

Unwirksamkeit von Blausäure.

	ccm n_{10} -KMnO ₄
1. Reaktionslösung ohne Zusatz	7.7
„ + 0.5 ccm n_{10} -HCN	6.8
„ + 1.0 ccm n_{10} -HCN	7.0
„ + 1.5 ccm n_{10} -HCN	7.1
2. Reaktionslösung ohne Zusatz	7.9
„ + 0.5 ccm n_5 -HCN	7.9
„ + 1.0 ccm n_5 -HCN	8.0
„ + 1.5 ccm n_5 -HCN	7.9

Im letzten Ansatz ist die Lösung für Blausäure n_{20} .

Beschleunigung durch Salzsäure und ihre Hemmung durch Blausäure.

	ccm n_{10} -KMnO ₄
Reaktionslösung ohne Zusatz	7.8
„ + 0.1 ccm n_{10} -HCl	1.9
„ + 0.1 ccm n_{10} -HCl + 0.4 ccm n_5 -HCN	2.4
„ + 0.1 ccm n_{10} -HCl + 1.0 ccm n_5 -HCN	6.7

Die beschleunigende Wirkung von wenig Salzsäure eignet sich gut zur anschaulichen Demonstration einer Katalyse. Man braucht zu der erwärmten, kaum sichtbar reagierenden Lösung von Jodsäure und Hydroperoxyd nur einen Tropfen verd. Salzsäure hinzuzufügen, um alsbald eine fast stürmische O₂-Entbindung hervorzurufen.

196. Heinrich Wieland und F. Gottwalt Fischer: Zur Frage der katalytischen Dehydrierung. (Über den Mechanismus der Oxydationsvorgänge, XI.)

[Aus d. Chem. Laborat. d. Bayr. Akademie d. Wissenschaften zu München.]
(Eingegangen am 8. April 1926.)

I.

In den letzten Jahren ist man von verschiedenen Seiten kritisch und experimentell auf die ersten Versuche des einen von uns über katalytische Dehydrierung und auf die daraus abgeleitete Theorie zurückgekommen. Wir haben uns beim weiteren Ausbau des Arbeitsgebietes erneut mit diesen Dingen beschäftigt und möchten uns, ehe wir neue Ergebnisse mitteilen, kurz zu der Grundfrage äußern.

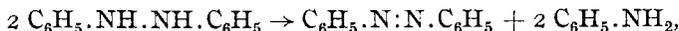
Sie betrifft die Entscheidung darüber, ob die katalytische Oxydation von Wasserstoff oder von einer wasserstoff-haltigen Substanz am einfachsten Kontaktmodell, am fein verteilten Platin oder Palladium, dadurch zustande kommt, daß das Metall den Sauerstoff zu einem Oxyd oder Peroxyd aufnimmt und so zu einem Oxydationsmittel wird, oder ob es der Wasserstoff ist, der an der Oberfläche reaktionsfähig gemacht wird und sich so an das ungesättigte Molekül des Sauerstoffs anlagert. Für den Fall der Oxydation des Wasserstoffs, für die Knallgas-Reaktion, steht die Entscheidung fest. Die primäre Bildung von Hydroperoxyd ist nachgewiesen; es ist ausgeschlossen, daß ein Oxyd des Platins mit molekularem Wasserstoff Hydroperoxyd entstehen läßt. Übrigens ist die aktivierende Wirkung der Platinmetalle gegenüber dem molekularen Wasserstoff bei den zahllosen

Hydrierungen ungesättigter organischer Verbindungen so wohl bekannt, daß hier keine Zweifel mehr bestehen können. Man wird der Hydrierung des Sauerstoffs zu Hydroperoxyd und derjenigen des Äthylens zu Äthan den gleichen Reaktions-Mechanismus zuzuschreiben haben.

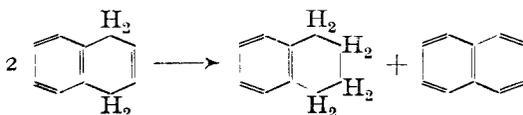
O. Warburg, der in einer geharnischten Betrachtung über die Dehydrierungs-Theorie¹⁾, auf die im einzelnen einzugehen der darin angeschlagene Ton nicht verlockt, in der Entstehung von Platinoxiden²⁾ die Erklärung für die katalytische Oxydationswirkung findet, läßt später durch seinen Mitarbeiter Tanaka³⁾ bei der Knallgas-Vereinigung das primäre Auftreten von Hydroperoxyd bestätigen. Wenn es sich um elementaren Wasserstoff handelt, soll es also nicht zur Bildung eines Platinoxids, das ja kein Hydroperoxyd erzeugen kann, kommen. Anders dagegen bei der katalytischen Oxydation einer wasserstoff-haltigen Verbindung. In ihr soll der Wasserstoff durch den am Katalysator aktivierten Sauerstoff verbrannt werden. Die Tatsache, daß die Wegnahme des Wasserstoffs auch durch andere wasserstoff-bindende Substanzen, wie Chinon, Methylenblau usw., erfolgen kann, erklärt Warburg einfach mit der Behauptung, diese „Oxydationsmittel“ würden auch am Platin aktiviert.

Zur Frage der Aktivierung an Oberflächen sei eine kurze Bemerkung zwischengeschaltet. Wenn ich den Nachdruck auf die Auflockerung des Wasserstoffs bei den hier zur Diskussion stehenden Reaktionen lege, so schließe ich nicht aus, daß an der aktiven Oberfläche auch die Reaktionsfähigkeit des adsorbierten Wasserstoff-Acceptors, des molekularen Sauerstoffs, des Chinons usw., gesteigert wird⁴⁾. Unentbehrlich ist diese Annahme nicht, da aktiver Wasserstoff im homogenen System auf inaktivierten Sauerstoff und inaktiviertes Chinon in der gleichen Weise einwirkt. Sie bedeutet auch durchaus keine Konzession gegenüber den Vorstellungen Warburgs, der das Sauerstoff-Molekül in einen total geänderten Bindungszustand am Metall übergehen läßt.

In einer früheren Abhandlung⁵⁾ ist gezeigt worden, daß Hydrazobenzol bei Gegenwart von Palladiumschwarz in Azobenzol und Anilin umgewandelt wird:



daß ferner Dihydro-1.4-naphthalin unter den gleichen Bedingungen sich in Naphthalin und Tetrahydro-1.2.3.4-naphthalin aufteilt:



¹⁾ Bio. Z. **142**, 518 [1923].

