

Anaerobe Atmung, Alkoholgärung und Acetonbildung bei den Samenpflanzen.

Von

W. Palladin und S. Kostytschew.

Mit zwei Kurvenzeichnungen im Text.

(Pflanzenphysiologisches Institut der Universität St. Petersburg.)

(Der Redaktion zugegangen am 26. Mai 1906.)

Wir sind beide zu verschiedener Zeit und auf Grund verschiedener Erwägungen zu einem und demselben Schluß gekommen: die typische anaerobe Atmung ist mit der Alkoholgärung (Zymasegärung) nicht identisch.¹⁾ Da nun diese unsere Anschauung mit der laufenden Vorstellung von dem Wesen der anaeroben Atmung in offenbarem Widerspruch steht, so ist es geboten, die Frage nach dem Chemismus der anaeroben Atmung einer neuen experimentellen Untersuchung zu unterwerfen. Die Resultate dieser Untersuchung bilden den Inhalt der vorliegenden Abhandlung.

Daß voreingenommene Ansichten bei der Entwicklung der Lehre von der anaeroben Atmung der Pflanzen eine sehr wichtige Rolle gespielt hatten, scheint kaum zweifelhaft zu sein! Diese Tatsache wird am besten dadurch erläutert, daß die Identität der anaeroben Atmung mit der Alkoholgärung im Verlauf von 25 Jahren (1872—1897) durch keinen einzigen direkten Versuch nachgeprüft und trotzdem von allen Fachgenossen als festgestellt betrachtet wurde. So haben z. B. Pfeffer²⁾ und Wortmann³⁾ ihre wohlbekannten Theorien auf

¹⁾ Kostytschew, Berichte d. D. bot. Ges., 1904, S. 207. Zentralblatt für Bakteriologie, II. Abt., Bd. XIII, 1904, S. 490.

Palladin, Diese Zeitschrift, Bd. XLVII, 1906, S. 407.

²⁾ Pfeffer, Landwirtschaftl. Jahrbücher, Bd. VII, 1878, S. 805.

³⁾ Wortmann, Arbeiten d. botan. Inst. zu Würzburg, Bd. II, 1880, S. 500.

der Annahme gegründet, daß der Dissoziationsprozeß der Kohlenhydrate bei der anaeroben Atmung genau nach der Gleichung der Alkoholgärung erfolgt. Auch Diakonow¹⁾ hat sich folgendermaßen ausgesprochen: «Ohne Sauerstoffatmung oder die sie vertretende Alkoholgärung findet kein Leben statt». Derselbe Gedanke lag den Versuchen Chudiakows²⁾ zugrunde. Nur durch die trefflichen Untersuchungen von Godlewski und Polzeniusz³⁾ wurde zuerst der Nachweis dafür geliefert, daß die anaerobe Atmung der Erbsensamen in allen wesentlichen Punkten mit der Zymasegärung übereinstimmt, denn das Verhältnis $\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ bei der anaeroben Atmung der Erbsensamen entspricht der Gleichung $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 = 2 \text{CO}_2 + 2 \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$. Es ist aber den genannten Forschern nicht gelungen, die Anwesenheit eines gärungserregenden Enzyms in Erbsensamen festzustellen. Späterhin hat Godlewski⁴⁾ nachgewiesen, daß die anaerobe Atmung der Lupinensamen ebenfalls mit der Alkoholgärung identisch ist.

Die Untersuchungen von Godlewski und Polzeniusz wurden von Nabokich⁵⁾ wiederholt und fortgesetzt. Dieser Forscher hat gefunden, daß die anaerobe Atmung nicht immer mit der Alkoholgärung übereinstimmt. So schwankt z. B. $\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ bei der anaeroben Atmung der Rizinussamen von 100 : 50 bis zu 100 : 80. Auch bei Erbsensamen wird der Gärungsquotient durch Einwirkung stark saurer Lösungen bis auf die Hälfte herabgedrückt.

Nach den Untersuchungen von Stoklasa⁶⁾ ist auch die anaerobe Atmung der Zuckerrübe mit der Alkoholgärung identisch. Dieser Forscher hat außerdem die wichtige Tatsache hervorgehoben, daß ihm die Darstellung der Zymase aus ver-

¹⁾ Diakonow, Berichte d. botan. Ges., Bd. IV, 1881, S. 1.

²⁾ Chudiakow, Landw. Jahrbücher, Bd. XXIII, 1894, S. 333.

³⁾ Godlewski u. Polzeniusz, Bulletin de l'Academie des sciences de Cracovie, 1897, S. 267; 1901, S. 227.

⁴⁾ Godlewski, l. c. 1904, S. 115.

⁵⁾ Nabokich, Berichte d. botan. Gesellschaft, Bd. XXI, 1903, S. 467. Journal für experim. Landwirtschaft, 1903, S. 696; 1904, S. 305 (russisch).

⁶⁾ Stoklasa, Jelínek u. Vitek, Hofmeisters Beiträge, Bd. III, 1903, S. 460.

schiedenen pflanzlichen und tierischen Objekten gelungen sei.¹⁾ Da aber eine ganze Reihe von Beobachtungen verschiedener Forscher (Cohnheim,²⁾ Batelli,³⁾ Arnheim und Rosenbaum,⁴⁾ Landsberg,⁵⁾ Mazé,⁶⁾ Mazé et Perrier,⁷⁾ Portier⁸⁾ u. a.) den Angaben Stoklasas widerspricht und schlagende Einwände gegen die Methodik des böhmischen Forschers seitens Mazé⁶⁾ und Portier⁸⁾ geltend gemacht worden sind, so können wir die Frage nach dem Vorhandensein der Zymase in Samenpflanzen und Tiergeweben noch nicht für abgeschlossen halten.

Schließlich sei noch erwähnt, daß Hahn⁹⁾ im Preßsaft von *Arum maculatum* eine starke Glykolyse ohne gleichzeitige Alkoholbildung beobachtet hat. Das zuckerspaltende Agens von *Arum maculatum* ist also mit der Zymase nicht identisch.

Unsere eigenen Untersuchungen sind zum größten Teil mit Hilfe der unlängst von einem von uns¹⁰⁾ ausführlich beschriebenen Gefriermethode ausgeführt worden. Gefrorene Versuchsobjekte wurden in geräumige U-Röhren gebracht; alsdann wurde ein konstanter Strom von reinem Wasserstoff durch die Röhren geleitet.¹¹⁾ Die von dem Versuchsmaterial ausgeschiedene CO₂ wurde im Barytwasser aufgefangen und durch Titration mit Oxalsäure bestimmt. War eine detaillierte Kenntnis des

¹⁾ Stoklasa und Cerny, Berichte d. Deutsch. chem. Gesellsch., Bd. XXXVI, 1903, S. 622.

Stoklasa, Pflügers Archiv, Bd. CI, 1904, S. 311.

Stoklasa u. Cerny, Zentralbl. f. Physiol., Bd. XVI, 1903, S. 652.

Stoklasa, ebenda, Bd. XVII, 1903, S. 465.

Stoklasa, Zentralblatt f. Bakteriologie, 1904.

²⁾ Cohnheim, Diese Zeitschrift, Bd. XXXIX, 1903, S. 336.

³⁾ Batelli, Comptes rendus, Bd. CXXXVII, 1903, S. 1079.

