

84. Julius Stoklasa, Adolf Ernest und Karl Chocenský: Ueber die anaërobe Atmung der Samenpflanzen und über die Isolierung der Atmungsenzyme.

Eingegangen am 14. Dezember 1906.

I.

Von meinen zahlreichen Untersuchungen über die anaërobe Atmung der verschiedenen Samenpflanzen, welche in unserer Versuchsstation unter Mitwirkung meiner Assistenten und Schüler binnen fünf Jahren ausgeführt worden sind, will ich heute Folgendes berichten:

Bei allen Versuchen bedienten wir uns nur besonders konstruierter Apparate¹⁾ und beobachteten alle Kautelen der Asepsis. Überdies berücksichtigten wir nur diejenigen Resultate bei welchen wir mit untrüglicher Sicherheit uns durch Gelatineplattenguss, sowie durch Impfung mit der Platinöse in Zucker-Bouillon überzeugt haben, dass sie unter völligem Ausschluss von Mikroben durchgeführt wurden und dass also die Zuckerrübenwurzeln (*Beta vulgaris*), die Kartoffeln (*Solanum tuberosum*), Gurken (*Cucumis sativus*), Bohnen (*Phaseolus vulgaris*), Wicken (*Vicia sativa*) und Äpfel (*Pirus Malus*) sich in einem vollends bakterien- und hyphomycetenfreien Milieu befanden. Auch hinsichtlich der anaëroben Bakterien haben wir uns nach der Methode FRÄNKEL-HUEPPE von ihrer völligen Abwesenheit überzeugt. Daher können wir mit absoluter Bestimmtheit erklären, dass der Prozess der anaëroben Atmung der Pflanzenzelle eine unter Milchsäurebildung vor sich gehende alkoholische Gärung ist, deren Mechanismus in der Pflanzenzelle von der Art der in ihr vertretenen Kohlenhydrate abhängig ist. Aus all den gefundenen Resultaten geht sehr klar hervor, dass der anaërobe Stoffwechsel

1) Siehe: „Der anaërobe Stoffwechsel der höheren Pflanzen und seine Beziehung zur alkoholischen Gärung von JULIUS STOKLASA, JOH. JELÍNEK und EUGEN VÍTEK. Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie, Zeitschrift für die gesamte Biochemie, herausgegeben von FRANZ HOFMEISTER, Band III, Heft 11, Braunschweig 1903“, ferner „Alkoholische Gärung im Tierorganismus und die Isolierung gärungserregender Enzyme aus Tiergeweben“ erster Teil von JULIUS STOKLASA, unter Mitwirkung von F. ČERNÝ, JOH. JELÍNEK, EUGEN ŠÍMÁČEK und EUGEN VÍTEK, Archiv für die gesamte Physiologie, Band 101, Bonn 1904.

der Samenpflanzen im wesentlichen identisch ist mit der alkoholischen Hefegärung.

Wir finden ferner dasselbe quantitative Verhältnis zwischen Kohlendioxyd und Alkohol wie bei der alkoholischen Hefegärung.

Bevor ich noch zur Isolierung der glykolytischen Enzyme schreite, führe ich in übersichtlicher Zusammenstellung die Resultate der anaëroben Atmung der verschiedenen Organe der Samenpflanzen an.

Es ist hierbei zu bemerken, dass die Pflanzenorgane auf der Oberfläche sehr sorgfältig gereinigt wurden und durch 30 Minuten in einer 0,5 prozentigen Sublimatlösung sterilisiert, dann in sterilisiertem Wasser gewaschen, in sterilisierten Zylinder getan und die Eintragung derselben in die letzteren durch Verwendung der Flamme vor jeder Mikrobeninvasion möglichst geschützt wurden.

Die Zylinder wurden mit sterilisierten, gut anliegenden Pfropfen, die mit den in meinen zitierten Arbeiten beschriebenen Apparaten verbunden waren, verschlossen und die Verschlussstelle samt den Pfropfen durch Übergiessen mit geschmolzenem Paraffin völlig undurchlässig gemacht. Durch die Zylinder wurde reines Wasserstoffgas, und zwar zu 10 l innerhalb 24 Stunden, getrieben. Was die analytischen Methoden zur Bestimmung von Milchsäure, Alkohol und Kohlendioxyd anbelangt, so sind dieselben in meiner vorliegenden Arbeit über die Isolierung der Enzyme beschrieben.

