Kolloidchemische Grundlagen der Fermentkinetik.

Von A. Fodor.

(Eingegangen am 2. August 1920.)

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Halle.)

Die Gesetze der chemischen Kinetik in ihrer mathematischen Form verdanken ihre Entstehung anschaulichen Vorstellungen, zu deren Ausbildung einerseits das Gesetz von Guldberg und Waage, andererseits aber die experimentellen Befunde von Wilhelmy über den zeitlichen Fortschritt der Inversion und ähnliche andere Anlaß gegeben und das Fundament gelegt haben. Bei reaktionskinetischen Studien über Fermente blieb das Kriterium der Anschaulichkeit nicht immer das Entscheidende für die Verwendung und Bedeutung mathematischer Formeln bzw. Gleichungen: Es galt des öfteren „als Mathematik“ und weniger „mit Mathematik“. Auf diese Weise sind beispielsweise „Gesetze“, wie das Schütz'sche bei der Pepsinverdauung, die Formelfolgen von Henri, ferner Exponentialformeln mannigfacher Art zu bewerten, die als Gewänder oder besser gesagt Zwangsjacken erhalten mußten, um die widerspenstigen Fermentvorgänge, deren Zeitemsätze sich keinem einfachen Gesetz fügen wollten, geschmeidig zu machen. Allein es geht uns mit einem abstrakten mathematischen Gesetz an Stelle einer anschaulichen physikalischen oder chemischen Erkenntnis so, wie mit abstrakten Lehren im allgemeinen: Es macht sich alsbald der Mangel eines konkreten Vorstellungsobjektes geltend, und wir bleiben von ihr unbefriedigt bzw. trachten nach Auswegen, um für den abstrakt-logischen Satz ein vorstellbares Korrelat zu gewinnen. Die Entwicklung der Dispersionslehre bot der Fermentforschung eine Möglichkeit in diesem Sinne, und es unterliegt keinem Zweifel, daß gerade die Arbeiten von Bredig und seiner Schüler über das anorganische Fermentsystem Platinsol + Wasserstoffperoxyd die Grundlagen hierfür geliefert haben. Obgleich die Entstehung dieser Arbeiten bereits ungefähr 20 Jahre zurückliegt, so muß als bemerkenswerte Tatsache bezeichnet werden, daß kein einziger exakt vorgehender Fermentforscher die Entwicklung der Dispersionschemie sich zunutze gemacht hat, und es allgemein vorzog, mit abstrakten Gleichungen auszukommen bzw. gegebenenfalls solche in unbefriedigender Weise zu interpretieren.

Die Herstellung eines reinen Fermentsols aus Hefeauszug mit polypeptidspaltender Fähigkeit, über welches an anderer Stelle¹⁾ berichtet

wird, dessen kolloidchemischen Eigenschaften aber demnächst hier dargetan werden sollen, geben uns den endgültigen Beweis dafür, daß das Ferment in Tat und Wahrheit eine kolloide Phase bildet, deren Dispersitätsgrad maßgebend für seine fermentative Wirksamkeit ist. Jede Vergrößerung des ersteren gereicht zum Schaden der Aktivität, wogegen sich ohne weitgehende Zerstörung inaktiviertes Ferment, dessen chemischer Körper das Hefephosphorprotein²⁾ ist, leichterdings reaktivieren läßt, welcher Vorgang mit einer Wiederherstellung des höheren Dispersitätsgrades verknüpft ist. Desgleichen wurde unmittelbar beobachtet, daß auch das relativ beständigste Fermentsol allmählich zur Sedimentation führt und sich seine Teilchen zu groben Aggregaten vereinigen. Es unterliegt keinem Zweifel mehr, daß Schwankungen im Dispersitätsgrade von parallelen Änderungen der fermentativen Eigenschaften begleitet sind.

In dieser Mitteilung möchte ich nur darauf hinweisen, in welcher Art kinetische Messungen vorgenommen werden können, sobald die Reaktion in der Weise vor sich geht, daß ein Substratmolekül an die Oberfläche einer heterogenen Fermentphase diffundiert, um daselbst in Verbindung mit dem Fermentkolloid eine mit unendlicher Geschwindigkeit verlaufende Spaltung, die ihrerseits durch partielle elektrische Entladung dieser Oberfläche bewerkstelligt wird³⁾, d. h. in Gestalt einer Hydrolyse, zu erfahren.