⁴⁾ Arnheim u. Rosenbaum, Diese Zeitschrift, Bd. XL, 1903/4, S. 220.

⁵⁾ Landsberg, ebenda, Bd. XLI, 1904, S. 505.

⁶⁾ Mazé, Annales de l'Institut Pasteur, Bd. XVIII, 1904, S. 378 u. 535.

⁷⁾ Mazé u. Perrier, ebenda, Bd. XVIII, S. 382.

⁸⁾ Portier, ebenda, Bd. XVIII, 1904, S. 633.

⁹⁾ Hahn, Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XXXIII, 1900, S. 3555.

¹⁰⁾ Palladin, Diese Zeitschrift, Bd. XLVII, 1906, S. 407.

¹¹⁾ Die Wasserstoffdurchleitung wurde auch während der Nachtstunden nicht unterbrochen.

Ganges der enzymatischen Atmung wünschenswert, so wurde CO_2 direkt in Pettenkofer'schen Röhren absorbiert; sonst wurde die Hauptmenge der CO_2 in einem großen mit 500 ccm Barytwasser beschickten Kolben zurückgehalten; das Pettenkofer'sche Rohr diente dann nur zur Kontrolle. Um einer Verdunstung des Alkohols vorzubeugen, wurde zwischen dem U-Rohr und den Absorptionsgefäßen eine in schmelzendes Eis getauchte und mit Wasser gefüllte Waschflasche eingeschaltet. Ein vollständiges Sterilbleiben des Versuchsmaterials wurde dadurch gesichert, daß letzteres möglichst locker im Rezipienten verteilt und mit einer mit Toluol getränkten Watteschicht bedient wurde; es befand sich folglich in einem fortwährend mit Toluoldämpfen gesättigten Gasstrome. Die Wasserstoffdurchleitung dauerte bis zum vollständigen Aufhören oder wenigstens bis zu einer sehr starken Herabminderung der Kohlensäurebildung. Alsdann schritt man zur Bestimmung des gebildeten Alkohols. Zu diesem Zwecke wurde das Versuchsmaterial samt dem Wasser der Waschflasche in einen geräumigen Rundkolben gebracht, mit noch ca. 500 ccm destillierten Wassers versetzt und alles mehrfacher Destillation unterworfen, wobei jedesmal nicht weniger als die Hälfte der Flüssigkeit in die Vorlage überging. Bei der ersten Destillation wurde immer eine gewisse Menge von Toluol in der Vorlage gefunden; derselbe ließ sich aber von der übrigen Flüssigkeit im Scheidetrichter leicht abtrennen. Die zweite Destillation erfolgte aus schwach saurer und die dritte aus schwach alkalischer Lösung. Zur Ansäuerung des ersten Destillates wurde Weinsäure, zur Alkalisierung des zweiten wurde Natriumcarbonat verwendet. Ohne Berücksichtigung dieser Vorsichtsmaßregel wird man schwerlich ein ganz neutrales Destillat erhalten; meistens enthält es dann eine auf Kongorot alkalisch reagierende und durch Phosphorwolframsäure fällbare Substanz. Die Menge des gebildeten Alkohols wurde aus dem spez. Gewichte des vierten bzw. fünften Destillates ermittelt. Das spez. Gewicht wurde mit Hilfe eines genauen, mehr als 30 ccm fassenden Pyknometers bestimmt. Sämtliche Füllungen des Pyknometers wurden bei $15,5^\circ \text{C}$. ausgeführt. Zur Identifizierung des Äthylalkohols dienten folgende Reaktionen:

1. Die Reaktion von Berthelot,¹⁾ die folgendermaßen ausgeführt wird: man schüttelt die zu untersuchende Flüssigkeit mit einer ganz geringen Menge von Benzoylchlorid und überschüssiger Natronlauge bis zum Verschwinden des stechenden Geruchs des Benzoylchlorids. Bei Gegenwart des Äthylalkohols entwickelt sich der charakteristische Geruch des Benzoessäure-äthylesters. Diese Probe hat den Vorzug, daß sie nur mit Äthylalkohol positiv ausfällt; ihre Empfindlichkeit läßt nichts zu wünschen übrig.

2. Die Jodoformprobe. Diese Reaktion haben wir immer nach der Modifikation von Müntz²⁾ ausgeführt, die, unseren Erfahrungen nach, die empfindlichste ist. 10 ccm des Destillates werden mit 2 g Natriumcarbonat und 0,1 g Jodpulver versetzt und dann auf dem Wasserbade bei 60° bis zur vollständigen Auflösung des Jods erwärmt. Nach dem Erkalten scheiden sich die charakteristischen Krystalle des Jodoforms aus. Diese Probe ist zwar empfindlich, doch nicht ganz zuverlässig: sie fällt mit verschiedenen Substanzen positiv aus, von denen in erster Reihe Aldehyde und niedere Ketone in Betracht kommen, da sie sich auch im Destillat vorfinden können. Ist aber die Abwesenheit flüchtiger Aldehyde und Ketone im Destillat festgestellt, so eignet sich die Jodoformprobe zum Nachweis des Äthylalkohols in ganz ausgezeichneter Weise. Wir haben das Destillat jedesmal mit fuchsin-schweflicher Säure geprüft, wodurch sich minimale Spuren von Aldehyden und Aceton entdecken lassen. Aus der nachfolgenden Darlegung wird ersichtlich sein, daß die Jodoformprobe allein für den Nachweis des Äthylalkohols ganz und gar belanglos ist. Nun gehen wir zur Beschreibung der einzelnen Versuche über.

Versuche mit Zymin.

Versuch 1.

20 g Zymin wurden mit 200 ccm destillierten Wassers und 3 ccm Toluol in einen Kolben gebracht; alsdann wurde ein konstanter Wasserstoffstrom durch die Flüssigkeit getrieben.

¹⁾ Berthelot, Comptes rendus, Bd. LXXIII, S. 496 (Neubauer und Vogel, Analyse des Harns, 10. Auflage, 1898).

²⁾ Müntz, Ann. de ch. et de phys., Sér. 5, Bd. XIII, 1878, S. 543.

Zeitdauer in Stunden	CO ₂ in mg	CO ₂ pro 1 Stunde in mg
6	99,6	16,6
6	261,0	43,5
21 ¹ / ₂	475,6 ¹⁾	22,1
16	306,0	19,1
5 ¹ / ₂	80,4	14,6
13 ¹ / ₂	82,4	6,1
2	9,6	4,8
70 ¹ / ₂	1314,6 ¹⁾	

Die quantitative Alkoholbestimmung ergab: C₂H₅OH = 1504,7 mg.

Versuch 2.

20 g Zymin wurden mit soviel destillierten Wassers versetzt, daß sich ein zähflüssiger Brei gebildet hat. Mit diesem Brei wurden Fließpapierstreifen bestrichen, welche sodann in einem geräumigen U-Rohr möglichst locker verteilt und mit einer mit Toluol getränkten Watteschicht gedeckt wurden. Durch das Rohr wurde dann ein konstanter Wasserstoffstrom geleitet.

Zeitdauer in Stunden	CO ₂ in mg	CO ₂ pro 1 Stunde in mg
2	116,8	58,4
2 ¹ / ₂	243,0	97,2
6	511,2	85,2
14	419,4	29,9
8 ¹ / ₂	131,2	15,4
14	73,2	5,2
2	6,0	3,0
49	1500,8	

¹⁾ Eine beträchtliche Menge von CO₂ ist während der Nachtstunden verloren gegangen. Darum wurde in diesem Versuche das Verhältnis CO₂ : C₂H₅OH nicht berechnet.

