

Gefrieren und Erfrieren, eine physicochemische Studie.

Von **H. W. Fischer.**

Bemerkung des Herausgebers. Botaniker und Zoologen, welche sich mit dem Problem des Gefrierens und Erfrierens der Zelle beschäftigten, haben immer bemerkt, daß hier zwischen dem Verhalten belebter und unbelebter Kolloide ein Zusammenhang bestehen muß. Die vorliegende Untersuchung bezweckt nun, durch Zusammenstellung des physikalischen wie des physiologischen Materiales die Frage zu entscheiden, ob es sich nur um eine äußere Analogie oder um einen inneren Wesenszusammenhang handelt. Obgleich eine solche Arbeit manches dem Botaniker wohlbekannte rekapitulieren mußte, hielt der Herausgeber ihren Abdruck in einer botanischen Zeitschrift doch für geboten, um so mehr, als einzelne physikalische Seiten schon von Botanikern, auch in diesen „Beiträgen“, gestreift worden sind.

Wenn unter der Wirkung niederer Temperaturen in tierischen oder pflanzlichen Geweben Schädigungen eintreten, die ihr Absterben zur Folge haben, so bezeichnet man das allgemein mit Erfrieren. Bei näherem Zusehen aber zeigt sich, daß, wenn auch der äußere Anlaß, die Temperatursenkung, allen Fällen des Erfrierens gemein ist, doch die Ursache des Todes, d. h. die Wirkung der Kälte, keineswegs dieselbe ist. Zunächst nämlich kann die Temperatur so tief sinken, daß die Grenze der Lebensfähigkeit, das vitale Temperaturminimum des Individuums, unterschritten, daß die äußere Temperaturbedingung für eine gewisse Gleichgewichtslage in den verwickelten Reaktionen, deren Summe uns als Leben erscheint, nicht mehr gegeben ist. Eine tiefgreifende Änderung der chemischen Zusammensetzung wird dabei aber — zunächst wenigstens — nicht auftreten. Andererseits kann aber

auch die Temperatur so tief sinken, daß es in den Geweben zur Abscheidung großer Mengen von Eis kommt. Dem Protoplasma wird sein Wasser mehr oder weniger vollständig entzogen, also hier ändert sich die Zusammensetzung des Gewebes durch die Kälte.

Im Folgenden werden wir uns fast ausschließlich mit diesem — dem Erfrieren durch Gefrieren — beschäftigen, dagegen will ich über die Unterschreitung des vitalen Temperaturminimums mich hier sehr kurz fassen. Das Erfrieren über 0 Grad wird wohl nur eintreten bei Organen und Individuen, die sich in ihrer Entwicklung an eine relativ hohe konstante Temperatur (Molisch) angepaßt haben: also bei Pflanzen oder Tieren, die in einem warme Klima leben oder mit einer ausreichenden eigenen Wärmeregulation versehen sind, außerdem noch bei Pflanzenorganen, die sich z. B. in unserem Klima zu einer Zeit des Jahres entwickeln, wo es fast stets warm ist.

Unsere Kenntnisse von der Chemie des Lebens sind nun noch nicht genügend entwickelt, um hier alle Einzelheiten erklären zu können, die allgemeine Ursache muß aber ganz zweifellos folgende sein: In jedem tierischen oder pflanzlichen Organ verlaufen Vorgänge, die so miteinander gekoppelt sind, daß der eine das liefert, was der andere verbraucht. Ändert sich nun die Geschwindigkeit, mit der diese Vorgänge verlaufen, mit fallender Temperatur in verschiedenem Maße, so muß das Gleichgewicht gestört, d. h. das Leben des betreffenden Organismus muß gefährdet werden. Ein sehr instruktives Beispiel dafür verdanken wir Sachs. Dieser fand, daß, wenn man Tabak, Kürbis und Schminkebohne mehrere Tage einer Temperatur von etwa $+3^{\circ}$ aussetzt, die Pflanzen zu welken anfangen und schließlich auch absterben. Erwärmt man aber den Boden, in dem sich die Pflanzen befinden, während man ihre oberirdischen Teile derselben Temperatur aussetzt, so bleibt die Pflanze leben. Sachs schließt daraus, daß bei niedriger Temperatur die Wurzeln nicht mehr so viel Wasser aufsaugen können, wie die Blätter durch Ausdunstung verlieren. Nämlich in dem feuchten Boden ist der Dampfdruck des Wassers größer als oben in der meistens nicht gesättigten Luft. So entsteht eine Kraft, die das Wasser nach den Blättern hintreibt¹⁾. Steigt nun die Bodentemperatur, so wächst der Dampfdruck und damit die Kraft, die das Wasser nach den Blättern treibt.

Eine ganz ähnliche Überlegung erklärt auch Müller, warum die warmen Strahlen der Wintersonne so oft gefrorene Bäume töten.

Hupf auf (Müller-Thurgau) berichtet darüber z. B. „Am 1. Februar d. J., einem klaren, windstillen Tage, trat hier ein rascher

¹⁾ Vgl. E. Askenasy, Beiträge zur Erklärung des Saftsteigens. Verhandl. d. naturh. med. Vereins zu Heidelberg, Bd. V, 1896. Näheres bei Nernst, Theoretische Chemie, II. Aufl. 1898, S. 165.

Wechsel von der Kälte zur Wärme ein, so daß das Thermometer nachmittags an sonnigen Orten bis auf $+ 10^{\circ}$ stieg. Die Wirkung äußerte sich auf die Nadeln der Kiefern und Fichten in folgender Weise: Auf freien Flächen, namentlich an sonnigen Hängen und Plätzen, waren an Fichtenpflanzen verschiedenen Alters an deren Südseite die jüngsten Triebe ganz oder teilweise vom Frost verbrannt, während die auf der Nordseite stehenden Triebe meistens unversehrt blieben. Eine Fichtenhecke von ca. 3 km Länge — von Ost nach West ziehend — war auf der Südseite vollständig rot, auf der Nordseite aber intakt⁴.

Da sich die Nadeln mit ihrer großen Oberfläche und kleinen Masse viel schneller erwärmen müssen wie der gefrorene Boden, so wird das Dampfdruckgefälle umgekehrt, der Saftstrom müßte jetzt von den Nadeln in den Boden fließen. Also müssen die erwärmten Partien rasch verdorren und zugrunde gehen¹).

In der Regel aber liegen die Verhältnisse leider nicht so einfach wie bei den hier angeführten Beispielen, denn die gekoppelten Vorgänge sind oft chemische Reaktionen mit verschiedenen Temperaturkoeffizienten. Dann kann es leicht zum Verschwinden lebenswichtiger Stoffe oder zur Anhäufung giftiger Stoffe kommen. Wenn man z. B. Kaninchen durch kalte Bäder oder Luft abkühlt, so findet man schon nach wenigen Stunden das Glykogen aus der Leber bis auf Spuren verschwunden²). Nun sollte man bei Warmblütlern die allerhöchste Empfindlichkeit gegen ein Sinken der Körpertemperatur erwarten. Aber sie zeigen sich in dieser Hinsicht ganz überraschend widerstandsfähig. So wirkt z. B. erst eine Abkühlung von zirka 19 Grad tödlich auf ausgewachsene nicht winterschlafende Tiere, während junge Tiere, z. B. Hunde, bis auf 5° C., Winterschläfer sogar noch etwas unter den Gefrierpunkt abgekühlt werden können. Da sich aber gewisse Mengen von Stoffen bilden oder verschwinden müssen, so muß die niedrige Temperatur längere Zeit einwirken, um zu töten, wie besonders aus den Versuchen von Molisch deutlich hervorgeht. Beim Gefrieren aber — wie wir sehen werden — ist es nur nötig, daß eine sehr kurze Zeit lang eine bestimmte Temperatur erreicht wird. Des-

¹) Weitere Literatur über das Erfrieren der Pflanzen über 0 Grad bei Pfeffer, Pflanzenphysiologie II, Leipzig 1904, S. 298, und Molisch.

²) Literatur Bunge, Lehrbuch der Physiologie des Menschen, Leipzig 1905, I, 304; II, 508. Daß durch Koppelung zweier vollkommen stetiger Vorgänge unter Umständen ein recht unstetiger Verlauf entstehen kann, soll folgendes Modell illustrieren: In einem Ofen befinden sich eine Anzahl von Thermoelementen und eine Röhre. Der von den Thermoelementen gelieferte Strom dient zur Bereitung von Knallgas, das in die Röhre geleitet und dort wieder zu Wasser verbrannt wird. Nun wächst die Reaktionsgeschwindigkeit zwischen Wasserstoff

wegen unterscheiden Matruhot und Molliard mit Recht: „le mort lent par le froid und le mort rapide par le gel“. Da nun chemische Reaktionen bei keiner Temperatur zum vollkommenen Stillstand kommen, so ist es natürlich auch möglich, daß weit unter 0 Grad unterkühlte oder gefrorene Gewebe auf diese Weise zugrunde gehen¹⁾.

Ich wende mich jetzt zum Erfrieren durch Gefrieren zurück. In der Regel gehen die beim Gefrieren einer Flüssigkeit auftretenden Veränderungen vollständig zurück. Quecksilber hat bei 15° stets dieselben Eigenschaften, ganz unabhängig davon, ob es ein oder mehrere Male vorher auf z. B. — 100° abgekühlt worden ist. Bringe ich dagegen einen Froشمuskel zum Gefrieren, kühle ihn auf — 5° ab und erwärme ihn dann wieder auf + 15°, so zeigt der Muskel keineswegs mehr das Verhalten, wie er es vor der Abkühlung gezeigt hat; er hat z. B. die Eigenschaft, sich auf einen elektrischen Reiz zusammenzuziehen, verloren. Er muß also an irgend einer Stelle während des Gefrierens eine unumkehrbare, eine irreversible Veränderung erlitten haben.

Die Annahme, die bis etwa in die achtziger Jahre des vorigen Jahrhunderts hinein herrschend gewesen ist, war, daß diese beim Auftauen nicht wieder zurückgehende Veränderung eine grobmechanische sei, d. h. daß die Zellen beim Gefrieren gesprengt würden. Doch trat dem Göppert schon 1830 in seinem Werke über die „Wärmentwicklung in den Pflanzen“ entgegen: „Auch die verschiedensten Kältegrade, 1° bis 40°, bei denen die Pflanzen erstarren, ebenso Wärmegrade, 1° bis 50°, bei denen sie auftauen, und die größte in möglichst kurzen Zwischenräumen stattfindende Abwechslung dieser Extreme bringen gar keine Veränderung in der Struktur der Zellen hervor; immer zeigen sie sich unverletzt“. Dann zeigte Nägeli, daß durch Gefrieren abgetötete Zellwände sich zwar wie tote, aber auch wie unverletzte, dichte Membranen verhalten. Wie sollten auch die hochgradig elastischen Wände durch eine so geringe Ausdehnung ihres Inhaltes gesprengt werden? Auch Sachs kam zu derselben Ansicht. Nun hätte man immer noch denken können, daß, wenn auch nicht

und Sauerstoff unverhältnismäßig viel schneller mit steigender Temperatur an, wie die elektromotorische Kraft der Thermosäule. Es wird also nur einen ganz eng begrenzten Temperaturbereich geben, bei dem sich in der Röhre erhebliche Massen Gas vorfinden, steigt die Temperatur höher, so wird das entwickelte Gas fast momentan verbraucht, sinkt sie, so wird die Röhre durch das sich anhäufende Gas zerschmettert werden. Bekanntlich kommen auch Entzündungspunkte und anderes mehr auf ganz ähnliche Weise zustande.

¹⁾ Einige Beispiele bei Pfeffer, Pflanzenphysiologie. Literatur bei Bunge, Lehrbuch der Physiologie des Menschen, I. Bd., S. 304, II. Aufl. 1905, besonders Al. Horvath, Beitr. zur Lehre über den Winterschlaf, Würzburg, Stahelsche Buchhandlung, 1878.

die Zellwände, so doch die Struktur des Protoplasmas durch die wachsenden Eiskristalle zerrissen werden. Doch zeigte dann Müller-Thurgau, „daß wenigstens unter gewissen Umständen innerhalb der Zellen sich kein Eis bildet, sondern daß die ersten Eiskristalle auf der Oberfläche der Zellhäute in den Intercellularräumen auftreten, daß dieselben bei ihrem weiteren Wachstum die Intercellularräume durch Spaltung der Zellwände vergrößern“. Damit war der „traumatischen“ Theorie des Erfrierens der Boden entzogen. Also ist die Ursache des Erfrierens nicht darin zu suchen, daß das Wasser gefriert, sondern darin, daß es ausfriert, d. h. den Geweben entzogen wird.

Wir müssen jetzt versuchen, einen begrifflichen Zusammenhang zwischen dem Erfrieren und einer Gruppe von besser erforschten Vorgängen aufzufinden. Dazu müssen wir zunächst fragen: Welche Systeme haben die Eigenschaft, beim Gefrieren irreversible Veränderungen zu erleiden? Darauf läßt sich eine ganz allgemeine Antwort geben: Alle Systeme, die in irgend einer Hinsicht metastabil sind, deren Metastabilität durch das Gefrieren aufgehoben werden kann. Z. B. wird eine bei 15° übersättigte Salzlösung, die man erst vollständig hat gefrieren und sich dann wieder auf 15° hat erwärmen lassen, nicht mehr so viel Salz gelöst enthalten, wie vorher. Da nun tierische oder pflanzliche Gewebe große Mengen von Kolloiden enthalten, welche — wie bekannt — in höchstem Grade die Neigung haben, irreversible Veränderungen durchzumachen, so werden wir kaum fehlgehen, wenn wir in der Metastabilität der Plasmakolloide die Ursache suchen. Wir müssen also zunächst die Veränderungen kennen lernen, die Kolloide dadurch erleiden, daß ihnen durch Gefrieren oder auf anderen Wegen das Wasser entzogen wird.

I. Hauptteil.

Vom Erfrieren der Kolloide.

1. Die Ergebnisse der qualitativen Versuche.

A. Einleitung.

Seit Hardy teilt man die kolloidale Sole je nach ihrem Verhalten beim Eintrocknen in reversible und irreversible ein. Eintrocknete, reversible Solen lassen sich durch einfaches Befeuchten mit Wasser, vielleicht unter Erwärmen, wieder in Lösung bringen, irreversible aber nicht. Während die irreversiblen Hydrosole in ihrem Verhalten den Suspensionen nahe stehen und sich theoretisch mit Erfolg als solche behandeln lassen, nähern sich die reversiblen in ihrem Charakter mehr und mehr den wahren Lösungen. Nicht etwa, als ob eine schroffe Kluft die beiden Gruppen trennte, es existieren alle möglichen Schattierungen und Übergänge, vom kolloidalen, zerstäubten Platin angefangen, bis hinüber zum Tannin. Ja, es kann derselbe Stoff je nach seinem Gehalt an „Schutz“ oder schützendem Elektrolyten alle Abstufungen der Eigenschaften annehmen. So z. B. gewinnt Thoriumhydroxydhydrosol, das unter gewissen Umständen unlöslich, d. h. irreversibel ist, durch Salzsäurezusatz eine ganz überraschende Ähnlichkeit mit Gummilösung¹⁾.

Wir werden nun finden, daß sich die Substanzen beim Gefrieren ähnlich verhalten wie beim Austrocknen. Ich werde also die Versuche nach der Irreversibilität der beim Gefrieren eintretenden Veränderungen anordnen.

B. Qualitative Versuche über das Gefrieren der Kolloide.

Den Suspensionen stehen bekanntlich die ultramikroskopisch auflösbaren Metallhydrosole in ihren Eigenschaften am nächsten. Wie ein Platin- oder Goldhydrosol nach dem Austrocknen nicht mehr in Lösung geht, so wird es auch durch Ausfrieren glatt gefällt. Doch selbst diese irreversibelsten Hydrosole werden durch die Gegenwart von Eiweißstoffen löslich und gefrierbeständig (Bredig), wie auch Versuche bei den Silberpräparaten Collargol, Protargol und Lysargin

¹⁾ A. Müller, Zeitschr. für anorg. Chemie, 57, 311.

zeigen. Von diesen setzt Collargol schon beim Stehen wie beim Zentrifugieren ab, während Lösungen der beiden andern sehr dunkel gefärbt, stark trübe und hochgradig optisch inhomogen sind. Beim Gefrieren wird das Silber auf kleine Haufen zusammengehängt, die dann die klare Eismasse unregelmäßig durchsetzen, doch gibt dieses äußerst inhomogene Gebilde beim Auftauen eine unveränderte Lösung (O. Bobertag, K. Feist, H. W. Fischer).

Die kolloiden Sulfide, deren Sole ja größtenteils auch noch ultramikroskopisch auflösbar sind, lassen sich dagegen schon bis zu einem gewissen Grade durch chemische Einwirkungen schützen. Zwar werden Quecksilbersulfid (Lindner und Picton) und Arsensulfid durch Gefrieren noch glatt gefällt, wobei letzteres, wenn das Sol sehr konzentriert ist, nach H. Winter in eine rote Modifikation übergehen soll. Ich habe diese Umwandlung bei einer allerdings sehr verdünnten Lösung nicht beobachten können. So stark nun auch kolloide Hydroxyde durch die Gegenwart von mehrwertigem Alkohol oder mehreren Alkoholgruppen enthaltenden Körpern geschützt werden¹⁾, so reicht doch selbst ein Weinsäureschutz nicht aus, um ein kolloides Sulfid in Lösung zu halten. Denn das aus Brechweinstein hergestellte Antimontrisulfid — das übrigens hochgradig optisch inhomogen und ziemlich elektrolytempfindlich ist — wird durch Gefrieren glatt gefällt (Ljubavin).

Dagegen wird die flaschengrüne Lösung, die man aus Glykollkupfer durch Schwefelwasserstoff erhält, nicht mehr vollständig zum Ansfällen gebracht (Ljubavin). Einer schützenden Einwirkung eines Elektrolyten (nämlich des Schwefelwasserstoffs) begegnen wir dagegen wohl schon bei den Hydrosolen, die Gutbier und Flury durch Einwirkung von Schwefelwasserstoff auf Lösungen der tellurigen resp. der Tellursäure hergestellt haben. Die rötlich braunen Flocken, die sich aus der klaren Eismasse ausscheiden, gehen beim Schmelzen des Eises zum allergrößten Teile wieder in Lösung, doch wurde stets ein geringerer unlöslicher Rückstand beobachtet.

Viel stärker zeigt sich der Einfluß eines Elektrolytgehaltes bei den Hydroxydhydrosolen, deren Eigenschaften dadurch geradezu bestimmt werden. So z. B. fand schon Ljubavin, daß 6 Tage dialysiertes, positives Eisenoxydhydrosol zu einer goldartigen, von einer klaren Eisschicht umschlossenen Masse erstarrt, die sich beim Auftauen wieder löst. Wenn aber die Dialyse 14 Tage fortgesetzt wird, so bleibt beim Auftauen ein unlöslicher Rest. Der Liquor ferri dialysati, eine tief dunkelbraune, stark inhomogene und elektrolytempfindliche Flüssigkeit, mit der ich arbeitete, wird beim Auftauen

¹⁾ H. W. Fischer, Das negative Eisenhydroxyd, Zeitschr. f. Biochem.

auch wieder klar, zeigt aber das Tyndall-Phänomen bedeutend stärker als vorher. Ähnlich verhält sich negatives Eisenoxyd: weinsaures Eisenoxydkalium, d. h., unter dem Schutz der Hydroxylgruppen der Weinsäure stehendes negatives Eisenoxyd, gefriert zu einer dunkelroten Masse, die unverändert auftaut. Wird dann die Lösung noch einige Tage lang dialysiert — wobei eine gelbe Substanz, die mit Blutlaugensalz nicht reagiert, die Membran passiert —, so bleibt beim Auftauen ein unlöslicher Rückstand (Ljubavin).

Ganz ähnlich verhält sich Kieselsäure: „Eine sehr reine Kieselsäure-Gallerte zerfällt beim Auftauen in reines Wasser und einen Bodensatz. Dieser besteht aus kleinen, schimmernden, harten Blättchen, die ein fast kristallines Aussehen haben, aber unter dem Mikroskop sich sofort als amorph erweisen“ (Bruni), während bei einer nicht so reinen Sole schon eine geringe Menge Kieselsäure in Lösung bleibt (Ljubavin). Wird der Elektrolytgehalt größer, so können sich die Plättchen wieder lösen, während Natronwasserglas, das ja große Mengen von kolloidaler Kieselsäure enthalten muß, durch Gefrieren wenig verändert wird (O. Bobertag, Feist, Fischer). Auch eine wasserklare Lösung wird von essigsaurer Tonerde nach dem Abkühlen auf -10° und -70° wieder klar, zeigt aber eine Verstärkung des Tyndall-Phänomens, während sie durch eine Abkühlung auf -180° sogar makroskopisch getrübt wird. Auch Kühl findet, daß der Gehalt einer Lösung an gelöstem Aluminium nach jedem Gefrieren zurückgeht, die Lösung also zersetzt wird.

Über die eigentümlichen Veränderungen, die die Leitfähigkeit eines solchen Hydrosols durch das Gefrieren erleidet, lasse ich Lottermoser selbst berichten: „Hydrosole mit bedeutendem Elektrolytgehalt, also z. B. Kieselsäure und Ferrioxyd (erhalten durch Behandlung von Ferrichloridlösung mit geringen Mengen von Ammoniak in der Hitze) werden kurz nach der Darstellung durch Ausfrieren und Wiederauftauen nicht ausgeflockt. Ihre spezifische Leitfähigkeit ändert sich dabei nicht. Dagegen tritt, wenn man die Hydrosole der Dialyse unterwirft, von einem bestimmten Reinheitsgrade an durch Ausfrieren Gelatinierung ein, die zunächst noch nicht vollständig zu sein braucht, mit abnehmendem Elektrolytgehalte des Hydrosols aber schließlich vollständig wird; Hand in Hand mit dem Gelatinierungsvorgange geht eine bedeutende Abnahme der spezifischen Leitfähigkeit. Aber auch diese Zustandsänderung zeigt keine Konstanz, vielmehr ist diese Abnahme der spezifischen Leitfähigkeit zunächst groß, mit weiter fortschreitender Reinigung wird sie immer kleiner, geht schließlich auf Null herab und schlägt endlich bei sehr elektrolytarmen Hydrosolen in eine Zunahme der spezifischen Leitfähigkeit nach dem Ausfrieren um. Ja, bei dem durch Auflösen von Eisenoxydgel in Eisenchlorid-

lösung dargestellten Grahamschen Eisenoxydhydrosol tritt von vornherein diese Zunahme der spezifischen Leitfähigkeit nach der durch das Ausfrieren entstandenen Gelbildung ein, die mit fortschreitender Reinigung (durch Dialyse) immer größer wird.⁴ Doch zweifelt Lottermoser, ob man hier von einer Elektrolytschutzwirkung sprechen darf, da gerade die für den Hydrosolzustand wesentlichen Elektrolyte (z. B. Fe Cl_3 beim Grahamschen Eisenoxydsol) hier keine Verhinderung der Gelbildung herbeiführen.

Nach Malfitanos und Ml. A. Moschkoffs Versuchen ist daran aber garnicht zu zweifeln. Malfitano arbeitete mit einer etwa 2prozentigen Kartoffelstärkelösung, einer nach ausreichendem Kochen stabilen und auch gegen das Licht homogenen Flüssigkeit. Läßt man die Lösung zu einem Eisklumpen gefrieren, so findet sich nach dem Auftauen nur eine sehr geringe Menge der Stärke und fast der sämtliche Salzgehalt wieder in der Lösung vor, während die bei weitem überwiegende Menge der Stärke am Boden liegen bleibt. Durch mehrfache Wiederholung des Ausfrierens kann man so den Elektrolytgehalt fast vollständig entfernen. Diese elektrolytarne Stärke gibt nun selbst in der Wärme nur sehr heterogene Lösungen, aus denen sie beim Abkühlen teilweise wieder ausfällt. Nun läßt sich sehr leicht zeigen, daß die Stärkemenge, die nach dem Ausfrieren wieder in Lösung geht, durchaus von der Konzentration der anwesenden Elektrolyse abhängt. Denn schon sehr geringe Mengen einer starken Base oder Säure genügen, um das elektrolytarne Caogulum wieder so löslich zu machen, daß es mit Jod die bekannte Blaufärbung gibt. Größere Mengen verhüten überhaupt die Ausfällung durch Gefrieren, wenn man die Abkühlung nicht zu weit treibt. Die Neutralsalze wirken ähnlich aber schwächer. Auf die Erklärung dieser Erscheinung kann hier nicht ausführlich eingegangen werden. Sie ist darin zu suchen, daß die beiden Ionen eines Elektrolyten in verschieden starkem Grade von einem Kolloide adsorbiert werden, doch ist eine Trennung der Ionen in einem erheblichen Grade wegen der enormen elektrostatischen Kräfte nicht denkbar. Das Kolloidpartikelchen wird im Innern, an dem stärker adsorbierten Ion, sozusagen unter-, an dem schwächer adsorbierten übersättigt sein. Nur an der Oberfläche können sich die Ionen von einander trennen, indem sich die stärker adsorbierten im Kolloide, die schwächer adsorbierten unendlich nahe davon im Wasser aufhalten. Will man nun das Kolloid aus der Lösung entfernen, so muß man entweder die stärker adsorbierten Ionen aus dem Kolloide oder die schwächer adsorbierten aus der Lösung herausreißen, was ohne erheblichen Arbeitsaufwand nicht möglich ist. Nun entspricht, wie wir später ausführlich zeigen werden, einem Erfrieren des Kolloids eine erhebliche Verkleinerung seines Adsorbtionsvermögens, so daß

sich recht gut verstehen läßt, wie durch das Erfrieren eine Trennung des Kolloids von seinem schützenden Elektrolyten ermöglicht wird¹⁾.

Mit dieser Verkleinerung des Adsorptionsvermögens hängt noch eine Erscheinung zusammen, die ich hier noch erwähnen will. Ihre Erklärung kann ich erst später geben. Ein gefrorenes Eisenoxyd ist keineswegs imstande, sein Wasser beim Auftauen wieder aufzunehmen, sondern gibt nach dem Auftauen eine Flüssigkeit, die als Bodensatz ein Magma aus kleinen schimmernden Blättern enthält (Lottermoser). Ebenso erhielt Bruni aus Gallerte von 3 bis ca. 20% Kieselsäure Bodenkörper, die nur 0,8 bis 3,7 Mol. Wasser enthielten.

Wir gehen nun zu den organischen Kolloiden über. Am stärksten verändert werden: Gelatine, Hausenblase (eine aus der Blase von *Acipenser huso* gewonnene Eiweißsubstanz), Caragheen, Agar-Agar, (beides aus Seetangen gewonnene Kohlenhydrate) und *Sapo medicatus*. Alle diese Stoffe werden auf fast dieselbe Weise verändert. Das Wasser friert zum großen Teil aus der Gallerte aus, so daß die ersten Mengen Flüssigkeit, die sich beim Auftauen abscheiden, wenig bis garnichts von dem gelösten Stoff enthalten, wie Fällungsreaktionen mit Bleiessig, Tannin etc. zeigen. Nach völligem Auftauen ist die Substanz noch ausgesprochen inhomogen, aus einer dünnen Flüssigkeit und einer klumpigen, schwammartigen Gallerte bestehend; diese Erscheinung geht bei Zimmertemperatur selbst innerhalb 48 Stunden fast garnicht zurück (O. Bobertag, K. Feist, H. W. Fischer).

Auch Weizenstärkekleister verhält sich ähnlich. Vogel schreibt darüber: „Es sonderte sich beim Auftauen eine große Menge Wassers ab, und der Kleister klebte nicht mehr, auch wenn ich ihn aufs beste mit dem ausgeschiedenen Wasser zu vermengen suchte. Als ich ihn aber bis zum Siedepunkte des Wassers erhitzte, erhielt ich eine homogene, zitternde Masse, welche klebte und die Eigenschaften des ungefrorenen Kleisters wieder angenommen hatte.“

Molisch hat mit einem in einen Gefrierkasten eingebauten Mikroskope beobachtet, wie in den Gallerten diese Schwammstruktur entsteht. „An zahlreichen Punkten tauchen unter Abscheidung von Luftmassen rundliche Eisblasen auf, die, der benachbarten Gelatinegallerte das Wasser entziehend, sich rasch vergrößern und dabei die immer wasserärmer werdende Gelatine ringsum zur Seite schieben,

¹⁾ Bredig, Zeitschrift f. phys. Chemie, 33, 385. 1900. Freundlich, Zeitschrift f. Kolloide, 1, 323. Persin, Journ. Chem. Phys., 3, 50. 1905. Bechhold, Zeitschrift f. phys. Chem., 48, 385. 1904. Ebenda 60, 257. 1907. Bauli, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol., 7, 531. 1905. — Zur Theorie der „binären Elektroden“ vergleiche: Nernst, Zeitschrift f. phys. Chemie, 9, 137. 1882. Haber, Annal. d. Physik, 4, 26, 127. 1908. Leonor Michaelis, Dynamik der Oberflächen (Dresden 1909, S. 57). Haber, Zeitschrift f. phys. Chem., 67, 385. 1909.

so daß diese, wenn die Eisbildung ihr Ende erreicht hat, als ein höchst kompliziertes Maschenwerk zwischen den Eisklumpchen ausgespannt erscheint. Die ursprünglich homogene Gelatine ist nun in eine Art Schwamm umgewandelt, in welchem das höchst komplizierte Gerüstwerk aus Gelatine, die Hohlräume aber aus Eis bestehen.“ (Fig. 1.)

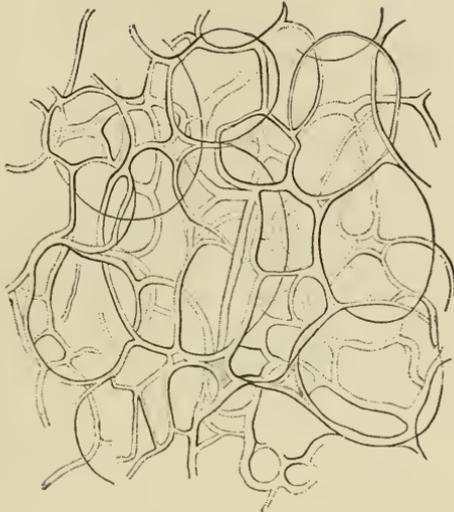


Fig. 1. Wässrige 2prozentige Gelatinelösung gefroren und sodann aufgetaut.

Über diese Wände macht Ambronn noch interessante Angaben: Während er sonst zu gewissen Kunstgriffen greifen muß, um das Kolloidnetz beim Auftauen zu erhalten, bleibt bei Gelatine und Agar-Agar die Struktur auch nach dem Auftauen erhalten, wenn das Präparat nicht gar zu sehr erwärmt wird. „Das feine Netzwerk bietet unter dem Mikroskope fast genau dasselbe Bild, wie ein Schnitt durch irgend ein parenchymatisches Pflanzengewebe. Auch in ihrem optischen Verhalten stimmen die Wände der Maschen ganz mit den normalen Zellwänden überein. Sie zeigen eine starke Doppelbrechung und dieselbe Orientierung des optischen Elastizitätsellipsoids, die kleinste Achse liegt senkrecht zur Fläche der Wandung. Es mag noch erwähnt werden, daß bei der gewöhnlichen roten Gelatine die Wände der Maschen deutlich dichroitisch werden, auch bei Agar kann man einen starken Dichroismus der doppelbrechenden Wände hervorrufen, wenn man die zurückbleibenden Skelette mit Jodlösung färbt.“

Dasselbe Netzwerk bildet sich nach Molisch auch bei Traganth, Gummi arabicum, Hühnereiweiß und Gloeocapsa-Gallerte, verschwindet aber bei Traganth 1 bis 10 Minuten, bei Gummi sofort wieder nach dem Auftauen. Ich fand ein ähnliches Verhalten bei Hämoglobin-Merk (Abkühlung — 10°, — 70°, — 180°). Es zeigte keine deutliche Ver-

änderung, trotzdem das Eis inhomogen mit Klümpchen durchsetzt erschien. Etwas stärker ist schon die Wirkung auf Gummi und lösliche Stärke (-10° , -70° , -180°). Die Substanzen reichern sich beim Gefrieren in der Mitte an, wie Reaktionen mit Bleiessig zeigen. Die eben aufgetauten Lösungen sind recht trübe, werden aber beim längeren Stehen wieder — jene vollkommen, diese fast — klar. Dagegen zeigt sich eine Lösung von „trockenem“ Eiweiß durch Gefrieren schon etwas verändert, doch noch nicht nach Abkühlung auf -10° , sondern erst bei -70° und -180° , wobei die tiefere Temperatur stärker zu wirken scheint. Sie trübt sich deutlich und ein Teil der Trübung scheint nicht mehr zu verschwinden.

Ambroun benutzte eine Gummilösung, um die Eisblumen, die sich beim Gefrieren bilden, zu fixieren, indem er die mit Gummilösung bezogene Platte in einem kalten, trockenen Raume solange liegen ließ, bis das Eis verdunstet war. (Ebenso gut kann man es auch nach Molisch durch Alkohol herauslösen.) „Bei der mikroskopischen Untersuchung dieser fixierten Eisblumen sieht man, daß der Gummi in lauter kleine Streifen verteilt ist, die zwar infolge ihrer sehr geringen Dicke nur schwache, aber sehr deutliche ‚Doppelbrechung‘ zeigen.“ An der Gallertstruktur an sich scheint die starke Veränderung durch das Gefrieren nicht zu liegen, denn Brunis Fischleimgallerte wandelte sich ohne vorheriges sichtbares Schmelzen direkt in die Gallerte um. Schneidet man nach einiger Zeit die zylinderförmige Masse durch, so beobachtet man die innere, noch ausgefrorene heterogene und spröde Zone, umgeben von einem Ring von weicher Gallerte mit dem früheren Aussehen.

Besonders eigenartig sind die Erscheinungen beim Ausfrieren einer Tanninlösung. Das Tannin verhält sich dabei vollkommen wie ein fester Stoff, dessen Löslichkeit durch Temperaturerniedrigung stark herabgesetzt wird. Beim Abkühlen einer 10-prozentigen Lösung beobachtete man zunächst wenig über dem Gefrierpunkte die Abscheidung erheblicher Mengen. Ganz ähnlich sind die Erscheinungen beim Auftauen der gefrorenen Masse. Das Tannin sinkt dabei, sich nur teilweise lösend, auf den Boden, um dann bei einer geringen Temperaturerhöhung in Lösung zu gehen. Wir werden darauf noch zurückkommen und zeigen, daß sich dieses Verhalten mit dem Charakter eines Kolloides gut in Einklang bringen läßt¹⁾.

Auch unter den Farbstoffen gibt es bekanntlich eine Reihe von Kolloiden. Wir prüften also eine Reihe von ihnen auf ihr Verhalten beim Gefrieren. Nun sind von den Stoffen, mit denen ich gearbeitet

¹⁾ Vgl. H. W. Fischer und O. Bobertag, Zur Theorie der reversiblen Sole, aus dem Jahresber. der Schles. Gesellsch. für vaterl. Kultur. 1908.

habe, Rhodamin, Chrysoidin nach den Arbeiten von Chassin¹⁾, sowie Freundlich und Neumann²⁾, Eosin, Safranin als in wirklicher Lösung befindlich zu betrachten. Nilblau, Säureviolett, Methylviolett und Fuchsin scheinen eine Mittelstellung einzunehmen. Dagegen sind Nachtblau, Violett-schwarz, Alkaliblau, Kongorot, Bayrisch Blau, Benzopurpurin, und Biebrischer Scharlach ausgesprochene Kolloide.

Nach dem vorliegenden Materiale scheint aber die Sachlage nicht die zu sein, daß die ganze Menge des Farbstoffes in einer dieser Formen ausschließlich in Lösung vorhanden ist, sondern daß vielmehr der Charakter der Lösung durch das Verhältnis bestimmt wird, in dem die Zahl der hochmolekularen zu der der niedermolekularen Komplexe steht. So würde eine starke Verdünnung den Lösungscharakter natürlich stärker hervortreten lassen; ich war aber gerade durch meine Arbeitsart auf ganz verdünnte Lösungen angewiesen. Wie Versuche zeigten, kann man Konzentrationsänderungen von 25% noch ohne künstliche Hilfsmittel mit Sicherheit erkennen, während bei 15% die Beurteilung eine vollkommen unsichere geworden ist. Eine geringe Abschwächung der Farbe zeigten nach Abkühlung auf -10° : Eosin und Chrysoidin; eine stärkere: Bayrisch Blau, Nachtblau, Violett-schwarz und Methylviolett.

Übrigens dürfte hier wohl kaum der Farbstoff ausfrieren, denn beim Abkühlen auf -10° zog sich in der Regel der Farbstoff nach der Mitte des Gefäßes hin zurück, was beim Auftauen ein Niedersinken konzentrierterer Lösung bewirkt haben muß. Damit steht in Übereinstimmung, daß beim raschen Erstarren in flüssiger Luft, bei dem der Farbstoff keine Zeit hat, nach der flüssigen Mitte hin auszuweichen, nur noch bei Violett-schwarz und bei Nachtblau eine Aufhellung beobachtet wurde, die nach 48 Stunden noch nicht zurückgegangen war.

