reinigung über das Digitonid erhalten wurde, an einen Hund und an einen Menschen gelang dieser Nachweis. Beide schieden im Kot deuteriumhaltiges Koprosterin aus. Damit war der bisher vermutete Reaktionsverlauf experimentell *in vivo* bewiesen.

Das Cholesterin selbst scheint im Körper aus verhältnismäßig kleinen Bausteinen aufgebaut zu werden, denn es konnte gezeigt werden, daß Mäuse, deren Blut durch Injektion auf einem Gehalt von 1,5% schwerem Wasser gehalten wurde, in ihrem Cholesterin einen beträchtlichen Prozentsatz an Deuterium enthielten, der darauf schließen läßt, daß mindestens 22 Atome des Cholesterinmoleküls in irgendeinem Stadium der Cholesterinbildung mit der Körperflüssigkeit austauschbar waren.



Die Tatsache, daß Cholesterin und die Gallensäuren das gleiche reduzierte Cyclo-penteno-phenanthren-Ringsystem enthalten, hat zu der Vermutung Anlaß gegeben, daß letztere aus ersterem entstehen. Es wäre anzunehmen, daß dieser Umbau ebenso wie die Koprosterinbildung über das Koprostanon führen sollte. Da sich jedoch nach der Injektion einer Suspension von Koprostanon 4-5-D₂ in Hunde mit Gallenfisteln keinerlei deuteriumhaltige Gallensäuren nachweisen ließen, ist diese Vermutung zu verneinen. Nach Ansicht von Schönheimer u. Rittenberg ist daraus zu folgern, daß eine genetische Verwandtschaft zwischen den Sterinen und Gallensäuren im Körper überhaupt nicht besteht und beide sowie auch die Sexualhormone unabhängig voneinander im Körper synthetisiert werden.

Nachdem sich mit Hilfe von Deuterium so wertvolle Einblicke in einige Teilgebiete biochemischen Geschehens ergeben hatten, war man natürlich bestrebt, auch **Isotope der anderen Bioelemente** zu ähnlichen Untersuchungen zu verwenden. Obwohl gerade eine Differenzierung der Kohlenstoffatome organischer Verbindungen mit Hilfe der Kohlenstoffisotope das größte Interesse des Organikers und des Biochemikers beanspruchen, dürfte diese Möglichkeit — besonders, was das stabile, nichtradioaktive Isotop angeht — wegen der Schwierigkeiten der Auffrischung vorerst von der Verwirklichung noch weit entfernt sein.

Der schwere Stickstoff mit der Masse 15 kann aus Ammoniak durch fraktionierte Destillation hergestellt werden. Schönheimer u. Rittenberg¹¹⁾ haben mit Hilfe der Knoppschen Metiode durch katalytische Reduktion der entsprechenden Ketosäuren in Gegenwart von schwerem Ammoniak bereits Alanin, Phenylalanin, Glutaminsäure, Tyrosin und Norleucin hergestellt. Sie enthielten alle 2,34 Atom-% N¹⁵. Glykokoll mit schwerem Stickstoff in der Aminogruppe wurde nach Gabriel mit Hilfe von Phthalimidkalium hergestellt. Mit dieser Aminosäure wurden quantitative Versuche über die Hippursäurebildung im Organismus durchgeführt. Auch mit dem Studium der Verwertung von Ammoniumstickstoff im Körper für den Aufbau der Amino- und Guanidogruppen wurde mit Hilfe des schweren Stickstoffs begonnen.

Schwerer Sauerstoff ist mit Ausnahme einiger Austauschreaktionen bei Essigsäure, Amylacetat und bei der Benzalsäureumlagerung noch wenig verwendet worden. Aten u. Hevesy¹²⁾ fanden, daß durch Injektion in Form von schwerem Natriumsulfat in den Kaninchenskörper gebrachter schwerer Sauerstoff nicht gegen andere Sauerstoffatome im Organismus ausgetauscht wird.

