

# Über die Einwirkung der Gärungsprodukte und der Phosphate auf die Pflanzenatmung.

Von

S. Kostytschew und A. Scheloumow.

## Einleitung.

Die Erforschung des Zusammenhanges der Sauerstoffatmung der Pflanzen mit der Alkoholgärung ist von großer Bedeutung für die Pflanzenchemie, da die Lösung dieses Problems mit der Aufklärung des Mechanismus des Atmungsprozesses zusammenhängt. Diese wichtige Frage hat sich zurzeit etwas verwickelt durch den Befund, daß sowohl die Sauerstoffatmung, als die Alkoholgärung, den neueren Ergebnissen zufolge, von den Phosphaten abhängen. Im Interesse einer planmäßigen weiteren Bearbeitung dieses Gegenstandes erscheint es nunmehr als notwendig, eine Zusammenfassung der bisher bekannt gewordenen einschlägigen Tatsachen zu geben, das experimentell Begründete von dem Hypothetischen zu trennen und die Wahrscheinlichkeit des letzteren zu beurteilen.

Wie bekannt, bilden Kohlenhydrate das hauptsächlichste Material für die Pflanzenatmung. Bereits Pfeffer <sup>1)</sup> und alsdann Wortmann <sup>2)</sup> hielten jedoch eine direkte Oxydation der Zuckerarten für nicht möglich und setzten voraus, daß die primäre Phase der Atmung nichts anderes ist, als eine Spaltung der Zuckermoleküle, die auch bei Sauerstoffabschluß fort dauert. Späterhin ergab es sich, daß diese primäre Zuckerspaltung bei den meisten Pflanzen mit der Alkoholgärung identisch ist <sup>3)</sup>. Die Alkoholgärung der

1) W. Pfeffer, Landwirtschaftliche Jahrbücher, 1878, Bd. 7, S. 805.

2) Wortmann, Arbeiten des botan. Instituts zu Würzburg, 1880, Bd. 2, S. 500.

3) Godlewski und Polzeniusz, Bulletin de l'Académie des sciences de Cracovie, 1897, S. 267 und 1901, S. 227; Godlewski, ebenda, 1904, S. 115; Nabokich, Botanische Berichte, 1903, Bd. 21, S. 398; Kostytschew, ebenda, 1907, Bd. 25, S. 44.

Samenpflanzen wird in gleicher Weise wie die Alkoholgärung der Hefepilze durch Zymase hervorgerufen<sup>1)</sup> und erlischt also nicht immer nach der Abtötung der Pflanzen. Die neueren Untersuchungen haben dargetan, daß Zymase in abgetöteten Pflanzen nicht nur bei Sauerstoffabschluß, sondern auch bei vollkommenem Sauerstoffzutritt wirksam bleibt<sup>2)</sup>. Beachtenswert ist auch der Umstand, daß die verschiedenen unter ganz normalen Aerationverhältnissen vegetierenden Samenpflanzen nach Abtötung zymasehaltige Präparate liefern<sup>3)</sup>.

In Anbetracht dieser Tatsachen hätte man erwarten können, daß in lebenden Pflanzen fortwährend Äthylalkohol aus Zucker entsteht. Um so merkwürdiger erscheint es demnach, daß in normal vegetierenden Samenpflanzen keine oder nur minimale Alkoholmengen aufgefunden waren. Ein schönes Beispiel hierfür geben Erbsensamen. Durch niedere Temperatur getötete Samen bilden sowohl bei Sauerstoffzutritt, als bei Sauerstoffabschluß bedeutende Mengen von Äthylalkohol<sup>4)</sup>. Lebende Samen bilden den Alkohol nur bei Sauerstoffmangel<sup>5)</sup>; die Alkoholproduktion der lebenden Samen wird also durch molekularen Sauerstoff vollständig unterdrückt. Wie ist dieser Befund zu erklären? Es ist wohl zu beachten, daß die meisten Samenpflanzen fortwährend bei tadelloser Aeration leben; infolgedessen ist die Annahme, daß ein allgemein verbreitetes, aber nur für anaerobe Lebensverhältnisse notwendiges Ferment bei Luftzutritt als Reserveferment vorgebildet wird und also in den meisten Pflanzen überhaupt nicht zur Wirkung kommt, unbedingt abzuweisen; eine derartige Voraussetzung widerspricht allen unseren Vorstellungen über die Bildung und Bedeutung der Fermente. Die einzig mögliche Deutung der Vorgänge ist also die folgende: die Produkte der Zymasegärung werden bei den Oxydationsvorgängen verbraucht. Diese Anschauung stimmt mit den Resultaten der Untersuchungen über oxydierende Fermente gut

1) Stoklasa und Černý, Chemische Berichte, 1903, Bd. 36, S. 622; Stoklasa, V. Intern. Kongreß für angew. Chemie, 3. Juni 1903; Pflügers Archiv f. Physiologie, 1904, Bd. 101, S. 311; Stoklasa, Jelínek und Vitek, Hofmeist. Beiträge, 1903, Bd. 3, S. 460.

2) Palladin und Kostytschew, Zeitschrift für physiologische Chemie, 1906, Bd. 48, S. 214.

3) Palladin und Kostytschew, a. a. O.; Stoklasa, Ernest u. Chocenský, Zeitschr. f. physiol. Chemie, 1907, Bd. 50, S. 303.

4) Palladin und Kostytschew, a. a. O.

5) Kostytschew, Biochem. Zeitschr., 1908, Bd. 15, S. 174.

überein. Die Entdeckung der Oxydasen in Pflanzen hatte ein so großes Aufsehen seitens der Physiologen gewiß nur darum erregt, weil man den Oxydasen eine wichtige Rolle am Atmungsprozesse, dem bedeutungsvollsten Lebensvorgange zumutete. Weitere Untersuchungen ergaben jedoch, daß Oxydasen nicht imstande sind, Zucker direkt anzugreifen<sup>1)</sup>. Die meisten aus Pflanzen isolierten oxydierenden Agentien können selbst unbeständige Phenolderivate nicht zu den Endprodukten der Atmung oxydieren<sup>2)</sup>. Die Annahme, daß Oxydasen am Atmungsprozesse beteiligt sind, können wir also nur unter folgender Voraussetzung akzeptieren: eine primäre Spaltung der Zuckermoleküle führt zur Bildung der labilen leicht oxydierbaren Verbindungen; letztere werden alsdann durch Eingreifen der oxydierenden Fermente zu den Endprodukten der Atmung verbrannt.

Vor einiger Zeit hat einer von uns tatsächlich gefunden, daß die aus Weizenkeimen dargestellte Peroxydase eine stark oxydierende Wirkung hat auf Zuckerlösungen, welche während einiger Zeit durch zymasereiche Dauerhefe behandelt worden waren. Die Oxydation schritt bis zur ausgiebigen CO<sub>2</sub>-Bildung fort. Dieselben Peroxydasepräparate übten jedoch unter denselben Bedingungen keine Wirkung auf unvergorenen Traubenzucker aus<sup>3)</sup>. Diese Resultate zeigen, daß oxydierende Pflanzenfermente imstande sind, eine totale (zur CO<sub>2</sub>-Bildung schreitende) Oxydation der Pflanzenstoffe zu bewirken. Sehr beachtenswert ist der Umstand, daß namentlich Stoffe, welche in zymasereichen Objekten enthalten bzw. gebildet sind, durch Peroxydase zu CO<sub>2</sub> oxydiert werden können.

Nun fragt es sich, welche Produkte der Zymasewirkung bei der Sauerstoffatmung verbrannt werden? Nach eigenen Versuchen<sup>4)</sup> findet gar keine Oxydation des Äthylalkohols in Weizensamen und Weizenkeimen statt; die Atmung der genannten Objekte erfolgt

1) Portier, Les oxydases dans la série animale, 1897.

2) Bertrand, Comptes rendus, 1896, Bd. 122, S. 1132.

3) Kostytschew, Zeitschr. f. physiol. Chemie, 1910, Bd. 67, S. 116. In dieser Mitteilung sind die wichtigsten Literaturangaben über den Mechanismus der physiologischen Oxydationsvorgänge zusammengestellt.

4) Kostytschew, Biochem. Zeitschr., 1908, Bd. 15, S. 181. Auch mit anderen Objekten wurden übereinstimmende Resultate von Wehmer (Centrabl. f. Bakt., Abt. II, 1905, Bd. 14, S. 556) und Maze et Perrier (Annales de l'Inst. Pasteur, 1904, Bd. 18, S. 740) erzielt.

aber auf Kosten von Traubenzucker; es ist also einleuchtend, daß Äthylalkohol kein Zwischenprodukt der Zuckerveratmung darstellt. Auch in Erbsensamen ist höchstens eine unvollkommene Oxydation des Alkohols anzunehmen<sup>1)</sup>.

Überblicken wir die Gesamtheit der eben besprochenen experimentell begründeten Tatsachen, so ergibt sich folgendes:

1. Die Alkoholgärung der Samenpflanzen wird durch Zymase hervorgerufen. In getöteten Pflanzen wird sowohl bei Sauerstoffabschluß als bei Sauerstoffzutritt Äthylalkohol gebildet. Die Tätigkeit der Zymase ist also an und für sich vom Luftsauerstoff unabhängig.

2. In lebenden Pflanzen findet Alkoholbildung nur bei Sauerstoffmangel statt.

3. Zymase begleitende Stoffe können durch Peroxydase zu den Endprodukten der Sauerstoffatmung oxydiert werden. Traubenzucker wird bei derselben Behandlung zu  $\text{CO}_2$  nicht oxydiert.

4. Äthylalkohol wird durch die bisher untersuchten Pflanzen zu den Endprodukten der Atmung nicht oxydiert.

Wir sehen also, daß, obwohl eine Oxydation des Alkohols ausbleibt, letzterer dennoch in zymasehaltigen Samenpflanzen bei Sauerstoffzutritt nicht zu finden ist; es ist hiernach die Voraussetzung sehr plausibel, daß intermediäre Gärungsprodukte bei der Sauerstoffatmung zu  $\text{CO}_2$  und  $\text{H}_2\text{O}$  verbrannt werden, bevor noch Alkoholbildung aus Zucker erfolgt. Diese Ansicht liefert eine befriedigende Aufklärung der gesamten oben zusammengestellten Tatsachen und ist auch von vornherein sehr wahrscheinlich: nach der bekannten Ostwaldschen Regel sind primäre Produkte der komplizierten Reaktionen immer die am leichtesten entstehenden, also labilen, Verbindungen; solche Stoffe sind oft leicht oxydierbar. Äthylalkohol wird dagegen schwerer oxydiert als Zuckerarten; eine bis zur Bildung von Endprodukten fortschreitende Zymasegärung sollte also die Zuckeroxydation nicht befördern, sondern vielmehr beeinträchtigen.

Diese von einem von uns<sup>2)</sup> ausführlich dargelegte Hypothese kann zurzeit noch nicht endgültig bewiesen werden. Da der Mechanismus der Alkoholgärung nicht aufgeklärt ist, so sind wir nicht

1) Kostytschew, Biochem. Zeitschr., 1908, Bd. 15, S. 178.

2) S. Kostytschew, Biochem. Zeitschr., 1908, Bd. 15, S. 187 und 1909, Bd. 23, S. 137; Zeitschr. f. physiol. Chemie, 1910, Bd. 67, S. 116.

imstande, die intermediären Gärungsprodukte zu isolieren und die Verarbeitung dieser Stoffe bei der Sauerstoffatmung zu untersuchen; nur diese und keine andere Methode könnte aber einen exakten Nachweis obiger Hypothese liefern.

Die Wichtigkeit der Frage nach dem Mechanismus der Zucker-  
 veratmung hat einen von uns<sup>1)</sup> bewogen, die Anteilnahme inter-  
 mediärer Gärungsprodukte am Atmungsprozesse vorläufig durch  
 indirekte Versuche zu prüfen. Diese Untersuchung ergab, daß  
 fermentativ vergorene Zuckerlösungen eine stark stimulierende Wir-  
 kung ausüben auf die CO<sub>2</sub>-Produktion der Weizenkeime bei Sauer-  
 stoffzutritt. Der Aufschwung der CO<sub>2</sub>-Abscheidung war in diesem  
 Falle bedeutend größer, als bei Anwendung von nicht vergorenen  
 Zuckerlösungen, welche die Atmung der Weizenkeime ebenfalls  
 befördern. Nach den Angaben von A. Lebedew<sup>2)</sup> sind aber in  
 fermentativ vergorenen Zuckerlösungen intermediäre Gärungsprodukte  
 enthalten, da der Zuckerverbrauch bei Abwesenheit von lebenden  
 Hefezellen schneller erfolgt, als die CO<sub>2</sub>-Produktion; dies beweist  
 also, daß ein Teil der Zuckermoleküle nicht zu den Endprodukten  
 der alkoholischen Gärung zerspalten wird. Bereits früher hat  
 E. Buchner<sup>3)</sup> gefunden, daß bei der zellfreien Zymasegärung die  
 Summe der Mengen von CO<sub>2</sub> und Alkohol immer bedeutend ge-  
 ringer ist als die Menge des verschwundenen Zuckers. Dieses  
 Resultat ist durchaus begreiflich: nach der Abtötung der Hefezellen  
 wird die regulierende Tätigkeit des Protoplasmas aufgehoben und  
 die Korrelation der Leistungen einzelner Fermente gestört; infolge-  
 dessen verläuft der Gärungsvorgang nicht so glatt wie in lebenden  
 Zellen. Das Auftreten intermediärer Produkte der komplizierten  
 biochemischen Reaktionen nach dem Abtöten des lebenden Plasmas  
 ist von großer Wichtigkeit für die Erforschung des Chemismus der-  
 jenigen vitalen Vorgänge, welche vom Standpunkte der modernen  
 Chemie aus noch ziemlich rätselhaft erscheinen.

Nachdem der Befund gemacht worden war, daß fermentativ  
 vergorene Zuckerlösungen die Sauerstoffatmung der Weizenkeime  
 stark stimulieren, tauchte die Frage auf, ob der Aufschwung der  
 CO<sub>2</sub>-Produktion wirklich auf Oxydationsvorgänge zurückzuführen  
 ist. Es ist wohl zu beachten, daß eine Steigerung der CO<sub>2</sub>-Pro-

1) Vgl. Anm. 2 auf S. 160.

2) A. Lebedew, Biochem. Zeitschr., 1908, Bd. 10, S. 454.

3) E. Buchner, H. Buchner und M. Hahn, Die Zymasegärung, 1903, S. 210.

duktion der Weizenkeime durch intermediäre Gärungsprodukte auch bei Sauerstoffabschluß bestimmt zu erwarten wäre, und zwar wegen totaler Vergärung der labilen Gärungsprodukte durch die Zymase der Weizenkeime unter Bildung von Äthylalkohol und Kohlendioxyd. Dieser Vorgang hat selbstverständlich mit meiner Hypothese nichts zu tun. Direkte Alkoholbestimmungen ergaben jedoch<sup>1)</sup>, daß der durch vergorene Zuckerlösungen verursachte Aufschwung der CO<sub>2</sub>-Produktion der Weizenkeime bei normalen Aerationsverhältnissen von einer Alkoholbildung nicht begleitet wird; hieraus ist ersichtlich, daß auch der Überschuß von gebildetem Kohlendioxyd nicht auf anaeroben Vorgang der Alkoholgärung zurückzuführen ist, sondern von den Oxydationskonzentrationen herrührt.