Vielleicht erklärt sich dieses Hellerwerden der Farblösung dadurch, daß gewisse Farbstoffe nach Molisch auch mikroskopisch durch das Gefrieren verändert werden. So fällt Nigrosin in Form von Häuten, Methylenblau in Form von Einzel- oder Büschelkristallen aus. In einer die Brownsche Bewegung zeigenden Karminsuspension werden die Teilchen von den wachsenden Eisblumen so nahe aneinander gedrängt, daß sie beim Auftauen zu vielen vereint, in größeren Klümpchen oder Häutchen aneinander haften und in diesem Zustande natürlich auch nicht mehr die Brownsche Molekularbewegung zeigen.

Als Resultat der qualitativen Versuche ergibt sich, daß viele — aber keineswegs alle — Kolloide beim Gefrieren Veränderungen er-

1) Zeitschr. f. Koll., 3, 76. 1908.

2) Zeitschr. f. Koll., 3, 80. 1908.

leiden, die beim Auftauen nicht wieder zurückgehen. Ein Lebewesen, das solche Kolloide enthält, müßte durch Gefrieren getötet werden. Dagegen aber zeigt sich auch, daß sich jeder lebenswichtige Stoff leicht in eine gefrierbeständige Form des Kolloidzustandes bringen läßt. Denn so empfindlich auch Gelatine und Stärkekleister sind, so beständig zeigt sich die lösliche Stärke, der Fischleim. Ja sogar wenn ein Lebewesen eines so irreversiblen Stoffes wie des kolloiden Platins, zu seinen Lebenszwecken bedürfen sollte, so würde sich selbst dieser, wie wir gesehen haben, unschwer ausreichend schützen lassen. Danach müßte es den Lebewesen keineswegs schwer fallen, sich periodisch auftretender großer Kälte so gut anzupassen, daß ihnen kein Kältegrad etwas anhaben kann. Allerdings würden dieser Anpassung gewisse Fähigkeiten des Protoplasmas geopfert werden müssen, eine feinere Differenzierung der Plasmakolloide wäre ausgeschlossen.

Zweitens kann man aus den Versuchen schließen, daß die Temperatur, bis zu der das gefrorene Kolloid abgekühlt wird, auf die sich beim Auftauen zeigenden Veränderungen nicht ohne Einfluß ist. Wir werden aber alles das erst dann verstehen können, wenn wir durch quantitative Versuche etwas in das Wesen der Vorgänge, die verlaufen, wenn einem Kolloid sein Wasser entzogen wird, eingedrungen sind.

2. Erfrieren und Austrocknen.

Trotzdem zwischen dem Erfrieren und dem Austrocknen auf den ersten Blick kein Zusammenhang zu bestehen scheint, so werden wir uns zunächst doch mit diesem beschäftigen. Wir lernen dabei die Faktoren kennen, von denen die Eigenschaften eines Kolloides abhängen; am Schlusse dieses Teils werden wir aber sehen, daß man aus den Austrocknungskurven die Gefrierkurven herleiten kann.

Wir kommen zunächst auf die klassischen Versuche von van Bemmelen. Dieser füllte eine Anzahl von Exsiccatoren mit Schwefelsäurelösungen verschiedenen Wassergehaltes, und stellte sich auf diese Weise Räume her, in denen Wasserdampfpartialdrucke, angefangen von etwa 12 mm bis herunter auf 0 herrschten. In jedem dieser Exsiccatoren verweilt das Kolloid bis zur Gewichtskonstanz — was oft ziemlich lange dauert — und wird dann dem nächst niedrigen Dampfdrucke ausgesetzt.

Die Kurve, die von einem frischen Kolloide durchlaufen wird, ist auf Figur 2 durch ●●●● dargestellt. Sie zerfällt im wesentlichen in drei Teile. Sie sinkt zunächst von rechts oben bis zum Punkte O, läuft von da aus fast horizontal bis zum Punkte O₁ und fällt dann von O₁ an abermals nach O₀ ab. Das rechts von O gelegene Stück ist vollkommen irreversibel, d. h. es ist auf keine Weise

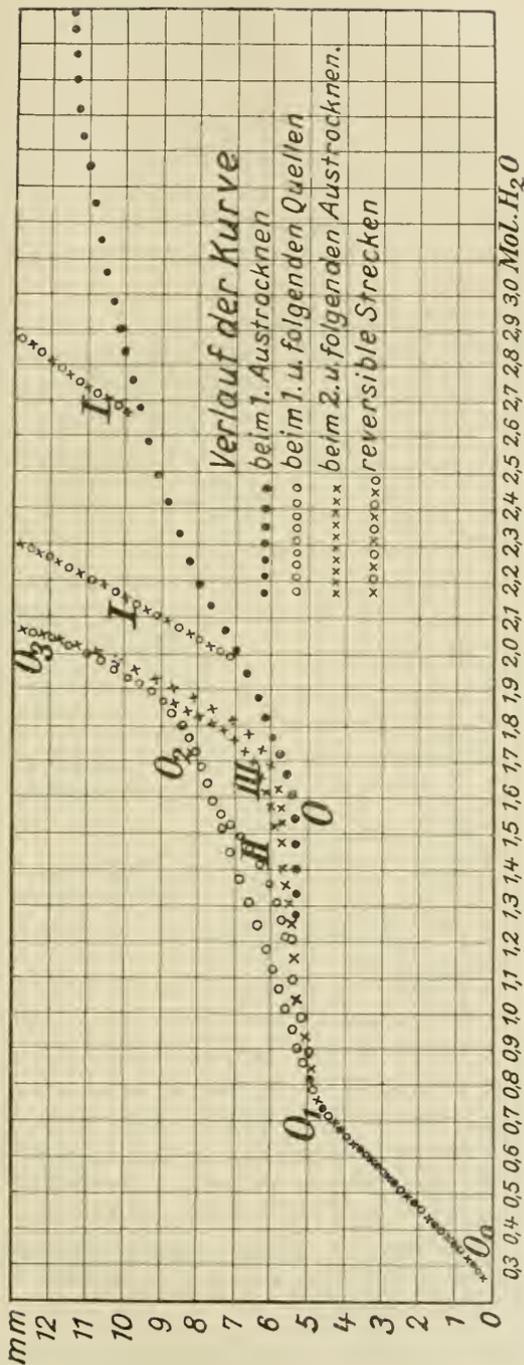


Fig. 2. Austrocknungskurve eines Kolloids nach van Bemmelen.

möglich, es öfter wie ein einziges Mal zu durchlaufen. Versucht man etwa in diesem Teile, das Kolloid durch Zurücksetzen in Exsiccatoren mit höherem Wasserpartialdruck wieder zu wässern, so werden nicht wieder die Punkte durchlaufen. Das Kolloid ist längst nicht mehr in stande, so viel Wasser wieder aufzunehmen, sondern mit steigendem Wasserdampfdruck nimmt es nur noch wenig Wasser auf, dem Verlauf der I o o o o folgend. Entwässert man das Kolloid dann wieder, so wird dieselbe Kurve noch einmal zurückdurchlaufen (I x x x x), d. h. die Quellungs- und die zweiten Trocknungskurven I rechts vom Punkte O sind reversibel.

Wir kommen jetzt zu dem Stücke OO₁. Dieses Stück ist zwar gleichfalls irreversibel, doch kann es mit Hilfe eines Kreisprozesses beliebig oft durchlaufen werden. Beginnt man nämlich am Punkte O₁ wieder zu wässern, so wird nicht das Stück O₁O zurückdurchlaufen, sondern die o o o o Kurve, die über O₂ nach O₃ läuft. Entwässert man nun wieder, so gelangt man auf der x x x x Kurve von O₃ zurück nach O, wobei die Kurve O₃O zunächst so nahe neben der Kurve O₂O₃ verläuft, daß man ein Stück in der Nähe von O₃ als reversibel betrachten kann. Läßt man das Quellen nicht wie eben am Punkte O₁, sondern an irgend einem der zwischen O₁ und O gelegenen Punkte beginnen, so wird eine Kurve II o o o o durchlaufen, die in das Kurvenstück O₁O₂ hineinführt. Ebenso wird, wenn man mit dem Trocknen an irgend einem der zwischen O₁ und O₃ gelegenen Punkte beginnt, eine Kurve III x x x x durchlaufen, die in das Kurvenstück OO₁ hineinführt.

Das letzte Kurvenstück von O₁ nach O₀ dagegen ist vollkommen reversibel, d. h. es wird schon beim ersten Trocknen durchlaufen, dann bei jedem folgenden Quellen oder Trocknen.

Die Fläche OO₁O₂ hat nun die Bedeutung einer Arbeitsgröße, wie aus folgender Dimensionsbetrachtung hervorgeht. Da als eine Achse Steighöhen (h), als andere in Moleneinheit ausgedrückte Gewichte (q) dienen, so wird, da $p = h \cdot s$ und $q = s \cdot v$ (s ist das spezifische Gewicht, v das Volum und p der Druck) $h \cdot q = p \cdot v$, d. h. also einer Arbeitsgröße proportional. Hierbei ist allerdings die Annahme gemacht, daß das spezifische Gewicht des adsorbierten Wassers sich während der Entwässerung nicht ändert. Streng wird diese Voraussetzung wohl kaum zutreffen, doch kann man die kleine Veränderung von s gegenüber der großen Veränderung von v vernachlässigen. Diese Arbeit muß beim Quellen geleistet werden; denn wenn ich dieselbe Zusammensetzung des Gels, die ich beim Trocknen unter dem Drucke p erreichen kann, beim Quellen erhalten will, so muß ich den Druck in der Gasphase auf p^1 steigern.

Eine Energiefläche kann nun niemals auftreten, wenn das System wirklich nur die zwei in der Zeichnung dargestellten variablen Para-

meter enthält. So enthält ja auch bei dem berühmten Carnotschen Kreisprozeß das System außer den im Diagramm dargestellten T und v noch die weitere Variable p . Es tritt also in unseren Kurven, z. B. beim Entwässern von O_2 an, ein neuer variabler Parameter auf. Diese Veränderung des „Adsorptionsvermögens“ wird hervorgerufen durch eine innere Umwandlung des Gels. Nämlich das Hydrogel bleibt nur bis zum Punkte O klar, dann beginnt es sich zu trüben, wird opak und schließlich weiß und undurchsichtig wie Kreide. Umgekehrt aber beginnt vom Punkte O_1 an die Trübung wieder zu verschwinden. Was dabei eigentlich vorgeht, wissen wir nicht sicher. Es scheint sich aber nur um eine Eigentümlichkeit der Kieselsäure zu handeln, denn Eisenhydroxyd zeigt sie nicht mehr so deutlich, trotzdem es sich beim Entwässern etc. ganz analog verhält.

Uns interessiert besonders der Punkt O , weil er nämlich ein ganz scharfer Irreversibilitätspunkt ist. Geht man bei der Entwässerung nur bis zum Punkte O und läßt dann sofort wieder quellen, so müßte die Zwischenkurve, die von O nach O_3 zurückführt, so außerordentlich dicht neben der Kurve OO_3 laufen, daß man dieses Stück als reversibel betrachten kann¹⁾. Die Schärfe, mit der die Lage des Irreversibilitätspunktes definiert ist, ist sehr wichtig, und wir werden darauf noch öfter zurückkommen. In seiner Lage ist der Punkt O nicht etwa eindeutig durch die Natur des Stoffs bestimmt, etwa wie ein Gefrierpunkt, auch nicht etwa durch den ursprünglichen Wassergehalt des Gels. Es kommen hier vielmehr noch eine ganze Anzahl von Faktoren in Betracht, von denen ich aber nur zwei besprechen will.

Die Figur 3 zeigt die Entwässerungskurve einer frischen, einer 8 Monate alten und einer $2\frac{1}{2}$ Jahre alten Kieselsäure-Gallerte, die ursprünglich 1% Kieselsäure enthielt. Je älter das Kolloid wird, desto höher steigt der Irreversibilitätspunkt. Er tritt schon bei höherem Wassergehalte und höherem Dampfdrucke auf. Man kann also das Adsorptionsvermögen eines alten Gels leichter durch Austrocknen schädigen, wie das eines jungen. Den Einfluß der Bereitungsweise zeigt die ausgezogene Kurve. Das Gel ist hier frisch, enthält aber 7 mal mehr Kieselsäure. Diesmal liegt O sogar schon bei dem nur wenig von dem Dampfdruck des reinen Wassers (15 mm) verschiedenen Dampfdruck von 12 mm bei einem Wassergehalt von 4 Mol. Das Gel verhält sich also von vornherein, als ob es ganz alt wäre.

Aus Austrocknungskurven können wir nun gewisse Schlüsse auf die Gefrierkurven ziehen. Ich will zu diesem Zweck zunächst die ver-

¹⁾ Vgl. die Zwischenkurve auf Zeichnung 5, Zeitschr. f. anorg. Chem., 1897, Bd. 13, S. 340; bei van Bemmelen.

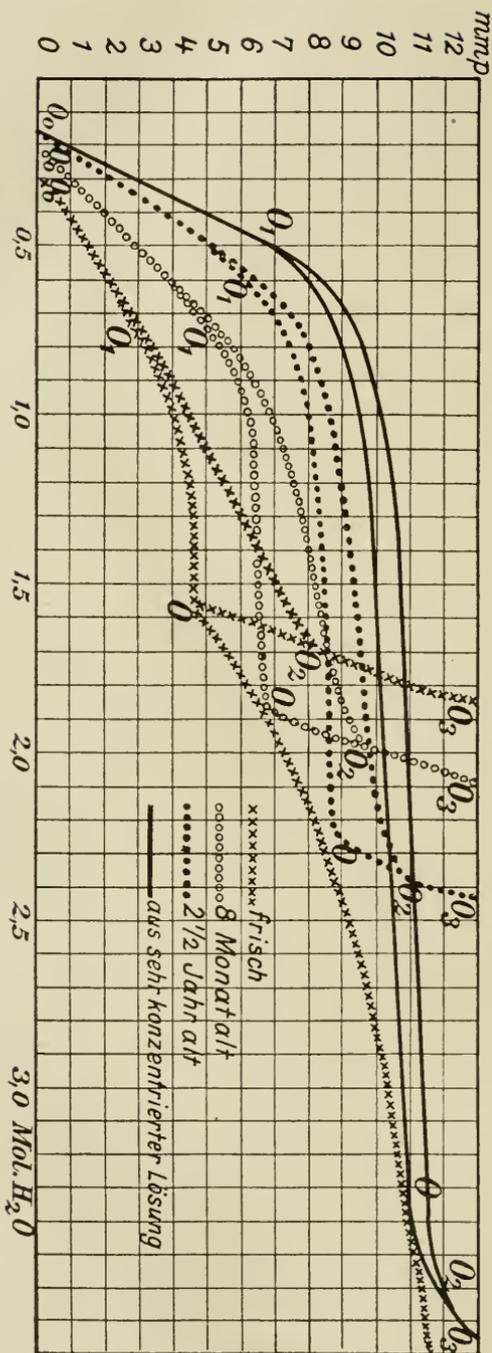


Fig. 3. Entwässerungskurven von SiO₂. Gelen verschiedenen Alters nach van Bemmelen.

einfachende, aber sicher nicht streng gültige Annahme machen, daß der Dampfdruck des adsorbierten Wassers bei allen Temperaturen dem des reinen Wassers proportional sein soll. Also, wenn der Dampfdruck des in einem bestimmten Gele adsorbierten Wassers bei der Temperatur t , z. B. die Hälfte beziehungsweise $\frac{1}{n}$ des Dampfdruckes des reinen Wassers beträgt, so soll er bei allen Temperaturen die Hälfte resp. $\frac{1}{n}$ davon bleiben. Dann kann man die Temperatur angeben, bei der dieses Wasser dem Kolloide durch Eis entrissen werden kann. Nämlich das Wasser im Kolloide wird dann nach dem Eis hin zu destillieren beginnen, wenn sein Dampfdruck größer ist, als der des Eises bei der betreffenden Temperatur. So würde dann die Frage, wann das Wasser aus dem vorhin erwähnten Gele, in dem es nur noch die Hälfte des normalen Dampfdruckes zeigt, herausgefrieren wird, formuliert werden müssen: Bei welcher Temperatur hat das Eis nur noch die Hälfte des Dampfdruckes von Wasser gleicher Temperatur? Wir müssen uns also zunächst mit Dampfdruckkurven des Eises und des Wassers beschäftigen. Messungen des Dampfdruckes des Wassers bei tieferen Temperaturen wie ca. -10° existieren bisher

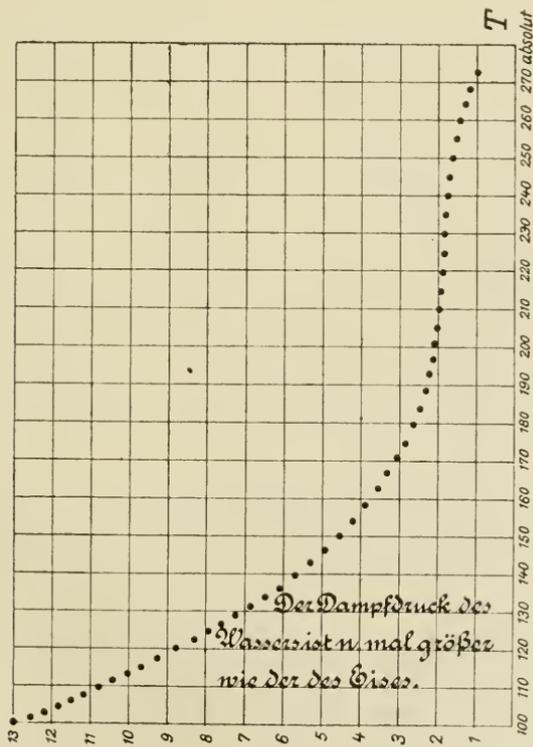


Fig. 4.

nicht, dagegen hat vor kurzem Nernst¹⁾, mit Hilfe seines Wärmethorems den Dampfdruck des Wassers bei sehr niedrigen Temperaturen berechnet und wenigstens einige Werte dafür angegeben. Diese sind benützt worden, um die Kurve Figur 4 zu zeichnen, die angibt, um wieviel mal bei der betreffenden absoluten Temperatur der Dampfdruck der Wassers größer ist, als der des Eises.

Wir wollen nun mit Hilfe dieser Kurve die Austrocknungskurve auf Seite 147 in eine Gefrierkurve übersetzen. Van Bemmelen arbeitete bei einer Temperatur, bei der der gesättigte Dampf des Wassers den Druck von ungefähr 15 mm ausübt. Also würde das Kolloid bei ca. 12 mm, d. h. bei $\frac{4}{5}$ des Dampfdruckes, schon den größten Teil seines Wassers verloren haben. Dazu würde aber eine Abkühlung auf eine Temperatur genügen, bei der der Dampfdruck des Wassers $\frac{5}{4} = 1,25$ mal größer ist, als der des Eises. Also würde nach Figur 5 eine Abkühlung auf ca. -5° dazu ausreichen, um dem Kolloide den allergrößten Teil seines Wassers zu entziehen. Der Rest des Wassers wird nun aber sehr hartnäckig festgehalten. Denn wenn der Wassergehalt auf 2 Mol. gesunken ist, ist der Dampfdruck nur noch die Hälfte, d. h. es bedarf dazu einer Abkühlung um rund -70° , während der Umschlagspunkt O erst bei ca. einem Drittel des Dampfdruckes, d. h. bei einer Temperatur von etwa -100° erreicht wird. Dort würde ein Teil des übrigen Wassers ausfrieren, der Rest, immer noch 0,5 Mol., aber festgehalten werden. Man sieht daraus, wie wichtig für den Wassergehalt des Kolloides nach dem Auftauen der absolute Betrag der Abkühlung ist. Läßt man nämlich das Kolloid wieder auftauen, nachdem man es z. B. bis auf -70° abgekühlt hat, so ist es natürlich nicht immer imstande, alles Wasser wieder aufzunehmen, sondern es wird jetzt eine von den auf Figur 2 mit III bezeichneten Kurven durchlaufen, d. h. schließlich etwa 2,5 Mol. enthalten. Es muß also eine große Menge Flüssigkeit unadsorbiert bleiben, während am Boden des Gefäßes das Kolloid liegt. Dadurch wird der qualitative Befund von Lottermoser und von Bruni wohl ausreichend geklärt.

Übersetzen wir in ähnlicher Weise die Kurve der Figur 3 in eine Gefrierkurve, so zeigt sich, daß die Wirkung des Gefrierens nicht nur von dem Betrage der Abkühlung abhängt, sondern auch von der Herstellung und dem Alter des betreffenden Kolloides. So wird der Umschlagspunkt des aus konzentrierter Lösung hergestellten Geles schon bei -10° erreicht, während er bei dem sehr jungen $\times\times\times\times$ Kolloide wieder erst bei -100° liegt. Nun hat Bruni gefunden, „daß die Wassermenge, welche an der

1) Verhandl. d. Dtsch. phys. Ges. 1909. 11. Jahrg., S. 324.

ausgeschiedenen Kieselsäure festgehalten wird, genau von derselben Größenordnung ist, wie diejenige, welche van Bemmelen's Kieselsäure nach der Entwässerung wieder aufnahm. Ein konstantes Verhältnis zwischen dem Wasser des Kolloides und der Kieselsäure war nicht zu erkennen, einen Einfluß auf dieses Verhältnis scheint das Alter der Gallerte auszuüben“. Diese Angaben bestätigen die theoretische Voraussage durchaus.

Man würde auf die angegebene Art aus der Entwässerungskurve ohne weiteres die Gefrierkurve eines Kolloides berechnen können, wenn die Annahme, die ich gemacht habe, nämlich, daß das Adsorptionsvermögen keine Funktion der Temperatur ist, streng gültig wäre. Sie trifft aber nicht zu, denn das Adsorptionsvermögen ändert sich mit der Temperatur erheblich, und zwar nimmt es mit steigender Temperatur stark ab, wie folgende Tabelle von van Bemmelen zeigt:

Wassergehalt der Kieselsäure aus alkalischer Lösung abgeschieden und bei 100° getrocknet.

	Im mit Wasserdampf gesättigten Raum Mol. H ₂ O	Im Raum für $\frac{3}{4}$ gesättigt Mol. H ₂ O	Im trockenen Luftstrom Mol. H ₂ O
Bei 15°	4,3	1,45	0,26
= 48°	1,57	0,33	0,23
= 100°	0,37	0,2	0,14

Da ein bei 100° getrocknetes Gel wieder 4,3 Mol. Wasser aufnehmen kann, so steht zu erwarten, daß die Änderung des Adsorptionsvermögens mit der Temperatur wenigstens in längeren Zeiträumen reversibel ist. Da nun das Adsorptionsvermögen mit fallender Temperatur wächst, so müßte bei einem Kolloide, das längere Zeit bei niedriger Temperatur gehalten wird, der Umschlagspunkt bei einem niedrigeren Dampfdruck liegen, d. h. das Wasser fester gebunden sein. Auf das Erfrieren von lebenden Wesen angewandt, würde sich aus diesen van Bemmelen'schen Versuchen folgendes ergeben:

1. Ein Lebewesen, das aus einem der Kieselsäure ähnlichen Kolloide besteht, würde wohl schon durch eine ganz geringe Abkühlung unter 0 Grad getötet werden, da ihm durch Ausfrieren sofort der allergrößte Teil seines Wassers entzogen wird, ohne daß es hinterher in stande ist, dasselbe wieder aufzunehmen.

2. Besteht aber ein Lebewesen aus einer Substanz, die sich analog verhält wie ein schon entwässertes Kieselsäuregel, so sollte man erwarten,

a) daß der Tod bei einer ziemlich scharf definierten Temperatur eintritt; aber

b) daß die Lage des Erfrierpunktes nicht etwa nur von dem anfänglichen Wassergehalt abhängt; vielmehr

c) erfrieren verschiedene Zellen bei verschiedenen Temperaturen. Es kann sogar bei derselben Zellart der Todespunkt verschieden sein. Nämlich

d) ein längerer Aufenthalt bei niedriger Temperatur müßte zu einer „Gewöhnung“, d. h. zu einer Erniedrigung des Gefrierpunktes führen.

e) Außerdem müßte ein jüngeres Kolloid schwerer erfrieren wie ein älteres.

3. Das Ausfrieren von Kolloiden nach der kalorischen Methode.

a) Theoretische Vorbemerkungen.

Man kann leider nicht bei allen Kolloiden die van Bemmelsehe Methode anwenden, um die Bindung des Wassers in ihnen zu studieren. Z. B. würden Froschmuskel dabei der Verwesung verfallen. Wir müssen uns daher nach einer anderen Methode umsehen. Während van Bemmelen die Wassermenge, die bei einem bestimmten Dampfdrucke abgegeben oder aufgenommen wird, wiegt, kann man auch so vorgehen, daß man der Substanz ihr Wasser durch Gefrieren entzieht, und aus den dabei abgegebenen Wärmemengen nach einer Methode, die wir sofort kennen lernen werden, die Wassermengen bestimmt, die in einem bestimmten Temperaturintervall ausfrieren.

Wir wollen also die Verteilung der Schmelzwärme über ein Temperaturintervall messend verfolgen, also $\frac{dq}{d\vartheta}$, wobei dq die Wärmemenge ist, die der Substanz entzogen werden muß, um ihre Temperatur um $d\vartheta$ zu ändern. Im allgemeinen hat für eine bestimmte Substanz diese Größe den (in erster Annäherung) konstanten Wert σ , d. h. die spezifische Wärme. Da in unserm Falle aber σ seinen Wert stetig oder auch unstetig ändern kann, so wollen wir darunter im Folgenden nur den numerischen Wert verstehen, den $\frac{dq}{d\vartheta}$ in dem betrachteten Intervalle von ϑ bis $\vartheta + d\vartheta$ eben gerade hat. Den Wert von σ können wir nun auf zweierlei Weisen ermitteln.

1. Zunächst kann man σ direkt durch Ausführung von einer sehr großen Anzahl spezifischer Wärmebestimmungen bei möglichst verschiedenen Endtemperaturen bestimmen, doch würde man dabei auf große experimentelle Schwierigkeiten stoßen, weil es dabei nötig ist, eine große Anzahl von nur wenig verschiedenen, unterhalb des Gefrierpunktes gelegenen Temperaturen längere Zeit konstant zu halten. So ist im allgemeinen dieser Weg wenig begangen worden, und nur Müller-Thurgau hat einige Versuche nach dieser Methode ausgeführt.

2. kann man auch durch Messung der Abkühlungsgeschwindigkeit $\left(\frac{d\vartheta}{dt}\right) q$ ermitteln. Ein Körper soll die Eigenschaft haben, daß sich stets alle in seinem Innern gelegenen Punkte auf der gleichen Temperatur befinden (z. B. wegen unendlich großer Wärmeleitfähigkeit). Diesen Körper bringen wir nun in ein Bad von konstanter Temperatur. Dann ist die in der Zeit dt durch die Oberflächeneinheit gehende Wärmemenge dq bekanntlich unabhängig von σ und dem Temperaturgefälle $\vartheta - \vartheta_0$ (worin ϑ die Temperatur des Körpers und ϑ_0 die des Bades bedeuten soll) direkt proportional, so daß ich erhalte

$$\frac{dq}{dt} = k \cdot \vartheta - \vartheta_0.$$

Da nun die Temperatur nie tiefer fallen, resp. nie höher steigen kann wie die Temperatur des Bades, so kann ich ϑ_0 als Nullpunkt der Temperatur auffassen, mit ϑ den Temperaturunterschied bezeichnen, so daß meine Formel übergeht in

$$\frac{dq}{dt} = k \cdot \vartheta.$$

Da nun, wie wir vorhin gesehen haben, $dq = \sigma \cdot d\vartheta$ ist, so können wir, wenn wir $\frac{d\vartheta}{dt}$ bestimmen, σ ermitteln.

Diese Eigenschaft, sich auf allen Punkten des Innern auf derselben Temperatur zu befinden, können wir den von uns untersuchten Körpern nun so verleihen, daß wir sie mit einem großen Widerstand umgeben. Der Körper kühlt sich dann so langsam ab, daß sich alle in seinem Innern gelegenen Punkte praktisch auf derselben Temperatur befinden. Dann läßt sich leicht angeben, von welchen Größen die Abkühlungsgeschwindigkeit abhängen wird. Zunächst wird sie der Oberfläche o proportional sein, da ja aus dieser die Wärme hinausströmt. Dann wird sich der Körper um so langsamer abkühlen, je größer seine Masse m und seine spezifische Wärme σ ist. Ist nun v das Volumen und s das spezifische Gewicht, so ist $v \cdot s = m$, so daß ich die Formel erhalte:

$$\frac{d\vartheta}{dt} = \frac{o}{v} \cdot \frac{L}{s \cdot \sigma} \cdot \vartheta,$$

worin L eine von der Wärmeleitfähigkeit des ganzen Systems abhängige Größe ist. Wenn nun o , v , s und L mit der Temperatur so wenig veränderlich sind, daß man sie als konstant betrachten kann, und auch σ konstant ist, so erhalte ich

$$\frac{d\vartheta}{dt} = k \cdot \vartheta,$$

d. h. die Gleichung einer Exponentialfunktion. (Vgl. die Kurve $\vartheta \vartheta_2$ Figur 5.)

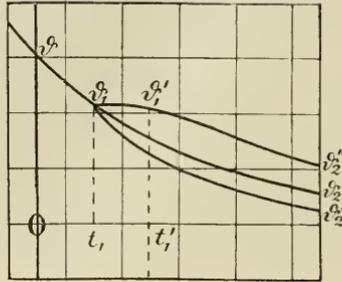


Fig. 5.

Tritt nun aber von irgend einem Punkte, z. B. von ϑ_1 an, ein exo- oder endothermischer Prozeß auf, so weicht die Kurve von ihrer regelmäßigen Bahn ab und durchläuft je nachdem die Strecken $\vartheta_1 \vartheta_2''$ (exothermer) oder $\vartheta_1 \vartheta_2'$ (endothermer Prozeß). Besonders häufig werden wir dem Fall eines exothermischen Prozesses, nämlich dem Freiwerden der Schmelzwärme des Wassers begegnen. Bei reinem Wasser läuft dann, vom Gefrierpunkte angefangen, die Kurve solange der Zeitachse parallel fort, bis auch der letzte Rest Wasser gefroren ist. Dann erst tritt wieder ein neuer Abfall ein.

Nun ist eine zwischen zwei Zeiten, der Nullachse und der Abkühlungskurve, eingeschlossene Fläche, z. B. $t_1 \vartheta_1 \vartheta_1' t_1'$, ganz im allgemeinen proportional der in der Zeit t_1 bis t_1' abgegebenen Wärme. Das folgt daraus, daß der mathematische Ausdruck für das bezeichnete Flächenstück

$$\int_{t_1}^{t_1'} \vartheta \cdot dt$$

nur durch den Mangel eines konstanten Faktors k von dem eine Wärmemenge bedeutenden Integral k

$$k \cdot \int_{t_1}^{t_2} \vartheta dt$$

verschieden ist. Im Falle des Gefrierens von reinem Wasser müßte dann die zwischen dem Beginn und dem Ende des Gefrierens verlaufende Zeit der Schmelzwärme direkt proportional sein, da ja der andere Faktor des Produktes (ϑ) sich während des Gefrierens nicht ändert.

Die Aufgabe, die wir uns Seite 154 gestellt haben, nämlich aus den beim Gefrieren abgegebenen Wärmemengen die Wassermengen zu bestimmen, die in einem bestimmten Temperaturintervall ausfrieren, können wir nunmehr auf zwei Weisen lösen. 1. Da in der Gleichung

$$\frac{d\vartheta}{dt} = \frac{\sigma}{v} \cdot \frac{L}{s \cdot \sigma} \cdot \vartheta$$

in der Regel σ ν L und s konstant sind, ϑ und $\frac{d\vartheta}{dt}$ sich experimentell ermitteln lassen, so geht sie in die Form über

$$\frac{d\vartheta}{dt} = \frac{k}{\sigma} \cdot \vartheta.$$

Wenn also in einem Intervalle σ konstant wird, so enthält die Gleichung nur zwei Unbekannte, die sich leicht berechnen lassen. Kennt man aber den Wert, den σ in diesem Intervalle hat, so kann man leicht ermitteln, wieviel cm^2 des Koordinatenpapiers einer Kalorie entsprechen. Im folgenden nenne ich das den „Kalorienwert“ des cm^2 , oder „Wärmeeinheit“. Also z. B. die Temperatur ist um ϑ gesunken, folglich muß dabei die Wärmemenge $\vartheta \cdot \sigma$ Kalorien pro Einheit entwickelt sein. Unsere Auszählung der Fläche ergibt aber, daß diese Anzahl der Kalorien gleich $n \text{ cm}^2$ ist.

Dieser Weg erscheint sehr einfach und bequem, doch müssen dabei die Voraussetzungen, auf denen die Rechnung beruht, auch wirklich streng erfüllt sein. Besonders ist es mißlich, daß bei Objekten von einigermaßen erheblicher Masse, d. h. mit einem großen Wärmeinhalt, die Forderung, daß sich alle in ihrem Innern gelegenen Punkte wirklich auf der gleichen Temperatur befinden, bei dem schlechten Wärmeleitungsvermögen der untersuchten Objekte niemals auch nur annähernd erfüllt sein kann. Arbeitet man dagegen mit Objekten von geringem Durchmesser, so beginnt sich der Wärmeinhalt der zum Versuch benützten Glasröhren des Wärmewiderstands usw. störend geltend zu machen.

2. So ist denn die zweite Methode rein experimentell zuverlässiger: Man stellt Differenzversuche an, d. h. man nimmt gleichzeitig oder hintereinander unter streng vergleichbaren äußeren Bedingungen die Abkühlungskurven von z. B. Wasser und Gelatinelösung verschiedener Konzentration auf und schließt aus der Differenz der Flächen auf die beim Gefrieren verlaufenden Vorgänge. Diese Methode hat den Vorteil, daß sie theoretisch fast vollkommen voraussetzungslos ist, da sie einfach auf der Tatsache beruht, daß unter sonst gleichen Umständen ein Körper sich um so langsamer abkühlt, je größer sein Wärmeinhalt ist. Die oben und auch noch später ausgeführten rechnerischen Überlegungen dienen dann bloß dazu, um die Faktoren aufzufinden, auf die man achten muß, um eine wirkliche Gleichheit der äußeren Bedingungen zu erzielen. Einer rechnerischen Verwertung der Resultate wird diese Arbeitsart im allgemeinen nicht günstig sein.

b) Die experimentelle Ausführung der Versuche.

Die experimentelle Ausführung der beiden Methoden ist natürlich fast die gleiche — es werden eben Abkühlungskurven aufgenommen —

bloß daß man bei der zweiten darauf achtet, daß man die äußeren Umstände der Messung streng reproduzieren kann. Gemessen werden zwei Größen, die Zeit und die Temperatur. Bei der Messung der Zeit sind erhebliche Fehler ganz ausgeschlossen, da ja die Uhr weiter geht und der Fehler einer einmaligen Ablesung durch die nächste korrigiert werden muß. Schwieriger gestaltet sich schon die Temperaturmessung. Ihre Genauigkeit braucht zwar freilich auch nicht groß zu sein, denn da die Versuche Fehlerquellen enthalten, auf die wir noch kommen werden, die wohl sicher über 1% betragen, so genügt es, wenn die Temperaturdifferenz zwischen dem Bade und dem sich abkühlenden Körper bis auf ca. 1% bestimmt wird. Zur Messung der Temperatur benützt man am besten Thermoelemente. Die feine Nadel kann man leicht in das Objekt stoßen, ohne es erheblich zu beschädigen. Ihre Masse ist klein, sie folgt also den Schwankungen der Temperatur sehr schnell. Das sind alles Eigenschaften, die ein genaues Thermometer nicht hat! Außerdem kann es leicht durch den beim Gefrieren entstehenden Druck zerdrückt oder wenigstens das Volumen seines Quecksilbergefäßes verändert werden. Deswegen hat Müller-Thurgau, der bei seinen schönen Versuchen leider mit einem Thermometer arbeitete, in die untersuchten Gegenstände immer ein so weites Loch bohren müssen, daß das Quecksilbergefäß nirgends die Wände berührte und so Temperaturschwankungen noch schwerer folgte.

