

# Zur Physiologie der organischen Säuren in grünen Pflanzen

IV. Zur Entstehung der Oxalsäure

Probevorlesung:  
“ Zur Frage der Entwicklungsanregung”  
ergebenst einladet  
Dr. rer. nat. Karl Wetzel

# **Zur Physiologie der organischen Säuren in grünen Pflanzen**

## **IV. Zur Entstehung der Oxalsäure**

### **Habilitationsschrift**

durch welche mit Zustimmung

der Hohen Philosophischen Fakultät der Universität Leipzig

zu seiner am Freitag, den 9. Dezember 1927, 16–17 Uhr,

im großen Hörsaal

des Botanischen Instituts der Universität zu haltenden

Probevorlesung:

**„Zur Frage der Entwicklungsanregung“**

ergebenst einladet

**Dr. rer. nat. Karl Wetzel**

---

Springer-Verlag Berlin Heidelberg GmbH

1927

ISBN 978-3-662-38955-3  
DOI 10.1007/978-3-662-39908-8

ISBN 978-3-662-39908-8 (eBook)

### Bildung der Oxalsäure.

Das weitverbreitete Vorkommen der Oxalsäure, die Auffälligkeit der Erscheinung, wie auch ihr leichter makro- und mikrochemischer Nachweis haben bereits frühzeitig das Interesse der Botaniker auf diese Säure gelenkt und Anlaß zu zahlreichen Untersuchungen gegeben. In Bezug auf die Verbreitung der Oxalsäure und ihre Lokalisation in den Pflanzen sind wir dank dem besonders von MOLISCH<sup>1</sup> erweiterten ziemlich eindeutigen Nachweise im großen und ganzen gut unterrichtet. Auch über die täglichen und jahreszeitlichen Schwankungen einzelner Pflanzen im Oxalsäuregehalt, sowie die Wirkung von Außenfaktoren wie Licht, Temperatur, O<sub>2</sub>-Tension der umgebenden Atmosphäre usw. finden wir manchen wertvollen Hinweis in der Literatur. Dagegen wissen wir über die *Entstehung* der Oxalsäure im pflanzlichen Stoffwechsel, über den Chemismus ihrer Bildung so gut wie nichts. Wohl finden wir in der Spezialliteratur hauptsächlich als Ergebnis von Ernährungsversuchen an Pilzen manche Angaben über die vermeintliche Bildung der Oxalsäure, die sich aber alle bei kritischer Betrachtung nur als Befunde über die *Erhaltung* der Säure ausweisen. Trotz des so gut wie völligen Fehlens einer experimentellen Grundlage mangelt es in der Literatur nicht an Angaben und Theorien über die Oxalsäurebildung, deren Unsicherheit allerdings schon aus der Mannigfaltigkeit und Gegensätzlichkeit der Erklärungsversuche sowie aus der Tatsache erhellt, daß auch heute noch keine dieser Theorien zu allgemeiner Anerkennung gelangen konnte. Dieser Mißerfolg erklärt sich einerseits aus der Unzulänglichkeit der zur Anwendung gelangten Methoden der Säurebestimmung — über die an anderer Stelle im Zusammenhang mit der

---

<sup>1</sup> MOLISCH: Mikrochemie.

Beschreibung einer neu ausgearbeiteten Methode berichtet werden soll — andererseits aus einer besonderen Einstellung vieler Physiologen zu gewissen stoffwechselphysiologischen Problemen. Früher wurde — wie KOSTYTSCHEW<sup>1</sup> mit Bezug auf die Atmung treffend bemerkt — nur die biologische Seite der physiologischen Prozesse und ihre Abhängigkeit von Außenbedingungen studiert, während man das Studium der biochemischen Zusammenhänge lange Zeit vernachlässigte. So kam es, daß man die Frage nach der biologischen Bedeutung der Oxalsäure und der Rolle, die sie im Stoffwechsel der Pflanze spielen könnte, lebhaft ventilerte, bevor man auch nur ernstlich versuchte, die kausalen Zusammenhänge der zu ihrer Bildung führenden Prozesse aufzudecken, eine Arbeitsmethode, die zu den verschiedenartigsten Ansichten hinsichtlich der physiologischen Bedeutung der Oxalsäure führen mußte, auf deren ausführliche Darstellung wir verzichten wollen. Die mannigfaltigen bezüglich der Oxalsäurebildung geäußerten Meinungen lassen sich immerhin — wenigstens unter Verzicht auf eine gleichartige Begründung — in bestimmte Gruppen einteilen.

Die um 1840 von LIEBIG vertretene Ansicht deutet die Oxalsäure als ein Produkt unvollständiger Reduktion der assimilierten CO<sub>2</sub>, eine Theorie, die noch in neuerer Zeit von BAUR<sup>2</sup> auf Grund energetischer Erwägungen bezüglich der CO<sub>2</sub>-Assimilation wieder aufgenommen wurde. Zu ähnlichen Schlußfolgerungen, wenn auch auf ganz anderem Wege, gelangten BERTHELOT und ANDRÉ<sup>3</sup>. Sie fanden beim Rhabarber eine bemerkenswerte Übereinstimmung zwischen Eiweißsynthese und Oxalsäurebildung. Ausgehend von der Annahme, daß die Oxalsäure in den Blättern, also in „vorwiegend reduzierenden Organen“ entstehe, verknüpften sie die Oxalsäurebildung mit der CO<sub>2</sub>-Assimilation und betrachteten diese Säure als ein Produkt unvollständiger Reduktion der CO<sub>2</sub>.

Einer solchen Deutung widersprach jedoch der Wert  $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = 1$ ; daher nahmen sie an, daß ein Teil des bei der Assimilation freiwerdenden Sauerstoffs aus dem Wasser stamme, während der restliche Wasserstoff in das den Kohlehydraten gegenüber sauerstoffärmere Eiweißmolekül aufgenommen werde. Wir würden im Sinne WIELANDS heute sagen, die Vorstufen des Eiweißes wirken als Wasserstoffakzeptoren.

Im Gegensatz zu diesen Anschauungen hat jedoch die Mehrzahl der älteren Theorien die Oxalsäurebildung in Zusammenhang mit dissimilatorischen Oxydationsprozessen gebracht. Aber auch die Deutungen dieser Richtung weisen wieder die verschiedensten Lesarten auf.

<sup>1</sup> KOSTYTSCHEW, S.: Pflanzenatmung 1924.

<sup>2</sup> BAUR, E.: Naturwissenschaften 50, 474. 1913.

<sup>3</sup> BERTHELOT et ANDRÉ: Cpt. rend. hebdom. des séances de l'acad. des sciences 102, 995. 1880.

A. MAYER<sup>1</sup> und G. KRAUS<sup>2</sup> wandten sich vor allem gegen die Möglichkeit des synthetischen Aufbaus der organischen Säuren im Assimilationsprozeß. Im übrigen aber spezialisierten sie sich mehr auf die „Äpfelsäure“ der Sukkulenten und hierbei wieder mehr auf den Abbau der Säure bzw. deren unter der Lichtwirkung angeblich sich vollziehenden Reduktion zu Kohlehydraten, als auf die Bildung der Säuren. Die Äpfelsäure wird zwar als ein Produkt unvollständiger Oxydation bzw. Spaltung von Kohlehydraten eventuell auch von Eiweiß angesehen; inwieweit ihre Bildung aber mit der Atmung zusammenhängt, wird nicht näher untersucht, und KRAUS begnügt sich, die Säure als *Nebenprodukt* der Atmung zu deuten. In Bezug auf die *Oxalsäurebildung* konnten MAYER und KRAUS zu keiner bestimmten Ansicht kommen. DE VRIES<sup>3</sup> endlich beschränkte sich darauf, hinsichtlich der nächtlichen Äpfelsäurebildung zu sagen, daß sie eine durch vorherige Belichtung induzierte Erscheinung sei. Dabei soll es sich um eine direkt von der Pflanze als Reiz empfundene Lichtwirkung handeln, nicht etwa um einen durch Anhäufung von Kohlehydraten bedingten Effekt. — Man wird es WARBURG<sup>4</sup> nicht verdenken, wenn er im Hinblick auf diese Ergebnisse sagte, daß die ganze Säurefrage verwirrt denn je erscheine, und vor allem der Zusammenhang der Säurebildung mit dem Atmungsprozeß einer Klärung bedürfe, die er selbst in seinen Untersuchungen aber auch nicht zu bringen vermochte. Hinsichtlich der Bildung der organischen Säuren drückt er sich sehr vorsichtig aus. Beziehen sich auch seine Untersuchungen in der Hauptsache auf Äpfelsäure führende Sukkulenten, so finden wir doch auch Oxalsäure führende Pflanzen unter den untersuchten Arten, und WARBURG stellte ohne nähere Erklärung der Erscheinung bereits bedeutsame Unterschiede in der Wirkung von Außenfaktoren auf den Säurestoffwechsel von Äpfel- und Oxalsäure führenden Pflanzen fest. Er bezeichnet die organischen Säuren einfach als Produkte unvollständiger Oxydation, lehnt aber ihre Deutung als intermediäre Atmungsprodukte ausdrücklich ab. Wenn die Bildung der organischen Säuren überhaupt mit dem Atmungsstoffwechsel zusammenhänge, so könnten die Säuren höchstens die weniger leicht verbrennbaren Spaltprodukte der Atmung sein. Im übrigen legt er der Frage, ob es sich bei der Bildung der organischen Säuren um direkte oder indirekte Oxydation handelt, d. h. der Frage des Ablaufs der chemischen Prozesse, die zur Säurebildung führen, absolut keinen Wert bei. Wenn er bei der nächtlichen Ansäuerung gleichzeitig einen Kohlehydratschwund beobachten konnte, so schließt er daraus auf keinen stofflichen Zusammenhang zwischen Zucker- und

<sup>1</sup> MAYER, A.: Landwirtsch. Versuchs-Stationen **30**, 217. 1884.

<sup>2</sup> KRAUS, G.: Abh. d. naturk. Ges. Halle **16**, 393. 1886.

<sup>3</sup> DE VRIES, H.: Botan. Zeit. **42**, S. 337. 1884.

<sup>4</sup> WARBURG, O.: Tübing. Unters. **2**, 53. 1886—88.

Pflanzensäuren, ebenso wenig wie er die Notwendigkeit der Sauerstoffgegenwart zur Säurebildung als Beweis für den oxydativen Charakter der zur Säurebildung führenden Prozesse ansieht. Vielmehr nimmt er an, daß die Bedeutung dieser beiden Tatsachen für die Säurebildung in einer Intensivierung des gesamten Stoffwechsels zu suchen sei. „Großen Wert wird die Lösung, ob direkte oder indirekte Oxydation stattfindet, kaum besitzen, da die eventuellen Zwischenglieder zwischen Sauerstoffanlagerung und Säureabspaltung nur wenig beständige Körper im Stoffwechsel sein können.“

Bestimmter drückt sich PURIEWITSCH<sup>1</sup> aus, der die organischen Säuren als Zwischenprodukte der normalen Sauerstoffatmung ansieht. Dabei geht er von der Ansicht aus, daß die Atmungsprozesse eine Kette fortschreitender Oxydationen unter Bildung immer sauerstoffreicherer Körper seien, so daß er naturgemäß die Oxalsäureanhäufung als ein Stehenbleiben der Atmung auf dem vorletzten Stadium ihres Ablaufs deutet. Infolgedessen sieht er im erschwerten Sauerstoffzutritt die Ursache der Säureanhäufung. Ähnliche Ansichten vertritt auch SPOEHR<sup>2</sup>, der sich übrigens mehr mit dem lichtkatalytischen Zerfall der Säuren und den entstehenden Zerfallsprodukten als mit der Bildung der Säuren befaßt. Er sieht wie PURIEWITSCH die Säuren als intermediäre Atmungsprodukte an, die ihre Entstehung nicht besonders gerichteten chemisch-physiologischen Vorgängen, sondern vielmehr dem morphologischen und anatomischen Bau der Säurepflanzen verdanken, der einen reichlichen Sauerstoffzutritt zum Gewebe verhindert. Mit KRAUS und MAYER teilt auch er die Ansicht, daß die in vitro aufgefundenen organischen Abbauprodukte (Formaldehyd) der Pflanzensäuren zum Teil bei der Synthese von Kohlehydraten wieder Verwendung finden.

Wir werden auf eine kritische Würdigung dieser Ansicht weiter unten zurückkommen. BRUNNER und CHUARD<sup>3</sup> nehmen insofern eine gewisse Mittelstellung ein, als sie zwar die Möglichkeit der oxydativen Säurebildung zugeben, aber daneben betonen, daß ein und derselbe Körper schließlich sich auf recht verschiedene Art und aus sehr unterschiedlichen Muttersubstanzen bilden könne. Die Tatsache, daß Pflanzensäuren auch in Blättern auftreten, die noch keine Spur von Stärke enthalten, soll dafür beweisend sein, daß diese Säuren im CO<sub>2</sub>-Assimilationsprozeß entstehen. Dabei soll aus CO<sub>2</sub> über das Kohlensäurehydrat Ameisen- und Oxalsäure und unter weiterer Reduktion Glyoxyl-, Glykol-, Wein-, Äpfel- und Bernsteinsäure entstehen. Ähnlichen Gedanken-

<sup>1</sup> PURIEWITSCH, K.: Aufbau und Abbau von organischen Säuren in Samenpflanzen 1893. *Botan. Zentralbl.* 58, 368. 1894.

<sup>2</sup> SPOEHR, H. A.: *Biochem. Zeitschr.* 57, 95. 1913.

<sup>3</sup> BRUNNER u. CHUARD: *Ber. d. chem. Ges.* 19, 575. 1886.

gängen geht STEINMANN<sup>1</sup> nach, der aus dem Befund, daß sich bezüglich der Anhäufung und Wanderung der organischen Säuren und der gelösten Kohlehydrate gewisse Übereinstimmungen ergeben, die Möglichkeit der Säurebildung im Assimilationsprozeß als gegeben ansieht.

Während die allermeisten der besprochenen Erklärungsversuche die Oxalsäurebildung mit dem Kohlehydratstoffwechsel in direkte Beziehung brachten, eröffnete HOLZNER<sup>2</sup> insofern eine neue Richtung, als er die Oxalsäure als ein Nebenprodukt der Eiweißsynthese auffaßte. Die Grundlage dieser Auffassung ist in der häufig beobachteten starken Säureproduktion in rasch wachsenden Pflanzenteilen zu suchen. Da nun die Eiweißsynthese das Ergebnis eines Komplexes sehr verschiedenartiger Teilreaktionen darstellt, ist es bei der Mangelhaftigkeit der damals zur Verfügung stehenden Untersuchungsmethoden nicht verwunderlich, daß hinsichtlich des Mechanismus der Säurebildung recht verschiedenartige Ansichten geäußert wurden. In den kurzen PALLADINSCHEN<sup>3</sup> Mitteilungen sehen wir insofern einen ganz erheblichen methodischen Fortschritt, als dieser Forscher die Säurebildung an einen ganz bestimmten Vorgang bei der Eiweißsynthese knüpfte, der einer exakten Erforschung und Nachprüfung eventuell mit verbesserten Methoden zugänglich war. Daß die Ansäuerung in jungen wachsenden Organen mit der Bildung *organischer sauerstoffreicher Säuren* zusammenhing, konnte PALLADIN mittels der Bestimmung des Atmungsquotienten, der bei Säurepflanzen im Kohlehydrathunger erheblich größer als 1 war, sehr wahrscheinlich machen. Tatsächlich ließ sich in solchen jungen Organen auch eine Zunahme von Oxalsäure feststellen. Von der unhaltbaren Theorie der „Eiweißatmung“ und derjenigen der Entstehung der Zellhaut bei der Eiweißzersetzung ausgehend, entwickelte PALLADIN die Ansicht, daß die organischen Säuren bei der Eiweißsynthese aus Asparagin und Kohlehydrat gebildet würden. Seine auch chemisch formulierten Ansichten über die Bildung von Eiweiß und der dabei als Nebenprodukte auftretenden sauerstoffreichen Verbindungen gehen von unrichtigen Vorstellungen über die Art der Beteiligung des Asparagins bei der Eiweißsynthese aus. Während nämlich PALLADIN annahm, daß das ganze Asparaginmolekül in das Eiweißmolekül eintrete, haben spätere Untersuchungen von BUTKEWITSCH<sup>4</sup> erwiesen, daß vor der Eiweißsynthese eine Desaminierung des Asparagins stattfindet und nur der abgespaltene Ammoniak mit den Kohlehydraten oder deren Spaltprodukten reagiert.

Der Wert der Untersuchungen SCHIMPER<sup>5</sup> wird leider durch die

<sup>1</sup> STEINMANN, A. B.: Zeitschr. f. Botanik 9, 1. 1917.

<sup>2</sup> HOLZNER: Flora 1867. 497. Vgl. auch AÉ, A. H.: Ebenda 1867. 117.

<sup>3</sup> PALLADIN, W.: Ber. d. botan. Ges. 5, 325. 1887.

<sup>4</sup> BUTKEWITSCH, W.: Biochem. Zeitschr. 16, 411. 1909; 41. 431. 1912.

<sup>5</sup> SCHIMPER, F. W.: Botan. Zeit. 46, 65. 1888. Flora 73, 207. 1890.



unglückliche mikroskopische Methode beeinträchtigt, die vorwiegend nur das entstandene Calciumoxalat faßt, während sich vielfach die löslichen Oxalate und die freie Säure dem Nachweis entziehen. Da nun aber nach neueren Erfahrungen<sup>1</sup> die Oxalsäure primär in freier Form gebildet wird, sind die SCHIMPERschen Untersuchungen nicht geeignet, den Säurebildungsprozeß zu verfolgen; sie können eher noch über die Bewegung von Ca<sup>++</sup> innerhalb gewisser pflanzlicher Gewebe Aufschluß geben. So erklärt sich auch seine Ansicht, daß die Oxalsäure bei der Bildung der phosphorhaltigen Nucleine entstehe, einfach aus einem Verbrauch der Phosphorsäure und einer dadurch bedingten Basensammlung in den betreffenden Zellen, die, soweit es sich um Calcium handelt, die Oxalsäure mikroskopisch erkennbar machen. Dagegen haben neuere Untersuchungen mit einwandfreien Methoden seine Deutung bezüglich der Entstehung von Oxalsäure bei der Nitratassimilation durchaus bestätigt, wenn auch die von SCHIMPER angegebene Formulierung dieses Vorganges überholt ist. Auf die von A. MAYER vertretene Ansicht der Säurebildung im Eiweißstoffwechsel soll an anderer Stelle eingegangen werden, da sie nur äußerlich mit den hier erörterten Theorien zusammenhängt.