Und nun gelangen wir dazu nachzuweisen, dass tatsächlich bei der anaëroben Atmung der Zuckerrübe usw. Milchsäure entsteht. Diese Versuche wurden mit grossen Quantitäten von Zuckerrüben, sowie Gurken, Kartoffeln und Bohnen ausgeführt.¹⁾

Die Pflanzenorgane wurden genau sterilisiert und in steriles destilliertes, durch Kochen von Luft befreites Wasser getaucht. Die Pflanzenorgane der genannten Samenpflanzen enthielten vor dem Versuche bloss minimale Mengen von Milchsäure.

Nach starker Gärung in dem sterilen Medium — denn es wurden keinerlei Mikroorganismen in demselben konstatiert — wurde sowohl aus dem Wasser, als auch aus den Pflanzenorganen durch Destillation Alkohol ausgetrieben. Zu dem Kolbeninhalt, bestehend aus dem Brei der Pflanzenorgane und aus dem Wasser, in welchem sich die betreffenden Pflanzenorgane befanden, wurde Kaliumkarbonat bis zur alkalischen Reaktion zugesetzt und hierauf der Alkohol abdestilliert.

1) Die analytischen Daten, welche tabellarisch zusammengestellt sind, findet man in meiner ausführlichen Arbeit betitelt „Über die glykolytischen Enzyme im Pflanzenorganismus“ in HOPPE-SEYLER's Zeitschrift für physiologische Chemie Bd. IV und V 1907.

Nach Austreibung des Alkohols wurde sodann die Lösung mit Phosphorsäure angesäuert und die flüchtigen Fettsäuren mit Dampf ausgetrieben.

Nach Austreibung der flüchtigen Fettsäuren mit Dampf wurde hierauf in dem Kolbeninhalt die Milchsäure nach A. PARTHEIL bestimmt.

Die Milchsäure wurde durch zwei Tage mittels reinen Äthers ausgeschüttelt, welcher letzterer in einen frischen Kolben zugegossen wurde. Nach vollständiger Ausschüttelung der Milchsäure wurde der Äther abdestilliert. Der Rest wurde sodann mittels kalten Wassers über einem kleinen Filter in ein Fraktionskölbchen abgeschweift, durch KOH neutralisiert und bis zur Trockene im Wasserbade abgedampft. Hierauf wurde das Fraktionskölbchen mit einem Nitrometer nach LUNGE (enthaltend eine 5 prozentige KOH-Lösung) verbunden, durch Hinzusetzung von konzentrierter H_2SO_4 unter schwachem Anwärmen die Reaktion eingeleitet und das sich entwickelnde Kohlenoxyd im Nitrometer aufgefangen.

Man wäscht das entwickelte Gas mit Kalilauge, um schweflige Säure und Kohlendioxyd zu entfernen, und liest nach erfolgtem Ausgleich von Temperatur und Druck das Volumen des entstandenen Kohlenoxyds ab. Die auf 0° und 760 mm Druck reduzierten Kubikzentimeter Kohlenoxyd ergeben, mit 0,0012507 multipliziert, das Gewicht des erhaltenen Kohlenoxyds, aus dem man die Milchsäure nach der Gleichung $\frac{CO}{28} : \frac{C_3H_5O_3}{90,06} = \text{gefundene Menge: } x$ durch Multiplikation mit 3,216 findet. Von der Gegenwart der Milchsäure haben wir uns in einem grösseren Versuche überzeugt, und zwar derart, dass wir die klare Lösung nach der Gärung mit Schwefelsäure ansäuerten und mit Äther ausschüttelten.

Der Rückstand liefert ein lösliches Bleisalz, welches sodann in Zinklaktat übergeführt wird. Das Zinklaktat wird hierauf in verdünntem Alkohol umkristallisiert und dann analysiert. Durch die UFFELMANN'sche Reaktion wurde tatsächlich die Milchsäure nachgewiesen.

Wir benützten weiters zum Milchsäurenachweis die vorzügliche Methode von H. BEHRENS, und zwar durch Bildung von Kobalto-Baryumlaktat. Die Formel $(C_3H_5O_3)_2 Zn + 3 \text{ aqua}$ verlangt 21,99 Zn, und wir haben durch einige Versuche 21,0 bis 22,1 Zn gefunden.