Sehr wichtig ist natürlich das Kältebad. Im allgemeinen wird man wohl gut tun, seine Temperatur so konstant wie nur möglich zu halten. Wenigstens für Vergleichsversuche ist das unerlässlich. Da es viel leichter ist, eine Temperatur von -80° als eine Temperatur von -8° auf 2% konstant zu halten, arbeitet man am besten mit möglichst kalten Bädern. Doch könnte man auch bei Versuchen, die nach Methode I ausgeführt werden, (zu Umrechnungszwecken) das zweite Thermoelement in das Kältebad selbst hineinbringen. So wird stets der Temperaturunterschied ϑ gemessen, und man ist von allen Schwankungen der Badtemperatur unabhängig. Doch bekommt man so Kurven, die schwer zu lesen sind, weil die wirklichen Temperaturen ja ganz unbekannt bleiben. Trotzdem hat diese Messungsart den sehr großen Vorteil, daß der Apparat dabei gar keiner weiteren Bedienung bedarf, wenn man die ϑ -Ablesungen von einem selbst registrierenden Instrumente vornehmen läßt. Man kann dann die Abkühlung viele Stunden dauern lassen und so vielleicht die Temperaturgleichheit im Innern des sich abkühlenden Körpers recht nahe verwirklichen, wenn man einen sehr großen Wärmewiderstand vorschaltet.

Dieser große Wärmewiderstand ist meistens ein Stück Watte, in die der sich abkühlende Körper eingewickelt wird. Für Differenz-

messungen läßt sich aber eine Watteumwicklung nicht gleichmäßig genug herstellen. Ich verwandte statt dessen einen unversilberten und unausgepumpten Dewarzyylinder, in dessen Innern sich, durch einen Korken genau zentriert, das oder die Versuchsröhrchen befinden. Leider macht sich die Wärmekapazität einer großen Glasmasse beim Abkühlen störend bemerkbar. Die Abkühlungskurve kann keine reine Exponentialfunktion werden, weil sie durch Superposition mehrerer Abkühlungskurven entsteht.

Wir kommen damit auf die Faktoren, die man gleich machen muß, um verlässliche Differenzmessungen anstellen zu können. Welche das sind, darüber gibt unsere Gleichung $\frac{d\vartheta}{dt} = \frac{\sigma}{v} \cdot \frac{L}{s \cdot \sigma} \cdot \vartheta$ Aufschluß. Der erste Faktor des Produktes auf der rechten Seite bedeutet den Einfluß der geometrischen Gestalt und der zweite den der physikalischen Beschaffenheit auf die Abkühlungsgeschwindigkeit. Wir wollen uns mit dem ersten Faktor $\frac{\sigma}{v}$ in einem Spezialfalle, nämlich wenn der Körper ein Zylinder, dessen Radius klein gegen seine Länge ist, beschäftigen. In diesem Falle ist $\frac{\sigma}{v} = \frac{2\pi r h}{\pi r^2 h} = \frac{2}{r}$, die Abkühlungsgeschwindigkeit ist also in diesem Falle dem Radius umgekehrt proportional und von der Länge des Zylinders praktisch unabhängig. Daraus folgt, daß es für die Vergleichbarkeit von Versuchen von allergrößter Wichtigkeit ist, daß der Radius der benützten Gefäße vollkommen gleich ist, auf die Gleichheit der Höhen der Füllung kommt es sehr viel weniger an. Nun sind ja nicht alle Gegenstände, z. B. Frostmuskel, sehr lange Zylinder, doch bleibt auch bei Zylindern, deren Deckel und Bodenfläche nicht gegenüber der sonstigen Oberfläche vernachlässigt werden kann, bei nicht allzustarker Veränderung der Länge das Verhältnis $\frac{\sigma}{v}$ ziemlich dasselbe. Unser Versuchsröhrchen hat z. B. einen Radius von 3,5 mm und wird z. B. 30 mm hoch gefüllt. Sollte bei dieser Füllung ein Fehler von 15% gemacht werden, d. h. ein Stand von 35 mm erreicht werden, so ändert sich das Verhältnis von $\frac{\sigma}{v}$ deswegen doch nur um ca. 1% (nämlich von 64 auf 63).

Da nun die Abkühlungsgeschwindigkeit in erster Annäherung dem Radius des Zylinders umgekehrt proportional ist, so machen bei einem Radius von 3,5 mm einige hundertstel mm schon einen Fehler von einem Prozent aus. An demselben langen Glasrohre aber ändert sich der Radius oft um 10 oder noch mehr Prozent. Also macht man am besten alle Versuche in demselben Röhrchen. Doch kann man sich auch so helfen, daß man sich zu jedem Röhrchen ein Parallelröhrchen herstellt. Man zieht ein Glasrohr in der Mitte aus-

einander und formt aus jeder der beiden Ausziehstellen den Boden je eines Rohres. Die beiden so erhaltenen Rohre müssen sehr nahe von gleichem Radius sein.

Wir kommen jetzt zu dem zweiten Faktor $\frac{L}{s} \cdot \sigma$. L Die Wärmeleitfähigkeit des ganzen Systems wird in ihrem Betrage wesentlich bestimmt durch den sehr großen Widerstand des Dewarzylinders. Kleinere Verschiedenheiten in der Leitfähigkeit der Versuchssubstanzen fallen dagegen hinaus, da sie schlimmstenfalls eine schon sehr große Größe noch etwas vermehren. Die Änderung in der Wärmeleitfähigkeit beim Übergang von Wasser in Eis ist aber bei Differenzversuchen vollkommen gleichgültig, weil ja jede der verglichenen Substanzen an derselben Stelle dieselbe Änderung durchmacht.

Wir kommen jetzt auf den Ausdruck $s \cdot \sigma$, dem Produkt aus spezifischer Wärme und dem spezifischen Gewichte der Substanz. Dieser Ausdruck hat auch noch für ziemlich konzentrierte kolloidale Lösungen, z. B. eine 10prozentige Gelatinelösung, ziemlich nahe den Wert 1. Nämlich, wenn auch σ etwas kleiner als 1 ist, weil die spezifische Wärme des Kolloids sehr klein ist, so ist dafür s im allgemeinen etwas größer wie 1, z. B. ist das Volum einer Gelatinegallerte stets kleiner als das Volum des Wassers + dem der trockenen Gelatine. Beim Froschmuskel, der 20% Eiweißstoff enthält, ist $s = 1,07$, $\sigma = 0,85$, $s \cdot \sigma$ dagegen schon gleich 0,91. Ähnlich berechnet sich der Einfluß einer Kolloidmenge auf die Schmelzwärme. Da beim Gefrieren keine Temperaturänderung statthat, so ist σ von der spezifischen Wärme des Kolloids unabhängig und bedeutet die Schmelzwärme des Wassers. Da nun $s = \frac{m}{v}$ ist, d. h. die Menge der Volumeneinheit vorhandenen Wärme liefernde — aktive — Masse bedeutet, so hat $\sigma \cdot s$ den Wert der Schmelzwärme des pro Volumeneinheit noch vorhandenen Wassers. Eine 10prozentige Gelatine hat z. B. das spezifische Gewicht 1,07. 1 cem davon enthält also 0,96 Gramm Wasser. Die Schmelzwärme eines cem Gelatine darf danach nur um 4% kleiner sein als die im reinen Wasser.

Was nun die Genauigkeitsgrenze der Methode anbetrifft, so läßt sich ohne weiteres sehen, daß ihr die Austrocknungsmethode darin bedeutend überlegen sein muß, denn diese bestimmt den Wassergehalt durch Wägungen, also durch die genaueste Meßmethode, die wir überhaupt besitzen. Dagegen läßt sich bei kalorimetrischen Messungen ein Fehler von etwa einigen Einheiten aufs Tausend nur schwer vermeiden. Das ist nun aber auch die Genauigkeitsgrenze der meisten quantitativen Analysen und würde wohl für die meisten Zwecke ausreichen.

Die zur Zeit wirklich ausgeführten Messungen sind aber bei weitem nicht so genau, denn systematisch durchgearbeitet ist die

Methode zur Zeit noch nicht. Doch glaube ich nicht, daß die möglichen Fehler mehr als einige Procente betragen. So können wir denn zunächst nur ziemlich grobe Abweichungen mit Sicherheit konstatieren. Da deren Betrag aber, wie wir sehen werden, oft 10% bedeutend überschreitet, so sind die Versuche ausreichend genau, um über die Bindung des Wassers in tierischen und pflanzlichen Kolloiden wenigstens einigen Aufschluß zu geben.

c) Versuchsergebnisse.

Ich will hier zunächst über einige Versuche berichten, die ich in Gemeinschaft mit O. Bobertag an reversiblen Kolloiden angestellt habe. Zum Verständnis der Versuche muß folgendes vorausgeschickt werden: Als thermoelektrisches Paar wurde Eisen und Konstantan verwandt, als Meßinstrument ein Millivoltmeter von Kaiser und Schmidt, dessen Ausschlag pro Grad etwa 0,05 Millivolt betrug, sodaß noch halbe Grade mit einiger Sicherheit geschätzt werden konnten. Ein Millivolt, der Maßstab, in dem die Figuren dargestellt sind, entspricht also etwa 20°. Als Kältebad diente — der Billigkeit wegen — eine Eis-Chlorcalciummischung. Man kann damit eine Temperatur von etwa — 40° erreichen, die einige Zeit konstant bleibt, dann aber, namentlich bei längerer Dauer des Versuchs, erheblich, z. B. bis — 20°, steigt. Da wir aber diesmal so arbeiteten, daß wir in dem Kältewiderstande gleichzeitig zwei Versuchsröhrchen abkühlten, von denen das eine das zu untersuchende Kolloid, das andere die Vergleichsflüssigkeit enthielt, so ist diese Änderung der Badtemperatur für die Verlässlichkeit der Versuche natürlich gleichgültig, doch macht sie eine rechnerische Verwertung des Kurvenmaterials natürlich unmöglich. Zu den Erwärmungskurven benutzten wir als Wärmebad einen mit Wasser gefüllten Thermostaten von + 90° Temperatur. Eine dünne Paraffinschicht verhütete das Verdunsten des Wassers.

Zunächst mußten wir uns von der Verlässlichkeit der experimentellen Anordnung überzeugen und stellten darum Blindversuche an. Dafür ist nun Wasser wenig geeignet, weil es die lästige Eigenschaft hat, die Röhrchen beim Gefrieren zu zersprengen. Da nun der Gefrierpunkt des Benzols wenig von dem des Wassers entfernt ist, so füllten wir die beiden Versuchsröhrchen mit gleichen Mengen, 1,4 ccm, Benzol. Die Resultate zeigt die Figur 6¹⁾.

Zunächst wurde das Dewargefäß mit den Reagensgläsern in das Wärmebad gebracht und Kurve a erhalten. Dann wurde das heiße

¹⁾ Die Figuren 6—14, 22—25 sind entnommen aus Biochemische Zeitschrift, 18. Band, 1. u. 2. Heft, und 20. Band, 1. u. 2. Heft.

Gefäß in das Kältebad hineingestellt und b erhalten. Das Gefrieren tritt bei 0,24 Millivolt ein und dauert 18 Minuten. Kreuze und Punkte von a und b bilden mit großer Genauigkeit einen Kurvenzug.

Benzol-Benzol.

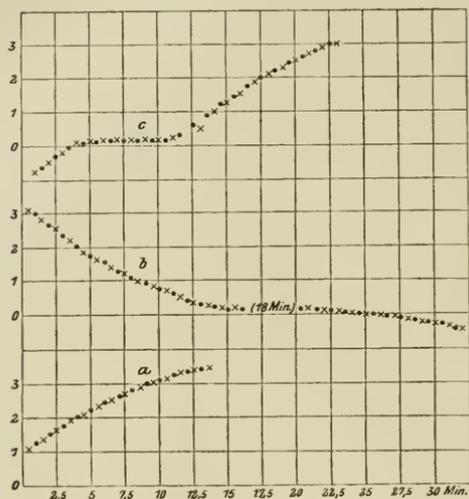


Fig. 6.

Das kalte Gefäß wurde wieder in das Wärmebad gestellt und c erhalten. Am Ende des Auftauens tritt eine Störung ein, die Kurven trennen sich für ein kurzes Stück, laufen dann aber wieder rasch zusammen. Diese Erscheinung ist, wie man sich durch Herausheben der Reagensgläser leicht überzeugen kann, einer ungleichmäßigen Verteilung von festem Benzol zuzuschreiben. Die Benzol-Benzolkurven zeigen also, daß die Methode, außer beim Auftauen in der Nähe des Gefrierpunktes, verläßlich arbeitet.

Wir gingen nun dazu über, Versuche mit reversiblen Kolloiden anzustellen. Das lösungsähnlichste Kolloid, das mir bekannt ist, ist der Myricylalkohol¹⁾. Dieser Stoff ist eine für theoretische Versuche sehr geeignete Substanz. Die bei den Kolloiden sonst meist durch Elektrolytgehalt auftretenden Komplikationen fallen bei ihm fort, denn er ist im Wasser gänzlich unlöslich, dafür aber in allen Fettlösungsmitteln, z. B. Chloroform, Äther, Benzol, löslich. Seine chemische Konstitution als ein einwertiger, primärer Alkohol von der Formel $C_{30}H_{61}OH$ dürfte nach der Arbeit von Pieverling²⁾ als erwiesen gelten. Sein ganzer chemischer Habitus, der dem der äußerst re-

¹⁾ Vgl. H. W. Fischer und O. Bobertag, Schles. Ges. f. vaterl. Kultur, 1908, Zur Theorie der reversiblen Sole.

²⁾ Ann. 183. 344.

aktionsträgen Paraffine sehr ähnlich ist, bürgt dafür, daß er sich bei den Versuchen nicht etwa chemisch verändert.

Dieser Körper ist aus folgenden Gründen recht interessant. In allen Lösungsmitteln, denen gegenüber wir sein Verhalten geprüft haben, nämlich Chloroform, Amylalkohol, Äthylalkohol, Äther und Benzol ist er in der Kälte beinahe unlöslich, doch nimmt seine Löslichkeit bei steigender Temperatur rasch zu. In der Wärme ist er zweifellos in wahrer Lösung, denn er diffundiert dann rasch durch eine Pergamentschicht. Seine Lösung wird übrigens wahrscheinlich auch die richtige Dampfdruckerniedrigung zeigen, denn K. Struve¹⁾ konnte kürzlich das Molekulargewicht des Kohlenwasserstoffs $C_{60}H_{122}$, der übrigens ganz genau dasselbe physikalisch chemische Verhalten wie Myricylalkohol zeigt, aus der Siedepunktserhöhung im Benzol zu etwa 900 bestimmen. Kühlt man eine solche Lösung in Chloroform oder Amylalkohol plötzlich ab, so tritt bis zu einer Konzentration von 2% bei Zimmertemperatur Gallertbildung ein, d. h. die ganze Masse erstarrt zu einer halbfesten, Verschiebungs-Elastizität zeigenden Masse. Der Alkohol vermag nun nicht mehr durch ein Membran zu diffundieren.

Übrigens hat auch in der Kälte Myricylalkohol die Fähigkeit, in seinen Lösungsmitteln zu quellen. 1,5 Gramm Myricylalkohol vermögen 5 cem Chloroform aufzunehmen, sodaß gar keine Flüssigkeit mehr übrig bleibt, sondern das Reagensglas mit einer starren Masse körniger Struktur erfüllt ist. Bei kleinerer Konzentration bleibt eine Flüssigkeit übrig, während die Gallerte einen zähen Propf bildet. Wir beschließen, diese Substanz auf ihre kalorischen Verhältnisse beim Erwärmen und Abkühlen zu untersuchen.

Ich will zunächst die Erwärmungskurven besprechen, also die Kurven a der Figuren 7 und 8. Bei einer Temperatur von etwa 1,5 Millivolt (ca. 30°) beginnen sich die Kreuze, die den Myricylalkohol bedeuten, von den Punkten zu trennen, die Trennung nimmt schließlich sehr beträchtlich zu, wobei die Kreuze immer unterhalb der Punkte bleiben, um dann bei höherer Temperatur schließlich wieder zusammenzulaufen.

Andererseits zeigen die Abkühlungskurven — die Kurven b — die wir vorläufig bloß bis zu dem bei ca. 0,25 Millivolt gelegenen Gefrierpunkt verfolgen wollen, gleichfalls eine entsprechende Störung, indem sich diesmal ziemlich scharf zwischen 2,0 und 2,4 Millivolt (40—48°) die Punkte von den Kreuzen trennen. Diesmal aber bleiben die Kreuze stets oberhalb der Punkte. Es ist also ganz klar, daß bei der Erwärmung ein Vorgang verläuft, der Wärme verbraucht, bei der Abkühlung ein solcher, der Wärme liefert.

¹⁾ Ann. d. C. 362. 123.

Man fragt sich nun, wie es kommt, daß die Kurven hinterher wieder zusammenlaufen. Das erklärt sich daraus, daß, wenn die

Myricylalkohol-Benzol.

0,22 gr auf 4,15 ccm.

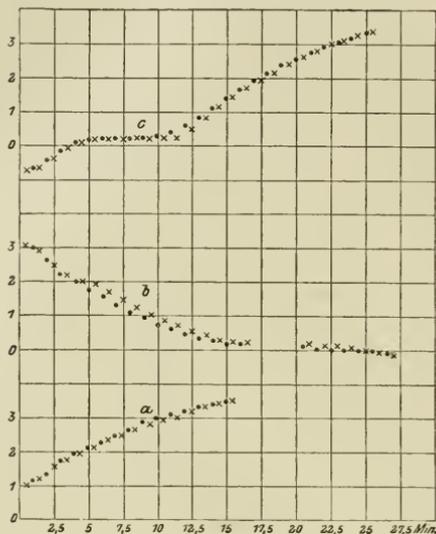


Fig. 7.

Myricylalkohol-Benzol.

0,6 gr auf 4,15 ccm.

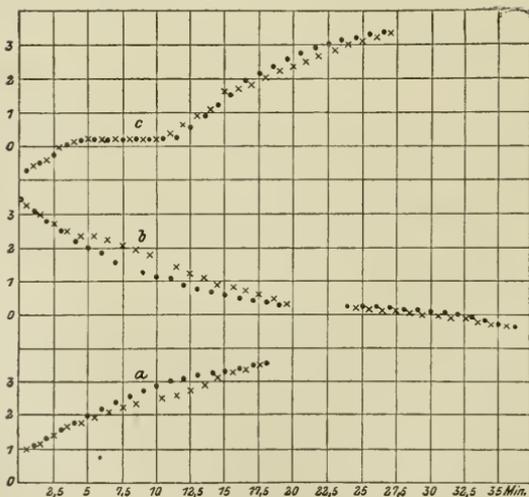


Fig. 8.

Reagensgläser auf verschiedener Temperatur sind, von den wärmeren nach den kälteren Gefäßen Wärme strömt. Dadurch wird also der

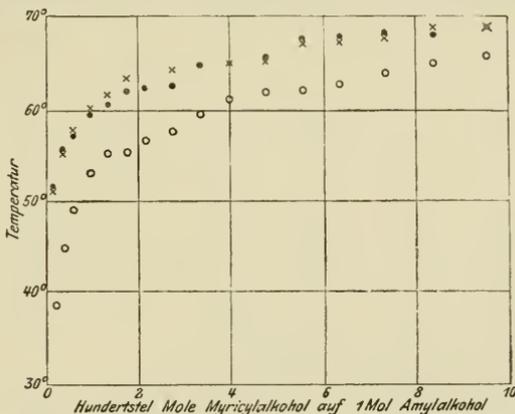
Temperaturunterschied zwischen den beiden Gefäßen ausgeglichen, so daß sich kleine zufällige Verschiedenheiten weniger geltend machen, und kleine Störungen sich kompensieren können.

Wenn man nun in dem Intervalle, in dem sich die Kurven voneinander trennen, die Gefäße gelegentlich heraushebt, so kann man nicht im Zweifel sein, daß die Lösung resp. Abscheidung des Myricylalkohols die Ursache ist. Aus den Ergebnissen unserer schon zitierten Arbeit läßt sich der Verlauf der Kurven bis auf die kleinsten Einzelheiten erklären.

Es gelang uns dort experimentell und theoretisch den Nachweis zu führen, daß die Löslichkeit des Myricylalkohols in allen von uns verwandten Lösungsmitteln, z. B. Äthyl- und Amylalkohol, Äther, Chloroform, Benzol ungeheuer schnell mit der Temperatur ansteigen muß.

Zum Beleg geben wir die Löslichkeitskurve im Amylalkohol wieder (Figur 9). Man sieht, daß hier die Löslichkeit bei 50° noch

Löslichkeit des Myricylalkohols in Amylalkohol.



1. Punkte: bei steigender Temperatur.
2. Kreise: bei fallender Temperatur.
3. Kreuze: wieder bei steigender Temperatur.

Fig. 9.

unter 1% liegt, während bei noch nicht 70° der Punkt der kritischen Löslichkeit schon beinahe erreicht ist.

Bei den Erwärmungskurven bedeutet also die Trennung der Kreuze von den Punkten, die bei ca. 30° stattfindet, nichts weiter, als daß die Löslichkeit anfängt sich geltend zu machen und die Lösungswärme zu verschwinden. Die größte Trennung zwischen Kreuzen und Punkten liegt bei beiden Kurven bei ungefähr 53°.

Man darf dabei nicht übersehen, daß die spezifisch schwerere Myricylalkoholgallerte am Boden des Gefäßes liegt und so tatsächlich für die Lösung des schwer diffundierenden Stoffes nur die in seiner

unmittelbaren Nähe befindliche Flüssigkeit in Betracht kommt. Genau so erklärt sich auch das S der Kurve b. Hier ist die Trennung der Kreuze von den Punkten viel schärfer, die Kurve scheint einen Augenblick der t-Achse parallel zu laufen. Dieser Punkt liegt bei der konzentrierten Kurve bei ungefähr 2,4 Millivolt, entsprechend 48° , bei den verdünnteren etwas niedriger, bei 2,1 Millivolt (42°). Er liegt also von dem Punkte des weitesten Auseinandergehens der a-Kurven um etwa 10° entfernt, und ein Blick auf die Löslichkeitskurve zeigt, wie erheblich sich in diesem Intervalle die Löslichkeit ändern kann. Daß die Biegung schärfer ist wie die der a-Kurven, erklärt sich daraus, daß die Lösung bei der Abkühlung übersättigt worden ist, diese Übersättigung sich — bei der konzentrierten Lösung zuerst — aufhebt und nun die Lösungswärme einer größeren, auf einmal ausfallenden Menge Myricylalkohols mit einem Schlage auftritt.

Die Kurven c stellen dagegen den Verlauf einer abermaligen Erwärmung dar. In den beiden dargestellten Fällen tritt die schon vorhin beim Benzol geschilderte Störung durch ungleichmäßige Verteilung des festen Benzols ein, und zwar bei 3 so, daß die Punkte anfangs unter den Kreuzen laufen, bei 4 umgekehrt. In beiden Fällen stellt sich aber binnen kurzem das Verhältnis ein, wie es nach dem Verlauf der a-Kurve zu erwarten wäre. Die Kreuze geraten unter die Punkte, bei 3 mehr als bei 4, der Konzentration entsprechend. Man kann also wohl mit Recht annehmen, daß bei der abermaligen Erwärmung keine weitere Veränderung des Myricylalkohols eintritt. Nun war in a der Myricylalkohol nur wenig verteilt und saß in seiner Hauptmenge am Boden, während bei c durch das vorübergehende Abkühlen die ganze Flüssigkeit gelatiniert war. Die beiden Zustände müssen also im wesentlichen identisch sein.

Wir kommen jetzt zu unserem Hauptpunkte, nämlich zum Gefrieren der Gallerte. Wenn in der Gallerte ein erheblicher Teil des Wassers fester gebunden wäre, so müßte diese Menge mit ihrer Schmelzwärme ausfallen, d. h. die Myricylalkoholkurve sich früher schon wieder zu senken beginnen wie die Kurve des Benzols. Später aber, wenn das adsorbierte Benzol zu gefrieren beginnt, müßte seine Schmelzwärme in Erscheinung treten, und die Kurve des Röhrchens mit dem Myricylalkohol, die ja in der Zeit von dem wärmeren Gefäß mit Benzol Wärme an sich gezogen hat, müßte nun die Kurve des Benzols schneiden. Die auf der Zeichnung dargestellten Kurven zeigen auch tatsächlich nach Beendigung des Gefrierens eine gewisse Neigung, auseinander zu laufen, aber bei der einen der gezeichneten Kurven laufen die Kreuze über den Punkten, bei der andern die Punkte über den Kreuzen, das deutet auf einen experimentellen Fehler hin. Und zwar bestand dieser darin, daß wir in der Pause des Gefrierens, um

die Temperatur des Bades konstanter zu halten, die gesättigte Chlorcalciumlösung mittelst eines Hebers abließen und neue Kältemischungen nachfüllen. Da so durch ganz ungleichmäßig verteilte Eisstücke gekühlt wurde, mußten die Gefäße auch ungleichmäßig beeinflußt werden. Wie wir das Nachfüllen unterließen, hörten auch die Unregelmäßigkeiten auf und wir erhielten nun Kurven, in denen die Punkte mit großer Annäherung in der Kreuzkurve verlaufen¹⁾. Groß also kann die Menge des Benzols, das in der Myricylalkoholgallerte so fest adsorbiert ist, daß sein Dampfdruck nur noch die Hälfte oder ein Drittel des normalen beträgt, unmöglich sein. Bei dem Gefrieren wird auch die Struktur der Gallerte etwas verändert. Sie stellt sich beim Auftauen als eine Art Pfropf dar, aus dem die Flüssigkeit herausfließt. Aber auch die Wärmetönung, die diesen Vorgang begleitet, kann nur klein sein. Vielleicht wird dabei etwas Wärme entwickelt und so verdeckt, daß ein Teil des Benzols nicht mit ausfriert.

Daß von der adsorbierten Flüssigkeit tatsächlich eine, wenn auch sehr geringe Menge etwas fester gebunden sein muß, zeigt die Verdampfungsgeschwindigkeit des Chloroforms aus einem Chloroformgel des Myricylalkohols (Fig. 10). Da der Dampfdruck des Chloroforms in

Verdampfungsgeschwindigkeit des Chloroforms im Myricylalkoholgel.

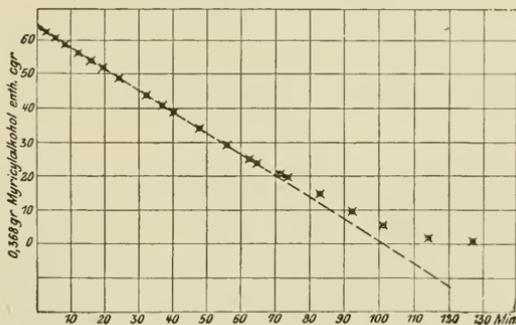


Fig. 10.

der atmosphärischen Luft normal gleich 0 ist, so muß natürlich alles bis auf die letzte Spur verdunsten, deswegen wird die Verdampfungsgeschwindigkeit um so größer sein, je höher der in der Myricylalkoholgallerte herrschende Dampfdruck ist. Das Myricylalkoholgel, mit dem wir arbeiteten, war durch langsames Abkühlen einer ziemlich verdünnten Myricylalkohollösung²⁾ dargestellt und dann durch Um-

¹⁾ Vgl. Tabelle 6, S. 78 unten, Bioch. Zeitschr., 18. Bd., Über das Ausfrieren von Gelen, 1909.

²⁾ Jahresber. d. schles. Ges. f. vaterl. Kultur, 1909.

stürzen des zugeschlossenen Rohres und längeres Stehen getrocknet worden. Kurz vor dem Versuch wurde die Röhre aufgesprengt, der Myricylalkohol in ein Wägegläschen getan, dieses auf eine analytische Wage mit geöffneten Türen gestellt und die Zeit bestimmt, zu der ein bestimmtes, schon vorher aufgelegtes Gewicht erreicht war. Das Ergebnis zeigt die Kurve Fig. 10. Die Verdampfungsgeschwindigkeit bleibt solange fast ungeändert, bis fast alles Chloroform verdunstet ist. Nur eine etwa 10% des Myricylalkohols betragende Menge scheint fester gebunden zu sein. Um das Fehlen der Schmelzwärme dieser geringen Menge nachzuweisen, ist die Gefriermethode nicht genau genug.

Danach ist das Verhalten des Tannins leicht verständlich, dessen Löslichkeit, wie wir gesehen haben, in der Gegend des Nullpunktes stark abnimmt. Da das Tannin das Eisen der Thermo-elemente angreift, so haben wir die a-Kurven garnicht und von den b-Kurven nur die nm den Gefrierpunkt herum gelegenen Stücke aufgenommen. Das Resultat zeigen die Kurven I und II der Fig. 11,

Tannin-Wasser.

ca. 0,6 gr auf 4,15 cem.

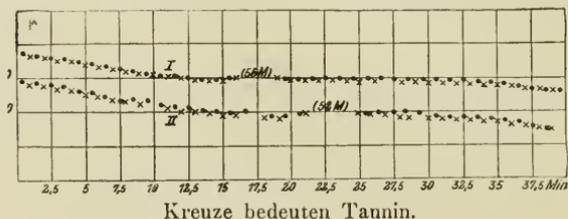


Fig. 11.

wovon I 0,6 und II 0,9 Gramm Tannin auf 4,1 cem Wasser enthält. Die Kreuze trennen sich, je näher man an den Nullpunkt herankommt, mehr und mehr von den Punkten, während sich doch sonst gerade in diesem Gebiet relativ geringen Temperaturgefälles Differenzen durch Wärmeaustausch zwischen den beiden Gefäßen auszugleichen pflegen. Die Trennung bleibt auch nach der Beendigung des Gefrierens bestehen. Auch hier kann man keinen Augenblick im Zweifel sein, daß die Abnahme der Löslichkeit die Ursache der Trennung ist (vgl. Seite 144). Die Lösung trübt sich zunächst, die Trübung wächst und schließlich bildet sich ein Tanninniederschlag. Wir haben es also in diesem Falle mit einer schwachen, aber deutlichen Wärmetönung zu tun. Denn die Trennung beginnt schon kurz vor dem Nullpunkte und ist bei II, das die größere Menge Tannin enthält, beträchtlicher wie bei I. Daß sie auch nach dem Gefrieren bestehen bleibt, kann entweder daher rühren, daß während des Gefrierens ein Teil der freiwerdenden Schmelzwärme zur Ausscheidung des Tannins

hat verwandt werden müssen, oder es könnte auch das Tannin etwas Wasser fest adsorbiert haben.

Schon nicht mehr so lösungsähnlich ist die sogenannte lösliche Stärke. Wie das Fig. 12 zeigt, kann von einer erheblichen Trennung

Lösl. Stärke-Wasser.

ca. 0,4 gr auf 4,15 ccm.

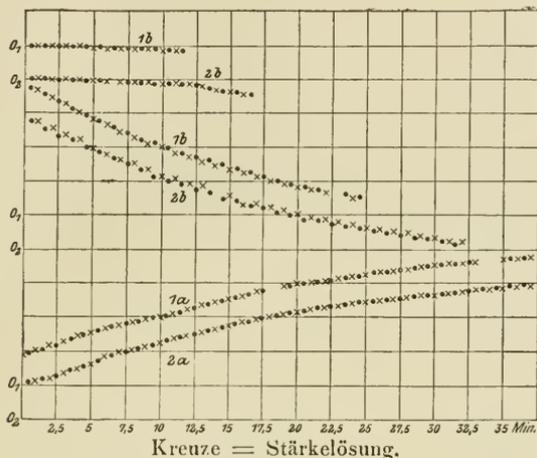


Fig. 12.

der Kreuze von den Punkten sowohl beim Erwärmen wie beim Abkühlen keine Rede sein. Das hinter dem Gefrierpunkt gelegene Stück der Kurve b ist, um Platz zu sparen, über diese gezeichnet worden. Die Kreuze verlaufen mit sehr befriedigender Übereinstimmung in der Punktkurve. Die a- und b-Kurve sind deswegen interessant, weil Zsigmondy¹⁾ beobachtet hat, daß das in der Kälte von Submikronen wimmelnde Gesichtsfeld in der Wärme nur den Lichtkegel der Amikronen zeigt. Die Wärmetönung, die diese Veränderung begleitet, kann nach meinen Versuchen nur klein sein. Übrigens ist das Arbeiten mit löslicher Stärke schon recht unangenehm, weil man die Stärke in das heiße Wasser schütten muß, wobei erhebliche Mengen an den Wänden des Rohres kleben bleiben, die die Flüssigkeitsmenge beim Abspülen durch zähes Haften verringern. Diese hängengebliebenen Flüssigkeitsreste stören auf alle Weise die Versuche, namentlich bei der Abkühlung, so daß den bei I und II entgegengesetzt liegenden Differenzen der Kurven keine Bedeutung beizumessen ist.

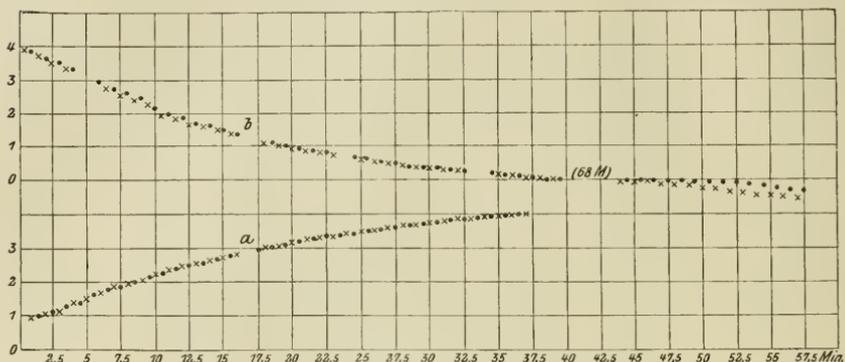
Ein ganz eigenartiges Verhalten dagegen zeigt die Gelatine. Wenn man das Düninflüssigwerden eines solchen reversiblen Gels als eine Art Lösungsvorgang auffaßt, so sollte man erwarten, daß sich vielleicht

¹⁾ Z. Erkenntn. d. Kolloide, Jena 1904, S. 174.

beim Erwärmen oder auch beim Abkühlen etwa in der Gegend, wo die betreffende Gelatine erstarrt, eine Trennung der Kreuze von den Punkten zeigt. Wie aber die a- und b-Kurven der Figur 13 zeigen,

Gelatine-Wasser.

0,43 gr auf 4,15 cem.

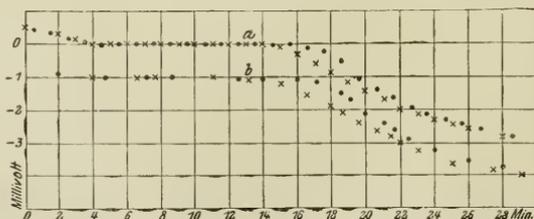


Die punktierte Kurve ist Gelatinegallerte.

Fig. 13.

scheint der Vorgang keine so erhebliche Wärmetönung zu besitzen, daß man ihn dadurch nachweisen kann. Das war auch nach den Versuchen von Wiedemann und Lüdeking¹⁾ zu erwarten, die die Quellungswärme zu + 6, die Lösungswärme zu - 3,7 Kalorien pro Gramm Gelatine bestimmt haben. Unsere 4 cem Wasser enthalten nur 0,4 g Gelatine, also liegen die zu erwartenden Wärmemengen von ca. 1 Kalorie unter der Fehlergrenze unserer Methode. Dagegen trennen sich die Kurven nach Beendigung des Gefrierens, und zwar verläuft die Kurve der Gelatine erheblich über der des Wassers. Diese höchst auffallende Erscheinung wurde noch durch weitere Versuche kontrolliert und jedesmal wieder aufgefunden. Das zeigen z. B. die Kurven der Figur 14, bei denen als Kühlung Alkohol

Gefrieren von Gelatine, a und b.



b ist um ein Millivolt nach unten verschoben. Die Punkte sind Gelatinegallerte.

Fig. 14.

¹⁾ Annal. d. Physik III, 35, 552. 1888.

und Kohlensäure verwandt worden ist. Es ist diesmal auch die kleine Abänderung getroffen worden, daß das Vergleichsgefäß nicht bloß Wasser enthält, sondern genau dieselbe Menge, aber ungelöste Gelatine. Bekanntlich quillt ein Blättchen Gelatine in Wasser nur ziemlich langsam auf. Schiebt man also ein Röllchen Gelatine in das Versuchsglas und pipetiert die nötige Menge Wasser erst unmittelbar vor dem Einsenken hinzu, so kann sich die Gelatine in der kurzen Zeit nicht erheblich ändern. Das andere Versuchsröhrchen enthält genau dieselbe Menge, diesmal durch Erhitzen gelöster Gelatine. Nach dem Herausheben aus dem Kältebade zeigte sich, daß der Inhalt der beiden Gefäße, die natürlich zersprengt worden waren, aus nur wenig verschiedenem Eise bestand. Beim Auftauen lieferte die Gallerte einen zusammenhängenden Pfropfen, aus dem das Wasser wie aus einem Schwamme herauslief, was bekanntlich bei ungefrorener Gelatine-Gallerte keineswegs der Fall ist. Aus dem Vergleichsgefäß dagegen ließ sich das nur wenig veränderte Gelatineröllchen wiedergewinnen.

Wenn nun die Gelatinegallerte wirklich erhebliche Mengen von Wasser in fester Bindung enthielt, so müßte nach Beendigung des Gefrierens die Gefrierkurve der Gallerte unterhalb der des Wassers verlaufen. Sie verläuft aber auch bei diesen Versuchen bis zu etwa 10° oberhalb.