Die Schwierigkeit der genetischen Ableitung von Zitronensäure aus Kohlehydraten, die auch durch die neuen von BUTKEWITSCH<sup>2</sup> mitgeteilten Kombinationen und theoretischen Erwägungen nicht behoben wurde, haben MAZÉ<sup>3</sup> veranlaßt, die Zitronensäure entsprechend ihrem zeitlichen Auftreten in Pilzen, das mit dem stärkeren Einsetzen von proteolytischen Prozessen nach Erschöpfung der Nährlösung an assimilierbaren Stickstoffverbindungen zusammenfällt, als Derivat von Eiweißspaltprodukten, über deren vermutliche Konstitution er sich nicht genauer äußerte, aufzufassen. Auch geht aus seinen Untersuchungen nicht hervor, ob die Bildung von Zitronensäure kausal mit den proteolytischen Prozessen verbunden ist, oder nur zeitlich mit ihnen zusammenfällt, indem eine bestimmte Ursache beide Prozesse bewirkt (vgl. BUTKEWITSCH<sup>4</sup>: Abhängigkeit der Bildung von Glucon- bzw. Zitronensäure von der Konzentration der Nährlösung), so daß beide Vorgänge nebeneinander herlaufen, ohne zueinander selbst im Verhältnis von Ursache und Wirkung zu stehen.

Zu allgemeinerer Anerkennung vermochte die Theorie vom Zusammenhang der Säureproduktion mit dem Eiweißstoffwechsel nicht zu gelangen, da sie einerseits experimentell unsicher fundiert war, und andererseits mochte ihr auch der Zusammenbruch der DETMERSchen

<sup>1</sup> RUHLAND, W. u. WETZEL, K.: *Planta* **1**, 558. 1926.

<sup>2</sup> BUTKEWITSCH, W.: *Jahrb. f. wiss. Botanik* **64**, 637. 1925.

<sup>3</sup> MAZÉ, P. et PERRIER, A.: *Ann. de l'inst. Pasteur* **18**, 553. 1904.

<sup>4</sup> BUTKEWITSCH, W.: *Biochem. Zeitschr.* **154**, 177. 1924, 1904.

„Eiweißatmungstheorie“ abträglich gewesen sein, da man in der Folgezeit das Ausmaß der Stickstoffumsetzungen doch erheblich unterschätzte.

Waren auch Versuchsanstellung und Versuchsmethoden der Anhänger der oben skizzierten Anschauung unvollkommen, so bedeuteten ihre Untersuchungen doch insofern einen methodischen Fortschritt, als sie die Säurebildung mit bestimmten Stoffwechselfvorgängen in Verbindung brachten, die einer weiteren experimentellen Erforschung zugänglich waren. Von diesem Wege führten die in mannigfaltiger Hinsicht bedeutenden Untersuchungen WEHMERS<sup>1</sup> über die Entstehung und physiologische Bedeutung der Oxalsäure bei Pilzen wieder ab. Aus der Tatsache, daß *Aspergillus niger* auf verschiedenartiger Nährlösung unter Einhaltung bestimmter Versuchsbedingungen Oxalsäure anhäufte, und aus dem anderen Befund, daß auf ein und derselben Nährlösung der Pilz je nach der Reaktion der Nährlösung bzw. dem Vorhandensein oder Fehlen von disponiblen Basen Oxalsäure zur Abscheidung in die Nährlösung brachte oder nicht, zog WEHMER den Schluß, daß die Oxalsäurebildung nicht an einen chemischen Vorgang bestimmter Art gebunden sei. Vielmehr nahm er an, daß die Bedingung für die Bildung der Säure ganz allgemein durch den Verlauf des Stoffwechsels gegeben sei: „Es erscheint die Annahme des durch den Umsatzverlauf bedingten Gegebenseins des Säuremoleküls als die wahrscheinlichere.“ Während unter bestimmten Bedingungen das Säuremolekül wieder sofort weiter zersetzt werde, trete es unter veränderten Umständen in „reale Existenz“ und bleibe als solches an eine Base gebunden bald vorübergehend, bald dauernd erhalten.

Sehen wir von einer Beurteilung der etwas merkwürdigen Unterscheidung zwischen dem „Gegebensein des Säuremoleküls“ und seiner „realen Existenz“ ab, so geht doch aus zahlreichen Bemerkungen WEHMERS mit aller Eindeutigkeit hervor, daß er das Auftreten der Säure — sei es in freier oder gebundener Form — als Resultante von säurebildenden und -zerstörenden Prozessen ansieht. Damit fällt aber auch die Berechtigung, von einem negativen Säurebefund auf eine fehlende Bildung von Säure zu schließen. Wiewohl das WEHMER selbst klar erkannt hat, beruhen doch alle seine Folgerungen, die er hinsichtlich der Säurebildung aus seinen Versuchsergebnissen ableitete, auf diesem Trugschluß. Ohne Prüfung der Abbaugeschwindigkeit der Säure im einzelnen Versuch läßt sich aus einem Fehlen erfaßbarer Oxalsäuremengen gar nichts bezüglich der Säurebildung aussagen, und alle Schlußfolgerungen treffen nur für die Erhaltung der Säure zu. Aus diesem Fehlschluß heraus erklärt sich die von WEHMER vertretene Ansicht, daß die freien Basen die faktische Entstehung der Säure bedingen — „wenigstens insofern als sie durch Bindung der freien Säure diese vor

<sup>1</sup> WEHMER, C.: Botan. Zeit. 49. 1891.

weiterer Zerstörung schützen“. Diesen offensichtlichen Widerspruch — Entstehung und Erhaltung der Säure gleichzusetzen — kann man nur dadurch beseitigen, daß man zwischen dem „Gegebensein“ und der „realen Existenz“, d. h. der Nachweisbarkeit des Säuremoleküls unterscheidet. Das ist jedoch in Bezug auf Untersuchungen unzulässig, die sich mit dem Chemismus der Säurebildung befassen. Im Gegenteil erscheint die Bilanz von Säureproduktion und Säureabbau eine Frage untergeordneter Bedeutung zu sein, und aus der Tatsache, daß in Gegenwart von disponiblen Basen Säure festgelegt wird, auf eine durch die Basen *bedingte Säureproduktion* zu schließen, erscheint uns ebenso unberechtigt, wie wenn man das Auftreten von Acetaldehyd in mit Bisulfit versetzten Hefekulturen auf eine Bisulfitwirkung zurückführen wollte, während es sich doch in beiden Fällen nur um „Abfangreaktionen“ handelt, die auf die *Bildung* der gebundenen Körper gar keinen erkennbaren Einfluß ausüben. Man kann aus den Versuchen von ZALESKI<sup>1</sup> schließen, und eigene Untersuchungen haben den Schluß bestätigt, daß freie organische Säuren rascher abgebaut werden als ihre Salze, die ihrerseits wieder entsprechend ihrer Löslichkeit und dem Grad der physiologischen Reaktionsänderung Unterschiede in der Abbaugeschwindigkeit aufweisen. Der Grund hierfür scheint in einer sekundären Wirkung des beim Säurezerfall entstehenden Carbonats der vorhandenen Basen zu liegen, wie sie NEUBERG und KARCZAG<sup>2</sup> zeigen konnten. Der beim Abbau der freien Säuren entstehende Acetaldehyd wird unter Einfluß von  $K_2CO_3$  zu Aldol kondensiert, wodurch offensichtlich der weitere Verlauf des Säurezerfalls beeinflußt wird. Mit demselben Recht, mit dem wir auf Grund der Bisulfitversuche Acetaldehyd als intermediäres Gärungsprodukt charakterisieren, dürfen wir daher bei der Basenwirkung auf die Oxalsäure die *Säurebildung* als das *Primäre*, die Bindung der Säure als sekundären Prozeß auffassen, und wir werden später den Beweis erbringen, daß für die Annahme einer Reizwirkung der Basen bezüglich der Säureproduktion keine Veranlassung vorliegt, da wir<sup>3</sup> mittels physiologisch saurer und alkalischer N-Verbindungen Oxalsäureproduktion bewirken konnten, deren Intensität sich im Gegensatz zu N-frei gezogenen Pflanzen nur wenig unterschied. Aber gegen die WEHMERSche Ansicht der Basenreizwirkung spricht sogar eine Anzahl seiner eigenen Versuche, z. B. das Auftreten freier Oxalsäure in Zucker +  $NH_4NO_3$ -Kulturen, das von WEHMER mit einer angeblich basischen Wirkung von  $NH_4NO_3$ -Zersetzungsprodukten erklärt wird, was um so unverständlicher wirkt, als es bekannt ist, daß *Aspergillus niger* das  $NH_4$  rascher verarbeitet als das Säureradikal  $NO_3$ . Ähnlich verhält es sich mit den

<sup>1</sup> ZALESKI, W. u. REINHARD: Biochem. Zeitschr. **33**, 449. 1911.

<sup>2</sup> NEUBERG, C. u. KARCZAG, L.: Biochem. Zeitschr. **36**, 68. 1911.

<sup>3</sup> RUHLAND, W. u. WETZEL, K.: l. c.

Versuchen auf  $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$  + Zucker-Kulturen. Überhaupt spricht die Produktion größerer Mengen von freier Oxalsäure gegen die WEHMERSche Ansicht, da man doch annehmen müßte, daß mit der Absättigung der disponibel gewordenen Basen auch die Säurebildung regulatorisch abgestoppt würde. Wie wenig aber die WEHMERSche Arbeit bezüglich des Chemismus der Oxalsäurebildung zutage förderte, das beweist die Indifferenz, mit der WEHMER über die *Art* der Oxalsäureentstehung hinweggeht: „Für unsere Auffassung ist es auch gleichgültig, ob wir die als intermediäre Stoffwechselprodukte vorhandenen Säuren bzw. deren Atomgruppierung unmittelbar auf einen Oxydationsprozeß oder auf Spaltungen gewisser Art zurückführen — ob wir ihre Moleküle direkt aus dem des konsumierten Materials oder irgendwelcher anderer Körper ableiten, so daß etwa als unmittelbare Quelle nicht das Molekül der verarbeiteten Verbindung — es sei dies Zucker, Essigsäure, Eiweiß oder dgl. — sondern Elemente des lebenden Plasmas, die nach der Abspaltung Regeneration in irgendeiner Weise erfahren — anzusehen wären.“ Dieselben Schlußfolgerungen werden dann auf die Phanerogamen übertragen: „Das Auftreten von oxalsauren Salzen zeigt keinerlei notwendige Beziehungen zu konkreten Vorgängen innerhalb der Stoffbildungssphäre, noch ist es Folge einer besonderen Eigenart des Stoffwechsels.“

Im Anschluß an die Arbeit von WEHMER hat sich auch PFEFFER<sup>1</sup> über seine Ansicht hinsichtlich der Oxalsäurebildung geäußert. Aber auch seine Schlußfolgerungen betreffen nur die Erhaltung, nicht die Bildung der Säure, was PFEFFER mit dem Hinweis zu rechtfertigen versucht, daß ein Zerfall der Säure im status nascens einem fehlenden realen Auftreten gleichkomme. Nach unserer Ansicht hingegen ist es zunächst von nebensächlicher Bedeutung, wie lange die gebildete Oxalsäure erhalten bleibt, wenn einmal in einem bestimmten Prozeß ihre Bildung erfolgte, denn die Erhaltung der Säure braucht mit ihrer Bildung nicht kausal verknüpft zu sein, und wird von vielerlei äußeren und auch inneren Bedingungen abhängig sein, die unter selbstregulatorischer Kontrolle stehen; daher können wir der Ansicht PFEFFERS, daß die Prozesse, welche Basen disponibel machen, Veranlassung zur Produktion von Säure geben, nicht zustimmen, da nach unserer Ansicht die Säurebildung der Basenwirkung vorangeht. Wenn PFEFFER sagt, daß es gerechtfertigt sei, das Ausbleiben von Oxalsäure auf deren Zerstörung zurückzuführen, ohne daß damit für alle Fälle ein reales Auftreten (d. h. wohl ein längeres Bestehen) der Oxalsäure gefordert werden solle, so zeigt das am besten, daß die WEHMERSche Arbeit über den Chemismus der Oxalsäurebildung keine sicheren und eindeutigen Resultate erbrachte, wie das auch aus den Worten PFEFFERS hervorgeht: „Unsere

<sup>1</sup> PFEFFER, W.: Ber. d. math.-phys. Kl. d. k. sächs. Ges. d. Wiss. 1891.

Betrachtungen brauchen keinen bestimmten Modus der Entstehung und des Verschwindens der Oxalsäure vorauszusetzen. Es ist ja aber nicht unwahrscheinlich, daß beide Vorgänge in direkter oder indirekter Beziehung zur Atmung stehen, und *der Einfachheit halber* (v. Verf. hervorgehoben) wollen wir solches hier annehmen.“ Mit Recht lehnt jedoch PFEFFER unter Hinweis darauf, daß Sauerstoffüberschuß die Säureproduktion nicht beeinflußt, die Ansicht von PURIEWITSCH ab, wonach der Grund der Oxalsäurebildung nicht in physiologischen, sondern in morphologischen und anatomischen Eigenheiten der Säurepflanzen zu suchen sei.

Die viel zitierten Arbeiten BENECKES<sup>1</sup> sind eine Übertragung der WEHMERSchen Untersuchungen auf die höheren grünen Pflanzen. Die Versuche über Zu- und Abnahme von Ca-Oxalat in der Pflanze bei größerer oder kleinerer Gabe von leicht permeierenden Ca-Salzen scheinen uns von geringer Bedeutung für die Klärung des Bildungsmechanismus der Oxalsäure zu sein, und auch der Befund, daß Pflanzen mit geringem Ca-Bedarf, die normalerweise Ca-Oxalat ausbilden, bei Ausschluß von Ca-Salzen aus der Nährlösung keine Ca-Oxalatkristalle aufweisen, konnte kaum anders erwartet werden, da zur Bildung des Ca-Oxalats natürlich Ca<sup>++</sup> notwendig sind. Daß manche Pflanzen einen Ca-Mangel unter bestimmten Versuchsbedingungen ziemlich lange ertragen können, hatte bereits SCHIMPER<sup>2</sup> nachgewiesen.

Wenn BENECKE in seiner Pflanzenphysiologie (I, S. 335) angibt, daß die Bildung von Oxalsäure in höheren Pflanzen in derselben Weise wie bei Pilzen (nach WEHMER) erfolge und die Oxalsäure ein intermediäres Produkt der Atmung darstelle, so vermag ich weder in WEHMERS noch in BENECKES Arbeiten einen Beweis für diese Annahme zu finden, da Versuche über den Chemismus der Säurebildung völlig fehlen und auch der Zusammenhang der Oxalsäurebildung mit der Atmung in keiner Weise sichergestellt wurde, was ja PFEFFER ausdrücklich vermerkte. — Auf die Zuverlässigkeit der von BENECKE angewandten Bestimmungsmethode für die Oxalsäure wird an anderer Stelle einzugehen sein.

Den Grundgedanken von WEHMER-PFEFFER-BENECKE, daß disponible Basen einen die Oxalsäurebildung induzierenden Reiz auf das Plasma ausüben, hat A. MEYER<sup>3</sup> noch einmal aufgenommen; jedoch weicht seine Theorie insofern von der WEHMERSchen ab, als er das Auftreten freier Basen und damit auch die Oxalsäurebildung an einen bestimmten Prozeß, nämlich die Eiweißsynthese und den dabei stattfindenden Sulfat- und Phosphatverbrauch knüpft. Wenn dabei MEYER auf eine Parallellität im Auftreten von Säuren und der Synthese von

<sup>1</sup> BENECKE, W.: Botan. Zeitung. **61**, 79. 1903.

<sup>2</sup> SCHIMPER, F. W.: l. c.

<sup>3</sup> MEYER, A.: Ber. d. botan. Ges. **36**, 508. 1918.

Eiweiß hinweist, so schließt er keineswegs auf einen stofflichen Zusammenhang zwischen Säuren und organischen Eiweißspaltprodukten, sondern faßt die Wirkung der Eiweißsynthese nur als Basen abspaltenden Prozeß, also ganz im Sinne WEHMERS auf. Das zeigt sich am deutlichsten in der von MEYER gegebenen Formulierung der Eiweißsynthese, wo die Oxalsäure auf der linken Seite der Eiweißbildungsgleichung steht, so daß ihr Bestehen bereits *vor* der Synthese des Eiweißes vorausgesetzt wird und ihre Beteiligung bei der Eiweißsynthese nur in einer Ab-sättigung des Ca aus dem  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  und  $\text{CaSO}_4$  besteht. Trotzdem aber sagt er an anderer Stelle, die Basen reizten den Protoplasten zur Produktion organischer Säuren, und dieser Vorgang dauere wesentlich länger als das Bestehen freier Basen im Protoplasten; die nächtliche Säureproduktion bei Sukkulenten sei nichts anderes als eine Nachwirkung der tagsüber frei gewordenen Basen.