Bemerkenswert ist noch, dass die Destillate mit Alkohol einer mehrfachen Destillation unterworfen wurden, wobei jedesmal entweder aus der sehr schwach sauren oder sehr schwach alkalischen Lösung die Destillation vorgenommen wurde.

Zur Ansäuerung des Destillates wurde $\frac{1}{10}$ -Normalschwefelsäure, zur Alkalisierung dagegen Kaliumkarbonat verwendet.

Nach sechsfacher Destillation unter strenger Identifizierung wurde ca. bis 20—25 *ccm* Aethylalkohol abdestilliert. Der Siedepunkt wurde mit 78—79° C. und das spezifische Gewicht mit 0,792—0,798 bei 15° C. gefunden.

Äusserst interessant erwies sich die Verfolgung des Prozesses bei den verschiedenen Pflanzenorganen, wo überall die Milchsäure quantitativ, wie bereits erwähnt, nach der Methode von A. PARTHEIL bestimmt wurde.

Ich betone hier nochmals ausdrücklich, dass wir vor der anaëroben Atmung in den Organen der Samenpflanzen bloss minimale Mengen von Milchsäure nachweisen konnten.

Wir haben durch mehrere Versuche konstatiert, dass tatsächlich bei der anaëroben Atmung der verschiedenartigen Organe der Samenpflanzen Alkohol und Kohlensäure Hauptprodukte sind und nebenbei sich immer eine gewisse Menge Milchsäure bildet.

1 *kg* Zuckerrübenwurzel, berechnet auf Trockensubstanz, entwickelt innerhalb 100 Stunden insgesamt bei anaërober Atmung bei einer Temperatur von 22° C.:

$$\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_8 = 3,23 \text{ g}$$

$$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 10,32 \text{ „}$$

$$\text{CO}_2 = 9,56 \text{ „}$$

welche Quantitäten sowohl in der Lösung als auch in der Wurzel gefunden wurden.

Wir haben weiters konstatiert, dass 1 *kg* der Gurkenmasse in der Trockensubstanz binnen 100 Stunden der anaëroben Atmung nach mehreren Versuchen bei einer Temperatur von 20° C ergab:

$$\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_8 = 8,24 \text{ g}$$

$$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 14,20 \text{ „}$$

$$\text{CO}_2 = 11,26 \text{ „}$$

Zum Schlusse führe ich noch die gefundenen Daten der anaëroben Atmung der Erbsensamen an: 1 *kg* der Erbsensamen auf Trockensubstanz berechnet ergibt innerhalb 100 Stunden bei einer Temperatur von 25° C.:

$$\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_8 = 2,39 \text{ g}$$

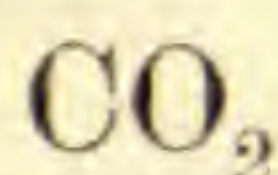
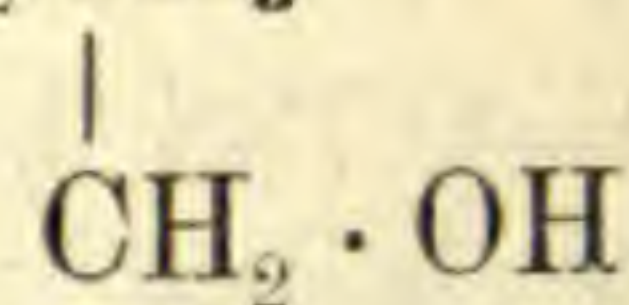
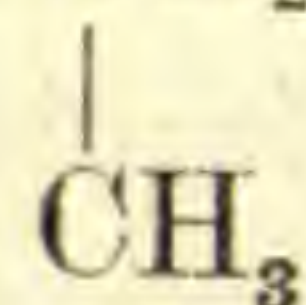
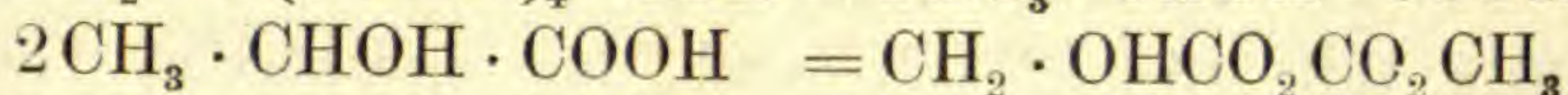
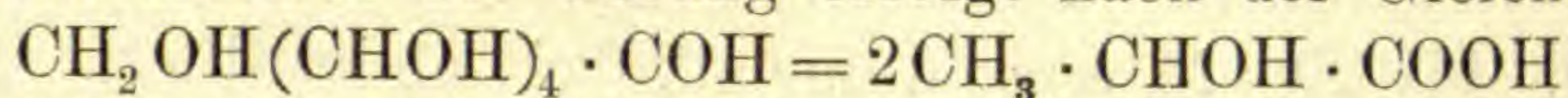
$$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 15,68 \text{ „}$$