Diese Erscheinung kann nun zwei Gründe haben:

1. könnte man annehmen, daß die Gelatine aus zwei Bestandteilen besteht, deren einer die Gallerte bildet, während der zweite, der „Schutz“, gelöst bleibt. Wenn nun der Punkt der kritischen Löslichkeit für den Schutz in Wasser unterhalb des Gefrierpunktes läge, so könnte seine Trennung von dem Lösungsmittel wohl die beobachtete Wärme liefern. Bei gewöhnlicher Temperatur würde er dann natürlich in der bekanntlich stets etwas feuchten Gelatine gelöst sein, also sich beim Einsenken in Wasser gar nicht mehr durch Auftreten einer Wärmetönung bemerkbar machen. Für diese Anschauung sprechen die Versuche von Menz¹⁾. Wäre es nun möglich, die c -Kurve bei abermals steigender Temperatur aufzunehmen, so würde sich dieser Punkt wohl entscheiden lassen. Das ist mir aber, weil die Reagensgläser beim Gefrieren stets zersprengt werden, leider nicht gelungen.

2. Könnte die Gelatine beim oder durch das Gefrieren wohl irgendeine irreversible chemische oder physikalische Änderung erleiden, bei der Wärme frei wird, d. h. altern. Dafür spricht die geschilderte Veränderung der Gallerte nach dem Auftauen. Jedenfalls aber zeigen

1) Zeitschr. f. phys. Chem., 66, 129, 199.

diese Versuche mit absoluter Sicherheit, daß das Wasser in der Gelatinegallerte wirklich gefriert, und nicht etwa, wie I. Alexander behauptet, in amorpher Form erstarrt.

d) Zusammenfassung.

Aus den Versuchen mit unbelebten Kolloiden ergibt sich also folgendes: Die Kolloide zeigen sich in außerordentlich verschiedenem Grade gegenüber der Kälte empfindlich. Bei einigen von ihnen genügt schon eine geringe Abkühlung, um ihre Eigenschaften dauernd zu verändern, während andere selbst durch Einwirkung der Temperatur der flüssigen Luft nicht beeinflußt werden. Gewisse dieser Stoffe müssen ein höchst eigentümliches Verhalten zeigen. Im allgemeinen sind die Veränderungen, die sie erfahren, reversibel, doch treten bei Abkühlung auf ganz bestimmte Temperaturen irreversible Änderungen auf. Die Lage dieses Irreversibilitäts-punktes wird durch das Alter und die Vorgeschichte bestimmt. Die Veränderungen, welche ein Kolloid beim Gefrieren erleidet, werden von — oft sehr erheblichen — Wärmetönungen begleitet, die die Schmelzwärme des ausfrierenden Wassers je nachdem größer oder kleiner erscheinen lassen.

II. Hauptteil.

Das Erfrieren von Tieren und Pflanzen.

Einleitung.

Wir gehen jetzt dazu über, das Erfrieren von Tieren und Pflanzen zu besprechen, und zwar werden wir die Versuche bei den Tieren von denen bei den Pflanzen gesondert behandeln. Nicht aus dem Grunde, weil das physikalisch-chemische Verhalten z. B. eines erfrierenden Frostmuskels wesentlich von dem eines erfrierenden Blattes verschieden ist, sondern aus dem rein äußerlichen Grunde, um dem Leser eine bessere Orientierung zu ermöglichen.

Wir kommen nun auf ein Gebiet, wo fast jeder klangvolle Name der Tier- oder Pflanzenphysiologie vertreten ist, und unter diesen eine Reihe von Autoren, die nicht zum wenigsten berühmt sind wegen der Vollendung, mit der sie den Resultaten ihrer Forschungen einen sprachlichen Ausdruck zu verleihen verstanden haben. So wird denn der Verfasser in diesem Teile soweit wie irgend möglich diese Männer selbst sprechen lassen. Es dürfte ja auch den Leser mehr interessieren, wenn der Beobachter selber spricht, als wenn ihm eine — der Unmittelbarkeit der Anschauung entbehrende — Beschreibung gegeben wird. Eigene mikroskopische Beobachtungen an gefrorenen Tieren z. B. hat der Verfasser garnicht gemacht, doch findet man glücklicherweise darüber viele Angaben, so viele, daß nur ein kleiner Bruchteil davon hier aufgeführt werden kann.

So werden wir zunächst über das Bild sprechen, das gefrierende Zellen dem Auge oder auch dem Mikroskope geben. Dann werden wir auf die Frage nach der Lage des Todespunktes und nach seiner Abhängigkeit von äußeren Bedingungen kommen und zum Schluß über die Ergebnisse der kalorischen Methode berichten.

1. Die gefrorenen Zellen.

Zunächst erhebt sich die Frage, gefriert das Wasser wirklich in den Zweigen der Bäume, oder bleibt es — etwa in amorpher Form — unter dem Zwange der Plasmakolloide flüssig, wie z. B. Reum behauptet. Nägeli geht auf diesen Punkt ausführlich ein. „Es gibt zwei Gründe, welche beweisen, daß viele den Winter über ausdauernde Pflanzenteile wirklich gefrieren. Der eine besteht darin, daß

dieselben Verhältnissen ausgesetzt sind, welche diese Wirkung mit physikalischer Notwendigkeit herbeiführen. Wenn auch die Baumrinde die Wärme schlecht leitet, so schützt sie doch nicht vollständig, und es müssen die Bäume und Sträucher in unseren Alpen und im hohen Norden nach wochen- und monatelanger Kälte die Lufttemperatur annehmen. Überdem ist ja im Innern der Baumstämme eine Kälte von 15—17° nachgewiesen¹⁾. Die immergrünen Blätter der Nadelhölzer, der Stechpalme, des Buchsbaums sind durch keine Rinde geschützt; in gleicher Weise verhalten sich Moose und Flechten an Baumstämmen und Felsen. Und denkt man gar an die zahlreichen, aus einer einzigen Zelle oder aus einer einfachen Reihe von Zellen bestehenden Algen, welche in Bächen, an Brunnen, Wasserfällen, Felsen, Mauern und auf Baumrinde, selbst auf ewigem Schnee leben und bloß durch eine mit Wasser getränkte Membran von $\frac{1}{50}$ bis $\frac{1}{100}$ mm Dicke und darunter geschützt sind, so ist es ganz sicher, daß bei diesen Gewächsen die Zellen genau der umgebenden Temperatur folgen und somit gefrieren, obgleich bei sehr vielen ohne nachteilige Folgen für ihr Leben.“

Schon mit bloßem Auge kann man sehen, daß Pflanzen unter dem Einfluß der Kälte Veränderungen erleiden. „Die krautartigen Vegetabilien werden bei dem Gefrieren steif und spröde“, berichtet Kunisch. „Sie bekommen ein glasartiges Aussehen, indem sie meist durchscheinender werden, als sie in frischem Zustande sind, und auf der Oberfläche einen entsprechenden Glanz erhalten. Auch Umwandlungen in der Farbe stellen sich nicht selten ein. Das Grün der Blätter nimmt in der Regel eine dunklere oder hellere Nuancierung an oder es wird durch Auftreten einer anderen Farbe mehr oder minder gedeckt. In manchen Fällen erstreckt sich die Farbenänderung über das ganze Blatt, in anderen ist sie lokal beschränkt. Besonders häufig werden beobachtet schwarze, braune und gelbe Flecken, welche auf der ganzen Blattfläche oder bloß in der Mitte, oder auch nur am Rande erscheinen. Zu den selteneren Erscheinungen gehört das Auftreten von Rot, wie es sich an den sonst weißen Partien der neuentwickelten Blätter von *Phalaris arundinacea picta* bei Frostwirkung einfindet. Auch manche Blüten wechseln beim Gefrieren ihre Farbe. Meist geschieht dies, indem sie ihren Grundton mehr oder weniger mit Braun vermischen. Die Blüten einiger Orchideen werden bei der Vereisung blau.“ (Göppert, Müller-Thurgau, Molisch.)

¹⁾ Krutsch fand am 23. Dezember 1853 bei einer Lufttemperatur von -23° in lebenden Stämmen von Kiefern und Spitzahorn $-20,9^{\circ}$ (vgl. E. Ebermayer, Die Temperatur der Waldbäume, verglichen mit der Luft- und Bodentemperatur des Waldes, I. 1873. S. 119—139).

Daß sich selbst im Innern dicker Baumstämme Eis bildet, zeigte Schübler, indem er bei plötzlich eingetretenem Tauwetter mehrere sonst gesunde Bäume, die tags zuvor eine Kälte von -14° durchgemacht hatten, umschlagen ließ und in ihrem Innern zahllose Eiskriställchen nachwies. Auch Göppert fand Eiskristalle im Innern von Birken und Erlen, welche bei -15° R gefällt und im Warmhause bei $+10^{\circ}$ zersägt worden waren.

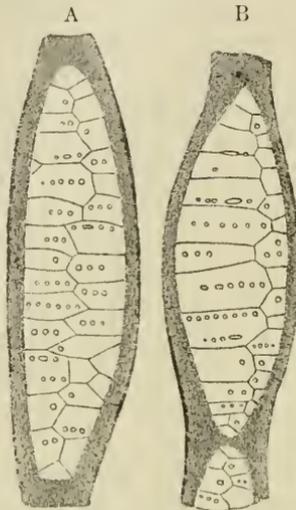
Die Anordnung dieser Eiskristalle ist übrigens keineswegs unregelmäßig. Wir finden darüber interessante Angaben, besonders bei Sachs und bei Müller-Thurgau. Sachs schreibt: „Wenn man einen 1 bis 2 cm dicken Längsschnitt aus der Kürbisfrucht 24 Stunden lang, vor Verdunstung geschützt, einer Temperatur von einigen Graden unter Null aussetzt, so findet man dann auf dem dichten Parenchym einen Überzug von Eiskristallen, die, auf der Schnittfläche senkrecht stehend, eine kompakte Masse darstellen. Die Seitenansicht eines solchen Kristallbündels, welches man in einem Tropfen kalten Wassers langsam schmelzen läßt, gibt ein sehr zierliches Bild. Die wie Basaltsäulen nebeneinander liegenden Eiskristalle schließen Luftblasen ein, welche in höchst regelmäßigen Längsreihen geordnet sind, die den Kanten der Säulen parallel laufen. Meist sind die Blasen einer Reihe gleich groß, und die ganze Reihe sieht dann aus wie eine lockere Perlenschnur¹⁾.“

Auch in zufällig innerhalb eines Organs befindlichen Höhlungen werden beim Gefrieren solche Schichten zusammenhängender Eissäulen hervorgebracht (Müller-Thurgau).

Merkwürdigerweise scheint sich beim Gefrieren auch in Innern der Gewebe das Eis zu größeren Massen zusammenzutun. Müller-Thurgau schreibt darüber: „Saftige Pflanzenteile, wie Rüben, Kartoffeln, Dahlienknollen usw., die man während längerer Zeit einer Temperatur von -5 bis -10° aussetzt, erhalten eine eigentümliche, klingend harte Beschaffenheit: sie sind gefroren. Durchschneiden wir mit einem kalten Messer einen solchen gefrorenen Pflanzenteil, so erblicken wir schon mit unbewaffnetem Auge inmitten des sonst gleichartigen Gewebes spröde, durchsichtige Körper, die sich mit der Messerspitze leicht aus der Gewebemasse herausziehen lassen, bringt man nun zarte Schnitte durch gefrorene Pflanzenteile unter das im Kältekasten befindliche Mikroskop, so zeigt sich auf den ersten Blick, daß die oben besprochenen Eismassen meist nur aus zwei Schichten parallel dicht nebeneinander stehender Eissäulen bestehen. (Vergleiche die Figur 15.) Die Lage der Eiskristalldrüsen in einem gefrorenen Pflanzenteil ist nicht so willkürlich, wie man auf den ersten Anblick

¹⁾ Vgl. dazu Caspary, Stephan Elliot, Sir John Herschel, James D. Dana und Le Conte.

glauben könnte. Es läßt sich im Gegenteil mit einiger Übung schon bei der mikroskopischen Betrachtung einer Gewebepartie so ziemlich im voraus bestimmen, welche Lage eine evtl. dort auftretende Eis-



Krystalldrusen aus einer gefrorenen Rübe nach Müller-Thurgau.

A aus dem Innern, B aus dem Rande.

Fig. 15.

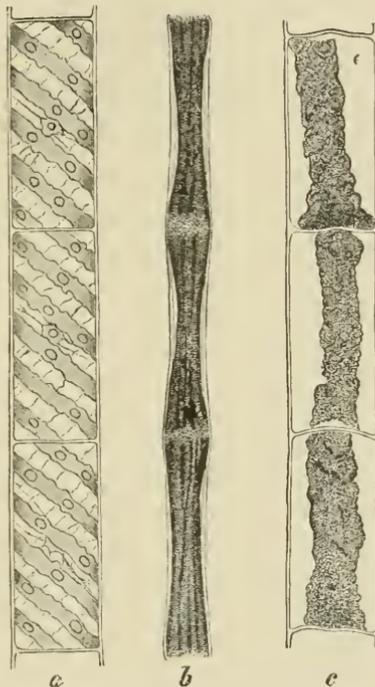
krystalldruse annehmen würde. (Sie werden nämlich durch die anatomische Struktur der Zellen bedingt.) Diese Eisklümpchen scheinen sich in den meisten Geweben zu bilden. In einem hartgesottenen Ei z. B., das dem Gefrieren ausgesetzt wird, bilden sich ganz verschieden gestaltete Eismassen. Im Innern des Dotter finden sich kleine, dem unbewaffneten Auge kaum sichtbare Eisdrusen, regelmäßig verteilt. Rings um den Dotter liegt eine Eisschicht, die unter dem Mikroskop als nicht aus Kristallsäulen bestehend sich erweist. Im Weißen des Eies sitzen zahlreiche, schon dem unbewaffneten Auge erkennbare Krystalldrusen, die aus Eissäulen zusammengesetzt sind. Bei hohen Kältegraden werden diese letzteren so mächtig, daß die dazwischen liegende Substanz nur noch als zartes Netz erscheint. Die ganze Oberfläche des Weißen ist wieder bekleidet mit einer zusammenhängenden ziemlich mächtigen Eisschicht, die aus schon dem bloßen Auge sichtbaren Eiskristallsäulen besteht.“

„Auch in gefrorenen Tieren (Schmetterlingspuppen, Würmern) gelang es mir, größere, aus Kristallen zusammengesetzte Eisgebilde nachzuweisen. So war z. B. bei Regenwürmern, die in Erde einer Temperatur von -6° ausgesetzt worden waren, der Verdauungskanal

von einer nicht unbedeutenden Eiskruste umgeben, die aus radial gerichteten Eissäulen bestand.“ (Müller-Thurgau.)

Wir haben also jetzt die Aufgabe zu erklären, wie es kommt, daß das Eis sich zu Klumpen, die oft hundertmal größer sind als die Zellen, ansammelt. Den Mechanismus der Erscheinung zeigen besonders Molisch's Versuche schön.

„Zum Versuche diente eine sehr dicke Form der Spirogyra mit relativ kurzen Zellen und sehr eng gewundenem Chlorophyllband (Fig. 16). Schaltet man einige lebende Fäden im Brunnenwasser



Spirogyra nach Molisch.

a vor dem Versuche, b gefroren, c aufgetaut.

Fig. 16.

liegend und vom Deckglas bedeckt, in den Gefrierapparat ein, so sieht man bei einer Temperatur von etwa -3 bis -6° Folgendes:

Zuerst gefriert das Einbettungswasser. Die Eiskristalle dringen Wolken gleich in dem Gesichtsfeld vor, bis sie unter reichlichem Abscheiden von Luftbläschen die Spirogyra völlig umschließen. Stellt man nun auf den Faden scharf ein, so bemerkt man deutlich, wie die Zellen binnen einer Minute oder in noch kürzerer Zeit mehr und mehr schrumpfen, indem ihnen von dem die Zelle umgebenden Eis das

Wasser entzogen wird. Das Chlorophyllband, früher samt dem Kern sichtbar, ist jetzt auf ein sehr enges Volumen zusammengesunken und nur mehr als eine grüne undifferenzierte Masse kenntlich (siehe Figur). Luftblasen bilden sich innerhalb der Zellen nicht. Unmittelbar nach dem Auftauen hat die Zelle ungefähr ihr früheres Volumen angenommen, die Chlorophyllbänder werden in vielen Zellen wieder deutlicher, aber während sie früher scharf begrenzt waren, erscheinen sie jetzt ebenso wie der Zellkern gequollen, mitunter zum Klumpen zusammengeschlossen und verraten durch ihr Aussehen nur zu deutlich den eingetretenen Tod (Fig. e). Wie groß die der Spirogyrazelle entzogene Wassermenge sein muß, geht schon aus dem bloßen Anblick der intakten und gefrorenen Zelle hervor, noch präziser aus der Messung. Der Durchmesser der frischen Zelle betrug in einem Falle 52,8 μ , der der gefrorenen 19,8 μ , der der aufgetauten 49,5 μ . In einem andern Falle waren die betreffenden Breitendurchmesser der Reihe nach 49,5, 19,8, 46,2. Dies entspricht einer Verkürzung des Durchmessers um etwa 40 Prozent. Vergleicht man die durch Gefrieren und die durch bloßes Eintrocknen geschrumpften Algenfäden miteinander, so fällt die Ähnlichkeit beider im Aussehen auf, die Größe des Wasserentzuges dürfte wohl auch in beiden Fällen nicht sehr verschieden sein und führt in dem einen wie in dem andern Falle zum Tode.“

„Daß wirklich der Spirogyrazelle Wasser entzogen wird und daß dieses außerhalb der Zelle gefriert, davon kann man sich leicht überzeugen, wenn man frische Spirogyrafäden, nachdem sie durch Filtrierpapier durch behutsames Abtupfen von dem oberflächlich anhaftenden Wasser befreit worden, in Olivenöl einlegt und nun frieren läßt. Man kann dann deutlich unterm Mikroskop beobachten, wie das aus der Alge austretende Wasser, während diese sichtlich schrumpft, zu einer die Alge umgebenden Eisröhre erstarrt, die sich von dem Öl scharf abhebt. Ganz ähnlich verhalten sich Amoeba, Phycomyces nitens, Hefe, Spirogyra sp., Cladophora sp., Derbesia, Codium Bursa.“ Recht interessant sind besonders die Versuche mit Hefe, denn sie zeigen, daß die Wasserentziehung keineswegs den Tod mit sich bringt. Hefezellen halten, wie Versuche von Schumacher zeigen, noch bedeutend niedrigere Temperaturen als die von Molisch angewandten aus, trotzdem ihnen durch das Gefrieren so viel Wasser entzogen wird, daß Preßhefe nach dem Auftauen einen weichen Brei bildete. Doch nehmen die Zellen bald wieder Wasser auf und gewinnen ihre pralle runde Form, ihre deutliche Vakuole, mit andern Worten, ihr normales Aussehen wieder¹⁾.

¹⁾ Daß die von Molisch beobachteten Objekte durch die Kälte leider beinahe alle getötet werden, liegt an der von Mez mit vollem Rechte kritisierten Auswahl der Versuchsobjekte.

Wir haben also gesehen, daß das Wasser, welches die Eismassen bildet, den Zellen entzogen wird. Nun fragt es sich aber, warum es diese verläßt. Das ist in einem Falle sehr leicht zu erklären: nämlich, wenn man die Zellen, umgeben von einer größeren Menge Wassers, gefrieren läßt, so werden sich in dem Außenwasser viele Kristallkeime befinden, so daß in diesem die Kristallisation leicht beginnt. Die Eiskristalle wachsen aber nicht durch die Zellwandungen, die Zelle bleibt also ungeimpft. Da nun das Wasser einen viel höheren Dampfdruck hat als Eis, so wird es aus der Richtung des niedrigen Dampfdrucks strömen, d. h. die Zelle verlassen. In sehr hübscher Weise erklärt Müller-Thurgan, warum sich bei den von ihm untersuchten Objekten das Eis nicht innerhalb, sondern außerhalb der Zellen bilde. Nämlich, da die Wirkung der Kapillaritätskräfte auf die die Zellen von außen umkleidende Wasserschicht kleiner ist als wie auf das in der Zellwand selbst enthaltene Wasser, so hat das Außenwasser nicht nur einen höheren Gefrierpunkt, sondern läßt sich auch schwerer unterkühlen. Bildet sich dann in dieser Schicht das erste Eis, so strömt natürlich von allen Seiten das Wasser nach dem gebildeten Keime hin.

„So entstehen die Eisdrusen in den Interzellularräumen, die bekanntlich ursprünglich nicht mit Wasser gefüllt sind, und es findet diese Abgabe von Wasser nicht nur aus den zunächst an die Eisdrusen angrenzenden Zellagen statt, dasselbe strömt vielmehr auch aus größerer Entfernung herbei, um sich an die bereits vorhandenen Kristalle anzuschließen. Es geht dies schon aus den Größenverhältnissen der Kristalle und der anliegenden Zellen hervor, indem erstere oft das tausendfache Volumen der letzteren aufweisen.“

„In recht schöner Weise wird das Herbeiströmen des Wassers zu den einmal gebildeten Kristallen dargelegt durch Vorkommnisse, wie sie Figur 15 beispielsweise zeigt. A stellt eine Kristalldruse aus dem Innern einer gefrorenen Rübe vor, während die Druse b am Rande unter einer Schicht von etwa 20 Zellen Mächtigkeit sich befand. Da nun im letzteren Falle zur Bildung der äußeren Kristallschicht der Druse so ziemlich nur das Wasser der außerhalb derselben gelegenen Zellschichten verwendet werden konnte, so hatten auch die nach außen hin gelegenen Kristalle der Druse nur geringe Längenausdehnung. Die nach innen gelegenen Kristalle derselben Druse zeigten dagegen eine bedeutendere Entwicklung; zu ihrem Aufbau konnten eben auch eine größere Anzahl von Zellen einen Teil ihres Wassers abtreten. — Die beiden Kristallschichten der im Innern gelegenen Druse A sind ungefähr gleich stark entwickelt, woraus zu schließen sein dürfte, daß bei gleichartiger Beschaffenheit des Gewebes von beiden Seiten so ziemlich aus derselben Entfernung das Wasser zur Bildung dieser Eisdruse herangezogen wird.“

Ich glaube, durch diese Darlegungen ausreichend nachgewiesen zu haben, daß das Gefrieren der Pflanze als ein Austrocknungsprozeß aufgefaßt werden kann. Er ist von dem Entwässern im Schwefelsäure-Exsikkator nur dadurch verschieden, daß sich das Austrocknungsmittel, nämlich das Eis, im Inneren der Gewebe befindet, so daß die sämtlichen Schutzmittel, die eine gar zu schnelle Verdunstung des Wassers nach außen verhindern, in diesem Falle ganz wirkungslos sind. Da nun weiter im Innern der Pflanze Eis und Flüssigkeit einander recht nahe sind, so ist das Dampfdruckgefälle recht steil, also wohl imstande, in kurzer Zeit sehr energische Wirkungen hervorzubringen.

Sozusagen im Anhang hierzu mag auch noch die Tatsache besprochen werden, daß gewisse Bäume, z. B. *Ailanthus glandulosa*, *Juglans*, *Paulownia*, in einzelnen Jahren nach einer kalten Herbstnacht ihre Blätter alle auf einmal abwerfen, selbst wenn sie noch ganz grün sind. Mohl studierte diese Erscheinung und fand, daß die Blätter bei *Paulownia* durch eine Eisschicht, die sich zwischen Blattstiel und Blattnarbe gebildet hatte, von der Pflanze losgerissen werden. Müller-Thurgau fand nun, daß diese Schicht aus allerdings nicht ganz regelmäßigen Eisprismen bestehe und daß häufig auf die Dicke der Schicht zwei Kristalle kommen. Doch scheint die Hauptmenge des Wassers aus dem Blattstiele zu stammen. Denn auf der Seite der Blattnarbe sind die Säulen nur kurz. Sobald die Schicht dann auftaut, fällt natürlich das Blatt ab.

2. Die Veränderungen am Zellprotoplasma.

Nachdem wir uns nun mit der Frage beschäftigt haben, was aus dem ausfrierenden Wasser wird, kommen wir jetzt auf die Veränderung, die das Protoplasma beim Ausfrieren erleidet. Ich will da zunächst Kühne sprechen lassen, dessen Ausführungen hierzu höchst bemerkenswert sind. Seine Versuchsanordnung ist zwar recht mangelhaft, doch schildert er in einer reizenden, anschaulichen Art das Wiedererwachen des Lebens in einem gefrorenen Pflanzenteile: „Legt man die abgeschnittenen Staubfäden von *Tradescantia virginica* mit dem Objektträger in einem Wassertropfen auf eine Kältemischung von Eis und Kochsalz, so findet man nach dem Auftauen alles Protoplasma zerstört, zu krümeligen, geronnenen Klumpen zerfallen, die sich rasch mit dem violetten Farbstoffe imbibieren und keine Neigung haben, wieder ein Netz von fließendem Protoplasma zu bilden. Legt man dagegen die Haare in einen in die Kältemischung gesenkten dünnen Platintiegel, so daß sie auch ohne Wasserzusatz rasch gegen die Wände des Tiegels aufrieren, so erhält sich das Protoplasma länger als 5 Minuten in dieser Temperatur von ca. — 14° lebend. Ich zog

den Tiegel aus der Kältemischung heraus und brachte die Haare in Wasser unter das Mikroskop. Der Anblick, welcher sich mir darbot, war überaus merkwürdig, denn von dem Protoplasmanetze war keine Spur mehr zu sehen, sondern der violette Binnenraum der Zelle enthielt neben dem nackten Kerne eine große Anzahl gesonderter runder Tropfen und Klümpchen. Wenige Sekunden später begann in diesen eine sehr lebhafte Bewegung, sie veränderten ihre Umrisse, zogen sich lang aus und verkürzten sich wieder und gerieten dabei in eine wirbelnde Tanzbewegung. Des Vergleiches halber könnte man diese Produkte vegetabilische Amöben nennen, denn sie bewegen sich gerade wie Amöben, nur außerordentlich viel geschwinder als jene. Schon nach wenigen Minuten begannen die Körperchen zusammenzufließen zu einzelnen größeren Tropfen, und indem diese sich wieder mit anderen Gruppen vereinigten, stellte sich in einem Zeitraume von etwa 10 Minuten das ursprüngliche Protoplasmanetz wieder her, das auch nach 24 Stunden noch lebhaft strömend gefunden wurde. Länger als 15 Minuten darf man jedoch die Zellen auch ohne Wasserzusatz nicht in der niederen Temperatur halten, denn in diesem Falle unterliegen sie derselben Zerstörung, wie wenn man sie rasch einmal mit Wasser einfrieren gelassen hat.“

Experimentell weit besser durchgeführt sind Molisch's Versuche. Wie verheerend die Wirkung der Abkühlung auf ein allerdings wohl recht empfindliches Objekt ist, mag der Leser aus folgenden Beispielen ermessen: „Als ich einen dünnen Flächenschnitt der Epidermiszellen von *Tradescantia discolor*, der die völlig intakten Epidermiszellen enthielt, im Wasser eingebettet und mit dem Deckglas bedeckt in den Gefrierapparat brachte und durch successives Hinzufügen einer Kältemischung in den Gefrierapparat für eine allmähliche Abkühlung sorgte, so daß die Temperatur von 0° auf — 5° erst innerhalb sechs Stunden sank, konnte ich folgendes beobachten: Zuerst gefror das Wasser außerhalb des Schnittes, dann blieb etwa eine Stunde alles unverändert, endlich erstarrte momentan in einzelnen Zellen der Inhalt. Ganz ähnlich wie bei Anthokyanlösungen tritt in der Zelle eine Scheidung ein, zwischen Wasser, welches zu Eis wird, und dem konzentrierten rotgefärbten Zellsaft, der in Form mehr oder minder großer Tropfen oder eines unregelmäßigen Netzes zwischen der Eismasse steckt. Mitunter treten in den Tropfen Fällungen in Gestalt sehr kleiner Anthokyankügelchen ein, die bei genügender Kleinheit durch ihre Molekularbewegung den flüssigen Aggregatzustand des rot gefärbten Zellinhaltes innerhalb des Eises bekunden. In den meisten Zellen treten auch zwischen dem Eis und in den Anthokyantropfen, oder besser gesagt, in den durch Anthokyan gefärbten Zellsafttropfen, kleine Luftblasen auf. Oft erscheint der rotgefärbte Zellsaft in so

zahlreichen Tropfen im Eise ausgeschieden, daß der Zellinhalt wie eine Emulsion aussieht. Auffallend ist, daß nicht alle Zellen gleichzeitig gefrieren, denn oft erstarrt eine Zelle und die ihr unmittelbar benachbarten erst $\frac{1}{2}$ Stunde später. Ein großer Teil gefriert überhaupt nicht, aus solchen Zellen tritt das Wasser aus und friert draußen.“

„Von Wichtigkeit ist, daß der Kern jetzt nicht mehr seine schöne, runde Form aufweist, sondern gewöhnlich geschrumpft, desorganisiert und nicht selten durch Anthokyan rötlich gefärbt erscheint. Der Tod der Zelle, der, nebenbei bemerkt, auch eintritt, wenn man einen Schnitt sehr langsam auftauen läßt, gibt sich auch durch das in der Zelle deutlich sichtbare Plasmagerinsel und durch die nun auffallend roten Zellmembranen, welche den größten Teil des Anthokyans postmortal speichern, in auffallender Weise zu erkennen.“

„Man kann also sagen: Es ist zwar richtig, daß bei langsamer Abkühlung der Gewebe das Wasser der Zelle entzogen wird und außerhalb der Zelle friert, doch ist dies nur die Regel, keineswegs Gesetz, denn wie der Fall der *Tradescantia discolor* lehrt, kann auch Eis bei langsamer Abkühlung in der lebenden Gewebezelle entstehen“.

Wir sehen also aus diesem Versuch, wie ernstlich die durch das Gefrieren hervorgebrachten Schädigungen sind. Denn da wir durch die Arbeiten von Ehrlich heute darüber unterrichtet sind, wie nahe die Färbbarkeit mit dem Chemismus zusammenhängt, so zeigt die Rotfärbung des Zellkerns, daß auch sein chemisches Verhalten vollkommen verändert ist.

Fortgesetzt worden sind dann diese Studien namentlich über die Zerstörung des Zellkerns in einer Reihe sehr schöner Arbeiten von Matruchot und Molliard¹⁾. Die Verfasser finden, daß beim Gefrieren das Wasser aus den pflanzlichen Zellen oder Geweben mit großer Geschwindigkeit herausströmt. Nicht bloß das Zellsaftwasser, sondern auch das, was in dem Cytoplasma und in dem Zellkern enthalten ist. In dem Zellkern und dem Cytoplasma bilden sich dabei Vakuolen, und das wasserarme Plasma nimmt dann beim Zellkern die Form eines Netzes mit weiten Maschen und groben Fäden an. Während es nun nicht leicht ist, die an dem Cytoplasma durch den Wasserverlust hervorgerufene morphologische Veränderung zu beobachten, so sieht man bei dem Zellkern deutlich, daß er nicht bloß

¹⁾ Die erste dieser Arbeiten ist leider kaum zu lesen, weil durch ein bedauerliches Versehen — wahrscheinlich beim Druck — die Seitenplatten durcheinander geraten sind. Die Arbeit beginnt z. B. auf Seite 401, daran schließt sich Seite 406 und 407, dann 404 und 405, so daß man erst nach vier Seiten auf die richtige Seite 402 kommt. Dieselbe Konfusion wiederholt sich noch einmal, man wird ganz unvermittelt in den Schluß versetzt.

sein Volumen verändert, sondern auch tiefgreifende Veränderungen seiner Struktur erfährt.

Da nun die Strömungen des Wassers im Zellkern, die durch das Drängen des Wassers nach außen entstehen, sich nur selten nach mehr als ein oder zwei Richtungen geltend machen, so erhält dadurch das Gerüst des Nukleoplasmas eine uni- oder bipolare Anordnung. Pole werden die Punkte, an denen das Wasser am leichtesten nach außen strömen kann. So erhalten sie mehr Wasser und weniger Chromatin als der Rest des Zellkerns. Das Chromatin sammelt sich also zu ringförmigen Gebilden, bei bipolarem Kern in der Äquatorgegend an. Nun finden die Verfasser weiter, daß, wenn man den Zellen ihr Wasser durch Plasmolyse oder durch langsames oder schnelles Austrocknen entzieht, man genau dasselbe Bild erhält wie beim Gefrieren, und sie bauen darauf eine Theorie des Gefrierens als Austrocknungserscheinung auf, die den Ansichten, die ich im folgenden vertreten werde, außerordentlich nahekommt. Auf gewisse, mit dem Absterben der Zellen vereinigte Erscheinungen werde ich noch später zu sprechen kommen.

3. Der Todespunkt.

a) Der Todespunkt liegt bei einer scharf bestimmbar Temperatur.

Wir haben uns bisher nur mit dem Gefrieren beschäftigt, ohne auf die Frage, ob das nun ein Erfrieren zur Folge hat, näher einzugehen. Nun zeigt sich aber, daß nicht jedesmal, wenn es zur Eisbildung in den Geweben kommt, der Tod eintritt: Gefrieren und Erfrieren sind nicht identisch. Vielmehr muß das gefrierende Gewebe noch bis auf eine ganz bestimmte Temperatur, den Todespunkt, abgekühlt werden. Es ist nun eine für tierische (H. W. Fischer, Bachmetjew) und pflanzliche (Molliard, Apelt, Voigtländer) Gewebe ganz allgemein gültige Tatsache, daß der Todespunkt bei einer auffallend scharf definierten Temperatur liegt, die sich fast mit derselben Schärfe ermitteln läßt wie etwa der Gefrierpunkt. Der Todespunkt fällt also keineswegs mit dem Punkte, wo die Hauptmenge des Wassers ausgefrieret, zusammen, sondern er kann um viele Grade darunter liegen. Er hängt übrigens durchaus von der Natur und der Vorgeschichte der gefrierenden Zellen ab. Ich habe also jetzt zunächst zu beweisen, daß der Todespunkt bei einer scharf definierten Temperatur liegt.

Das ist eine Tatsache, die, wenn sie auch erst vor kurzem exakt bewiesen ist, doch schon lange bekannt ist. So ist es z. B. allgemein bekannt, daß in einem ungewöhnlich kalten Winter Obstbäume und

andere Holzgewächse erfrieren, welche die übliche Winterkälte jedes Jahr ohne Schaden ertragen haben. So kann denn auch Göppert in seinem Werk über die Wärmeentwicklung in den Pflanzen eine, auf Versuche von Bierkander, Thuin, Savi, Schübler und auch auf eigene Beobachtungen begründete Tabelle zusammenstellen, aus der man aus den erfrorenen Pflanzenarten sozusagen die Temperatur, die geherrscht hat, ablesen kann. Ich gebe einen Auszug aus dieser Tabelle wieder, weil sie mir in dieser Hinsicht nicht ohne Interesse erscheint, obgleich die einzelnen angegebenen Temperaturen wohl kaum in dieser Schärfe richtig sein dürften, denn sie sind natürlich nur in der Luft gemessen worden.

Bohnen, Gurken, Kartoffeln, viele Gewächse südlicher Gegenden erfrieren, wenn die Temperatur sinkt bis auf	— 0° R
Weinreben verlieren ihre Blätter bei	— 1 bis 2°
Citrus decumana erfriert bei	— 1 bis 2°
Laurus Camphora	— 2 ≈ 3°
Myrtus communis, Citrus medica und Aurantium	— 2 ≈ 4°
Obstbäume verlieren Blätter und Blüten und Erica arborea erfriert bei	— 3 ≈ 4°
Camellia japonica	— 3 ≈ 5°
Ceratonia Siliqua, Nerium Oleander, Styrax officinalis, Yucca gloriosa	— 5 ≈ 6°
Melia Azedarach, Pistacia Terebinthus, Laurus nobilis	— 5 ≈ 7°
Punica Granatum, Quercus Suber, Jasminum officinale	— 5 ≈ 8°
Arbutus Unedo, Quercus coccifera	— 6 ≈ 8°
Cupressus sempervirens	— 7 ≈ 8°
Ficus carica	— 7 ≈ 9°
Rhamnus infectoria	— 9 ≈ 11°
Prunus Laurocerasus, Pinus Pinea	— 8 ≈ 11°
Rosa pimpinellifolia und andere zärtliche Rosen	— 13 ≈ 15°
Periploca graeca, Cercis Siliquastrum	— 15 ≈ 20°
Buxus sempervirens, Fraxinus Ornus, Morus papyrifera	— 16 ≈ 20°
Vitis vinifera	— 20 ≈ 21°
Rhododendron ponticum, Cytisus Laburnum	— 21 ≈ 22°
Amygdalus communis, Persica vulgaris, Prunus Armeniaca, Ceanothus americanus, Rosa centifolia, Mespilus germanica	— 21 ≈ 24°
Juglans regia, Castanea vesca, Clematis Vitalba, Kerria japonica	— 24 ≈ 26°
Prunus domestica, Cerasus	— 25 ≈ 26°

Hedera Helix, Ilex Aquifolium	— 24	≅ 26°
Pirus communis, Malus	— 25	≅ 27°
Gleditschia triacanthos erträgt noch	— 24	≅ 27°
Liriodendron tulipifera, Carpinus Betulus, Fraxinus excelsior	— 27	≅ 30°
Juniperus communis, Pinus Cembra ertragen . .	— 30	≅ 40°

Man kann nur dann erwarten, für ein Gewebe bei verschiedenen Versuchen immer dieselbe Zahl für den Todespunkt wiederzufinden, wenn die Versuchsobjekte in einem gewissen Sinne einander gleich sind. (Ich werde sofort näher darauf eingehen.) Wie scharf sich dann aber der Todespunkt bestimmen läßt, zeigt Apelt: Der Todespunkt der Kartoffelsorte Magnum bonum liegt bei $-3,02^{\circ} = 44,1$ Skalenteilen der Galvanometerskale, denn in einer ganzen Reihe hintereinander folgender Versuche erweisen sich bei 44,0 Skalenteilen die inneren Gewebe und das Kambium noch lebend, während sie bei 44,2 tot sind.