Die in den soeben erwähnten Versuchen verwendeten vergorenen Zuckerlösungen enthielten meistens etwa 3% Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, waren aber vor dem Gebrauche neutral gemacht. Der Zusatz von Natriumphosphat erfolgte auf Grund der bekannten Tatsache, daß die Alkoholgärung durch Phosphate bedeutend stimuliert wird. Nach den Angaben von Wroblewski<sup>2)</sup>, Harden und Young<sup>3)</sup> und Buchner und Antoni<sup>4)</sup> haben anorganische Phosphate eine stark befördernde Wirkung auf fermentative Alkoholgärung. Buchner und Antoni setzten voraus, daß Phosphate ein Koferment für Zymase bilden. Weitere ausführliche Untersuchungen von Harden und Young<sup>5)</sup> haben dargetan, daß Phosphate und Zuckerarten in eine esterartige Verbindung treten und daß namentlich diese Verbindung als ein Koferment der Zymase anzusehen ist. L. Iwanoff<sup>6)</sup> hat die Bildung der organischen phosphorhaltigen Substanz bei der fermentativen Gärung bestätigt; dieser Forscher behauptet aber, daß die genannte Verbindung eine Triosephosphorsäure und somit ein intermediäres Gärungsprodukt vorstellt. Die Analysen von

1) Kostytschew, Biochem. Zeitschr., 1909, Bd. 23, S. 137.

2) Wroblewski, Journal f. prakt. Chemie, 1901, Bd. 64, S. 1.

3) Harden and Young, Proceed. of the physiol. soc. Nov. 1904; Proceed. of the Royal soc., 1906, Bd. 77, S. 405.

4) Buchner und Antoni, Zeitschr. f. physiol. Chemie, 1905, Bd. 46, S. 136.

5) Harden and Young, Proceed. of the Royal Soc., 1906, Bd. 77, S. 405; 1906, Bd. 78, S. 369; 1908, Bd. 80, S. 299; 1909, Bd. 81, S. 336; Centralbl. f. Bakteriologie, Abt. II, 1910, Bd. 26, S. 178.

6) L. Iwanoff, Zeitschr. f. physiol. Chem., 1907, Bd. 50, S. 281; Centralbl. f. Bakt., Abt. II, 1909, Bd. 24, S. 1.

Young<sup>1)</sup> und A. Lebedew<sup>2)</sup> beweisen jedoch, daß die fragliche Substanz als eine Hexosephosphorsäure anzusehen ist. Die neuesten Mitteilungen von Harden und Young<sup>3)</sup> und namentlich von Young<sup>4)</sup> sind als ausschlaggebend zu betrachten. Nach den trefflichen Untersuchungen der englischen Forscher handelt es sich um eine Verbindung von Hexose mit zwei Phosphorsäureresten von der Formel  $C_6H_{10}O_4(PH_2O_4)_2$ , Glukose, Fruktose und Mannose bilden eine und dieselbe Hexosephosphorsäure, welche bei der Hydrolyse immer nur Fruktose und Phosphorsäure liefert.

Es ist also ersichtlich, daß Phosphate den Vorgang der Alkoholgärung stark befördern, und es wäre hiernach die Annahme nicht unwahrscheinlich, daß der mit der Alkoholgärung zusammenhängende Atmungsprozeß durch Phosphate ebenfalls stimuliert werden könnte. Dieser Gedanke veranlaßte mich zu prüfen, ob nicht namentlich Phosphate den wirksamen Bestandteil der vergorenen Lösungen ausmachten, welche in meinen Versuchen die Sauerstoffatmung so stark stimulierten<sup>5)</sup>. Eine direkte Untersuchung der Einwirkung der Phosphate auf die Sauerstoffatmung der Weizenkeime ergab jedoch negatives Resultat<sup>6)</sup>: weder anorganische Phosphate, noch die nach den Angaben von L. Iwanoff<sup>7)</sup> aus vergorenen Zuckerlösungen isolierte Hexosephosphorsäure übten dieselbe Wirkung aus, wie total verwendete vergorene Zuckerlösungen. Anorganische Phosphate haben den Atmungsprozeß überhaupt nicht stimuliert; die Einwirkung der Hexosephosphorsäure war ziemlich schwach und konnte einfach auf die Einwirkung der Kohlenhydratgruppe der esterartigen Verbindung zurückgeführt werden: freie Glukose bewirkte ebenfalls eine Steigerung der  $CO_2$ -Produktion der Weizenkeime; die befördernde Wirkung der vergorenen Lösungen war aber bedeutend stärker als diejenige von Glukose oder von Hexosephosphorsäure.

Späterhin wurde die Frage nach der Einwirkung der Phosphate

1) Young, *Proceed. of the Chem. Soc.*, 1907, Bd. 23, S. 65; *Proc. Royal Soc.*, 1909, Bd. 81, S. 528.

2) A. Lebedew, *Biochem. Zeitschr.*, 1903, Bd. 20, S. 114, 1910, Bd. 28, S. 213.

3) Harden und Young, *Biochem. Zeitschr.*, 1911, Bd. 32, S. 173.

4) Young, *Biochem. Zeitschr.*, 1911, Bd. 32, S. 177.

5) S. Kostytschew, *Biochem. Zeitschr.*, 1908, Bd. 15, S. 187.

6) S. Kostytschew, *Biochem. Zeitschr.*, 1908, Bd. 15, S. 190.

7) L. Iwanoff, *Zeitschr. f. physiol. Chemie*, 1906, Bd. 50, S. 281.

auf die Sauerstoffatmung der Pflanzen von N. Iwanoff<sup>1)</sup>, L. Iwanoff<sup>2)</sup> und Zaleski und Reinhard<sup>3)</sup> in Angriff genommen. Die genannten Forscher haben gefunden, daß Phosphate die Atmung von Weizenkeimen und anderen abgetöteten Pflanzen stimulieren. Diese Resultate widersprechen im allgemeinen den Ergebnissen meiner früher publizierten Untersuchung<sup>4)</sup>. Die Aufklärung dieses Widerspruchs bildet eine der Aufgaben der vorliegenden Mitteilung.

N. Iwanoff hat dargetan, daß nur alkalisch reagierendes Dinatriumphosphat eine Steigerung der CO<sub>2</sub>-Abscheidung der Weizenkeime bewirkt, während sauer reagierendes Monokaliumphosphat inaktiv bleibt, oder gar eine Hemmung der CO<sub>2</sub>-Produktion hervorruft. Zaleski und Reinhard haben ganz analoge Resultate zu verzeichnen. L. Iwanoff will durch verdünnte (0,4-proz.) Lösungen von NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> und KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> eine Steigerung der CO<sub>2</sub>-Produktion der Weizenkeime bewirken können. Was nun die Erklärung der Wirkungsweise der Phosphate auf die Atmung der Samenpflanzen anbelangt, so sind die oben zitierten Autoren darüber miteinander nicht einverstanden. Zaleski und Reinhard haben gefunden, daß die Steigerung der CO<sub>2</sub>-Produktion bei Sauerstoffzutritt beträchtlicher ist als bei Sauerstoffabschluß, und ziehen hieraus den Schluß, daß Phosphate sowohl die anaerobe Atmung, d. h. die Alkoholgärung, als auch die Oxydationsvorgänge der Weizenkeime befördern. N. Iwanoff und L. Iwanoff behaupten dagegen, daß anorganische Phosphate nur die anaerobe CO<sub>2</sub>-Ausscheidung von Weizenkeimen und anderen Pflanzen stimulieren. Diese Schlußfolgerung stützt sich nur auf die Tatsache, daß eine Steigerung der CO<sub>2</sub>-Produktion durch Phosphate sowohl bei Sauerstoffzutritt, als bei Sauerstoffabschluß eintritt. Es ist dies aber keine reelle Begründung! Sekundäre Phosphate können angeblich verschiedenartige Fermente stimulieren. Die Beförderung der Zymaseleistung durch Phosphate ist festgestellt; die Steigerung der anaeroben CO<sub>2</sub>-Produktion der Weizenkeime ist also leicht begreiflich. Nach den ausführlichen Untersuchungen von J. Wolff<sup>5)</sup> werden aber sowohl fermentative als nicht fermentative Oxydationsreaktionen durch se-

1) N. Iwanoff, Bulletin de l'Académie des sciences de St. Petersburg, 1910, S. 303.

2) L. Iwanoff, Biochem. Zeitschr., 1910, Bd. 25, S. 171.

3) Zaleski und Reinhard, Biochem. Zeitschr., 1910, Bd. 27, S. 450.

4) Kostytschew, a. a. O.

5) J. Wolff, Contribution à la connaissance de divers phénomènes oxydasiques naturels et artificiels, Laval, 1910.

kundäre Phosphate ebenfalls stark befördert; diese Stimulation der Oxydationsvorgänge kann in Weizenkeimen selbstverständlich nur bei Sauerstoffzutritt stattfinden. Wäre nur die anaerobe  $\text{CO}_2$ -Abspaltung durch Phosphate beschleunigt, so sollten sowohl bei Sauerstoffzutritt, als bei Sauerstoffabschluß gleiche Mengen des überschüssigen Kohlendioxyds gebildet werden, wie es Zaleski und Reinhard mit Recht betonen. Die genannten Forscher weisen darauf hin, daß noch andere Fermente, und zwar namentlich Katalase und Reduktase durch sekundäre Phosphate beträchtlich stimuliert werden<sup>1)</sup>.

L. Iwanoff will außerdem aus seinen Versuchen den Schluß ziehen, daß die Steigerung der  $\text{CO}_2$ -Produktion, welche einer von uns<sup>2)</sup> an Weizenkeimen unter dem Einfluß vergorener Lösungen beobachtete, nicht durch Gärungsprodukte, sondern durch Phosphate bewirkt worden war und auf eine Stimulation der anaeroben Atmung der Weizenkeime bei gutem Sauerstoffzutritt zurückzuführen ist.

Im experimentellen Teil der vorliegenden Mitteilung wird dargetan werden, daß der Einfluß vergorener Zuckerlösungen schlechterdings nicht von den Phosphaten abhängt; wir wollen also einstweilen auf diesen Punkt nicht näher eingehen. Was nun die Schlußfolgerung L. Iwanoffs anbelangt, daß vergorene Zuckerlösungen und Phosphate nur die anaerobe  $\text{CO}_2$ -Produktion, d. h. die alkoholische Gärung der Weizenkeime stimulieren, so haben wir bereits darauf hingewiesen, daß diese Voraussetzung nicht begründet ist. L. Iwanoff kennt allerdings die einschlägigen Untersuchungen von J. Wolff<sup>3)</sup> gar nicht, da er die genannte Arbeit nicht einmal erwähnt. Ich<sup>4)</sup> habe außerdem schon früher darauf aufmerksam gemacht, daß die Annahme L. Iwanoffs meinen Resultaten direkt widerspricht: ich hatte gefunden<sup>5)</sup>, daß die durch vergorene Zuckerlösungen gesteigerte  $\text{CO}_2$ -Produktion ohne Alkoholbildung stattfindet und folglich nicht als eine Steigerung der alkoholischen Gärung anzusehen ist. In seiner zweiten Mitteilung polemischen Inhaltes beantwortet L. Iwanoff diesen Einwand auf folgende Weise:

---

1) Zaleski und Reinhard, a. a. O., S. 472.

2) S. Kostytschew, Biochemische Zeitschrift, 1908, Bd. 15, S. 188; 1909, Bd. 23, S. 137.

3) J. Wolff, a. a. O.

4) S. Kostytschew, Biochem. Zeitschr., 1910, Bd. 27, S. 326.

5) S. Kostytschew, Biochem. Zeitschr., 1909, Bd. 23, S. 140.

... „Weiter bemerke ich in meiner Arbeit, daß diese Stimulatoren namentlich die Ausscheidung der anaeroben  $\text{CO}_2$  beschleunigen und auf die Sauerstoffabsorption der Weizenkeime keine große Wirkung auszuüben scheinen. Dagegen ist die Frage, ob die anaerobe Spaltung von einer Alkoholbildung begleitet wird, von mir gar nicht berührt worden“<sup>1)</sup>.

Diese Antwort ist überraschend: in seiner ersten Publikation, auf die er sich beruft, schreibt L. Iwanoff wörtlich folgendes<sup>2)</sup>:

„... Diese Tatsache in Verbindung mit dem Charakter der Phosphatwirkung zeigt uns deutlich, daß wir es hier mit der Zunahme der von der alkoholischen Gärung entstammenden  $\text{CO}_2$  zu tun haben“, und fährt weiter fort: „Dieses Resultat erklärt vielleicht jene Steigerung der  $\text{CO}_2$ -Ausscheidung, die Kostytschew bei Weizenkeimen unter dem Einfluß durch Zymin vergorener Zuckerlösungen beobachtet hatte“ . . . usw.

Es muß außerdem in Betracht gezogen werden, daß die anaerobe Atmung der Weizenkeime mit der Alkoholgärung identisch ist<sup>3)</sup>. Wenn also L. Iwanoff in seiner letzten Mitteilung<sup>1)</sup> das Wort „Alkoholgärung“ absichtlich vermeidet, so ändert dies gar nicht den Sinn seiner Auseinandersetzungen.

Im experimentellen Teil seiner Arbeit<sup>1)</sup> bezeichnet L. Iwanoff nur diejenige  $\text{CO}_2$ -Menge als aerob, welche der Menge des gleichzeitig aufgenommenen Sauerstoffs äquimolekular ist. Den etwa vorhandenen Überschuß von Kohlendioxyd führt er ohne weiteres auf anaerobe Vorgänge zurück. Diese Annahme ist vollkommen willkürlich. Das Verhältnis  $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$  bei der Sauerstoffatmung schwankt in weiten Grenzen unter dem Einfluß verschiedener äußerer Verhältnisse<sup>5)</sup> und der chemischen Natur des zu oxydierenden Materials<sup>6)</sup>. So ist z. B.  $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$  bei der totalen Oxydation des Äthylalkohols theoretisch gleich 0,67, bei der Oxydation der Oxalsäure aber gleich 4,0. Für die Beurteilung der Frage, ob

1) L. Iwanoff, Biochem. Zeitschr., 1910, Bd. 29, S. 347.

2) L. Iwanoff, Biochem. Zeitschr., 1910, Bd. 25, S. 179.

3) Palladin u. Kostytschew, Zeitschr. f. physiol. Chemie, 1906, Bd. 48, S. 230.

4) L. Iwanoff, Biochem. Zeitschr., 1910, Bd. 25, S. 176.