Untersuchungen über das Schicksal von schwerem Sauerstoff bei der tierischen Atmung durch Bestimmung der Schwere des ausgetausneten Kohlendioxys wurden begonnen.

¹¹⁾ Schönheimer u. Mitarb., J. Amer. chem. Soc. **59**, 1768 [1937]; J. biol. Chemistry **127**, 285, 291, 301, 315, 319, 329, 333 [1939].

¹²⁾ Referat, Nature **143**, 709 [1939].

Die weiteren Bioelemente Phosphor und Schwefel werden in Form ihrer künstlich hergestellten radioaktiven Isotope als biochemische Indikatoren verwendet.

Künstlich hergestellte radioaktive Isotope.

Die Möglichkeit, ein Element im Körper durch seine Strahlung zu verfolgen, brachte die beim Arbeiten mit den stabilen Isotopen notwendige sorgfältige Reinigung in Wegfall und gestattete, eine Bestimmung bereits in den betreffenden Rohprodukten, z. B. in der Asche, vorzunehmen, wodurch eine außerordentliche Vereinfachung gegeben war.

So wird z. B. künstlich radioaktiver Phosphor durch Oxydation mit Salpetersäure in radioaktives Phosphat übergeführt und als solches in geeigneten Konzentrationen als Indicator im Organismus verwendet und der Gehalt bestimmter Verbindungen oder Organteile durch Ermittlung der Radioaktivität ihrer Asche festgestellt. Eine Schädigung des Organismus durch die Strahlung ist nicht zu erwarten, da der zur Markierung verwendete Anteil an radioaktivem Isotop wegen der leichten Nachweisbarkeit äußerst gering gewählt werden kann.

Über die Verwendung des künstlichen radioaktiven Phosphors, dessen Halbwertszeit von 14 Tagen für physiologische Untersuchungen sehr günstig ist, wurden bisher hauptsächlich in Dänemark und in den Vereinigten Staaten Versuche durchgeführt. Untersuchungen über die Phosphatwanderung in Pflanzen¹³⁾ wurden an Mais- und Sonnenblumenpflänzchen gemacht. Nachdem diese Pflanzen vorher in gewöhnlicher Nährösung gezogen waren, wurden sie in eine solche mit aktivem Phosphat gebracht und der Gehalt ihrer Blätter an radioaktivem Phosphat während des Wachstums in dieser Zeit bestimmt. Es zeigte sich dabei, daß die in den Blättern vorhandenen Phosphoratome in kurzer Zeit mit großer Leichtigkeit austauschen können; denn nach vierzigem Wachstum enthielten die unteren Blätter 80% der Aktivität der oberen. Entsprechende Untersuchungen an Hefe¹⁴⁾ ergaben, daß bei dieser kein Austausch zwischen den Phosphoratomen im Organismus und denjenigen der Kulturlösung stattfindet. Die Ursache dürfte darin zu suchen sein, daß der Phosphorgehalt der Hefe fast ausschließlich in nichtaustauschbarer Form in organischen Verbindungen, wie Hexosephosphaten, Adenylphosphorsäure und anderen vorliegt, oder daß die Zellwand der nichtwachsenden Zelle undurchlässig für Phosphationen ist.

Zahlreich sind die Arbeiten mit radioaktivem Phosphor am tierischen Organismus. Der Befund, daß beim Schütteln von festem Calciumphosphat in aktiver Phosphatlösung radioaktiver Phosphor in das feste Phosphat wandern kann, deckt sich mit der Beobachtung, daß sich radioaktives Phosphat sehr rasch im Organismus verteilt und besonders in den Knochen, aber auch im Zahnschmelz zur Ablagerung gelangen kann¹⁵⁾. Interessant ist, daß die Stärke des Phosphataustausches bei den verschiedenen Knochen verschieden ist. Die Ablagerung erreicht jeweils nach einer gewissen Zeit ein Maximum; daraus kann auf die Geschwindigkeit des Austausches geschlossen werden.