Hier mag gleich vorweggenommen werden, daß es Jensen und mir gelungen ist, ihn fast mit derselben Schärfe für Froschmuskeln zu ermitteln, während Bachmetjew für seine Insekten gleichfalls bis auf den Grad genaue Todespunkte ermitteln konnte. Eine besonders große Anzahl von Todespunktbestimmungen an pflanzlichen Objekten verdanken wir Rein. Dieser maß die Temperatur durch ein in die untersuchten Pflanzen hineingestochenes Thermoelement. Der Eintritt des Todes wurde durch die osmotische Methode mit Lösung von Kalisalpeter konstatiert. Seiner Arbeit entnehme ich die im folgenden abgedruckte Tabelle.

M bedeutet Monocotyledon D " Dicotyledon		Er- frier- punkt	Turgor in Atmo- sphären	Zellgröße in cbmm
Amomum Cardomomum, Blattstiel	M	2,00	6,30	0,00020
Nepenthes Curtisii, Blatt	D	2,00	6,30	
Cucumis sativus, Frucht	D	2,05	6,30	0,00164
Vanilla aromatica, Stengel	M	2,10	6,30	0,00035
Musa Ensete, Blattstiel	M	2,10	6,65	0,00039
Solandra graudiflora, Blattstiel	D	2,12	6,30	0,00064
Anthurium Scherzerianum, Blattstiel	M	2,14	6,65	0,00002
Peristrophe speciosa, Stengel	D	2,19	6,30	0,00039
Polypodium ireoides, Blattstiel	1)	2,20	6,65	0,00039
Ruellia mucronata, Blattstiel	D	2,22	6,30	0,00021
Cucurbita Pepo, Stengel	D	2,23	6,65	
Pothos aureus, Stengel	M	2,24	5,95	0,00049
Bryophyllum calycinum, Blattstiel	D	2,26	5,95	0,00173
Begonia, Stengel	D	2,26	6,30	0,00034

1) Farn.

M bedeutet Monocotyledon D Dicotyledon		Er- frier- punkt	Turgor in Atmo- sphären	Zellgröße in cbmm	
Spironema fragrans,	Blatt	D	2,26	6,30	0,00132
Anthurium Grusoni,	Blattstiel	M	2,26	6,65	0,00060
Chamaedorea Lindeniana,	Blattstiel	M	2,29	6,30	0,00008
Gunnera chilensis,	junger Blattstiel	D	2,30	5,95	
Aregelia spectabilis,	Blatt	M	2,30	5,95	0,00004
Rhaphis flabelliformis	Blattstiel	M	2,30	6,30	0,00012
Phaseolus vulgaris,	Stengel der Keimpflanze	D	2,30	6,65	0,00032
Bertolonia marmorata,	Blattstiel	D	2,33	5,95	0,00042
Spathiphyllum cannaefolium,	Blattstiel	M	2,33	6,30	0,00033
Vanda suavis,	Blatt	M	2,33	6,30	0,00015
Tradescantia discolor,	Blatt	M	2,34	6,30	0,00062
Ceratonia Siliqua,	Blattstiel	D	2,35	6,65	0,00004
Dahlia variabilis,	Knolle	D	2,50	6,65	0,00065
Hyacinthus orientalis,	Zwiebel	M	2,50	10,15	0,00145
Apium graveolens,	Wurzel	D	2,60	10,15	0,00015
Pirus communis,	Frucht	D	2,75	12,25	0,00200
Pirus Malus,	Frucht	D	2,70	13,30	0,00150
Melianthus major,	Blattstiel	D	2,90	5,95	0,00010
Beta vulg. rapa	Blattstiel	D	2,95	6,30	0,00200
Ocotea canariensis,	Blattstiel	D	3,00	6,65	
Escallonia mucronata		D	3,10	7,00	0,00007
Phillyrea latifolia,	Blattstiel	D	3,30	7,00	0,00002
Eucalyptus globulus, noch	unverholzter Stengel	D	3,35	6,65	0,00001
Laurus nobilis,	Blattstiel	D	3,50	7,00	0,00005
Viburnum Tinus,	Blattstiel	D	4,00	6,30	0,00018
Drimys Winteri,	Blattstiel	D	4,00	6,65	0,00020
Aucuba japonica,	Blattstiel	D	4,00	7,00	0,00022
Olea europaea,	Blattstiel	D	4,10	6,65	0,00003
Ruscus aculeatus,	Phyllocladium	M	4,20	6,65	0,00005
Durvillea dependens,	Blattstiel	D	4,30	6,65	0,00006
Colchicum autumnale,	Knolle	M	4,45	10,85	0,00038
Elodea canadensis,	Blatt	M	4,60	5,60	0,00005
Veronica speciosa,	Blattstiel	D	4,80	6,65	0,00012
Hydrilla verticillata,	Stengel	M	5,00	5,95	0,00004
Nerium Oleander	Blattstiel	D	5,00	6,65	0,00004
Beta vulg. rapa,	Wurzel	D	5,00	16,45	0,00016
Allium Cepa,	Zwiebel	M	5,70	11,55	0,00112
Chelidonium majus,	Stengel	D	6,99	6,30	0,00012
Mercurialis perennis,	Stengel	D	7,30	5,95	0,00096
Mespilus germanica,	Frucht	D	7,50	12,60	0,00058
Secale cereale,	Stengel	M	7,80	6,65	0,00002
Bellis perennis,	Stengel	D	7,90	6,65	0,00002
Senecio vulgaris,	Stengel	D	8,45	6,30	0,00014
Viola odorata,	Stengel	D	9,30	7,70	0,00007
Sempervivum latifolium,	Stengel	D	11,20	5,60	0,00300
Saxifraga elatior,	Stengel	D	12,00	7,00	0,00109
Sempervivum Mettenianum,	Blatt	D	13,60	5,95	0,00056

M bedeutet D =	Monocotyledon Dicotyledon	Er- frier- punkt	Turgor in Atmo- sphären	Zellgröße in cbmm	
		D	14,20	5,95	0,00020
		3)	14,50	5,60	
		5)	15,50	5,95	0,00030
	Stengel	D	15,80	5,95	0,00024
		4)	16,20	5,60	
		4)	16,20	5,95	
		1)	20,70	6,30	0,00086
		D	23,00	7,00	0,00005
	Blattstiel	D	23,30	6,65	0,00005
	Blattstiel	D	24,00	7,35	0,00004
	Blattspreite	6)	24,90	7,00	0,00002
		1)	25,50	6,30	0,00054
		1)	31,90	4,90	
		2)	47,00	54,00	
		2)	62,00	5,60	
		2)	65,00	5,60	

Die Tabelle gibt außer den Erfriertemperaturen auch noch den in den Zellen herrschenden Turgor in Atmosphären und die Zellgröße wieder. Nun ist oft behauptet worden, daß Zellen um so schwerer erfrieren, je höher ihr Turgor ist oder je kleiner sie sind.

Rein schließt nun mit Recht aus seinen Versuchen, daß von einem solchen Zusammenhang gar keine Rede sein kann. Zum Beispiel hat die Zuckerrübe mit einer Turgorspannung von 16 Atmosphären den ziemlich hohen Erfrierpunkt von -5 , während *Oscillaria Froelichii* mit einer Turgorspannung von $5\frac{1}{2}$ Atmosphären — fast dem niedrigsten in der Tabelle vorkommenden Werte — den außerordentlich niedrigen Erfrierungspunkt von -65° hatte. Ebenso deutlich zeigt sich auch, daß zwischen der Zellgröße und der Erfriertemperatur gar kein Zusammenhang besteht.

Wahrscheinlicher dagegen ist, daß ein Zusammenhang zwischen dem Gehalt der Zelle an Elektrolyten und der Erfriertemperatur besteht. Hier könnte zunächst eine Schutzwirkung, die von Säuren oder Basen ausgeübt wird, vorliegen, in der Art, wie wir das in dem vom Erfrieren der Kolloide handelnden Teile dieser Arbeit auf Seite 140 u. 141 kennen gelernt haben. Irgend welche physiologische Beobachtungen nach dieser Richtung hin liegen zurzeit nicht vor. Ebenso aber könnte auch durch die beim Gefrieren eintretende Konzentrationssteigerung der Elektrolyte im Pflanzensaft ein dem Aussalzen der Eiweißkörper

1) Grünalge. 2) Spaltpflanze. 3) Lebermoos. 4) Laubmoos. 5) Zygyphyte.
6) Conifere.

analoger Vorgang eintreten. Etwas Ähnliches scheint nach Versuchen von Gorke tatsächlich der Fall zu sein, doch ist sein Versuchsmaterial leider nicht ausreichend (Voigtländer), um die Frage mit Sicherheit entscheiden zu können. Weitere Versuche in dieser Richtung wären sehr wünschenswert, da sie uns sehr wahrscheinlich den Schlüssel zum Verständnis des Mechanismus der verlaufenden, irreversiblen Vorgänge liefern werden, über den wir zur Zeit noch gar nichts wissen.

b) Der Einfluß des Zustands des Protoplasmas auf den Todespunkt.

Ich werde in diesem Teile den Nachweis führen, daß der Todespunkt bei einer durch den Zustand des Plasmas bedingten scharf bestimmbar Temperatur liegt. Das ist nun nicht etwa so zu verstehen, als ob verwandtschaftliche Beziehung zwischen den Pflanzen auch in einer gleichen Lage des Todespunktes ihren Ausdruck fände.

Daß nicht etwa Mitglieder derselben Spezies oder desselben Genus denselben Todespunkt haben, läßt sich leicht beweisen. Bakterien sind z. B. nach den Arbeiten von Pictet, Schumacher und Frisch im allgemeinen gegen niedrige Temperaturen so resistent, daß es mir fraglich ist, ob nicht wenigstens einige davon vollkommen reversibel sind, doch erliegt z. B. auch hier nach Pictet *Micrococcus mytus* und die vegetabilen Zellen des *Bacillus Anthracis* einer längeren Einwirkung von -130° , gewisse Diatomeen ertragen nach Pictet Temperaturen von -200° , während Ewart andere Arten schon durch -8 bis 10° töten konnte.

Ja, selbst durch Züchtung kann man Varietäten herstellen, die sich in ihrer Erfrierbeständigkeit ganz verschieden verhalten. Äpfel erfrieren im allgemeinen sehr leicht, doch muß gerade die Apfelsorte, mit der Nägeli gearbeitet hat, recht kältewiderstandsfähig gewesen sein. So ist es auch z. B. dem systematischen Vorgehen der modernen deutschen Weizenzüchtung gelungen, den englischen Squarehead für unser Klima winterbeständig zu machen. Ebenso liegt der Erfrierpunkt der Kartoffelsorte *Magnum bonum* bei $-3,2^{\circ}$, der der Malta-kartoffel bei $-2,5^{\circ}$ (Apelt). Damit man durch Züchtung kältebeständige Varietäten herstellen kann, müssen natürlich sogar zwischen den einzelnen Individuen gewisse Unterschiede bestehen, die man dazu ausnützen kann. Zum Beispiel erfrieren nach einer Angabe von Regel die im Süden entstandenen Formen des Apfelbaums im Petersburger Klima samt der Wurzel, während die im Norden gebildeten Formen dort noch aushalten.

Auch die einzelnen Organe ein und derselben Pflanze sind natürlich ganz verschieden kältewiderstandsfähig. Vegetative Organe, die z. B. in

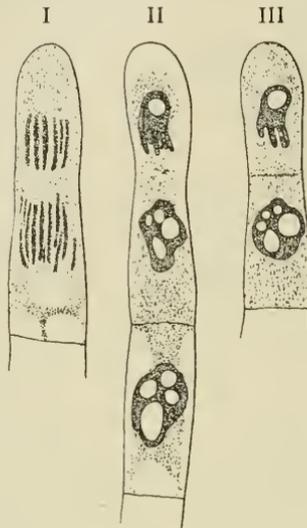
unserem Klima nur im Sommer bei der Pflanze vorhanden sind, brauchen naturgemäß keinen so hohen Grad von Kältewiderstandsfähigkeit. Ein Apfel oder eine Birne wird z. B. schon bei wenigen Grad unter Null erfrieren, während der Stamm noch eine Temperatur von über 20° unter Null unbeschädigt aushält.

Von einem mindestens ebenso großen Einflusse auf den Erfrierpunkt eines Gewebes wie das Milieu, in dem es sich befindet, wird aber auch die Funktion sein, die es im Organismus der Pflanze ausübt. Zunächst scheint es ja für die Pflanze ganz allein nur darauf anzukommen, ob eine hohe Kältebeständigkeit des betreffenden Organs für sie unbedingt erforderlich ist oder nicht. Man darf aber dabei nicht vergessen, daß die Kältebeständigkeit nur eine der vielen Eigenschaften des Protoplasmas ist, die durch eine Änderung seines Zustandes mit beeinflußt werden. Die Lage des Erfrierpunktes muß also auch durchaus von der Funktion der Zelle abhängen. Unter vollkommen gleichen äußeren Bedingungen lebende Zellen oder Organismen können also eine ganz verschiedene Kältebeständigkeit haben. Da durch eine solche Differenzierung die Eigenschaften des Plasmas nicht bloß in der einen, sondern in allen Richtungen verändert werden, so ist es sehr wohl denkbar, daß ein nach einer bestimmten Richtung hin differenziertes Plasma für die Lebensaufgaben einer bestimmten Zelle ganz im allgemeinen von Vorteil ist und die größere Kältebeständigkeit nebenher sozusagen — korrelativ — erreicht wird.

Zum Verständnis der am Todespunkt verlaufenden Vorgänge ist es nicht unwichtig, daß bei etwas höher entwickelten Pflanzen die Zellen mit verschiedener Funktion sich ganz verschieden widerstandsfähig zeigen. So erweisen sich nach Versuchen von Haberlandt die Chlorophyllkörner der verschiedenen Blattschichten und Zellgruppen als ungleich widerstandsfähig gegen den Einfluß der Kälte. Die Körner der Pallsadenschicht sind hinfälliger als die des Schwammgewebes. Diese aber werden in der Resistenz noch übertroffen von denen der Spaltöffnungszellen. Ebenso fand Molisch, daß bei *Primula chinensis*, *Nicotiana Tabacum*, *Campanula pyramidalis*, *Hyacinthus orientalis* etc. die Schließzellen in demselben Blatte viel widerstandsfähiger sind, als die sonstigen Epidermiszellen. Das Überleben dieser Zellen kann freilich das dem Tode verfallene Blatt nicht retten. Auch die zäheren Stellen fallen dann bald der Desorganisation aller Verhältnisse zum Opfer.

Einen besonders tiefen Blick in die Vorgänge am Todespunkte lassen uns Matruchot und Molliard in ihrer schönen Arbeit tun. Sie beobachteten u. a. auch die Wirkung der Kälte auf in der Kernteilung begriffene Zellen. Von den vielen interessanten Beobachtungen, die sie dabei gemacht haben, nämlich z. B., daß der eine der beiden

entstehenden Kerne etwas widerstandsfähiger zu sein scheint als der andere, will ich nur eine hier besprechen, die durch die Figur illustriert wird. Das in Fig. 17 dargestellte Stadium I der Kernteilung entspricht



Zellen erfrieren bei der Kernteilung. Nach Matruéhot und Molliard.

Fig. 17.

etwa der Form, bei der der Kern sich schon in zwei deutliche Hälften gesondert hat (Diaster). Auf die beiden Tochterkerne, die sich gerade ausbilden, wirkt die Kälte recht verschieden (II). Während der proximale Kern sich zu einer kompakten runden Masse zusammenzieht, kann sich der distale nur sehr unvollständig abrunden. Nur seine entferntere Seite hat eine runde Form angenommen und umschließt ein großes, kugelförmiges Bläschen. Die andere Hälfte zeigt in ihrem Umriss Zacken, in denen man leicht einige der Chromosomen erkennen kann, die sich nicht mit der großen Masse verschmolzen haben. Fig. II ist im Augenblick des Auftauens gezeichnet worden. Es muß hervorgehoben werden, daß man ebensowenig bei I, wo die Zellen noch leben, wie bei II, wo sie doch wohl tot sind, eine Andeutung von der Membran findet, die die beiden Zellen voneinander trennt. III zeigt, wie sich dasselbe Objekt 10 Minuten nach dem Auftauen verändert hat. Die beiden Tochterkerne haben ihre Form nicht sehr verändert. Dafür hat sich zwischen ihnen, dort wo das Cytoplasma früher vollkommen durchsichtig war, eine Anhäufung von groben Körnern gebildet, die eine Art Absperrungswand bilden. Sie befinden sich genau an der Stelle, wo sich bei dem normalen Verlauf der Kernteilung die Trennungswand zwischen den beiden Zellen aus-

bilden würde¹⁾. Es scheint also doch, als ob die Zelle einen gewissen Rest des Lebens bewahrt hätte und nicht als Ganzes durch die Kälte getötet worden wäre.

Wenn diese Deutung des Versuches richtig ist, so würde der Todespunkt nichts weiter sein, als wie der Punkt, bei dem das Plasma eines wichtigen Teiles der Zelle einen Irreversibilitätspunkt passiert, wobei seine Eigenschaften sich so stark ändern, daß es seine Funktion nicht mehr erfüllen kann. Das würde dann natürlich binnen kurzem die Desorganisation der ganzen Zelle zur Folge haben.

c) Die Verkleinerung des Adsorptionsvermögens beim Erfrieren.

Wir stehen also jetzt vor der Aufgabe, das Auftreten dieses scharfen Todespunktes zu erklären. Nach den Auseinandersetzungen, die ich in dem von dem Gefrieren der Kolloide handelnden Teile gegeben habe, ist es ersichtlich, daß nur bei einer Art von Gelen ein so scharfer Irreversibilitätspunkt auftritt. Nämlich beim Wiederentwässern der Van Bemmelschen Gele. Da ich nun dort auf S. 152 gezeigt habe, daß, trotzdem die chemische Natur der das Gel bildenden Substanz unverändert bleibt, doch die Irreversibilitätspunkte der Gele um 100 oder noch mehr Grad auseinanderliegen können, so verstehen wir jetzt leicht, wie es kommt, daß die Todespunkte von verschiedenen Lebewesen, deren Plasma ja wohl im ganzen und großen keine große chemische Verschiedenheit aufzuweisen haben wird, soweit auseinander liegen, oder auch bei der einzelnen Species so leicht den äußeren Bedingungen angepaßt werden können.

Wenn aber diese Erklärung richtig ist, so müssen sich auch noch mehrere andere Erscheinungen, die wir damals gefunden hatten, hier wiederholen. Zunächst haben wir gesehen, daß gleichzeitig mit dem Eintritt des Irreversibilitätspunktes sich das Adsorptionsvermögen verkleinert. Diesen Schluß sind wir leicht in der Lage auf seine Richtigkeit zu prüfen. Es ist nämlich von verschiedenen Autoren die Verdampfungsgeschwindigkeit des Wassers aus gefrorenen und ungefrorenen pflanzlichen Geweben bestimmt worden. Zunächst fand Göppert, daß das Wasser aus erfrorenen Blättern erheblich schneller verdampft, wie aus frischem. Dann zeigte Nägeli, daß aus einer ungeschälten gefrorenen Kartoffel das Wasser außerordentlich viel schneller verdunstet, ja zum Teil herausläuft, während aus geschälten oder ungeschälten gefrorenen, aber wie auch ihr sonstiges Verhalten zeigt,

¹⁾ Nach dem Eindruck, den man aus den Arbeiten von Molliard und Matruchot gewinnt, arbeiten diese mit großer Sorgfalt und Gewissenhaftigkeit. So habe ich es für richtig gehalten, diese etwas auffallende Beobachtung, die ich natürlich nicht weiter auf ihre Richtigkeit kontrollieren kann, hier wiederzugeben.

nicht erfrorenen Äpfeln das Wasser genau so schnell verdunstet, wie aus ungefrorenen Exemplaren. Ja, diese Steigerung der Verdampfungsgeschwindigkeit wird mit Recht sogar als Kriterium des Todes betrachtet. Mez schreibt darüber: „Zweifel über stattgehabtes Erfrieren von zum Versuch benutzten Objekten können überhaupt niemals obwalten, wenn man die Konstatierung des Lebenszustandes aufschiebt und die Stücke 24 Stunden im Warmen aufbewahrt. Das Verfallen und die Verfärbung toter Objekte, welches nach dieser Zeit stets unverkennbar eingetreten ist, zeigten mit Sicherheit an, ob der Tod eingetreten ist oder nicht.“ Auch Matruchot und Molliard haben bei ihren Versuchen beobachtet, daß beim Erfrieren die Objekte optisch inhomogener werden, in einer Weise, die direkt an die Trübung am Umschlagspunkt von Van Bemmelen erinnert, während überlebende Objekte optisch homogen bleiben. Damit dürfte die theoretisch vorhergesagte Verminderung des Adsorptionsvermögens experimentell bewiesen sein.

d) Der Todespunkt und die Gewöhnung.

Wir haben auch auf Seite 153 gesehen, daß durch längeres Aufbewahren in der Kälte das Adsorptionsvermögen des Kolloids gesteigert und sein Irreversibilitätspunkt nach unten verrückt werden muß. Danach müßten also Pflanzen, die sich längere Zeit in der Wärme aufgehalten haben, leichter durch Erfrieren getötet werden, als Pflanzen, die durch einen längeren Aufenthalt in kalter Luft sich schon an die niedrige Temperatur gewöhnt haben. Der erste, der systematische Versuche in dieser Richtung angestellt hat, war Göppert. Er konnte an sehr zahlreichen Versuchsobjekten feststellen, daß eine Gewöhnung in dem angegebenen Sinne tatsächlich eintritt. Doch wurde erst von Apelt die Erniedrigung des Todespunktes durch Gewöhnung quantitativ bestimmt. Er fand, daß Kartoffeln von der Sorte Magnum bonum, welche 4 bis 7 Wochen bei $22,5^{\circ}$ im Warmhause gelegen hatten, gleichmäßig bei $-2,14^{\circ}$ erfroren, während der Erfrierpunkt für Kartoffeln, die 4 resp. 7 Wochen in einem trockenen, warmen Zimmer bei einer Temperatur von ungefähr 18° aufgehoben worden waren, bei $-2,36^{\circ}$ lag. Wurden aber die Kartoffeln dieselbe Zeit im Eisschrank bei 0 bis $+1^{\circ}$ aufgehoben, so lag der Erfrierpunkt bei $-3,08^{\circ}$.

„Bei Kaltlagerung von Maltkartoffeln, die vorher bei Zimmertemperatur ($+10$ bis 12°) gelegen hatten, war nach 4 Tagen ein Herabsinken des Erfrierpunktes um einen Skalenteil = $0,068^{\circ}$ zu beobachten. Nach 15 Tagen betrug der Unterschied drei Skalenteile oder $0,34^{\circ}$ und nach 4 Wochen 10 Skalenteile = $0,68^{\circ}$ gegen den ursprünglichen Erfrierpunkt. Faßt man die Gesamtdauer des längsten

Versuches (4 Wochen) ins Auge, so fällt der Erfrierpunkt durchschnittlich in 3 Tagen um einen Skalenteil = 0,068⁰⁰.

„Ein ganz gleiches Verhalten zeigen die Kartoffeln, die aus einer Temperatur von 10—12° in eine solche von 22,5° gebracht wurden. Auch hier betrug nach 4 Tagen die Erfrierpunkterhöhung einen Skalenteil oder 0,068°. Es kommt also auch hier auf einen Tag ungefähr $\frac{1}{4}$ Skalenteil Erfrierpunktverschiebung. Die Kartoffeln, welche auf Eis gelegen haben, erhöhen ihren Erfrierpunkt wieder, sobald sie in eine wärmere Temperatur gebracht werden. So stieg der Erfrierpunkt von Maltakartoffeln, die auf Eis gelegen hatten, und deren Erfrierpunkt bei 44,5—45,1 Skalenteil = -3,05—3,09° festgestellt worden war, in 3 Wochen wieder auf 38,8 Skalenteile = -2,66°.

Eine ähnliche Anpassung zeigen auch Kartoffeltriebe, denn ihr Todespunkt wird durch Lagern auf Eis um einige Zehntelgrade herabgesetzt. In Übereinstimmung damit fand Haberlandt, daß Keimpflanzen, die bei 18—20° C aufgewachsen waren, schneller erfroren, als die bei +8° gezogenen Keimlinge.

Besonders sorgfältige Versuche über die Abhängigkeit des Todespunktes von der Gewöhnung verdanken wir wieder Rein, dessen Arbeit die im folgenden wiedergegebenen Tabellen entnommen sind.

Objekt		Erfrierpunkt		Ge- frierpunkt	Differenz zwischen Ge- u. Er- frierpunkt
		bei 20°	am 10.Tag bei +6° bis 8°		
Nepenthes Curtisii,	Blatt	-2,00	-2,00	?	
Amomum Cardamomum,	Blattstiel	-2,00	-2,00	-1,6	0,4
Musa Ensete,	Blattstiel	-2,10	-2,10	-1,7	0,4
Vanilla aromatica,	Stengel	-2,10	-2,10	-1,9	0,2
Solandra grandiflora,	Blattstiel	-2,12	-2,12	-1,6	0,5
Anthurium Scherzerianum,	Blattstiel	-2,14	-2,14	-1,8	0,8
Peristrophe speciosa,	Stengel	-2,19	-2,19	-1,7	0,5
Polypodium ireoides,	Blatt	-2,20	-2,20	-1,6	0,6
Ruellia mucronata,	Blattstiel	-2,22	-2,22	-1,6	0,6
Pothos aureus,	Stengel	-2,24	-2,24	-1,6	0,6
Anthurium Grusonii,	Blattstiel	-2,26	-2,36	-1,8	0,5
Bryophyllum calycinum,	Blattstiel	-2,26	-2,26	-1,8	0,5
Begonia scandens,	Stengel	-2,26	-2,26	-1,8	0,5
Spiromema fragrans,	Blatt	-2,26	-2,26	-1,7	0,6
Chamaedorea Lindeniana,	Blatt	-2,29	-2,29	-1,7	0,6
Rhaphis flabelliformis	Blattstiel	-2,30	-2,30	-1,7	0,6
Spathiphyllum cannaefolium		-2,33	-2,33	-1,7	0,6
Vanda suavis,	Blatt	-2,33	-2,38	-1,6	0,7
Bertonia marmorata,	Blattstiel	-2,33	-2,33	-1,7	0,6
Aregelia spectabilis,	Blatt	-2,33	-2,33	-1,7	0,6
Tradescantia discolor,	Blatt	-2,34	-2,34	-1,6	0,7

Als das Hauptergebnis der Versuche darf angesprochen werden, daß nur solche Pflanzen Gewöhnungserscheinungen in erheblichem Betrage zeigen, die überhaupt schon ziemlich schwer erfrieren. Zum Beispiel zeigen die tropischen Pflanzen der ersten Tabelle, deren Erfrierpunkt höchstens um $\frac{1}{2}$ Grad von ihrem Gefrierpunkt verschieden ist, keine beobachtbare Erfrierpunktveränderung.

Gleichfalls zeigen keine Erfrierpunktverschiebung folgende Pflanzen nicht tropischer Klimate, von denen Rein aber hervorhebt, daß sie zwar in subtropischen Klimaten leben, aber in ihrer überwiegenden Zahl echt tropischen Familien angehören. Auch diese zeigen nur geringe Differenzen zwischen Erfrierpunkt und Gefrierpunkt, die 1° meistens nicht erheblich übersteigen.

Objekt	Erfrierpunkte bei Außentemperatur		Gefrier- punkt	Differenz zwischen Er- und Gefrierpunkt
	+ 1°	+ 20°		
<i>Ocotea canariensis</i>	— 3,00	— 3,00	— 1,7°	1,3
<i>Gunnera chilensis</i>	— 2,30	— 2,30	— 1,6°	0,7
<i>Ceratonia Siliqua</i>	— 2,35	— 2,35	— 1,8°	0,5
<i>Escallonia mucronata</i>	— 3,10	— 3,10	— 1,6°	1,5
<i>Melianthus major</i>	— 2,90	— 2,90	— 1,8°	1,1

Deutliche Erfrierpunktserniedrigung aber zeigen schon die Pflanzen der Tabelle III, bei denen die Differenz zwischen Er- und Gefrier-

Objekt	Gefrier- punkt	Erfrierpunkt bei Außentemperaturen		Erfrierpunkts- änderung pro° Außen- temperatur- änderung	E ₀ — G
		+ 1°	+ 22°		
a)					
<i>Phillyrea latifolia</i>	— 1,7	— 3,40	— 3,10	0,009	1,7
<i>Laurus nobilis</i>	— 1,8	— 3,57	— 3,30	0,010	1,8
<i>Viburnum Tinus</i>	— 1,7	— 4,10	— 3,80	0,010	2,4
<i>Olea europaea</i>	— 1,7	— 4,15	— 4,00	0,010	2,5
<i>Nerium Oleander</i>	— 1,8	— 5,12	— 4,80	0,012	3,3
<i>Ruscus aculeatus</i>	— 1,7	— 4,25	— 4,00	0,015	2,6
b)					
<i>Aucuba japonica</i>	— 1,7	— 4,10	— 3,80	0,010	2,4
<i>Evonymus japonica</i>	— 1,8	— 4,10	— 3,80	0,010	2,3
c)					
<i>Drimys Winteri</i>	— 1,6	— 4,15	— 4,00	0,009	2,6
<i>Durvillea dependens</i>	— 1,8	— 4,36	— 4,22	0,010	2,6
d)					
<i>Eucalyptus Globulus</i>	— 1,7	?	— 3,30	0,009	ca. 2
<i>Veronica spectabilis</i>	— 1,7	— 4,90	— 4,60	0,010	3,2

punkt in der Regel schon 2° zu übersteigen pflegt. Rein bemerkt zu der Tabelle, „daß die unter a) zusammengestellten Versuchsobjekte den mediterranen Regionen angehören; die unter b) genannten sind Angehörige des japanischen Übergangsgebietes; unter c) sind die beiden untersuchten Spezies aus dem chilenischen Gebiet zusammengestellt; unter d) endlich sind zwei Arten aufgeführt, welche der australisch-neuseeländischen Flora angehören.“

Die letzte Tabelle umfaßt schließlich einige in unserem Klima lebende Pflanzen:

Objekt	Erfrierpunkt I	Außen-temperatur I	Erfrierpunkt II	Außen-temperatur II	Erfrierpunkts-änderung pro° Außen-temperatur-änderung
--------	----------------	--------------------	-----------------	---------------------	---

Ia. In Luft überwinternde Pflanzen.

<i>Ceratodon purpureus</i>	—17,10	± 0	—15,60	+ 20	0,075
<i>Sphagnum acutifolium</i>	—16,20	+ 20	—16,90	+ 8	0,060
<i>Fegatella conica</i>	—14,50	+ 11	—13,98	+ 20	0,055
<i>Rhododendron ponticum</i>	—23,00	—14	—21,00	+ 20	0,060
<i>Hedera Helix</i>	—23,30	—6	—22,00	+ 20	0,050
<i>Helleborus niger</i>	—15,80	—1	—14,50	+ 20	0,062
<i>Saxifraga tenella</i>	—14,25	± 0	—12,80	+ 20	0,070
<i>Sempervivum Mettenianum</i>	—13,60	—2	—12,30	+ 20	0,060
<i>Taxus baccata</i>	—24,95	± 0	—23,53	+ 20	0,070
<i>Ilex Aquifolium</i>	—24,05	—6	—22,60	+ 20	0,054

Ib. Unterirdisch überwinternde Organe.

<i>Allium Ceba</i>	—6,92	+ 5	—5,39	+ 20	0,100
<i>Daucus Carota</i>	—5,70	+ 8	—4,50	+ 20	0,100

II. Keimpflanzen einjähriger Gewächse.

<i>Cucurbita Pepo</i>	—2,26	+ 20	—2,40	+ 6	0,010
<i>Phaseolus vulgaris</i>	—2,30	+ 20	—2,50	+ 6	0,013

III. Submerse Pflanzen.

<i>Hydrilla verticillata</i>	—5,00	+ 15	—5,07	+ 3	0,006
<i>Elodea canadensis</i>	—4,60	+ 15	—4,83	+ 3	0,015
<i>Cladophora spec.</i>	—20,60	+ 15	—20,78	+ 3	0,013
<i>Lemna trisulca</i>	—7,10	+ 6	—7,16	+ 3	0,015

Wohl mit das interessanteste Ergebnis der Versuche Reins ist es, daß alle tropischen Pflanzen so leicht erfrieren. Von Reins Standpunkt aus gesehen erscheint das selbstverständlich, denn tropische Pflanzen brauchen ja nicht gegen das Erfrieren geschützt zu sein. Nun wurde aber im vorigen Abschnitte gezeigt, daß die Lage des Erfrierpunktes vom Zustande des Protoplasmas, von seiner Funktion abhängt; man sollte also erwarten, daß auch bei den tropischen

Pflanzen, die den verschiedensten Klassen angehören, Funktionsdifferenzen des Protoplasmas vorkommen, die sich in großen Erfrierpunktsdifferenzen äußern. Dabei ist auch noch zu bedenken, daß viele tropischen Pflanzen zwar nicht von dem Erfriertode bedroht werden, wohl aber von einer andern Art des Austrocknungstodes — von dem Verdorren. Nun ist ja an anderer Stelle schon darauf hingewiesen worden, daß eine Pflanze sich viel leichter durch äußere Schutzmittel gegen das Verdorren wie gegen das Erfrieren schützen läßt. Immerhin aber wundert man sich doch, warum die Pflanzen dieser Gefahr nicht durch einen geeigneten Zustand ihres Protoplasmas entgegenarbeiten. Man muß also wohl annehmen, daß ein Zustand des Protoplasmas, in dem es leicht erfriert, ganz im allgemeinen für seine Funktion vorteilhaft ist. Nun entspricht, wie ich auf Seite 152 gezeigt habe, einer hohen Lage des Erfrierpunkts — kolloidchemisch gesprochen — ein hohes „Alter“ des Kolloids. Alte Kolloide sind aber, wie jedem Kolloidchemiker bekannt, außer durch ein geringes Adsorptionsvermögen, auch noch dadurch ausgezeichnet, daß sie ihre Eigenschaften nur noch wenig bei einer Veränderung der äußeren Umstände, in denen sie sich befinden, modifizieren. Hier ist also vielleicht die Ursache dafür zu suchen, daß für die Pflanze ein ziemlich alter Zustand der Plasmakolloide vorzuziehen ist, denn eine durch zufällige äußere Umstände hervorgerufene Zustandsänderung des Protoplasmas, wie sie bei einem jungen Kolloide leicht eintreten kann, bedingt natürlich eine Störung der regelmäßigen Funktion.

Mit dieser relativen Beständigkeit alter Kolloide hängt es auch zweifellos zusammen, daß Pflanzen, die einen niedrigen Erfrierpunkt haben, ihn durch Gewöhnung nur noch wenig ändern. Ein gewisser qualitativer Zusammenhang zwischen der Tiefe des Erfrierpunktes und dem Betrage der Gewöhnung zeigt sich ja in den Tabellen deutlich. Strenge quantitative Beziehungen aber lassen sich nicht verfolgen. Die Komplikation ist hier eben schon zu groß, als daß sie sich mit den zurzeit vorliegenden Erfahrungen logisch bewältigen ließ.