Wir schließen damit die Besprechung der Arbeiten, die bis in die neueste Zeit herein die Stellung der meisten Physiologen zum Problem der Oxalsäurebildung bestimmten, und wenn CZAPEK<sup>1</sup> die organischen Säuren als intermediäre Produkte der Sauerstoffatmung deutete, so sprach er damit die zur Zeit verbreitetste Ansicht der Botaniker über die Oxalsäurebildung aus, der noch 1924 BENECKE in seiner Pflanzenphysiologie völlig zustimmte. Immerhin machte CZAPEK insofern unseres Erachtens eine bedeutungsvolle Einschränkung, als er betonte, daß der Zuckerabbau, der nach seiner Ansicht die Oxalsäure liefert, nicht immer nach demselben Schema erfolge; in jedem Stadium des Abbaues dürften vielmehr die verschiedensten Abzweigungen erfolgen können, so daß die Oxalsäure nicht im normalen Atmungsprozeß, sondern als ein Nebenprodukt eines vom normalen Zerfall abweichenden Zuckerabbaus entstehen könnte, eine Folgerung, die eine Brücke zu unseren andersartigen Anschauungen über die Säurebildung schlägt.

Ein Rückblick auf die besprochenen Arbeiten läßt hinsichtlich der Oxalsäurebildung zwei verschiedene Theorien hervortreten: 1. Die Oxalsäure ist ein Produkt unvollkommener  $\text{CO}_2$ -Reduktion (LIEBIG — BAUR). Ein exakter Beweis für die Entstehung der Oxalsäure als intermediären  $\text{CO}_2$ -Assimilationsproduktes steht jedoch aus, während andererseits in chlorophyllfreien Pflanzen ebenso wie auch in höheren verdunkelten Pflanzen<sup>2</sup> kräftige Oxalsäurebildung beobachtet werden konnte, die von derselben Größenordnung wie in belichteten Pflanzen war. 2. Die Oxalsäure hat im Stoffwechsel der Pflanzen die Stellung eines im Atmungsprozeß entstehenden Zwischenproduktes. Danach müßte die Oxalsäure bei normaler Zuckeratmung immer entstehen, ihr Fehlen wäre durch erfolgten Abbau zu erklären. Diese Ansicht geht hauptsächlich auf

<sup>1</sup> CZAPEK, F.: Biochemie der Pflanzen 3, 66 u. 100.

<sup>2</sup> RUHLAND, W. u. WETZEL, K.: l. c. und Planta 3, 765. 1927.

die Tatsache zurück, daß bei Verhinderung neuer Zufuhr die Kohlehydrate bei der Säurebildung abnehmen (Sukkulenten), so daß es sehr wahrscheinlich ist, daß die Kohlehydrate in letzter Hinsicht die Muttersubstanzen der organischen Säuren sind. Dagegen ist es ganz und gar nicht erwiesen, daß diese Säuren im *normalen Atmungsprozeß* etwa als Vorstufen der  $\text{CO}_2$  entstehen. Ihre chemische Zusammensetzung charakterisiert die Oxalsäure nur als Produkt unvollkommener Oxydation (WARBURG), das einer weiteren Verbrennung, sei es auf lichtkatalytischem oder rein biologischem Wege (Enzymwirkung) fähig ist.

Eine derartige sauerstoffreiche Verbindung, wie es die Oxalsäure ist, die nur 2 C-Atome im Molekül besitzt, kann natürlich bei der Oxydation der verschiedensten Stoffe entstehen, was durchaus nicht — wie WEHMER meint — gegen die Entstehung der Oxalsäure in bestimmten Stoffwechselprozessen spricht. Vielmehr läßt dies nur die Möglichkeit zu, daß mehrere Stoffwechselprozesse zur Bildung von Oxalsäure führen können, und Aufgabe weiterer Untersuchungen wird es sein, die im Gesamtstoffwechsel sich abspielenden Teilprozesse daraufhin zu prüfen und ihren vermutlichen Anteil an der Gesamtsäureproduktion durch quantitative gleichzeitig erfolgende Untersuchungen der stofflich umsatzreichsten biologischen Vorgänge zu bestimmen. Endlich spricht jedoch — worauf besonders KOSTYTSCHEW<sup>1</sup> hinweist — ein Umstand gegen die Deutung der organischen Säuren als intermediärer Atmungsprodukte: ihr auch in Bezug auf freie Säuren bzw. saure Salze *massenhaftes Auftreten* in manchen Pflanzen.

Wie KOSTYTSCHEW ausführt, kennen wir die erstlich entstehenden intermediären Gärungs- bzw. Atmungsprodukte nicht. Es besteht die Möglichkeit, daß es sich dabei um organische Säuren handelt, da die  $\text{CO}_2$  wahrscheinlich aus einer Carboxylgruppe abgespalten wird; jedoch können nur solche Säuren in Frage kommen, die leicht weiter zerfallen und sich daher unter normalen Bedingungen nie in größerer Menge in der Pflanze anhäufen. Das trifft für Säuren vom Typus der Mesoxal-, Glykol- und Glyoxylsäure, wie auch für die Dreikohlenstoffsäuren Brenztrauben- und Milchsäure, dagegen nicht für die in großer Menge in verschiedenen Pflanzen auftretenden Äpfel-, Oxal-, Zitronen- und Weinsäure zu. Wie bereits oben ausgeführt worden ist, sind gerade diese Pflanzensäuren von zahlreichen Forschern als normal auftretende intermediäre Atmungsprodukte gedeutet worden, allerdings zu einer Zeit, da man über den Chemismus der bei der Pflanzenatmung sich abspielenden Prozesse noch keine festen Vorstellungen hatte, sondern — wie etwa PURIEWITSCH (l. c.) — annahm, daß der Abbau der Kohlehydrate ein einfacher Oxydationsprozeß unter fortlaufender Sauerstoffanreicherung der aufeinanderfolgenden Atmungsprodukte bis zur völlig oxydierten

<sup>1</sup> KOSTYTSCHEW, S.: Pflanzenatmung 1924. 132.

CO<sub>2</sub> sei. Im Gegensatz zu den herrschenden Theorien der Oxalsäurebildung macht KOSTYTSCHEW wieder auf die weitverbreitete Erscheinung der *Desaminierung* als mögliche Ursache der Entstehung organischer Säuren aufmerksam.

### Bildung organischer Säuren bei der Desaminierung von Aminosäuren und Säureamiden.

Bereits aus den WEHMERSCHEN<sup>1</sup> Versuchen mit *Aspergillus niger* auf Pepton erhellt die kräftige Desaminierungsfähigkeit dieses Pilzes, denn das Auftreten großer Mengen von Ammoniak kann kaum anders als das Ergebnis einer NH<sub>2</sub>-Gruppenabspaltung aus den im Pepton gebundenen Aminosäuren und Amiden gedeutet werden. Später ist denn auch BUTKEWITSCH<sup>2</sup> der Nachweis geglückt, daß die Ammoniakbildung in derartigen Kulturen auf Kosten von Aminosäuren — von denen er Leucin und Tyrosin in größeren Mengen isolieren und identifizieren konnte — erfolgt. Diese Untersuchungen wurden von EMMERLING<sup>3</sup> noch dahin ergänzt, daß *Aspergillus niger*  $\alpha$ -Aminosäuren zu desaminieren vermag, während sich die  $\beta$ -Säuren für diesen Pilz als ungeeignete Nährstoffe erwiesen. Später hat RACIBORSKI<sup>4</sup> die Angaben EMMERLINGS hinsichtlich der Desaminierung von  $\alpha$ -Aminosäuren durch *Aspergillus* bestätigen können, während ABDERHALDEN und JUTOKA TERUUCKI<sup>5</sup> den Nachweis führen konnten, daß auch synthetisch hergestellte Polypeptide von *Aspergillus* desaminiert werden. In all diesen Versuchen konnte nun eine bei den einzelnen Aminosäuren verschieden große Ansammlung von Oxalsäure konstatiert werden. So übertraf nach WEHMER die *Aspergillus*-Kultur auf Pepton bezüglich des Oxalsäuregehaltes die Zuckerkultur um das Doppelte bis Dreifache, wohingegen EMMERLING auf Zuckerkulturen selbst bei Kalkzusatz keine Oxalsäureanhäufung fand, und WEHMER<sup>6</sup> sie nicht immer konstatieren konnte. Sicherlich waren die *Aspergillus*-Kulturen auf Pepton und manchen Aminosäuren den Zuckerkulturen hinsichtlich der Oxalsäureanhäufung unter sonst gleichen Versuchsbedingungen weit überlegen. Dazu kommt noch, wie BUTKEWITSCH<sup>7</sup> nachwies, daß das Verhältnis von Ammoniak : Oxalsäure nahezu dem des neutralen Ammonium-

<sup>1</sup> WEHMER, C.: l. c.

<sup>2</sup> BUTKEWITSCH, W.: Jahrb. f. wiss. Botanik 38. 1903.

<sup>3</sup> EMMERLING: Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh., Abt. II, 10, 273. 1903.

<sup>4</sup> RACIBORSKI, M.: Bull. de l'acad. des sciences de Cracovie, Cl. des sciences math. et nat. 1906. 733.

<sup>5</sup> ABDERHALDEN u. TERUUCKI: Zeitschr. f. phys. Chem. 47, 394. 1906.

<sup>6</sup> WEHMER, C.: Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh., Abt. II, 3, 102.

<sup>7</sup> BUTKEWITSCH, W.: Biochem. Zeitschr. 129, 445. 1922.



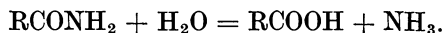
Oxalats gleichkam. Ein leichter Ammoniaküberschuß dürfte sich aus der verschieden raschen Verarbeitung von Ammoniak und Oxalsäure einerseits, aus einer möglichen Bindung von Ammoniak an andere organische Verbindungen andererseits erklären. So fanden sich nach BUTKEWITSCH in Peptonkulturen von *Aspergillus niger* nicht weniger als 78% des löslichen Stickstoffes als  $\text{NH}_3$ -Stickstoff neben großen Mengen von Oxalsäure. Ganz anders verläuft der Peptonabbau bei *Penicillium glaucum*, in dessen Kulturen etwa 75% des löslichen Stickstoffes auf Aminosäuren fallen, während nur 25% der Aminosäuren desaminiert wurden. Wird nun in Peptonkulturen von *Aspergillus niger* die entstehende Oxalsäure fortlaufend mit  $\text{CaCO}_3$  neutralisiert, so werden Ammoniak und Säureanhäufung zurückgedrängt bzw. verzögert und der Pilz verarbeitet das Pepton nach dem *Penicillium*-Typus. Umgekehrt schlägt *Penicillium* bei der Peptonverarbeitung den *Aspergillus*-Typ ein, wenn durch Zusatz von Phosphorsäure zur Kulturflüssigkeit für dauernd saure Reaktion gesorgt wird. Ähnliche Veränderungen erleidet der Abbau stickstoffhaltiger Substanzen (nach LANG)<sup>1</sup> auch im tierischen Organismus. Der stärkeren Desaminierung bei *Aspergillus niger* entspricht auch eine stärkere Anhäufung von Säure; leider berichtet BUTKEWITSCH nichts über eine eventuelle Veränderung der Oxalsäureanhäufung bei vorgenommener Reaktionsänderung, so daß es nicht ganz sicher zu ersehen ist, ob der Intensitätsänderung des Desaminierungsprozesses eine entsprechende Änderung der Säureanhäufung parallel geht, was mindestens bei Zusatz von Calciumcarbonat zu *Aspergillus*-Kulturen zu erwarten wäre, wenn auch die Phosphorsäurekultur von *Penicillium* wegen des stärkeren Abbaues der Oxalsäure keine sicheren Schlüsse zulassen würde.

Immerhin spricht die Parallelität von Ammoniak- und Säureanhäufung in den Kulturen von *Aspergillus niger* und *Penicillium glaucum* sowie auch das Mengenverhältnis, in dem beide Stoffe gefunden werden, stark für einen Zusammenhang zwischen Desaminierung und Säurebildung. An eine Basenreizwirkung des bei der Desaminierung frei werdenden  $\text{NH}_3$  im Sinne WEHMERS und PFEFFERS vermögen wir schon aus dem Grunde nicht zu glauben, weil die *Penicillium*-Kulturen trotz der alkalischen Reaktion ihrer älteren Nährlösungen nur verschwindend geringe Mengen von Oxalsäure im Gegensatz zu den sauer reagierenden Nährlösungen von *Aspergillus niger* aufwiesen. Viel näher scheint uns die Annahme eines stofflichen Zusammenhanges zwischen Desaminierung und Säurebildung zu liegen, wie sie RACIBORSKI<sup>2</sup> vermutete, wenn er in Ermangelung von gewichtsanalytischen Säureuntersuchungen auch

<sup>1</sup> LANG, S.: Zeitschr. f. phys. Chem. **32**, 320. 1901.

<sup>2</sup> RACIBORSKI, M.: l. c.

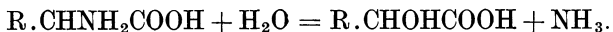
keinen strengen Beweis für seine Ansicht zu erbringen vermochte. Liegen die Versuchsbedingungen nun so, daß die bei der Desaminierung vermutlich entstehenden Säuren sofort durch überschüssige Basen ( $\text{CaCO}_3$ ) gebunden werden, so muß infolge des Auftretens von Ammoniak eine Reaktionsänderung eintreten, die offensichtlich hemmend auf die weitere Säurebildung bzw. Desaminierung einwirkt, mit anderen Worten die  $\text{H}'$ -Konzentration scheint ein begrenzender Faktor der Desaminierung und damit vermutlich auch der Säurebildung zu sein, in dem Sinne, daß eine niedere  $\text{H}'$ -Konzentration die Desaminierung verzögert. Nach dieser Ansicht würde also in schroffem Gegensatz zur PFEFFERschen Annahme die Vermehrung der  $\text{OH}'$ -Konzentration die Säurebildung *hemmen*. Diese Basenwirkung fassen wir jedoch nicht wie PFEFFER als eine Reizwirkung auf, welche eine Reihe sich gegenseitig bedingender, regulatorisch gesteuerter Vorgänge zum Ablauf bringt, die, wie WEHMER mit besonderer Schärfe hervorhebt, nicht mit bestimmten Stoffwechselforgängen kausal verknüpft sind, sondern als eine Beeinflussung der  $\text{H}'$ -Konzentration, die ihrerseits einen ganz bestimmten Vorgang — die Desaminierung — und zunächst nur diesen in der erwähnten Weise im Sinne einer Gleichgewichtsverschiebung — also einer Massenwirkung — beeinflusst. Während WEHMER und auch PFEFFER tatsächlich auf Grund der von WEHMER gemachten merkwürdigen Differenzierung zwischen einem „Gegebensein“ von Oxalsäure und ihrem „realen Auftreten“ die Frage offen lassen, ob die Basen die Entstehung oder nur die Erhaltung der Säure bestimmen, nehmen wir vielmehr an, daß durch die  $\text{H}'$ -Konzentration die Bildungsbedingungen der organischen Säuren beeinflusst werden. Das gleichzeitige Auftreten von Ammoniak und organischen Säuren wäre demnach nicht einer möglichen Basenwirkung des Ammoniaks zuzuschreiben, sondern es wird versucht werden, wahrscheinlich zu machen, daß Ammoniak und Säure Produkte ein und desselben Prozesses, nämlich der Desaminierung, sind, wodurch auch das von BUTKEWITSCH gefundene quantitative Verhältnis von Ammoniak und Säure eine ungezwungene Erklärung fände. Die Desaminierung der Amide scheint — soviel bekannt ist — ein hydrolytischer Prozeß zu sein, der sich unter der Wirkung spezifischer Enzyme, sogenannter Desamidasen, vollzieht, wobei die für die Amide charakteristische Gruppe  $\text{CONH}_2$  verseift wird nach dem Schema



Die Desaminierung der Aminosäuren dagegen scheint sich bei einzelnen Organismen verschieden, bald hydrolytisch, bald oxydativ unter Steuerung von anderen Fermenten, den sogenannten Desaminasen zu vollziehen. Nach P. MAYER<sup>1</sup> vermögen einige Schimmelpilze die Amino-

<sup>1</sup> MAYER, P.: Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem. 42, 59. 1904.

säuren rein hydrolytisch zu spalten, wobei als N-freier Rest eine dem Kohlenstoffskelett der Aminosäure entsprechende Oxysäure entsteht.



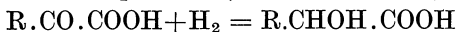
Dagegen scheint nach den Untersuchungen von DAKIN<sup>1</sup>, OPARIN<sup>2</sup>, NEUBAUER und FROMMHERZ<sup>3</sup> u. a. die Desaminierung im Hefenorganismus ein oxydativer Prozeß zu sein. OPARIN ist auch der Nachweis gelungen, daß die Chlorogensäure desaminierende Eigenschaften besitzt, wobei die Tatsache ihrer weiten Verbreitung in höheren Pflanzen dafür zu sprechen scheint, daß sie auch hier als Desaminase eine bedeutende physiologische Rolle spielt. Das Alkalisalz der Chlorogensäure färbt sich nach Art der PALLADINSCHEN Atmungspigmente nur bei O<sub>2</sub>-Gegenwart grün; ein Molekül Chlorogensäure absorbiert 2 Atome Sauerstoff, die der Säure 4 Atome Wasserstoff entziehen. Diese Dehydrierung kann durch kleine Mengen von Phenolase (aus Samen der Sonnenblume gewonnen) bis zum 20fachen Betrag der normalen Intensität gesteigert werden. Das grüne Pigment wirkt als kräftiger H-Akzeptor und kann als solcher bei gekoppelten unter H<sub>2</sub>O-Spaltung verlaufenden Oxydoreduktionsprozessen fungieren, wobei es wieder zu Chlorogensäure reduziert wird. Mit Hilfe der Chlorogensäure konnte OPARIN eine ganze Reihe in Pflanzen vorkommender aliphatischer und aromatischer Aminosäuren desaminieren, wobei unter NH<sub>3</sub>- und CO<sub>2</sub>-Abspaltung Aldehyde der nächst niederen Reihe entstanden. Da auch Polypeptide in ähnlicher Weise gespalten wurden, mißt OPARIN der Chlorogensäure eine wichtige biologische Bedeutung als Desaminase zu, während Amide offenbar für sie unangreifbar sind. Es scheint, daß im Organismus der Hefe und auch in dem der höheren Pflanzen die Desaminierung von ähnlich wirkenden als H-Akzeptoren fungierenden Desaminasen beherrscht wird, woraus es sich erklärt, daß sich in diesen Organismen die Desaminierung unter Oxydationerscheinungen vollzieht, deren Ablauf NEUBAUER und FROMMHERZ wenigstens für die Hefe klarlegen konnten. Um einen raschen Zerfall des N-freien Restes der Aminosäure zu verhindern, fütterten sie organfremde Aminosäuren, deren Abbauprodukte ihrer biologischen Beständigkeit wegen leichter faßbar waren. So stellten sie fest, daß Phenylaminoessigsäure (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CHNH<sub>2</sub>COOH) bei der Desaminierung Phenylglyoxylsäure (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CO COOH) ergab, die zu einem ganz geringen Teil eine Reduktion zu 1-Mandelsäure (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> CHOHCOOH) erfuhr. Damit war für die Hefe bewiesen, daß das erste Produkt der Desaminierung eine Ketosäure ist, die nur zum kleinen Teil in die Oxy-

<sup>1</sup> DAKIN, H. D.: Journ. of biol. chem. 4, 63. 1908.