Im voraus müssen wir uns darüber Klarheit schaffen, daß für den Verlauf einer solchen Reaktion nicht mehr die Konzentration des Substrates allein, d. h. seine „noch vorhandene Menge“ maßgebend sein kann, wie bei der monomolekularen Reaktion, sondern außerdem noch die Möglichkeit, welche dieser Menge zu ihrer Diffusion an die aktive Oberfläche, d. h. zu ihrer Adsorption, geboten wird. Was wir also messen, ist lediglich die Diffusionsgeschwindigkeit, für welche aber die Bedingungen des Adsorptionsgleichgewichts im gegebenen System bestimmend sein müssen. Für letztere gilt, wie bekannt, die Adsorptions-

²⁾ A. Fodor, Koll.-Zeitschr. 27, 58 (1920). Hier trägt das Protein die vorläufige Bezeichnung „Hefesaftprotein 1“.

³⁾ A. Fodor, Fermentforschung 3, 198 (1920).

¹⁾ A. Fodor, Fermentforschung 4.

isotherme $\frac{c_1}{c_2^{\frac{1}{n}}} = \text{konst.}$ Abderhalden und

Fodor⁴⁾ aber haben den Nachweis erbracht, daß die Isotherme in dieser Form (wenigstens bei einer Reihe von Aminosäuren, Polypeptiden, Kohlehydraten usw.) einen Spezialfall des weit

einfacheren Gesetzes $\frac{c_1}{c_2} = \text{konst.}$ für den Fall

darstellt, daß das Verhältnis von Adsorbens: Adsorbendum klein ist und auf relativ geringe Oberfläche viel gelöster Stoff entfällt. Ist dagegen dieser Quotient genügend groß, so wird $\frac{1}{n} = 1$. Es ist wohl anzunehmen, daß in

Fermentsystemen ähnliche Bedingungen herrschen, mit dem Unterschiede, daß hier die Einstellung der Gleichgewichte durch Spaltung des Substrates ständig gestört wird. Es liegt jedoch für die Ablehnung der Annahme kein plausibler Grund vor, daß auch hier bei einem großen Ueberschuß an freier Oberfläche die erhöhte Konzentration an gelöstem Stoff eine lineare Steigerung der adsorbierten Mengen im Sinne der Gleichung

$\frac{c_1}{c_2} = \text{konst.}$ erfährt, wogegen bei beschränkter

Oberfläche relativ um so mehr adsorbiert wird, je verdünnter die Lösung ist. Es ist wohl anzunehmen, daß eine ähnliche Abhängigkeit der Adsorption vom Quotienten freie (Oberfläche)/(Konzentration in Lösung) weitgehend unabhängig von der Natur der adsorbierenden Oberfläche besteht.

Unter den hier begründeten Annahmen, wonach 1. die Diffusionsgeschwindigkeit von den Bedingungen für das Adsorptionsgleichgewicht im gegebenen Fermentsystem abhängig ist, ferner 2. das Adsorptionsgleichgewicht vom Quotienten freie Oberfläche/Substratkonzentration abhängt, indem der Exponent entsprechend diesem Quotienten zwischen den Werten $\frac{1}{n}$

(ein echter Bruch) und 1 variiert (der Fall $\frac{1}{n} = 0$ kommt hier nicht in Frage), gelangen

wir zu folgenden diskutierbaren Fällen, deren Unterschiedlichkeit sich aus der oben erwähnten Variationsmöglichkeit des Dispersitätsgrades bei einem Ferment bei konstanter Substratkonzentration ergibt. Der Quotient freie Fermentoberfläche/Substratkonzentration = F/S.

Fall a: F/S ist gering, indem die Fermentoberfläche aus irgendeinem Grunde vermindert ist, z. B. durch Herabsetzung des Dispersitätsgrades im Fermentkolloid. Die Reaktionsgeschwindigkeit wird hier sein

$$\frac{dx}{dt} = k (a-x)^{\frac{1}{n}}, \quad (1)$$

wo a die uns hier gar nicht weiter interessierende Anfangskonzentration des Substrates, x die zur Zeit t umgesetzte Menge bedeutet. k enthält hier sämtliche Konstanten implicite. Denn da das Diffusionsgefälle durch das Adsorptionsgleichgewicht geregelt wird, gilt

$$\frac{dx}{dt} = k^1 \cdot K (a-x)^{\frac{1}{n}},$$

wo K die Adsorptionskonstante, k¹ dagegen die bei der Diffusion in Frage kommenden Konstanten bedeutet. k¹ · K bildet die neue Konstante k. Dieses Zeitgesetz besagt somit, daß die Reaktionsgeschwindigkeit relativ um so größer wird, je weiter die Reaktion fortschreitet, denn je verdünnter die Lösung an unzersetztem Substrat ist, um so mehr wird relativ adsorbiert und cet. par. hydrolysiert. Die Adsorptionsisotherme folgt hier einer Parabel beiläufig der Gestalt in Fig. 1.