$$\text{CO}_2 = 13,06 \text{ „}$$

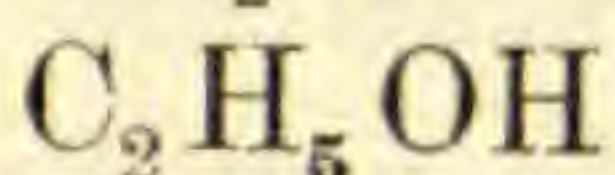
Es verdient ganz besonders erwähnt zu werden, dass die Versuche nur mit gut sterilisierten Gurken, Zuckerrüben und Erbsensamen angestellt worden sind und dass die Lösung in dem Zylinder, in welchem die anaërobe Atmung vor sich ging, immer rein und niemals getrübt war.

Die anaërobe Atmung der verschiedenartigen Organe der Samenpflanzen geht in der Weise vor sich, dass aus der aus den Hexosen gebildeten Milchsäure Alkohol und Kohlendioxyd entsteht.

Der Mechanismus der Gärung erfolgt nach der Gleichung:



$$= 48,9$$



$$= 51,1$$

Auf 100 Teile CO_2 entfallen 104,5 Teile Alkohol.

Unsere gewonnenen Resultate sind wie folgt:

Bei der anaëroben Atmung der Wurzel der Zuckerrübe fanden wir 113,4, 118,1, 107,9, 121,2, 101,7 und 98,5 gebildeten Alkohols.

Die Mengen des gebildeten Alkohols bei der anaëroben Atmung der Kartoffel sind folgende: 81,9, 109,7 und 114,8.

Bei der anaëroben Atmung der Äpfel konnten wir 122,2, 123,2, 78,3 und 90,2 gebildeten Alkohols konstatieren.

Bei der anaëroben Atmung der Bohne waren nachstehende Mengen des gebildeten Alkohols vertreten: 106,7, 103,7, 88 und 98,9.

Bei der anaëroben Atmung der Wicke konnten wir 109,8, 106,7 und 90,1 gebildeten Alkohols nachweisen.

Aus den hier angeführten Resultaten geht in der Mehrzahl hervor, dass der anaërobe Stoffwechsel der verschiedenartigen Organe der Samenpflanzen im wesentlichen identisch ist mit der alkoholischen Gärung.

II.

Um die Intensität der aëroben und anaëroben Atmung erfrorener Pflanzenorgane festzustellen, haben wir uns der Abtötungsmethode durch niedrige Temperatur von W. PALLADIN, S. KOSTYTSCHEW, Fräulein T. KRASNOSSELSKY etc. bedient.¹⁾

In einen grossen Zylinder von 1 l Inhalt wurden die abgewogenen, frischen, reinen, ganzen (nicht zerriebenen) Pflanzenorgane gebracht, mittelst Kautschukpfropfen verschlossen und in einem Gefäss mit Kältemischung 24 Stunden belassen. Die durchschnittliche Temperatur während der vorerwähnten Zeit betrug -18° bis -25°C . Der Frierprozess verlief in einem kalten Zimmer einer Prager Eisanstalt. Die erfrorenen Pflanzenorgane wurden sodann in andere sterile Zylinder von gleichem Inhalt geschafft und mit 15 g Toluol benetzt.

Den hohen Zylinder von 7 bis 8 cm Durchmesser schliesst ein gut dichtender Kautschukpfropfen, der 4 cm tief in den Zylinder hineinragt.

1) W. PALLADIN: Die Arbeit der Atmungsenzyme der Pflanzen unter verschiedenen Verhältnissen, HOPPE-SEYLER's Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. XLVII, Heft 4, 5 und 6, 1906.

Durch den zweimal gebohrten Pfropfen führen zwei Glasröhren, von denen die zuleitende bis zum Boden des Zylinders reicht, während die ableitende des LIEBIG'schen Kühlers den unteren Rand des Pfropfens um 5 cm überragt.