Die Menge des gebildeten Alkohols war 1511,3 mg. Da das Destillat nicht acetonfrei war,¹⁾ so wurde es noch einmal mit Natriumbisulfit und einmal mit Natriumcarbonat abdestilliert. Im letzten Destillat, das keine Acetonreaktionen aufwies, war die Menge des Alkohols gleich 1500,3 mg gefunden. Folglich war der durch die Anwesenheit des Acetons verursachte Fehler ganz unbedeutend.

$$\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 1500,8 : 1500,3 = 100 : 100.$$

Ebendasselbe Verhältnis wurde von Buchner²⁾ für die Zymasegärung unter Zuckerzusatz gefunden.

Aus diesen beiden Versuchen ist folgendes ersichtlich:

1. Von der Zymasegärung unter Zuckerzusatz unterscheidet sich die Selbstgärung des Zymins nicht qualitativ, sondern nur quantitativ.

2. Durch unsere Versuchsanstellung wird eine ganz genaue Bestimmung des gebildeten Alkohols ermöglicht: trotzdem daß im Versuch 2 die Bedingungen zur Verdunstung des Alkohols sehr günstig waren, fand dennoch kein Verlust des Alkohols statt.

3. Im Wasserstoffstrom kommt die Selbstgärung des Zymins schneller zu Ende, als im Wasser. Dieses Ergebnis ist durch die Fig. I graphisch dargestellt worden; es bildet die Grundlage der von E. Buchner und Mitscherlich³⁾ angegebenen Methode der Darstellung des glykogenarmen Zymins. Auch hat einer von uns⁴⁾ schon früher gefunden, daß erfrorrene Weizenkeime nur in Gasmedien eine ausgiebige Kohlensäurebildung entwickeln.

Versuche mit etiolierten Blättern und Stengelgipfeln von *Vicia Faba*.

Nach den Untersuchungen von Mazé⁵⁾ und Polowzow⁶⁾ enthalten verschiedene frische Pflanzen eine gewisse Menge

¹⁾ Das Aceton war im lufttrockenen Zympräparat reichlich vorhanden.

²⁾ E. Buchner, H. Buchner u. M. Hahn, Zymasegärung.

³⁾ E. Buchner und Mitscherlich, Diese Zeitschrift, Bd. XLII, 1904, S. 554.

⁴⁾ Palladin, ebenda, Bd. XLVII, 1906, S. 441.

⁵⁾ Mazé, Comptes rendus, Bd. CXXVIII, 1899, S. 1608.

Mazé, Annales de l'Institut Pasteur, Bd. XVI, 1902, S. 195.

⁶⁾ Polowzow, Untersuchung. üb. d. Pflanzenatmung, 1901 (russisch).

Äthylalkohol. Daher ist eine quantitative Bestimmung des Alkoholgehaltes frischer Versuchsobjekte für unsere Zwecke unentbehrlich. Eine solche Bestimmung wurde im folgenden Versuche ausgeführt.

Versuch 3 (Kontroll- versuch).

213g frischer Stengelgipfel von *Vicia Faba* wurden mit einer beträchtlichen Menge destillierten Wassers versetzt und in der auf S. 217 beschriebenen Weise mehrfacher Destillation unterworfen. Das letzte Destillat gab folgende Reaktionen:

1. Reaktion mit fuchsin-schweifiger Säure negativ.

2. Jodoform-
probe nach

Müntz positiv. 3. Reaktion von Berthelot positiv.

Die quantitative Bestimmung ergab: $C_2H_5OH = 58,2 \text{ mg}$ (27,3 mg auf 100 g der Frischsubstanz).

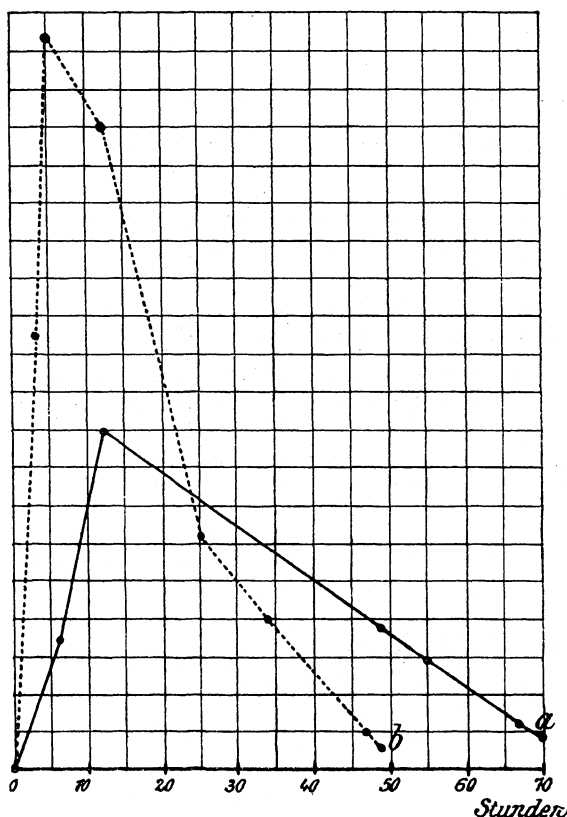


Fig. I.

Kohlensäureausscheidung von 20 g Zymin im Wasser (a) und im Wasserstoffe (b).

Versuch 4.

Etiolierte Stengelgipfel von *Vicia Faba* wurden in zwei Portionen geteilt: a) Blätter (120 g) und b) Gipfel ohne Blätter (117 g). Beide Portionen wurden erfroren und in den Pettenkoferschen Apparat gebracht. Temperatur 20°.

Wasserstoffstrom.

a) Erfrorene Blätter			b) Erfrorene Gipfel ohne Blätter		
Zeitdauer in Stunden	CO ₂ in mg	CO ₂ pro 1 St. in mg	Zeitdauer in Stunden	CO ₂ in mg	CO ₂ pro 1 St. in mg
2	48,0	24,0	4	59,2	14,8
2	57,6	28,8	3	40,4	13,5
4	41,2	10,3	6½	36,8	5,6
6	20,0	3,3	9	20,4	2,3
13	14,8	1,1	24½	26,0	1,1
—	—	—	4½	Spur	—
27	181,6		57½	182,8	

Alkoholbestimmungen.

a) Erfrorene Blätter. Reaktionen des Destillates wie im Versuch 3.

Die quantitative Bestimmung ergab: C₂H₅OH = 63,9 mg

C₂H₅OH in 120 g frischer Blätter = 32,8 »

Von den erfrorenen Blättern wurde gebildet: C₂H₅OH = 31,1 »

CO₂ : C₂H₅OH = 181,6 : 31,1 = **100 : 17,1.**

b) Erfrorene Gipfel. Das Destillat gab dieselben Reaktionen wie im Versuch 3.

Die quantitative Bestimmung ergab: C₂H₅OH = 65,7 mg

C₂H₅OH in 117 g frischer Gipfel = 31,9 »

Von den erfrorenen Gipfeln wurde gebildet C₂H₅OH = 33,8.