Sehr wertvoll erwies sich der Radiophosphor beim Studium des Phosphatidstoffwechsels. Da, wie auch die Untersuchungen an Hefe zeigen, organisch gebundener Phosphor nicht durch anorganisch gebundene Radiophosphor ersetzt werden kann, kann aus dem Auftreten von radioaktivem Lecithin nach Einführung von aktivem Natriumphosphat in den Organismus auf die Geschwindigkeit bzw. den Ort der Lecithinsynthese geschlossen werden. Z. B. fand man¹⁶⁾ bei einer Henne, die mehrere Stunden nach Injektion von aktivem Phosphat getötet wurde, im Phosphatid der Leber und des Plasmas bedeutend mehr radioaktiven Phosphor als in dem des Eierstocks und des Dotters. Daraus ist zu schließen, daß die Phosphatidbildung im Plasma erfolgt und daß das im Plasma gebildete Phosphatid im Eierstock zum Aufbau des Dotters verwendet wird.

Das Studium der Bildung der Ziegenmilch mit radioaktivem Natriumphosphat ergab¹⁷⁾, daß die Bildung des Milchcaseins in den Drüsenzellen ungefähr 1 h benötigt. Da wenige Stunden nach der Einführung von aktivem Natriumphosphat die Radioaktivität der Phosphatide der Milch gering

¹³⁾ Hevesy, Nature **137**, 66 [1936], **139**, 149 [1937].

¹⁴⁾ Hevesy, Linderstroem-Lang, Nielsen, ebenda **140**, 725 [1937].

¹⁵⁾ Hevesy, Holst u. Krogh, Kong. dansk. Vidensk. Selsk., biol. Medd. **13**, H. 13 [1937].

¹⁶⁾ Hevesy u. Hahn, Kong. dansk. Vidensk. Selsk., biol. Medd. **14**, H. 2 [1938].

¹⁷⁾ Referat, Nature **143**, 710 [1939].

ist gegenüber derjenigen der anorganischen Phosphate in der Milch, muß gefolgt werden, daß die bisher gültige Annahme, wonach die Fette und anorganischen Phosphate in den Milchdrüsen durch Abbau der Blutphosphatide gebildet werden, nicht zutrifft.

Aus der Feststellung, daß 1 h nach der subcutanen Injektion von aktivem Natriumphosphat bereits radioaktives Lecithin im Gehirngewebe von erwachsenen Ratten nachzuweisen war¹⁸⁾, ergibt sich, daß im Gehirn ein dauernder enzymatischer Auf- und Abbau dieses Phosphatides stattfindet.

Während, wie sich aus den angeführten Beispielen ergibt, der Radiophosphor bereits eine ausgedehnte Verwendung als

¹⁸⁾ Hahn u. Hevesi, Skand. Arch. Physiol. **77**, H. 1/4 [1937].

Indicator gefunden hat, liegen biochemische Untersuchungen mit dem radioaktiven Schwefel der Masse 34, der nach seiner Halbwertszeit von 80 Tagen ebenfalls geeignet erscheint, noch nicht vor. Nach der jüngsten Mitteilung¹⁹⁾ hat man im Franklin-Institut radioaktives Glutathion in der Weise hergestellt, daß man Hefe auf einem Nährboden wachsen ließ, der ausschließlich radioaktives Sulfat als Schwefelquelle enthielt, so daß die Hefe zur Synthese von radioaktivem Glutathion gezwungen wurde. Es ist zu erwarten, daß Untersuchungen mit dieser markierten Form dieses für den Organismus so bedeutungsvollen Redox-Regulators wertvolle Aufschlüsse für eine Reihe wichtiger biochemischer Fragen liefern werden.

Eingeg. 20. Juli 1959 [A. 82.]

¹⁹⁾ Franklin Inst., Jan. 1939.