<sup>2</sup> OPARIN, G.: Arch. d. Pharm. 247, 148 u. 436. 1909. Liebigs Ann. d. Chem. 358, 359.

<sup>3</sup> NEUBAUER u. FROMMHERZ: Zeitschr. f. phys. Chem. 70, 326. 1911.

säure übergeht, während ihr Hauptteil nach NEUBERG und KARZAG<sup>1</sup> infolge von Carboxylasewirkung unter CO<sub>2</sub>-Austritt über den entsprechenden Aldehyd zur Carbonsäure der nächst niederen Reihe oxydiert wird.



Das Auftreten eines Aldehyds als Zwischenprodukt beim Zerfall macht je nach den vorherrschenden äußeren und inneren Bedingungen die Entstehung von entsprechenden Alkoholen möglich, wie sie in den bekannten Versuchen EHRЛИCHS<sup>2</sup> zutage traten. In höheren Pflanzen scheinen derartige Reduktionen nur in ganz bescheidenem Maße zur Ausführung zu kommen. Dagegen ist das Schicksal der primär bei der Desaminierung entstehenden Ketosäuren in verschiedenen Pflanzen und wahrscheinlich auch in verschiedenen Entwicklungsstadien ein und derselben Pflanze offensichtlich recht ungleich. Bald werden die Ketosäuren unter der Wirkung von Carboxylasen in C-Atom-ärmere Säuren gespalten und weiter oxydiert, bald verfallen sie in größerem Maße einer Reduktion, wodurch eine Ansammlung von Oxysäuren bedingt wird. Durch das Verhältnis von reduzierenden und spaltenden Prozessen wird somit besonders das quantitative Verhältnis der im Organismus auftretenden organischen Säuren bestimmt. Natürlich werden die Oxysäuren schließlich auch einem weiteren Abbau verfallen, aber dieser scheint langsamer zu erfolgen als der der Ketosäuren. Als organisches Endprodukt dieses Zerfalls werden wir die Oxalsäure ansehen dürfen, die, wie oben ausgeführt wurde, bei der Desaminierung oft in großen Mengen auftritt<sup>3</sup>. Als ein organisches Abbauprodukt kann die hochoxydierte C-atomarme Oxalsäure naturgemäß aus sehr verschiedenartigen Muttersubstanzen hervorgegangen sein, und es ist unmöglich, im einzelnen Falle ihre Herkunft zu bestimmen, wenn man nicht die im Stoffwechsel entstehenden N-freien Desaminierungsprodukte kennt. Günstiger liegen die Verhältnisse bezüglich der sauerstoff-ärmeren organischen Säuren mit längerer C-Kette, die weniger tiefgreifenden Veränderungen unterworfen wurden und im Bau ihres C-Gerüsts noch deutliche Verwandtschaft mit Aminosäuren zeigen. So konnte<sup>4</sup> EHRЛИCH in Hefekulturen die Bildung von Bernsteinsäure aus Glutaminsäure außer Zweifel stellen, und KOSTYTSCHEW ist es unter Einhaltung bestimmter Versuchsbedingungen gelungen, als Desami-

<sup>1</sup> NEUBERG u. KARZAG: Biochem. Zeitschr. **36**, 68. 1911.

<sup>2</sup> EHRЛИCH, F.: Ber. d. dtsh. chem. Ges. **39**, 4072. 1906; **40**, 1027 u. 2538. 1907; **44**, 131. 1911; **45**, 883. 1912; Biochem. Zeitschr. **2**, 52. 1906; **63**, 379. 1914.

<sup>3</sup> RUHLAND, W. u. WETZEL, K.: Planta **3**, 765. 1927.

<sup>4</sup> EHRЛИCH, F.: Biochem. Zeitschr. **18**, 391. 1909.

nierungsprodukt der Asparaginsäure die ihr nahestehende Äpfelsäure ebenfalls in Hefekulturen nachzuweisen.

Die weniger einfache Beeinflussung der Ernährung sowie die Vielgestaltigkeit der Stoffwechselforgänge machen in höheren Pflanzen die Erfassung der bei der Bildung organischer Säuren beteiligten Vorgänge weit schwieriger; daher sind die Angaben über die bei der Desaminierung in höheren Pflanzen entstehenden N-freien Nebenprodukte recht spärlich. KOSTYTSCHEW<sup>1</sup> weist mit Recht auf Pflanzen hin, die eine bestimmte Aminosäure bzw. ein Amid in größerer Menge speichern, um es im Bedarfsfalle wieder rasch abzubauen, wobei faßbare Mengen organischer Säuren entstehen können. In dieser Beziehung beansprucht das Asparagin, das besonders in keimendem Samen oft in gewaltigen Mengen auftritt, unser besonderes Interesse. Tatsächlich konnten SCHULOW<sup>2</sup> und PETROW<sup>3</sup> in asparaginreichen keimenden Samen zunehmende Mengen der zu erwartenden Äpfelsäure nachweisen, wohingegen es SMIRNOW<sup>4</sup> gelang, bei Verfütterung von äpfelsaurem Ammonium an Keimlinge Asparaginsynthese festzustellen. In diesem Sinne ist auch auf die zahlreichen tierphysiologischen Versuche hinzuweisen, in denen es gelang, im tierischen Organismus aus den Ammonsalzen organischer Säuren die entsprechenden Aminosäuren zu synthetisieren. So konnte FELLNER<sup>5</sup> nach Einführung von  $\text{NH}_4\text{Cl}$  in abnorm glykogenreiche zu glykolytischen Prozessen neigende Hundeleber das der Milchsäure entsprechende Alanin isolieren. Derartige Aminosäuresynthesen können, wie die oben zitierte Arbeit von SMIRNOW darlegt, auch im pflanzlichen Organismus vor sich gehen, und es besteht die Möglichkeit, daß ein Teil der entstandenen Oxy- und Ketosäuren bzw. deren Ammonsalze wieder in den Stickstoffkreislauf einbezogen werden. In welchem Maß das im Verhältnis zum Bedarf an Aminosäuren geschehen kann, und ob eine derartige Synthese für alle organeigenen Aminosäuren möglich ist, bedarf um so mehr einer genaueren Prüfung, als bezüglich des tierischen Organismus eine derartige Synthese von Aminosäuren quantitativ und qualitativ den Bedürfnissen des Organismus nicht genügt. Wir werden im Zusammenhang mit der Besprechung der Bildungsmöglichkeiten der Aminosäuren noch einmal auf diese Frage zurückkommen und wollen zunächst nur feststellen, daß auch durch diese Resynthese von Aminosäuren ein Teil der organischen Säuren dem weiteren Abbau entzogen werden kann. Immerhin zeigt schon das weitverbreitete und reichliche

<sup>1</sup> KOSTYTSCHEW, S.: Pflanzenatmung 1924.

<sup>2</sup> SCHULOW, J.: Unt. im Ber. d. Phys. d. Ernährung höherer Pflanzen 1913. (Russisch.) Zitiert nach KOSTYTSCHEW (l. c.).

<sup>3</sup> PETROW, G. G.: Stickstoffassimilation durch Samenpflanzen im Licht und in der Dunkelheit 1917. (Russisch.) Zitiert nach KOSTYTSCHEW (l. c.).

<sup>4</sup> SMIRNOW, A.: Biochem. Zeitschr. **137**, 1. 1923.

<sup>5</sup> FELLNER, H.: Biochem. Zeitschr. **38**, 414. 1912.

Vorkommen von Äpfelsäure, daß die betreffenden Pflanzen ihre Aminosäuren auf anderem Wege aufbauen. Das ist um so leichter verständlich, als die Äpfelsäure ja nur für den Aufbau von Asparaginsäure geeignet erscheint, und die für die Synthese der übrigen organeigenen Aminosäuren notwendigen organischen Säuren offensichtlich von geringer biologischer Beständigkeit sind, wie schon daraus hervorgeht, daß sie selbst bei sehr gesteigerter Desaminierung nie in größerer Menge gefunden wurden.

Aus den Untersuchungen von SZENT GYÖRGI<sup>1</sup> geht hervor, daß die Äpfelsäure offenbar leicht in Bernsteinsäure übergehen kann und umgekehrt, so daß beide Säuren als ein gekoppeltes System antagonistisch wirkender, Oxydationen bzw. Reduktionen vermittelnder Substanzen auftreten können<sup>2</sup>.

Unterbleibt nun aus irgendwelchen Gründen die Reduktion der bei der Desaminierung von Asparaginsäure oder des Asparagins primär auftretenden Oxalessigsäure, so zerfällt diese nachweislich unter der Wirkung von Carboxylase, indem zwei CO<sub>2</sub>-Atome abgespalten werden, zunächst in Acetaldehyd, der dann seinerseits weiteren Umwandlungen anheimfällt.

Wie aus dem reichlichen Auftreten von Oxalsäure in Pepton und Aminosäurekulturen von Hefen und Pilzen hervorgeht, werden offensichtlich auch die übrigen organischen Säuren, die bei der Desaminierung entstehen, in Oxalsäure verwandelt. Den chemischen Ablauf dieser Umwandlungen kennen wir in seinen einzelnen Phasen noch nicht, hoffen aber doch, durch Fütterungsversuche mit den vermuteten Zwischenprodukten, wie sie in der tierischen Physiologie P. MAYER<sup>3</sup> zur Ausführung brachte, einer Lösung dieser Fragen näherzukommen. Wenn dieser Abbau, wie es für die Oxalessigsäure wahrscheinlich gemacht wurde, über Acetaldehyd führen sollte, also über den Körper, dem man auch im normalen O<sub>2</sub>-Atmungsprozeß mehr und mehr eine zentrale Stellung einzuräumen geneigt ist, so bedarf vor allem die Frage einer Klärung, warum im einen Fall aus dem Acetaldehyd Oxalsäure, im anderen Fall die völlig oxydierte CO<sub>2</sub> entsteht. Bis jetzt müssen wir uns auf Vermutungen beschränken: Entweder beruht die Bildung von Oxalsäure aus Acetaldehyd bei der Desaminierung auf einer eigenartigen von der im Atmungsprozeß vorliegenden abweichenden Koppelung von Oxydations- und Reduktionsprozessen, oder der Zerfall der C-atomreicheren organischen Säuren vollzieht sich unter andersartigen Spaltungen als im normalen Atmungsstoffwechsel. Für den Fall, daß diese Spaltungen Wirkungen von Carboxylasen sind, müßte eine erste Umwandlung der

<sup>1</sup> SZENT GYÖRGI: Biochem. Zeitschr. **150**, 195, 1925.

<sup>2</sup> Vgl. auch ULLRICH, H.: Planta **1**, 565, 1926.

<sup>3</sup> MAYER, P.: Zeitschr. f. phys. Chem. **38**, 135, 1907.

Säuren nach der Richtung erfolgen, daß  $\text{CH}_3$ - und  $\text{CH}_2$ -Gruppen vor der Abspaltung von  $\text{CO}_2$  oxydiert würden (Umwandlung von Äpfel- in Weinsäure), da durch diesen Prozeß die der Carboxylgruppe benachbarte  $\text{CH}_2$ -Gruppe zur Methylgruppe reduziert wird, die dann dem Angriff der Carboxylase wie auch demjenigen von Oxydationen am längsten widersteht. Der ersteren Annahme, wonach die Bildung der Oxalsäure über Acetaldehyd ginge, widerstrebt vor allem die hohe Resistenz der Methylgruppe gegenüber biologischer Oxydation; wissen wir doch auch über das Schicksal der bei Atmungs- und Gärungsprozessen aus Acetaldehyd entstehenden Essigsäure noch nichts Bestimmtes, und müssen eine Resynthese C-atomreicherer Säuren aus Essigsäure noch für wahrscheinlicher halten als ihre oxydative Zerstörung. Daher möchten wir vielmehr annehmen, daß die Wege des Zuckerabbaus im normalen Atmungsstoffwechsel und im Säurestoffwechsel *vor* der Bildung des Acetaldehyds auseinandergehen. Bedeutungsvoll scheint uns besonders die Tatsache, daß die häufig und in großen Mengen auftretenden Pflanzensäuren nie eine Carbonylgruppe besitzen, vielmehr den Carbon- bzw. Oxyssäuren angehören, die offensichtlich physiologisch beständiger sind als Ketosäuren und, wie aus weiter unten zu erörternden Gründen hervorgehen wird, in gewisser Beziehung geradezu als die stabilisierte Form der letzteren aufzufassen sind. Die Entdeckung der Carboxylase und ihrer Wirkungen, die offensichtlich streng auf Ketosäuren beschränkt sind, machen es — wie NEUBERG mit Recht betont — wahrscheinlich, daß Ketosäuren als intermediäre Atmungsprodukte eine wichtige Rolle spielen. Andererseits widerspricht eben die relativ große Beständigkeit der Carbon- und Oxyssäuren einer Deutung derselben als normale Atmungszwischenprodukte, die aus energetischen Gründen biochemisch unbeständige Körper sein müssen, wie sich das aus den bisherigen Untersuchungen auch immer bestätigt hat. In dieser Beziehung verdient ein Hinweis von SCHMALFUSS und BARTHMEYER<sup>1</sup> über das Auftreten von Dioxymaleinsäure in *Glauucium luteum* SCOP., auf deren Beziehung zu einer Reihe zyklischer und azyklischer Verbindungen bereits FENTON<sup>2</sup> aufmerksam gemacht hatte, besonderes Interesse. In einem Schema — das den Chemiker übrigens mehr befriedigen wird als den Physiologen — versuchen die beiden Autoren nun eine Ableitung der in *Glauucium* aufgefundenen Säuren von der Dioxymaleinsäure. Tatsächlich besitzt diese Säure auch alle Eigenschaften, die wir von einem Intermediärprodukt der Oxalsäure erwarten müssen: biochemische Unbeständigkeit, nur oxydierte C-Atome, leichte Übergangsmöglichkeit in eine

<sup>1</sup> SCHMALFUSS, H. u. BARTHMEYER, H.: Über Buten-2-diol-2, 3-disäure 1, 4, die sogenannte Dioxymaleinsäure.

<sup>2</sup> FENTON u. WILKS: Soc. **95**, 1329. 1909.

Ketosäure und nahe chemische Beziehung zu den häufigsten Begleitsäuren der Oxalsäure, nämlich der Äpfel- und Bernsteinsäure. In Einzelheiten zeigt das Schema von SCHMALFUSS und BARTHMEYER — wie schon angedeutet — vom physiologischen Standpunkt aus noch erhebliche Unstimmigkeiten, z. B. die völlige Gleichsetzung der Carboxylasewirkung auf Keto-, Oxy- und Carbonsäuren, aber es trifft unseres Erachtens doch den Kernpunkt, d. i. die Ableitung der Oxalsäure von einer Ketosäure ohne Methylgruppe. Die eingehendere Kritik des SCHMALFUSSschen Schemas der Säurebildung soll unter Zurückstellung der aus unseren Untersuchungen über den Säurestoffwechsel höherer Pflanzen gewonnenen Ergebnisse<sup>1</sup> noch aufgeschoben werden, da aus geplanten Untersuchungen über den Säurestoffwechsel von Pilzen mittels Ernährungs- und Abfangversuchen weitere wichtige Klärung des Chemismus der Säurebildung erwartet werden darf. Es ist, selbst bei weitestgehender Desaminierung nicht gelungen, neben Äpfel-, Bernstein- und Oxalsäure andere organische Säuren in erheblichen Mengen nachzuweisen; der Gesamtsäuregehalt stimmte vielmehr weitgehend mit der Summe dieser drei Säuren überein, so daß man annehmen muß, daß die N-freien Desaminierungsprodukte sehr rasch in eine dieser drei Säuren übergehen. Diese Tatsache würde leicht mit der Unbeständigkeit der Zwischenprodukte zu erklären sein.

Streifen wir noch kurz die Frage der möglichen Regulation der Entstehung des Teils der organischen Säuren, die bei der Desaminierung entstehen, so kann diese bereits bei der Bildung oder Nichtbildung von Desaminasen einsetzen, was experimentell an der  $\text{NH}_3$ -Abspaltung leicht zu kontrollieren möglich ist, aber auch der weitere Zerfall der N-freien Desaminierungsprodukte kann entsprechend dem Verhältnis vorwiegend spaltender, reduzierender oder oxydierender Enzyme besonders infolge des intermediären Auftretens von Aldehyden zu recht verschiedenartigen Körpern führen. Entgegen der PFEFFERSchen<sup>2</sup> Ansicht halten wir jedoch daran fest, daß, wenn die Bedingungen für eine Säurebildung gegeben sind, diese auch an ganz bestimmte Stoffwechselfvorgänge mit offensichtlich erheblichem Umsatz geknüpft sind. Wenn wir uns darauf beschränken, den stofflichen Zusammenhang zwischen Desaminierung und Säurebildung als wahrscheinlich gegeben darzustellen<sup>1</sup>, so waren wir uns bewußt, daß damit erst ein Anfang in der Erforschung dieser Zusammenhänge gemacht ist, und daß es noch weiterer Untersuchungen bedarf, um wenigstens die Hauptphasen dieser Umwandlungen zu erfassen.