CO₂ : C₂H₅OH = 182,8 : 33,8 = **100 : 18,5.**

Dieser Versuch zeigt, daß zwischen der anaeroben Atmung erfrorener Gipfel und Blätter gar kein Unterschied besteht. Darum wurden in den weiter folgenden Versuchen die Blätter nicht von den Gipfeln abgetrennt.

Versuch 5.

Die Gipfel der alten etiolierten Stengel von *Vicia Faba* (145 g) wurden erfroren und in den Pettenkoferschen Apparat gebracht. Temperatur 19°.

Erfrorene Gipfel.

Zeitdauer in Stunden	Wasserstoffstrom	
	CO ₂ in mg	CO ₂ pro 1 Stunde in mg
3	101,8	36,2
3½	58,8	16,8
19½	101,6	5,2
26	269,2	

Alkoholbestimmung.

Das Destillat gab dieselben Reaktionen wie im Versuch 3. Die quantitative Bestimmung ergab: C₂H₅OH = 40,6 mg.

C₂H₅OH in 145 g frischer Gipfel = 39,6 mg.

Von den erfrorenen Gipfeln wurde gebildet C₂H₅OH = Spur.

Versuch 6.

209 g etiolierter Stengelgipfel von *Vicia Faba* wurden erfroren und in den Pettenkoferschen Apparat gebracht. Temperatur 19°.

Erfrorene Gipfel von *Vicia Faba* (Wasserstoffstrom).

Zeitdauer in Stunden	CO ₂ in mg	CO ₂ pro 1 Stunde in mg
3	100,4	33,5
6	124,8	20,8
18	82,0	4,5
1½	6,4	4,3
28½	313,6	

Alkoholbestimmung.

Reaktionen des Destillates wie im Versuch 3.

Die quantitative Bestimmung ergab: $C_2H_5OH = 83,7$ mg.

C_2H_5OH in 209 g frischer Gipfel = 57,1 mg.

Von den erfrorenen Gipfeln wurde gebildet $C_2H_5OH = 26,6$ mg.

$CO_2 : C_2H_5OH = 313,6 : 26,6 = 100 : 8,4$.

Durch diese Versuche wird der Nachweis dafür erbracht, daß die anaerobe Atmung erfrorener Stengelgipfel von *Vicia Faba* keine Alkoholgärung ist. Die von dem Versuchsmaterial gebildeten unbedeutenden Mengen des Alkohols bleiben beinahe in den Grenzen der Versuchsfehler. Es darf nämlich nicht außer acht gelassen werden, daß die zum Kontrollversuch benutzten Keimlinge nicht gleichzeitig mit den übrigen gezogen wurden. Folgender Versuch zeigt, daß die künstliche Zuckernahrung keinen großen Einfluß hat auf die Größe von $CO_2 : C_2H_5OH$ erfrorener Gipfel.

Versuch 7.

Die Gipfel der etiolierten Stengel von *Vicia Faba* wurden im Verlauf von drei Tagen auf 10%iger Saccharoselösung im diffusen Lichte kultiviert. Ein Teil der Gipfel (69 g) wurde für den Kontrollversuch verwendet, das Übriggebliebene (178 g) wurde erfroren und in den Pettenkoferschen Apparat gebracht. Temperatur 20°.

a) Kontrollportion. 69 g frischer Gipfel wurden in der auf Seite 217 beschriebenen Weise bearbeitet. Das letzte Destillat gab dieselben Reaktionen wie im Versuch 3.

Die quantitative Bestimmung ergab: $C_2H_5OH = 17,3$ mg (25,1 mg auf 100 g der Frischsubstanz).

b) Versuchsportion. Versuchsdauer 26 Stunden. $CO_2 = 224,0$ mg. Das erhaltene Destillat gab folgende Reaktionen: 1. Reaktion mit fuchsinschwefliger Säure schwach positiv. 2. Jodoformprobe nach Müntz positiv. 3. Reaktion von Berthelot positiv.

Die quantitative Bestimmung ergab: $C_2H_5OH = 118,6$ mg.

C_2H_5OH in 178 g frischer Gipfel = 44,6 mg.

Von den erfrorenen Gipfeln wurde gebildet: $C_2H_5OH = 74,0$ mg.

$CO_2 : C_2H_5OH = 224 : 74 = 100 : 33$.

Versuche mit Samen und Keimlingen von *Lupinus luteus*.

Versuch 8 (Kontrollversuch).

Samen von *Lupinus luteus* wurden im Verlauf von 2 Tagen unter einer dünnen Wasserschicht geweicht, dann abgeschält und in zwei Portionen geteilt. Die erste Portion (a) wurde zur Alkoholbestimmung unmittelbar, die zweite (b) nach vorhergehender Erfrierung verwendet.

Portion a) 400 frische Lupinensamen (88 g) wurden zur Alkoholbestimmung verwendet. Das letzte Destillat gab folgende Reaktionen: 1. Reaktion mit fuchsinschwefliger Säure negativ. 2. Jodoformprobe nach Müntz sehr schwach. 3. Reaktion von Berthelot sehr schwach.

Das spezifische Gewicht der Flüssigkeit war gleich 1,0000. Die Menge des gebildeten Alkohols war also unmeßbar gering.

Portion b) 400 Lupinensamen (87 g) wurden erfroren und dann zur Alkoholbestimmung verwendet. Das erhaltene Destillat gab folgende Reaktionen: 1. Reaktion mit fuchsinschwefliger Säure negativ. 2. Jodoformprobe nach Müntz sehr schwach. 3. Die Reaktion von Berthelot zweifelhaft. Die quantitative Bestimmung ergab, daß die Menge des Alkohols unmeßbar gering war.

Versuch 9.

Samen von *Lupinus luteus* wurden im Verlauf von zwei Tagen unter einer dünnen Wasserschicht geweicht, dann abgeschält und in zwei Portionen zu je 500 Samen geteilt. Die eine Portion (120 g) wurde unmittelbar in den Pettenkoferschen Apparat gebracht. Die zweite Portion (104 g) wurde erst erfroren, dann ebenfalls in den Pettenkoferschen Apparat gebracht. Temperatur 20°. Wasserstoffstrom.

a) Lebende Samen. Versuchsdauer 24 Stunden. $\text{CO}_2 = 192,0$ mg. Das erhaltene Destillat gab folgende Reaktionen: 1. Reaktion mit fuchsinschwefliger Säure sehr schwach. 2. Jodoformprobe nach Müntz positiv. 3. Reaktion von Berthelot positiv.

Die quantitative Bestimmung ergab: $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 174,0$ mg.

$\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 192 : 174 = 100 : 90,6.$

Dieses Resultat stimmt mit den Angaben Godlewskis¹⁾ vollkommen überein, der für lebende Samen von *Lupinus luteus* $\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 100 : 96$ gefunden hat.

b) Erfrorene Samen. Versuchsdauer 25 Stunden. $\text{CO}_2 = 84,0$ mg.

Das erhaltene Destillat gab folgende Reaktionen: 1. Reaktion mit fuchsinschwefliger Säure sehr schwach. 2. Jodoformprobe nach Müntz positiv. Reaktion von Berthelot zweifelhaft.

Die quantitative Bestimmung ergab, daß die Menge des Alkohols unmeßbar gering war (spezifisches Gewicht = 0,99998).

$$\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 84 : 0.$$

Versuch 10.