Fig. 1

Die monomolekularen, d. h. logarithmischen Konstanten können nicht mehr übereinstimmen. (Diese erhält man bekanntlich, wenn man die Gleichung $\frac{dx}{dt} = k (a-x)$ integriert, wo das Integral lautet:

$$t = \frac{1}{k} \log \frac{a}{(a-x)}$$

$$\text{bzw. } k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{(a-x)}$$

⁴⁾ Abderhalden u. Fodor, Fermentforschung 2, 82, 159 (1919); Koll.-Zeitschr. 27, 49 (1920).

und also zwischen der Zeit t und den umgesetzten Mengen eine logarithmische Beziehung besteht.) Die abnehmende Konzentration verändert die adsorbierten Anteile (d. h. die Ordinate der Fig. 1) parabolisch, und es ist bekannt, daß die Tangente zu einer solchen Parabel um so steiler wird, je mehr sie sich dem Anfangspunkt 0 nähert. Da aber die Tangente als Maß der Krümmung einer Kurve in einem bestimmten Punkte gilt, so wird letztere bei sinkender Konzentration im Fermentgemisch stets größer und die Umsätze relativ größer. Das Integral der Gleichung (1) lautet:

$$k = -\frac{n}{(n-1)t} \left(\sqrt[n]{(a-x)^{n-1}} - \sqrt[n]{a^{n-1}} \right). \quad (2)$$

Es ist mit Hilfe von (2) zum ersten Male der Versuch gemacht worden, die Gültigkeit der Adsorptionsisotherme bei einem Fermentvorgange zu prüfen, und zwar bei der Polypeptidsplaltung durch Hefemazerationssaft, insbesondere von Glycyl-l-leucin in schwach saurem Medium, ferner bei weiteren Dipeptiden⁵⁾. Hierbei er-

wies sich der Wert $\frac{1}{n} = \frac{1}{2}$ für einige Fälle als recht geeignet, um zu konstanten Werten für k zu gelangen, indes bei anderen Wasserstoffionenkonzentrationen entsprechend dem veränderten Dispersitätsgrade und damit F/S-Wert für $\frac{1}{n}$ andere Größen eingesetzt werden müßten,

um Konstanz zu erhalten. Für $\frac{1}{n} = \frac{1}{2}$ wird

$$k = \frac{1}{t} \left(\sqrt{a} - \sqrt{a-x} \right). \quad (2a)$$

und die Tabelle (vorletzte Kolumne) zeigt, daß die dieser Gleichung entsprechenden Werte in der Tat dort am besten übereinstimmen, wo die monomolekularen Konstanten (3. Kolumne) am stärksten ansteigen und sich die logarithmische Kurve am meisten streckt, sich einer Geraden nähernd. Zeigen die Konstanten erster Ordnung dagegen

Übereinstimmung, so ist $\frac{1}{n}$ kein echter Bruch mehr und die Gültigkeit der Gleichung 2 bzw. 2a hört auf (wird doch der Wert $\frac{n}{n-1}$ in diesem

Falle $= \frac{1}{0}$). Zwischen dem steilsten Anstieg der Konstanten erster Ordnung und dem Punkt ihrer absoluten Gültigkeit müssen sodann für

⁵⁾ Abderhalden u. Fodor, Fermentforschung 2, loc. cit.

$\frac{1}{n}$ in die Gleichung 2 für den Adsorptions-exponenten nach und nach Werte eingesetzt werden, die sich 1 nähern.

Wird das kinetische Bild eines an sich monomolekularen Zerfalls durch die Anzahl der „noch vorhandenen Moleküle $(a-x)$ “ des zerfallenden Stoffes nicht unmittelbar bestimmt, sondern mittelbar durch Dazwischentritt eines Diffusionsvorganges und einer Gleichgewichtsbedingung, die ihrerseits durch eine Funktion $f(a-x)$ dargestellt wird, in welcher die Abnahme der noch vorhandenen Menge $(a-x)$ den Diffusionsvorgang und *et. par.* indirekt den kinetischen Verlauf zugunsten der Diffusion beeinflusst, so wird der kinetische Verlauf das Bild einer positiven Autokatalyse annehmen, ohne aber mit den bisher bekannten autokatalytischen Prozessen eine andere Wesensgemeinschaft, als das beschleunigende Moment während des Ablaufs der Reaktion im Vergleich zum logarithmischen zu besitzen. Zum Unterschiede von den gewöhnlichen reaktionskinetischen Vorgängen in homogenen Systemen, in denen die Moleküle des zerfallenden Körpers den kinetischen Effekt unmittelbar bestimmen, seien die sich dem Fall a anpassenden Reaktionssysteme als metakinetische Systeme gekennzeichnet.