Hier mögen noch einige Bemerkungen Platz finden über die Geschwindigkeit, mit der ein Pflanzenteil seinen Erfrierpunkt ändert. Die erste solche Kurve ist von Apelt bei der Kartoffel aufgenommen worden, ein größeres Material darüber findet sich besonders noch bei Rein. Eine Dahlienknolle ändert ihren Erfrierpunkt bei einer Veränderung der Außentemperatur von 15° um $0,4^{\circ}$, eine Zwiebel von *Allium Cepa* um $1,5^{\circ}$, *Daucus Carota* um $1,2^{\circ}$ und *Rhododendron ponticum* um $0,9^{\circ}$. Alle diese Kurven zeigen nun fast völlig das gleiche Aussehen. In den ersten zwei Tagen, nach dem das Objekt der höheren resp. niedrigeren Temperatur ausgesetzt ist, ändert sich sein Erfrierpunkt nur wenig. Dann aber steigt etwa 10 Tage lang

der Erfrierpunkt direkt proportional der Zeit, um sich dann die letzten zwei Tage wieder wenig zu ändern. Eine solche Kurve sieht also etwa wie ein schräg liegendes Integralzeichen mit verhältnismäßig langem und geraden Mittelteil aus. Bringt man das Objekt nun wieder auf niedrigere Temperatur, so wird mit großer Annäherung das Spiegelbild der Kurve durchlaufen. Das langsame Ansteigen zu Anfang erklärt Rein damit, daß die Objekte eine erhebliche Zeit brauchen, bis sie die Temperatur ihrer Umgebung annehmen, und tatsächlich scheint es auch bei voluminösen Objekten länger zu dauern, bis sie in den linear ansteigenden Teil der Kurve hineingelangen. Mir scheint diese Erklärung nicht sehr wahrscheinlich. Selbst Töpfe mit vielen Litern kochenden Wassers erreichen nach wenigen Stunden die Zimmertemperatur, wenn man die Flamme entfernt, und ein Eisstückchen von der Größe einer Kartoffel dürfte, selbst wenn man es durch Umwickeln mit einem Stück Tuch gegen Wärme etwas isoliert, nicht zwei Tage zum Schmelzen brauchen.

Ich selber versuche gar keine Erklärung. Besonders ist es mir ganz unverständlich, warum die Geschwindigkeit, mit der sich der Erfrierpunkt ändert, im größten Teile des Intervalls konstant ist, um dann ziemlich sprunghaft auf Null zu sinken. Im allgemeinen ist doch die Geschwindigkeit, mit der ein Vorgang verläuft, abhängig von der Entfernung vom Endzustande!

e) Vom Einfluß des Alters auf den Todespunkt.

Im vorigen Teile ist es mir, wie ich hoffe, darzulegen gelungen, daß man bei pflanzlichen Kolloiden, die noch einigermaßen die Fähigkeit besitzen, reversible Zustandsänderungen durchzumachen, tatsächlich eine Gewöhnung an niedrigere Temperaturen konstatieren kann. Sie äußert sich darin, daß durch längeres Einwirken niedriger Temperaturen der Erfrierpunkt herabgesetzt wird. Nun hatte ich auf Seite 152 gezeigt, daß die Lage des Irreversibilitätspunktes bei einem Kolloide nicht bloß von der Temperatur abhängt, bei der es sich befindet, sondern daß sie im höchsten Grade von seinem Alter abhängt. Das Adsorptionsvermögen eines Kolloides ist um so größer, je jünger es ist. Mit steigendem Alter wandert der Irreversibilitätspunkt nach oben. Danach müßte also eine Zelle in dem embryonalen Stadium schwerer erfrieren, als später, wenn sie ausgewachsen ist.

Abermals entsprechen die Tatsachen der theoretischen Vorhersage. Wieder war es zuerst Göppert, der fand, daß junge Blätter derselben Pflanze schwerer erfrieren, als ältere. Denn er konnte an einer sehr großen Anzahl verschiedener Pflanzen zeigen, daß nach einer kalten Nacht alle alten Blätter erfroren waren, während die jüngeren nicht merklich gelitten hatten. Ebenso wurden nach

Schumacher zwar die älteren Hefezellen durch Abkühlung unter -100° getötet, nicht aber die jüngeren. Auch sind die in den Knospen enthaltenen Blätter viel widerstandsfähiger gegen Kälte als später, wenn sie ausgewachsen sind (Noll). Über sehr interessante Versuche von Dehne berichtet Apelt: „Für derartige Versuche ist *Enteromorpha intestinalis* ein vortreffliches Objekt, weil bei der Einschichtigkeit des aufgeschlitzten Thallus die Zellen in ein sehr regelmäßiges Netz geordnet sind und daher alle völlig gleichmäßig übersehen und beurteilt werden können. Der Eintritt des Todes kann sowohl durch eine geringe Verfärbung der Zellen wie insbesondere durch die sofortige Desorganisation des Protoplasmas (körniger Zerfall desselben) aufs leichteste beobachtet werden. Auch ermöglicht sich hier die plasmolytische Reaktion auf Leben oder Tod mit besonderer Sicherheit. Ferner hat *Enteromorpha intestinalis* die für die Untersuchung günstige Eigenschaft, daß bei ihr frisch gebildete Zellwände durch geringere Dicke der trennenden Membran mit Leichtigkeit als jugendlich erkannt werden können, auch wenn die neu gebildeten Zellen bereits zur gleichen Größe wie die umliegenden herangewachsen sind.“

„Dehne hat beobachtet, daß diese jugendlichen Zellen einen wesentlich tieferen Erfrierpunkt aufweisen, als die umgebenden älteren.“

Die besten quantitativen Versuche liefert wieder Apelt. Er fand den Todespunkt des unteren Teils eines Kartoffeltriebs bis zur Höhe von etwa 12 cm bei 32 Skalenteilen gleich $-2,2^{\circ}$, des mittleren Teils eines Kartoffeltriebs von 12—24 cm Höhe, 38 Skalenteile, entsprechend $-2,6^{\circ}$ und den des obersten Teils bei ca. 47 Skalenteilen entsprechend $-3,2$ Grad¹⁾.

Aus diesen Versuchen folgt, daß die jüngeren Zellen ein stärkeres Adsorptionsvermögen haben. Auch den Nährstoffen gegenüber zeigen sie dieses größere Adsorptionsvermögen, denn sie reißen diese gierig an sich aus dem umgebenden Gewebe, „gleich wie Parasiten“. So hat auch E. Pringsheim beobachtet, daß, wenn man Pflanzen dem Vertrocknen aussetzt, zunächst die ältesten Blätter zu vertrocknen anfangen, während die jüngeren Blätter ihnen das Wasser entziehen und sich zunächst wenigstens noch frisch halten. Hier dürfte auch die biochemische Erklärung für den von Apelt gemutmaßten Zusammenhang zwischen der Ernährung und der Lage des Todespunktes zu suchen sein²⁾.

¹⁾ Es ist sehr bezeichnend, daß Apelt, der durch seine Versuche die physikalische Theorie des Erfrierens vollkommen zu widerlegen glaubte, das beste Material zu ihrer Bestätigung geliefert hat.

²⁾ Die Annahme, die niedrigere Lage des Todespunktes bei jungen Zellen hinge mit größerer Wasserarmut oder höherer Konzentration an gelösten Stoffen zusammen, widerlegt Apelt selbst in überzeugender Weise.

Die Versuche von Apelt über das Erfrieren von Kartoffeltrieben wurden von Rein mit älteren und jüngeren Zwiebelblättern nachgeprüft. Er schreibt darüber folgendes: „Eine große Küchenzwiebel wurde in drei gleiche Teile zerlegt, zugleich wurde der Zwiebelboden entfernt, und auf diese Weise die Kommunikation zwischen den Zwiebelschuppen unterbrochen. Dadurch wurde der jüngeren embryonalen Partie die Möglichkeit genommen, sich auf Kosten der älteren mit Nahrung zu versehen und die bei Beginn des Versuches bestehenden relativen Nahrungsverhältnisse der jungen und der älteren Teile während der ganzen Dauer des Versuches (10 Tage) fixiert.“

Erfrierpunkt	bei + 12°	bei + 20°	Außentemperatur
des älteren Blattes	— 6,22°		— 5,47°
des jüngeren Blattes	— 6,36°		— 5,61°

Rein schließt aus diesen Versuchen mit Recht, daß nur die Eigenschaften des Protoplasten selbst für das verschiedene Verhalten der älteren und jüngeren Zwiebelblätter maßgebend sein können.

Als Ergebnis dieses vom Todespunkt handelnden Teiles möchte ich hinstellen, daß sich die Begriffe, die van Bemmelen beim Studium der Austrocknungserscheinung von Kolloiden entwickelt hat, als ausreichend zum Beschreiben des Gefriervorganges physiologischer Objekte erwiesen haben.

4. Die kalorischen Methoden.

A. Messung mit dem Kalorimeter.

Wir haben im vorigen Teile gesehen, daß sich die Analogie zwischen dem Austrocknen von schon einmal entwässerten van Bemmelen'schen Gelen und dem Erfrieren von Pflanzenplasma sehr weit verfolgen läßt. In diesem Teile werden wir die Annahme, daß es sich im Grunde um wesensgleiche Vorgänge handelt, mit Hilfe der kalorischen Methoden einer neuen Prüfung unterziehen.

1. Da ein Gel einen Teil seines Wassers hartnäckig festhält, so muß ein erfrierendes Pflanzenplasma eine andere Verteilung der Schmelzwärme über das Temperaturintervall des Gefrierens zeigen, als etwa eine Lösung gleicher Konzentration.

2. Da ich auf Seite 148 den Nachweis geführt habe, daß die Austrocknungskurve von der Quellungskurve um den Betrag einer Energiefläche verschieden ist, so muß auch die Wärmemenge, die ich einem Kolloide entziehen muß, um es z. B. von + 15° mit Gefrieren auf — 15° abzukühlen, von der verschieden sein, die ich ihm zum abermaligen Erwärmen auf + 15° zuführen muß.

3. Müßte bei einem Objekte, das bei einer ersten Erfrierkurve erfroren ist, eine nach dem Auftauen aufgenommene zweite Gefrierprobe einen von dem der ersten verschiedenen Verlauf zeigen.

Auf die Frage, ob man gerade scharf am Erfrierpunkte das Auftreten einer Wärmetönung zu erwarten hat, kann ich aber, weil ich zunächst die die Versuche störenden Einflüsse klarstellen muß, erst später eingehen.

Um die Frage zu untersuchen, welche Wassermengen bei einer bestimmten Temperatur ausgefrozen sind, brachte Müller - Thurgau einen Apfel in ein Kältebad, bis er die in der Tabelle angemerkte Temperatur angenommen hatte. Dann ließ er ihn in einem Wasserkalorimeter auftauen und berechnete die Menge des aufgetauten Wassers.

Der Apfel enthält 83,4% Wasser.

Anfangstemperatur des Apfels	Menge des Eises in Prozenten des vorhandenen Wassers
— 4,5 ^o	63,8%
— 7,3 ^o	68,2%
— 8,0 ^o	72,4%
— 13,0 ^o	74,4%
— 14,8 ^o	77,4%
— 15,2 ^o	79,3%

Ebenso waren bei einer Kartoffel, deren Wassergehalt 72,5% betrug, bei — 5^o 77,2% des vorhandenen Wassers zu Eis erstarrt.

Diese von Müller angegebenen Zahlen sind nicht ganz richtig. Nämlich, Müller muß, um die Schmelzwärme zu finden, von der insgesamt verbrauchten Wärme die zur Erwärmung des Apfels nötige Wärmemenge abziehen. Da die spezifische Wärme eines Apfels 0,944 beträgt, so berechnet Müller dieses Wärmequantum durch einfache Multiplikation der Temperaturdifferenz mit 0,944. Nun ist aber der Apfel zum großen Teile gefrozen und die spezifische Wärme des Eises nur 0,5. So findet Müller natürlich die zur Erwärmung gebrauchte Wärme zu groß, und also dann, wenn die Abkühlung unter Null erheblich und die Menge des gebildeten Eises groß ist, die Menge des noch nicht gefrozenen Wassers gleichfalls erheblich, d. h. um ca. 10% zu groß. Um also aus kalorimetrischen Bestimmungen die Menge des gebildeten Eises wirklich genau berechnen zu können, müßte man gerade die Größe, die man durch den Versuch bestimmen will, nämlich die Menge des noch ungefrozenen Wassers kennen. Immerhin aber sind die Müllerschen Bestimmungen ausreichend genau, um zu zeigen, daß selbst bei ziemlich niedrigen Temperaturen noch lange nicht alles Wasser aus den pflanzlichen Geweben ausgefrozen ist.

Damit ist aber noch nicht bewiesen, daß dieses Wasser auch wirklich adsorbiert ist. Alle tierischen und pflanzlichen Säfte enthalten ja bekanntlich erhebliche Mengen gelöster Stoffe, z. B. gerade

ein Apfel Zucker. Beim Gefrieren wird sich also eine Art Syrup¹⁾ bilden, der noch erhebliche Mengen Wasser gelöst enthalten kann. Nun läßt sich aber leicht in erster Annäherung berechnen, wie sich die Schmelzwärme beim Gefrieren einer Lösung verteilen muß.

Eine ideale wässrige Lösung ist bekanntlich dadurch charakterisiert, daß ihre Gefriertemperatur ϑ ihrer Konzentration c direkt proportional ist.

$$\vartheta = K \cdot c$$

Nun ist $c = \frac{m}{w}$, wo m die Menge der gelösten Substanz und w die Menge des Wassers ist. Es wird also

$$\frac{w}{m} = \frac{1}{K \cdot \vartheta}$$

Kühle ich nun die Lösung von ϑ_1 auf ϑ_2 ab, so wird so viel Wasser ausfrieren, bis die Menge des Wassers nur noch den zu ϑ_2 gehörigen Betrag hat. Die ausgefrorene Wassermenge

$$w_1 - w_2 = \frac{m}{K} \cdot \left(\frac{1}{\vartheta_1} - \frac{1}{\vartheta_2} \right)$$

Nun ist die Wärmemenge q proportional $(w_1 - w_2)$.

B. Kritische Bemerkungen über die Abkühlungskurven.

Enthält nun die Substanz viel Wasser adsorbiert, so muß man jedenfalls eine andere Verteilung der Schmelzwärme finden, wie bei einer Lösung. Man müßte also folgendermaßen vorgehen: Man nimmt die Gefrierkurve auf und zeichnet sie auf Koordinatenpapier ab. Da man nun in dem oberhalb Null gelegenen Teil dieser Kurve die spezifische Wärme der Substanz kennt, oder doch leicht bestimmen kann, so berechnet man nach der auf Seite 157 beschriebenen Methode, wieviel cm^2 des Koordinatenpapiers einer Kalorie entsprechen (den „Kaloriewert“), und wertet dann etwa die von Grad zu Grad während des Gefrierens abgegebenen Wärmemengen aus.

¹⁾ Von entektischen Punkten bei gefrierenden Pflanzengewebe zu sprechen, wie das Voigtländer tut, halte ich für recht gewagt. Ein Pflanzensaft enthält doch außer einer ganzen Anzahl verschiedener Salze eine erhebliche Menge schwer oder auch gar nicht kristallisierbarer Stoffe (Zucker, gelöste Eiweißstoffe). Wenn es nun schon große Schwierigkeiten bietet, die Verhältnisse beim Gefrieren eines so verwickelten Gemisches von Salzen zu übersehen, so macht die Anwesenheit der schwer kristallisierbaren Stoffe die Frage völlig unbeantwortbar. Sollte es nun trotzdem in einer Zelle zum Auskristallisieren von irgend einem, z. B. Doppelsalz, kommen, so kann natürlich die benachbarte Zelle zunächst ruhig in der Übersättigung beharren. Was beim Gefrieren also wahrscheinlich entstehen wird, ist eine Art Syrup, der auch noch den größten Teil der Salze gelöst enthält.

Leider aber ist dieser Weg nicht gangbar.

Geht man nämlich z. B. bei der von Müller-Thurgau bei Phajus grandifolius aufgenommenen Kurve in dieser Weise vor, so entsprechen bei dem Maßstabe, in dem ich die Kurve gezeichnet habe, etwa $2,75 \text{ cm}^2$ einer Kalorie. Da nun die Schmelzwärme des Wassers ca. 80 Kalorien beträgt, so würde, wenn das Objekt aus reinem Wasser bestände, beim Gefrieren $2,75 \cdot 80$, also 220 cm^2 erhalten werden. Zählt man aber die wirklich erhaltene Kurve aus, so erhält man vom Gefrierpunkte, der bei $-0,5^\circ$ liegt, bis zu einer Abkühlung auf -6° alles in allem nur 116 qcm. Danach wäre also höchstens die Hälfte des Wassers gefroren. Das ist nun einerseits auffallend wenig, andererseits läßt sich aus der Kurve selbst — wie, werden wir später sehen — ablesen, daß bei -6° unmöglich mehr sehr viel flüssiges Wasser vorhanden sein kann. Dasselbe auffallende Zahlenverhältnis zeigen in geringerem oder gar noch stärkerem Grade alle Kurven von Müller-Thurgau. Ich rechnete daraufhin alles mir zur Verfügung stehende Material in derselben Weise um, und fand bei meinen eigenen Kurven, die übrigens stets nur als Differenzmessungen durchgeführt wurden, ein noch weit auffallenderes Zahlenverhältnis. Nun kann ich aber bei meinen Kurven auf einem anderen Wege die Menge des ausgefrorenen Wassers annähernd bestimmen, und danach ist schon bei etwa -2° beinahe alles Wasser gefroren. Auch in destilliertem Wasser müßte nach einer von mir aufgenommenen Kurve etwa die Hälfte des Wassers adsorbiert sein.

Da also die Gefrierwärme des Wassers nicht zu klein sein kann, so muß folglich der für eine Kalorie ermittelte Wert falsch sein. Die Wärmekapazität des Wassers scheint größer zu sein, als sie in Wirklichkeit ist. Das führt uns auch sofort auf die Erklärung: Nämlich man darf nicht vergessen, daß außer dem untersuchten Gegenstand sich noch eine ganze Menge anderer Körper abkühlen: bei Müller-Thurgau das Thermometer, die Watteumwicklung usw., bei mir vor allen Dingen die große Glasmasse des Wärmewiderstandes. Da nun die untersuchten Objekte nun meistens recht kleine Massen haben, so macht sich die in den übrigen Gegenständen enthaltene Wärme bemerkbar und täuscht große Wärmekapazität vor. Hält aber das gefrierende Objekt seine Temperatur konstant, so wird in sehr kurzer Zeit sich auch in jedem Punkte, z. B. des Wärmewiderstandes, eine gewisse konstante Temperatur einstellen, sich also die Wärmekapazität des Wärmewiderstandes erst wieder beim Abkühlen geltend machen. So erklärt es sich vielleicht auch, daß die Temperatur des Objektes nach einer erheblichen Unterkühlung nur langsam die eigentliche Gefriertemperatur erreicht: Der Wärmewiderstand muß

erst wieder erwärmt werden. Auch daß der Fehler nach meinen Umrechnungen um so größer zu sein scheint, je geringer die Masse des Objektes ist, spricht für diese Erklärung.

Deswegen habe ich im folgenden nur Versuche verwandt, bei denen dasselbe Objekt in derselben Watteumhüllung gefriert, auftaut und vielleicht noch ein zweites Mal gefriert und die verschiedenen Kurven durch Umrechnung vergleichbar gemacht. Die von Mez und Apelt aufgenommenen Kurven lassen sich aus diesem Grunde nicht verwerten. Zum Beispiel zeigen die von Apelt aufgenommenen Kurven — es handelt sich um drei Erfrierkurven vorbehandelter Kartoffeln¹⁾ — in dem oberhalb Null gelegenen Teil schon eine derartige Verschiedenheit der Abkühlungsgeschwindigkeit, daß an eine Vergleichung der Kurven gar nicht zu denken ist.

Ebenso habe ich leider das große von Voigtländer aufgenommene Kurvenmaterial für meine Zwecke nicht verwenden können. Nun liegt dem Schreiber dieses die Absicht der polemisierenden Kritik fern; gerade aber der unermüdliche Fleiß und die überall deutlich sichtbare experimentelle Begabung, mit der Voigtländer sein großes Zahlenmaterial zusammengetragen hat, veranlassen mich, hier einige Ausstellungen zu machen, die vielleicht zur Verbesserung der Methodik solcher Versuche beitragen werden.

Voigtländer stellt sich die Aufgabe, zu entscheiden, ob scharf bei der dem Erfrierpunkt entsprechenden Temperatur eine Wärmetönung auftritt, und das Ergebnis seiner Versuche ist nach seiner Ansicht ein negatives. Nun ist es ein großes Verdienst von Voigtländer, daß er an anderer Stelle seiner Arbeit über jeden Zweifel hinaus sicherstellt, daß tatsächlich bei Abkühlung der gefrierenden Objekte auf eine ganz bestimmte Temperatur der Tod eintritt. Da das ein in der Objektwelt geschehender — ein physikalischer Vorgang ist, dem irgend eine Veränderung des Versuchsobjektes entsprechen muß, so muß dem mit Notwendigkeit irgend eine Wärmetönung entsprechen. Über deren Betrag und Vorzeichen läßt sich aber zunächst gar nichts angeben.

Muß nun diese Wärmemenge irgendwie einen erheblichen Betrag haben? Das ist keineswegs notwendig. Denn, wie ich gezeigt zu haben hoffe, passiert am Todespunkt ein für das Leben wichtiges Kolloid des Zellinhalts einen Irreversibilitätspunkt; dessen Menge kann aber gegenüber der Masse des übrigen Zellinhaltes sehr klein sein.

Die Summanden, aus denen sich diese am Irreversibilitätspunkt zu erwartende Wärmemenge zusammensetzt, sind nun zwei: Nämlich eine

¹⁾ Vgl. Seite 233 des IX. Bandes von Cohns Beiträgen zur Biologie der Pflanzen.

Wärmetönung, die der Zustandsänderung des Kolloids entspricht, dann aber verkleinert sich dabei das Adsorptionsvermögen des Kolloides, eine gewisse Menge Wasser wird frei und dessen Gefrierwärme tritt auf. Über den Betrag von Wärmetönungen, die Zustandsänderungen von Kolloiden begleiten, wissen wir zurzeit wenig. Sie können unter Umständen recht erheblich sein (z. B. beim Verglimmen von Chromhydroxyd). Ich will aber der Einfachheit halber annehmen, daß die durch die Veränderung des Kolloides entstehende Wärme klein gegenüber der Schmelzwärme des freiwerdenden Wassers ist.

Muß nun diese Schmelzwärme des freiwerdenden Wassers genau am Todespunkte auftreten? Theoretisch wahrscheinlich doch nicht: denn, damit der Tod eintritt, muß ja das Wasser schon entzogen, das Kolloid schon vertrocknet sein. Außerdem ist aus experimentellen Gründen nicht zu erwarten, daß diese Wärme scharf an einem ganz bestimmten Punkte auftritt. Die Wärme tritt nicht mit einem Schlage auf, weil solche Zustandsänderungen Zeit brauchen. Zum Beispiel zeigt sich der eutektische Punkt einer verdünnten Kochsalzlösung nicht als ein scharfer Knick, sondern als eine wellenförmige, sich über ein erhebliches Temperaturintervall erstreckende Ausbiegung in der Kurve an (vgl. Fig. 22). Aber selbst wenn die Zustandsänderung unendlich schnell verlief, so wäre dazu noch nötig, daß tatsächlich alle Punkte des Objektes gleichzeitig die Todestemperatur passieren. Nun wird aber natürlich das Objekt außen stets kälter sein als innen, wo sich das Thermoelement befindet.

Da nun nach Abgabe des beim Irreversibilitätspunkte freiwerdenden Wassers das Kolloid das übrige Wasser wieder zäh festhält, so wird wenig Gefrierwärme freiwerden, sich das Kolloid also relativ schnell abkühlen. Nach alledem ist bestenfalls zu erwarten, daß man in der Gegend des Todespunktes eine starke Veränderung in der Abkühlungsgeschwindigkeit findet, indem die Abkühlungsgeschwindigkeit nach Passieren des Todespunktes relativ groß wird. Selbst das kann man nur dann erwarten, wenn beim Todespunkte tatsächlich die Hauptmenge des Protoplasmas erfriert. Ist das aber nicht der Fall, so kann natürlich durch die Wasserabgabe der übrigen Plasmakolloide, oder des Zellsaftes oder auch durch andere Irreversibilitätspunkte die ganze Erscheinung vollkommen verwischt werden. Nach Voigtländers Versuchen spielen solche Störungen unzweifelhaft eine große Rolle.

Prüft man nun Voigtländers Material in dieser Weise durch, so zeigt sich in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle, daß tatsächlich in der Nähe des Todespunktes die Abkühlungsgeschwindigkeit sehr stark zunimmt, häufig in ganz überraschend scharfer Lage. Ein befriedigend klares Bild kann man aber leider nicht gewinnen; dazu

sind die Kurven, die mit ein und demselben Versuchsobjekt aufgenommen sind, viel zu sehr verschieden. Ich drucke, um das zu illustrieren, eine willkürlich ausgewählte Tabelle von Voigtländer ab, bei der ich nur die Veränderung gemacht habe, daß ich nicht wie Voigtländer nur die Minima, sondern auch die Maxima habe fett drucken lassen. Wir wollen uns zunächst mit der rechts von dem Strich, der die Lage des Todespunktes anzeigt, gelegenen Seite der Tabelle beschäftigen. Hier sollten die Zahlen leichter übersehbar sein, denn in der Gegend von -18° dürfte doch wohl schon die Hauptmenge des Wassers ausgefroren sein. Man findet aber hier bei den Kurven Nr. 6, 10, 11 und 13 bei etwa -20° ein ausgeprägtes Minimum der Abkühlungsgeschwindigkeit, während bei 2 und 7 nichts davon zu bemerken ist. Schon in der Anzahl der Minima sind die Kurven ganz verschieden, z. B. haben 1, 2, 6, 9, 10 und 12 3 Minima; die übrigen bis auf 13 nur 2, während man bei 13 sogar 4 Minima herauszählen kann. Auch die Lagen der Minima sind nun ganz verschieden. Zum Beispiel liegen bei 1 und 2 je 3 Minima links vom Todespunkt, bei 6, 9 und 10 2 links davon und 1 auf der rechten Seite. Alles in allem kommen mindestens also 4 verschiedene Minima zur Beobachtung.

Stellt man sich nun auf den Standpunkt, daß Kurven, die in dem rechts vom Todespunkt gelegenen, relativ indifferenten Teile, sehr nahe die gleiche Abkühlungsgeschwindigkeit zeigen, auch in dem links davon gelegenen Teil eine auch nur angenäherte Ähnlichkeit des Verlaufes aufweisen müssen, so wird man auch in dieser Erwartung getäuscht sein, wie dem Leser ein Vergleich der Kurven 2, 4 und 5 zeigen wird. Nur eine Regelmäßigkeit lassen die Kurven erkennen: vergleicht man nämlich die unmittelbar links mit den unmittelbar rechts vom Strich gelegenen Werten, so zeigt sich, wie vorher gesagt, deutlich, daß die Werte bei allen Kurven von links nach rechts rapide kleiner werden, daß die Abkühlungsgeschwindigkeit in der Nähe des Todespunktes zunimmt. Dasselbe wird man, wenn man das übrige Material durchsieht, bei dem überwiegenden Teil der Versuche wiederfinden, bei sehr vielen noch viel deutlicher als auf der abgedruckten Tabelle. Doch würde es mir wenig rätlich scheinen, mich auf so ungleichmäßiges Material zu stützen.

Wie ist nun diese Ungleichmäßigkeit zu erklären? Sie kann ja zum Teil im Objekt begründet sein. Hier ist es nun sehr zu bedauern, daß Voigtländer das Vertrauen in die Verlässlichkeit seiner Messung nicht dadurch stärkt, daß er durch Mitteilung von Kontrollmessungen mit Wasser oder wässrigen Lösungen den Nachweis erbringt, daß seine Apparatur wirklich verlässlich arbeitet.

Und diese Methodik ist zweifellos nicht überall ganz einwandfrei. Zunächst arbeitet Voigtländer mit einer ungeheuren Empfindlichkeit

des Galvanometers. Einen Vorteil bringt das nicht mit sich, denn die Messungen enthalten, wie ich an anderer Stelle gezeigt habe, beträchtliche Fehlerquellen, denen gegenüber Fehler in der Temperaturmessung kaum in Betracht kommen. Diese allzu große Empfindlichkeit hat sogar ihre sehr bedenkliche Seite, denn ein so empfindliches System ist natürlich Störungen aller Art im allerhöchsten Grade ausgesetzt. Um das zu illustrieren, mag hier mitgeteilt werden, daß bei den Vorversuchen von Jensen und mir das auf Hochempfindlichkeit geschaltete Galvanometer schon einen Ausschlag von über 10 Skalenteilen zeigte, wenn man die allerdings ziemlich langen Verbindungsdrähte im Magnetfeld der Erde schaukeln ließ.

Nun würde eine solche Überempfindlichkeit bei der Aufnahme einer Abkühlungskurve verhältnismäßig wenig geschadet haben; bei der Ausführung einer sehr großen Anzahl von Messungen liegt ja die Wahrscheinlichkeit vor, daß sich Störungen im entgegengesetzten Sinne wiederholen werden — liegt der eine Punkt zu niedrig, so liegt der darauffolgende vielleicht schon zu hoch. Man erhält so zwar keine schöne gleichmäßige Kurve, kann aber im allgemeinen den wahren Verlauf der Kurve mit Sicherheit bestimmen. Bei der Bestimmung der Abkühlungsgeschwindigkeit aber, wobei immer nur ein Paar zusammengehöriger Werte benutzt wird, ist die Gelegenheit für eine solche Kompensation nicht gegeben. Jeder Leser, der die Voigtländerschen Tabellen, besonders in ihrem rechts vom Todespunkt gelegenen Teil, genau durchsieht, wird den Eindruck gewinnen, daß viele Schwankungen der Werte der Abkühlungsgeschwindigkeit im Betrage von 20 oder auch noch mehr Prozent hierauf zurückzuführen sein dürften.

Weiter ist es sehr bedauerlich, daß Voigtländer zwar die genauesten Angaben darüber macht, wie die Temperatur der Bäder für das zweite Thermoelement (die Kühlzelle) konstant gehalten wird, sich aber, soweit wie ich gefunden habe, über die Konstanz und Temperatur des Kältebades, in dem sich das Objekt abkühlt, gar nicht weiter ausläßt. Bei der eminenten Bedeutung von ϑ , der Differenz zwischen Bad und Körpertemperatur, auf die ich auf Seite 155 hingewiesen habe, für das Verständnis der Versuche, muß jede solche Gefrierkurve von genauen Angaben über die Temperatur des Kältebades begleitet werden. Wie leicht können durch mangelhaftes Rühren oder durch Konvektionsströmungen Störungen in der Abkühlungsgeschwindigkeit eintreten, die das ganze Bild der Abkühlungskurve vollständig verändern.

C. Die Erfrierkurven von Müller-Thurgau.

Am einfachsten ist die Kurve eines gefrierenden und auftauenden Kohlrahiblattes. Die ●●●● bezeichnen die Kurve, die das Kohlrahi-

einer Abkühlung bis auf $-4,0^{\circ}$ nur 92 Wärmeeinheiten entwickelt werden, so wäre danach noch etwa die Hälfte des Wassers flüssig. Der Gefrierpunkt liegt bei $-1,2^{\circ}$, die Kurve erreicht ihn aber erst nach einer Unterkühlung um -3° . Die Hauptmenge der Wärme wird zwischen -1° und -2° entwickelt, nämlich 62 Wärmeeinheiten. Doch muß auch bei -2° noch eine erhebliche Menge flüssigen Wassers vorhanden sein, da zwischen -2° und -3° noch 19 und zwischen -3° und -4° noch 11 Wärmeeinheiten entwickelt werden. Da nämlich der — etwa ums Doppelte zu hohe — Wert für eine Kalorie ca. 2 Wärmeeinheiten beträgt, so dürfte, wenn alles gefroren wäre, die bei der Abkühlung um einen Grad abgegebene Wärmemenge nur allerhöchstens 1 betragen. Wenn die Substanz wie eine Lösung gefrore, so sollten die in den Intervallen von $-1,2^{\circ}$ bis 2° , 2° bis 3° , 3° bis 4° entwickelten Wärmemengen sich verhalten wie die Differenzen der reziproken Werte der Temperaturen, also wie 0,333 zu 0,166 zu 0,0833. Die Zahlen 62, 19 und 11 stehen aber nicht im Verhältnis $1 : \frac{1}{2} : \frac{1}{4}$ zueinander.

Die $\circ \circ \circ \circ$ bezeichnen die Auftaukurve. Die $\circ - \circ - \circ -$ Kurve ist die Badtemperatur. Da diesmal die Badtemperatur über der Temperatur des Objekts liegt, so steigt die Temperatur, wenn die Kurve fällt. Berechnet man nun abermals den Wert für eine Kalorie, so findet man aus den Werten über $+1^{\circ}$ ziemlich nahe denselben Kalorienwert wie vorhin: $1,8^{\circ}$ $2,0^{\circ}$ $2,3^{\circ}$ $2,6^{\circ}$ $2,2^{\circ}$ usw. Wenn man sich aber der Temperatur Null nähert, wächst die Wärmemenge, deren man zur Erwärmung um einen Grad bedarf, rapide. (Von $1,8$ auf 4 und dann unmittelbar am Nullpunkt auf 10 .) Wahrscheinlich befindet sich in etwas entfernteren Gegenden des Blattes noch etwas Eis, das erst jetzt auftaut. Aus der Auftaukurve ist auch ersichtlich, daß das Blatt schon bei ziemlich niederen Temperaturen aufzutauen beginnt. Nämlich, um von -4° bis auf -3° erwärmt zu werden, braucht das Blatt 5 Wärmeeinheiten, von -3° bis -2° 13, von -2° bis -1° 31 W.E., und von -1° bis 0° 30 W.E. Während also die Gefrierwärme bis -4° 92 W.E. beträgt, reichen zum Auftauen bis auf 0° 79 W.E. aus. Zum Auftauen ist also erheblich weniger Wärme nötig als zum Gefrieren. Ebenso sind, wie dem Leser ein Vergleich zeigen wird, die Wärmemengen, die man der Substanz entziehen muß, um sie während des Gefrierens um 1° abzukühlen, erheblich größer, als die zum Erwärmen um einen Grad ausreichenden. Da wir dasselbe Verhältnis bei allen Kurven wiederfinden werden, so wird dadurch die theoretische Vorhersage, daß die Gefrierwärme von der Schmelzwärme verschieden sein muß, experimentell bestätigt.

Diese Differenz kann nun auf zwei Weisen entstehen: nämlich daß entweder beim Gefrieren oder aber beim Auftauen ein Vorgang

Differenz entsteht also durch die Verschiedenheit der unter -2° gelegenen Werte.

Daß aber auch beim Auftauen exotherme Prozesse verlaufen können, sehen wir an der Kurve von *Tradescantia mexicana* (Fig. 19). Hier fällt die spezifische Wärme σ nach Überschreitung des Nullpunkts beim

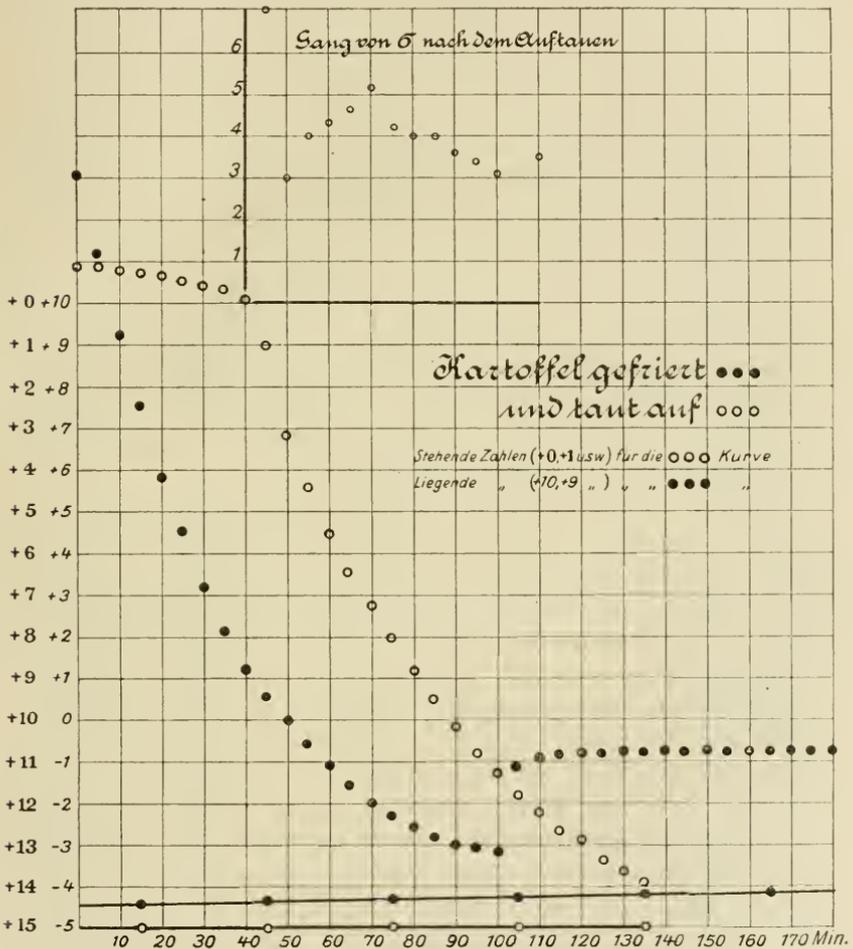


Fig. 20.