5) Puriewitsch, Jahrb. f. wiss. Bot., 1902, Bd. 35, S. 573; Annal. des sciences natur. botanique, 1905, sér. 9, Vol. 1, p. 1.

6) Diaconow, Botan. Berichte, 1887, Bd. 5, S. 115; Puriewitsch, Jahrb. f. wiss. Bot., 1902, Bd. 35, S. 573.

das gebildete Kohlendioxyd aeroben oder anaeroben Vorgängen entstammt, liefert die Größe von  $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$  keine zuverlässigen Anweisungen. Infolgedessen ist auch die Manometermethode von L. Iwanoff für die Bestimmung des bei der Sauerstoffatmung produzierten Kohlendioxyds wenig geeignet. Das Manometer zeigt nur den gesamten Gasdruck im Versuchskolben, während die etwa stattgefundenen Änderungen der Partialdrucke von  $\text{CO}_2$  und  $\text{O}_2$  unbekannt bleiben. Es kann also z. B. ein Sinken der Sauerstoffaufnahme mit der Steigung der  $\text{CO}_2$ -Ausscheidung verwechselt werden. Außerdem sollte die Manometermethode überhaupt nur bei Konstantbleiben der Temperatur Anwendung finden.

Es ist übrigens wohl möglich, daß in den Versuchen von L. Iwanoff eine Alkoholbildung stattgefunden hatte; diese Versuche wurden nämlich bei einer nicht tadellosen Aeration ausgeführt, da die Keime mit einer zwei- bis dreifachen Menge von verschiedenen Flüssigkeiten in die Versuchskolben gebracht wurden und auf dem Boden lagen. Der Verfasser meint zwar, daß bei einer derartigen Versuchsanstellung die Aeration eine ausreichende war, „besonders in den Luftstromversuchen“<sup>1)</sup>, doch muß ich darauf hinweisen, daß namentlich in den „Manometerversuchen“ ein Sauerstoffmangel eintreten könnte. Palladin<sup>2)</sup> zeigte, daß Bohnenblätter unter analogen Verhältnissen an Sauerstoffmangel leiden, was durch eine beträchtliche Erhöhung von  $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$  sich offenbart. In den Versuchen von L. Iwanoff war aber das Verhältnis  $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$  ebenfalls sehr groß, wie es der Verfasser selbst hervorhebt<sup>3)</sup>.

Durch diese kritischen Auseinandersetzungen will ich folgendes zeigen: die Annahme, daß Phosphate oder vergorene Zuckerlösungen bei vollkommenem Sauerstoffzutritt nur die anaerobe  $\text{CO}_2$ -Produktion befördern, ist nicht bewiesen und nicht einmal wahrscheinlich. Zuletzt sei noch erwähnt, daß bei Besprechung meiner Versuche über die Oxydation der in vergorenen Zuckerlösungen vorhandenen Stoffe durch Peroxydase L. Iwanoffs Standpunkt sich plötzlich ändert<sup>4)</sup>. L. Iwanoff bezweifelt nicht mehr die Tatsache,

1) L. Iwanoff, Biochem. Zeitschr., 1910, Bd. 29, S. 348.

2) Palladin, Botan. Berichte, 1902, Bd. 20, S. 227.

3) L. Iwanoff, Biochem. Zeitschr., 1910, Bd. 25, S. 176.

4) L. Iwanoff, Biochem. Zeitschr., 1910, Bd. 29, S. 348.

daß in fermentativ vergorenen Zuckerlösungen leicht oxydierbare Stoffe vorhanden sind; es können aber, seiner Meinung nach, Nebenprodukte der Gärung oder ähnliche Stoffe, nur nicht die intermediären Gärungsprodukte sein. Diese Reserve lasse ich mir wohl gefallen; ich will nur hervorheben, daß L. Iwanoff die Wahrscheinlichkeit der Anteilnahme fermentativ vergorener Zuckerlösungen an den Oxydationsvorgängen zum Schluß selbst anerkennt.

Aus obiger Besprechung der einschlägigen Literatur ist ersichtlich, daß die Einwirkung der Phosphate auf die Sauerstoffatmung der Samenpflanzen noch nicht vollkommen aufgeklärt ist. Während einer von uns<sup>1)</sup> keine Steigerung der CO<sub>2</sub>-Produktion durch anorganische Phosphate wahrzunehmen vermochte, haben die Untersuchungen von N. Iwanoff, L. Iwanoff und Zaleski und Reinhard<sup>2)</sup> zu ganz anderen Resultaten geführt, und es tauchte also wiederum die Frage auf, ob der Einfluß vergorener Zuckerlösungen auf die Sauerstoffatmung der Samenpflanzen nicht schlechthin durch die Einwirkung von Phosphaten zu erklären wäre. Die nachstehend beschriebenen Versuche haben den Zweck, eine Lösung der genannten Streitfragen herbeizuführen.

### Experimenteller Teil.

Unsere Versuche wurden mit Weizenkeimen ausgeführt. Auf Grund der vorliegenden Erfahrungen<sup>3)</sup> bilden Weizenkeime ein sehr günstiges Material für Untersuchungen über die Pflanzenatmung, da sie nach kurzdanerndem Einweichen in Wasser oder in verschiedenen Lösungen eine beträchtliche CO<sub>2</sub>-Produktion entwickeln und unter Umständen verschiedene Stoffe absorbieren und verarbeiten. Sämtliche Versuche wurden mit einem und demselben Präparat von Weizenkeimen ausgeführt<sup>4)</sup>; diese Keime erwiesen sich als nicht keimfähig<sup>5)</sup>.

1) S. Kostytschew, Biochem. Zeitschr., 1908, Bd. 15, S. 190.

2) N. Iwanoff, Bullet. de l'Acad. des sciences de St. Petersburg, 1910, S. 303; L. Iwanoff, Biochem. Zeitschr., 1910, Bd. 25, S. 171; Zaleski und Reinhard, ebenda, 1910, Bd. 27, S. 450.

3) S. Kostytschew, Biochem. Zeitschr., 1908, Bd. 15, S. 185.

4) Bezogen von der Stadtmühle Maggi in Zürich.

5) Bei dieser Gelegenheit muß darauf hingewiesen werden, daß die früher publizierten Versuche von S. Kostytschew (a. a. O.) mit keimfähigen Keimen ausgeführt worden waren. L. Iwanoff setzt voraus (Biochem. Zeitschr., Bd. 29, S. 348), daß die

Die Keime wurden im lufttrockenen Zustande abgewogen und im Verlaufe von einer Stunde in Wasser bezw. in verschiedenen Lösungen eingeweicht, dann abfiltriert, auf Streifen von dünnem Josephpapier geschmiert und die Papierstreifen in geräumigen U-Röhren locker verteilt. Alsdann wurde ein Luftstrom durch die U-Röhren geleitet und das von den Keimen produzierte Kohlendioxyd in Pettenkoferschen Röhren aufgefangen<sup>1)</sup>. In die Versuchsgefäße gelangte immer CO<sub>2</sub>-freie und mit Wasserdampf gesättigte Luft. In einigen Versuchen wurden lufttrockene Keime in flache konische Kolben hineingetan, mit einer geringen Menge von verschiedenen Lösungen übergossen und im Luftstrom belassen.

Zunächst haben wir uns bemüht, die Rolle der Phosphate am Atmungsprozesse ausführlicher zu erläutern. N. Iwanoff<sup>2)</sup> und nach ihm Zaleski und Reinhard<sup>3)</sup> haben dargetan, daß nur alkalisch reagierende sekundäre Phosphate die Atmungsenergie steigern, während sauer reagierende primäre Phosphate die Atmung von Weizenkeimen und anderen Pflanzen herabsetzen. Bereits früher hat einer von uns gefunden, daß Weizenkeime bei saurer Reaktion der zum Einweichen benutzten Flüssigkeit nur eine minimale CO<sub>2</sub>-Produktion zeigen. So hat z. B. 1-proz. Milchsäure die CO<sub>2</sub>-Abscheidung der Keime vollständig eingestellt<sup>4)</sup>. Auf Grund dieser Beobachtung könnte man voraussetzen, daß bei Anwendung von primären Phosphaten die günstige Beeinflussung der Atmung durch Phosphatanionen von der hemmenden Einwirkung der H<sup>+</sup>-Ionen überwältigt wird. Zaleski und Reinhard<sup>5)</sup> äußern sich in der Tat folgendermaßen: „Die sauren Phosphate schwächen die Ausscheidung der Kohlensäure infolge der sauren Reaktion“. Dieser Ansicht schließt sich auch N. Iwanoff<sup>6)</sup> vollkommen an.

In früher publizierten Versuchen des einen von uns<sup>7)</sup> kamen nur neutrale Phosphatlösungen in Anwendung: Lösungen des se-

---

käuflichen Weizenkeime immer ein abgetötetes Material vorstellen. Diese Annahme ist fehlerhaft. In der letzten Zeit liefert allerdings die Stadtmühle Maggi in Zürich tatsächlich abgetötete Keime.

1) Palladin und Kostytschew, Handbuch der biochem. Arbeitsmethoden von E. Abderhalden, 1910, Bd. 3, S. 480.

2) N. Iwanoff, *Bullet. de l'Acad. des sciences de St. Petersburg*, 1910, S. 303.

3) Zaleski und Reinhard, *Biochem. Zeitschr.*, 1910, Bd. 27, S. 466.

4) S. Kostytschew, *Biochem. Zeitschr.*, 1908, Bd. 15, S. 190.

5) Zaleski und Reinhard, *Biochem. Zeitschr.*, 1910, Bd. 27, S. 467.

6) N. Iwanoff, a. a. O.

7) S. Kostytschew, *Biochem. Zeitschr.*, 1908, Bd. 15, S. 190.

kundären Natriumphosphates wurden durch Phosphorsäure neutral gemacht, um den Einfluß der sauren bezw. der alkalischen Reaktion zu beseitigen. Merkwürdig ist der Umstand, daß in diesem Falle keine befördernde Wirkung der Phosphate auf die  $\text{CO}_2$ -Produktion der Weizenkeime wahrgenommen wurde. Es liegt also die Annahme nahe, daß der Einfluß der Phosphate nur bei alkalischer Reaktion zum Vorschein kommt. In nachstehend beschriebenen Versuchen haben wir die Wirkung der neutralen Phosphatlösungen mit derjenigen der Lösungen von sekundärem Natriumphosphat verglichen.

Es ist schon längst bekannt, daß neutrale Phosphatlösungen mit Lackmus eine schöne amphotere Reaktion zeigen. Titriert man eine Lösung von primärem Phosphat mit Alkalien oder eine Lösung von sekundärem Phosphat mit Säuren, so tritt ein Punkt ein, wo neutrales Lackmuspapier seine Farbe behält, während rotes Lackmuspapier seine Farbe nach blau hin und blaues seine Farbe nach rot hin verändert<sup>1)</sup>. Wir haben bei der Titration von 50 ccm einer 1-proz. Lösung von  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  mit  $\text{N}/_{10}$  Schwefelsäure oder mit der äquivalenten Phosphorsäure folgende Farbenumschläge wahrgenommen: die amphotere Reaktion erscheint schon nach Zusatz von 4,2 ccm der Säure, aber erst nach Zusatz von 7,2 ccm  $\text{N}/_{10}$  Schwefelsäure tritt der Punkt ein, wo sowohl neutrales als rotes Lackmuspapier ihre Farben nicht verändern; dieser Punkt läßt sich ziemlich scharf bestimmen und entspricht für unser Lackmuspapier genau dem Punkt, wo alizarinsulfosaures Natron den Farbenumschlag von lila nach rot hin zeigt; hierbei ist die  $\text{H}^+$ -Konzentration gleich  $10^{-6}$ ; die Lösung ist also beinahe neutral. Enthält die Lösung ausschließlich primäres Phosphat, so färbt sich alizarinsulfosaures Natron gelbbraun<sup>2)</sup>.

Auf Grund dieser Erfahrungen haben wir unsere „neutralen“ Phosphatlösungen folgendermaßen dargestellt: wir versetzten Lösungen von sekundärem Natriumphosphat mit soviel Phosphorsäure, daß rotes Lackmuspapier seine Farbe nach blau hin eben nicht veränderte oder daß alizarinsulfosaures Natron den Farbenumschlag von lila nach rot hin zeigte. Wenn hierbei ein ganz geringer Überschuß der  $\text{H}^+$ -Ionen auch vorausgesetzt werden kann, so erweist sich dieser Umstand als belanglos. Folgender Versuch zeigt,

1) Heintz, Journal f. prakt. Chemie, 1862, Bd. 85, S. 24.

2) Glaser, Indikatoren, 1901, S. 71.

daß eine zweifellos größere Konzentration von  $H^+$ -Ionen die  $CO_2$ -Produktion der Weizenkeime noch nicht beeinträchtigt.

### Versuch 1.

Zwei Portionen der lufttrockenen Weizenkeime zu je 15 g. Portion A wurde eingeweicht in 75 ccm dest. Wasser, Portion B in 75 ccm einer Lösung von Phosphorsäure, deren Azidität derjenigen Menge von  $N/_{10}$  Schwefelsäure gleich war, welche zu 75 ccm einer 1-proz.  $Na_2HPO_4$ -Lösung zugesetzt werden muß, um die kaum eingetretene amphotere Reaktion in eine saure zu überführen. Das Einweichen dauerte eine Stunde; alsdann wurden die Keime abfiltriert, auf Streifen von Josephpapier geschmiert und in U-Röhren locker verteilt. Luftstrom. Temp.  $19,5 - 20^0$ .

| Zeitdauer<br>in Stunden | $CO_2$ in mg        |                                |
|-------------------------|---------------------|--------------------------------|
|                         | Portion A<br>Wasser | Portion B<br>$H_3PO_4$ -Lösung |
| 2                       | 14                  | 13,6                           |
| 2                       | 9,2                 | 8,4                            |
| 2                       | 6,8                 | 6,8                            |
| 6                       | 30,0                | 28,8                           |

Die Differenz zwischen den von den beiden Portionen gebildeten  $CO_2$ -Mengen liegt innerhalb der Grenzen der Versuchsfehler. Es ist also einleuchtend, daß bei Anwendung der auf obige Weise neutral gemachten Phosphatlösungen die hemmende Wirkung der sauren Reaktion noch nicht zur Geltung kommt und somit eine genauere Methode der Herstellung von neutralen Phosphatgemischen, wie sie z. B. von Michaelis<sup>1)</sup> empfohlen wird, für unsere Zwecke als überflüssig erscheint. Wir sind nunmehr imstande, den Einfluß der Phosphate auf die Atmung zu untersuchen, ohne der antagonistischen Wirkung der sauren Reaktion Rechnung tragen zu müssen. In nachstehenden Versuchen haben wir die Einwirkung der neutral gemachten und der alkalisch reagierenden Lösungen von sekundärem Natriumphosphat geprüft.

### Versuch 2.

Drei Portionen der lufttrockenen Weizenkeime zu je 20 g. Portion A wurde in 100 ccm Wasser, Portion B in 100 ccm mit

1) Michaelis, Handbuch der biochemischen Methoden von E. Aberhalden, 1910, Bd. 3, S. 1337.