Die Gase passiren nach dem Austritt aus dem Zylinder zuerst einen WINKLER'schen Absorptionsapparat, welcher sich in einem eiskalten Gefäss befindet, um die Toluoldämpfe, welche sich in dem LIEBIG'schen Kühler nicht kondensiert haben, aufzufangen, ferner zwei 25 cm hohe, 2,5 cm weite U-Röhren mit Kupfervitriolbimsstein, weiters ein drittes U-förmiges Rohr, welches Chlorcalcium enthält, das häufig erneuert wird. Das völlig getrocknete Kohlendioxyd passiert zuerst eine U-Röhre, welche mit ausgeglühtem Natronkalk gefüllt ist, sodann den mit Kaliumhydroxyd gefüllten GEISSLER'schen Apparat. Um die aus diesem entweichende ganz unbedeutende Menge Wasser und CO_2 aufzufangen, sind weiter mit festem Kaliumhydroxyd und Calciumchlorid gefüllte U-Röhren vorgelegt. Weiter rückwärts befindet sich noch ein U-förmiges Schutzrohr, dazu bestimmt, in der Luft enthaltenes Kohlendioxyd (und Feuchtigkeit) abzuhalten. Es ist mit Calciumchlorid und Kaliumhydroxyd gefüllt und mit dem Aspirator verbunden. Die oben erwähnten U-Röhren sowie der GEISSLER'sche Apparat wurden vor und nach dem Durchleiten der Gase gewogen. Natürlich wurde bei der anaëroben Atmung der Wasserstoff aus den Absorptionsapparaten durch CO_2 -freie Luft ausgetrieben.

Die Pfropfen der Zylinder wurden durch Übergiessen mit geschmolzenem Paraffin völlig undurchlässig gemacht.

Um den Nachweis zu liefern, dass in dem Absorptionsapparat keine Toluoldämpfe vorhanden waren, wurde nach Abwiegen desselben CO_2 -freie Luft durch die Absorptionsapparate durchgeleitet, und sodann die Apparate nochmals abgewogen. Durch den Zylinder wurde per Stunde 1 l keim- und kohlendioxydfreie Luft oder eventuell reiner Wasserstoff hindurchgeleitet.

Unsere hier deutlich beschriebenen Versuche wurden mit Zuckerrübe (*Beta vulgaris*) und mit Kartoffel (*Solanum tuberosum*) ausgeführt, und zwar liessen wir separat die Wurzel und separat das Blattwerk gefrieren. Von den Kartoffeln benützten wir die Knollen.

Zu diesen hier angeführten Versuchen ist noch zu bemerken, dass wir das ausgeatmete Kohlendioxyd so lange bestimmten, bis die Menge auf ca. 1 mg gesunken ist.

Durch das Erfrieren erstreckt sich der Atmungsprozess bloss auf einige Tage. Wir fanden im aëroben Zustande die grösste Intensität der Atmung binnen 48 Stunden. Dann sinkt sie allmählich, und nach 100 Stunden finden wir dann schon nur ganz minimale Quantitäten ausgeschiedenen Kohlendioxyds. Bei anaërober Atmung

sinkt die Intensität der Abscheidung des Kohlendioxyds viel rascher. Die grösste Energie fanden wir binnen 24 Stunden, sodann sinkt sie allmählich, und gegen 100 Stunden hört sie vollständig auf.

Wie wir weiter sehen werden, wird die Atmungsintensität bei der anaëroben Atmung neuerdings wieder hervorgerufen, wenn wir den Wasserstoffstrom durch Luftstrom ersetzen.

Das Blattwerk der Zuckerrübe der ersten, sowie zweiten Versuchsreihe atmet in aërobem Zustande natürlich viel energischer als in anaërober Weise.

Wir fanden, dass die Menge des Kohlendioxydes auf 100 *g* Trockensubstanz berechnet in einer Stunde durchschnittlich 19,8 *mg* beträgt. Im Wasserstoffstrom, also in anaërober Atmung konnten wir durchschnittlich in einer Stunde 7,8 *mg* Kohlendioxyd konstatieren.

In der zweiten Reihe der Versuche betrug die Menge des Kohlendioxydes auf 100 *g* Trockensubstanz berechnet in einer Stunde im Luftstrom 14 *mg*, im Wasserstoffstrom 8,9 *mg*.