²⁾ Wöhler, B. **36**, 3475 [1903], den Warburg zitiert, hat unter den in Frage kommenden Bedingungen (Raumtemperatur, flüssiges Medium) die Bildung eines Oxyds aus Pt und Sauerstoff keineswegs bewiesen.

³⁾ Bio. Z. **157**, 425 [1925].

⁴⁾ An diese Möglichkeit ist bereits vor 5 Jahren gedacht worden; vergl. H. Wieland, B. **54**, 2371, und zwar Z. 15 v. o. [1921].

⁵⁾ B. **45**, 484 [1912].

In noch mehr überzeugender Weise wird die wasserstoff-aktivierende Wirkung der fein verteilten Platinmetalle schwerlich zum Ausdruck zu bringen sein.

Wir wollen uns im weiteren auf die katalytische Oxydation beschränken. Tanaka hat in der erwähnten Arbeit versucht, die Dehydrierungstheorie dadurch zu widerlegen, daß er bei der katalytischen Oxydation von Alkohol durch Palladium und Sauerstoff das auch hier zu erwartende Primärprodukt der Sauerstoff-Hydrierung, das Hydroperoxyd, nicht nachweisen konnte. In der Tat wäre in der Isolierung dieses Zwischenprodukts ein scharfer und eindeutiger Beweis für das Vorliegen einer katalytischen Dehydrierung durch Sauerstoff zu erblicken. Die Theorie verlangt rückhaltlos, daß die erste Stufe der Hydrierung des Sauerstoff-Moleküls zustandekommt. Ob sie faßbar ist oder überschritten wird, das hängt von Umständen ab, von denen nachher noch die Rede sein wird.

Es gelingt nicht, im Gange der katalytischen Dehydrierung von Stoffen wie Alkohol, Ameisensäure, Oxalsäure, Hydrochinon, Hydrazobenzol, mit Sauerstoff bei Gegenwart von Platinschwarz Hydroperoxyd als Zwischenprodukt nachzuweisen. Der Grund für dieses Mißlingen war leicht zu ermitteln. Wir haben für alle Substanzen, die untersucht wurden, festgestellt, daß die Menge Hydroperoxyd, die sich bilden könnte — und noch viel mehr als diese — innerhalb der Versuchszeit katalytisch vollkommen zersetzt wird. Daß dies im Verlauf der katalytischen Knallgas-Vereinigung nicht der Fall ist, daß M. Traube hier Hydroperoxyd zuerst antreffen konnte, das rührt daher, daß in dem mit Wasserstoff beladenen Palladium die Hydroperoxyd zersetzende Kontaktwirkung des Metalls stark zurückgedrängt ist, oder daß die Bildungs-Geschwindigkeit des Hydroperoxyds hier eben größer ist als seine Zersetzungs-Geschwindigkeit.

Die Unzulänglichkeit der Versuchsanstellung geht übrigens aus Tanakas eigenen Angaben hervor.

Nach Tabelle 2 auf S. 428 der Abhandlung zersetzen 0.4 mg Pd in 55 Min. von 1.63 mg eingesetzten Hydroperoxyds 1.36 mg. Auf der folgenden Seite findet man in Tabelle 3 unter 1 die Angabe, daß 2.48 mg Pd, also die 6-fache Menge wie oben, in 75 Min. auf Alkohol 393 cmm O₂ übertragen. Das entspricht einer Menge von 0.6 mg Hydroperoxyd, die entstanden sein könnte, die aber nach dem Ergebnis des zuerst angeführten Versuchs vollständig zerstört sein mußte.

Es muß angegeben werden, daß der erste Versuch in wäßrigem, der zweite in alkoholischem Medium vor sich ging. Aber aus unseren eigenen Versuchen geht hervor, daß auch in Alkohol die Zersetzungs-Geschwindigkeit von Hydroperoxyd⁶⁾ an Platinmetall weit größer ist, als die Bildungs-Geschwin-

⁶⁾ Der Mitarbeiter Warburgs bestreitet die von Wieland geäußerte Ansicht, daß die katalytische Hydroperoxyd-Zersetzung eine intermolekulare Dehydrierungs-

Hydrierung nach dem Schema
$$\begin{array}{c} \text{O} - \overline{\text{H}} \quad \text{OH} \quad \text{O} \\ | \quad + \quad | \quad \rightarrow \quad || \\ \text{O} - \overline{\text{H}} \quad \text{OH} \quad \text{O} \end{array} + 2\text{H}_2\text{O}$$
 darstellt. Er sagt (S. 430):

„Was die Peroxyd-Spaltung anbetrifft, so ist sicher, daß sie nicht nach dem Schema der Traube-Wielandschen Gleichung erfolgt, da sonst für jedes verschwindende Peroxyd-Molekül ein neues entstehen müßte.“ Diese durchaus dunkle und unverständliche Folgerung beweist, daß Hr. Warburgs Drohung, er werde die Wielandsche Dehydrierungs-Theorie „in der Folge nicht mehr berücksichtigen“ (Bio. Z. 142, 523 [1923]), sich erfüllt hat.

digkeit, so daß derartige Ansätze der Natur der Sache nach nicht entscheidend sein können.

In den folgenden Beispielen, die wir aus der größeren Anzahl von Versuchen herausgreifen, sind die Lösungen der herangezogenen Substanzen mit Platinschwarz in der Birne unter Sauerstoff lebhaft geschüttelt worden.

Ameisensäure: 10 ccm 0.4-n. Lösung, 10 ccm m_{10} -H₂O₂ und 0.20 g Pt.

Nach 4 Min. war kein Hydroperoxyd mehr nachzuweisen; in dieser Zeit war der Titer von 40 ccm n_{10} auf 38.8 ccm zurückgegangen. Es könnte also die 1.2 ccm m_{10} entsprechende Menge H₂O₂ gebildet worden sein, während gleichzeitig die 8-fache Menge zersetzt wurde.

Oxalsäure: 10 ccm n_{10} -Lösung, 10 ccm m_{10} -H₂O₂ und 0.20 g Pt.

Das Peroxyd war nach 4 Min. völlig verschwunden, von der Oxalsäure waren nur 2% dehydriert.

Hydrochinon: 10 ccm m_{10} -Lösung (1.1 g) verbrauchen mit 0.20 g Pt in 30 Min. 60 ccm O₂, entsprechend 26.8 ccm m_{10} -H₂O₂-Lösung.