$H_3PO_4$  neutralisierter 3-proz.  $Na_2PO_4$ -Lösung, Portion C in 100 ccm nicht neutralisierter 3-proz.  $Na_2HPO_4$ -Lösung eingeweicht. Das Einweichen dauerte eine Stunde; alsdann wurden sämtliche Portionen abfiltriert, auf Streifen von Josephpapier geschmiert und in die U-Röhren hineingetan. Luftstrom. Temp. 17,75—18,5°.

| Zeitdauer<br>in Stunden | CO <sub>2</sub> in mg |  |  |
|-------------------------|-----------------------|--|--|
|                         | Portion A<br>Wasser   | Portion B<br>3-proz. Lösung<br>v. $Na_2HPO_4$ , neutr. | Portion C<br>3-proz. Lösung<br>v. $Na_2HPO_4$ , nicht neutr. |
| 1                       | 9,8                   | 9,8  | 16,4   |
| 1                       | 8,0                   | 6,6  | 10,0   |
| 2                       | 13,2                  | 11,0   | 21,0   |
| 2                       | 10,4                  | 8,0  | 17,2   |
| 6                       | 41,4                  | 35,4   | 64,6   |

Es ergab sich also, daß eine 3-proz. Lösung von sekundärem Natriumphosphat die CO<sub>2</sub>-Abscheidung der Weizenkeime befördert, was auch mit den Angaben von N. Iwanoff, L. Iwanoff und Zaleski und Reinhard<sup>1)</sup> im allgemeinen übereinstimmt. Neutrale 3-proz. Natriumphosphatlösung bewirkt aber keine Steigerung der CO<sub>2</sub>-Produktion und hat vielmehr einen hemmenden Einfluß auf die Atmung der Weizenkeime. Wenn in einem früher publizierten Versuche des einen von uns<sup>2)</sup> eine schwache Stimulation der Sauerstoffatmung durch neutrale 3-proz.  $Na_2HPO_4$ -Lösung eintrat, so mag dies mit dem Vorhandensein eines geringen Überschusses von OH-Ionen zusammenhängen. Folgender Versuch zeigt in der Tat, daß eine äußerst schwache alkalische Reaktion der Phosphatlösung die CO<sub>2</sub>-Abscheidung der Weizenkeime bereits beeinflusst.

### Versuch 3.

Drei Portionen der lufttrockenen Weizenkeime zu je 20 g. Portion A wurde eingeweicht in 100 ccm Wasser, Portion B in 100 ccm einer auf übliche Weise neutral gemachten 3-proz. Lösung von  $Na_2HPO_4$ , Portion C in 100 ccm einer nicht vollkommen neutral gemachten 3-proz. Lösung von  $Na_2HPO_4$ . Zu dieser Lösung brauchte man aber bloß 0,5 ccm  $N/_{10}$  Schwefelsäure hinzuzufügen,

1) N. Iwanoff, a. a. O.; L. Iwanoff, a. a. O.; Zaleski u. Reinhard, a. a. O.

2) S. Kostytschew, Biochem. Zeitschr., 1908, Bd. 15, S. 190.

um die gleiche Reaktion wie bei B zu erhalten. Das Einweichen dauerte eine Stunde; alsdann wurden die Keime abfiltriert, auf Josephpapier eingetragen, in die U-Röhren hineingetan und im Luftstrom belassen. Temp. 17,5—18°.

| Zeitdauer<br>in Stunden | CO <sub>2</sub> in mg |   |   |
|-------------------------|-----------------------|---|---|
|                         | A<br>Wasser           | B<br>3-proz. neutrale<br>Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> -Lösung | C<br>3-proz. schwach alkal.<br>Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> -Lösung |
| 2                       | 18,2                  | 16,2  | 22,4  |
| 2                       | 13,6                  | 10,6  | 13,8  |
| 2                       | 9,4                   | 8,0   | 12,0  |
| 6                       | 41,2                  | 34,8  | 48,2  |

#### Versuch 4.

Drei Portionen der lufttrockenen Weizenkeime zu je 20 g wurden im Verlaufe von einer Stunde in folgenden Flüssigkeiten eingeweicht:

Portion A. 100 ccm Wasser;

Portion B. 100 ccm 1-proz. Lösung von Na<sub>2</sub>HPO<sub>1</sub>;

Portion C. 100 ccm 1-proz. Lösung von Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>,

welche mit Phosphorsäure neutralisiert worden war. Dieselbe Versuchsanordnung wie in vorstehenden Versuchen. Temp. 17,5—18°.

| Zeitdauer<br>in Stunden | CO <sub>2</sub> in mg |  |   |
|-------------------------|-----------------------|--|---|
|                         | A<br>Wasser           | B<br>1-proz.<br>Na <sub>2</sub> HPO <sub>1</sub> -Lösung | C<br>neutralis. 1-proz.<br>Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> -Lösung |
| 2                       | 18,0                  | 29,4   | 19,2  |
| 2                       | 14,4                  | 17,2   | 14,8  |
| 2                       | 10,8                  | 14,4   | 11,0  |
| 6                       | 43,2                  | 61,0   | 45,0  |

Dieser Versuch zeigt, daß auch die 1-proz. Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-Lösung nach der Neutralisation ihre Wirkung beinahe vollkommen einbüßt.

#### Versuch 5.

Drei Portionen der lufttrockenen Weizenkeime zu je 20 g wurden im Verlaufe von einer Stunde in folgenden Flüssigkeiten eingeweicht:

Portion A. 100 ccm Wasser;

Portion B. 100 ccm neutrale 1-proz. Natriumphosphatlösung;

Portion C. 100 ccm neutrale 0,5-proz. Natriumphosphatlösg.

Dieselbe Versuchsanstellung wie in vorstehenden Versuchen. Temperatur 19—19,5°.

| Zeitdauer<br>in Stunden | CO <sub>2</sub> in mg |   |   |
|-------------------------|-----------------------|---|---|
|                         | A<br>Wasser           | B<br>neutralis. 1-proz.<br>Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> -Lösung | C<br>neutralis. 0,5-proz.<br>Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> -Lösung |
| 2                       | 21,2                  | 22,6  | 24,4  |
| 2                       | 14,2                  | 14,4  | 16,0  |
| 2                       | 10,8                  | 10,4  | 11,2  |
| 6                       | 46,2                  | 47,4  | 51,6  |

### Versuch 6.

Wiederholung des vorstehenden Versuches. Temp. 19—20°.

| Zeitdauer<br>in Stunden | CO <sub>2</sub> in mg |   |   |
|-------------------------|-----------------------|---|---|
|                         | A<br>Wasser           | B<br>neutralis. 1-proz.<br>Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> -Lösung | C<br>neutralis. 0,5-proz.<br>Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> -Lösung |
| 2                       | 24,2                  | 28,8  | 28,8  |
| 2                       | 16,2                  | 17,2  | 19,2  |
| 2                       | 11,6                  | 12,6  | 12,0  |
| 6                       | 52,0                  | 58,6  | 58,2  |

### Versuch 7.

Drei Portionen der lufttrockenen Weizenkeime zu je 20 g wurden im Verlaufe von einer Stunde in folgenden Flüssigkeiten eingeweicht:

Portion A. 100 ccm Wasser;

Portion B. 100 ccm neutralis. 1-proz. Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-Lösung;

Portion C. 100 ccm neutralis. 3-proz. Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-Lösung.

Dieselbe Versuchsanstellung wie in vorstehenden Versuchen. Temperatur 19,5—20°.

| Zeitdauer<br>in Stunden | CO <sub>2</sub> in mg |   |   |
|-------------------------|-----------------------|---|---|
|                         | A<br>Wasser           | B<br>neutralis. 1-proz.<br>Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> -Lösung | C<br>neutralis. 3-proz.<br>Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> -Lösung |
| 2                       | 23,2                  | 27,2  | 19,8  |
| 2                       | 12,2                  | 17,6  | 11,8  |
| 2                       | 15,2                  | 11,2  | 8,4   |
| 6                       | 50,6                  | 56,0  | 40,0  |

In folgenden länger dauernden Versuchen wurde Toluol als Antiseptikum verwendet.

#### Versuch 8.

Drei Portionen der lufttrockenen Weizenkeime zu je 7 g wurden in folgenden Flüssigkeiten eingeweicht:

Portion A. 35 ccm Wasser;

Portion B. 35 ccm neutralis. 1-proz. Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-Lösung;

Portion C. 35 ccm neutralis. 3-proz. Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-Lösung.

Nach einer Stunde wurden die Keime abfiltriert, auf Streifen von Josephpapier geschmiert, in die U-Röhren hineingetan und im Luftstrom belassen. Die vor den U-Röhren eingeschalteten Waschflaschen wurden mit Wasser und Toluol beschickt; außerdem befand sich in je einem U-Rohre ein mit Toluol getränkter Wattepfropfen. Temp. 19—19,5°.

| Zeitdauer<br>in Stunden | CO <sub>2</sub> in mg |   |   |
|-------------------------|-----------------------|---|---|
|                         | A<br>Wasser           | B<br>neutralis. 1-proz.<br>Phosphatlösung | C<br>neutralis. 3-proz.<br>Phosphatlösung |
| 6                       | 14,0                  | 14,4                                      | 10,0                                      |
| 18                      | 7,6                   | —   | 5,2                                       |
| 24                      | 21,6                  | —   | 15,2                                      |

#### Versuch 9.

Wiederholung des vorstehenden Versuches. Temp. 19,5—20°.

| Zeitdauer<br>in Stunden | CO <sub>2</sub> in mg |   |   |
|-------------------------|-----------------------|---|---|
|                         | A<br>Wasser           | B<br>neutrale 1-proz.<br>Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> -Lösung | C<br>neutrale 3-proz.<br>Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> -Lösung |
| 6                       | 12,4                  | 14,0  | 10,4  |
| 18                      | 6,6                   | 7,2   | 5,2   |
| 24                      | 2,8                   | 2,8   | 2,0   |
| 48                      | 21,8                  | 24,0  | 17,6  |

## Versuch 10.

Drei Portionen der lufttrockenen Keime zu je 20 g wurden in folgenden Flüssigkeiten eingeweicht:

Portion A. 100 ccm Wasser;

Portion B. 100 ccm 1-proz. neutrale Natriumphosphatlösung;

Portion C. 100 ccm 4-proz. neutrale Natriumphosphatlösung.

Nach 1 Stunde wurden die Keime abfiltriert, auf Josephpapier aufgetragen, in U-Röhren hineingetan und im Luftstrome ohne Antiseptica belassen. Temp. 18,5—19<sup>o</sup>.

| Zeitdauer<br>in Stunden | CO <sub>2</sub> in mg |  |  |
|-------------------------|-----------------------|--|--|
|                         | A<br>Wasser           | B<br>neutrale 1-proz.<br>Natriumphosphatlösung | C<br>neutrale 4-proz.<br>Natriumphosphatlösung |
| 2                       | 17,8                  | 22,0   | 11,2   |
| 2                       | 12,0                  | 12,2   | 7,6  |
| 4                       | 29,8                  | 34,2   | 18,8   |

Die vorstehend beschriebenen Versuche zeigen, daß neutrale 3-proz. bzw. 4-proz. Natriumphosphatlösungen nicht nur keine Steigerung, sondern vielmehr eine Herabsetzung der CO<sub>2</sub>-Produktion der Weizenkeime hervorrufen. Verdünnte (0,5-proz. bzw. 1-proz.) Natriumphosphatlösungen bewirken zwar eine geringe Stimulation der CO<sub>2</sub>-Ausscheidung, doch kann die Zunahme der Atmungsenergie nur im Verlaufe der anfänglichen Stunden der Luftdurchleitung wahrgenommen werden und bleibt in einigen Versuchen innerhalb der Grenzen der Versuchsfehler. Auf jeden Fall ist es einleuchtend, daß die Einwirkung des sekundären Phosphates auf die CO<sub>2</sub>-Produktion der Weizenkeime durch Neutralisation der Phosphatlösung zum größten Teil aufgehoben wird. L. Iwanoff<sup>1)</sup> behauptet, daß verdünnte Lösungen von primären sauer reagierenden Phosphaten immerhin eine geringe Steigerung der CO<sub>2</sub>-Produktion der Weizenkeime bewirken; diese Resultate widersprechen aber denjenigen von N. Iwanoff<sup>2)</sup> und von Zaleski und Reinhard<sup>3)</sup> und bedürfen einer Nachprüfung: von den drei einschlägigen Versuchen L. Iwanoffs sind zwei nach der Manometermethode ausgeführt und können

1) L. Iwanoff, Biochem. Zeitschr., 1910, Bd. 25, S. 179.

2) N. Iwanoff, Bulletin de l'Académie Impér. des sciences de St. Petersburg, 1910, S. 314.

3) Zaleski und Reinhard, Biochem. Zeitschr., 1910, Bd. 27, S. 466.

also höchstens über Schwankungen von  $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ , aber nicht über Schwankungen der gesamten  $\text{CO}_2$ -Produktion Aufschluß geben; der dritte Versuch wurde zwar unter Luftdurchleitung ausgeführt, doch wurde hierbei wie auch in vielen anderen Fällen Toluol als Antiseptikum verwendet und  $\text{CO}_2$  in Kaliapparaten aufgefangen. Nun scheint aber die Möglichkeit nicht ausgeschlossen zu sein, daß Toluoldampf trotz Einschaltung von Schwefelsäure in die Kaliapparate gelangte, was nicht zu unterschätzende Versuchsfehler zur Folge haben sollte. Aus diesem Grunde hat wenigstens einer von uns in seinen früher ausgeführten Versuchen auf die Verwendung von Kaliapparaten bei Gegenwart von Toluol in Versuchsgefäßen verzichtet, nachdem Kontrollversuche schwankende Resultate ergaben.

Durch die vorstehend beschriebenen Versuche wurde der scheinbare Widerspruch zwischen den Resultaten von S. Kostytschew und denjenigen von N. Iwanoff, L. Iwanoff und Zaleski und Reinhard in befriedigender Weise aufgeklärt. Es ergab sich, daß 3-proz. Natriumphosphatlösung nach der Neutralisation keine Steigerung der  $\text{CO}_2$ -Ausscheidung hervorruft. L. Iwanoff wollte den genannten Widerspruch auf eine andere Weise erklären. Dieser Forscher schreibt<sup>1)</sup>: „Kostytschew ist . . . zu entgegengesetzten Resultaten gelangt, was dadurch zu erklären ist, daß bei den von ihm angewendeten Konzentrationen (3—5%) die Stimulation bedeutend später bemerkbar wird, in den ersten Stunden aber sogar eine Abschwächung eintritt, die wahrscheinlich durch die Absorption der Kohlensäure durch alkalische Phosphate hervorgerufen wird.“ Diese Voraussetzung L. Iwanoffs ist nur in der Beziehung lehrreich, als sie zeigt, mit welcher Vorsicht man eigene Ergebnisse auf die nach anderweitigen Methoden erzielten Resultate verallgemeinern soll. In betreff der früher publizierten Versuche von S. Kostytschew liegt zwar nur ein Mißverständnis vor, da die genannten Versuche mit neutral gemachten Phosphatlösungen ausgeführt worden waren; in den vorstehend beschriebenen Versuchen haben wir jedoch gefunden, daß alkalisch reagierende 3-proz. Lösungen von  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  bereits während der ersten Stunde einen bedeutenden Aufschwung der  $\text{CO}_2$ -Produktion hervorrufen. Im folgenden Versuche wurde die Einwirkung der 3-proz.  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -Lösung gleichzeitig nach unserer Methode und nach derjenigen von L. Iwanoff untersucht.