Die quantitative Analyse der gasförmigen Paraffinkohlenwasserstoffe durch Adsorption und Desorption

Von Prof. Dr.-Ing. Erwin Ferber und Dipl.-Ing. Horst Luther

Aus dem Institut für Chemische Technologie der Technischen Hochschule und Universität Breslau

I. Allgemeiner Überblick.

Im Verlauf von Untersuchungen über den thermischen Zerfall der Kohlenwasserstoffe erwies es sich als erforderlich, eine Methode zur quantitativen Analyse der gasförmigen Paraffinkohlenwasserstoffe zu entwickeln.

Die Dampfdrucke der ersten Glieder der Kohlenwasserstoffreihe liegen so weit auseinander, daß diese Tatsache die Grundlage der meisten vorgeschlagenen und ausgearbeiteten Verfahren bildet. Für die Durchführung einer Analyse ist es nicht erforderlich, durch mehrfache, fraktionierte Destillation etwa, die Einzelkomponenten eines Gemisches zu isolieren, sondern es genügt, Fraktionen zu gewinnen, die nicht mehr als zwei gesättigte Kohlenwasserstoffe enthalten. Solche binäre Gemische können dann durch Verbrennungsanalysen, Molekulargewichtsbestimmungen, Wärmeleitfähigkeitsmessungen und andere Methoden analysiert werden.

Dennach erfolgt die Aufteilung eines Gemisches von Kohlenwasserstoffen vorwiegend unter Anwendung physikalischer Methoden, wie Kondensation, Destillation, Adsorption und Desorption, während chemische teils beschränkt, teils überhaupt nicht anwendbar sind.

Über das Schrifttum zur Trennung der gasförmigen Kohlenwasserstoffe findet sich bei K. Peters u. W. Lohmar¹⁾ ein umfassender und eingehender Überblick, auf den hier im einzelnen hingewiesen werden kann. Nur die Arbeiten, die für die vorliegende Untersuchung grundlegend waren, sollen näher besprochen werden.

Tropsch u. Dittrich²⁾ arbeiteten folgenden Analysengang aus. Das Gasgemisch wurde mit flüssiger Luft eingekühlt und das Methan durch Abpumpen entfernt. Um die letzten Anteile Methan zu erfassen, wurde das Kondensat noch einmal umdestilliert. Es hinterblieben im Kondensat nur die höheren Homologen und die Olefine, vom Äthan bzw. Äthylen aufwärts. Darauf wurde das Gemisch langsam abdestilliert und durch Einkühlen in einer Reihe von Vorlagen mit verschiedenen tiefen Temperaturen in Fraktionen aufgeteilt. Diese Fraktionen wurden einzeln untersucht unter der Annahme, es handle sich um binäre Gemische.

G. Kuhn³⁾ brachte bei ähnlicher Arbeitsweise eine Erweiterung durch Einschalten gekühlten Kieselsäuregels als Adsorptionsmittel zur Entlastung der Vakuumpumpe.

Auch G. Fritsch⁴⁾ arbeitete ein Verfahren aus, in dem er durch Wahl geeigneter Temperaturen bei der fraktionierten Destillation die Zerlegung des Analysengases in binäre Gemische erreichen wollte.

Es soll nicht bestritten werden, daß sehr vorsichtige und daher zeitraubende Destillation zu quantitativen Ergebnissen führen kann. Für technische Zwecke muß jedoch neben genügender Genauigkeit auch eine möglichst kurze Zeitdauer der Analyse verlangt werden. Trotz der theoretisch günstigen Lage der Dampfdruckkurven der gesättigten Kohlenwasserstoffe, die besonders bei der Aufteilung in binäre Gemische von Nutzen sein sollte, sind die praktischen Schwierigkeiten zur Erfüllung der beiden eben genannten Forderungen sehr groß.

Tabelle 1.