Der gleiche Ansatz, nach Zugabe von 10 ccm m_{10} -H₂O₂-Lösung geschüttelt, enthält nach 3 Min. keine Spur H₂O₂ mehr.

Hydrazobenzol: Hier ist die Geschwindigkeit der katalytischen O₂-Dehydrierung am größten.

20 ccm einer m_{10} -alkohol. Lösung (1.8 g) verbrauchen mit 0.20 g Pt in 15 Min. 50 ccm O₂ = 22.4 ccm m_{10} -H₂O₂-Lösung.

Im gleichlaufenden Versuch war nach Zugabe von 10 ccm m_{10} -H₂O₂-Lösung nach 3 Min. kein Hydroperoxyd mehr nachzuweisen.

Der Verbrauch des Hydroperoxyds wird bei dieser Reaktion nicht allein bedingt durch die katalytische Selbstzersetzung am Kontaktmetall, sondern gleichzeitig auch durch seine Beteiligung als Wasserstoff-Acceptor an der Dehydrierung selbst. Wir haben die früheren Belegversuche⁷⁾ für diese Funktion des Hydroperoxyds und seiner Derivate ergänzt durch eine Versuchsreihe am Dibenzoylperoxyd. Die starke Wirksamkeit dieser Substanz geht aus der nachstehenden Tabelle hervor.

Die aufgeführten Stoffe wurden jeweils mit 1 ccm einer 0.86-n. Dibenzoylperoxyd-Lösung in Aceton und 0.10 g Platinschwarz in kleinen Stöpselflaschen unter Stickstoff 5 Stdn. lang auf der Maschine lebhaft geschüttelt. Durch Zugabe von konz. KJ-Lösung wurde die dem noch vorhandenen Peroxyd entsprechende Menge Jod ausgeschieden, das mit n_{10} -As₂O₃-Lösung wie üblich bestimmt wurde. Die ersten drei Versuche zeigen, daß der Peroxyd-Titer beim Fehlen einer dehydrierbaren Verbindung, also durch das Platin allein, nicht verändert wird.

Tabelle 1.

Lösung (je 2 ccm)	ccm n_{10} -As ₂ O ₃	Lösung (je 2 ccm)	ccm n_{10} -As ₂ O ₃
Benzol	8.58	n_{10} -Oxalsäure (in Aceton)....	0
Tetrachlor-methan	8.57	4-n. Ameisensäure (in Aceton)	0
Eisessig	8.49	4-n. Milchsäure (in Aceton) ..	3.5
Methylalkohol.....	0	4-n. Glykolsäure (in Aceton) .	3.4
Äthylalkohol.....	0	1.8 g Hydrazobenzol (in Aceton)	0

II.

Bei Oxydationsvorgängen in der Zelle hat man beim Bestreben, intermediär gebildetes Hydroperoxyd zu fassen, noch größere Schwierigkeiten zu erwarten. Überall, wo Sauerstoff verbraucht wird, sind die Hydroperoxyd zerstörenden Katalasen vorhanden, auch die, namentlich durch die Arbeiten des Hopkinsschen Instituts mehr und mehr zu Bedeutung gelangenden

⁷⁾ B. 54, 2367 [1921].

Peroxydasen sorgen für seine weitere Umsetzung. Das Auftreten von Hydroperoxyd bei einer biologischen Oxydation hat vor kurzem Sylva Thurlow an der Xanthin-Oxydase sehr wahrscheinlich gemacht⁸⁾, die ein treffliches Beispiel für die Gültigkeit der Dehydrierungs-Theorie darstellt.

Wir können über einen weiteren, besonders klaren Fall von Hydroperoxyd-Bildung bei einer Oxydation mit Zellmaterial berichten. Zur Einleitung einer größeren Untersuchung über biologische Oxydationen haben wir uns mit den aus Pilzen leicht darstellbaren Phenol-Oxydasen beschäftigt. Die Vorarbeiten hat Dr. H. Lövenskiöld geleistet, der im Spätsommer 1924 im Schwarzwald große Mengen des Pilzes *Lactarius vellereus* gesammelt und auf Oxydase verarbeitet hat. Seine Präparate haben zu unseren Versuchen gedient.

Bei der Isolierung hielt man sich im wesentlichen an die Vorschrift von Bach⁹⁾. 12.5 kg der gereinigten Pilze wurden durch eine Fleisch-Hackmaschine getrieben und ausgepreßt. Aus dem Preßsaft (5.3 l) wurde durch das gleiche Vol. 96-proz. Alkohols die Hauptmenge Eiweiß ausgefällt, zu dem klaren Filtrat fügte man die 3-fache Menge Alkohol und zentrifugierte das so erhaltene Rohferment (55 g) ab. Es wurde in 150 ccm Wasser trüb gelöst, nach dem Zentrifugieren wurde die klare Lösung in das 5-fache Vol. Alkohol eingegossen. Mit der Fällung, die so entstand, wurde die Reinigung wiederholt. Später wurden nochmals 10 kg Pilze in der gleichen Weise verarbeitet. Die Wirksamkeit der Präparate wurde mit 0.5-proz. Pyrogallol-Lösung festgestellt.

Von Lövenskiöld sind auch die ersten orientierenden Versuche ausgeführt worden, durch die man erkennen wollte, ob sich der Sauerstoff durch andere, der Wasserstoff-Aufnahme fähige Substanzen ersetzen lasse. Dabei ergab sich, daß dies nicht der Fall ist. Dinitro-benzol, Methylenblau, Natriumnitrit, Alloxan, Cystin, Dithio-diglykolsäure, HOOC. CH₂.S.S.CH₂.COOH, erwiesen sich als vollkommen unwirksam. Da die Dehydrierung des Hydrochinons eine bedeutende Hydrierungs-Energie verlangt (42 Cal), so war dieser Mißerfolg aus Gründen unzureichender Affinität verständlich. Nicht aber erklärlich war die Tatsache, daß auch Peroxyde, die eine große Hydrierungs-Affinität besitzen, Hydroperoxyd selbst (92 Cal) und Diäthylperoxyd¹⁰⁾, nicht als Wasserstoff-Acceptoren anstelle von Sauerstoff eintraten. Eine mäßige Wirkung, die bei Gegenwart von Hydroperoxyd sich äußerte, ließ sich auf einen Rest dem Enzympräparat anhaftender Katalase und Peroxydase zurückführen, durch die etwas Sauerstoff frei und Hydroperoxyd zur Oxydation geneigt gemacht wurde.