1) L. Iwanoff, Biochem. Zeitschr., 1910, Bd. 25, S. 178.

## Versuch 11.

Vier gleiche Portionen der lufttrockenen Weizenkeime zu je 20 g.

Portion A wurde im Verlaufe von einer Stunde in 100 ccm Wasser eingeweicht, abfiltriert, auf Streifen von Josephpapier geschmiert; die Papierstreifen wurden im **U-Rohr** locker verteilt und im Luftstrome belassen.

Portion B wurde im Verlaufe von einer Stunde in 100 ccm 3-proz.  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -Lösung eingeweicht, dann abfiltriert, auf Streifen von Josephpapier geschmiert; die Papierstreifen wurden im **U-Rohr** locker verteilt und im Luftstrome belassen.

Portion C wurde in einen konischen Kolben mit großer Bodenoberfläche hineingetan, mit 40 ccm Wasser übergossen, auf dem Boden des Kolbens gleichmäßig verteilt und im Luftstrome belassen.

Portion D wurde in einen konischen Kolben mit großer Bodenoberfläche hineingetan, mit 40 ccm einer 3-proz.  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -Lösung übergossen, auf dem Boden des Kolbens gleichmäßig verteilt und im Luftstrome belassen. Temp. 17,5–18,5°.

| Zeitdauer<br>in<br>Stunden | CO <sub>2</sub> in mg   |  |                        |   |
|----------------------------|-------------------------|--|------------------------|---|
|                            | A<br>Wasser.<br>U-Rohr. | B<br>3 - proz. $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -<br>Lösung. U-Rohr | C<br>Wasser.<br>Kolben | D<br>3 - proz. $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -<br>Lösung. Kolben. |
| 2                          | 16,4                    | 22,8   | 17,2                   | 12,4  |
| 2                          | 11,6                    | 17,2   | 21,6                   | 23,2  |
| 4                          | 28,0                    | 40,0   | 38,8                   | 35,6  |

Bei Anwendung von **U-Röhren**, d. h. bei tadelloser Aeration und ohne Überschuß von Flüssigkeit hat 3-proz. Natriumphosphatlösung die CO<sub>2</sub>-Produktion stimuliert; bei Anwendung von Kolben und Überschuß der Flüssigkeit hat aber dieselbe 3-proz. Natriumphosphatlösung den Vorgang der CO<sub>2</sub>-Ausscheidung gehemmt; der Überschuß von alkalisch reagierender Phosphatlösung kann in der Tat eine ziemlich beträchtliche CO<sub>2</sub>-Menge zeitweilig absorbieren. Auf den ersten Blick scheint der Umstand merkwürdig zu sein, daß die Kontrollportion im Kolben eine größere Atmungsenergie aufwies als im **U-Rohr**; Tatsache ist aber, daß während des einstün-

digen Einweichens in Wasser bezw. in Salzlösungen eine beträchtliche Menge von verschiedenen Stoffen, u. a. von Peroxydase, aus den Keimen hinausdiffundiert. In weiteren länger dauernden Versuchen haben wir die Einwirkung von neutralen Phosphatlösungen auf die Atmung der Weizenkeime im Kolben untersucht. Bei dieser Versuchsanstellung werden die Oxydationsvorgänge wahrscheinlich etwas gehemmt und wenigstens ein Teil des abgeschiedenen Kohlendioxyds ist auf anaerobe Vorgänge zurückzuführen.

### Versuch 12.

Drei Portionen der lufttrockenen Weizenkeime zu je 7 g wurden in konische Kolben hineingetan und mit folgenden Flüssigkeiten übergossen:

Portion A. 15 ccm Wasser;

Portion B. 15 ccm neutrale 1-proz. Natriumphosphatlösung;

Portion C. 15 ccm neutrale 3-proz. Natriumphosphatlösung.

Ein jeder Kolben wurde außerdem mit 0,5 ccm Toluol versetzt; vor den Kolben wurden Waschflaschen mit Wasser und Toluol eingeschaltet. Luftstrom. Temp. 19—19,5°.

| Zeitdauer<br>in Stunden | Kohlendioxyd in mg |                                  |                                  |
|-------------------------|--------------------|----------------------------------|----------------------------------|
|                         | A<br>Wasser        | B<br>1-proz. neutr. Phosphatlös. | C<br>3-proz. neutr. Phosphatlös. |
| 6                       | 38,8               | 37,6                             | 25,6                             |
| 18                      | 55,6               | 57,8                             | 24,8                             |
| 24                      | 94,4               | 95,4                             | 50,4                             |

### Versuch 13.

Drei Portionen der lufttrockenen Weizenkeime zu je 5 g wurden in konische Kolben hineingetan und mit folgenden Flüssigkeiten übergossen:

Portion A. 10 ccm Wasser;

Portion B. 10 ccm neutrale 1-proz. Natriumphosphatlösung;

Portion C. 10 ccm neutrale 0,5-proz. Natriumphosphatlösung.

Ein jeder Kolben wurde mit 1 ccm Toluol beschickt; nach Ablauf von 24 Stunden wurde abermals in je einen Kolben 1 ccm Toluol eingegossen. Die vor den Kolben eingeschalteten Waschflaschen enthielten Wasser mit Toluol überschichtet. Luftstrom. Temperatur 19,5—21°.

| Zeitdauer<br>in Stunden | Kohlendioxyd in mg |                                  |                                    |
|-------------------------|--------------------|----------------------------------|------------------------------------|
|                         | A<br>Wasser        | B<br>neutr. 1-proz. Phosphatlös. | C<br>neutr. 0,5-proz. Phosphatlös. |
| 2                       | 11,2               | 11,0                             | 10,8                               |
| 2                       | 7,2                | 9,6                              | 10,0                               |
| 2                       | 6,8                | 8,4                              | 8,8                                |
| 18                      | 16,4               | 22,0                             | 24,8                               |
| 24                      | 6,4                | 5,2                              | 4,4                                |
| 48                      | 48,0               | 56,2                             | 58,8                               |

## Versuch 14.

Genauere Wiederholung des vorstehenden. Temp. 18,5—19,5°.

| Zeitdauer<br>in Stunden | Kohlendioxyd in mg |                                  |                                    |
|-------------------------|--------------------|----------------------------------|------------------------------------|
|                         | A<br>Wasser        | B<br>neutr. 1-proz. Phosphatlös. | C<br>neutr. 0,5-proz. Phosphatlös. |
| 2                       | 8,2                | 9,6                              | 11,2                               |
| 2                       | 8,0                | 9,2                              | 9,6                                |
| 2                       | 6,6                | 8,8                              | 9,0                                |
| 18                      | 18,0               | 24,4                             | 32,4                               |
| 24                      | 6,4                | 5,2                              | 4,0                                |
| 48                      | 47,2               | 57,2                             | 66,2                               |

Die Resultate der drei vorstehenden Versuche stimmen im allgemeinen mit denjenigen der ersten Versuchsserie überein. Durch Neutralisation wird die Einwirkung der sekundären Phosphate auf die Atmung der Weizenkeime bedeutend herabgedrückt. 3-proz. neutrale Phosphatlösung bewirkt keine Steigerung der CO<sub>2</sub>-Produktion. 1-proz. bzw. 0,5-proz. neutrale Phosphatlösungen behalten jedoch eine geringe befördernde Wirkung, welche in den unter unvollkommener Aeration ausgeführten Versuchen deutlicher zum Vorschein kommt, was damit zusammenhängen mag, daß in diesem Falle ein Teil des produzierten Kohlendioxyds auf alkoholische Gärung zurückzuführen ist, welche von den Phosphatanionen zweifellos abhängt. Was nun die Einwirkung der sekundären Phosphate auf die eigentliche Sauerstoffatmung der Weizenkeime anbelangt, so scheinen hierbei nicht Phosphationen, sondern Hydroxylionen die Hauptrolle zu spielen, da Phosphationen bei Abwesenheit von Hydroxylionen sich als kaum wirksam erweisen.

Es ist also interessant zu untersuchen, ob Hydroxylionen ihrerseits bei Abwesenheit der Phosphationen eine stimulierende Wirkung auf die  $\text{CO}_2$ -Produktion der Weizenkeime ausüben. Zu diesem Zwecke haben wir die Einwirkung verdünnter  $\text{NaHO}$ -Lösungen auf die Atmung der Keime untersucht. Durch entsprechendes Verdünnen von  $\frac{N}{2}$   $\text{NaHO}$ -Lösungen wurden Lösungen von derselben Alkaleszenz wie die in Betracht kommenden  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -Lösungen hergestellt.

### Versuch 15.

Drei Portionen der lufttrockenen Keime zu je 10 g wurden in konische Kolben hineingetan und mit folgenden Flüssigkeiten übergossen:

Portion A. 20 ccm Wasser;

Portion B. 20 ccm einer  $\frac{N}{33,7}$   $\text{NaHO}$ -Lösung, welche denselben

Grad von Alkaleszenz aufwies, wie eine 1-proz.  $\text{Na}_2\text{-HPO}_4$ -Lösung<sup>1)</sup>;

Portion C. 20 ccm einer  $\text{NaOH}$ -Lösung, welche der 0,5-proz.  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  entspricht. Luftstrom. Temp.  $19,5 - 20^\circ$ .

| Zeitdauer<br>in Stunden | Kohlendioxyd in mg |   |   |
|-------------------------|--------------------|---|---|
|                         | A<br>Wasser        | B<br>$\text{NaHO}$ -Lösung = 1-proz.<br>$\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -Lösung | C<br>$\text{NaHO}$ -Lösung = 0,5-proz.<br>$\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -Lösung |
| 2                       | 18,8               | 15,6  | 18,4  |
| 2                       | 17,2               | 26,4  | 22,8  |
| 2                       | 17,2               | 28,8  | 21,2  |
| 6                       | 53,2               | 70,8  | 62,4  |

Es ergab sich ein höchst merkwürdiges Resultat: verdünnte Natronlauge hat die  $\text{CO}_2$ -Ausscheidung der Weizenkeime befördert. Während der ersten zwei Stunden tritt freilich eine Verzögerung der  $\text{CO}_2$ -Abscheidung ein, was wohl auf die Absorption von  $\text{CO}_2$  durch Natronlauge zurückzuführen ist; dann erfolgt aber eine beträchtliche Steigerung der  $\text{CO}_2$ -Produktion, welche für die Portion B

1) Dieser Grad von Alkaleszenz übersteigt etwas den theoretischen Wert, was vielleicht dadurch zu erklären ist, daß unser Präparat von  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  durch eine geringe Menge von  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  verunreinigt war.

mehr als 50 % der gesamten Atmungsenergie der Kontrollportion erreichte.

In folgenden Versuchen wurde die Einwirkung von NaHO mit derjenigen von  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  verglichen. Es ist von vornherein zu erwarten, daß der Einfluß von sekundärem Natriumphosphat ein größerer sein muß, und zwar in erster Linie infolge Eintretens von folgenden Nebenreaktionen.  $\text{CO}_2$  wird bekanntlich durch sekundäre Phosphate nicht in gleicher Weise gebunden wie durch Natronlauge. Während die als sekundäres Natriumkarbonat gebundene Kohlensäure weder durch Auspumpen oder Luftdurchleiten, noch durch Erhitzen frei gemacht werden kann, treten sekundäre Phosphate mit Kohlensäure in eine labile Verbindung, welche nur unter ganz bestimmten physikalischen Bedingungen bestehen kann. Durch Untersuchungen verschiedener Forscher, welche sich hauptsächlich mit der Frage nach der  $\text{CO}_2$ -Bindung im Blute befaßten<sup>1)</sup>, ist dargetan worden, daß Lösungen von sekundären Phosphaten und Bikarbonaten  $\text{CO}_2$  absorbieren können; diese dissoziablen Verbindungen werden sowohl durch Kochen als durch Evakuieren, bzw. Durchleitung von fremden Gasen zerlegt. Hieraus ist ersichtlich, daß in unserem Falle die Natronlauge eine weit größere  $\text{CO}_2$ -Menge festhalten kann, als die äquivalente Menge von  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , da bei Durchleitung der  $\text{CO}_2$ -freien Luft die Spannung von Kohlendioxyd in den Versuchsgefäßen äußerst niedrig ist. Immerhin zeigen die Resultate der nachstehenden Versuche, daß der Unterschied zwischen der Wirkung der Phosphatlösungen und der äquivalenten NaHO-Lösungen nicht sehr groß ist.

#### Versuch 16.

Drei Portionen der lufttrockenen Keime zu je 5 g wurden in flache konische Kolben hineingetan und mit folgenden Flüssigkeiten übergossen:

- Portion A. 10 ccm Wasser;
- Portion B. 10 ccm 1-proz.  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -Lösung;
- Portion C. 10 ccm NaHO-Lösung von derselben Alkaleszenz wie die 1-proz.  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -Lösung.

Ein jeder Kolben wurde mit 1 ccm Toluol versetzt, nach Ablauf von 24 Stunden wurde wiederum 1 ccm Toluol in je einen Kolben eingegossen. Luftstrom, Temp. 19,5—21 °.

1) R. Heidenhain u. L. Meyer, Stud. phys. Inst. zu Breslau, 1863, Bd. 2; S. Setschenow, Pflügers Archiv, 1875, Bd. 8; N. Zunz, Hermanns Handb. d. Physiologie, 1882, Bd. 4, H. 2; Chr. Bohr, Skand. Arch. f. Physiol., 1891, Bd. 3.

| Zeitdauer<br>in Stunden | Kohlendioxyd in mg |  |                   |
|-------------------------|--------------------|--|-------------------|
|                         | A<br>Wasser        | B<br>1-proz. $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -Lösung | C<br>Na HO-Lösung |
| 2                       | 11,4               | 11,6   | 12,0              |
| 2                       | 8,6                | 15,0   | 13,6              |
| 2                       | 6,4                | 12,8   | 12,6              |
| 18                      | 20,8               | 30,2   | 28,4              |
| 24                      | 4,4                | 4,4  | 4,2               |
| 48                      | 51,6               | 74,0   | 70,8              |

## Versuch 17.

Wiederholung des vorstehenden. Temp. 20—21°.

| Zeitdauer<br>in Stunden | Kohlendioxyd in mg |  |                               |
|-------------------------|--------------------|--|-------------------------------|
|                         | A<br>Wasser        | B<br>1-proz. $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -Lösung | C<br>äquivalente Na HO-Lösung |
| 2                       | 10,4               | 10,8   | 8,8                           |
| 2                       | 7,2                | 14,0   | 10,8                          |
| 2                       | 6,0                | 13,2   | 10,0                          |
| 18                      | 17,2               | 35,2   | 27,2                          |
| 24                      | 3,6                | 3,8  | 3,2                           |
| 48                      | 44,4               | 77,0   | 60,0                          |

In diesem Versuche war der Einfluß der 1-proz.  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -Lösung ausnahmsweise größer, als in allen übrigen Versuchen.