Auftauen nicht ziemlich rasch auf den Kaloriewert der Gefrierkurve wie vorhin. Sie bleibt vielmehr, wie die in der Ecke gezeichnete kleine Kurve zeigt, eine ganze Zeit auf einem etwa 10 mal größeren Werte stehen, um dann ziemlich sprunghaft auf den berechneten Wert zu fallen. Im übrigen zeigt die Kurve dieselben Eigenschaften wie die des Kohlrabiblatts. Der Kaloriewert ist diesmal 3,4, die Gefrier-

wärme beim Gefrieren bis auf -5° beträgt 181 Wärmeeinheiten. Von diesen werden 133 zwischen $-1,2^{\circ}$ und -2° , 27 zwischen -2° und -3° , 14 zwischen -3° und -4° , 6,6 zwischen -4° und -5° abgegeben. Zum Erwärmen werden gebraucht von -5° bis -4° 4 W.E., von dort bis auf -3° 6,5 W.E., von -3° bis -2° 10 W.E., von dort bis auf den Nullpunkt 86 W.E., im ganzen 128 Einheiten. Der sehr große Unterschied zwischen 180 und 130 erklärt sich vielleicht durch das Vorhandensein zweier exothermer Vorgänge, von denen der eine beim Gefrieren, der andere beim Auftauen verläuft.

Auch die Kartoffel (Fig. 20) zeigt eine schwache, aber deutliche Wärmeentwicklung nach Beendigung des Auftauens. Die spezifische Wärme fällt zunächst schroff ab, steigt dann aber wieder nicht ganz auf das Doppelte ihres berechneten Wertes von etwa $3,5^{\circ}$, um dann etwa auf diesen zu sinken. Die Kurve erstreckt sich diesmal nicht bis zur Beendigung des Gefrierens. Es werden der Kartoffel nur 37 Wärmeeinheiten entzogen, während zum Auftauen 60 nötig sind. Diese Zahlen dürften aber falsch sein. Im Kältebade befindet sich das Thermometer an der wärmsten Stelle der Kartoffel, im Wärmebade aber an der kältesten. Ehe nun beim Einsetzen in das Wärmebad sich wieder ein normales Gefälle eingestellt hat, vergeht viel Zeit, die das Flächenstück zu groß erscheinen läßt.

Recht interessant sind die Kurven eines Bohnenblattes, weil diesmal Müller auch die zweite Gefrierkurve aufgenommen hat. Die Kurve ist doppelt aufgenommen worden, und zwar zeigen die beiden Kurven vollkommene Übereinstimmung bezüglich ihres qualitativen Verhaltens, während sie in den Zahlen erheblich voneinander abweichen. Wiedergegeben ist nur eine davon (I) (Fig. 21). Dieser Mangel an Übereinstimmung hat seinen Grund vielleicht in einem Versuchsfehler — nämlich bei der Kurve, die die auffallend großen Wertdifferenzen liefert, zeigt sich nach Beendigung des Auftauens plötzlich, daß der Kaloriewert erheblich kleiner geworden ist. Vielleicht hat sich also die Watteumwicklung gelockert. Die diese Störung enthaltende Kurve wird als II bezeichnet und ihre Zahlenwerte in Klammern gesetzt. Der Kaloriewert bei der Gefrierkurve beträgt 2,7 (4,4). Zum Gefrieren bis -4° (-6°) werden gebraucht im ganzen 93 (138) W.E. Davon von $-0,8^{\circ}$ bis -2° 69 (82) W.E., von -2° bis -3° 15 (24) W.E., von -3° bis -4° 9 (13) W.E. (von -4° bis -5° 10 W.E., von -5° bis -6° 9 W.E.). Zum Auftauen werden gebraucht im ganzen 75,3 (81) W.E. Davon von (-6° bis -5° 4 W.E.,) von (-5° bis -4° 4 W.E.,) von -4° bis -3° 6,5 (6) W.E., von -3° bis -2° 9 (8) W.E., von -2° bis -1° 23 (15) W.E., von -1° bis -0° 31 (44) W.E. Nach dem Auftauen sinkt die spezifische Wärme schnell auf einen konstanten niedrigen Wert. Es verläuft also

kein wärmeliefernder Vorgang. Beim abermaligen Gefrieren enthält die Kurve nur 86 (106) Wärmeeinheiten gegen 93 (138) beim ersten Gefrieren, die sich verteilen von $-0,4^{\circ}$ bis -2° 72 (75) W.E., von -2° bis -3° 9 (12) W.E., von -3° bis -4° 5,3 (7) W.E. Von -4° bis -5° 6,6 W.E., von -5° bis -6° (6) W.E. Ein durch Gefrieren abgetötetes Bohnenblatt ist also bedeutend energieärmer wie ein frisches. Damit wird unsere dritte Schlußfolgerung bestätigt, nämlich, daß die zweite Gefrierkurve von der ersten verschieden sein muß.

Als Schlußergebnis dieses von dem Erfrieren der Pflanzen handelnden Teils möchte ich hinstellen, daß der Nachweis geführt worden ist, daß sich erfrierende Pflanzen verhalten, als wären sie ein van Bemmelsches Gel.

D. Über das Erfrieren von Tieren.

Über das Erfrieren von Tieren werde ich mich kurz fassen können. Zunächst scheint die Literatur darüber lange nicht so reich zu sein, wie über das Erfrieren von Pflanzen. Selbst in dem durch seine reichen Literaturangaben bekannten Lehrbuch von Bunge¹⁾ findet man nur sehr wenige Arbeiten darüber zitiert, darunter sind fast gar keine modernen.

Es ist ja auch schwer, mit niedrigen Tieren Versuche anzustellen. Die Versuchsobjekte sind in der Regel klein, so daß es schon nicht leicht ist, ihre Temperatur zu messen. Immerhin würde sich diese Schwierigkeit durch geeignete Auswahl der Versuchsobjekte wohl überwinden lassen. Aber es tritt dafür eine neue auf. Nämlich schon ein Wurm ist ein recht verwickeltes Wesen und enthält sehr viele verschiedene Arten von Zellen. Nun haben wir aber gesehen, daß jede Zelle, ja wahrscheinlicher noch ein jeder Bestandteil einer Zelle, seinen eigenen Todespunkt hat. Man muß also für die Versuche nur mit Organen arbeiten, die aus größeren Mengen gleicher Zellen bestehen. Arbeitet man aber mit einem ganzen Tiere, so bleibt man natürlich vollkommen im Unklaren darüber, welches seiner Körperkolloide gestorben ist und dadurch den ganzen Organismus desorganisiert hat.

Besonders ungeeignet als Versuchstiere sind Insekten, da bei ihnen alle diese Bedenken zutreffen, wozu noch kommt, daß sie imstande sind, durch chemische Reaktionen nicht unerhebliche Mengen von Wärme zu entwickeln, z. B. bei heftigen Bewegungen. Die Resultate von Messungen nach der kalorischen Methode wären daher bei ihnen wohl ziemlich illusorisch. So erschien es mir von vornherein

¹⁾ Leipzig 1905, Band I, S. 305 u. 310—312.

ausgeschlossen, daß ich das Erfrieren von Insekten theoretisch würde behandeln können, und ich habe mich damit begnügt, das Literaturverzeichnis der ersten Arbeit von Bachmetjew meinem eigenen Literaturverzeichnis einzureihen, um vielleicht einem Leser, der sich hierfür interessiert, die Orientierung etwas zu erleichtern.

Auch sind Tiere in dieser Beziehung nicht so interessant wie Pflanzen. Ihre Kältewiderstandsfähigkeit ist nur klein. Nur wenige von ihnen, von den Mollusken aufwärts (H. Rodel), dürften auch nur -10° ertragen. Wenn Pictet berichtet, daß Fische und Schlangen, in einen Eisblock eingefroren, Temperaturen von -15° ertragen hätten, dagegen durch -20° getötet wurden, so dürfte die Vermutung naheliegen, daß innerhalb der Tiere keine so niedrige Temperatur geherrscht hat. Es ist auch selbstverständlich, daß Tiere keiner so großen Beständigkeit bedürfen wie Pflanzen, denn sie werden ihre große Beweglichkeit benutzen, um sich der Einwirkung ungünstiger äußerer Bedingung zu entziehen, indem sie sich z. B. an gut gegen Kälte geschützte Orte verkriechen und dort überwintern. So liefern uns denn die Versuche lange nicht so reichhaltiges Material, um unsere theoretischen Anschauungen daran prüfen zu können. Wir werden aber ausreichendes Material zusammentragen können, um zu beweisen, daß die beim Gefrieren eines Tieres verlaufenden Vorgänge im wesentlichen identisch mit denen sein dürften, die in einer Pflanze unter gleichen Umständen vor sich gehen.

Zunächst finden wir wieder auch bei den Insekten einen scharfen Todespunkt, wie Bachmetjews Versuche zeigen. Nun ist aber die Aufmerksamkeit dieses Forschers durch die Unterkühlungserscheinungen so gefesselt worden, daß er für alles andere blind geworden ist. An das Studium des Unterkühlungsphänomens ist nach meiner Ansicht überhaupt viel Mühe nutzlos verschwendet worden, denn es handelt sich hier ja dabei um einen Metastabilitätszustand, der sich also früher oder später von selber aufheben muß (Voigtländer). Nun ist aber, wie wir wissen, die Neigung des unterkühlten Wassers zur Kristallisation sehr groß, es läßt sich nicht, wie z. B. Glycerin, fast unbegrenzt lange in unterkühltem Zustande aufheben. Diese starke Neigung zur Kristallisation behält das Wasser auch in tierischen oder pflanzlichen Geweben, wie aus der ganzen Literatur unzweifelhaft hervorgeht. Bachmetjew konnte sich nun angenscheinlich die Tatsache, daß ein bestimmtes Insekt erst z. B. bei -7° erfriert, — einer Temperatur, bei der ja der größte Teil seines Wassers längst ausgefroren sein sollte — nicht recht erklären. Er nahm also an, daß die Todestemperatur mit der Unterkühlung in einem Zusammenhang stünde, und zwar, daß der Tod dann eintrete, wenn das gefrierende Insekt wieder auf die Temperatur gebracht wird, bei der sich früher

die Überkältung aufgehoben hat. Da nun Insekten im allgemeinen nicht sehr kältebeständig sind und sich ganz gut um einige Grade unterkühlen lassen, so ist es auch ganz verständlich, daß tatsächlich der Todespunkt dem Kristallisationspunkt nahe liegt. Ein theoretischer Zusammenhang zwischen beiden besteht aber nicht, und auch Bachmetjew kann keinen dafür angeben.

Recht interessant sind hier auch die Versuche von E. Fischer. Danach scheinen die Insektenpuppen wieder frostbeständiger zu sein als die ausgewachsenen Insekten, denn viele davon scheinen Temperaturen bis -20° zu ertragen. Interessant ist nun, daß aus diesen Puppen Aberrationen entstehen. Es scheint danach, daß durch die Wirkung der Kälte gewisse, nicht sehr lebenswichtige Körperkolloide dauernd verändert werden.

Damit will ich die Insekten verlassen und wende mich nun zu den Frostmuskeln, über die man in der Literatur wieder eine Reihe von Angaben findet. Zunächst mag erwähnt werden, daß schon Ernst Brücke 1842 fand, daß Frostmuskeln schon durch eine geringe Abkühlung unter den Gefrierpunkt getötet werden. Nähere Angaben finden sich dann bei Du Bois-Reymond:

„Einen ebenso verderblichen Einfluß auf den Muskelstrom als die Siedehitze übt ein solcher Kältegrad aus, daß die Muskeln totenstarr daraus hervorgehen. Läßt man einen Gastroknemius auf den Grund eines kleinen Reagensglases gleiten, in dem sich etwas Blutwasser oder Hühnereiweiß befindet, und stellt dieses mehrere Minuten lang in eine gute Frostmischung, so wird man, gleichviel, ob man den Muskel schnell oder langsam auftauen lasse, nur noch eine geringe Spur von Strom und gar keine von mechanischer Leistungsfähigkeit an ihm entdecken. Nicht immer erscheint dabei die Richtung des Stromes umgekehrt, es kommen aber auch Fälle vor, wo dies der Fall ist. Die Grenztemperatur, bis zu welcher ein einzelner Frostmuskel abgekühlt werden kann, ohne seine Lebenseigenschaften einzubüßen, weiß ich nicht mit Bestimmtheit anzugeben. Es dürfte -5° bis -6° unter Null sein.“

Auch an einer zweiten Stelle seiner Untersuchung über tierische Elektrizität, Bd. II, 132, findet sich mit voller Bestimmtheit die Angabe: „Wenn ich die Frösche mehrere Stunden bei einer Temperatur unter -5° ließ, fand ich stets ihre Muskeln völlig tot“.

Gänzlich widersprechende Angaben findet man dagegen bei Kühne. Sie sind sicher unrichtig. Ich gebe sie deswegen wieder, weil sie zeigen, wohin es führt, wenn man sich auf Schätzungen der Temperatur verläßt, anstatt die Temperatur im Muskel zu messen. Außerdem ist das Verhalten des aus dem gefrorenen Muskel herausfließenden Saftes für den Kolloidchemiker von allerhöchstem Interesse. Kühnes

Absicht war hauptsächlich, ein präparatives Verfahren zu finden, um diesen Saft in größeren Mengen zu gewinnen. Kühne schreibt darüber folgendes: „Bekanntlich gefriert ein Froschmuskel bei etwa -5° bis -7° zu einem festen Eisklumpen, ohne seine Erregbarkeit ganz zu verlieren. Nach dem Auftauen wird er wieder weich und durchsichtig, er kontrahiert sich auf hinlänglich kräftige Reize wieder und wird längere Zeit darauf nach vorherigem Verluste der Erregbarkeit totenstarr. Die Zeit des Eintrittes dieser Veränderung ist abhängig von der Temperatur, bei der der Muskel gefror, und von der Dauer der Abkühlung, so daß im allgemeinen der Muskel sehr rasch zugrunde geht, wenn man ihn lange bei sehr niedriger Temperatur hält. Für meine Zwecke habe ich es vorteilhaft gefunden, die Muskeln zwischen -7° und -10° etwa drei Stunden lang zu erhalten und dann erst zur Verarbeitung des Eises zu schreiten. Solche Muskeln bleiben nach dem Auftauen in einem auf 15° geheizten Zimmer durchschnittlich noch sechs Stunden erregbar, und es war deshalb vorauszusetzen, daß auch die darin enthaltene Flüssigkeit noch ihre normale Eigenschaft besitzen würde. Schneidet man die Muskeln der Unterschenkel von 8–12 durch Injektion mit 1% Kochsalzlösung von Blut gereinigten Wasserfröschen einzeln, ohne sie an ihren Oberflächen zu verletzen, herunter, so kann man sie zu einem kompakten Haufen vereinigt bei derselben Temperatur in etwa drei Stunden in einen zusammenhängenden festen Eisklotz verwandeln; derselbe wird in der Kälte zu einem schneeartigen Pulver gestoßen. Bringt man diesen Muskelschnee ins warme Zimmer, so taut er schon bei -3° zu einer syrupartigen, sehr trüben Flüssigkeit auf, welche einzelne Sehnenfasern und daneben noch einzelne größere Muskelstückchen enthält. Von diesen Verunreinigungen kann sie durch ein grobporiges Leinenfilter getrennt werden, das jedoch nur wenige Tropfen durchläßt und sich dann verstopft. Der letzte durchfallende Tropfen pflegt im Verhältnis zu den erst durchgedrungenen ziemlich klar zu sein; er besitzt eine gelbliche Farbe und verwandelt sich, wenn man ihn auf eine bis zur Zimmertemperatur erwärmte Porzellanplatte fallen läßt, augenblicklich in einen festen, ziemlich durchsichtigen Kuchen, der erst beim Aufheben von der Platte sich zu trüben beginnt. Die Masse im Leinenfilter läßt sich gießen wie eine zähe Flüssigkeit, beim Blasen auf ihre Oberfläche wirft sie Wellen, mit einem abgekühlten Glasstabe kann man Tropfen herausheben, die nur wenig Neigung zum Fadeziehen zeigen. Fällt ein Tropfen davon in Wasser von 0 Grad, so verwandelt er sich sofort in eine weiße undurchsichtige Kugel, die anfangs die Festigkeit des Kautschuks besitzt und erst nach längerer Zeit härter wird. In Salzsäure, wie in Natronlauge und in Kochsalz löst sich der gebildete Tropfen wieder auf. Die Flüssigkeit

reagiert zunächst alkalisch. Läßt man das mit der Flüssigkeit gefüllte Gefäß 2—3 Stunden im warmen Zimmer stehen, so wird der Inhalt fest. Die Erstarrung der Muskelflüssigkeit beginnt in den der Glaswand zunächst gelegenen Teilen und vorzugsweise an Stellen, die durch Staubteilchen verunreinigt sind. Hier bilden sich weiße Punkte, die allmählich an Größe zunehmen und zur Bildung gelatinöser Schollen an der Oberfläche führen. Nach vierstündigem Aufenthalte bei einer Temperatur von 15° reagiert die Masse in der Regel deutlich sauer. Zu dieser Zeit kann man auch beim Umkehren des Gefäßes geringe Mengen ausgepreßter dünner Flüssigkeit von schwacher Opalescenz gewinnen.“

Für den Biochemiker sind diese Angaben von Kühne deswegen von so großem Interesse, weil es sich ersichtlich um eine Ausfällung durch Konzentrationssteigerung der H-Ionen handelt. In Verbindung mit der von Haber¹⁾ entwickelten Theorie des Muskels dürfte das von Kühne beschriebene Phänomen zur Erklärung der Totenstarre erheblich beitragen.

Herrmann dagegen kann im allgemeinen Kühnes Angaben nicht bestätigen. Er scheint die Muskeln auf einem auf der Kältemischung schwimmenden Uhrglas gefrieren lassen zu haben: „Jeder Muskel, welcher durch und durch völlig hart gefroren war, wobei das Aussehen weiß und trübe wird, verfällt nach dem Auftauen einer beschleunigten Erstarrung. Der aufgetaute, noch nicht erstarrte Muskel besitzt bereits ein von dem gewöhnlichen verschiedenes Aussehen; er ist eigentümlich glasisg durchscheinend. Die Starre unterscheidet sich von der gewöhnlichen nur durch eine ganz ungewöhnliche Verkürzung und sehr reichliches Auftreten eines sehr sauren Serums; der Muskel schwimmt beinahe in seinem Saft.“

Ein Froschmuskel ist aber, wie Jensen und ich bei unseren Versuchen sahen, längst tot, ehe er totenstarr wird. Die Totenstarre scheint vielmehr ein sekundäres Phänomen zu sein, dessen Eintreten durch das Erfrieren beschleunigt wird. Sie hängt unzweifelhaft mit einer Konzentrationsänderung der H-Ionen zusammen, denn eben aufgetaute, zwar erfrorene, aber noch nicht totenstarre Muskeln zeigen nach Herrmann keine saure Reaktion.

Ich möchte da nun auf einige Versuche zu sprechen kommen, die ich in Gemeinschaft mit Prof. Jensen über die Bindung des Wassers im Froschmuskel angestellt habe. Wir haben nach der Differenzmethode mit Hintereinander-Aufnahmen und einem Kältebade von Äther und Kohlensäure gearbeitet. 500 Skalenteile der Galvano-

¹⁾ Haber und Klemensiewicz, Zeitschrift f. phys. Chemie, Bd. 67, S. 385 (1909).

meterskala entsprachen 78° . Da nun die von uns im Folgenden untersuchten Objekte mit physiologischer Kochsalzlösung isosmotisch sind, so empfahl es sich, zunächst deren Gefrierkurve aufzunehmen. Dies sollte nach der Theorie folgendermaßen aussehen:

Nach Eintritt des Gefrierens läuft die Kurve, während das Wasser ausfriert und der Rest immer konzentrierter an Kochsalz wird, zunächst eine Zeit lang der t-Achse fast parallel, um sich zuerst langsam, dann immer schneller von ihr zu entfernen, bis schließlich am kryohydratischen Punkte noch ein zweiter Gefrierpunkt, der der gesättigten Salzlösung, auftreten müßte. Die Kreuzkurve der Figur 22 zeigt das wirklich erhaltene Resultat: Während zwar im oberen Teile sich in der langsamen Trennung die theoretische Vorhersage bestätigt, so ist dagegen im unteren Teile nirgends ein kryohydratischer Punkt zu finden (Fig. 22).

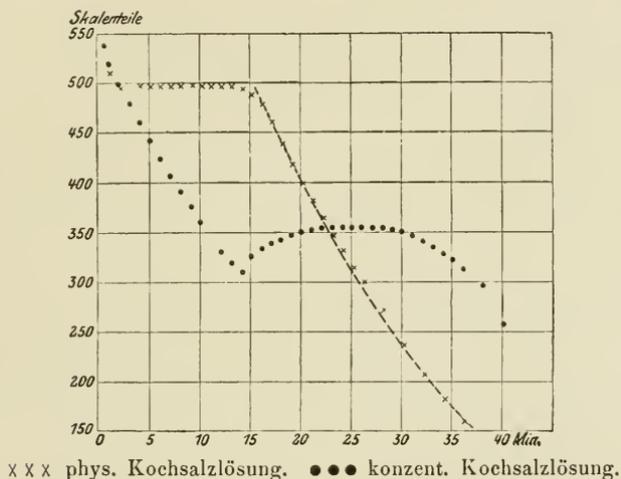


Fig. 22.

Um die Ursache dieser Erscheinung kennen zu lernen, nahmen wir die Kurve einer konzentrierten Kochsalzlösung auf, die Punktkurve der Figur 22. Zunächst tritt eine gewaltige Unterkühlung ein, die sich nur langsam wieder aufhebt, so daß die Kurve eine ganze Reihe von Minuten braucht, um wieder auf den kryohydratischen Punkt zu kommen.

Dieser langsame Aufstieg kann nun entweder dadurch verursacht sein, daß die Kristallisationsgeschwindigkeit des Eises unter den Umständen nicht sehr groß ist, oder dadurch, daß der Wärmewiderstand mit seiner großen Masse erst erwärmt werden muß. Jedenfalls tritt so nicht ein scharfer Knick, sondern nur eine Ausbiegung an der Gefrierkurve der physiologischen Kochsalzlösung auf. Interpoliert man

nämlich mit Hilfe eines verbiegbaren Kurvenlineals aus den oberen und unteren Werten eine gleichmäßig verlaufende Kurve, so sieht man, daß die nächsten, unter dem kryohydratischen Punkte gelegenen Werte zu weit nach rechts liegen, was auf einen wärmeliefernden Vorgang hindeutet.

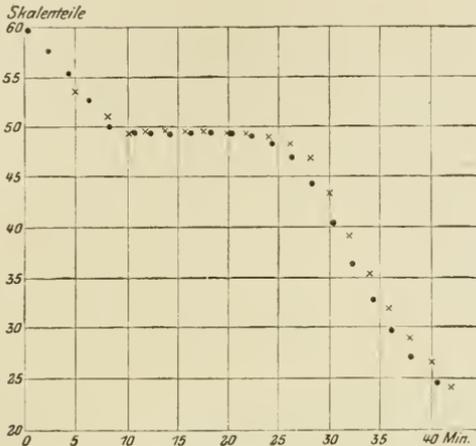
Nach diesen Versuchen gingen wir zur Untersuchung von Froschmuskeln über. Wir wollen aber hier zunächst einige Bemerkungen machen, die für alle folgenden Kurven gelten. Da man die Länge der horizontalen Stücke miteinander vergleichen will, so braucht man einen festen Punkt in der Gefrierkurve, nach dem man die koordinierten Zeiten zusammenlegen kann. Dafür ist natürlich der Beginn des Gefrierens besonders geeignet. Nun läßt er sich aber aus der Kurve nicht ohne weiteres feststellen. Jede Kurve zeigt eine geringe Unterkühlung.

Wir haben nämlich niemals starke Überkühlungen beobachten können, sondern nur solche von einigen Zehntel Graden. Die Ursache dafür möchte ich in Übereinstimmung mit Mez in der Verwendung von enganliegenden Glasröhrchen sehen. Die Wände werden nämlich beim Hineinziehen etwas feucht. Dieses an der Glaswand anhaftende Wasser gefriert natürlich bald, da es sich wegen seiner großen Oberfläche und kleinen Masse sehr schnell abkühlt. Durch die an der Wand fortwachsenden Kristalle wird der Muskel geimpft. Weil nun zuerst nur wenig Keime vorhanden sind, kann es trotzdem noch zu einer geringen Unterkühlung kommen. Wie wir mit einem frei auf der Thermonadel aufgespießten Muskel arbeiteten, fanden wir eine größere Unterkühlung. Außerdem liegt bei allen Kurven der der Unterkühlung unmittelbar vorhergehende Wert etwas zu hoch.

Der Fixpunkt muß also künstlich geschaffen werden. Wir haben ihn durch graphische Interpolation ermittelt, und zwar als den Schnittpunkt des horizontalen Stückes mit dem vor dem Gefrierpunkte gelegenen Teile. Man kann ganz ruhig mit dem Lineal interpolieren, da man ja zur Interpolation nur ein so kleines Temperaturintervall benützt, daß sich in diesem die treibende Kraft nicht erheblich ändert. Der unterste Wert muß aus dem Grunde, den wir vorhin angegeben haben, etwas oberhalb der Geraden liegen bleiben. Dieses Ineinanderdrücken ermöglicht es einem auch, sich ein Urteil über die Verlässlichkeit der Kurven zu bilden. Sie müssen in dem vor dem Gefrierpunkte liegenden Teile ineinanderlaufen. Kurven, bei denen das nicht der Fall ist, enthalten eine Störung, zeigen dann auch stets im weiteren Verlaufe eine Beeinflussung in gleichem Sinne und wurden daher als unbrauchbar verworfen.

Das Ergebnis eines solchen Versuches zeigt die Figur 23. Da die Kurven streng vergleichbar aufgenommen sind, so kann man ohne

irgendwelche Umrechnungen aus der Größe der von ihnen umschlossenen Flächenstücke sofort Schlüsse auf die beim Gefrieren entwickelten Wärmemengen ziehen. Die Kreuzkurve gibt die beim Gefrieren eines frischen Muskels erhaltenen Zahlen wieder. Einige Zeit nach dem Auftauen wurde der Muskel totenstarr und preßte eine erhebliche Menge Wasser aus. Nach diesem Befunde hätte man eine



Froschmuskel gefriert: x x x zum ersten, • • • zum zweiten Male.

Fig. 23.

Abnahme des im Kolloid gebundenen Wassers erwarten sollen. Zu unserem großen Erstaunen zeigte die gepunktete Kurve, die mit dem aufgetauten Muskel aufgenommen wurde, eine merkliche Verkürzung des horizontalen Stückes, also eine Abnahme des freien Wassers. Dafür hat sie aber in dem abfallenden Teile eine geringe Neigung, also einen Wärme liefernden Vorgang.

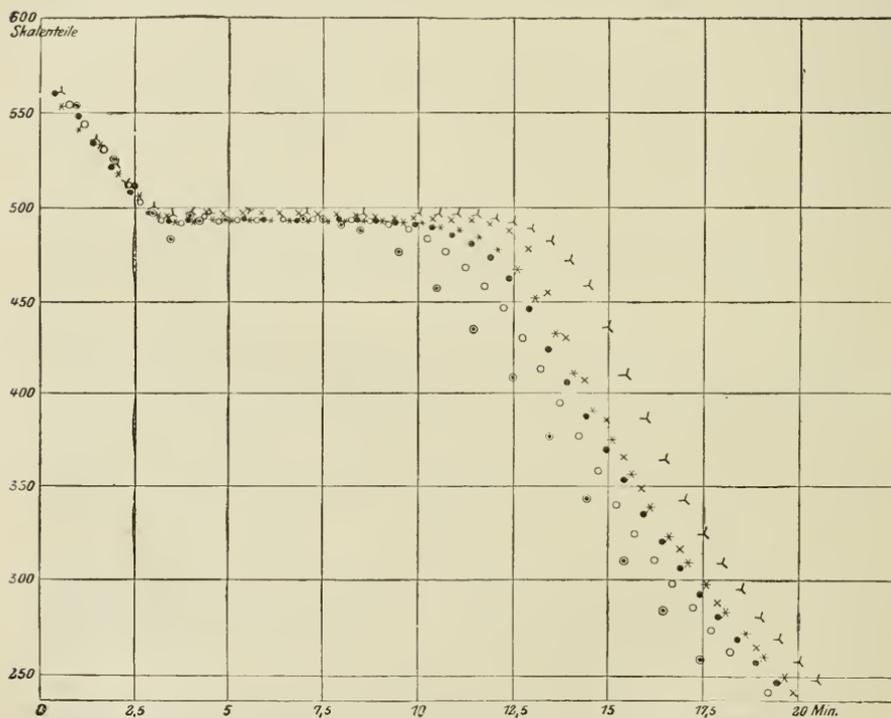
Das heißt: Nach oder bei der Abtötung durch das Gefrieren verläuft ein Vorgang, durch welchen das Wasser in eine nicht näher bekannte Bindung eintritt, aus der es erst bei tieferen Temperaturen wieder frei wird. Der Gesamtinhalt eines Muskels an Wärme nimmt bei der Abtötung ab.

Dieses unerwartete Ergebnis ließ uns zunächst an einen Fehler in der Methode denken, nach dem wir aber erfolglos gesucht haben. Dann überzeugten uns die in der folgenden Figur dargestellten Kurven in ihrer Gesamtheit von der Zweifellosigkeit der Tatsache, daß die Menge des gebundenen Wassers um so größer zu sein scheint, je mehr der Muskel durch die vorhergehende Behandlung geschädigt worden ist.

Um eine etwas größere sich abkühlende Masse zu haben, wurde diesmal mit einem Muskelbündel gearbeitet. Von den in der Figur

dargestellten Kurven ist die λ -Kurve die Kurve einer physiologischen Kochsalzlösung, dieser am nächsten steht die Kurve des frischen Muskels, wieder energieärmer und reicher an gebundenem Wasser scheinen die beiden Kurven mehrmals gefrorener Muskeln zu sein. Die Menge des ausgepreßten Wassers vermehrt sich nach jedem Ausfrieren.

Noch stärkere Abweichung zeigt die Kurve eines auf 100° gebrachten Muskels, bei welcher Operation aus dem bei der Totenstarre ausgepreßten Saft große Mengen von Eiweißstoffen ausfielen. Das Versuchsgefäß wurde dabei, durch ein übergeschobenes Glasrohr geschützt, in siedendes Wasser gesenkt. Bis hierin ist es stets derselbe Muskel, an dem hintereinander im Versuchsröhrchen die verschiedenen Operationen vorgenommen sind.



$\lambda \lambda \lambda$ phys. Kochsalzlösung. $x x x$ Frischmuskel. $\bullet \bullet \bullet$ derselbe zum zweiten, $* * *$ derselbe zum dritten Male. $\circ \circ \circ$ Muskel gekocht. $\odot \odot \odot$ Muskel zerkocht.

Fig. 24.

Die Kurve des zerkochten Muskels zeigt die allerstärkste Abweichung. Das Zerkochen konnte natürlich nicht im Versuchsröhrchen stattfinden, sondern wir mußten uns mit einem Kunstgriff helfen.

Beim Ausziehen des Glasrohres, aus dessen einer Seite das Versuchsröhrchen geformt wurde, wurde die andere Seite aufgehoben.

Aus dieser wurde nun das unten geschlossene und in seiner Form so weit wie möglich dem Versuchsröhrchen ähnliche Zerkochröhrchen hergestellt, in dieses der Gastroknemius des anderen Beines desselben Frosches hineingetan, oben zugeschmolzen und dann in eine bei etwa 115° siedende Chlorecaliumlösung für längere Zeit eingesenkt. Dann wurde der Boden in Eis gestellt und durch Erhitzen mit einer Flamme das im oberen Teile kondensierte Wasser nach unten hin abdestilliert. Das aufgesprengte Röhrchen wurde zum Versuche verwendet.

Die Kurven zeigen nun deutlich, daß, je kürzer das horizontale Stück ist, desto langsamer dann später der Abfall geschieht. Das kann man nur so deuten, daß das Wasser, das während des horizontalen Teiles nicht gefriert, dann später erst bei weiterem Abkühlen auskristallisiert. Man könnte also vielleicht denken, daß durch die Schädigung in steigendem Maße ein ziemlich junges Gel entsteht, das sein Wasser sehr energisch festhält. Diese Vermehrung des gebundenen Wassers scheint in allen Fällen einzutreten, in dem der Muskel abstirbt. Bringt man einen Muskel in eine Atmosphäre von Chloroform, so beginnt er sich zusammenzuziehen, er erscheint im Licht nicht mehr opak, sondern von innen her opalartig erhellt, als ob etwas in ihm ausfiele. Er preßt dann ebenfalls Wasser aus. Die Gefrierkurve eines durch Chloroform getöteten Muskels verläuft unterhalb der des frischen.

Wir haben nun die Frage zu entscheiden, ob der frische Muskel adsorbiertes Wasser enthält. Da sein horizontales Stück sehr bedeutend kürzer ist, wie das der physiologischen Kochsalzlösung, so sollte man denken, daß er tatsächlich eine erhebliche Menge adsorbierten Wassers enthalten müßte. Man darf aber nicht vergessen, daß der Muskel viel weniger Wasser im cm^3 enthält, als eine physiologische Kochsalzlösung. Da nun das spezifische Gewicht des Muskels 1,07 und sein Eiweißgehalt etwa 20% ist, so enthält er noch 0,86 Gramm Wasser pro cm^3 . Seine Gefrierwärme sollte also um 14% kleiner sein, als die eines cm^3 Wasser. Will man aber diesen Wert aus der Kurve ermitteln, so stößt man auf die Schwierigkeit, daß man ebensowenig einen scharfen Endpunkt des Gefrierens angeben kann, wie vorhin einen Anfangspunkt. Dem Punkte des Beginns des Gefrierens kommt aber theoretisch wenigstens eine Existenz zu. Von einem Punkte, bei dem das Gefrieren zu Ende ist, kann man aber natürlich überhaupt nicht reden. Immerhin aber kann man mit Hilfe eines verbiegbaren Kurvenlineals interpolieren, um wieviel die Länge des horizontalen Stückes der Kurve von dem einer physiologischen Kochsalzlösung verschieden ist. Dabei ist natürlich die Voraussetzung, daß die Kurve nicht gar zu sehr von der der physiologischen Kochsalzlösung abweicht und sich so mit dieser vergleichen

läßt. Interpoliert man auf diese Weise, so findet man, daß die Schmelzwärme des Muskels um 14% kleiner ist, als die der physiologischen Kochsalzlösung. Also genau um den berechneten Betrag. Danach kann die Menge des gebundenen Wassers unmöglich sehr groß sein. Etwas gebundenes Wasser aber muß der Muskel enthalten, denn seine Abkühlungskurve fällt ja weniger steil ab, als die des destillierten Wassers, obgleich auch hier die Neigungsdifferenz nur so gering ist, daß die Menge des gebundenen Wassers keineswegs über einige Prozente betragen kann. Ob nun dieser Widerspruch auf eine Ungenauigkeit der Versuche oder Extrapolationsmethode zu schieben ist, oder einer geringen Wärmeentwicklung an der Stelle, wo der starke Abfall stattfindet, zuzuschreiben ist, wage ich nicht zu entscheiden. Herr Prof. Jensen vertritt in seiner Veröffentlichung diesen Standpunkt, wobei er sich einer rechnerischen Extrapolationsmethode bedient. Gut damit übereinstimmen würde, daß, wie wir sehen werden, der Muskel gerade an der Stelle, wo die Kurve umbiegt, abstirbt, was natürlich von einer erheblichen Wärmetönung begleitet sein kann.

Ich will mich aber da des Urteils enthalten, weil nach meiner Ansicht die Versuche nicht genau genug sind. Nämlich, wie aus der Zeichnung ersichtlich, verläuft die Kurve des zum dritten Male gefrierenden Muskels etwas über der des zum zweiten Mal gefrierenden, während sie nach meiner Ansicht mit ihr zusammenfallen mußte. Die Abweichung dürfte also durch Versuchsfehler hervorgerufen sein und ist übrigens so klein, daß meine Schlüsse dadurch nicht beeinflusst werden. Jedenfalls dürfte die Menge des gebundenen Wassers im frischen Muskel viel kleiner sein, als in den von Müller-Thurgau untersuchten pflanzlichen Geweben.

Recht interessant in dieser Beziehung sind auch die Kurven von Hühnereiweiß, die die folgende Figur darstellt. Diesmal ist die energiereichste Kurve die des geronnenen Eiweißes, die noch energiereicher ist, als die der physiologischen Kochsalzlösung (Fig. 25).

Ich würde es für am wahrscheinlichsten halten, daß hier beim Gefrieren ein exothermer Vorgang verläuft, ähnlich dem, den wir vorhin beim Gefrieren von Gelatinegallerte kennen gelernt haben. Denn das Eiweiß verhält sich nach dem Auftauen wie gefrorene Gelatine. Wie aus einem Schwamme läuft das Wasser aus ihm heraus. Doch scheint das geronnene Eiweiß immerhin etwas Wasser adsorbiert zu halten, denn seine Kurve senkt sich langsamer als die der physiologischen Kochsalzlösung.