Bei diesem Stand der Dinge schien es so, als ob in der untersuchten Pilz-Oxydase ein System von der Art eines Metall-Katalysators (Eisen oder Mangan) vorliege, das eben nur die Fähigkeit besitze, den molekularen Sauerstoff zu einem sogenannten Moloxyd (nach Engler-Bach) aufzuladen und in aktiver Form an das Phenol weiter zu geben. Dabei zeigte sich freilich das Präparat gegen Blausäure verhältnismäßig unempfindlich, in geringen Konzentrationen brachte Blausäure sogar eine deutliche Steigerung der Wirksamkeit hervor.

Die Apparatur bestand aus zwei kleinen Schüttelbirnen gleichen Inhalts, die, durch einen starren Draht verbunden, von der gleichen Welle aus mit konstanter Geschwindigkeit

⁸⁾ Biochem. J. **19**, 175 [1925]; siehe auch ebenda M. Dixon, S. 507.

⁹⁾ Bio. Z. **34**, 473 [1911].

¹⁰⁾ Die Wärmetönung der Reaktion $\text{H}_3\text{C}_2\text{O.O.C}_2\text{H}_5 \xrightarrow{2\text{H}}$ $2\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ist nicht bekannt; sie ist aber vermutlich erheblich größer als 42 Cal.

keit gleichzeitig lebhaft geschüttelt wurden. Die Temperatur lag bei 18—20°. Bei den Oxydationsversuchen wurde die ganze Apparatur mit reinem Sauerstoff gefüllt; der Sauerstoff-Verbrauch wurde manometrisch gemessen an einem U-förmigen, zur Hälfte mit Quecksilber gefüllten Capillarrohr, das auf der einen Seite offen, auf der anderen dicht mit dem oberen Rohr der Birne verbunden ist; zwischen Capillare und Rohr befindet sich ein Glashahn. Aus dem Höhenunterschied der auf einer mm-Skala angebrachten Quecksilbersäulen in den beiden Schenkeln des Manometers läßt sich der O₂-Verbrauch berechnen, da das Volumen des gesamten Gasraums (62 ccm) bekannt ist. Da immer nur einige ccm Sauerstoff bei unseren Versuchen aufgenommen wurden, kann die Abnahme des Sauerstoff-Drucks während der Reaktion vernachlässigt werden. CO₂ wird nicht gebildet. Die im Folgenden angegebenen O₂-Werte sind auf Normalbedingungen reduziert.

Zur Fortsetzung der Versuche wurde an Stelle von Pyrogallol das Hydrochinon gewählt.

Bei den wiedergegebenen Oxydationsversuchen, bei denen wir uns auf nur einen Teil des gewonnenen Materials beschränken, wurden jeweils 5 ccm einer $m/2$ -Hydrochinon-Lösung (= 0.275 g) verwendet.

Wir zeigen zuerst die Wirksamkeit des von Lövenskiöld dargestellten Präparats gegen Hydrochinon und seine geringe Empfindlichkeit gegen Blausäure. Das Präparat ging mit starker Trübung in Lösung.

Tabelle 2.

Menge des Pilzpräparats: 0.04 g in 5 ccm H ₂ O. Dauer: 1 Stde.				
Zusatz	ohne	ohne	+ 0.1 ccm $n/100$ -HCN	+ 0.2 ccm HCN + 0.3 ccm HCN
O ₂ -Aufnahme (ccm)	1.28	1.31	1.23	1.01
	Zusatz		+ 0.4 ccm HCN	+ 0.5 ccm HCN
O ₂ -Aufnahme (ccm)			1.21	1.22

Prüfung auf Katalase: 0.040 g Präparat in 8 ccm H₂O + 2 ccm H₂O₂-Lösung, enthaltend 0.010 g, entwickelten in 30 Min. 2.57 und 2.50 ccm O₂. Verbraucht waren 9.0 und 9.5 mg H₂O₂ (2 Versuche). Ein Teil des Hydroperoxyds hat sich wohl mit dem unreinen Pilzpräparat umgesetzt, daher etwa 20% O₂ zu wenig.

Hemmung der Katalase durch Blausäure: Zwei gleiche Ansätze wie vorstehend; dazu 0.5 ccm $n/100$ -HCN-Lösung. Nach 30 Min. waren 0.35 und 0.36 ccm O₂ entwickelt, gleichzeitig 0.9 und 1.2 mg H₂O₃ verbraucht.

Auf Grund der mitgeteilten Versuche waren nun Voraussetzungen da, zu entscheiden, ob die durch das Pilzmaterial beschleunigte Oxydation des Hydrochinons als Dehydrierung zu betrachten sei oder nicht, ob also als primäres Produkt Hydroperoxyd auftrete. Da die Katalase-Wirkung sich durch Blausäure ausschalten läßt, mußte in einem mit diesem Zusatz versehenen Versuch, wie sie Tabelle 2 aufführt, Hydroperoxyd nachzuweisen sein. In der Tat verriet die Titanschwefelsäure-Reaktion mit aller Deutlichkeit seine Gegenwart. Im letzten Versuch von Tabelle 2 trat lebhaft Orange-färbung, aber auch schon im vierten eine unverkennbare Gelbfärbung auf.

Diese Feststellung veranlaßte zu weiteren Versuchen, die Hauptmenge des H₂O₂-zersetzenden Fermentes von dem Präparat abzutrennen.

Man löste die noch vorhandenen 12 g des 3-mal umgefällten Pilzpräparats in 150 ccm Wasser, filtrierte die trübe Lösung und fällte jetzt in Fraktionen mit je 80 ccm absol. Alkohol. Von jeder Fällung wurde abzentrifugiert; die ersten Niederschläge waren hell und flockig, die letzten dunkelbraun und schmierig. In der Lösung blieb schließlich ein dunkles unwirksames Harz.