Die befördernde Wirkung der Hydroxylionen läßt sich vielleicht ungedrungen dadurch erklären, daß die alkalische Reaktion die Tätigkeit von Peroxydase und anderen oxydierenden Agenzien stimuliert. Nach den noch nicht publizierten Resultaten des einen von uns wird dagegen die fermentative alkoholische Gärung durch Hydroxylionen nur unbedeutend gesteigert.

Der Einfluß von NaHO kommt auch in den unter Anwendung von U-Röhren und Josephpapier, d. h. bei tadelloser Aeration ausgeführten Versuchen zum Vorschein; in diesem Falle tritt aber nur während der anfänglichen Stunden eine deutliche stimulierende Wirkung ein, während die Wirkung des sekundären Phosphates länger anhält; es ist auch wohl zu beachten, daß bei einer vollkommenen Aeration die Neutralisation des sekundären Phosphates durch  $\text{CO}_2$  ausgeschlossen ist.

## Versuch 18.

Drei Portionen der lufttrockenen Weizenkeime zu je 20 g wurden im Verlaufe von einer Stunde in folgenden Flüssigkeiten eingeweicht:

Portion A. 100 ccm Wasser;

Portion B. 100 ccm 1-proz.  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -Lösung;

Portion C. 100 ccm äquivalente  $\text{NaHO}$ -Lösung.

Als dann wurden die Keime abfiltriert, auf Streifen von Josephpapier geschmiert, in U-Röhren hineingetan und im Luftstrome belassen. Temp. 18,5 – 19,5°.

| Zeitdauer<br>in Stunden | Kohlendioxyd in mg |  |  |
|-------------------------|--------------------|--|--|
|                         | A<br>Wasser        | B<br>1-proz. $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -Lösung | C<br>äquivalente $\text{NaHO}$ -Lösung |
| 2                       | 14,4               | 29,4   | 20,8                                   |
| 2                       | 12,4               | 19,2   | 14,8                                   |
| 2                       | 10,4               | 15,2   | 11,2                                   |
| 6                       | 37,2               | 63,8   | 46,8                                   |

## Versuch 19.

Drei Portionen der lufttrockenen Keime zu je 20 g wurden in folgenden Flüssigkeiten eingeweicht:

Portion A. 100 ccm Wasser;

Portion B. 100 ccm 0,5-proz.  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -Lösung;

Portion C. 100 ccm äquivalente  $\text{NaHO}$ -Lösung.

Nach Ablauf von einer Stunde wurden die Keime abfiltriert, auf Josephpapier aufgetragen, in die U-Röhren hineingetan und im Luftstrome belassen. Temp. 19,5 – 20°.

| Zeitdauer<br>in Stunden | Kohlendioxyd in mg |  |  |
|-------------------------|--------------------|--|--|
|                         | A<br>Wasser        | B<br>0,5-proz. $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -Lösung | C<br>äquivalente $\text{NaHO}$ -Lösung |
| 2                       | 20,0               | 26,4   | 23,4                                   |
| 2                       | 12,4               | 16,4   | 14,4                                   |
| 2                       | 9,2                | 11,6   | 9,6                                    |
| 6                       | 41,6               | 54,4   | 47,4                                   |

Stärkere Lösungen von Natronlauge wirken bereits schädlich auf Weizenkeime. Es ist zu erwähnen, daß durch  $\text{NaHO}$ -Lösungen

eine größere Menge verschiedener Stoffe aus Weizenkeimen beim Einweichen extrahiert wird, als durch reines Wasser. Die schädliche Nebenwirkung der Natronlauge wird z. B. durch folgenden Versuch erläutert.

### Versuch 20.

Drei Portionen der lufttrockenen Weizenkeime zu je 20 g. Portion A wurde eingeweicht in 100 ccm Wasser, Portion B in 100 ccm NaHO-Lösung, deren Alkaleszenz derjenigen der 1-proz.  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -Lösung gleich war, Portion C in einer doppelt so starken NaHO-Lösung. Nach einer Stunde wurden sämtliche Portionen abfiltriert, auf Streifen von Josephpapier aufgetragen, in die U-Röhren hineingetan und im Luftstrome belassen. Temp. 18,5—19°.

| Zeitdauer<br>in Stunden | Kohlendioxyd in mg |  |   |
|-------------------------|--------------------|--|---|
|                         | A<br>Wasser        | B<br>NaHO-Lösung, äquivalent d.<br>1-proz. $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -Lösung | C<br>NaHO-Lösung,<br>doppelt so stark wie B |
| 2                       | 20,0               | 23,8   | 16,8  |
| 2                       | 14,0               | 15,6   | 11,2  |
| 2                       | 10,0               | 12,4   | 8,4   |
| 6                       | 44,0               | 51,8   | 36,4  |

Die schädliche Nebenwirkung von Natronlauge kommt deutlich zum Vorschein, wenn man die Wirkung 3-proz.  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  mit derjenigen der äquivalenten NaHO-Lösung vergleicht. Während Phosphatlösung die Atmung der Weizenkeime stark stimuliert, übt Natronlauge bereits eine hemmende Wirkung aus. Es ist aber wohl zu beachten, daß in diesem Falle eine beinahe 0,4-proz. Natronlauge in Anwendung kommt; die so starke Lauge kann selbstverständlich eine beträchtliche Menge von Eiweiß und anderen wichtigen Stoffen während des Einweichens extrahieren und bei nachfolgender Luftdurchleitung eine bedeutende  $\text{CO}_2$ -Menge absorbieren; andererseits wurde vorstehend darauf hingewiesen, daß das  $\text{CO}_2$ -bindende Vermögen von sekundärem Phosphat in einer  $\text{CO}_2$ -freien Atmosphäre äußerst gering ist. Folgende Versuche haben den Zweck, die Einwirkung von 3-proz. Phosphatlösungen und äquivalenten NaHO-Lösungen auf die Atmung der Weizenkeime zu erläutern.

## Versuch 21.

Drei Portionen der lufttrockenen Weizenkeime zu je 20 g. Portion A wurde eingeweicht in 100 ccm Wasser, Portion B in 100 ccm 3-proz.  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -Lösung, Portion C in 100 ccm äquivalenter  $\text{NaHO}$ -Lösung. Nach Ablauf von  $1\frac{1}{2}$  Stunden wurden sämtliche Portionen abfiltriert, auf Streifen von Josephpapier aufgetragen, in die U-Röhren hineingetan und im Luftstrome belassen. Temp.  $17,5$ — $18^\circ$ . Während 4 Stunden wurden folgende  $\text{CO}_2$ -Mengen gebildet:

|  |           |                       |
|--|-----------|-----------------------|
| Portion A. (Wasser)                                    | . . . . . | $\text{CO}_2=30,4$ mg |
| Portion B. (3-proz. $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -Lösung) | . . . . . | $\text{CO}_2=45,6$ „  |
| Portion C. ( $\text{NaHO}$ -Lösung)                    | . . . . . | $\text{CO}_2=16,8$ „  |

## Versuch 22.

Drei Portionen der lufttrockenen Weizenkeime zu je 20 g. Portion A wurde eingeweicht in 100 ccm Wasser, Portion B in 100 ccm 3-proz.  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -Lösung, Portion C in 100 ccm äquivalenter  $\text{NaHO}$ -Lösung. Nach 1 Stunde wurden sämtliche Portionen abfiltriert, auf Josephpapier aufgetragen, in die U-Röhren hineingetan und im Luftstrome belassen. Temp. ca.  $20^\circ$ .

| Zeitdauer<br>in Stunden | Kohlendioxyd in mg |  |  |
|-------------------------|--------------------|--|--|
|                         | A<br>Wasser        | B<br>3-proz. $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -Lösung | C<br>äquivalente $\text{NaHO}$ -Lösung |
| 2                       | 20,0               | 39,6   | 7,8                                    |
| 2                       | 13,6               | 23,6   | 7,2                                    |
| 2                       | 10,6               | 21,2   | 6,8                                    |
| 6                       | 44,2               | 84,4   | 21,8                                   |

Die weiter folgenden Versuche haben den Zweck, den Einfluß von sekundärem Natriumkarbonat auf die  $\text{CO}_2$ -Produktion der Weizenkeime zu untersuchen. Es ergab sich, daß die befördernde Wirkung der Hydroxylionen auch in diesem Falle zur Geltung kommt; die Steigerung der Atmungsenergie war sogar größer, als bei Anwendung von äquivalenten  $\text{NaHO}$ -Lösungen. Da wir niemals eine saure Reaktion in Weizenkeimen bei Sauerstoffzutritt beobachteten, so darf man kaum voraussetzen, daß das  $\text{CO}_2$  des zugesetzten Karbonates während des Versuches frei gemacht wird: dies könnte nur infolge Bildung von organischen Säuren eintreten.

## Versuch 23.

Drei Portionen der lufttrockenen Weizenkeime zu je 15 g. Portion A wurde eingeweicht in 75 ccm Wasser, Portion B in 75 ccm 1-proz.  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -Lösung, Portion C in 75 ccm einer  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung von derselben Alkaleszenz. Nach einer Stunde wurden sämtliche Portionen abfiltriert, auf Josephpapier aufgetragen, in die U-Röhren hineingetan und im Luftstrome belassen. Temp.  $19,5-20^\circ$ .

| Zeitdauer<br>in Stunden | Kohlendioxyd in mg |  |  |
|-------------------------|--------------------|--|--|
|                         | A<br>Wasser        | B<br>1-proz. $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -Lösung | C<br>$\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung von der-<br>selben Alkaleszenz |
| 2                       | 14,0               | 23,6   | 20,8   |
| 2                       | 9,2                | 15,6   | 13,6   |
| 2                       | 6,8                | 11,2   | 11,2   |
| 6                       | 30,0               | 50,4   | 45,6   |

## Versuch 24.

Wiederholung des vorstehenden; es wurden aber nur 10 g Weizenkeime zu je einer Portion genommen und in je 50 ccm Flüssigkeit eingeweicht. Temp.  $17^\circ$ .

| Zeitdauer<br>in Stunden | Kohlendioxyd in mg |  |   |
|-------------------------|--------------------|--|---|
|                         | A<br>Wasser        | B<br>1-proz. $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -Lösung | C<br>$\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lös. v. gleich. Alkal. |
| 2                       | 8,8                | 13,6   | 12,8  |
| 2                       | 6,0                | 8,4  | 7,2   |
| 2                       | 4,4                | 6,8  | 5,6   |
| 6                       | 19,2               | 28,8   | 25,6  |

## Versuch 25.

Drei Portionen der lufttrockenen Keime zu je 15 g. Portion A wurde eingeweicht in 75 ccm Wasser, Portion B in 75 ccm 1-proz.  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -Lösung, Portion C in 75 ccm äquivalenter  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung. Nach einer Stunde wurden sämtliche Portionen abfiltriert, auf Josephpapier aufgetragen, in die U-Röhren hineingetan und im Luftstrome belassen. In je ein U-Rohr wurde die mit Toluol getränkte Watte eingeführt; die vor den U-Röhren eingeschalteten

Waschflaschen wurden mit Wasser und Toluol beschickt. Luftstrom, Temp. 20—21°.

| Zeitdauer<br>in Stunden | Kohlendioxyd in mg |   |  |
|-------------------------|--------------------|---|--|
|                         | A<br>Wasser        | B<br>1-proz. Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> -Lösung | C<br>Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> -Lösung |
| 2                       | 16,8               | 25,6  | 19,6   |
| 2                       | 8,8                | 14,0  | 10,8   |
| 2                       | 6,8                | 8,0   | 7,6  |
| 18                      | 14,0               | 17,6  | 14,0   |
| 24                      | 46,4               | 65,2  | 52,0   |

In folgender Tabelle sind die mit 1-proz. Phosphatlösungen und den entsprechenden NaHO-Lösungen erhaltenen Resultate zusammengestellt. Zum besseren Vergleich sind nicht die absoluten CO<sub>2</sub>-Mengen angegeben, sondern nur die Differenzen mit den von den entsprechenden Kontrollportionen (auf Wasser) produzierten CO<sub>2</sub>-Mengen. Diese Differenzen sind in Prozenten ausgedrückt, indem die von der Kontrollportion gebildete CO<sub>2</sub>-Menge immer gleich 100 angenommen wurde.

| 1-proz. Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> -Lösung |                   |  | Neutralisierte<br>1-proz. Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> -Lösung |                   |  | NaHO-Lösung<br>von gleicher Alkaleszenz wie<br>1-proz. Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> -Lösung |                   |  |
|--|-------------------|--|--|-------------------|--|---|-------------------|--|
| Nr.<br>d. Vers.                                  | Zeit in<br>Stund. | CO <sub>2</sub> -Zuwachs<br>in % d. Kon-<br>trollportion | Nr.<br>d. Vers.  | Zeit in<br>Stund. | CO <sub>2</sub> -Zuwachs<br>in % d. Kon-<br>trollportion | Nr.<br>d. Vers.   | Zeit in<br>Stund. | CO <sub>2</sub> -Zuwachs<br>in % d. Kon-<br>trollportion |
| 4  | 2                 | + 63   | 4  | 2                 | + 7  | 15  | 2                 | (- 17) <sup>1)</sup>                                     |
| 4  | 2                 | + 19   | 4  | 2                 | + 3  | 15  | 2                 | + 54   |
| 4  | 2                 | + 33   | 4  | 2                 | + 2  | 15  | 2                 | + 67   |
| 16   | 2                 | (+ 2) <sup>1)</sup>                                      | 5  | 2                 | + 7  | 16  | 2                 | (+ 5) <sup>1)</sup>                                      |
| 16   | 2                 | + 74   | 5  | 2                 | + 1  | 16  | 2                 | + 58   |
| 16   | 2                 | + 100  | 5  | 2                 | - 4  | 16  | 2                 | + 97   |
| 16   | 18                | + 45   | 6  | 2                 | + 25   | 16  | 18                | + 36   |
| 17   | 2                 | (+ 4) <sup>1)</sup>                                      | 6  | 2                 | + 9  | 17  | 2                 | (- 16) <sup>1)</sup>                                     |
| 17   | 2                 | + 94   | 6  | 2                 | + 8  | 17  | 2                 | + 50   |
| 17   | 2                 | + 120  | 7  | 2                 | + 14   | 17  | 2                 | + 66   |
| 17   | 18                | + 104  | 7  | 4                 | + 8  | 17  | 18                | + 58   |
| 18   | 2                 | + 104  | 8  | 6                 | + 3  | 18  | 2                 | + 44   |
| 18   | 2                 | + 55   | 9  | 6                 | + 13   | 18  | 2                 | + 19   |
| 18   | 2                 | + 46   | 9  | 18                | + 9  | 18  | 2                 | + 8  |
|  |                   |  | 10   | 2                 | + 24   | 20  | 2                 | + 14   |
|  |                   |  | 10   | 2                 | + 1  | 20  | 2                 | + 11   |
|  |                   |  | 12   | 6                 | - 3  | 20  | 2                 | + 24   |
|  |                   |  | 12   | 18                | + 4  |   |                   |  |

1) Diese Zahlen können nicht in Betracht gezogen werden, da wir es hier mit einer Absorption von CO<sub>2</sub> durch alkalische Lösungen zu tun haben. Die betreffenden Versuche wurden in Kolben ausgeführt.