500 Samen von *Lupinus luteus* (130 g) wurden im Verlauf von zwei Tagen unter einer dünnen Wasserschicht geweicht, dann abgeschält, erfroren und in den Pettenkoferschen Apparat gebracht. Temperatur 20°. Wasserstoffstrom.

Versuchsdauer 24 Stunden. $\text{CO}_2 = 152,0$ mg.

Die Alkoholbestimmung ergab, daß die Menge des Alkohols unmeßbar gering war. Reaktion von Berthelot zweifelhaft.

$$\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 152 : 0.$$

Versuch 11.

400 Lupinensamen (101 g) wurden im Verlauf von zwei Tagen im Wasser geweicht, dann abgeschält, erfroren und in den Pettenkoferschen Apparat gebracht. Temperatur 20°. Wasserstoffstrom.

Versuchsdauer 46 Stunden. $\text{CO}_2 = 238,8$ mg.

Alkoholbestimmung.

Das letzte Destillat gab folgende Reaktionen: 1. Reaktion mit fuchsinschwefliger Säure negativ. 2. Jodoformprobe nach Müntz positiv. 3. Reaktion von Berthelot positiv.

Die quantitative Bestimmung ergab: $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 83,6$ mg.

$$\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 238,8 : 83,6 = 100 : 35,0.$$

¹⁾ Godlewski, Bulletin de l'Académie des sciences de Cracovie, 1904, S. 115.

Bei diesem Versuche war die Erfrierung keine befriedigende: die Temperatur der Kältemischung war zufälligerweise bedeutend höher, als bei allen übrigen Versuchen. Daher läßt sich wahrscheinlich der Umstand erklären, daß in diesem Falle eine Alkoholbildung stattgefunden hat.

Versuch 11.

8tätige Keimlinge von *Lupinus luteus* (Länge des Hypokotyls 5—9 cm) wurden in drei Portionen geteilt. Die erste Portion (200 Keimlinge = 125 g) wurde unmittelbar zur Alkoholbestimmung verwendet. Die zweite Portion (220 Keimlinge = 140 g) wurde unmittelbar in den Pettenkofer'schen Apparat gebracht. Die dritte Portion (350 Keimlinge = 217 g) wurde erst erfroren und dann ebenfalls in den Pettenkofer'schen Apparat gebracht. Temperatur 20°. Wasserstoffstrom.

a) Kontrollportion. Das erhaltene Destillat gab folgende Reaktionen: 1. Reaktion mit fuchsinschwefliger Säure negativ. 2. Jodoformprobe nach Müntz positiv. 3. Reaktion von Berthelot positiv. Die quantitative Bestimmung ergab jedoch, daß nur Spuren von Alkohol im Destillat vorhanden waren.

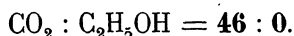
b) Lebende Keimlinge. Versuchsdauer 23 Stunden. $\text{CO}_2 = 336,0$ mg. Die quantitative Bestimmung ergab, daß die Menge des Alkohols gleich 240,1 mg war. Da aber das letzte Destillat eine sehr starke Reaktion mit fuchsinschwefliger Säure gab, so wurde eine abgewogene Menge der Flüssigkeit mit Natriumbisulfit abdestilliert; das erhaltene Destillat wurde mit Natriumcarbonat neutralisiert und wieder abdestilliert. Das letzte Destillat gab folgende Reaktionen: 1. Reaktion mit fuchsinschwefliger Säure negativ. 2. Jodoformprobe nach Müntz positiv. 3. Reaktion von Berthelot positiv.

Die quantitative Bestimmung ergab: $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 212,1$ mg.

$$\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 336 : 212,1 = 100 : 63,1.$$

c) Erfrorene Keimlinge. Versuchsdauer 23½ Stunden. $\text{CO}_2 = 46,0$ mg. Das letzte Destillat gab folgende Reaktionen: 1. Reaktion mit fuchsinschwefliger Säure positiv. 2. Jodoformprobe nach Müntz positiv. Eine abgewogene Menge der Flüssigkeit wurde erst mit Natriumbisulfit und dann mit Natriumcarbonat

abdestilliert. Das erhaltene Destillat gab folgende Reaktionen: 1. Reaktion mit fuchsinschwefliger Säure negativ. 2. Jodoformprobe nach Müntz negativ. 3. Reaktion von Berthelot negativ. Das spezifische Gewicht der Flüssigkeit war gleich 1,000. Folglich war kein Alkohol im Destillat.



Versuch 12.

500 9 tägiger Keimlinge von *Lupinus luteus* (Länge des Hypokotyls 3—6 cm) wurden erfroren und in den Pettenkoferschen Apparat gebracht. Temperatur 20° Wasserstoffstrom.

Versuchsdauer 29 Stunden. $\text{CO}_2 = 56,8$ mg.

Der Alkohol wurde nicht bestimmt.

Aus den Versuchen mit Lupinensamen und Lupinenkeimlingen läßt sich folgendes schließen:

Die anaerobe Atmung lebender Lupinensamen ist mit der Alkoholgärung beinahe identisch. Die anaerobe Atmung lebender Lupinenkeimlinge ist zwar keine typische Alkoholgärung, doch entstammt auch in diesem Falle mehr als die Hälfte der CO_2 dem Prozeß der Alkoholgärung. Die anaerobe Atmung erfrorener Lupinensamen und Keimlinge hat dagegen mit der Alkoholgärung nichts zu tun, da in diesem Falle überhaupt keine Alkoholbildung stattfindet. Es ist danach zu schließen, daß die Alkoholproduktion lebender Samen und Keimlinge entweder durch die Tätigkeit des Plasmas selbst erfolgt, oder es wird die Lupinenzymase durch niedere Temperaturen zerstört; diese letztere Ansicht scheint uns wahrscheinlicher zu sein. Die Gefriermethode ermöglicht jedenfalls eine Trennung anaerober Atmungsvorgänge und liefert zugleich den Beweis, daß die anaerobe Atmung auch bei nachgewiesener Abwesenheit der Zymase möglich ist. Auf der Fig. II. sind CO_2 -Ausscheidung und Alkoholbildung der Lupinensamen und Lupinenkeimlinge (auf 100 g der Frischsubstanz bezogen) graphisch dargestellt worden.

Versuche mit Samen von *Ricinus communis*.

Versuch 13.

Samen von *Ricinus communis major* wurden im Verlauf von drei Tagen im Wasser geweicht, dann abgeschält und

in drei Portionen zu je 200 Samen geteilt. Die erste Portion (82 g) wurde direkt zur Alkoholbestimmung verwendet, die zweite Portion (83 g) wurde unmittelbar in den Pettenkoferschen Apparat gebracht; die dritte Portion wurde erst erfroren und dann ebenfalls in den Pettenkoferschen Apparat gebracht. Temperatur 20°. Wasserstoffstrom.

a) Kontrollportion.

Das erhaltene Destillat gab folgende Reaktionen: 1. Reaktion mit

fuchsinschwefliger Säure positiv. 2. Jodoformprobe nach Müntz positiv. Das spezifische Gewicht des Destillates war gleich 1,0000. Eine abgewogene Menge der Flüssigkeit wurde erst mit Natriumbisulfit und dann mit Natriumcarbonat abdestilliert. Das erhaltene Destillat gab folgende Reaktionen: 1. Reaktion mit fuchsinschwefliger Säure negativ. 2. Jodoformprobe nach Müntz negativ. 3. Reaktion von Berthelot negativ. Das spezifische Gewicht der Flüssigkeit war gleich 1,0000. Folglich war das Destillat vollständig alkoholfrei.