Nachdem sich erwiesen hatte, daß die Fällungen aus alkohol-armer Lösung wirksamer waren als die späteren, wurden noch 32 g einer Erstfällung von der ursprünglichen

Verarbeitung her auf die gleiche Weise gesondert. Die erste und zweite Fällung wurden jeweils mit den entsprechenden Niederschlägen der beschriebenen Reinigungsprozedur vereinigt, in je 50 ccm Wasser gelöst und mit je 100 ccm Alkohol gefällt. Nachdem sich für die beiden Präparate die gleiche Wirksamkeit ergeben hatte, wurden sie vereinigt und dann im Vakuum-Exsiccator getrocknet. Man erhielt 2.6 g eines hellgrauen Pulvers, das in Wasser zu bräunlichen Flocken aufquoll und sich darin nur teilweise löste. Eisen und Mangan waren in der Asche nicht nachweisbar. Die genaue Analyse soll bei einer späteren chemischen Untersuchung des aktiven Pilzpräparates durchgeführt werden.

Das so gewonnene Material ist 22-mal wirksamer als das zuerst herangezogene. Der Umsatz ist ungefähr proportional der Katalysator-Menge.

Versuchsdauer 10 Min. 0.020 g in 5 ccm H_2O + 5 ccm $m/2$ -Hydrochinon-Lösung: O_2 -Verbrauch 2.67 ccm. — 0.020 g in 5 ccm H_2O + 5 ccm $m/2$ -Hydrochinon-Lösung: O_2 -Verbrauch 2.74 ccm.

Versuchsdauer 5 Min. 0.080 g in 5 ccm H_2O + 5 ccm $m/2$ -Hydrochinon-Lösung: O_2 -Verbrauch 5.18 ccm.

Die Katalase-Wirkung ist stark zurückgegangen, die Absicht der Reinigung also erreicht worden¹¹⁾.

Dauer 10 Min. 0.020 g in 8 ccm H_2O und 2 ccm H_2O_2 -Lösung (enthaltend 0.010 g): O_2 -Entwicklung 0.65 ccm, H_2O_2 -Verbrauch 2.0 mg.

Dauer 5 Min. 0.080 g in 8 ccm H_2O und 2 ccm H_2O_2 -Lösung (enthaltend 0.010 g): O_2 -Entwicklung 1.90 ccm, H_2O_2 -Verbrauch 3.6 mg.

Es bestand nun keine Schwierigkeit mehr, bei der katalytischen Oxydation des Hydrochinons das entstandene Hydroperoxyd direkt, und zwar in einer Menge von weit mehr als 50% der theoretisch möglichen, zu erfassen.

Der qualitative Nachweis. Die dunkelgefärbte Reaktionslösung wurde filtriert und dann 5-mal mit dem 3-fachen Volumen reinen Äthers ausgeschüttelt. Dadurch wurde das Hydrochinon restlos entfernt. Folgende Proben fielen einwandfrei positiv aus.

1. Titanschwefelsäure erzeugt starke orangefelbe Färbung. Die Methode diente auch zum quantitativen Nachweis.
2. Die angesäuerte Lösung schied in Gegenwart von Eisenspuren aus KJ-Lösung reichlich Jod aus.
3. Bildung von Berlinerblau aus stark verd. $FeCl_3$ + $K_3Fe(CN)_6$ -Lösung.
4. Mit saurer Permanganat-Lösung Entfärbung unter Sauerstoff-Entwicklung; O_2 wurde nachgewiesen.
5. Überchromsäure-Reaktion.
6. O_2 -Entwicklung bei Zugabe von Platinmohr oder von Leber-katalase-Präparat.

Die quantitative Bestimmung. Die meisten Bestimmungen wurden kolorimetrisch mit einem sorgfältig hergestellten Vergleichspräparat nach 1. ausgeführt. In einigen Versuchen wurde die Lösung in zwei gleiche Hälften geteilt und das Hydroperoxyd in der einen kolorimetrisch, in der anderen durch Titration mit $n/10$ -Permanganat bestimmt. Die Übereinstimmung war gut. Durch Messung des mit $KMnO_4$ -Lösung im Eudiometer über Quecksilber entbundenen Sauerstoffs wurden bei den verhältnismäßig geringen Gasmengen zu niedrige Werte erhalten. So wurden bei einem Kontrollversuch aus 0.0070 g H_2O_2 nur 3.4 ccm O_2 bestimmt, anstatt 4.5, also nur 75%. Immerhin haben wir aus einer Reaktionslösung die (im gleichen Sinne differierende) Gasmenge mit dem glimmenden Spahn und durch Absorption mit Pyrogallol-Lösung einwandfrei als Sauerstoff sichergestellt.

Wir begnügen uns mit der Wiedergabe von drei Belegen für die H_2O_2 -Bestimmung.

Versuchsdauer 10 Min.: 20 mg Präparat in 5 ccm H_2O + 5 ccm $m/2$ -Hydrochinon-Lösung: O_2 -Verbrauch 2.50 ccm, H_2O_2 2.6 mg = 68%. — 20 mg Präparat in 5 ccm H_2O + 5 ccm $m/2$ -Hydrochinon-Lösung: O_2 -Verbrauch 2.56 ccm, H_2O_2 2.1 mg = 54%.

¹¹⁾ Die Katalase hatte sich, wie besondere Versuche zeigten, in den letzten Fällungen angereichert.

— 40 mg Präparat in 5 ccm H_2O + 5 ccm $m/2$ -Hydrochinon-Lösung: O_2 -Verbrauch 4.99 ccm, H_2O_2 5.4 mg = 71 %.

Durch Ausschaltung der Katalase-Wirkung, die ja dem Präparat immer noch in geringem Maß innewohnt, mit Blausäure, wurden praktisch die theoretisch möglichen Mengen H_2O_2 erhalten. Die Oxydation verläuft demnach ohne Abweichung nach der Dehydrierungsgleichung:



Versuchsdauer 10 Min. 10 mg Präparat in 5 ccm H_2O + 5 ccm Hydrochinon-Lösung + 1 ccm $n/100$ -HCN: O_2 1.68 ccm, H_2O_2 2.4 mg = 94 %. — 10 mg Präparat in 5 ccm H_2O + 5 ccm Hydrochinon-Lösung + 4 ccm $n/100$ -HCN: O_2 1.82 ccm, H_2O_2 2.5 mg = 98 %. — 20 mg Präparat in 5 ccm H_2O + 5 ccm Hydrochinon-Lösung + 0.5 ccm $n/200$ -HCN: O_2 2.92 ccm, H_2O_2 4.6 mg = 104 %.