Fall b: F/S ist groß genug, indem der Dispersitätsgrad des Fermentes einen relativ großen Wert annimmt. Hier ist der Exponent in einem gewissen Intervall von $F/S \frac{1}{n} \approx 1$ und es gilt das Zeitgesetz

$$\frac{dx}{dt} = k(a-x);$$

die Integration führt zur logarithmischen Funktion

$$k = \frac{1}{t} \ln \frac{a}{(a-x)}.$$

Es ist bekannt, daß manche

Fermente, wie Invertin, Katalase, Emulsin, Diastase, ferner auch Peptase der Hefe unter gewissen Bedingungen und bei Innehaltung bestimmter Grenzen der Konzentration

des Substrates und der ⁺(H) diesem Zeitgesetz gehorchen. Das Modell von Nernst-Brunner, ferner das Platinsolssystem von Bredig und v. Berneck, ferner Teletow sind Vorbilder für diese Möglichkeit des Reaktionsverlaufes in heterogenen Systemen. Die Grundbedingung

hierfür ist die, daß das zwischengeschaltete Gleichgewichtsgesetz eine lineare Abhängigkeit der adsorbierten Menge x von der noch vorhandenen Menge $(a-x)$ enthalte. Aus verdünnten Lösungen wird hier relativ genau so viel adsorbiert, wie aus konzentrierteren. Wir vernahmen aber, daß die Adsorptionsisotherme unter bestimmten Voraussetzungen dieser Bedingung Genüge leistet.

Fall c erstreckt sich auf die Möglichkeit, daß der kinetische Verlauf von der Zwischenschaltung einer Gleichgewichtsfunktion $f(a-x)$ in folgender Weise abhängig ist:

$$\frac{dx}{dt} = k(a-x)^n$$

wo n eine positive Zahl bedeutet, die > 1 . Auf welche Weise kann ein Gleichgewicht dieser Art zustande kommen, dessen Forderung sich in einer um so größeren Verschiebung manifestiert, je konzentrierter die Lösung ist, indem die Gleichung

$$\frac{x}{(a-x)^n} = \text{konstant}$$

zu Recht besteht?

Für den kinetischen Verlauf können in diesem Falle die Konstanten erster Ordnung

$$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$$

nicht zutreffen, weil sie einen fallenden Gang aufweisen: Die Umsätze verkleinern sich nicht logarithmisch, sondern rascher als der noch vorhandenen Menge entspricht. Man suchte früher den Grund dieser Erscheinung in einer negativen Autokatalyse, bei welcher die Reaktionsprodukte den Katalysator bzw. das Ferment binden und dadurch hemmend zu wirken vermögen. Arrhenius hat ein Modell dieser Beschaffenheit zur Deutung der Schützschens „Regel“ in der Zersetzung von Aethylester durch Ammoniak geliefert. Zweifelsohne wird diese Erklärungsweise recht häufig befriedigen.

Die obige Gleichgewichtsfunktion $\frac{x}{(a-x)^n} = \text{konstant}$ verlangt, daß die ihr entsprechende Kurve die Gestalt der Fig. 2 besitze. Eine von dieser Gleichgewichtsbedingung ihrerseits bestimmte Reaktionsgeschwindigkeit muß somit bei Abnahme der „noch vorhandenen Menge“ $(a-x)$ in relativer Hinsicht abnehmen. Eine diesem System entsprechende Fermentreaktion ist noch nicht aufgefunden worden, läßt sich jedoch in der Weise denken, daß ein kolloides Substrat an der Oberfläche des kolloiden Fermentes adsorbiert, zugleich aber auch aggregiert

wird. Denn nur in diesem Falle würde das zwischengeschaltete Gleichgewicht dem Gesetz

$$\frac{x}{(a-x)^n} = k \text{ gehorchen, wenn } n \text{ nämlich } > 1 \text{ ist.}$$

Es besteht hier bei der Einstellung ein reversibles Gleichgewicht zwischen n „Molekülen“ der gelösten und 1 „Molekül“ der adsorbierten Substanz, was nur so möglich ist, daß die n -Teilchen gelöster Substanz an der Fermentoberfläche zu einem Teilchen verwachsen. Es ist einleuchtend, daß in diesem Falle aus einer verdünnten Lösung relativ weniger adsorbiert wird als aus konzentrierteren.