Was die Atmung der Wurzeln anbelangt, so belief sich die Menge des Kohlendioxydes, auf 100 *g* Trockensubstanz berechnet, binnen einer Stunde bei der ersten Versuchsreihe im Luftstrom auf 5,2 *mg*, im Wasserstoffstrom auf 2,15 *mg*.

Bei der zweiten Versuchsreihe betrug die Menge des Kohlendioxydes auf 100 *g* Trockensubstanz berechnet innerhalb einer Stunde im Luftstrom 13,4 *mg*, im Wasserstoffstrom 6,3 *mg*.

Die oben angeführten Zahlen zeigen uns, dass das gefrorene Blattwerk viel energischer atmet als die Wurzeln der Zuckerrübe, was überdies mit den ungefrorenen Organen der Zuckerrübe im vollen Einklange steht.

Man möchte glauben, dass durch den Gefrierprozess der Organe der Zuckerrübe die Atmungsintensität derselben ungemein sinkt, wie aber aus den hier angeführten Daten der Experimente zu ersehen ist, bestehen keine grossen Differenzen. Nur ist die Atmung sehr kurz!

Die Atmungsintensität des Blattwerkes der nicht gefrorenen Zuckerrübe nach 92 Vegetationstagen bei 22° C. auf 100 *g* Trockensubstanz berechnet bei aërober Atmung beziffert sich pro Stunde auf 23 *mg* CO₂, bei anaërober Atmung auf 11 *mg* CO₂.

Die Atmungsintensität der ungefrorenen Zuckerrübenwurzel auf 100 *g* Trockensubstanz berechnet bei 22° C. nach 92 Vegetationstagen bei aërober Atmung pro Stunde beläuft sich auf 11 *mg*, bei anaërober Atmung auf 6 *mg* CO₂.

Bei der Atmung des gefrorenen Blattwerkes fanden wir im ersten Falle folgenden Quotienten: $\frac{A_n}{N} = 0,39$

im zweiten Falle einen solchen $\frac{A_n}{N} = 0,63$.

Bei den gefrorenen Zuckerrübenwurzeln finden wir nachstehende Verhältnisse:

Bei der Atmung der Wurzel der Zuckerrübe ergab sich im ersten Falle nachstehender Quotient: $\frac{An}{N} = 0,41$,

im zweiten Falle ein solcher $\frac{An}{N} = 0,47$.

Durch unsere zahlreichen Untersuchungen haben wir gefunden, dass das Verhältnis zwischen der anaeroben und aeroben Atmung der verschiedenartigen ungefrorenen Zuckerrübenwurzeln und zwar immer bei ein und derselben Wurzel bei drei verschiedenen Temperaturen 1—3°, 18—20° und 30—32° C. konstant bleibt.

Bei allen Atmungsexperimenten mit frischer Rübe bei verschiedenen Temperaturen hat sich ein Quotient von $\frac{An}{N} = 0,358$ bis 0,6 erwiesen.

Bei unseren Versuchen mit gefrorener Zuckerrübe ergab sich ein Quotient von $\frac{An}{N} = 0,39$ bis 0,63.

Wir ersehen daraus, dass die anaerobe zu der aeroben Atmung fast in demselben Verhältnisse steht wie bei den nicht gefrorenen Pflanzenorganen.

Das Konstantbleiben des Quotienten der anaeroben und aeroben Atmung hat sich auch bei den gefrorenen Organen der Zuckerrübe erwiesen.

Von grosser Wichtigkeit ist weiter, zu erforschen, ob sich bei der anaeroben Atmung der Organe der Samenpflanzen tatsächlich Alkohol gebildet hat. PALLADIN und KOSTYTSCHEW haben laut ihrer neuesten Arbeit, betitelt „Anaerobe Atmung, Alkoholgärung und Acetonbildung bei den Samenpflanzen“¹⁾ in der Tat Alkohol konstatiert.

Sie äussern sich daselbst wie folgt:

„Bei der anaeroben Atmung lebender und erfrorener Erbsensamen, *Ricinus*-Samen und Weizenkeime findet eine beträchtliche Alkoholbildung statt. Die anaerobe Atmung dieser Objekte ist also zum grössten Teil Alkoholgärung. Durch das bei unseren Versuchen in Anwendung gebrachte Gefrieren wurden die genannten Pflanzen getötet, die in ihnen befindliche Zymase wurde jedoch nicht zerstört.“

Die Ergebnisse der vorerwähnten Forscher können wir in der Weise bestätigen, dass tatsächlich Zymase bzw. Lactacidase durch das Gefrieren nicht zerstört wird, aber

1) HOPPE-SEYLER's Zeitschrift 1906, Heft 3 und 4.

ihr Bestehen in voller Aktivität nur so kurz ist, dass sie nicht mehr isoliert werden kann. Uns ist es bisher noch nicht gelungen, aus den gefrorenen Pflanzenorganen das Rohenzym Zymase zu isolieren.