Die Indifferenz des Katalysators gegen Blausäure geht aus der folgenden Versuchsreihe hervor:

Dauer 10 Min. 10 mg Präparat in 5 ccm H_2O + 5 ccm Hydrochinon-Lösung + 0.5 ccm $n/10$ -HCN: O_2 -Aufnahme 1.38 ccm. — 10 mg Präparat in 5 ccm H_2O + 5 ccm Hydrochinon-Lösung + 1 ccm $n/10$ -HCN: O_2 -Aufnahme 0.98 ccm. — 10 mg Präparat in 5 ccm H_2O + 5 ccm Hydrochinon-Lösung + 2 ccm $n/5$ -HCN: O_2 -Aufnahme 1.19 ccm.

Der letzte Ansatz ist in Bezug auf Blausäure $n/30$. Das Aufnahmevermögen der HCN-freien Lösung beträgt im Durchschnitt 1.25 ccm O_2 .

Man sieht aus den Versuchen, daß keine nennenswerten Mengen Peroxydase in unserem Pilzpräparat enthalten sein können, es müßte denn sein, daß dieses Enzym gegen Blausäure ebenso empfindlich wäre, wie die Katalase. Nach den allerdings spärlichen Angaben der Literatur scheint dies nicht der Fall zu sein. Der nächste Versuch läßt erkennen, daß bei Ausschluß von Sauerstoff Hydroperoxyd in das System Hydrochinon-Pilzpräparat nicht nennenswert eingreift.

20 mg Präparat in 5 ccm H_2O , 5 ccm $m/2$ -Hydrochinon-Lösung + 2 ccm H_2O_2 -Lösung (10 mg) + 0.5 ccm $n/100$ -HCN wurden 10 Min. unter Stickstoff geschüttelt. Schwache Dunkelfärbung. Es wurden 9.4 mg unverändertes Hydroperoxyd wiedergefunden.

Ebenso wie beim Hydrochinon treten auch bei anderen Phenolen, die wir zum Teil in alkoholischer Lösung mit dem Pilzpräparat unter Sauerstoff geschüttelt haben, bei Brenzcatechin, Pyrogallol, Guajacol, Anthrahydrochinon, reichliche Mengen von Hydroperoxyd auf.

Thermostabilität des Katalysators.

Wir haben die von uns studierte Pilz-Oxydase absichtlich nicht als Enzym bezeichnet, weil sie die für Enzyme besonders charakteristische Eigenschaft, bei erhöhter Temperatur unwirksam zu werden, nicht besitzt. Dieses abweichende Verhalten haben von Euler und Bolin¹²⁾ schon bei der Luzernen-Oxydase festgestellt, und dies war die Veranlassung dafür, daß von verschiedenen Autoren, vor allem von Dony-Hénault, der Ferment-Charakter solcher Katalysatoren in Abrede gestellt wurde. Wir kommen auf diesen Gegenstand noch zurück; vorher seien die Oxydationsversuche mit dem zuvor erhitzten Präparat angeführt.

¹²⁾ H. 57, 80 [1908].

Je 20 mg des Präparats in 5 ccm Wasser wurden 3, 20, 25 Min. auf 100° erhitzt, nach dem Abkühlen wurden die 3 Lösungen mit je 5 ccm $m/2$ -Hydrochinon-Lösung 10 Min. unter Sauerstoff geschüttelt.

O₂-Aufnahme: 2.37, 2.05, 2.04 ccm. Nicht erhitzt: 2.50 ccm.

Diese hohe Hitze-Beständigkeit der „Oxydase“ spricht in der Tat dafür, daß in ihr ein chemisch einfaches System vorliegt, mit dessen Aufklärung wir uns noch beschäftigen werden. Der biologischen Bedeutung tut dies keinen Abbruch, denn mit aller Wahrscheinlichkeit wird man annehmen dürfen, daß der katalytische Dehydrierungsvorgang in der Pilzzelle in gleicher Weise sich vollzieht, wie an dem isolierten Präparat. Aber ein naheliegender Einwand, den vor allem Dony-Hénault gemacht hat, mußte entkräftet werden. Mehrwertige Phenole werden ja schon in schwach alkalischer Lösung ohne katalytische Beihilfe — oder durch die von OH-Ionen —, wie namentlich Manchot¹³⁾ nachgewiesen hat, unter Bildung von Hydroperoxyd durch Sauerstoff dehydriert (autoxydiert). Wir mußten daher der Wasserstoffionen-Konzentration unserer Reaktionslösung besondere Aufmerksamkeit schenken.

Die von uns benutzte Hydrochinon-Lösung in gewöhnlichem destilliertem Wasser hat ein p_H von 6.1. Nach Zugabe des Pilzpräparates (20 mg) sinkt die Acidität auf 7.2 p_H (colorimetrische Bestimmung mit Brom-thymol-Blau); sie wird also praktisch neutral. Bringt man mit einer Phosphatlösung das p_H der Hydrochinon-Lösung auf 7.6 und macht sie damit stärker alkalisch, als die Versuchslösung, so findet beim Schütteln unter Sauerstoff innerhalb der Versuchszeit, in der wir arbeiteten, keine meßbare O₂-Aufnahme statt. Damit ist bewiesen, daß eine OH-Ionen-Katalyse bei unseren Versuchen nicht im Spiele ist.

In einer größeren Zahl von Untersuchungen sind einfache Salzsyste me beschrieben, durch die die Oxydation von Phenolen ebenfalls beschleunigt wird. Wir wollen auf die umfangreiche Literatur nicht näher eingehen, sondern verweisen auf die in der Fußnote aufgeführten Angaben¹⁴⁾. Bemerkenswert sind vor allem die Beobachtungen von Euler und Bolin¹⁵⁾, nach denen Gemische der Calciumsalze von Oxy-säuren (Glykolsäure, Citronensäure u. a.) mit Mangansalzen die Autoxydation von Hydrochinon und anderen mehrwertigen Phenolen stark beschleunigen. Aus dem Analysenbefund der Luzernen-Oxydase haben die genannten Autoren ihre künstlichen Oxydasen aufgebaut und ihre Wirkung dem aus der Zelle geholten Material grundsätzlich gleich gefunden.

Die Kombination von Calciumglykolat und Mangan(II)-acetat verhält sich nun gegenüber der Dehydrierung von Hydrochinon vollkommen gleichartig wie unser Pilzpräparat. Hier, wo jede Katalase- und auch Peroxydase-Wirkung fehlt, wird der aufgenommene Sauerstoff ganz und gar in Hydroperoxyd umgewandelt. Die Empfindlichkeit gegen Blausäure ist viel größer als wir sie oben festgestellt haben, namentlich, wenn man das Verhältnis

¹³⁾ A. **314**, 177 [1901], **316**, 318 [1901].