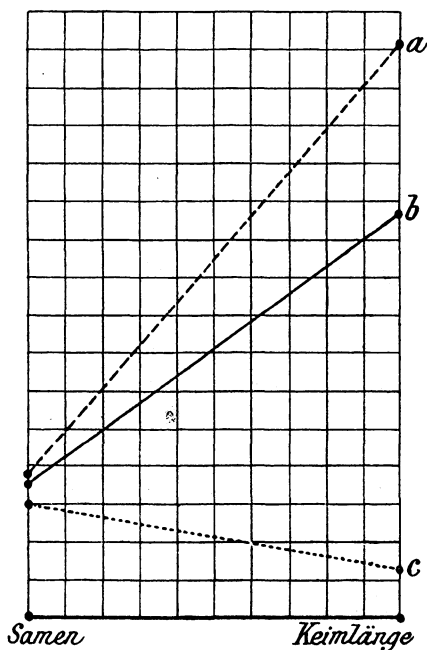


Fig. II.

Lupinus luteus. a) anaerobe Atmung der lebenden Samen und Keimlinge, b) Alkoholbildung der lebenden Samen und Keimlinge, c) anaerobe Atmung der erfrorenen Samen und Keimlinge.

Durch dieses Ergebnis wird das Unzulängliche der Jodoformprobe in überzeugender Weise klar gelegt.

b) Lebende Samen. Versuchsdauer 23 Stunden. $\text{CO}_2 = 90,0$ mg. Das erhaltene Destillat gab folgende Reaktionen: 1. Reaktion mit fuchsinschwefliger Säure positiv. 2. Jodoformprobe nach Müntz positiv. 3. Reaktion von Berthelot positiv.

Die quantitative Bestimmung ergab: $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 53,9 \text{ mg.}$

$$\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 90 : 53,9 = 100 : 59,9.$$

c) Erfrorene Samen. Versuchsdauer 47 Stunden. $\text{CO}_2 = 171,6 \text{ mg.}$ Das letzte Destillat gab dieselben Reaktionen, wie das Destillat von lebenden Samen. Die quantitative Bestimmung ergab: $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 101,0 \text{ mg.}$

$$\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 171,6 : 101 = 100 : 58,9.$$

Aus diesem Versuche ist ersichtlich, daß das Gefrieren keinen Einfluß hat auf die Größe des Verhältnisses $\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ bei den Ricinussamen. Es darf jedoch nicht vergessen werden, daß die gequollenen Ricinussamen viel Öl und wenig Wasser enthalten, wodurch ein totales Gefrieren bedeutend erschwert wird.

Versuche mit Weizenkeimen.

Versuch 14.

170 g geweichter und dann erfrorener Weizenkeime wurden mit 400 ccm eines ausgekochten Weizenkeimextraktes und 8 g NaF in einen geräumigen Kolben gebracht. Alsdann wurde ein konstanter Wasserstoffstrom durch die Flüssigkeit getrieben. Temperatur 19° .

Wasserstoffstrom.

Zeitdauer in Stunden	CO_2 in mg	CO_2 pro 1 Stunde in mg
8½	50,4	5,9
25	134,0	5,3
18	33,2	1,9
27½	28,0	1,0
22	20,0	0,9
18	9,2	0,5
119	274,8	

Alkoholbestimmung.

Das letzte Destillat gab folgende Reaktionen: 1. Reaktion mit fuchsinschwefliger Säure positiv. 2. Jodoformprobe nach Müntz positiv. 3. Reaktion von Berthelot positiv.

Die quantitative Bestimmung ergab: $C_2H_5OH = 111,2$ mg. Das Destillat gab die Jodoformreaktion in der Kälte. Auch bei Zusatz von NH_3 und Jodtinktur wurde Jodoformbildung beobachtet (Reaktion von Gunning). Danach ist zu schließen, daß das Destillat acetonhaltig war. Die Menge des Alkohols wurde also vielleicht etwas zu groß gefunden; auch wurde leider kein Kontrollversuch ausgeführt. Aus diesen Gründen wurde bei diesem Versuche $CO_2 : C_2H_5OH$ nicht berechnet.

Versuch 15.

Im Wasser geweichte Weizenkeime. 247 g davon wurden unmittelbar zur Alkoholbestimmung verwendet. Eine andere Portion (100 g) wurde erfroren und in den Pettenkoferschen Apparat gebracht. Temperatur 19° .

Erfrorene Weizenkeime (Wasserstoffstrom).

Zeitdauer in Stunden	CO_2 in mg	CO_2 pro 1 Stunde in mg
5	187,8	37,6
2	76,0	38,0
$2\frac{1}{2}$	56,4	22,6
6	100,8	16,8
14	118,8	8,5
$8\frac{1}{2}$	72,8	8,5
20	138,0	6,9
23	94,4	4,1
16	56,4	3,5
97	901,4	

Alkoholbestimmungen.

a) Kontrollportion. Das erhaltene Destillat gab folgende Reaktionen: 1. Reaktion mit fuchsinschwefliger Säure positiv. 2. Jodoformprobe nach Müntz positiv. 3. Reaktion von Berthelot positiv. Die quantitative Bestimmung ergab: $C_2H_5OH = 104,9$ mg. Eine abgewogene Menge der Flüssigkeit wurde erst mit Natriumbisulfit, dann mit Natriumcarbonat abdestilliert. Das letzte Destillat gab folgende Reaktionen: 1. Reaktion mit fuchsin-

schwefliger Säure negativ. 2. Jodoformprobe positiv. 3. Reaktion von Berthelot positiv.

Die quantitative Bestimmung ergab: $C_2H_5OH = 106,1$ mg. Die mit fuchsinschwefliger Säure reagierende Substanz war also in minimaler Menge vorhanden. Der Rückstand von der unter Zusatz von Natriumbisulfit ausgeführten Destillation wurde mit Natriumcarbonat zerlegt und wieder abdestilliert. Das erhaltene Destillat gab mit fuchsinschwefliger Säure rote Färbung; die Jodoformprobe in der Kälte (Liebenschke Reaktion) und die Reaktion von Gunning fielen jedoch negativ aus.

b) Versuchsportion. Das durch Destillation mit Natriumbisulfit und Natriumcarbonat gereinigte Destillat gab folgende Reaktionen: 1. Reaktion mit fuchsinschwefliger Säure negativ. 2. Jodoformprobe nach Müntz positiv. 3. Reaktion von Berthelot positiv.

Die quantitative Bestimmung ergab: $C_2H_5OH = 879,2$ mg.

C_2H_5OH in 100 g frischer Keime = 42,5 mg.

Von den erfrorenen Keimen wurde gebildet: $C_2H_5OH = 836,7$ mg.

$CO_2 : C_2H_5OH = 901,4 : 836,7 = 100 : 92,8$.

Die anaerobe Atmung erfrorener Weizenkeime ist also mit der Alkoholgärung beinahe identisch.