1	2	3	4	5	8	9		
cm ³ Ges.- Gas	Frakt. Fr.Gas	cm ³ C- Zahl	cm ³ C ₂ H ₆	% C ₂ H ₆	cm ³ C ₃ H ₈	% C ₃ H ₈	cm ³ C ₄ H ₁₀	% C ₄ H ₁₀
750 -120 +20	515 235	2,50 3,76	257,5 56,5	34,4 178,5	314,0 178,5	41,8 23,8		
	750		257,5 262,0	34,4 302,0	314,0 40,3	41,8 186,0		gefunden. Ges.-Wert gegab. Ges.-Wert

Im Verlauf dieser Arbeit wurde auch die Möglichkeit der fraktionierten Destillation experimentell untersucht. Eine kleinere Fehlergrenze als $\pm 1-2\%$ konnte bei Befolgung aller Vorschriften der behandelten Arbeiten nicht erreicht werden. Infolge der chemischen Verwandtschaft der zu analysierenden Kohlenwasserstoffe besteht immer die Neigung, daß geringe Anteile einer dritten Komponente, die in die als binär angesetzte Fraktion verschleppt würden, das Endergebnis beträchtlich beeinflussen. Eine Anzahl Bearbeiter dieses Problems hat schon für das Methan darauf hingewiesen, daß seine quantitative Erfassung nur durch mehrfache Umdestillation möglich ist. Bei den höheren Homologen liegen die Dampfdruckkurven aber noch ungünstiger, die Neigung, sich auch in höheren Fraktionen gelöst zu halten, wird also z. B. für das Äthan noch größer sein.

Nach allen diesen Erfahrungen erscheint es ratsamer, die Lösung der Aufgabe mit Hilfe der Adsorption und Desorption durchzuführen. In ihrer Arbeit „Quantitative Trennung und Reindarstellung von Kohlenwasserstoffen durch Desorption im Vakuum“ haben Peters u. Lohmar (l. c.) das Fundament ausgebaut, auf dem wohl in Zukunft jede Lösung weitergeführt werden wird. Die genannten Verfasser adsorbierten das zu untersuchende Gasgemisch an Aktivkohle bei -183° und desorbierten anschließend bei geeigneten Temperaturen fraktioniert. Da bei der Adsorption auf die Einzelkomponenten ganz andere Kräfte einwirken als bei einer einfachen Kondensation, so ist einzusehen, daß gegenüber der Neigung der Kohlenwasserstoffe, ineinander gelöst zu bleiben, in diesem Falle die Adsorptionskräfte im Vordergrund stehen. Hierauf ist es zurückzuführen, daß wohl immer noch binäre Gemische desorbieren, daß aber dritte Komponenten auch in kleinsten Mengen nicht mehr auftreten. Die weitere Untersuchung der gewonnenen Fraktionen erfolgte auf Grund der Gasdichtebestimmungen von Stock u. Ritter⁵⁾. Die Bestimmung der einzelnen ungesättigten Kohlenwasserstoffe neben den gesättigten wird in einer kombinierten Desorptions- und Hydrierungsmethode durchgeführt. Die Tabellen 2 und 3 auf Seite 32 zeigen, daß sich das Analysenverfahren sehr gut bewährt.

P. Harbeck⁶⁾ führte anfänglich Versuche mit Aktivkohle nach den Vorschriften von Peters durch. Im Verlauf seiner Arbeiten ging er zu Kieselsäuregels als Adsorptionsmittel über. Dabei traf er Feststellungen, die für weitere Arbeiten auf der

¹⁾ Beilheft z. Zeitschrift des VDCh. Nr. 25 [1937].

²⁾ Brennstoffchem. **6**, 169 [1925].

³⁾ Dipl.-Arbeit T. H. Breslau 1938.

⁴⁾ Diese Ztschr. **44**, 757 [1931].

⁵⁾ Z. physik. Chem., Abt. A **119**, 333 [1926]; **139**, 47 [1928].

⁶⁾ R. Edse u. P. Harbeck, diese Ztschr. **52**, 32 [1939].