<sup>1</sup> RUHLAND, W. u. WETZEL, K.: Zur Physiologie der organischen Säuren in grünen Pflanzen. Zeitschr. f. wiss. Biol., Abt. E: *Planta* 1, 558. 1926; 3, 765. 1927.

<sup>2</sup> PFEFFER, W.: Ber. d. math.-phys. Kl. d. k. sächs. Ges. d. Wiss. 1891.



Auch ist es uns klar, daß neben der Desaminierung noch andere Prozesse Säurebildung bewirken können. Wenn wir darauf nicht näher eingehen, so hat das verschiedene Gründe. Einmal werden wir nachzuweisen versuchen, daß in den untersuchten Pflanzen Desaminierung und Säurebildung gleichzeitig sich abspielen, und daß das Ausmaß der in der Pflanze stattfindenden Desaminierung zur Erzeugung des größten Teils der in der Pflanze auftretenden Säuren ausreicht. Andererseits sind die übrigen Stoffwechselprozesse, die möglicherweise mit einer Produktion organischer Säuren verbunden sind, wie z. B. die Eiweißsynthese (siehe unten), chemisch noch zu wenig geklärt, als daß sie zur Lösung der vorliegenden Frage der Säurebildung ausgewertet werden könnten.

### Eiweißsynthese und Säurebildung.

Nun machte KOSTYTSCHEW auf eine mögliche Säurebildung bei der Eiweißsynthese von Hefe aus Zucker + Nitrat aufmerksam. Für eine solche Möglichkeit sprechen auch die vielen Wahrnehmungen, die mittels der verschiedenen Methoden bezüglich des Zusammenfallens von Wachstum und Säurebildung gemacht worden sind. Es mag genügen, in diesem Zusammenhang auf die Arbeiten PALLADINS<sup>1</sup>, SCHIMPER<sup>2</sup>, WARBURGS<sup>3</sup>, A. MAYERS<sup>4</sup> und auf die neuerdings von BORESCH<sup>5</sup> beobachtete Ansäuerung der jungen Pflanzenteile beim Frühtreiben hinzuweisen, wobei wir allerdings entgegen der Deutung von BORESCH<sup>5</sup> annehmen möchten, daß diese Ansäuerung nicht Ursache, sondern Folge des Antreibens und der damit verbundenen Stoffwechselvorgänge ist, wenn auch die Möglichkeit besteht, daß die Säurebildung das Streckungswachstum (und nur dieses) im Sinne BOROWIKOWS<sup>6</sup> durch Förderung der Hydratationsprozesse der Plasmakolloide beschleunigt. Eigene Untersuchungen machen es ebenfalls sehr wahrscheinlich, daß bei der Eiweißsynthese große Mengen Säuren entstehen, und es wird in einer ausführlichen Darstellung des experimentellen Teiles der Arbeit darauf eingehender zurückzukommen sein. Trotzdem scheint uns dieser Vorgang der Säurebildung einer experimentellen Erforschung viel schwerer zugänglich als die Desaminierung. Einmal wissen wir über die Teilprozesse, die zur Eiweißsynthese führen, zu wenig. Schon die Ansicht über die erste Phase der Aminosäurebildung ist noch sehr umstritten. Eine Bildung von Aminosäuren aus Ketosäuren + NH<sub>3</sub> ist gewiß möglich; jedoch ist die Herkunft dieser Ketosäuren bereits unbekannt. Daß

<sup>1</sup> PALLADIN, W.: Ber. d. dtsh. botan. Ges. 5, 325. 1887.

<sup>2</sup> SCHIMPER, W.: Botan. Zeit. 46, 65. 1888.

<sup>3</sup> WARBURG, O.: l. c.

<sup>4</sup> MAYER, A.: Ber. d. dtsh. botan. Ges. 36, 508. 1918.

<sup>5</sup> BORESCH: Biochem. Zeitschr. 153, 1925.

<sup>6</sup> BOROWIKOW, G. A.: Biochem. Zeitschr. 48, 230 u. 50, 119. 1913.

sie aus den in der Pflanze vorkommenden organischen Säuren entstammen, ist, wie schon oben gezeigt wurde, sehr unwahrscheinlich. Die zahlreichen Versuche, die die Notwendigkeit der Gegenwart von Kohlehydraten bestimmter Konstitution (vgl. HANSTEEN<sup>1</sup>) zur Eiweißsynthese erwiesen, lassen eher vermuten, daß der  $\text{NH}_3$  an Kohlehydrate oder deren Spaltprodukte gebunden wird. Die Bildung von Glukosamin erscheint nur in bezug auf gewisse höhere Pilze mit größerem Gehalt an Glukoproteiden einleuchtend. Wahrscheinlicher ist die Bindung des Ammoniaks an Kohlehydratspaltprodukte säureartigen Charakters. Ob der  $\text{NH}_3$  bereits die Art der Kohlehydratspaltung beeinflußt oder nur gewisse im normalen Atmungsstoffwechsel entstehende Spaltprodukte durch Anlagerung vor weiterem Zerfall bewahrt, wodurch die restlichen Kohlehydratspaltprodukte infolge des Ausfalls der gebundenen Spaltprodukte aus dem Stoffabbau möglicherweise zu Oxalsäure oder anderen organischen Säuren oxydiert werden, ist völlig unsicher. Eine zweite Möglichkeit der Säurebildung bei der Eiweißsynthese aus Zucker + Nitrat besteht in der Reduktion von Nitrat durch den Zucker, über deren Chemismus bzw. des Zuckers nichts Näheres bekannt ist. Endlich finden, besonders wenn nicht genügend  $\text{NH}_3\text{-N}$  in der Pflanze vorhanden ist, vor erneuter Eiweißsynthese intensive Desaminierungsprozesse statt, und es scheint aus später zu beschreibenden Versuchen hervorzugehen, daß bei der Mobilisierung des Reserveeiweißes zwecks Synthese von neuem Organeiweiß die Aminosäuren — offenbar infolge ihrer ungleichen biologischen Beständigkeit und der damit verbundenen Änderung in ihrem quantitativen Verhältnis — in großem Umfang zur Neubildung der fehlenden Aminosäuren bis zum  $\text{NH}_3$  abgebaut werden. Es ist noch gar nicht entschieden, ob der größte Teil der bei der Eiweißsynthese sich bildenden organischen Säuren seine Entstehung dem Aufbau oder der Desaminierung von Aminosäuren verdankt. Auf Grund des hin und wieder beobachteten gleichzeitigen Auftretens von Aminalkoholen und Aminosäuren nahm TRIER<sup>2</sup> an, daß Aldehyde bzw. Aminoaldehyde, die der CANIZZAROSCHEN Reaktion unterworfen sind, Muttersubstanz für die Aminosäuren sind, während andererseits die Aminosäurenbildung als mit der Fettbildung gekoppelt gedacht wurde und infolgedessen der Glycerinaldehyd, der ja möglicherweise im normalen Atmungsstoffwechsel entsteht, als Ausgangsmaterial der Aminosäuren betrachtet wurde. Endlich möge noch auf die TREUBSche<sup>3</sup> Ansicht hingewiesen werden, wonach Aminosäuren als Produkte der STRECKERSCHEN Reaktion von  $\text{HCN}$  und  $\text{NH}_3$  auf Aldehyde angesehen

<sup>1</sup> HANSTEEN, B.: *Jahrb. f. wiss. Botanik* **33**, 417. 1899.

<sup>2</sup> TRIER, G.: *Einfache Pflanzenbasen und ihre Beziehungen zum Aufbau der Eiweißstoffe und Lecithine*. Berlin 1912.

<sup>3</sup> TREUB, M.: *Ann. du jardin botan. de Buitenzorg* **13**, 1.

werden, eine Theorie, welche durch die derartig von FRANZEN<sup>1</sup> synthetisch dargestellten Aminosäuren wohl in chemischer Hinsicht eine Stütze erfuhr, gegen deren biologische Ausführbarkeit noch wegen der Einbeziehung der Blausäure in den Prozeß Bedenken bestehen. Immerhin verdienen doch die reaktionsfähigen Aldehyde, also voraussichtlich Spaltprodukte der Kohlehydrate als die wahrscheinlichsten Quellen der C-Skelette der Aminosäuren betrachtet zu werden, was der geäußerten Ansicht über eine mögliche Säurebildung aus den Restkörpern der Kohlehydratspaltprodukte wohl entsprechen würde.

Nehmen wir noch die von BAUDISCH, E. SCHULZE, LÖW und ABDERHALDEN<sup>2</sup> geäußerten ganz verschiedenartigen Ansichten über die Eiweißsynthese hinzu, so wird man wohl sagen dürfen, daß der Chemismus der Eiweißsynthese noch einer wesentlichen Aufhellung bedarf, bevor wir daran denken können, den Bildungsmechanismus der dabei möglicherweise als Nebenprodukte entstehenden organischen Säuren zu klären.

#### Organische Säuren als Produkte direkter Zuckeroxydation.

Im bewußten Gegensatz zu den erörterten Theorien der Säurebildung im Eiweißstoffwechsel sucht BUTKEWITSCH<sup>3</sup> in neuerer Zeit die Ansicht zu begründen, daß die organischen Säuren direkte Oxydationsprodukte von Hexosen seien. Dazu muß jedoch bemerkt werden, daß ihm diese Hypothese besonders für seine Ansicht über die Zusammenhänge von intramol. Atmung und Sauerstoffatmung wertvolle Dienste leisten soll. Er ist in dieser Beziehung ein Gegner der von KOSTYTSCHEW (l. c.) neuerdings hervorgehobenen Theorie des genetischen Zusammenhangs von Spaltungen und Oxydationen der veratmeten Kohlehydrate, wonach die intramol. Spaltung als „Auftakt der normalen O<sub>2</sub>-Atmung“ anzusehen ist. BUTKEWITSCH ist vielmehr der Ansicht, daß die ersten Veränderungen der Hexosen nicht Spaltungen, sondern Oxydationen seien. Diese Ansicht stützt BUTKEWITSCH auf folgende experimentell festgestellten Befunde: In Zuckerkulturen von *Aspergillus niger* konnten nach relativ kurzer Zeit schon ganz erhebliche Mengen von Glucon- und Glucuronsäure, also offensichtlich erste Oxydationsprodukte von Hexosen nachgewiesen werden; dagegen erwies sich selbst bei völligem Sauerstoffabschluß die Fähigkeit desselben Pilzes zur alkoholischen Gärung als sehr minimal im Verhältnis zu den direkten Oxydationsumwandlungen. Beide Befunde sollen nach Ansicht von BUTKEWITSCH

<sup>1</sup> FRANZEN, H.: Sitzungsber. d. Heidelberg. Akad. d. Wiss., Mathem.-naturw. Kl., Jg. 1910.

<sup>2</sup> Vgl. KOMM, E.: Eiweißbildung bei Pflanzen und Tieren. Naturw. u. Landw. H. 5.

<sup>3</sup> BUTKEWITSCH, W.: Biochem. Zeitschr. **129**, 464. 1922; **145**, 442. 1925; **154**, 177. 1924; **159**, 395. 1925. Jahrb. f. wiss. Botanik **64**, 637. 1925.

gegen eine stärkere Beteiligung von primären Spaltungsprozessen bei der  $O_2$ -Atmung sprechen, weshalb er eine Revision der zur Zeit mehr und mehr zu allgemeiner Anerkennung gelangten Theorie über den Zusammenhang von intramol. und normaler  $O_2$ -Atmung auch in bezug auf die höheren Pflanzen fordert. Für die vorliegende Frage der Säurebildung sind nun zwei Befunde von Wichtigkeit, einmal der, daß sich in älteren Zuckerkulturen von *Aspergillus* große Mengen Oxalsäure offensichtlich auf Kosten von Gluconsäure bilden, und dann der andere, daß Chinasäure nur von denjenigen Pilzen rasch abgebaut wird, welche Zucker rasch direkt zu oxydieren vermögen. Unter Vermeidung einer auf die Einzelheiten eingehenden Kritik der Ansichten von BUTKEWITSCH über die Säurebildung glaube ich mich auf folgenden Hinweis beschränken zu können. Die Versuche von BUTKEWITSCH machen es wahrscheinlich, daß *Aspergillus niger* unter bestimmten Bedingungen Oxalsäure auch über direkte Zuckeroxydation bilden kann. Wie oben ausführlich dargelegt wurde, liegen jedoch zahlreiche Untersuchungen vor, die schlagend zeigen, daß derselbe Pilz Oxalsäure auch aus ganz anderem Material und auf völlig andersartigem Wege bilden kann. Eine Übertragung einzelner stoffwechselphysiologischer Eigenarten dieses Pilzes auf Stoffwechselvorgänge höherer Pflanzen scheint in Ermangelung einer entsprechenden experimentellen Grundlage nicht berechtigt zu sein. Das trifft bezüglich der Oxalsäurebildung aus Zucker um so mehr zu, als Glucuronsäure bisher nur sehr selten und Gluconsäure — wie BUTKEWITSCH selbst angibt — in höheren Pflanzen gar nicht nachgewiesen werden konnten. Aus den Untersuchungen MEYERHOFs ist andererseits zu ersehen, daß die Fähigkeit zu alkoholischer Gärung und deren quantitatives Verhältnis zur oxydativen Verarbeitung der Spaltprodukte nicht nur bei einander derartig fernstehenden Organismen, wie es Schimmelpilze und höhere grüne Pflanzen sind, sondern selbst bei nahe verwandten Heferasen außerordentlich verschieden sein kann. Wie wir die Hefe als einen Organismus mit extrem reduzierenden Eigenschaften kennen gelernt haben, so wird man gewisse Schimmelpilze — zu denen *Aspergillus niger* gehört — als Organismen mit besonders stark hervortretenden oxydativen Qualitäten auffassen müssen, während in dieser Beziehung die höheren Pflanzen eine gewisse Mittelstellung einzunehmen scheinen. Jedenfalls scheint zu einer Übertragung der an *Aspergillus niger* gemachten Erfahrungen bezüglich der Oxalsäurebildung auf höhere Pflanzen ohne gesicherte experimentelle Grundlage keine hinreichende Berechtigung vorzuliegen.

In jüngster Zeit haben BERNHAUER<sup>1</sup> und KOSTYTSCHEW<sup>2</sup> den

<sup>1</sup> BERNHAUER, K.: Über die Säurebildung durch *Aspergillus niger*. Biochem. Zeitschr. **172**, 296. 1927.

<sup>2</sup> KOSTYTSCHEW, S. u. TSCHESNOKOV, W.: Bildung von Zitronensäure durch *Aspergillus niger*. Zeitschr. f. wiss. Biol., Abt. E: Planta **4**, 181. 1927.

Säurestoffwechsel von *Aspergillus niger* erneut zum Gegenstand eingehender Untersuchungen gemacht. So vielgestaltig und beinahe verwirrend zunächst die Resultate erscheinen, lassen sich doch einige allgemeinere Züge des Zuckerabbaues durch diesen Pilz festhalten. Neben der physiologischen Individualität des verwendeten Pilzstammes und der H<sup>+</sup>-Konzentration des Nährmediums scheint vor allem das Verhältnis der Wachstumsintensität des Pilzes zu der zur Verfügung stehenden Zuckermenge bedeutsamen Einfluß auf die Steuerung des Zuckerabbaues auszuüben in dem Sinn, daß in rasch wachsenden Kulturen besonders auf relativ zuckerarmen Medien eine Säurebildung völlig unterbleibt, während bei gehemmttem Wachstum und hohen Zuckerkonzentrationen die Säureproduktion so gesteigert werden kann, daß der größte Teil des verbrauchten Zuckers als Säure wiedergefunden wird. Nun hat KOSTYTSCHEW die Wachstumsintensität des Pilzes durch dosierte N-Gaben variiert und fand in diesem Fall eine deutliche Abhängigkeit der Säurebildung von der N-Assimilation derart, daß kräftige N-Aufnahme die Säurebildung stark hemmte. Diese Erscheinung bringt KOSTYTSCHEW in genetischen Zusammenhang mit der Synthese von Aminosäuren, die nach unseren heutigen Kenntnissen wahrscheinlich über Ketosäuren erfolgt. KOSTYTSCHEW nimmt nun an, daß bei N-Mangel die N-freien Vorstufen der Aminosäuren, die Ketosäuren, ungehemmt weiter gebildet, in Ermangelung von NH<sub>3</sub> aber nicht zum Aufbau von Eiweißbausteinen verwendet, sondern zu Oxysäuren — im vorliegenden Fall zu Zitronensäure — reduziert werden, ein Vorgang, der in der Bildung von Oxysäuren bei der Desaminierung in Hefekulturen eine experimentell sichergestellte Parallele besäße (vgl. NEUBAUER und FROMMHERZ, l. c.).