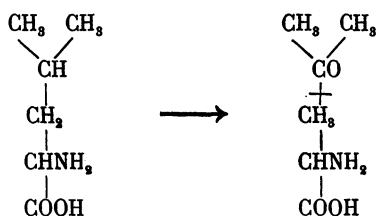
Der Rückstand von der unter Zusatz von Natriumbisulfit ausgeführten Destillation wurde mit Natriumcarbonat zerlegt und wieder abdestilliert. Das erhaltene Destillat gab folgende Reaktionen: 1. Mit fuchsinschwefliger Säure rote Färbung. 2. Mit Nitroprussidnatrium in schwach alkalischer Lösung rote Färbung (Legalsche Reaktion). 3. Mit Jodtinktur und NH_3 in der Kälte Jodoformbildung (Gunningsche Reaktion). 4. Mit Jodkalium und Natronlauge ausgiebige Jodoformausscheidung in der Kälte (Liebenschke Reaktion).

Durch diese Proben wird die Anwesenheit des Acetons im Destillat festgestellt. Für eine quantitative Bestimmung war jedoch die Menge des Acetons zu gering. Die Acetonbildung erfolgt auch bei Sauerstoffzutritt, wie es aus folgendem Versuche ersichtlich ist.

Versuch 16.

100 g in Wasser geweichter Weizenkeime wurden erfroren, in ein U-Rohr gebracht und mit einer mit Toluol getränkten Wasserschicht bedeckt. Im Verlauf von 97 Stunden wurde ein konstanter Luftstrom durch das Rohr geleitet. Alsdann wurde das Versuchsmaterial und das Wasser der Waschflasche in einen Destillationskolben gebracht, mit destilliertem Wasser versetzt und mehrfacher Destillation unterworfen. Das letzte Destillat wurde mit Natriumbisulfit versetzt und wieder abdestilliert. Der Rückstand von dieser Destillation wurde mit Natriumcarbonat behandelt und wieder abdestilliert. Das erhaltene Destillat gab sämtliche im Versuch 15 angegebenen Acetonreaktionen. Es bleibt noch einstweilen dahingestellt, ob bei der Atmung erfrorener Weizenkeime direkte Acetonbildung stattfindet: es ist ja wohl möglich, daß sich eine nicht beständige, bei der Destillation Aceton abspaltende Substanz (wie z. B. Acetessigsäure) im Versuchsmaterial anhäuft.

Die Acetonbildung bei der Atmung ist eine in der tierischen Physiologie schon längst bekannte Tatsache.¹⁾ In der letzten Zeit wurde u. a. die nicht unwahrscheinliche Vermutung ausgesprochen,²⁾ daß Aceton bei der Oxydation des Leucins abgespalten wird:



In unseren Versuchen haben wir eine zweifellose Acetonbildung nur bei Weizenkeimen beobachtet.

¹⁾ Eine gute Zusammenfassung der Literatur über das Aceton findet man bei R. Waldvogel «Die Acetonkörper», Stuttgart 1903.

²⁾ v. Noorden u. Embden, Zentralblatt für die gesamte Physiologie u. Pathologie des Stoffwechsels, Bd. I, 1906, S. 2.

Embden, Salomon und Schmidt, Hofmeisters Beiträge, Bd. VIII, 1906, S. 129.

Versuche mit Samen von *Pisum sativum*.

Versuch 17.

Samen von *Pisum sativum* wurden im Verlauf von 24 Stunden unter einer dünnen Wasserschicht geweicht, dann abgeschält und in zwei Portionen zu je 250 Samen geteilt. Die erste Portion (180 g) wurde zur Kontrolle verwendet, die andere (185 g) wurde erfroren und in den Pettenkoferschen Apparat gebracht. Temperatur 19°.

Wasserstoffstrom.

Zeitdauer in Stunden	CO ₂ in mg	CO ₂ pro 1 Stunde in mg
1½	39,2	26,1
2½	92,0	36,8
3½	108,2	30,9
12½	186,4	15,0
3	43,2	14,4
2½	27,2	10,9
3¾	30,0	8,0
17	80,4	4,8
7	36,8	5,2
21	79,6	3,8
22	56,4	2,6
21	48,0	2,3
117	827,4	

Alkoholbestimmungen.

a) Kontrollportion. Das letzte Destillat gab folgende Reaktionen: 1. Reaktion mit fuchsinschwefliger Säure schwach positiv. 2. Jodoformprobe nach Müntz positiv. 3. Reaktion von Berthelot positiv.

Die quantitative Bestimmung gab: $C_2H_5OH = 106,4$ mg.

b) Versuchsportion. Das letzte Destillat gab dieselben Reaktionen wie das Kontrolldestillat.

Die quantitative Bestimmung ergab: $C_2H_5OH = 728,3$ mg.
 C_2H_4OH in 250 frischen Samen = 106,4 mg.

Von den erfrorenen Samen wurde gebildet: $C_2H_5OH = 621,9$ mg.

$$CO_2 : C_2H_5OH = 827,4 : 621,9 = 100 : 75,2.$$

Versuch 18.

Samen von *Pisum sativum* wurden im Verlauf von 24 Stunden unter einer dünnen Wasserschicht geweicht, dann abgeschält und für 2 Stunden auf Fließpapier gelegt. Alsdann wurden die Samen in drei Portionen zu je 200 Stück geteilt. Die erste Portion wurde zum Kontrollversuch verwendet; die beiden anderen wurden erfroren und in den Pettenkofer'schen Apparat gebracht. Temperatur 20° .

Erfrorene Erbsensamen.

Versuchsdauer in Stunden	CO ₂ in Milligramm	
	2. Portion (119 g) Luftstrom	3. Portion (121 g) Wasserstoffstrom
98	1482,0	775,2

Alkoholbestimmungen.

a) Kontrollportion. Das erhaltene Destillat gab folgende Reaktionen: 1. Reaktion mit fuchsinschwefliger Säure positiv. 2. Jodoformprobe nach Müntz positiv. 3. Reaktion von Berthelot schwach positiv. 4. Legalsche Reaktion positiv. 5. Reaktion von Gunning negativ.

Die quantitative Bestimmung ergab: $C_2H_5OH =$ Spur.

b) Luftportion. Das letzte Destillat gab dieselben Reaktionen wie im Versuch 17. Die quantitative Bestimmung ergab: $C_2H_5OH = 1013,4$ mg.

$$CO_2 : C_2H_5OH = 1482,0 : 1013,4 = 100 : 68,4.$$

c) Wasserstoffportion. Das letzte Destillat gab dieselben Reaktionen wie im Versuch 17.

Die quantitative Bestimmung ergab: $C_2H_5OH = 552,7$ mg.

$$CO_2 : C_2H_5OH = 775,2 : 552,7 = 100 : 71,3.$$

Die Versuche 17 und 18 zeigen, daß die anaerobe Atmung erfrorener Erbsensamen zum größten Teil Alkoholgärung ist. Das Verhältnis $CO_2 : C_2H_5OH$ entspricht jedoch nicht demjenigen,

das von Godlewski und Polzeniusz¹⁾ bei lebenden Erbsensamen gefunden wurde. Es scheint also nicht ganz unwahrscheinlich zu sein, daß durch die Einwirkung niedrigerer Temperatur eine totale Zerstörung der Erbsenzymase bewerkstelligt werden könnte. Derartige Versuche (unter Anwendung der flüssigen Luft) beabsichtigen wir zu unternehmen.