PALLADIN und KOSTYTSCHEW bestimmten den Alkohol nach der anaëroben Atmung in den Pflanzenorganen in der Art, dass sie durch mehrfache Destillation und durch den Scheidetrichter das Toluol abtrennten. Die Menge des gebildeten Alkohols wurde aus dem spezifischen Gewicht des vierten bzw. fünften Destillates ermittelt.

Zur Identifizierung des Aethylalkohols bedienten sie sich der Methode von BERTHELOT und der Jodoformprobe von MÜNTZ.

Nun folgen die Resultate unserer Versuche:

Zur Bestimmung des Alkohols haben wir die sechsfache Destillationsmethode angewendet und den Alkohol in dem gut kalibrierten Pyknometer von REISCHAUER-AUBRY gesammelt. Um den Aethylalkohol qualitativ nachweisen zu können, benützten wir folgende Reaktionen:

Es wurde die zu untersuchende Flüssigkeit mit H_2SO_4 und K_2CrO_4 in bestimmtem Verhältnis versetzt, destilliert und das Destillat in Fraktionen aufgefangen. Die Oxydationsprodukte sammelten wir sodann in mittels Eis gekühltem Wasser unter Berücksichtigung der entweichenden Kohlensäure, welche letztere in Absorptionsapparaten aufgefangen wurde.

Die Produkte der Oxydation des Alkohols, und zwar Aldehyd, Essigsäure und Kohlendioxyd wurden sodann qualitativ nachgewiesen.

Zur Bestimmung des Aldehyds verwendeten wir eine ammoniakalisch-alkalische Silberlösung, welche schon von Spuren von Aldehyd reduziert wird.

Wir benützten noch andere Methoden zum weiteren Nachweis des Aldehyds, und zwar:

1. Die Bildung von Aldehydharz durch Erhitzen mit konzentrierter NaOH .
2. Die Reaktion mit NESSLER's Reagens nach CRISMER und
3. Die Jodoformprobe nach LIEBEN.

Wir haben in der angegebenen Weise von PALLADIN und KOSTYTSCHEW die Versuche wiederholt und gefunden, dass das Toluol sich ziemlich gut abtrennen lässt.

Ausserdem stellten wir aber noch weitere Versuche mit durch Sublimat sterilisierten Zuckerrübenwurzeln und Kartoffelknollen an. Die Zuckerrübenwurzeln und Kartoffelknollen wurden bei einer Temperatur von -25° in einer Kältemischung 24 Stunden stehen gelassen. Hierauf wurden die Zuckerrübenwurzeln und Kartoffelknollen

im Wasserstoffstrom 48 Stunden belassen und mittels der hier bereits erwähnten Methoden sodann das Kohlendioxyd und der Alkohol bestimmt.

Hier konnten wir nachstehende Resultate konstatieren.

Bei der anaëroben Atmung in Toluoldämpfen:

Blattwerk der Zuckerrübe im Gewichte von	159 g
Ausgeatmetes CO_2	141,8 mg
Menge des gebildeten Alkohols	129,8 „

Zuckerrübenwurzel im Gewichte von	60 g
Ausgeatmetes CO_2	78,3 mg
Menge des gebildeten Alkohols	74,3 „

Anaërobe Atmung der durch Sublimat sterilisierten Wurzel der Zuckerrübe:

Gewicht der Wurzel	461 g
Ausgeatmetes CO_2	324 mg
Menge des gebildeten Alkohols	293 „

Gewicht der durch Sublimat sterilisierten Kartoffel	= 352 g
Ausgeatmetes CO_2	= 0,468 mg
Menge des gebildeten Alkohols	= 0,393 mg

Es ist hier noch zu erwähnen, dass wir die kleinsten Mengen Alkohol, welche sich vor dem Versuche im Blattwerke, sowie in der Wurzel der Zuckerrübe und Kartoffelknollen vorfanden, bei der anaëroben Atmung von der Gesamtmenge des Alkohols abgezogen haben. Im Blattwerke waren bloss Spuren von Alkohol vorhanden. In der Wurzel der Zuckerrübe wurde nach mehreren Bestimmungen pro 1 kg frischer Substanz 26 mg Alkohol gefunden. In den Knollen der Kartoffel konnten wir pro 1000 g frischer Substanz 14 mg Alkohol konstatieren.