Diese Zahlen beweisen, daß Natronlauge eine bedeutend größere Steigerung der  $\text{CO}_2$ -Produktion hervorruft, als neutrale 1-proz. Phosphatlösung. Die meisten Zahlen, welche den Einfluß neutralisierter Phosphatlösung erläutern, liegen innerhalb der Grenzen der Versuchsfehler. Es muß außerdem in Betracht gezogen werden, daß konzentriertere Lösungen von  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  nach der Neutralisation nicht eine Steigerung, sondern vielmehr eine Hemmung der  $\text{CO}_2$ -Produktion der Weizenkeime bewirken. Hieraus ist ersichtlich, daß die Einwirkung sekundärer Phosphate auf die Sauerstoffatmung der Weizenkeime zum größten Teil auf eine Beförderung der  $\text{CO}_2$ -Produktion durch die alkalische Reaktion der Lösung zurückzuführen ist. Der Einfluß der Phosphationen selbst ist sehr gering.

Diese Resultate zeigen, daß der Einfluß vergorener Zuckerlösungen auf die Sauerstoffatmung schlechterdings nicht durch die Wirkung der Phosphationen zu erklären ist. Folgende Versuche haben den Zweck, die Frage nach der Bedeutung der Phosphate in vergorenen Zuckerlösungen zu lösen. Aus obiger Darstellung ist ersichtlich, daß 3-proz.  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -Lösungen nach der Neutralisation unwirksam sind. Dieser Befund liefert uns ein Mittel, die Einwirkung von Phosphaten auszuschließen. Wenn man die zu untersuchende vergorene Zuckerlösung mit 3 %  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  versetzt und dann neutral gemacht hat, so ist die etwa stattgefundene Steigerung der  $\text{CO}_2$ -Produktion der Weizenkeime wohl nicht durch Phosphat bewirkt. In diesen Versuchen wurden die Kontrollportionen selbstverständlich nicht in Wasser, sondern in Zuckerlösungen eingeweicht, da ein Zuckerzusatz an und für sich die  $\text{CO}_2$ -Produktion der Weizenkeime stimuliert.

#### Versuch 26.

Drei Portionen der lufttrockenen Weizenkeime zu je 20 g. Portion A wurde eingeweicht in einer Lösung von 5 g Traubenzucker in 100 ccm Wasser; Portion B wurde eingeweicht in einer neutral gemachten Lösung von 5 g Traubenzucker und 3 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  in 100 ccm Wasser; Portion C wurde eingeweicht in einer der Einwirkung von Zymin unterworfenen Zuckerlösung. Zu diesem Zweck wurde ein Gemisch von 5 g Traubenzucker, 5 g Zymin<sup>1)</sup> und 100 ccm Wasser 5 Stunden ruhig stehen gelassen<sup>2)</sup>, dann zum Sieden erhitzt und

1) Käufliches Präparat von A. Schroder in München.

2) Während dieser Zeit wird höchstens 1 g Glukose vergoren.

filtriert. Das blanke Filtrat wurde mit 3 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  versetzt und mit Phosphorsäure neutral gemacht. Nach einstündigem Einweichen wurden sämtliche Portionen der Weizenkeime abfiltriert, auf Streifen von Josephpapier aufgetragen, die Papierstreifen in geräumigen U-Röhren locker verteilt und im Luftstrome belassen. Temp. 19—19°.

| Zeitdauer<br>in Stunden | Kohlendioxyd in mg |   |  |
|-------------------------|--------------------|---|--|
|                         | A<br>5 g Glukose   | B<br>5 g Glukose<br>+ 3 g neutr. Phosphat | C<br>teilw. vergorene Glukoselös.<br>+ 3 g neutr. Phosphat |
| 2                       | 26,4               | 17,6                                      | 32,0   |
| 2                       | 15,2               | 11,2                                      | 23,6   |
| 2                       | 9,8                | 8,2                                       | 16,4   |
| 6                       | 51,4               | 37,0                                      | 72,0   |

Vergorene Zuckerlösung hat also eine bedeutende Steigerung der  $\text{CO}_2$ -Produktion hervorgerufen, obschon durch Anwesenheit von 3 g neutralem Phosphat die stimulierende Wirkung herabgedrückt wurde, wie es an Portion B zu ersehen ist. Die Phosphatlösung von C war aber noch konzentrierter, als diejenige von B, da das Volum der vergorenen Lösung nach der Filtration nicht 100 ccm, sondern höchstens 80 ccm betrug.

#### Versuch 27.

Wiederholung des vorstehenden; die Lösung der Portion B wurde aber nur bis zum Eintreten der amphoteren Reaktion neutralisiert.

| Zeitdauer<br>in Stunden | Kohlendioxyd in mg |   |  |
|-------------------------|--------------------|---|--|
|                         | A<br>5 g Glukose   | B<br>5 g Glukose + 3 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4$<br>nicht vollkommen neutr. | C<br>vergorene Glukose + 3 g<br>$\text{Na}_2\text{HPO}_4$ neutr. gemacht |
| 2                       | 17,2               | 18,6  | 32,8   |
| 2                       | 11,6               | 12,4  | 25,2   |
| 4                       | 28,8               | 31,0  | 58,0   |

#### Versuch 28.

Wiederholung der beiden vorstehenden; die Lösung der Portion B wurde aber nur teilweise neutralisiert; die Alkaleszenz dieser Lösung entsprach ungefähr derjenigen der 1-proz.  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -Lösung.

| Zeitdauer<br>in Stunden | Kohlendioxyd in mg |  |  |
|-------------------------|--------------------|--|--|
|                         | A<br>5 g Glukose   | B<br>5 g Glukose + 3 g Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ,<br>teilweise neutralisiert | C<br>vergorene Glukose + 3 g<br>Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , neutral gemacht |
| 2                       | 20,4               | 36,4   | 52,6   |
| 2                       | 16,4               | 22,0   | 39,6   |
| 4                       | 36,4               | 58,4   | 92,2   |

Die soeben mitgeteilten Versuche haben es außer jeden Zweifel gestellt, daß die Einwirkung der vergorenen Zuckerlösungen auf die CO<sub>2</sub>-Produktion der Weizenkeime bei Sauerstoffzutritt nicht auf die Einwirkung der in vergorenen Lösungen vorhandenen Phosphate zurückzuführen ist, wie es L. Iwanoff<sup>1)</sup> irrtümlich voraussetzte. Die schwierige Frage nach dem Wesen der durch vergorene Lösungen bewirkten Steigerung der CO<sub>2</sub>-Produktion haben wir bereits in Angriff genommen; diese Untersuchungen sollen den Inhalt einer selbständigen Mitteilung bilden. An dieser Stelle sei nur hervorgehoben, daß stimulierende Stoffe bereits im lufttrockenen Zymin vorhanden sind; die Menge dieser Substanzen scheint aber nach kurzdauernder Gärung sich zu vermehren. Folgende Versuche mögen als eine Erläuterung des Gesagten dienen.

#### Versuch 29.

Lösung I. 5 g Zymin wurden mit 100 ccm Wasser beim Kochen extrahiert, der Extrakt klar filtriert, mit 5 g Traubenzucker versetzt und mit Wasser auf 100 ccm aufgefüllt.

Lösung II. 100 ccm 5-proz. Traubenzuckerlösung wurden mit 5 g Zymin versetzt und 5 Stunden ruhig stehen gelassen, dann gekocht, filtriert und mit Wasser auf 100 ccm aufgefüllt.

Es wurden drei Portionen der lufttrockenen Weizenkeime zu je 20 g genommen. Portion A wurde eingeweicht in 100 ccm einer 5-proz. Traubenzuckerlösung, Portion B in der Lösung I und Portion C in der Lösung II. Nach einer Stunde wurden sämtliche Portionen abfiltriert, auf Josephpapier eingetragen, in U-Röhren hineingetan und im Luftstrome belassen. Temp. 18—18,5°.

1) L. Iwanoff, Biochem. Zeitschrift, 1910, Bd. 25, S. 179.

| Zeitdauer<br>in Stunden | Kohlendioxyd in mg      |                                |                                    |
|-------------------------|-------------------------|--------------------------------|------------------------------------|
|                         | A<br>5-proz. Gluk.-Lös. | B<br>Zyminextrakt + 5% Glukose | C<br>Zyminextrakt u. vergor. Gluk. |
| 2                       | 29,0                    | 37,2                           | 46,0                               |
| 2                       | 15,0                    | 24,0                           | 25,6                               |
| 4                       | 44,0                    | 61,2                           | 71,6                               |

Dieses Resultat steht im Einklang mit der von einem von uns<sup>1)</sup> geäußerten Voraussetzung, daß intermediäre Gärungsprodukte bei der Sauerstoffatmung mit großer Energie oxydiert werden. Es kann nicht befremden, daß der Zuwachs der CO<sub>2</sub>-Produktion von C denjenigen von B nicht sehr stark übersteigt, wenn man annimmt, daß stimulierende Stoffe aus Zucker entstehen. Im Verlaufe von 5 Stunden wird weniger als 1 g Zucker durch Zymin zersetzt, wobei zum größten Teil die Endprodukte der Gärung, namentlich Kohlendioxyd und Äthylalkohol entstehen; die Menge der gebildeten Zwischenprodukte muß also jedenfalls ziemlich gering sein. Andererseits können Zwischenprodukte der Alkoholgärung auch in dem lufttrockenen Zyminpräparat vorhanden sein, da Zymin aus gärender Hefe dargestellt wird; diese präformierten Mengen der stimulierenden Stoffe müssen also in den beiden Lösungen I und II ungefähr die gleichen sein.

### Versuch 30.

Lösung I. 10 g Zymin wurden mit 100 ccm Wasser gekocht, der Extrakt filtriert, mit 5 g Traubenzucker versetzt und auf 100 ccm aufgefüllt.

Lösung II. 100 ccm 5-proz. Traubenzuckerlösung wurden mit 10 g Zymin versetzt, 5 Stunden ruhig stehen gelassen, dann gekocht, filtriert und auf 100 ccm aufgefüllt.

Es wurden drei Portionen der lufttrockenen Weizenkeime zu je 15 g genommen. Portion A wurde eingeweicht in 75 ccm 5-proz. Traubenzuckerlösung, Portion B in 75 ccm Lösung I und Portion C in 75 ccm Lösung II. Nach einer Stunde wurden sämtliche Portionen abfiltriert, auf Josephpapier eingetragen, in U-Röhren hineingetan und im Luftstrom belassen. Temp. 20,5—21°.

1) Kostytschew, Biochem. Zeitschrift, 1908, Bd. 15, S. 164; 1909, Bd. 23, S. 137; Zeitschr. f. physiol. Chemie, 1910, Bd. 67, S. 116.

| Zeit-<br>dauer<br>in<br>Stund. | A                        |   | B                             |   | C                                   |   |
|--------------------------------|--------------------------|---|-------------------------------|---|-------------------------------------|---|
|                                | 5 % Glukose              |   | Zyminextrakt<br>+ 5 % Glukose |   | Zyminextrakt<br>+ vergorene Glukose |   |
|                                | CO <sub>2</sub><br>in mg | Zunahme<br>d. CO <sub>2</sub> -Produkt.<br>in % von A | CO <sub>2</sub><br>in mg      | Zunahme<br>d. CO <sub>2</sub> -Produkt.<br>in % von A | CO <sub>2</sub><br>in mg            | Zunahme<br>d. CO <sub>2</sub> -Produkt.<br>in % von A |
| 2                              | 18,6                     | —   | 48,8                          | + 168   | 52,0                                | + 187   |
| 2                              | 10,8                     | —   | 36,4                          | + 237   | 44,0                                | + 307   |
| 2                              | 8,0                      | —   | 35,6                          | + 345   | 42,4                                | + 430   |
| 6                              | 37,4                     | —   | 120,8                         | —   | 138,4                               | —   |

## Versuch 31.

Lösung I. 10 g Zymin wurden mit 40 ccm Wasser ausgekocht, der Extrakt filtriert; 20 ccm Extrakt wurde mit 1 g Traubenzucker versetzt.

Lösung II. 40 ccm einer 5-proz. Traubenzuckerlösung wurden mit 10 g Zymin versetzt, 5 Stunden ruhig stehen gelassen, dann zum Sieden erhitzt und filtriert.

Drei Portionen der lufttrockenen Weizenkeime zu je 10 g wurden in flache konische Kolben hineingetan. Portion A wurde übergossen mit 20 ccm einer 5-proz. Traubenzuckerlösung, Portion B mit 20 ccm Lösung I und Portion C mit 20 ccm Lösung II. Sämtliche Portionen wurden im Luftstrome belassen. Temp. 20,5—21°.

| Zeit-<br>dauer<br>in<br>Stund. | A                        |  | B                             |   | C                                   |   |
|--------------------------------|--------------------------|--|-------------------------------|---|-------------------------------------|---|
|                                | 5 % Glukose              |  | Zyminextrakt<br>+ 5 % Glukose |   | Zyminextrakt<br>+ vergorene Glukose |   |
|                                | CO <sub>2</sub><br>in mg | Zunahme<br>d. CO <sub>2</sub> -Produkt<br>in % von A | CO <sub>2</sub><br>in mg      | Zunahme<br>d. CO <sub>2</sub> -Produkt.<br>in % von A | CO <sub>2</sub><br>in mg            | Zunahme<br>d. CO <sub>2</sub> -Produkt.<br>in % von A |
| 2                              | 24,2                     | —  | 40,0                          | + 67  | 39,8                                | + 66  |
| 2                              | 20,8                     | —  | 42,8                          | + 106   | 47,6                                | + 129   |
| 2                              | 18,0                     | —  | 49,2                          | + 173   | 56,4                                | + 213   |
| 6                              | 63,0                     | —  | 132,0                         | —   | 143,8                               | —   |

Merkwürdig ist der Umstand, daß die CO<sub>2</sub>-Produktion von B und C in Kolben allmählich zunimmt.

## Versuch 32.

Lösung I. 10 g Zymin wurden mit 100 ccm Wasser ausgekocht und der Extrakt filtriert. 50 ccm Filtrat wurden mit 2,5 g Traubenzucker versetzt.

Lösung II. Ein Gemisch von 100 ccm Wasser, 5 g Traubenzucker und 10 g Zymin wurde 20 Stunden in aller Ruhe belassen, dann gekocht und filtriert.