Obschon die in unseren Versuchen ausgeführte Erfrierung für die Zerstörung der Erbsenzymase unzureichend war, waren die Samen dennoch getötet; ein Zeugnis dafür ist die Tatsache, daß $\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ erfrorener Samen bei Sauerstoffzutritt derselbe ist, wie bei Sauerstoffabschluß. Bei der Sauerstoffatmung lebender Samen wird im Gegenteil eine nur unbedeutende Menge Alkohol gebildet, wie aus dem folgenden Versuche ersichtlich ist.

Versuch 19.

Samen von *Pisum sativum* wurden im Verlauf von 24 Stunden unter einer dünnen Wasserschicht geweicht, dann abgeschält und für 2 Stunden auf Fließpapier gelegt. Alsdann wurden die Samen in drei Portionen zu je 300 Samen geteilt. Die erste Portion wurde zum Kontrollversuch verwendet, die beiden anderen Portionen wurden in den Pettenkoferschen Apparat gebracht. Temperatur 22—24°.

Lebende Erbsensamen (Luftstrom).

2. Portion		3. Portion ²⁾	
Versuchsdauer in Stunden	CO_2 in mg	Versuchsdauer in Stunden	CO_2 in mg
24	1204,0	22	1052,8

Alkoholbestimmungen.

a) Kontrollportion. Das erhaltene Destillat gab dieselben Reaktionen wie im Versuch 17.

Die quantitative Bestimmung ergab: $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 113,1$ mg.

¹⁾ Godlewski u. Polzeniusz, Bulletin de l'Academie des sciences de Cracovie, 1901, S. 227.

²⁾ Die Luftdurchleitung wurde bei der Portion 3 für die ganze Nacht unterbrochen. Infolgedessen hat sich eine bedeutende Menge des Alkohols gebildet.

b) 2. Portion. Das erhaltene Destillat gab folgende Reaktionen: 1. Reaktion mit fuchsin-schwefliger Säure positiv. 2. Jodoformprobe nach Müntz positiv. 3. Reaktion von Berthelot positiv.

Die quantitative Bestimmung ergab: $C_2H_5OH = 273,0$ mg.

C_2H_5OH in 300 frischen Samen = 113,1 mg.

Bei der Sauerstoffatmung lebender Samen wurde gebildet: $C_2H_5OH = 159,9$ mg.

$CO_2 : C_2H_5OH = 1204 : 159,9 = 100 : 16,6$.

c) 3. Portion. Das Destillat gab dieselben Reaktionen wie bei b).

Die quantitative Bestimmung ergab: $C_2H_5OH = 879,4$ mg.

C_2H_5OH in 300 frischen Samen = 113,1 mg.

Von den lebenden Samen wurde gebildet: 766,3 mg.

$CO_2 : C_2H_5OH = 1052,8 : 766,3 = 100 : 72,7$.

Wie aus der Anmerkung auf S. 236 ersichtlich, befand sich die Portion 3 hauptsächlich in einer sauerstofffreien Atmosphäre.

Überblicken wir die Ergebnisse unserer Versuche, so sehen wir eine vollkommene Bestätigung der von einem von uns bereits vor 2 Jahren ausgesprochenen Voraussetzung: ¹⁾ «Wenn so häufig von der Identität der anaeroben Atmung mit der Alkoholgärung gesprochen wird, so läßt sich dies wahrscheinlich dadurch erklären, daß . . . eine Anzahl von Übergangstypen existiert, die gleichzeitig mit der anaeroben Atmung . . . eine mehr oder weniger typische Alkoholgärung hervorzurufen imstande sind.»

Auch der andere von uns hat sich folgendermaßen ausgesprochen: ²⁾ « . . . der in gefrorenen Blättern sich abspielende anaerobe Prozess der Kohlensäurebildung nichts mit der Alkoholgärung gemein hat, da jener Prozess am energischsten in denjenigen Blättern verläuft, die keine Kohlehydrate enthalten, ja sogar durch Einführung von Saccharose nur abgeschwächt

¹⁾ Kostytschew, Zentralbl. f. Bakteriöl., II. Abt., Bd. XIII, 1904, S. 401.

²⁾ Palladin, Diese Zeitschrift, Bd. XLVII, 1906, S. 417.

wird Durch alle diese Ausführungen will ich keineswegs die Möglichkeit der Alkoholgärung bei den höheren Pflanzen verneinen, glaube aber nur, daß sie eine Nebenrolle spielt und nicht als ein Fundamentalprozeß bezeichnet werden kann.»

In der Tabelle S. 239 sind die wichtigsten Zahlenresultate einzelner Versuche zusammengestellt.

Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse.

1. Bei der anaeroben Atmung lebender Lupinensamen und Lupinenkeimlinge wird eine beträchtliche Menge Alkohol gebildet. Die anaerobe Atmung dieser Objekte ist also im wesentlichen mit der Alkoholgärung identisch. Bei der anaeroben Atmung erfrorener Lupinensamen und Lupinenkeimlinge findet überhaupt keine Alkoholbildung statt; auch bei der anaeroben Atmung erfrorener Stengelgipfel von *Vicia Faba* werden keine nennenswerten Mengen Alkohol gebildet. Die anaerobe Atmung erfrorener Lupinensamen, Lupinenkeimlinge und Stengelgipfel von *Vicia Faba* hat also mit der Alkoholgärung nichts zu tun.

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

3. Bei lebenden Erbsensamen wird eine Anhäufung des Alkohols nur bei Sauerstoffabschluß beobachtet. Erfrorene Erbsensamen häufen dagegen beträchtliche Mengen Alkohol bei vollem Sauerstoffzutritt an. Dies erklärt sich dadurch, daß die Oxydationsvorgänge in Pflanzenzellen infolge der Abtötung bedeutend abgeschwächt werden.

4. Die Meinung Mazés, Godlewskis und Stoklasas bezüglich der Anwesenheit der Zymase bei Samenpflanzen wird durch unseren Versuch bestätigt. Es bleibt noch freilich dahingestellt, ob die Zymase der Samenpflanzen mit der Hefezymase identisch ist.

5. Bei der normalen und anaeroben Atmung lebender und erfrorener Pflanzen werden unter Umständen Aceton und andere mit fuchsinschweflicher Säure reagierende Substanzen gebildet.

Erfrorene Pflanzen	Frish- ge- wicht in g	Ver- suchs- dauer in Stun- den	Menge der ausge- schie- denen CO ₂ in mg	Menge des gebil- deten Alko- hols in mg	Menge des Al- kohols auf 100 mg der CO ₂
Weizenkeime	100	97	901,4	836,7	92,8
250 Samen von Pisum sativum .	165	116	827,4	621,9	75,2
200 » » » » .	119	98	1482,0	1013,4	68,4
200 » » » » .	121	98	775,2	552,7	71,3
200 Samen von Ricinus com- munis	81	47	171,6	101,0	58,9
Gipfel der etiolierten Stengel von Vicia Faba	145	26	269,2	Spur	0
Dasselbe	120	27	181,6	31,1	17,1
Dasselbe	117	51 ¹ / ₂	182,8	33,8	18,5
Dasselbe	209	28 ¹ / ₂	313,6	26,6	8,4
Gipfel der Stengel von Vicia Faba nach Zucker- und Lichternährung	178	26	224,0	74,0	33,0
500 Samen von Lupinus luteus .	130	24	152,0	0	0
500 » » » » .	104	25	84,0	0	0
400 » » » » .	101	46	238,8	83,6	35,0
350 Lupinenkeimlinge	217	23 ¹ / ₂	46,0	0	0
500 »	335	24	56,8	—	—