Auf das Vorhandensein des Alkohols in den gefrorenen Rübenwurzeln haben schon STROHMER und STIFT¹⁾ aufmerksam gemacht:

Sie sagen in ihrer Abhandlung Folgendes: „Dass die Tätigkeit der Enzyme der Rübenwurzeln durch das Gefrieren, wenigstens innerhalb der in unseren Versuchen eingehaltenen Temperaturgrenzen, nicht eingestellt wird, zeigt auch der Umstand, dass in allen gefrorenen Rüben die Anwesenheit von Äthylalkohol, dessen Bildung ja mit Enzymtätigkeit in ursächlichem Zusammenhange steht, nachgewiesen werden konnte.“

1) STROHMER und STIFT: „Über den Einfluss des Gefrierens auf die Zusammensetzung der Zuckerrübenwurzel“. Österr.-ungar. Zeitschr. für Zuckerindustrie und Landwirtschaft, Heft VI, Wien 1904.

Die nachstehenden Zahlen zeigen uns die Verhältnisse zwischen dem gebildeten CO_2 und Alkohol.

Die Menge des Alkohols, wenn $\text{CO}_2 = 100$ ist,
 beläuft sich bei der anaëroben Atmung des
 Blattwerkes der Zuckerrübe auf 91,53 *mg* Alkohol
 bei der Zuckerrübenwurzel im ersten Falle auf . 94,89 „ „
 bei der Zuckerrübenwurzel im zweiten Falle auf 90,43 „ „
 bei der anaëroben Atmung der erfrorenen Kar-
 toffel auf 83,97 „ „

Aus den Resultaten unserer Beobachtungen erkennen wir, dass die anaërobe Atmung der erfrorenen Organe der Samenpflanzen, und zwar des Blattwerkes sowie der Wurzel der Zuckerrübe und der Knollen der Kartoffel eine alkoholische Gärung ist.

Wenn bei der anaëroben Atmung die Menge des ausgeschiedenen Kohlendioxyds auf ein minimales Quantum sinkt, wir sodann den Wasserstoffstrom durch Luftstrom ersetzen, so wird neuerdings Kohlendioxyd durch die Oxydationsprozesse ausgeschieden.

Wir haben die in unserer ausführlich erschienenen Arbeit in HOPPE-SEYLER's Zeitschrift für physiologische Chemie in Tabelle XII und XIII spezifizierten Versuche mit Zuckerrübe in der Weise ergänzt, indem wir nach der anaëroben Atmung Luft durch die Versuchszylinder passieren liessen. Die Menge des ausgeatmeten Kohlendioxyds beim Blattwerk auf 100 *g* frische Substanz berechnet binnen 96 Stunden stieg auf 166,1 *mg*, bei der Wurzel auf 81,5 *mg* innerhalb derselben Zeit.

Wir sehen daher, dass sich die Menge des ausgeatmeten Kohlendioxyds beim Blattwerk auf 100 *g* Trockensubstanz berechnet pro Stunde auf 11,7 *mg*, bei der Wurzel auf 4 *mg* beziffert.

Dieses Experiment bestätigte uns dieselbe Erscheinung, welche sich bei den ungefrorenen Organen abspielt.

85. Fr. Tobler: Zur Biologie der Epiphyten im Meere.

Eingegangen am 18. Dezember 1906.

Die BERTHOLD'sche Arbeit über die Verteilung der Algen im Golf von Neapel¹⁾ ist für ein gewisses Gebiet mariner Biologie grundlegend gewesen. Während bis dahin fast nur systematische

1) Mitteilungen der zool. Station zu Neapel, Band 3, 1882.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft](#)

Jahr/Year: 1906

Band/Volume: [24](#)

Autor(en)/Author(s): Stoklasa Julius, Chocensky Adolf Ernest, Chocensky Karl

Artikel/Article: [Über die anaerobe Atmung der Samenpflanzen und über die Isolierung der Atmungsenzyme. 542-552](#)