Fig. 2

Der Fall dieses Gleichgewichts ist offenbar das Gegenstück zur Adsorptionsisotherme. Allerdings ist bei letzterer die Annahme, daß 1 Molekül der gelösten Substanz in n -fach molekularer Form (beim Exponenten $= \frac{1}{n}$) adsorbiert wird,

unvorstellbar, wie denn hier überhaupt stöchiometrisch-molekulare Gesichtspunkte ganz allgemein versagen. In hinreichend konzentrierter Lösung erfolgt die Adsorption der gelösten Teilchen in einer Form, als wären sie in n -Teilchen zersplittet: Der Druck, unter welchem sie stehen und der sie in die Lösung zurücktreibt, entspricht dem n -fach molekularen Zustand, wird aber einzig und allein durch ein Oberflächenphänomen bedingt.

Wir gelangen somit zur Schlußfolgerung, daß in jenem Falle, in welchem die Reaktionsgeschwindigkeit $\frac{dx}{dt}$ einer „noch vorhandenen Menge“, die an der Oberfläche aggregiert wird, proportional ist, das Zeitgesetz

$$\frac{dx}{dt} = k(a-x)^n \quad (3)$$

wohl realisiert gedacht werden kann, insbesondere also bei der Einwirkung von Fermentkolloiden auf Substrate, die selbst Kolloide darstellen und unter Verminderung ihres Dispersitätsgrades reversibel adsorbiert werden.

Eine andere Anwendungsmöglichkeit ergibt sich im folgenden. Die Wahrscheinlichkeit ist recht naheliegend, daß bei der „Peptisation“ der Proteine durch Pepsinferment, sowie bei der Labwirkung eine Adsorption des Fermentes durch das kolloide Substrat erfolgt, also gerade umgekehrt, wie dieser Vorgang in anderen Fermentsystemen gedacht werden muß, wo nämlich eine Diffusion des molekulargelösten Substrates in die kolloide Phase sich abspielt. Uebrigens scheint auch die Schütz'sche Regel auf diese Lage der Dinge hinzuweisen, und der prinzipielle Unterschied zwischen kolloiden und molekulargelösten Substraten käme nicht allein durch Umkehrung der Funktion beider Phasen zum Ausdruck, sondern auch in der Berechnung, indem bei Adsorption molekulargelöster Substrate durch kolloides Ferment die kinetische Grundgleichung:

$$\frac{dx}{dt} = k(a-x)^{\frac{1}{n}}, \text{ wo } \frac{1}{n} = 1 \text{ oder } < 1;$$

bei der Adsorption eines kolloiden Fermentes durch das kolloide Substrat hingegen die Gleichung

$$\frac{dx}{dt} = k(A-x)^n, \text{ wo } n > 1,$$

in Betracht kommt.

Durch Integration erhält man:

$$t = \frac{1}{(1-n)k} \left(A^{1-n} - (A-x)^{1-n} \right). \quad (4)$$

In der ersten Gleichung bedeutet a nach wie vor die Substratkonzentration, in der letzten dagegen A die Konzentration des Fermentes. Wir nehmen hier somit an, daß die aktive d. h. adsorbierende Oberfläche des Substrates, z. B. eines grobdispersen Proteins, im Vergleich zu der sich an ihr niederschlagenden Fermentmenge in großem Ueberschuß vorhanden ist. Danach würde also jedes in diesem Sinne wirkendes Fermentsystem zugleich eine Zerstörung bzw. einen „Verbrauch“ des Fermentkolloides bedeuten, und in der Tat sprechen viele Beobachtungen dafür, daß ein solcher stattfindet, und zwar nicht nur bei den letztgenannten Peptisationen, sondern in Fermentsystemen überhaupt. Es ist ja bekannt, daß alle Zeit-

gesetze bloß für ein bestimmtes Anfangsstadium der Reaktion gelten, gegen Schluß aber, je nach den Beziehungen der Konzentrationen früher oder später, Verzögerungen auftreten, denen das aufgestellte Zeitgesetz nicht mehr Rechnung tragen kann.

Wie hat man sich diesen Verbrauch von Ferment vorzustellen?

Die von Wilh. Ostwald gegebene Theorie der Katalysatoren verlangt, daß der Katalysator im Endeffekt an der Reaktion keinen Anteil genommen habe und einzig und allein die Geschwindigkeit des Vorgangs fördere. Wie läßt sich diese Definition mit der Möglichkeit der Zwischenproduktkatalyse energetisch vereinigen? Offenbar nur in der Weise, daß die bei der Entstehung der Zwischenverbindung $A \cdot K$, wo A das sich katalytisch in B umwandelnde System, K den Katalysator bedeutet, ergebende Energieänderung ϵ am Schluß der Reaktion wieder restituiert wird. Bedeutet E die ohne Katalysator bei der Umwandlung des Systems A in B entbundene Energiemenge, so muß sich die katalytische Reaktion z. B. in folgender Weise vollziehen:

Von diesem Idealfall der Zwischenproduktkatalyse, dessen energetischen Ablauf man sich allerdings noch in anderer Weise auch vorstellen könnte, unterscheiden sich nunmehr gewisse fermentative Katalysen dadurch, daß die Restitution der Energieänderung ϵ ganz oder teilweise unterbleibt.