Wenn auch die Versuchsergebnisse KOSTYTSCHEWs eine derartige Deutung zulassen, so vermisste ich doch den mir notwendig erscheinenden Nachweis, daß die N-Assimilation des Pilzes mit einer Intensität verläuft, die der raschen und reichlichen Zitronensäurebildung bei N-Mangel entspricht. So ist zur Zeit noch nicht zu entscheiden, ob die Zitronensäurebildung infolge von Verhinderung der Aminosäuresynthese oder aber aus anderen mit der Wachstumshemmung zusammenhängenden Gründen eintritt. Diese letztere Möglichkeit verdient um so mehr untersucht zu werden, als MOLLIARD<sup>1</sup> eine Änderung im Zuckerabbau durch *Aspergillus* infolge Nährsalzmangels konstatieren konnte. Auch die Versuche an den reichlich mit N versorgten Kulturen vermögen diesen Einwand nicht zu entkräften, um so weniger, als die Versuchsergebnisse nicht immer der Hypothese von KOSTYTSCHEW entsprechen. So hat z. B. die in Versuch 17 unter B verzeichnete Kultur trotz höheren Zuckerver-

<sup>1</sup> MOLLIARD: Cpt. rend. hebdom. des séances de l'acad. des sciences 174, 881. 1922; 178, 41. 1924.

brauchs bei einer N-Assimilation von 9,4 mg absolut und auch auf den Zuckerverbrauch bezogen weniger Zitronensäure gebildet als die Kultur D, die ihren N-Gehalt um 50,3 mg erhöht hatte. Endlich wäre noch zu bemerken, daß gerade bei N-übersättigtem Material die N-Aufnahme aus der Nährlösung durchaus nicht mit der Aminosäuresynthese parallel zu gehen braucht, da das wachsende Mycel dem älteren Material leicht N entziehen kann, um so mehr, als alternde Organe spontan ihren Eiweißgehalt verringern und das mobilisierte N-haltige Material jüngeren Organen zuführen. Ein eindeutiger Beweis für die KOSTYTSCHESCHE Ansicht wäre meines Erachtens erst erbracht, wenn es gelänge, bei verhindertem Wachstum des Pilzes den Antagonismus zwischen Säureproduktion und N-Assimilation darzutun.

Zunächst spricht noch manches gegen die KOSTYTSCHESCHE Deutung. Bekanntlich bildet *Aspergillus niger* auf Zuckerkulturen neutraler oder basischer Reaktion große Mengen Gluconsäure, während unter diesen Versuchsbedingungen Zitronensäure nicht oder doch nur in verschwindenden Mengen gebildet wird. Man weiß nun aus zahlreichen Versuchen, daß die Aminosäuresynthese durch alkalische Reaktion des Nährmediums nicht verhindert wird; man sieht daher in diesem Falle keinen rechten Grund für das Ausbleiben der Stabilisierungsprodukte der Ketosäuren.

Die Resultate BERNHAUERS und KOSTYTSCHESCHES scheinen vielmehr dafür zu sprechen, daß mit der Beeinflussung des Wachstums Hand in Hand geht eine solche der Bildung von am Zuckerabbau beteiligten Fermenten, während die Veränderung der Reaktion im Kulturmedium offensichtlich den Wirkungsgrad der Fermente nicht unbeeinflusst läßt, wobei aus dem Gluconsäurebefund zu schließen wäre, daß mit fallender H<sup>+</sup>-Konzentration die Wirkung der spaltenden gegen die der oxydierenden Fermente mehr und mehr zurücktritt, bis schließlich das Oxydationspotential so stark erhöht ist, daß selbst Glucose oxydiert wird.

Leider liegen nach dieser Richtung hin noch zu wenig Versuche vor, um eine eingehendere Begründung dieser Hypothese zu ermöglichen. Immerhin mag ein Hinweis aus der Literatur mitgeteilt sein, wonach *Aspergillus niger*, auf Pepton kultiviert, die Fähigkeit Zucker zu spalten verliert (KOSTYTSCHEW)<sup>1</sup>. Bedauerlicherweise haben es BERNHAUER und KOSTYTSCHEW unterlassen, den Gaswechsel ihrer *Aspergillus*-Kulturen zu untersuchen, so daß nicht bekannt ist, welcher Anteil dem Säurestoffwechsel am gesamten Energieumsatz zukommt. Es wäre durchaus verständlich, wenn die Art des Zuckerabbaues weitgehend vom Verhältnis der Energieanforderung zur vorhandenen Zuckermenge abhinge, was leicht an der Wirkung der Atmungs- und Wachstumsstimulation auf den Ablauf des Zuckerabbaues zu prüfen wäre. Uneingeschränkt

<sup>1</sup> KOSTYTSCHEW, S.: Pflanzenatmung 1924.

stimme ich KOSTYTSCHEW in der Ablehnung der Deutung der Zitronensäure als Zwischenprodukt normaler Zuckerratmung zu, möchte jedoch bei *Aspergillus* die Erklärungsmöglichkeit offen halten, in der Säurebildung einen Ausdruck der durch Wachstumshemmung induzierten veränderten Steuerung des Zuckerabbaues zu sehen. Die Säuren stellten dann für die jeweils herrschenden äußeren und inneren Versuchsbedingungen keine Zwischen-, sondern Endprodukte des Zuckerabbaues dar, die mit Zwischenprodukten des normalen Zuckerabbaues gar nichts gemein hätten, und auch von dem Pilz erst bei Veränderung der Versuchsbedingungen eventuell weiter verarbeitet werden können. Verfasser muß sich entsprechende Versuche in den angedeuteten Richtungen vorbehalten.

#### **Apparatur zur Bestimmung des pflanzlichen Gaswechsels.**

Die älteren Versuche, die Bildung und physiologische Bedeutung der Oxalsäure in grünen Pflanzen klarzulegen, sind — von der Unzulänglichkeit der chemischen Methoden abgesehen — hauptsächlich daran gescheitert, daß die betreffenden Autoren den Säurestoffwechsel zu isoliert oder doch nur in seiner Abhängigkeit von äußeren Faktoren — Licht, Temperatur usw. — studiert haben, ohne auf die übrigen in der Pflanze sich abspielenden Stoffwechselforgänge zu achten. Die im Vordergrund des Interesses stehende Frage nach der *Entstehung der Oxalsäure* und ihrer biochemischen Verknüpfung mit den übrigen Stoffwechselforgängen verlangte einerseits eine Verbreiterung der Untersuchungsbasis und andererseits chemische Methoden zur quantitativen Erfassung der Stoffwechselforgänge. Nun sind freilich die Stoffwechselforgänge in den höheren Pflanzen so vielgestaltig und durch zahlreiche oft wenig durchsichtige Wechselbeziehungen verknüpft, daß es schwer fällt, aus der chemischen Analyse einen möglichen genetischen Zusammenhang einzelner Stoffwechselprodukte herauszulesen. Ein Beispiel wird das am einfachsten erklären. Frühere Autoren haben aus dem Verschwinden von Kohlehydraten und einer gleichzeitigen Säurezunahme nicht nur einen biochemischen Zusammenhang dieser beiden Stoffe erschlossen, sondern die organischen Säuren als intermediäre Atmungsprodukte aufgefaßt, ohne zu bedenken, daß das Verschwinden von Kohlehydraten nicht immer einen Atmungs Vorgang charakterisiert, vielmehr zum Teil durch Eiweiß- und Fettbildung, Aufbau von Membransubstanz usw. bedingt sein kann. Die Deutung des analytischen Befundes ließe sich durch die Bestimmung einer möglichst großen Zahl der am Stoffwechsel beteiligten Körper einengen, doch kann dieser Weg aus technischen Gründen nicht begangen werden, und man wird sich auf die Bestimmung der wichtigsten Stoffwechselprodukte beschränken müssen. Um so notwendiger erscheint daher die Ergänzung der analytischen Befunde durch Untersuchungen, die ein Licht auf das Schicksal der Stoffwechselpro-

dukte werfen. Das vermögen in besonderem Maße Untersuchungen über den jeweiligen Gaswechsel der Pflanze, die einerseits die Intensität der Atmung, andererseits die Qualität des Atmungsmaterials erkennen lassen. Was den letzteren Punkt anbetrifft, so ist es ja bekannt, daß der Wert des Atmungsquotienten  $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$  weitgehend vom Atmungsmaterial abhängig ist. Naturgemäß tritt diese Beziehung am klarsten an Organismen zutage, die sich wenigstens eine Zeitlang mit bestimmten organischen Verbindungen als alleiniger C-Quelle ernähren lassen, die dann zur Gewinnung der notwendigen Lebensenergie in großen Mengen verbrannt werden. So konnten DIAKONOW<sup>1</sup>, PURLEWITSCH<sup>2</sup>, GERBER<sup>3</sup>, KOSTYTSCHEW<sup>4</sup> u. a. besonders an Pilzen weitgehende Übereinstimmung im Atmungsquotienten bei biologischer und chemischer Verbrennung verschiedener Nährsubstanzen dartun. Liegen nun auch bei höheren Pflanzen die Verhältnisse aus oben angegebenen Gründen nicht so günstig wie bei Pilzen, so ist doch der Auf- und Abbau gerade von Oxalsäure von so starkem Einfluß auf den Atmungsquotienten ( $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = 4$ ), daß die übrigen Stoffwechselprozesse diese Vorgänge zwar etwas überlagern, aber nicht völlig verdecken können, wenigstens so lange die Kohlehydrate neben der Säure hauptsächlich das Atmungsmaterial liefern. Die Bedeutung der Ermittlung des Atmungsquotienten ließ eine möglichst genaue und einwandfreie Bestimmung dieser Größe als wünschenswert erscheinen. Leider entsprachen die bisher benutzten Atmungsapparate nicht den zu stellenden Anforderungen. Hinsichtlich der bisher verwendeten Atmungsapparaturen lassen sich zwei Gruppen unterscheiden:

- a) Apparate mit abgeschlossenem Volumen,
- b) Apparate mit strömender Atmosphäre.

In ersteren läßt sich der Atmungsquotient auf Grund gut ausgebildeter Bestimmungsmethoden für die Erfassung der Antagonisten des Gaswechsels  $\text{CO}_2$  und  $\text{O}_2$  mit hinreichender Genauigkeit bestimmen (vgl. KOSTYTSCHEW, Pflanzenatmung). Jedoch weisen diese Apparate den Mangel auf, daß mit länger andauernder Respiration der  $\text{O}_2$  stark abnimmt, und daher keine Gewähr für einen normalen Ablauf der Respiration gegeben ist. Wenn auch einerseits weitgehende Unabhängigkeit des  $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$  von der  $\text{O}_2$ -Tension (STICH<sup>5</sup>) und vom  $\text{CO}_2$ -Gehalt der Atmungsluft

<sup>1</sup> DIAKONOW, N.: Ber. d. dtsh. botan. Ges. 5, 115. 1887.

<sup>2</sup> PURLEWITSCH, K.: Botan. Zentralbl. 58, 368. 1894. Jahrb. f. wiss. Botanik 40, 573. 1900.

<sup>3</sup> GERBER, C.: Cpt. rend. hebdom. des séances de l'acad. des sciences 124, 162. 1897.

<sup>4</sup> KOSTYTSCHEW, S.: Jahrb. f. wiss. Botanik 1904. 563.

<sup>5</sup> STICH, K.: Flora 74, 1. 1891.



(DÉHÉRAIN und MAQUENNE)<sup>1</sup> gefunden wurde, so sind diese Angaben nicht unwidersprochen geblieben<sup>2</sup>, und ebenso wenig allgemein gültig wie die Angaben von BONNIER und MANGIN<sup>3</sup> über die Unabhängigkeit des  $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$  von der Temperatur, die erwiesenermaßen<sup>4</sup> für alle Pflanzen bei längerer Versuchsdauer und bei Säurepflanzen auch selbst für kürzere Zeiten nicht zutreffen.

Die durch höhere Temperatur induzierte Steigerung der Atmungsintensität reißt nämlich, wie später noch genauer zu erörtern sein wird, Stoffe in den Atmungsstoffwechsel herein, die bei geringeren Energieanforderungen unangetastet bleiben. Infolgedessen muß sich auch der Atmungsquotient entsprechend dem Sauerstoffreichtum der veratmeten Verbindungen ändern. Grobe Fehler bei der Bestimmung der Atmungsintensität wie auch des Atmungsquotienten mittels geschlossener Apparate mit ruhender Atmosphäre sind jedoch wegen der erheblichen CO<sub>2</sub>-Absorption grüner verdunkelter Blätter unvermeidlich. DE SAUSSURE<sup>5</sup>, J. BÖHM<sup>6</sup> und J. BORODIN<sup>7</sup> haben vor langen Jahren schon auf diese Tatsache hingewiesen, die dann von WILLSTÄTTER und STOLL<sup>8</sup> genauer studiert wurde. Diese Forscher fanden, daß die von der Blattsubstanz tatsächlich absorbierte CO<sub>2</sub>-Menge die im Wasser des Blattes mögliche Lösung von CO<sub>2</sub> weit übertrifft und bei niedriger CO<sub>2</sub>-Tension der umgebenden Atmosphäre bis zum zwölfwachen Betrag der löslichen CO<sub>2</sub>-Menge ansteigt. In einer Atmosphäre von 10 Vol.% CO<sub>2</sub> absorbierten *Helianthus*-Blätter ungefähr eine CO<sub>2</sub>-Menge von 0,3% ihres Trockengewichtes. Durch Verringerung der CO<sub>2</sub>-Tension der umgebenden Luft werden entsprechende Mengen CO<sub>2</sub> wieder entbunden.

Später hat SPOEHR diesen Nachweis in einer eigens dieser Erscheinung gewidmeten Arbeit erbracht, den SIERP<sup>9</sup> in bezug auf keimende Erbsensamen bestätigen konnte.

PURIEWITSCH<sup>10</sup> gibt anlässlich seiner Versuche über Pflanzenatmung

<sup>1</sup> DÉHÉRAIN et MAQUENNE: Ann. agronom. 12. 1886.

<sup>2</sup> CLAUDE BERNARD: Leçon sur les effets des substances toxiques 1883. 200.  
— GODLEWSKI, E.: Arb. a. d. botan. Inst. Würzburg 1, 243. 1873.

<sup>3</sup> BONNIER et MANGIN: Cpt. rend. hebdom. des séances de l'acad. des sciences 98 u. 100.

<sup>4</sup> PURIEWITSCH: Ann. des sciences nat. (8), 1, 1. 1905.

<sup>5</sup> SAUSSURE, TH. DE: Chemische Untersuchungen über die Vegetation 1804. Ausg. in OSTWALDS Klassikern Nr. 15, S. 43.

<sup>6</sup> BÖHM, J.: Liebigs Ann. d. Chem. 185, 248. 1876.

<sup>7</sup> BORODIN, J.: Mém. de l'acad. imp. des sciences de St. Pétersbourg 7, Sér. 28, 4. 1881.

<sup>8</sup> WILLSTÄTTER u. STOLL: Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure 1918. 172 ff.

<sup>9</sup> SIERP, H.: Flora 18/19. 1925. (Festschrift.)

<sup>10</sup> PURIEWITSCH, K.: Jahrb. f. wiss. Botanik 35, 579. 1900.

an, daß in dem von ihm benützten Apparat von BONNIER und MANGIN mit der von BARANETZKI angegebenen Abänderung im Verlauf des Versuchs der  $\text{CO}_2$ -Gehalt von 0,6 auf 7,2% anstieg, während der  $\text{O}_2$ -Gehalt gleichzeitig von 19,9 auf 11,2% fiel. Nach WILLSTÄTTER und STOLL (l. c.) absorbieren aber 100 g *Helianthus*-Blätter bei dieser  $\text{CO}_2$ -Tension bereits 65 mg  $\text{CO}_2$ . (An geeigneter Stelle werden darüber eigene Feststellungen besprochen werden.) So lag Veranlassung genug vor, die Atmung in einer Atmosphäre möglichst gleichbleibender normaler Zusammensetzung vor sich gehen zu lassen.

Eine Möglichkeit hierfür bietet die Anwendung von Atmungsapparaten mit strömender Luft. HENRIOT und RICHEL<sup>1</sup> haben bereits im Jahre 1887 einen Atmungsapparat mit konstant gehaltener Zusammensetzung der Innenatmosphäre konstruiert, der darauf beruht, daß das Volumen der  $\text{CO}_2$ -freien Luft vor Eintritt in den Atmungsraum durch eine Präzisionsgasuhr gemessen wird ( $V_1$ ). Zwei hinter der Atmungskammer angebrachte Gasuhren, zwischen die ein Absorptionsgefäß mit Kalilauge geschaltet ist, geben dann ( $V_1 - V_3$ ) den verbrauchten Sauerstoff bzw. die expirierte  $\text{CO}_2$  an ( $V_2 - V_3$ ).

Für tierphysiologische Versuche mag der Apparat gute Dienste leisten. Um ihn für die Pflanzenphysiologie nutzbar zu machen, bedürfte es weitgehender Verbesserungen, besonders in bezug auf Konstanz der Temperatur des Luftstromes und der Dampfspannung.

In der Pflanzenphysiologie hat erstmals GODLEWSKI<sup>2</sup> einen Atmungsapparat mit konstant bleibender Zusammensetzung der Innenluft beschrieben. Die  $\text{CO}_2$  im Atmungsgefäß wird fortlaufend durch Kalilauge absorbiert; infolge des durch den  $\text{O}_2$ -Verbrauch entstehenden Unterdrucks wird aus einem mit  $\text{O}_2$  gefüllten Eudiometer Sauerstoff nach Maßgabe des Verbrauchs durch eine das Atmungsgefäß mit dem Eudiometer verbindende U-förmige Röhre zugeführt. Um eine fortlaufende Diffusion des Sauerstoffs aus dem Eudiometer mit dem Atmungsgefäß zu verhindern, taucht die Verbindungsröhre in der Atmungskammer etwa 3 mm in Quecksilber ein, so daß ein  $\text{O}_2$ -Ausgleich nur nach Eintritt eines entsprechenden Unterdruckes im Atmungsgefäß erfolgen kann. Eine besondere Einrichtung ermöglicht endlich die fortlaufende Einstellung des Binnendruckes im Eudiometer auf den äußeren Luftdruck.

Weist auch der Atmungsapparat von GODLEWSKI gegenüber den früher gebräuchlichen Apparaten besonders in physiologischer Hinsicht große Vorzüge auf, so konnte er doch höheren Anforderungen nicht genügen. Wie GODLEWSKI selbst angibt, lassen sich zwar sehr lebhaft

<sup>1</sup> HENRIOT u. RICHEL: Cpt. rend. hebdom. des séances de l'acad. des sciences 104, 435. 1887.

<sup>2</sup> GODLEWSKI, E.: Botan. Zeit. 1882. 803.