Drei Portionen der lufttrockenen Keime zu je 10 g. Portion A wurde eingeweicht in einer Lösung von 2,5 g Traubenzucker in 50 ccm Wasser, Portion B in 50 ccm der Lösung I und Portion C in 50 ccm der Lösung II. Nach einer Stunde wurden sämtliche Portionen abfiltriert, auf Josephpapier eingetragen, in U-Röhren hineingetan und im Luftstrom belassen. Temp. 18,5—19,5°.

| Zeitdauer<br>in<br>Stund. | A<br>5 % Glukose         |   | B<br>Zyminextrakt<br>+ 5 % Glukose |   | C<br>Zyminextrakt<br>+ vergorene Glukose |   |
|---------------------------|--------------------------|---|------------------------------------|---|--|---|
|                           | CO <sub>2</sub><br>in mg | Zunahme<br>d. CO <sub>2</sub> -Produkt.<br>in % von A | CO <sub>2</sub><br>in mg           | Zunahme<br>d. CO <sub>2</sub> -Produkt.<br>in % von A | CO <sub>2</sub><br>in mg                 | Zunahme<br>d. CO <sub>2</sub> -Produkt.<br>in % von A |
| 2                         | 11,4                     | —   | 32,8                               | + 187   | 36,4                                     | + 219   |
| 2                         | 6,4                      | —   | 24,4                               | + 281   | 28,8                                     | + 350   |
| 2                         | 4,4                      | —   | 23,4                               | + 431   | 27,2                                     | + 518   |
| 6                         | 22,2                     | —   | 80,6                               | —   | 92,4                                     | —   |

Versuche 29, 30, 31 und 32 ergaben vollkommen übereinstimmende Resultate: Zyminextrakt mit Produkten der Zuckergärung bewirkt eine größere Steigerung der CO<sub>2</sub>-Produktion der Weizenkeime, als Zyminextrakt mit unvergorenem Traubenzucker. In folgenden Versuchen wurde Zymingärung in reinem Wasser und in Zuckerlösung gleichzeitig in Gang gesetzt und die Einwirkung von Produkten der beiden Gärungen auf die CO<sub>2</sub>-Produktion der Weizenkeime untersucht. Es muß darauf aufmerksam gemacht werden, daß auch bei der Selbstgärung des glykogenhaltigen Zymins bedeutende Mengen von CO<sub>2</sub> und Alkohol entstehen.

### Versuch 33.

Lösung I. Ein Gemisch von 2 g Zymin und 20 ccm Wasser wurde 5 Stunden ruhig stehen gelassen, dann zum Sieden erhitzt und filtriert. Das Filtrat wurde mit 1 g Traubenzucker versetzt.

Lösung II. Ein Gemisch von 2 g Zymin, 20 ccm Wasser und 1 g Traubenzucker wurde 5 Stunden stehen gelassen, dann zum Sieden erhitzt und filtriert.

Drei Portionen der lufttrockenen Weizenkeime zu je 3 g wurden in konische Kolben hineingetan. Portion A wurde übergossen mit

6 ccm einer Lösung von 1 g Traubenzucker in 20 ccm Wasser, Portion B mit 6 ccm der Lösung I und Portion C mit 6 ccm der Lösung II. Ein jeder Kolben wurde mit 0,6 ccm Toluol versetzt; nach Ablauf von 24 Stunden wurde wiederum 0,6 ccm Toluol in je einen Kolben eingegossen. Die vor den Kolben eingeschalteten Waschflaschen wurden mit Wasser und Toluol beschickt. Luftstrom; Temp. 15–18°.

| Zeitdauer<br>in<br>Stund. | A                        |  | B   |  | C  |  |
|---------------------------|--------------------------|--|---|--|--|--|
|                           | 5 % Glukose              |  | Produkte der Zyningärung<br>in Wasser + 5 % Glukose |  | Produkte der Zyningärung<br>in 5-proz. Glukoselösung |  |
|                           | CO <sub>2</sub><br>in mg | CO <sub>2</sub> -Zunahme<br>in % von A | CO <sub>2</sub><br>in mg                            | CO <sub>2</sub> -Zunahme<br>in % von A | CO <sub>2</sub><br>in mg                             | CO <sub>2</sub> -Zunahme<br>in % von A |
| 2                         | 6,8                      | —                                      | 11,0  | + 61                                   | 11,2   | + 64                                   |
| 2                         | 4,4                      | —                                      | 12,0  | + 172                                  | 12,8   | + 190                                  |
| 2                         | 3,2                      | —                                      | 10,4  | + 225                                  | 12,0   | + 275                                  |
| 18                        | 6,4                      | —                                      | 38,0  | + 494                                  | 48,4   | + 656                                  |
| 24                        | 5,6                      | —                                      | 8,8   | + 57                                   | 12,0   | + 114                                  |
| 48                        | 26,4                     | —                                      | 80,2  | —                                      | 96,4   | —                                      |

Es ist also ersichtlich, daß Zuckervergärung eine größere Menge der stimulierenden Stoffe liefert, als die Selbstgärung von Zymin. Ist aber die ganze Zuckermenge total vergoren, so läßt sich eine Mehrproduktion von CO<sub>2</sub> durch Produkte der Zuckervergärung nicht mehr wahrnehmen. Dieser Umstand spricht zugunsten der Annahme, daß intermediäre Produkte an der Stimulation der CO<sub>2</sub>-Ausscheidung der Weizenkeime beteiligt sind. Nach 20 Stunden wird 1 g Glykose durch 2 g Zymin total vergoren.

#### Versuch 34.

Lösung I. Ein Gemisch von 2 g Zymin und 20 ccm Wasser wurde 20 Stunden ruhig stehen gelassen, dann gekocht, filtriert und das Filtrat mit 1 g Traubenzucker versetzt.

Lösung II. Ein Gemisch von 2 g Zymin, 20 ccm Wasser und 1 g Traubenzucker wurde 20 Stunden ruhig stehen gelassen, dann gekocht und filtriert.

Zwei Portionen der lufttrockenen Weizenkeime zu je 3 g wurden in flache konische Kolben hineingetan. Portion A wurde übergossen mit 6 ccm der Lösung I und Portion B mit 6 ccm der Lösung II. Ein jeder Kolben wurde mit 0,6 ccm Toluol versetzt;

nach 24-stündiger Luftdurchleitung wurde wiederum 0,6 g Toluol in je einen Kolben hineingetan. Luftstrom; Temp. 16—17°.

| Zeitdauer<br>in Stunden | Kohlendioxyd in mg                     |   |
|-------------------------|--|---|
|                         | A<br>Zymin auf Wasser<br>+ 5 % Glukose | B<br>Zymin auf Zuckerlös.<br>20 Stunden |
| 2                       | 9,2                                    | 8,8                                     |
| 2                       | 10,8                                   | 9,6                                     |
| 2                       | 9,6                                    | 9,6                                     |
| 18                      | 44,4                                   | 34,8                                    |
| 24                      | 6,4                                    | 9,2                                     |
| 48                      | 80,4                                   | 72,0                                    |

Portion B hat sogar weniger CO<sub>2</sub> gebildet, als Portion A. Es muß übrigens nicht außer acht gelassen werden, daß Portion B unter sonst analogen Bedingungen in einer beinahe vollkommen zuckerfreien Lösung eingeweicht worden war. Nach den früher publizierten Ergebnissen des einen von uns <sup>1)</sup> bewirkt aber Traubenzucker an und für sich eine bedeutende Steigerung der CO<sub>2</sub>-Produktion der Weizenkeime.

Die beiden nachstehenden Versuche bestätigen die Ergebnisse der soeben mitgeteilten. In diesen Versuchen kamen größere Mengen von Zymin und Traubenzucker in Anwendung.

### Versuch 35.

Lösung I. Ein Gemisch von 100 ccm Wasser und 10 g Zymin wurde 5 Stunden ruhig stehen gelassen, dann gekocht und filtriert. 50 ccm des Filtrates wurden mit 2,5 g Traubenzucker versetzt.

Lösung II. Ein Gemisch von 100 ccm Wasser, 10 g Zymin und 5 g Traubenzucker wurde 5 Stunden ruhig stehen gelassen, dann gekocht und filtriert. Es wurden zwei Portionen der lufttrockenen Weizenkeime zu je 10 g genommen. Portion A wurde in 50 ccm der Lösung I, Portion B in 50 ccm der Lösung II im Verlaufe von einer Stunde eingeweicht. Alsdann wurden beide Portionen abfiltriert, auf Josephpapier eingetragen, in die U-Röhren hineingetan und im Luftstrom belassen. Temp. 18,5—19°.

1) S. Kostytschew, Biochem. Zeitschrift, 1908, Bd. 15, S. 185.

| Zeitdauer<br>in Stunden | Kohlendioxyd in mg                     |  |
|-------------------------|--|--|
|                         | A<br>Zymin auf Wasser<br>+ 5 % Glukose | B<br>Zymin auf Zuckerlös.<br>5 Stunden |
| 2                       | 30,4                                   | 33,2                                   |
| 2                       | 25,4                                   | 29,2                                   |
| 2                       | 22,4                                   | 28,0                                   |
| 6                       | 78,2                                   | 90,4                                   |

## Versuch 36.

Lösung I. Ein Gemisch von 10 g Zymin und 100 ccm Wasser wurde 20 Stunden ruhig stehen gelassen, dann gekocht und filtriert. 50 ccm des Filtrates wurden mit 2,5 g Traubenzucker versetzt.

Lösung II. Ein Gemisch von 20 g Zymin, 100 ccm Wasser und 5 g Traubenzucker wurde 20 Stunden ruhig stehen gelassen, dann gekocht und filtriert. Es wurden zwei Portionen der lufttrockenen Weizenkeime zu je 10 g genommen. Portion A wurde in 50 ccm Lösung I, Portion B in 50 ccm Lösung II im Verlaufe von einer Stunde eingeweicht. Alsdann wurden beide Portionen abfiltriert, auf Josephpapier eingetragen, in die U-Röhren hineingetan und im Luftstrome belassen. Temp. 16—17°.

| Zeitdauer<br>in Stunden | Kohlendioxyd in mg                     |   |
|-------------------------|--|---|
|                         | A<br>Zymin auf Wasser<br>+ 5 % Glukose | B<br>Zymin auf Zucker-<br>lösung (20 Stunden) |
| 2                       | 30,4                                   | 31,2  |
| 2                       | } 45,2                                 | 24,0  |
| 2                       |  | 23,2  |
| 6                       | 75,6                                   | 78,4  |

Alle vorstehend beschriebenen Versuche beweisen, daß die Einwirkung der vergorenen Zuckerlösungen und der Zymineextrakte auf die Sauerstoffatmung der Weizenkeime mit der Einwirkung der Phosphate nicht identisch ist. Während 3- bis 4-proz. Phosphatlösungen bei neutraler Reaktion eine Hemmung der CO<sub>2</sub>-Produktion der Weizenkeime hervorrufen, bewirken neutrale Zymineextrakte und vergorene Lösungen, deren Phosphatgehalt 3 bis 4 % erreicht, eine kolossale Steigerung der CO<sub>2</sub>-Produktion. Die Zunahme der

gebildeten  $\text{CO}_2$ -Menge erreicht 500 bis 650 % der gesamten  $\text{CO}_2$ -Menge der Kontrollportion (auf Traubenzuckerlösung!). Eine so kolossale Stimulation der Sauerstoffatmung der Pflanzen wurde unseres Wissens nach niemals wahrgenommen und könnte gar kaum vorausgesetzt werden. Umso interessanter erscheint es, die Ursachen einer so ungemein starken Wirkung ans Tageslicht zu bringen. Untersuchungen dieser Art werden im hiesigen Laboratorium fortgesetzt. Nach den bisher gemachten Erfahrungen handelt es sich jedenfalls nicht um eine Abspaltung der locker gebundenen Kohlensäure. Auf Grund der am Anfang der vorliegenden Publikation mitgeteilten Anschauungen über die Rolle der alkoholischen Gärung beim Atmungsprozesse der Pflanzen ist es ziemlich wahrscheinlich, daß die Aufklärung der Einwirkung des Zymins auf die  $\text{CO}_2$ -Produktion der Samenpflanzen für das Studium des Mechanismus der Zuckerveratmung von Wichtigkeit sein kann.

Die hauptsächlichsten Ergebnisse der vorliegenden Arbeit lassen sich auf folgende Weise zusammenfassen.

I. Die Einwirkung der sekundären Phosphate auf die  $\text{CO}_2$ -Produktion der Weizenkeime ist im wesentlichen eine Beförderung der  $\text{CO}_2$ -Bildung durch die alkalische Reaktion. Diese Auffassung wird durch folgende Ergebnisse bekräftigt.

II. In neutraler Lösung haben Phosphatanionen eine nur sehr geringe stimulierende Wirkung, welche zudem nur in verdünnten Lösungen zum Ausdruck kommt. Neutrale 3-proz. Natriumphosphatlösung übt bereits einen hemmenden Einfluß aus.

III. Die stimulierende Wirkung der alkalischen Reaktion tritt auch ohne Zusatz von Phosphaten ein. Verdünnte Lösungen von  $\text{NaHO}$  bzw. von  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  bewirken eine starke Zunahme der  $\text{CO}_2$ -Produktion der Weizenkeime.  $\text{NaHO}$ -Lösung, welche der 3-proz.  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  äquivalent ist, übt bereits einen hemmenden Einfluß aus, während 3-proz.  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -Lösung stimulierend wirkt. Die schützende Wirkung der Phosphate gegenüber Säuren und Basen hat aber bereits Wroblewski<sup>1)</sup> wahrgenommen. Diese Wirkung darf allerdings mit einer direkten Beeinflussung der  $\text{CO}_2$ -Produktion nicht ohne weiteres identifiziert werden.

---

1) Wroblewski, Journ. f. prakt. Chemie, 1901, Bd. 64, S. 1.

IV. Zymineextrakte und durch Zymine vergorene Traubenzuckerlösungen bewirken eine überraschend starke Zunahme der  $\text{CO}_2$ -Produktion der Weizenkeime, und zwar auch nach Zusatz von 3 %  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  bei neutraler Reaktion, während 3-proz.  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -Lösung an und für sich bei neutraler Reaktion bereits hemmend wirkt.

V. Zuckerlösungen, welche während kurzer Zeit (5 Std.) durch Zymine behandelt worden waren, bewirken eine stärkere Zunahme der  $\text{CO}_2$ -Produktion der Weizenkeime, als Zymineextrakte oder Produkte der Selbstgärung des Zymins in Verbindung mit Zuckergabe.

St. Petersburg. Botanisches Laboratorium der Frauenhochkurse.

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik](#)

Jahr/Year: 1912

Band/Volume: [50](#)

Autor(en)/Author(s): Kostytschew S., Scheloumoff A.

Artikel/Article: [Über die Einwirkung der Gärungsprodukte und der Phosphate auf die Pflanzenatmung. 157-199](#)