Zum Verständnis dieses Verlaufs der Katalyse müssen wir uns das System, um das es sich handelt, möglichst konkret vor Augen halten.

Das Substrat wird von der Oberfläche des Kolloides festgehalten, d. h. adsorbiert, wobei unter Freiwerden der Oberflächenenergie ϵ Dispersionsverminderung des Fermentkolloides erfolgt. Nunmehr vollzieht sich die Hydrolyse des Substrates im kausalen Zusammenhange mit der Adsorption, z. B. durch einen elektrochemischen Austausch bewirkt, und zwar in Verbindung mit dem Ferment („Zwischenproduktkatalyse“), wobei die Energiemenge E freigemacht wird. Fehlt es jetzt an der Energiemenge $-\epsilon$, die notwendig wäre, um dem Ferment den ursprünglichen Dispersitätsgrad wiederzugeben, was eine Regeneration seiner ursprünglichen Aktivität mit herbeizöge, so erreicht offenbar

der beteiligt gewesene Anteil der Fermentphase ein Stadium der Inaktivität, das bei fortgesetzter Reaktion ev. zum „falschen Gleichgewicht“ führen kann, wenn das Ferment auf diese Art und Weise vollständig verbraucht, m. a. W. aggregiert wird.

Diesen Komplikationen wird man bei fermentativen Messungen so aus dem Wege gehen, daß man nicht zu kleine Fermentmengen verwendet und die Bedingungen so zu gestalten

versucht, daß die Reaktion bei möglichst niedriger Temperatur vollzogen werde. Ferner wird man den Vorgang nur bis zu einer bestimmten Phase des Umsatzes (etwa 50–60 Proz.) verfolgen, die man durch Vorversuche feststellt.

Das chemische Korrelat zu diesem Vorgange stelle ich mir folgendermaßen vor⁶⁾, wenn ich als Beispiel die Peptidspaltung durch das negativ aufgeladene Hefeferment heranziehe:

In Worten: Die partielle Aufhebung des Adsorptionspotentials in $(F \leftrightarrow OH) Na^+$ (1) (welches freilich ev. auch durch andere Ionen hervorgebracht werden kann!) durch die entgegengesetzte Ladung des Substrates aktiviert die bis dahin gebundenen aufladenden Ionen (2), die hydrolytisch unter Vollzug der Energieänderung E eingreifen; (3) stellt die Gleichung der Fermentregeneration dar, die nur in jenem Fall möglich sein wird, wenn für die Aufrechterhaltung der Konstanten (H) gesorgt ist und sich dem Ferment F neue Aufladungsmöglichkeit bietet. Bei dieser Regeneration des Fermentes durch Neuaufladung unter Aufnahme der Oberflächenenergie ϵ wird sich die Wirkung der Oberflächenenergie zweiter Art, mit der uns Wo. Ostwald vertraut gemacht hat, geltend machen können, sofern nämlich der Gleichgewichtszustand unter den Ionen in Lösung das nötige substantielle Korrelat zur Oberflächenenergie ϵ ,

nämlich OH-Ionen, zu verwenden gestattet. In der Regel wird eine solche strenge Regulation in vitro überhaupt schwer oder doch bloß bis zu einem bestimmten Fortschreiten der Zerlegung möglich sein. (In vivo freilich liegen die Verhältnisse zum Teil

anders.) Eine zu große Anhäufung der Reaktionsprodukte, die außerdem noch in doppelter Konzentration auftreten, muß auf eine vollkommene Regeneration selbst im Falle einer weitgehenden Pufferung hemmend einwirken. Ich glaube, daß hierin auch das Rätsel der Hemmung durch Zugabe der Reaktionsprodukte zu suchen ist, denn da es sich um vollständig verlaufende Reaktionen handelt (abgesehen vom „falschen Gleichgewicht“ oder von den wenigen bekannten wirklichen fermentativen Synthesen), so wird man eine Hemmung im Sinne der Massenwirkung auf das Substrat nicht erwarten können.