Atmungsvorgänge (Blüten, keimende Samen) mit hinreichender Genauigkeit verfolgen, jedoch stören einige der Apparatur anhaftende Mängel eine Bestimmung des Gaswechsels bei weniger intensiv atmenden Organen, wie z. B. Blättern doch ganz empfindlich. Auf einen Übelstand weist GODLEWSKI selbst hin: Während der Zeit, die zur Zusammensetzung des Apparates notwendig ist, wird zwar die expirierte  $\text{CO}_2$ , nicht dagegen der verbrauchte Sauerstoff erfaßt. Durch Extrapolation läßt sich dieser Fehler immerhin verkleinern, bleibt aber besonders bei kurzer Versuchsdauer trotzdem bedenklich. Auch gegen die zu hoch gelegene Befestigung des Laugengefäßes wird man besonders bei dem völligen Fehlen einer Gaszirkulation im Interesse einer vollständigen  $\text{CO}_2$ -Absorption Einwände machen müssen. Die schlimmsten Fehler jedoch werden durch die Inkonstanz von Temperatur und äußerem Atmosphärendruck während der Versuchsdauer bedingt. Das tritt klar zutage, wenn man bedenkt, daß derartige Änderungen einseitig nur die Genauigkeit der  $\text{O}_2$ -Bestimmung beeinträchtigen, so daß dem ermittelten Atmungsquotienten erhebliche Ungenauigkeit anhaftet.

Die Apparaturen von SPOEHR<sup>1</sup> und SIERP<sup>2</sup> gestatten nur die Menge der abgegebenen  $\text{CO}_2$  zu fassen, und reichen daher für unsere Bedürfnisse nicht aus. An SPOEHR'S Apparat vermöchte nur die Art der  $\text{CO}_2$ -Bestimmung zu interessieren. Wie üblich, fängt er die  $\text{CO}_2$  in Barytlauge ab, bestimmt dann jedoch nicht den veränderten Titer der Lauge, sondern deren Leitfähigkeit, die gegenüber der anfänglichen infolge des Niederschlagens von  $\text{BaCO}_3$  aus der Lösung verringert wird. Aus der Leitfähigkeitsverringerng wird dann die verbleibende  $\text{Ba(OH)}_2$ -Konzentration und damit die abgefangene  $\text{CO}_2$ -Menge gemessen. Der störende Niederschlag von  $\text{BaCO}_3$  auf den Elektroden macht jedoch eine jedesmalige sorgfältige Reinigung der Elektroden vor der Bestimmung notwendig, wodurch der von SPOEHR erhoffte Vorteil fortlaufender ununterbrochener  $\text{CO}_2$ -Bestimmung sehr beeinträchtigt wird.

Offene Apparaturen mit frei durchströmender Luft, wie sie WILLSTÄDTER und STOLL (l. c.) zu ihren Assimilationsversuchen verwendeten, lassen sich wegen der zu geringen gasanalytisch nicht mit hinreichender Genauigkeit faßbaren Unterschiede in der Zusammensetzung der ein- und austretenden Luft, besonders was den Sauerstoff anbetrifft, nicht gebrauchen. So blieb nur das geschlossene System mit zirkulierendem, in sich geschlossenem Luftstrom übrig. Damit wurde gleichzeitig eine manometrische Bestimmung des verbrauchten Sauerstoffs möglich, wie sie KROGH<sup>3</sup> und WARBURG<sup>4</sup> in die Physiologie einführten, und wie sie

<sup>1</sup> SPOEHR, A. H. and MC. GEE, J. M.: Studies in Plant Respiration and Photosynthesis 1923.

<sup>2</sup> SIERP, H.: Flora 18/19. 1925. (Festschrift.)

<sup>3</sup> KROGH: Handb. d. biochem. Arbeitsmeth. 8.

<sup>4</sup> WARBURG, O. u. NEGELEIN: Biochem. Zeitschr. 110, 66. 1920.

seitdem von zahlreichen Pflanzen- und Tierphysiologen mit Erfolg angewandt wurde. Wenn auch die Genauigkeit der Bestimmung mit der Größe des Atmungsgefäßes abnimmt, so wird andererseits mit der Vermehrung des Atmungsmaterials und der damit verbundenen Vergrößerung des Gaswechsels dieser Nachteil wieder behoben, und wenn man jeweils die Größe des benutzten Atmungsgefäßes nach der zur Verfügung stehenden Pflanzenmenge auswählt, so wird der relative Fehler in der Bestimmung nicht erhöht.

In neuester Zeit hat FERNANDES<sup>1</sup> einen Atmungsapparat konstruiert, der eine wesentliche Vervollkommnung der GODLEWSKISCHEN Apparatur darstellt. Die lokale Stagnierung der Atmungsgase verhindert FERNANDES, indem er mit Hilfe einer Saugdruckpumpe einen zirkulierenden Luftstrom durch die ganze geschlossene Apparatur hindurchschickt. Der verschwindende Sauerstoff wird fortlaufend durch elektrolytisch entwickelten Sauerstoff ersetzt, dessen Volumen unter allen Vorsichtsmaßregeln moderner volumetrischer Gasbestimmung an dem gleichzeitig entwickelten Wasserstoff ermittelt wird. Ein offenes Manometer ermöglicht die Konstanzhaltung des Innendruckes in der Apparatur. Die CO<sub>2</sub> wird — wie üblich — mittels Ba(OH)<sub>2</sub> bestimmt. Auf Konstanzhaltung der Temperatur ist weitgehend Bedacht genommen. Trotzdem weist dieser Apparat noch erhebliche Mängel auf, deren Darlegung ein etwas ausführlicheres Eingehen auf Einzelheiten dieser Apparatur notwendig macht.

Die manometrische Bestimmung des Sauerstoffs erfordert eine möglichst vollkommene Isolierung der Innenatmosphäre der Apparatur von den sich dauernd ändernden Außenbedingungen, die das Volumen eines Gases ändern könnten. Die wichtigsten, das Gasvolumen bestimmenden Faktoren sind Temperatur und Druck. Hinsichtlich der Temperatur hat FERNANDES weitgehend für Konstanz Sorge getragen, indem er die ganze Atmungsapparatur in einem Wasserthermostaten unterbrachte, dessen Temperatur mittels eines die elektrische Anheizung des Wassers regulierenden Toluolthermoregulators bis auf wenige Hundertstel Grad konstant gehalten wurde. Für die gleiche Temperatur des Wassers im ganzen Gefäß sorgten elektrisch angetriebene Rührer. Ich halte allerdings die Umschließung der in geringer Entfernung voneinander untergebrachten Rührer, Heizkörper und des Thermoregulators mit einem zweiten oben und unten offenen Glasgefäß für keinen glücklichen Griff, da zwar hierdurch wohl eine Verbesserung der Temperaturkonstanz innerhalb dieses umschlossenen Raumes erreicht wird, jedoch nur auf Kosten eines erschwerten Temperatúrausgleiches mit dem Wasser des Restraumes im Thermostaten. Und gerade auf dessen Temperatur-

<sup>1</sup> FERNANDES, D. S.: Recueils des travaux botan. néerl. 20, 107. 1920.

konstanz kommt es beim Versuch an, da sich dort die Teile der Apparatur mit dem größten Rauminhalt befinden, weshalb sich selbst geringfügige Temperaturschwankungen gerade hier als Druckänderung fühlbar machen und die Genauigkeit der manometrischen Sauerstoffbestimmung herabsetzen müssen. Ich ließ daher in dem Thermostaten dieses zweite Gefäß weg und suchte einen raschen Temperatenausgleich des Thermostatenwassers durch Anbringung eines zweiten Rührers zu befördern. Die Rührer waren nach dem System der Zentrifugalwasserpumpe konstruiert, so daß das kältere Bodenwasser fortlaufend nach oben gehoben wurde und dadurch einen an Papierschnitzeln leicht verfolgbaren Wasserstrom durch den ganzen Thermostaten hervorriefen. Weiterhin war die ganze Apparatur in einem Zimmer mit konstanter, derjenigen des Thermostatenwassers gleicher Temperatur untergebracht. Verschiedenenorts im Wasserthermostaten angebrachte Thermometer zeigten denn auch überall bis auf wenige Hundertstel Grad gleiche Temperatur. Die Heizung erfolgte durch zwei unter Kontrolle eines Thermoregulators stehende elektrische Heizkörper. Zu bemerken ist noch, daß der Toluolthermoregulator wohl infolge der Oxydation des Quecksilbers beim Öffnen und Schließen des Stromes nach einiger Zeit stark an Empfindlichkeit einbüßt, und daher in regelmäßigen Zeitabständen gereinigt werden muß. Mit Hilfe dieser Vorsichtsmaßregeln gelang es denn auch die Temperatur im ganzen Thermostaten bis auf wenige Hundertstel Grad konstant zu halten. Die Wichtigkeit möglichst vollkommener Temperaturkonstanz erhellt schon aus der einfachen Überlegung, daß bei einem Innenraum der Atmungsapparatur von  $3000 \text{ cm}^3$  Temperaturschwankungen von  $\frac{1}{10}$  Grad bereits einen Druckunterschied von  $\frac{1}{2730} \text{ at} = \frac{3000}{2730} \text{ cm}^3$  Volumendifferenz hervorrufen, eine Größe, die die zulässige Fehlergrenze infolge der relativ geringen Intensität pflanzlicher Atmung schon wesentlich überschreitet.

Ähnliche Fehler können bei der von FERNANDES konstruierten Apparatur aber auch an und für sich geringe Schwankungen im Barometerstand hervorrufen, da FERNANDES den Druck der Binnenluft der Apparatur an einem offenen, d. h. Barometerschwankungen ausgesetzten Flüssigkeitsmanometer maß. Nun sind innerhalb der angesetzten Versuchszeiten, besonders wenn es sich um ununterbrochene Reihenversuche handelt, die möglichen Barometerschwankungen so groß, daß Differenzen von etlichen mm Quecksilberdruck gar nichts Seltenes sein werden. Da nun bereits 1 mm Quecksilberdruck einer Druckänderung von  $\frac{1}{760} \text{ at}$  und für den von FERNANDES benutzten Apparat eine Volumendifferenz von  $\frac{3000}{760} \text{ cm}^3 = 4 \text{ cm}^3$  ausmacht, müssen die Versuchsergebnisse dadurch erheblich an Genauigkeit einbüßen. Daher schloß ich

an den freien Schenkel des als Nullinstrument verwendeten BARCROFT-Manometers (Abb. 4 *M*) ein dem Atmungsgefäß möglichst gleiches leeres Kontrollgefäß an (Abb. 4 *C*), das ebenfalls im Wasserthermostaten untergebracht war, womit die kleinen Temperaturschwankungen, die eventuell noch vorkommen können, nahezu völlig kompensiert wurden. Auch barometrische Schwankungen konnten damit keinen Einfluß mehr auf die Genauigkeit der Messungen ausüben. Da — wie unten zu erläutern sein wird — in dem Atmungsgefäß stets mit Wasserdampf gesättigte Luft zirkulierte, so wurden auch in das Kontrollgefäß einige Tropfen Wasser gebracht. Trotzdem gegen ein Kontrollgefäß gemessen wurde, das denselben Temperatureinflüssen wie das Atmungsgefäß unterliegt, darf die Konstanthaltung der Temperatur nicht vernachlässigt werden. Da sich in der Atmungskammer zirkulierendes, in dem Kontrollgefäß aber ruhendes Gas befindet, erfolgt bei einer Temperaturänderung eine dadurch bedingte Druckänderung in der zirkulierenden Luft rascher als in der ruhenden.

Der Druck der Binnenluft wird aber auch noch durch deren Wasserdampfspannung beeinflusst. Wie schon aus der bekannten Formel der volumetrischen Gasbestimmung  $v_0 = \frac{v_1 (b - h)}{760 \cdot (1 + \alpha t)}$  (wo  $v_0$  das auf 760 mm Bar. Dr. u. 0° reduzierte Volumen,  $v_1$  das gemessene Volumen,  $b$  der beobachtete Barometerdruck,  $h$  die Wasserdampfspannung bei  $t^\circ$ , und  $\alpha$  der Ausdehnungskoeffizient der Luft bedeuten) hervorgeht. Es ist deshalb bedenklich, die Dampfspannung des Wassers in einzelnen Teilen des Systems verschieden zu gestalten, wie es FERNANDES tat, indem er zur Trocknung des Luftstromes hinter die Atmungskammer und vor das Kontrollbarytrohr Waschflaschen mit konzentrierter  $\text{H}_2\text{SO}_4$  schaltete. Das bewirkte, daß in dem ganzen System völlig uneinheitliche Dampfspannungsverhältnisse bestehen, über deren Gleichgewicht schwer etwas Sicheres auszusagen ist, und das sich bei Veränderung der Zirkulationsgeschwindigkeit sicherlich verschiebt. So zirkuliert in dem Raum von der Atmungskammer bis zur ersten  $\text{H}_2\text{SO}_4$ -Vorlage sehr feuchte Luft, die jedoch nach Verlassen dieser Vorlage des größten Teils ihres Wassers verlustig geht, den Laugenvorlagen abermals Wasser entzieht, um es gleich darauf wieder an die Schwefelsäure der nächsten Vorlage abzugeben; beim Durchgang durch das Barytkontrollgefäß und durch die Atmungskammer beginnt dann das Spiel von neuem. Die Zwischenschaltung der  $\text{H}_2\text{SO}_4$ -Vorlagen ist ja nur notwendig, wenn man nur einen aliquoten Teil der ganzen vorgelegten Barytlauge zurücktitriert, weil man dann auf die Menge des den Barytgefäßen zugeführten bzw. aus ihnen entwichenen Wassers achten muß. Zur Umgehung der eben skizzierten möglichen Fehlerquelle wurde die von WARBURG vorgeschlagene Titration in den geschlossenen Barytgefäßen angewandt, wobei diesen

eine für den besonderen Zweck dienliche Form und Ausgestaltung gegeben wurde, wie sie Abb. 1 zeigt.

Ein nach oben zum Einsatz eines doppelt durchbohrten Gummistopfens sich verjüngendes zylindrisches Gefäß von etwa 250 cm<sup>3</sup> Inhalt geht in steiler Verengung nach unten in einen etwa reagenzglasähnlichen Teil über, der am unteren Ende eine kleine Ausweitung erfährt. Die durchströmende CO<sub>2</sub>-haltige Luft wird durch ein im Gefäß rechtwinklig abgebrochenes Glasrohr mit zwischengeschalteter Erweiterung [zwecks Abfangens des beim Pumpen erfolgenden Rückschlags von Ba(OH)<sub>2</sub>], das bis auf den Grund des Gefäßes führt, und in einer kolbenförmigen siebartig fein durchlöcherten Erweiterung endigt, wodurch die gewünschte, für eine vollkommene CO<sub>2</sub>-Absorption günstige feine Zerteilung der Luft erreicht wird, geleitet. Die untere Verengung des Gefäßes dient demselben Zweck und ermöglicht bei geringer Laugenmenge ein gutes Waschen des Luftstromes. Auf der dem Einströmrohr gegenüberliegenden Seite des Gefäßes befindet sich die etwas nach oben gebogene Ausströmungsröhre.

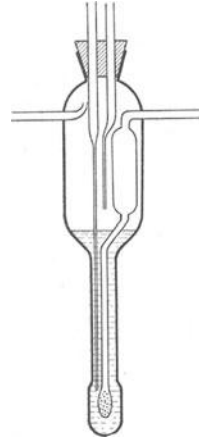


Abb. 1. Kohlensäureabsorptionsgefäß.

Durch den doppelt durchbohrten Gummistopfen führen von zwei aus Standflaschen mit Barytlaug bzw. HCl gespeisten Büretten (siehe Abb. 2) zwei kapillar ausgezogene Glasröhren in die Barytflüssigkeit herein und ermöglichen so eine Titration im geschlossenen System, was bei der CO<sub>2</sub>-Empfindlichkeit der Lauge von großem Vorteil ist. Die nach Vorschrift mit BaCl<sub>2</sub> versetzte Barytlaug wurde  $\frac{1}{10}$  normal gewählt, ebenso die Salzsäure. Als Indikator wurde Phenolphth. nach Beendigung des Versuches zugegeben (wegen Vermeidung von Alkoholdämpfen; wasserlösliche Indikatoren können natürlich gleich zu Beginn der Lauge zugesetzt werden). Einem Tropfen HCl entspricht somit etwa 0,066 mg CO<sub>2</sub>, was für unsere Versuche (20—50 mg ausgeschiedene CO<sub>2</sub>) bei der Schärfe des Farbumschlags hinreichende Genauigkeit ergab. Zur scharfen und sicheren Erkennung des Farbumschlages wurde hinter den Barytvorlagen eine weiße Porzellanplatte befestigt, die mittels einer kleinen elektrischen Birne unter Wasser beleuchtet wurde, so daß über den erreichten Neutralpunkt nie Unsicherheit bestand. — Diese Art des Titrierens machte eine Zwischenschaltung von H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Vorlagen

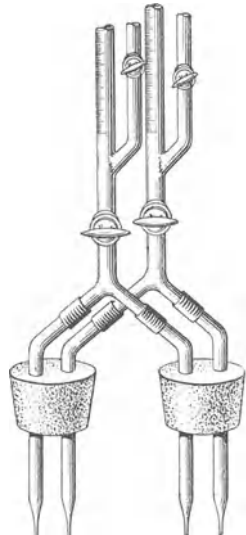


Abb. 2. Montierung der Büretten.

völlig überflüssig und ermöglichte in dem ganzen System eine gleichmäßig wasserdampfgesättigte Atmosphäre, da einerseits die Zirkulation der Luft bald zu einer völligen Sättigung führt und die Dampfdruckerniedrigung durch die  $\frac{1}{10}N$ -Barytlauge praktisch vernachlässigt werden kann. Infolge der völlig gleichmäßigen Temperatur in dem ganzen System konnten Wasserkondensationen vermieden werden, was wegen der Wasserlöslichkeit der  $CO_2$  von Bedeutung ist. Die Einbringung von feuchter Watte in größerer Menge in den Atmungsraum (vgl. FERNANDES) scheint aus diesem Grunde bedenklich, wenn die Durchlüftung nicht eine sehr vollkommene und rasche ist.