¹⁴⁾ Battelli und Stern, Erg. d. Phys. **12**, 96 [1912]; Biedermann und Jernakoff, Bio. Z. **149**, 309 [1924].

¹⁵⁾ H. **57**, 80 [1908], **61**, 1 [1909], **61**, 72 [1909].

von HCN zu Mn berücksichtigt. Die Hitze-Beständigkeit ist naturgemäß auch vorhanden.

In allen Versuchen wurden 5 ccm $m/2$ -Hydrochinon-Lösung und ein Katalysator-Gemisch aus 1 ccm $m/10$ -Manganacetat und 2 ccm $m/25$ -Calciumglykolat (zusammen 32.5 mg Trockensubstanz) verwendet.

1. In 30 Min. wurden 4.63 ccm O_2 aufgenommen, 7.0 mg H_2O_2 gebildet = 100 %.
2. In 30 Min. wurden 4.80 ccm O_2 aufgenommen, 6.8 mg H_2O_2 gebildet = 93 %.
3. In 30 Min. wurden 4.66 ccm O_2 aufgenommen, 7.0 mg H_2O_2 gebildet = 98 %.
4. In 30 Min. wurden 5.02 ccm O_2 aufgenommen, 4.8 mg H_2O_2 gebildet = 67 %.

Ein weiterer Versuch gibt das Verhältnis von aufgenommenem Sauerstoff, gebildetem H_2O_2 und Chinon wieder.

Es wurden in dem üblichen Ansatz 5.37 ccm O_2 aufgenommen. Der Inhalt der Birne wurde schwefelsauer gemacht und 3-mal mit Äther ausgeschüttelt. Im Äther wurde das Chinon nach der Methode von Willstätter und Majima¹⁰⁾ — die streng eingehalten werden muß — jodometrisch bestimmt. Verbrauch: 4.91 ccm $n/10$ -Thiosulfat-Lösung. In der ausgeätherten wäßrigen Lösung bestimmte man das Hydroperoxyd ebenfalls jodometrisch. Verbrauch: 4.74 ccm $n/10$ -Thiosulfat. Da 5.37 ccm O_2 = 4.8 ccm $n/10$ - O_2 , der verbrauchte Sauerstoff aber je 1 Mol. H_2O_2 und Chinon liefert, so kann die Übereinstimmung als sehr befriedigend betrachtet werden. Im Parallelversuch wurden vom Chinon 5.08, vom Hydroperoxyd 4.50 ccm $n/10$ -Jod freigemacht.

Hemmungsversuche mit Blausäure. Ansatz wie oben.

1. 30 Min., Zusatz von 1 ccm $n/10$ -HCN-Lösung: O_2 -Aufnahme 3.84 ccm, H_2O_2 5.5 mg = 95 %.
- 2. 20 Min., Zusatz von 2 ccm $n/5$ -HCN-Lösung: O_2 -Aufnahme 1.72 ccm.
- 3. 20 Min., Zusatz von 2 ccm $n/5$ -HCN-Lösung: O_2 -Aufnahme 1.40 ccm.

Wie zu erwarten, vermag das Katalysator-Gemisch mit Hydroperoxyd Hydrochinon nicht im geringsten zu dehydrieren.

Die bisher benutzte Lösung wurde mit 4 ccm H_2O_2 -Lösung (20 mg) 30 Min. unter Stickstoff geschüttelt. Keine Dunkelfärbung. Wiedergefunden wurden 19.6 mg H_2O_2 .

Auch hier haben wir die Wasserstoff-ionen-Konzentration der Reaktionslösung bestimmt; ihr p_H ist gleich 6.4. Verstärkt man die Acidität durch Zugabe von einem Tropfen verd. Essigsäure auf etwa 5.0, so wird in der Versuchszeit kein Sauerstoff mehr aufgenommen.

Über die chemische Natur unseres Pilzpräparates können wir vorerst nur aussagen, daß es bestimmt von anderer Zusammensetzung ist, als die von Euler und Bolin untersuchten Gemische natürlicher und künstlicher Herkunft. Es scheint demnach verschiedenartige Kombinationen — voraussichtlich einfacher Stoffe — zu geben, die innerhalb und außerhalb der Zelle die Dehydrierung von mehrwertigen Phenolen durch molekularen Sauerstoff katalytisch beschleunigen. Es ist durch unsere Untersuchung vollkommen sichergestellt, daß hierbei der molekulare Sauerstoff nicht durch Schwermetalle oder ihre Ionen aktiviert, d. h. zu einem Oxydationsmittel aufgeladen wird, daß vielmehr in dem Reaktionssystem der Wasserstoff der Phenole aktiv gemacht wird, so daß er sich an das O_2 -Molekül zu Hydroperoxyd anzulagern vermag. Soweit man sehen kann, scheint sich aus dem unbekanntem Katalysator — im Fall von Euler und Bolin aus Mangan(II)-Salz —, dem Phenol und Sauerstoff ein labiler Komplex zu bilden, der unter Entstehung von Chinon und Hydroperoxyd wieder zerfällt. Bach hat früher

¹⁰⁾ B. 43, 1171 [1910].

angenommen, ein Bestandteil der Oxydase, die er als „Oxygenase“ bezeichnete, sei ein Stoff, der den molekularen Sauerstoff unter Bildung eines Peroxyds binden könnte; dessen hydrolytische Spaltung könne dann zu Hydroperoxyd führen. Diese Vorstellung trifft bei unserem Versuchsmaterial gewiß nicht das Richtige. Weder aus dem Pilzpräparat, noch aus dem synthetischen Katalysator entsteht beim Schütteln unter Sauerstoff ohne Wasserstoff-Donator auch nur spurenweise Hydroperoxyd.

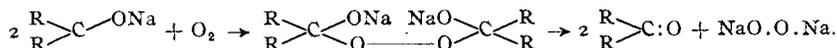
III.