Wir kommen auf Grund dieser Ueberlegungen zum Ergebnis, daß wiewohl das Ferment die energetische Aenderung des eigentlichen Vorganges nicht berühren muß, es durch seine Wirkung als Zwischenproduktsbildner verändert und allmählich inaktiviert wird. Bei jeder Fermentreaktion darf somit a priori bloß ein mehr oder weniger ausgedehntes primäres Stadium als maßgebend erachtet werden, innerhalb welchem

freie Fermentoberfläche
der Quotient F/S, d. h. $\frac{\text{Substratmenge}}{\text{Substratmenge}}$

nicht zu stark verändert wird. Theore-

⁶⁾ A. Fodor, Fermentforschung 3, 218 (1919).

tisch sollte er ja stets ansteigen, was jedoch nicht geschehen kann, da das Ferment kein idealer Katalysator, sondern ein sich verändernder Stoff ist, so daß F keineswegs durchgängig konstant bleibt, sondern mit der Umwandlung des Substrates zusammen verändert wird. Selbstverständlich bezieht sich diese zuletzt angestellte Ueberlegung bloß auf die Fälle, in welchen das Substrat durch das Ferment adsorbiert wird. Im anderen Fall nämlich, bei der fermentativen Peptisation (Pepsinwirkung, Trypsinwirkung usw.) liegt in der rechnerischen Ueberlegung ein Verbrauch des Fermentes durch das Substrat bereits enthalten, und daß hier das Substrat parallel aufgebraucht wird, liegt auf der Hand. Auch hier wird man also innerhalb eines gewissen Intervalles mit konstantem Exponenten rechnen dürfen.

Wie betont werden möge, sind die Berechnungen metakinetischer Vorgänge auch bloß Annäherungen an die Wirklichkeit, sie haben jedoch den Vorteil, daß sie folgende Momente nicht außer acht lassen: 1. daß das Ferment ein kolloides System vorstellt, dessen Aktivität mit seinem Zustand adäquat ist und dessen Oberfläche den Schauplatz der Umsetzungen bildet; 2. daß die Aenderungen der Aktivität lediglich Aenderungen im Dispersitätsgrade des Fermentes sind, die korrelative Aenderungen in der elektrischen Aufladung mit sich bringen; 3. daß je nach der Größe des Quotienten $\frac{\text{freie Fermentoberfläche}}{\text{Substratkonzentration}}$

der kinetische Verlauf variieren muß; 4. daß man einen Rechnungsmodus finden wird, um Peptisationen, wie sie zwischen Fermenten und kolloiden Substraten bestehen, von der Fermentwirkung auf molekularisperse Substrate zu unterscheiden.

Bezüglich dieses letzten Punktes ist noch ein Hinweis vonnöten. Es wurde in der Fermentforschung immer wieder der Versuch unternommen, komplizierte Fermentreaktionen, wie die der tryptischen oder diastatischen Spaltung, kinetisch zu verfolgen, zumeist unter Anwendung des monomolekularen Zeitgesetzes. Es ist hingegen kaum anders denkbar, als daß diese Systeme multipler Zusammensetzung sind. Es ist jedenfalls anzunehmen, daß die Wirkungsweise eines auf kolloide Substrate eingestellten Fermentes auf einem anderen Mechanismus beruht, als die eines auf die molekulardispersen Spaltprodukte der kolloiden Ausgangskörper einwirkenden Fermentsystems. Dies geht ja aus den oben gemachten Darlegungen hervor, findet

aber eine praktische Folgerung in der Ansicht, daß Fermentsysteme, welche gleich dem Trypsin, der Diastase usw. imstande sind, hochmolekulare und kolloid beschaffene Substrate nahezu bis zu den Endbausteinen zu zerlegen, mindestens aus zwei auch in kinetischer Hinsicht unterschiedlichen Teilsystemen bestehen: aus einem Peptisator und einem Hydrolysator. Ist es die wesentliche Aufgabe des ersteren, unter Preisgabe seiner Oberflächenenergie eine Adsorptionsverbindung mit dem kolloiden Substrat einzugehen, um dieses seiner kolloiden Struktur zu berauben und in „physikalische Bausteine“ überzuführen, so besorgen die letzteren den weiteren Abbau in chemische Bausteine, indem sie eine Wirksamkeit, die den oben erwähnten Fällen 1 und 2 entspricht, entfalten. Dagegen würde der Peptisator dem Fall 3 Folge leisten, was ja aus dem Gesagten hervorgeht. Als ein besonderer Fall einer Peptisation würde sich der Koagulator ergeben, dort nämlich, wo die Adsorptionsverbindung Ferment-Substrat unlöslich ist. Das Pepsin kann als ein reiner Peptisator gelten. Daß es bei der Ausübung seiner Wirksamkeit wirklich verbraucht wird, dafür sprechen die Berechnungen von Arrhenius⁷⁾, die eine Bindung zwischen Albumosen und Ferment feststellen, dgl. Ergebnisse von Pekelharing und Ringer⁸⁾, welche für die Anwesenheit einer Pepsin-Peptonverbindung in Pepsinpräparaten beweisend sind.