Dagegen kann das frische Hühnereiweiß keine erheblichen Mengen Wasser adsorbiert enthalten. Nämlich, da das Gewicht von 1 cm³ Hühnereiweiß 1,05 Gramm ist, und davon etwa 0,12 Gramm Eiweiß sind, so müßten sich im cm³ noch 0,93 Gramm Wasser befinden. Die

Gefrierwärme müßte also um 7% kleiner sein, als die der physiologischen Kochsalzlösung. Die Extrapolation ergibt nun 5%. Eine recht befriedigende Übereinstimmung. Nimmt man noch hinzu, daß im stark abfallenden Teile die Neigung der Eiweißkurve stärker ist als die der physiologischen Kochsalzlösung, so kommt man zu der Überzeugung, daß ungeronnenes Hühnereiweiß sicher keine erheblichen Mengen Wassers fest adsorbiert hat.

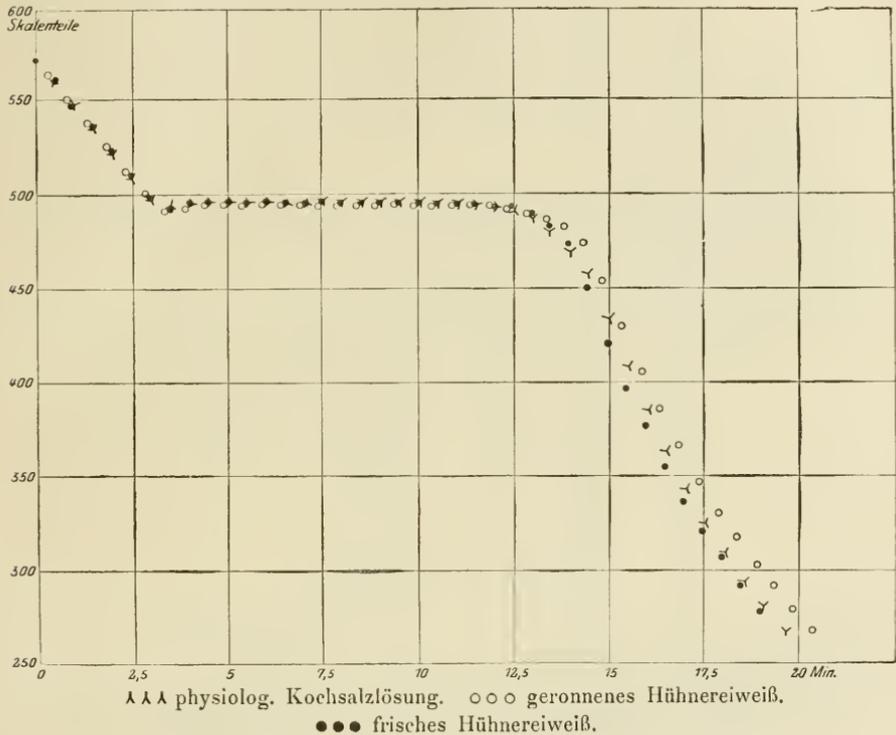


Fig. 25.

Wir kommen nun auf den Todespunkt der Frosmuskeln. Die Angaben, die man in der Literatur bei Kühne, Hermann und Du Bois-Reymond darüber findet, schwanken stark. Man würde aber etwa denken, daß der Todespunkt bei -6° liegt. Da aber keiner der Autoren die Temperatur in den Muskeln selber gemessen hat, so ist diesen Angaben kein großes Gewicht beizulegen.

Wir waren nun, im Gegensatz zu unseren Vorgängern, in der glücklichen Lage, nicht nur die Temperatur im Muskel selber messen zu können, sondern waren durch Messungen der Zeit auch über die Mengen des ausgefrorenen Wassers unterrichtet. Als Kriterium über Leben und Tod benützten wir die elektrische Reizbarkeit des Muskels. Ich gebe hier einige Versuche wieder.

Abkühlung bis gegen Ende des Ausfrierens von freiem Wasser. Besonders großer Gastrokcnemius von *Rana esculenta*, frisch; Hubhöhe 14,5 mm.

t	ϑ	t	ϑ	
5 ^h 15	620	5 ^h 22,5	529	Bad — 33°
23	521	23,5	512	
24	504	24,5	498	0 = 501,5
25	497	25,5	498	
26	498	26,5	498	
34	497	34,5	497	
35	496	35,5	495	

Hubhöhe 7 mm.

Derselbe Gastrokcnemius abgekühlt bis zum ersten Anfang des Ausfrierens von gebundenem Wasser.

t	ϑ	t	ϑ	
6 ^h 24	650	6 ^h 31	580	Bad — 33°
33	540	34	510	
34,5	501	35	497,5	0 = 502
35,5	498,8	36	498,8	
36,5	498,8	37	498,9	
38	499,0	38,5	499,0	
39	498,7	39,5	498,8	
43,5	498,0	44	497,8	
45	497,0	46	496,5	
47	495,0	48	493,0	
49	495,5	50	486,5	Muskel glasig.

Bei einem Rollenabstand von 30 mm unerregbar.

Der andere Gastrokcnemius desselben Tieres. Hubhöhe 35 mm.

t	ϑ	t	ϑ	
7 ^h 34	630	7 ^h 38,5	541	Bad — 29,5
39,5	523	40,5	507	0 = 502
41,5	499,0	42,5	499,2	
49,5	498,0	50,5	497,5	
51,5	496,8	52,5	495,8	
53,5	493,8	54,5	493,0	
55,4	491,0	56,5	489,0	
57,5	485,8			

Bei Rollenabstand 30 noch 8 mm Hubhöhe, dann bei Rollenabstand 60 nur 4 mm, bei nochmaliger Wiederholung 0.

Es zeigt sich also, daß fast alles Wasser aus dem Muskel ausfrieren kann, ohne daß er getötet oder ernstlich beschädigt wird. Die

Temperatur, bei der eine ernstliche Schädigung eintritt, dürfte bei etwa 490 Skalenteilen = $-1,5^{\circ}$ liegen, während eine Abkühlung auf 495 noch relativ unschädlich ist. Daß der Muskel des Versuchs A noch lebend in den Reizapparat gebracht werden kann, dann aber binnen kurzem der Desorganisation erliegt, dürfte nach den Versuchen von Molliard und Matruchot verständlich sein. Jedenfalls ist das Kolloid, das erfriert, schon ziemlich alt, denn sein Irreversibilitäts-punkt liegt bei einem hohen Wasserpartialdruck.

Ob der Muskel auch bei $-1,5^{\circ}$ erfrieren würde, wenn er sich in dem ganzen Tiere befindet, ist mir fraglich, denn es könnte ja durch chemische Reaktionen so viel Energie entwickelt werden, daß die Schädigung ausgeglichen wird. Dafür würden z. B. die Versuche von Heubel sprechen.

Als Ergebnis dieses von dem Erfrieren der Tiere handelnden Teiles würde ich hinstellen, daß die Tiere zwar weniger kältebeständig sind als die Pflanzen, beim Erfrieren aber sich ihnen so ähnlich verhalten, daß man wohl mit Recht annehmen kann, daß dieselben Erscheinungen, die wir dort als Ursachen des Gefriertodes nachgewiesen haben, auch hier in Erscheinung treten.

Breslau, Physikalisches Institut der Kgl. Universität.

Bei der Redaktion eingegangen 15. September.

Literaturverzeichnis.

Unter den im Texte angegebenen Autorennamen finden sich die Arbeiten aufgeführt, aus denen man Näheres über die gerade behandelte Frage ersehen kann. Der hinter dem Namen stehende eingeklammerte Buchstabe, z. B. J. Alexander (K), sagt aus, mit welchen Versuchsobjekten sich der Verfasser vorwiegend beschäftigt. Dabei bedeutet das eingeklammerte (K) Kolloide, das eingeklammerte (T) Tiere, das eingeklammerte (P) Pflanzen.

J. Alexander (K), Die Wirkungen von Kolloiden auf die Kristallisation. Ztschr. f. Kolloide, Bd. 4 (1909), S. 86.

Ambrohn (K), Über die mikroskop. Struktur der Gele. Verhandlungen der Sächs. Ges. d. Wiss. (Mathem.-Phys. Klasse) (1891) 43, 28.

Andriaschew (T), Handb. f. die rationelle Bienenzucht. Kijew 1890. (Russisch.)

A. Apelt (P), Neue Untersuchungen über den Kältetod der Kartoffel. Cohns Beiträge zur Biologie der Pflanzen. Bd. 9, S. 215.

Bachmetjew (T), Über die Temperatur der Insekten in Bulgarien. Zeitschr. f. wiss. Zoologie 66, 521 (1899); 67, 529 (1900.)

— Experimentelle Studien an Insekten. Bd. I (1901).

Becquerel (T), Traité de physique considérée dans ses rapports avec la chimie et les sciences naturelles. Paris. Tome II. p. 59, 60, 61 (1844).

- Van Bemmelen (K), Das Hydrogel und das kristallinische Hydrat des Kupferoxyds. Ztschr. f. anorg. Chem. Bd. 5, S. 466 (1894). — Das Wasser in den Kolloiden. Ztschr. f. anorg. Chem. Bd. 13, S. 233 (1897). — Die Adsorption. Ztschr. f. anorg. Chem. Bd. 18, S. 14 (1898). — Die Isotherme des kolloidalen Eisenoxyds bei 15°. Ztschr. f. anorg. Chem. Bd. 20, S. 185 (1899). — Die Adsorption von HCl und KCl aus wässriger Lösung. Ztschr. f. anorg. Chem. Bd. 23, S. 11 (1900). — Die Adsorption von Stoffen aus Lösungen. Anorg. Chem. Bd. 23, S. 321 (1900). — Die Einwirkung von höheren Temperaturen auf das Gewebe des Hydrogels d. Kieselsäure. Ztschr. f. anorg. Chem. Bd. 30, S. 365. — Adsorptionsverb. von Hydrogels. Ztschr. f. anorg. Chem. Bd. 36, S. 380 (1903).
- Berger (T), Mém. de la soc. de phys. et d'hist. nat. de Genève, VII (1836).
- Berthold (T), Neue Beobachtungen über die Temperaturen der kaltblütigen Tiere. Göttingen (1835).
- Bierkander (P), Abhandl. d. Königl. Schwed. Akad. 1878.
- Bobart (P), Philosoph. Transact. 165.
- O. Bobertag (K), C. Feist und H. W. Fischer, Über das Ausfrieren von Hydrosolen. Ber. d. Dtsch. chem. Ges. (1908) III. Bd., S. 3675.
- O. Bobertag u. H. W. Fischer, Über das Ausfrieren von Gelen. Ztschr. für Biochem. 18. (1909).
- Über die Kräfte zwischen Kolloid u. Flüssigkeit. Schles. Ges. f. vaterl. Kultur. Breslau 1909.
- Brandt (T), Darstellung u. Beschreibung der in der Arzneimittellehre in Betracht kommenden Tiere. Berlin 1832.
- Braun (P), Monatsber. d. Akad. d. Wiss. Berlin 1861.
- Bredig (K), Ztschr. f. angew. Chem. (1898) S. 945.
- Breyer (T), Ann. Soc. entomolog. belge. Tome IV. p. 92. 1860.
- Brown (P), Proceed. of the Royal Society (1897) Bd. 62, p. 160.
- E. Brücke (T), Über die Ursache der Totenstarre. Müllers Archiv. f. Anatomie u. Physiologie 1842, S. 178.
- G. Bruni (K), Über das Ausfrieren von Gallerten. Ber. d. Dtsch. chem. Ges. (1909), Bd. I, S. 563. Rendiconti d. Soc. Chim. di Roma 3, 1 (1905).
- Buehholtz (P), Unters. üb. d. Einfluß d. Temperaturen auf Bakterienvegetationen. Archiv f. experimentelle Pathol. u. Pharmakol. 4. Bd., pag. 159.
- Buffon (P), Observ. d. différents effets. Mém. de l'acad. roy. des sciences de Paris. A. 1737, p. 273—298.
- Bunge (T), Lehrbuch der Physiologie des Menschen. Aufl. II. Leipzig 1905. Bd. I, 310.
- Büsgen (P), Waldbäume 1897, p. 43.
- Büttschli (T), Ein Beitrag zur Kenntnis des Stoffwechsels, insbesondere der Respiration bei den Insekten. Archiv f. Anat. u. Physiol. u. wiss. Medizin von Reichert u. Du Bois-Reymond, p. 348 (1874).
- C. de Candolle (P), Archives des scienc. physiques et naturelles de Genève (1895) Bd. 33, p. 504.
- Caspary (P), Bot. Ztg. 1854, p. 665. — Bot. Ztg. 1855, p. 449. — Bot. Ztg. 1857, p. 329.
- J. Cavarret (P), Physique médicale de la chaleur produite par les êtres vivants. Paris 1855, p. 479.

- Charpentier (P), Bot. Ztg. (1843), p. 13.
- Chodat (P), Bulletin d. l'Herbier Boissier (1896) Bd. 4, p. 894.
- Cohn (P), Beiträge zur Biolog. d. Pflanzen, I. Bd. 2. Heft, pag. 213.
- Le Conte (P), Lond., Edinb. and Dubl. phil. mag. and journal of sc. 36. Jan. 1850.
- Dalmer (P), Über Eisbildung in d. Pflanzen mit Rücksicht auf die anatom. Beschaffenheit derselben. Flora 1895, Bd. 80, S. 436.
- John Davy (T), Ann. de physique et de chimie 33. Bd. p. 180 Bibliothèque univ. des sciences et des arts 1826.
- Decrosen (T), Isis 1845, p. 734.
- Derham (P), Mém. de l'Acad. Roy. des sciences. An. 1709.
- Detmer (P), Über die Zerstörung der Molekularstruktur der Pflanzenzellen. Bot Ztg. 44. 1886, p. 521.
- Dixon and Joly (P), The path of transpiration current. Annals of Botany Vol. 9, 1895, p. 403—420, ein Referat darüber in der Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie, Bd. 12, S. 408.
- Dölnhoff (T), Du Bois-Reymonds Archiv f. Physiol. 1872, p. 723.
- Dorfmeister (T), Über den Einfluß d. Temperaturen bei d. Erzeugung der Schmetterlingsvarietäten. Mitteil. d. natur. Vereins f. Steiermark, Jahrg. 1879, Graz 1880, p. 4.
- O. Drude (P), Handbuch der Pflanzengeographie, 1890, p. 24.
- Du Bois-Reymond (T), Untersuchungen über tierische Elektrizität. Bd. I. Berlin 1849, S. 180. Bd. II, Berlin 1850, S. 132.
- Duhamel (P), Observations des différents effets que produisent sur les végétaux les grandes gelées d'hiver et les petites gelées du printemps. Mém. de l'Acad. roy. des sciences de Paris A. 1737, S. 273—298. Phys. des arbres. Paris 1758 I. II. S. 343—353.
- Duméril (T), Ann. d. sc. nat. T. 17, p. 10, 1852.
- Dutrochet (T), Recherches sur la chaleur propre des êtres vivants à basse température. Ann. des sciences naturelles. Zoologie. II. Ser. 13. p. 5—58. Jan.-Juni 1840.
- Eberth (P), Untersuchungen aus dem patholog. Institut zu Zürich, II. Heft, 1874, pag. 37.
- Eidam (P), Die Einwirkung verschiedener Temperaturen und des Eintrocknens auf die Entwicklung von Bact. Termo Duj. Beitr. zur Biolog. d. Pflanz. I. Bd. 3. Heft, pag. 208.
- Erikson (P), Über die Förderung der Pilzkeimung durch Kälte. Cent. für Bakter. Abt. II. 4, 557.
- F. Escombe (P), Proceed. of the Royal Society 1897, Bd. 62, p. 160.
- Ewarth (P), Annals of Botany 1898, Bd. 12, p. 366 und p. 33.
- C. Feist, H. W. Fischer u. O. Bobertag (K), Über das Ausfrieren von Hydrosolen. Ber. d. Dtsch. chem. Ges. (1908) III. Bd., S. 3675.
- A. Fischer (P), Jahrbuch f. wiss. Botanik, Bd. 22, S. 158.
- A. Fischer (P), Beiträge zur Physiologie der Holzgewächse. Pringsheims Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 22 (1891), S. 73.
- E. Fischer (T), Transmutation der Schmetterlinge infolge Temperaturänderungen. Experimentelle Untersuch. über die Phylogense d. Vanessen. Berlin, 36 pag. 1895. — Neue experiment. Unters. u. Betrachtungen über d. Wesen und die Beiträge zur Biologie der Pflanzen, Bd. X. Heft II.

- Ursachen d. Aberrationen in d. Faltergruppe Vanessa. Berlin, 67 pag. 1896.
 — Zwei sonderbare Aberrationen von Vanessa antiopa u. eine neue Methode zur Erzeugung d. Kälteaberration. Sonderdr. aus der Illustr. Wochenschr. f. Entomolog. Neudamm, 7 pag. 1897. — Beitr. zur experimentellen Lepidopterologie. Illustr. Wochenschr. f. Entomolog. Neudamm, Bd. II: Nr. 33, p. 513—516; Nr. 37, p. 577—583; Nr. 38, p. 595—600; Nr. 44, p. 689—695; Bd. III: Nr. 4, p. 49—53; Nr. 12, p. 181—183; Nr. 16, p. 241—243; Nr. 17, p. 262—264; Nr. 18, p. 278—280; Nr. 23, p. 354—357 (1898). Bd. IV: Nr. 3, p. 33—34; Nr. 5, p. 67—69 (1899). — Experiment. kritische Unters. über das prozentuale Auftreten der durch tiefe Kälte erzeugten Vanessen-Aberrationen. Societas entomolog. 13 Nr. 22, p. 169—171; Nr. 23, p. 177—179 (1899).
- H. W. Fischer (K), O. Bobertag und C. Feist, Über das Ausfrieren von Hydrosolen. Ber. d. Dtsch. chem. Ges. (1908) 3. Bd., S. 3675.
- H. W. Fischer u. P. Jensen (T), Das Wasser im Muskel. Biochem. Ztschr. (1909) 20. Bd., 1. und 2. Heft.
- H. W. Fischer u. O. Bobertag (K), Über die Kräfte zwischen Kolloid und Flüssigkeit. Breslau 1909, Schles. Ges. f. vaterl. Kultur.
 — Über das Ausfrieren von Gelen (K). Biochem. Ztschr. Bd. 18 (1909).
- Flügge (P), Mikroorganismen, 3. Aufl. 1896, Bd. I. p. 440
- Flury u. Gutbier (K), Über das Auftreten und Ausfrieren der Hydrosole. Ber. d. Dtsch. chem. Ges. (1908) 3. Bd. S. 4259.
- Frank (P), Krankheiten der Pflanzen. II. Aufl. 1894, Bd. I, pag. 197.
- Fredericy (S), Ar. de biologie 20 (1905) 709. Bull. de l'Acad. Roy. de Belgique (1901) 68.
- Frisch (P), Sitzungsber. d. Wiener Akad. 1877, Bd. 75 Abt. 3, p. 257.
- Girard (T), Etudes sur la chaleur libre dégagée par les animaux invertébrés et spécialement les insectes. Ann. des sciences. naturelles. Zool. 5. Sér. 11, p. 134—274 (1869). — Les Méthodes expérimentelles pouvant servir à rechercher la chaleur propre. Ann. soc. Entomolog. de France. Tome I, p. 503—508 (1861). Tome II, p. 345—347 (1862). Tome III, p. 92 — 98 (1863).
- Gübel (P), Die Regeneration. Wiss. Ergebnisse des intern. botan. Kongresses. Wien 1905, S. 226.
- Göppert (P), Über Einwirkung niederer Temperaturen auf die Vegetation in der Gartenflora Deutschlands, Rußlands und der Schweiz. Stuttgart 1879, p. 259. — Bot. Ztg. 1871, S. 399. — Über die Widerstandsfähigkeit der Pflanzen wärmerer Regionen gegen Kälte. Ber. d. schles. Ges. f. vaterl. Kultur (1873). — Wärmeentwicklung in den Pflanzen. 1830, p. 94; Bot. Ztg. 1875, p. 613; Über das Gefrieren und Erfrieren der Pflanzen. 1883, I. c. p. 59. Bot. Jahrb. 1873, p. 263. — Höhe der Kältegrade, welche die Vegetation überhaupt erträgt. Bot. Ztg. 1871, p. 49—76.
- H. Gorke (P), Über chemische Vorgänge beim Erfrieren der Pflanzen. Landwirtschaftliche Versuchsstationen LXV p. 149.
- Goutheron (P), Mémoire de l'Acad. Roy. des sciences. An. 1709.
- Graber (T), Die Insekten. München 1877—79.
 — Thermische Experimente an der Küchenschabe. Archiv f. d. gesamte Physiologie des Menschen u. d. Tiere von Pfliiger, Bd. XII, p. 240—256 (1887).
- A. Gutbier u. Flury (K), Über das Auftreten u. Ausfrieren der Hydrosole. Ber. der Deutschen chem. Ges. (1908) 3. Bd., S. 4259. — Studien über kolloidale Sulfide. Ztschr. f. anorg. Chem. Bd. 32 (1902), S. 292.

- Haberlandt (P), Die Schutzleinricht. d. Keimpflanz. 1877, p. 48. Bot. Jahresbericht 1879, p. 259. Österr. Bot. Ztschr. 1876, p. 249. — Die Einwirkung des Frostes auf gequellte Samen. Landwirt. Ztg. 1874, p. 804.
- Hardy (P), Observ. sur quelques espèces ligneuses des pays chauds etc. Bibl. universelle de Genève 1853. Anzug in d. Bot. Ztg. 1854, 202.
- Herbststädt (P), Magazin d. Ges. naturw.forsch. Freunde in Berlin. II. Jahrg. 1808, p. 316.
- Herrmann (T), Die Erstarrung infolge starker Kältegrade. Pflügers Archiv f. die Physiol. 1871, S. 89.
- Herschel, Sir John (P), Notice of a remarkable disposition of ice round the decaying stems of vegetables during frost. Lond., Edinb. and Dubl. phil. mag. and Journal of sc. II. Jan. 1833, p. 110.
- Heubel (T), Pflügers Archiv 45, 564 ff. (1885).
- Hüber (T u. P), Physikal. Chemie der Zellen und Gewebe. Leipzig 1906. II. Aufl. 48.
- H. Hoffmann (P), Pflanzenklimatologie 1857, S. 329.
- Hofmeister (P), Die Zelle, S. 53. — Grundzüge der Pflanzenklimatologie. Leipzig 1875, S. 325—333.
- Al. Horvath (T), Beiträge zur Lehre über den Winterschlaf. Würzburg (Stahel) 1878.
— (T) Würzburger Verhandl. N. F. Bd. 15, S. 187. 1881.
- Huber (T), Nouvelles observat. sur les abeilles. 2. Edition, considérablement augmentée (par son fils Pierre Huber). 2 Tomes. Paris et Genève 1792 bis 1814.
— (T), Neue Beobachtungen über die Bienen. Voigts Magazin für den neuesten Zustand der Naturkunde, mit Rücksicht auf die dazu gehörigen Hilfswissenschaften. Bd. 7, p. 433—444. (1804.)
- J. Hunter (T), Philosophical transactions (1778), p. 27. Philosoph. transactions (1775) Vol. LXV. 2, p. 446 und 1776, 78. — Philos. transactions (1792),
- Hupfau (P), Über die Wirkungen der Winterfröste 1879/80 auf die Nadelhölzer. Forstw. Zentralbl. 1880, 263.
- Paul Jensen (T) u. H. W. Fischer, Der Zustand des Wassers in der überlebenden und abgetöteten Muskelsubstanz. Ztschr. f. allgem. Physiolog. 11. Bd. 1. Heft. 1910. — (K), Das Wasser im Muskel, Ztschr. f. Biochem. 20. Bd. 1. u. 2. Heft (1909).
- E. Jung (P), Compt. rend. (1884) Bd. 98, p. 747.
- Karsten (P), Bot. Ztg. 1861, p. 289.
- Paul Klemm (P), Jahrb. f. wiss. Botan. 28, 1895, S. 641.
- W. Kochs (T), Kann die Kontinuität der Lebensvorgänge zeitweilig völlig unterbrochen werden? Biolog. Zentralbl. Bd. 10, p. 673, 1890. Über die Vorgänge beim Einfrieren und Austrocknen von Tieren und Pflanzen. Ebenda. Bd. 12 p. 330. 1892. — Biolog. Zentralblatt Bd. 15, S. 372. 1895. — Biolog. Zentralblatt Bd. 11, S. 498. 1891.
- Kodis (T), Zentralblatt für Physiologie 12, p. 593, 1898.
- Kühl (K), Pharmaz. Ztschr. (1908) S. 582.
- Kühne (P), Untersuchungen üb. d. Protoplasma. Leipzig 1864, p. 88, 100 u. ff. Über Protoplasma und Kontraktibilität, S. 3.
- Kunisch (P), Über die tödtliche Einwirkung niederer Temperatur auf die Pflanzen. Inaug.-Dissertat. Breslau 1880.

- A. Labbé (P), *La Cytologie*, 1898, p. 37.
- H. Lecoq (T), De la transformation du mouvement en chaleur chez les animaux. *Compt. rend. des séances de l'Acad. d. sciences. Paris*, Tome LV. p. 191 bis 192 (1862).
- Lewith (T), *Archiv f. experiment. Patholog.* Bd. XXVL. p. 341, 1890.
- B. Lidforss (P), *Zur Physiolog. u. Biolog. d. wintergrünen Flora. Bot. Zentralblatt* (1896) Bd. 68, S. 33.
- Lindner u. Picton (K), *Journal chem. soc.* 61, 1377.
- H. Link (P), Einige Bemerkungen über die Wirkung des Frostes auf die Gewächse im Winter. 1822—1823. *Verhandlungen des Vereins zur Beförderung des Gartenbaues.* S. 165, Berlin 1824.
- Ljubavin (K), Über das Gefrieren kolloidaler Lösungen. *Journal d. russ. phys.-chem. Ges.* 21, I. 397—407 (1889). (Ref. V. f. *Kolloide* 1, 53. 1907).
- Lottermoser (K), Beiträge zur Kenntnis des Hydrosol- und Hydrogelbildungsvorganges, I. *Zeitschrift f. phys. Chem.* Bd. 60, 462. Über das Ausfrieren von Hydrosolen. *Ber. d. Dtsch. chem. Ges.* (1908) 3. Bd. S. 3976.
- Ludwig (P), *Bot. Zentralblatt* (1899) 80, 405.
- G. Malfitano u. A. Moschkoff (K), *C. rend. d. l'Acad. des sc.* 150, 710 (1910).
- E. v. Martens (T), Über die Verbreitung der europäischen Land- u. Süßwassergasteropoden. Tübingen 1855. *Württemb. wiss. Jahrb.* 11. Jahrg.
- Martins (P), *L'hiver de 1870—1871 etc. Mém. de l'Acad. des sc. et lettres de Montpellier.* Tome VII, p. 527.
- Matruchot (P), et Molliard, Modifications prod. par le Gel. *Revue Générale de Botanique* 14. (1902.) Paris. 401, 463, 522.
- Melloni (T), *Ann. de physique et de chimie.* 68. Bd., p. 207.
- Merrifield (T), *Transact. Entom. Soc.* p. 425, 1884.
- C. Mez (P), *Neue Untersuchungen über das Erfrieren eisbeständiger Pflanzen.* Flora, Bd. 94, 1905, Heft 1.
- Mohl (P), Über die anatom. Veränderungen d. Blattgelenkes, welche das Abfallen der Blätter herbeiführen. *Bot. Ztg.* 1860, p. 1—17. *Bot. Ztg.* 1848, p. 6, p. 48. — Wärmeentwicklung. *Vermischte Schriften.* Tübingen 1845, p. 375. *Bot. Ztg.* 1847, S. 321.
- Molisch (P u. K), *Untersuchungen über das Erfrieren der Pflanzen.* Jena (Fischer) 1897. — (P), *Das Erfrieren von Pflanzen bei Temperaturen über den Eispunkt.* Sitzungsber. d. Kaiserl. Akad. der Wiss. zu Wien, Bd. 105, Abt. I (1896).
- Moll (P), *Der Naturforscher* (1881) Nr. 9.
- Molliard et Matruchot (P), *Modifications prod. par le Gel. Rev. génér. de Bot.* 14, 477 (1902).
- Herm. Müller-Thurgau (P), Über das Erfrieren des Obstes. *Schweiz. Ztschr. f. Obst- u. Gartenbau.* Jahrb. f. wiss. Botan. 1895, 28. — Über das Gefrieren und das Erfrieren der Pflanzen. *Landwirtsch. Jahrb.* (1880) 9. Bd. S. 133. — *Landwirtsch. Jahrbuch* 1886, 15. Bd. S. 453. — *Landwirtsch. Jahrb.* 1882, S. 751—828. Über Zuckerrückbildung in Pflanzenteilen infolge niedrigerer Temperaturen. *Schweiz. Ztschr. f. Obst- u. Gartenbau*, 1894.
- Mussehl (T), Über das Winterleben der Stockbiene (*Apis mellifica*) in Isis. 1836, p. 572.

- Nägeli (P), Sitzungsber. d. Münchener Akademie 1861, I. p. 271. Das Mikroskop, II. Aufl. 1877, S. 455.
- Naudin (P), Annal. d. sc. nat. 1877, VI. Sér. Bd. 5, p. 323.
- Newport (T), Philos. Trans. 1837, Part. II. — Philos. Trans. Part. II. p. 551 (1836).
- Nicolet (T), Recherches pour servir à l'histoire des produelles. Mém. de la société helvétique. Tom. VI, 88 pag. 1841. Paralleltitel: Neue Denkschriften der allgemeinen Schweizer Gesellschaft für die gesamten Naturwissenschaften.
- Nobili et Melloni (T), Recherches sur plusieurs phénomènes calorifiques entreprises au moyen du thermomultiplicateur. Ann. de phys. et chim. Tome XLVIII, p. 198—217 (1831).
- Noll (P), Über frostharte Knospensvariationen. Landw. Jahrb. Bd. 14, 1885, p. 708. — Beobachtungen u. Betrachtungen über embryonale Substanzen. Biolog. Zentralbl. Bd. 23, S. 281, 321, 401.
- Nördlinger (P), Baumphysiologie. Bedeutung des kalten Winters 1879—1880. Illustrierte Gartenztg. von Lebl. 25. Jahrg. 1881, S. 6 ff.
- Oberdick (P), Beobachtungen über das Erfrieren vieler Gewächse u. namentlich unserer Obstbäume. Ravensburg 1872.
- M. Pauly (T), Der illustrierte Tierfreund. Graz 1896, S. 42 u. 79, referiert im Zentralbl. f. Physiologie. Bd. 10, S. 682, 1897.
- Pfeffer (P), Pflanzenphysiologie, 2. Aufl., II. (1904), p. 315.
- R. Pictet et E. Juny (P), Compt. rend. 1884 Bd. 98, p. 747. — Journal chem. soc. 61, 1377. — Archives d. sc. phys. et nat. d. Genève 1893, III. Sér. Bd. 30, p. 311.
- Pouchet (T), Recherches expérimental. sur la congélation des animaux. Robins Journ. de l'anatomie et de physiologie. III. p. 1, 1866.
- W. Preyer (T u. P), Über die Erforschung des Lebens. Jena, Manke 1893.
- Prillieux (P), Ann. des sciences nat. 1850. V. nr. 12, 124. Coloration en bleu de quelques orchidées sous l'influence de la gelée. Bulletin de la société bot. 19. (1872) 152.
- Réaumur (T), Mémoires pour servir à l'histoire naturelle des insectes. Paris 1734, II. S. 144, II. 1736, III. 1737, IV. 1738, V. 1740, VI. 1742. — Amsterdamer Ausgabe: I. u. II. 1737, III. 1738, IV. 1740, V. 1741, VI. 1748.
- Redemann (T), De caloris ratione in asphycticis 1835.
- Regnault (T), Ann. de phys. et chim. 3. Sér. XXVI. p. 517, 1819.
- Reichenau (T), Die Züchtung des Nesselfalters (ein Beweis für den direkten Einfluß des Klimas). Kosmos V. 12, p. 46, 1882.
- R. Rein (P), Untersuchungen über den Kältetod der Kartoffel. Zeitschr. f. Naturwissensch. Halle, Bd. 80, 1908.
- Rengger (T), Physiol. Untersuchungen über die tierische Haushaltung der Insekten. Tübingen 1817.
- P. Rittinghaus (P), Verh. d. naturw. Vereins d. Rheinlande. Jahrgang 43, 5. Folge Bd. 3, p. 164.
- H. Roedel (T), Über das vitale Temperaturminimum wirbelloser Tiere (1881). Dissert. Halle.
- Sabatani (T) Jour. de physiol. et pathol. génér. 1902.
- Sachs (P), Bericht über die physiolog. Tätigkeit in den landw. Versuchsstationen 2, 175 (1860). — Kristallbildungen beim Gefrieren und Veränderung der Zellhäute bei dem Auftauen saftiger Pflanzenteile. Ber. d. Königl. Sächs. Ges. zu

- Leipzig. Mathem. Naturw. Klasse, 12. Bd. (1860), p. 1—50. — Handbuch der Experimentalphysiol. der Pflanzen 1865, p. 57. — Lehrb. der Botan. 1V. Aufl. S. 65. — Gesammelte Abhandl. über Pflanzenphysiologie, Bd. I, Leipzig 1892.
- Th. Saussure (P), Mémoir. de la société de physique et d'hist. nat. de Genève Teil III, sec. Part. p. 1—25.
- Schübler (P), Inaug.-Diss. von F. G. Schübler, Tübingen 1826, vollständig abgedruckt in Poggenдорfs Annalen, 1827, Bd. 10, S. 581.
- Schuhmacher (P), Beitrag zur Morphologie und Biologie der Alkoholhefe. Sitzungsber. der Math.-Phys. Klasse d. Wiener Akad. d. Wiss. Abt. I. 1874.
- Max Schultze (T), Das Protoplasma der Rhizopoden und der Pflanzenzellen. p. 48, 1863.
- H. Schulz (T), Über das Abhängigkeitsverhältnis zwischen Stoffwechsel und Körpertemperatur bei Amphibien und Insekten. Inaug.-Diss. Bonn, 20 pag 1877.
- Schwendener (P), Das Mikroskop, II. Aufl. 1877, S. 455.
- Senebier (P), Physiol. végétal. T. III. Chapitre 8, de la chaleur et du froid relativement aux plantes.
- C. Semper (T), Die natürlichen Existenzbedingungen der Tiere.
- Slevogt (P), Hermbstädts Archiv d. Agrikulturchem. 3. Bd. I. Heft, Berlin 1807.
- Standfuß (T), Experiment.-zoolog. Studien mit Lepidopteren. Denkschrift der Schweiz. Naturforscher-Ges. Bd. XXXVI, 81 pag. 1898.
- Strasburger (P), Wirkung des Lichts und der Wärme auf Schwärmersporen. 1878, p. 62.
- Tautphoens (P), Über die Keimung der Samen etc. Inaug.-Diss. München 1876. p. 58—65.
- H. Thiel (P), Landw. Zeitung für Westfalen und Lippe. 1872, S. 34.
- Thiselton-Dyer (P), Procend. of. Roy. Soc. 65, 361. 1899.
- D. Timm (T), Die Biene und die Bienenwohnung. Güstrow 1882.
- A. Vogel (K), Über die Veränderung, welche einige Stoffe des organischen Reiches beim Gefrieren erfahren. Gilberts Ann. d. Physik. 46 (1820) 137.
- H. Voigtländer (P), Unterkühlung und Kältetod der Pflanzen. Cohns Beiträge zur Biologie der Pflanzen. Bd. 9, S. 359.
- Aug. Weismann (T), Über den Saisondimorphismus der Schmetterlinge. Leipzig, 94 pag. 1875. — Neue Versuche zum Saisondimorphismus der Schmetterlinge. Zool. Jahrbücher, Jena, Bd. VIII. 74 pag. 1895.
- A. Weltert (P), Die tiefen Temperaturen (1895), p. 75.
- W. Went (P), Annals of the Bot. 1898, Bd. 12, p. 33.
- Wiesner (P), Untersuchung über die herbstliche Entlaubung der Holzgewächse, Sitzungsber. d. mathem.-naturw. Klasse d. Königl. Akad. d. Wiss. zu Wien, 64. Bd. I. Abt. p. 465—510.
- Wildenhof (P), Grundriß d. Botan. Berlin 1810, p. 374.
- II. Winter (K), Über gelbes und rotes Arsentrisulfid. Ein Beitrag zur Kenntnis der Kolloide. Anorg. Chem. Bd. 43, S. 228.
- Wolff (P), Zentralbl. f. d. med. Wiss. 1873, p. 115.
- Wyman (T), Proc. of the Boston Society of Nat. History. Tome V. p. 157, 1856.
- Zeller (T), Meteorolog. Ztschr. p. 274, 1894.