Manchot und Gall haben im letzten Jahre¹⁷⁾ den Vorgang der sauerstoff-losen Dehydrierung durch Platinmohr beim Anthrahydrochinon untersucht. Sie finden, daß in alkoholischer Lösung die Abspaltung von Wasserstoff leicht gelingt, halten es aber für einen Widerspruch gegen meine Anschauung, daß dies in alkalischer Lösung nicht der Fall ist. Dazu ist zu sagen, daß die Dehydrierungs-Theorie nicht die Forderung in sich schließt, daß durch den Katalysator (nicht nur Wasserstoff, sondern) auch Alkali-metall-Ion aus einem Salz herausgenommen werde. Die Autoxydation der Alkalisalze mehrwertiger Phenole kann eben nicht durch Platinmetalle beschleunigt werden, weil in ihnen kein Wasserstoff mobil zu machen ist. Sie enthalten das Metall so locker gebunden, daß sie es ohne katalytische Beihilfe an den molekularen Sauerstoff anzulagern vermögen. Dabei entsteht, wie Manchot überzeugend nachgewiesen hat¹⁸⁾, quantitativ Natrium- bzw. Hydro-peroxyd¹⁹⁾.

Aber auch in nicht sauren organischen Verbindungen wird durch Alkali die Dehydrierungs-Geschwindigkeit durch molekularen Sauerstoff gesteigert, so z. B. bei Hydrazobenzol und *N*-Phenyl-hydroxylamin. Und auch hier ist das Produkt nicht Wasser, sondern Hydroperoxyd. In diesem Falle werden OH-Ionen die Katalyse bedingen, und man wird außerdem noch dazu sagen können, daß ihr Wirken an der organischen Substanz — die ja vielfach dem katalytischen Einfluß von Ionen unterworfen ist —, nicht am Sauerstoff eingreift. In welcher Weise, daß läßt sich nur vermuten. Jedenfalls sehe ich nicht den geringsten Anlaß, die Autoxydation der Phenole unter den verschiedenen Bedingungen ihrem Wesen nach verschieden aufzufassen, wie dies Manchot und Gall und namentlich auch W. Traube und Lange²⁰⁾ tun. Man sollte auch aufhören, von einer „Aktivierung“ des Sauerstoffs schlechthin zu sprechen, wenn aus molekularem Sauerstoff durch Dehydrierung Hydroperoxyd entsteht. Der Sauerstoff ist, wie gerade die hier behandelten

¹⁷⁾ B. 58, 486 [1925]. ¹⁸⁾ A. 314, 177 [1900], 316, 318 [1901].

¹⁹⁾ Die Natriumketyle von Schlenk lagern ihr Metall ebenfalls unter Peroxyd-bildung an den molekularen Sauerstoff, nachdem sich vielleicht zuerst ein C-Peroxyd gebildet hat:



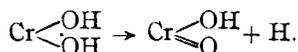
Da man die Alkalisalze des Anthrahydrochinons auch als Metallketyle auffassen und formulieren kann, stünde auch hier der Annahme einer primären Addition von Sauerstoff nichts im Wege. Durch sie erfährt aber nicht der Sauerstoff, sondern das Metall eine Aktivierung. Für wahrscheinlich halten wir diesen Reaktionsmechanismus nicht.

²⁰⁾ B. 58, 2788 [1925].

Reaktionen dertun, unter Umständen reaktionsfähiger als sein Reaktionsprodukt, das Hydroperoxyd.

Chrom(II)-Salze und gewisse komplexe Kobalt(II)-Salze entwickeln in wäßriger Lösung langsam Wasserstoff, wobei sie in die höhere Oxydationsstufe übergehen. Diese Reaktion wird durch fein verteilte Platinmetalle ebenfalls katalytisch beschleunigt. Die Lösungen autoxydieren sich auch, und beim Kobalt(II)-cyankalium haben Manchot und Herzog²¹⁾ für diese Reaktion eine quantitative Bildung von Hydroperoxyd festgestellt.

Nach der Ansicht der genannten Autoren soll der Übergang der Metall(II)-Salze in die höhere Stufe durch direkte Zersetzung von Wasser zustande kommen. Mich führt die durchgreifende Übereinstimmung der Reaktionserscheinungen mit denen dehydrierbarer und autoxydierbarer organischer Substanzen zu ihrer Auffassung als Dehydrierungs-Reaktionen. Die Salze des 2-wertigen Kobalts und Chroms können sehr wohl Konstitutionswasser komplex eingelagert enthalten. Am Chrom(II)-hydroxyd, das nach Traube und Lange sich den Salzen analog verhält, oder auch beim Eisen(II)-hydroxyd läßt sich diese Vorstellung der Dehydrierung am einfachsten formulieren:



Keine Tatsache scheint mir dieser Vorstellung zu widersprechen. Bewiesen ist sie ebensowenig wie diejenige von der direkten Wasser-Zersetzung.

Traube und Lange (a. a. O.) glauben für die katalytische sauerstofflose Oxydation des Kohlenoxyds die von mir angenommene Zwischenbildung von Ameisensäure, $\text{CO} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \begin{array}{l} \text{HO} \\ \text{H} \end{array} > \text{CO} \rightarrow \text{CO}_2 + 2\text{H}$, ausschließen zu können, weil es ihnen nicht gelang, unter Bedingungen, unter denen Formiat durch Palladiumschwarz nicht in meßbarem Betrag zersetzt wurde, die Bildung von Ameisensäure zu erreichen. Sie fanden nämlich, daß auch in schwach alkalischer Lösung Kohlenoxyd und Wasser durch Pd zu Kohlendioxyd und Wasserstoff umgesetzt werden, und erwarten nun, daß, wenn wirklich Ameisensäure auftrete, sie vom Alkali aufgenommen und als Salz erhalten bleiben müsse. Da dies nicht der Fall ist, folgern Traube und Lange, die Zwischenbildung von Ameisensäure sei ausgeschlossen, es handle sich bei der Reaktion auch um eine direkte Zersetzung des Wassers. Läge ein Vorgang in homogener Lösung vor, so wäre der von Traube und Lange eingenommene Standpunkt zweifellos unanfechtbar. Für Reaktionen jedoch, die sich an Oberflächen, im heterogenen System abspielen, scheint es mir nicht so zu sein. Die Versuche der beiden Autoren widerlegen nicht die Möglichkeit, daß die Ameisensäure, die sich nach meiner Ansicht am Kontakt aus CO und H₂O intermediär bildet, an der aktiven Oberfläche mit so großer Geschwindigkeit alsbald in CO₂ und H₂ zerfällt, daß auf dem viel langsameren Weg der Diffusion keine nachweisbaren Mengen davon in die Lösung selbst gelangen.

²¹⁾ B. 33, 1742 [1900].