Aus diesen Darlegungen ergibt sich als Definition des Fermentes folgender Satz: In physikalisch-chemischer Beziehung sind Fermente kolloid beschaffene Produkte vorerhand pflanzlicher oder tierischer Herkunft, deren Wirkungsgrad von ihrem kolloiden Zustande bedingt wird, bzw. von jenem ihrer Sole. Mit ihren Substraten bilden sie unter partieller Preisgabe ihrer Oberflächenenergie Adsorptionsverbindungen, was eine Aktivierung der für die hydrolytische Spaltung nötigen Elemente zur Folge besitzt⁹⁾.

Selbstverständlich schließt diese Definition nicht etwa die Annahme ein, daß alle Fermente ausnahmslos sich ihr fügen, und man wird Variationen zu gewärtigen haben. Ein bestimmter Fermenttypus dagegen wird sich dieser Begriffsbestimmung recht gut anpassen.

⁷⁾ S. A. Arrhenius, *Immunochemie*.

⁸⁾ Pekelharing u. Ringer, *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 75, 282 (1911).

⁹⁾ A. Fodor, *Fermentforschung* 3, loc. cit.

Spaltung von Glycyl-l-leucin*)

a = 0,0625 in 5 ccm. Reaktionsgemisch.

Nr.	Zeit in Minuten	x g (in 5 ccm)	$K = \frac{1}{t} \ln \frac{a}{a-x} \cdot 10^4$	$K = \frac{x}{t} \cdot 10^4$	$K = \frac{x}{\sqrt{t}} \cdot 10^4$	$K = \frac{1}{t} \left[\sqrt{a} - \sqrt{a-x} \right] \cdot 10^8$	pH
1	0	—	—	—	—	—	6,27
	10	0,0105	183,9	10,5	—	0,22	
	20	0,0224	(221,9)	11,2	—	0,25	
	30	0,0299	216,9	9,9	—	0,23	
	40	0,0380	234,2	9,5	—	0,23	
2	0	—	—	—	—	—	6,76
	10	0,0122	217,1	12,2	20,6	0,26	
	20	0,0220	216,9	11,0	26,1	0,25	
	30	0,0305	223,2	10,2	29,6	0,24	
	40	0,0384	238,2	9,8	32,2	0,24	
3	0	—	—	—	—	—	7,37
	10	0,0152	278,6	15,2	25,6	0,32	
	20	0,0258	266,1	12,9	30,6	0,29	
	30	0,0352	276,1	11,7	34,1	0,28	
	40	0,0416	273,4	10,4	34,9	0,27	
4	0	—	—	—	—	—	8,28
	10	0,0216	423,9	21,6	36,4	—	
	20	0,0357	423,3	17,8	42,5	—	
	30	0,0440	405,8	14,7	42,7	—	
	40	0,0493	388,7	12,6	41,3	—	
5	0	—	—	—	—	—	8,41
	10	0,0235	471,6	—	39,5	—	
	20	0,0372	401,1	—	44,3	—	
	30	0,0445	414,9	—	43,2	—	
	40	0,0493	388,7	—	41,2	—	
6	0	—	—	—	—	—	8,81
	10	0,0177	332,9	—	29,7	—	
	20	0,0297	322,4	—	35,2	—	
	30	0,0368	296,2	—	35,7	—	
	40	0,0414	274,4	—	34,7	—	

*) Abderhalden und Fodor, Fermentforschung 1, 533 (1916).

Jedenfalls wird man in Zukunft die Wirkungsweise der Fermente nicht auf den Boden elektrolytischer Phänomene allein stellen, sondern sie wird nicht mehr und nicht weniger als zu einem Teile der angewandten Kolloidchemie. Elektrolytische Erscheinungen werden nur im Zusammenhange mit dem Dispersitätsgrade und deren Aenderungen erläutert werden können.

Ueber die Reduktion des Natriumsilberthiosulfats mit Hydrosulfit, I.

Von Albert Steigmann (Heilbronn).

(Eingegangen am 2. August 1920.)

Bei Entwicklung primär fixierter, latenter Bilder mit Natrium-Hydrosulfit aus Silberkomplexsalzen heraus, wurden häufig in den Entwicklerschalen mehr oder weniger dichte Anflüge von stark reflektierendem Silber erhalten, hauptsächlich bei Anwesenheit von Jodkalium in den Reduktionsgemischen. Die Beschläge zeigten im Entstehen (in geneigten Entwicklerschalen) Anlauffarben und waren, wenn langsam reduziert wurde, in der Durchsicht erst gelb, wurden