Um partielle Ansammlungen von  $CO_2$  in der Apparatur zu vermeiden, bedarf es einer möglichst vollkommenen Durchlüftung des Systems. Es hatte sich gezeigt, daß bei einfacher Durchlüftung mit Hilfe einer in die Apparatur eingeschalteten mechanisch bedienten Saug-

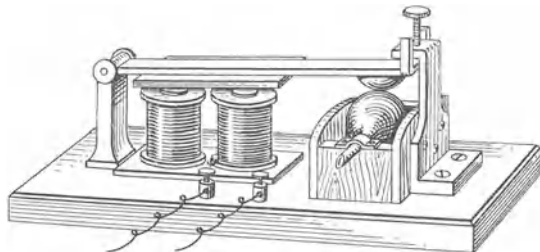


Abb. 3. Montierung der Saugdruckpumpe.

druckpumpe eine gleichmäßige Verteilung der Gase in der Apparatur nicht zu erreichen war, sondern es mußte die Luft der Atmungskammer in lebhafte Bewegung versetzt werden, was FERNANDES mittels einer das Atmungsgefäß durchlaufenden rotierenden Achse mit ansitzenden Etagen zur Unterbringung der zu untersuchenden Erbsenkeimlinge erreichte. Die Abdichtung der Achsenlager machte erhebliche technische Schwierigkeiten und komplizierte das Atmungsgefäß außerordentlich. Es ist gelungen, denselben Erfolg der Durchlüftung mit einfacheren Mitteln zu erreichen.

Abb. 3 zeigt zunächst die verwendete Saugpumpe. Eine dickwandige Gummisyringe von etwa  $100\text{ cm}^3$  Volumen wurde auf einer geeigneten mit Samt überzogenen Holzunterlage festmontiert, derart, daß ein durch Elektromagneten nach unten bewegter Hebel mit vorn ansitzender Holzkalotte abwechslungsweise auf die Syringe drückt und durch die eigene Elastizität der Syringewand wieder hochgehoben wird. Die Anbringung einer Führung ermöglicht ein durchaus gleichartiges Zusammenpressen der Syringe bei den einzelnen Schlägen, während eine durch die obere Arretierung der Führung gehende Stellschraube auch die Volumverringerng der Syringe beim einzelnen Schläge regulieren





quemen und zweckmäßigen Unterbringung des Atmungsmaterials enthält das Atmungsgefäß ein Drahtgestell mit Aufhängevorrichtungen, wodurch eine möglichst vollkommene Fortführung der expirierten  $\text{CO}_2$  begünstigt wird. Die von FERNANDES benützte komplizierte Einrichtung zur Bewegung der Luft im Atmungsgefäß wurde durch eine wesentlich einfachere und ebenso wirksame Vorrichtung ersetzt. Durch die schräg abgebogene Einführungsröhre trifft der von der Syringe erzeugte Luftstrom auf einen achtteiligen Propeller (vgl. Abb. 5) aus Aluminiumblech, der um eine horizontale in der Richtung der Zylinderachse des Atmungsgefäßes liegende Achse drehbar ist, die in feine, polierte, in ein Stahllager eingelassene Stahlspitzen ausläuft, so daß — unter best-

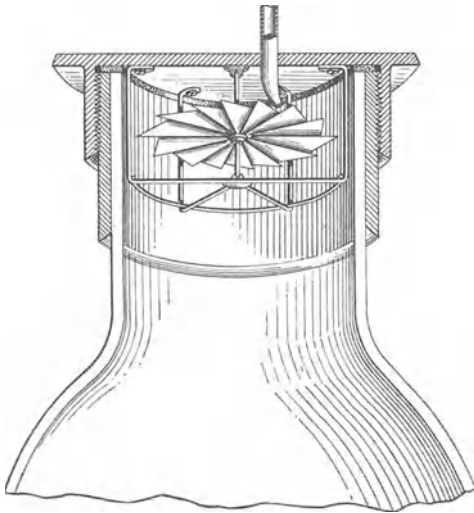


Abb. 5. Achsenschnitt durch den Hals des Atmungsgefäßes mit eingebautem Flügelrad.

möglicher Vermeidung der Reibung — der Propeller durch einen sehr leichten Luftstrom bereits in lebhaftere Bewegung gesetzt wird. Das rotierende Flügelrad bewirkt nun eine permanente Luftrührung, so daß Luftstauungen im Atmungsgefäß so gut wie völlig vermieden werden können. Eingeblassener Zigarrenrauch verschwand wenige Minuten nach Einsetzen der Pumpe völlig aus dem Atmungsgefäß, wobei die Luftbewegung in der Atmungskammer leicht beobachtet werden konnte.

Bei mittlerer Einstellung des Metronoms und der oben erwähnten Stellschraube an der Arretierungsvorrichtung kann die Luft der ganzen Apparatur in etwa 3 Minuten durch die Absorptionsflaschen getrieben werden, so daß bei der oben geschilderten guten Verteilung der Gase niemals Stauungen von  $\text{CO}_2$  eintreten können, wie experimentell durch die Übereinstimmung der Resultate unmittelbar aufeinanderfolgender Bestimmungen erwiesen werden konnte.

An Stelle der etwas umständlichen Sauerstoffzufuhr wurde eine einfachere Einrichtung gesetzt (Abb. 4): Das Atmungsgefäß wurde mit einer  $\text{O}_2$ -Vorratsflasche verbunden, die ihrerseits wieder mit einer quecksilbergefüllten Bürette in Verbindung gebracht werden kann. Aus der Bürette können nun genau dosierte Mengen von Quecksilber in das  $\text{O}_2$ -Vorratsgefäß abgelassen werden, wodurch aus diesem bei entsprechen-

der Hahnstellung gleiche Volumina  $O_2$  in das Atmungsgefäß gepreßt werden. Bringt man an das Hahnkücken von Hahn 3 (Abb. 4) einen Hebel und dahinter eine graduierte Scheibe an, so läßt sich der Zufluß von Quecksilber in jeder gewünschten Weise dosieren. In das  $O_2$ -Vorratsgefäß gibt man etwas Wasser, so daß die ganze Bodenfläche damit bedeckt wird. Dadurch wird die notwendige Dampfsättigung des  $O_2$  erreicht und zugleich das zufließende Quecksilber vom Sauerstoff abgeschlossen, so daß von Quecksilberdämpfen nichts zu befürchten ist. Das zwischengeschaltete Quecksilbergefaß ( $v$ ) hat die Aufgabe, das zuströmende Metall in der Temperatur des Wasserthermostaten zu halten. Als Meßflüssigkeit wurde Quecksilber gewählt, weil sich darin kein Sauerstoff löst. Den notwendigen Sauerstoff stellt man sich am besten elektrolytisch her und unterwirft ihn noch den bekannten Reinigungsprozessen.

Die Bedeutung des bei  $h_1$  (Abb. 4) abzweigenden Nebenweges soll unten besprochen werden; Dreiweghahn  $h_3$  ermöglicht die Auffüllung des veratmeten Sauerstoffs, dessen Dosierung durch entsprechende Umstellung von  $h_4$  besorgt wird. Dreiweghahn  $h_5$  läßt den Luftstrom nach  $h_8$  abströmen und ermöglicht auch eine Kommunikation mit dem einen Schenkel des BARCROFT-Manometers (Absperflüssigkeit Eugenol oder Petroleum), dessen anderer freier Schenkel mittels Hahn  $h_7$  mit dem Kontrollgefäß  $C$  verbunden werden kann. Eine vor dem Manometer aufgestellte kleine 2-Volt-Lampe ermöglicht mit Hilfe eines Horizontalmikroskops genaue Ablesungen bis auf  $1/10$  mm, während Hunderstel mm noch geschätzt werden können, was hinsichtlich der Ablesung einer Einengung der Fehlergrenze auf etwa  $1/100$  cm<sup>3</sup> entspricht. Dreiweghahn  $h_8$  öffnet über  $h_{12}$  den Weg nach den  $1/10$  n Barytlaugenthaltenden Waschflaschen  $D_2$  und  $D_1$ , welche die dem Luftstrom aus  $A$  anhaftende  $CO_2$  absorbieren. Durch  $h_{11}$  endlich wird der Kreis der zirkulierenden Luft geschlossen. Diese in Abb. 6 unter Hahnstellung 1 (Stellungsbezeichnung in zentrifugaler Richtung ansteigend) skizzierte Schaltung bewirkt eine Durchlüftung der Apparatur unter gleichzeitiger Absorption der  $CO_2$ . In dieser Schaltung arbeitet der Apparat so lange, bis in dem eingesetzten Atmungsgefäß vollständiger Temperaturengleich stattgefunden hat; solange dieser Ausgleich kein vollständiger ist, wird bei hohen Versuchstemperaturen die Flüssigkeit in dem nach dem Kontrollgefäß zugehenden Schenkel des Manometers steigen. Erfahrungsgemäß vollzieht sich der Ausgleich in einer halben Stunde sicher. Wegen der Abhängigkeit der Dampfspannung von der Temperatur müssen  $D_1$  und  $D_2$  ebenfalls im Thermostaten untergebracht werden.

Aus anderen Gründen muß der Vorlauf sogar noch verlängert werden. Infolge der relativ geringen Durchlässigkeit der Cuticula für Sauerstoff und Kohlensäure ist die Diffusionsgeschwindigkeit dieser Gase im Blatt

nach BROWN und ESCOMBE weitgehend von der Öffnungsweite der Spaltöffnungen abhängig. Da zwecks Ausschaltung der störenden Assimilation Atmungsversuche an grünem Material am einfachsten im Dunkeln vorgenommen werden, muß die Schließbewegung der Stomata in ihrer Wirkung auf den Gasaustausch durch eine vorhergehende Verdunkelung eliminiert werden.

Die Hahnstellungen 2 und 3 (Abb. 6) ermöglichen in weniger als einer Minute eine Decarbonisierung der in dem Röhrensystem und in  $B_1$  und  $B_2$  vorhandenen Luft.

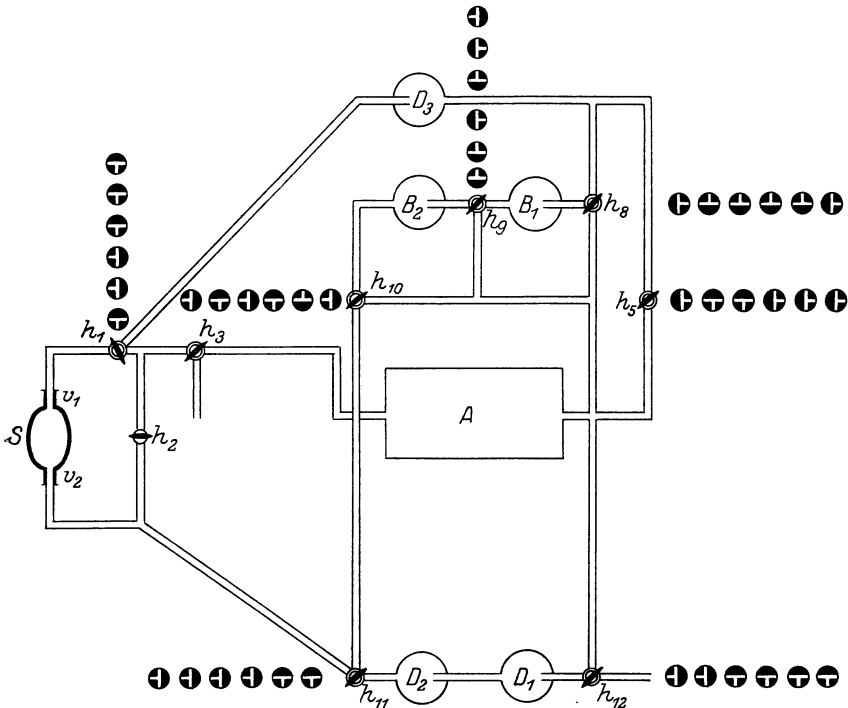


Abb. 6. Schema der Hahnstellung.

mit Lauge unter  $\text{CO}_2$ -Abschluß direkt aus den Standgefäßen beschickt. Hahnstellung 4 (Abb. 6) leitet den Luftstrom durch beide Absorptionsgefäße  $B_1$  und  $B_2$ , Stellung 5 leitet ihn nur durch  $B_1$  und Stellung 6 nur durch  $B_2$ , so daß fortlaufende Versuchsreihen ohne Unterbrechung möglich sind. Die bei der Füllung von  $B_1$  und  $B_2$  eintretende Drucksteigerung kann leicht durch kurzes Lüften von  $h_9$  und  $h_{10}$  beseitigt werden.

Vor der weiteren Beschreibung der Anlage der Apparatur muß noch auf die in dem geschlossenen System der Apparatur herrschenden Druckverhältnisse eingegangen werden (vgl. Abb. 7). Entgegen einer naheliegenden Ansicht, wonach man in der ganzen Apparatur dauernd gleiche

Druckverhältnisse vermutet, gliedert sich das ganze System in mehrere Teile mit verschiedenem Innendruck. In der Apparatur von FERNANDES wird der Luftstrom im ganzen durch 6 Absorptionsgefäße, nämlich 3 Barytvorlagen, 2  $H_2SO_4$ -Vorlagen und 1 Barytkontrollröhre, getrieben. Der Einfachheit halber wollen wir annehmen, daß die Flüssigkeiten in allen Gefäßen gleich hoch stehen mögen, nämlich  $= h$  cm. Hat die Pumpe nun so gearbeitet, daß gerade die erste Luftblase aus dem langen Rohr der Vorlage VI gepreßt wird, so muß, wenn in Vorlage VI der Druck  $a$  herrscht, in Vorlage V ein solcher von  $a + h$  cm Wasserdruck vorhanden sein; in den übrigen Vorlagen ist dann der Druck entsprechend  $a + 2h$ ,  $a + 3h$ ,  $a + 4h$ ,  $a + 5h$  und im Atmungsgefäß selbst  $a + 6h$ . Ein Druckausgleich kann bei gut schließenden Ventilen in  $S$  nicht oder doch nur ganz allmählich erfolgen. Die Folge ist daher, daß in dem hinter der

letzten Vorlage angeschlossenen Manometer  $m_2$  ein Unterdruck, in dem mit dem Atmungsgefäß kommunizierenden Manometer  $m_1$  ein Überdruck angezeigt werden muß. Das bestätigt — ohne Klärung der Vorgänge — auch FERNANDES. „Wenn der Apparat von der Außenluft abgeschlossen ist und die Pumpe zu arbeiten beginnt, so entsteht sofort ein Überdruck im Atmungsgefäß, während Manometer  $m_2$  (Raum vor dem Saugventil) eine Druckverminderung angibt.“ Wird nun Verbindung des Atmungsgefäßes

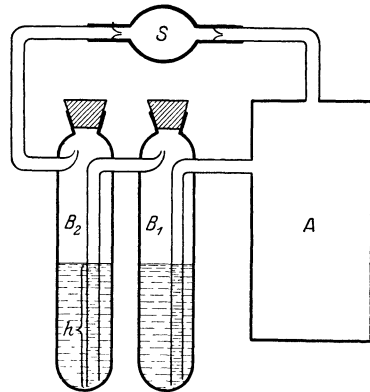


Abb. 7. Schematische Darstellung der durch Flüssigkeiten voneinander getrennten Teilräume der Atmungsapparatur.

mit der Außenluft hergestellt und dann wieder unterbrochen, so wird die Druckdifferenz zwischen Atmungsgefäß und Außenluft aufgehoben, während „ $m_2$  einen größeren negativen Druck“ angibt. „Das gestörte Gleichgewicht, das durch die Wirkung der Saugdruckpumpe im geschlossenen System entsteht, wird scheinbar durch das Öffnen und Wiederschließen von  $K_5$  (Kommunikation bzw. Unterbrechung von Atmungsgefäß mit Außenluft) derart verschoben, daß im Atmungsgefäß kein Überdruck entstehen kann. Es ist daher notwendig, daß beim Anfang jedes neuen Versuchs  $K_5$  geöffnet ist, bis in allen Barytröhren Blasen gebildet werden.“ FERNANDES beseitigt nun nur den Überdruck in dem Atmungsgefäß durch vorübergehende Kommunikation desselben mit der Außenatmosphäre. Dadurch wird der Druck im Atmungsgefäß erniedrigt, und die Folge davon muß natürlich eine Vergrößerung der in den Absorptionsgefäßen eingeschlossenen Gasvolumina sein, wodurch die Flüssigkeit in den langen Röhren der Absorptions-

gefäße zurückschlägt und die Druckdifferenz zwischen Atmungsgefäß und letzter Vorlage geringer wird, ohne jedoch völlig aufgehoben zu werden. Da in unserer Apparatur nur zwei Barytvorlagen eingeschaltet sind, wollen wir uns auch hinsichtlich der mathematischen Darlegung der durch die Wirkung der Saugdruckpumpe bedingten Veränderung der Druckverhältnisse im System darauf beschränken.

Bezeichnen wir das Volumen des Atmungsgefäßes samt dem der anschließenden Röhren vom Syringenventil bis zur Flüssigkeitsoberfläche im Durchleitungsrohr des ersten Barytgefäßes mit  $A$  (Abb. 7), das des 1. Barytgefäßes mit  $B_1$  und das des 2. Barytgefäßes mit dem Röhrenvolumen bis zum Syringenventil mit  $B_2$ . Vor Beginn des Versuches herrscht in allen Teilen der Apparatur derselbe Druck  $p$ . Wird nun die Pumpe in Gang gesetzt, so wird bis zum beginnenden Durchperlen der Luft durch die Barytgefäße der Druck in  $A$  erhöht, während die Luft in  $B_2$  eine entsprechende Verdünnung erfährt. Ob in  $B_1$  Druckvermehrung oder -verminderung eintritt, hängt ganz von dem Größenverhältnis der einzelnen Teile zueinander, besonders von Barytgefäß und Atmungsgefäß ab. Dabei wird das Volumen  $A$  um die Flüssigkeitssäule ( $H$ ) der langen Röhre von  $B_1$  vermehrt,  $B_1$  bleibt unverändert, und  $B_2$  wird um denselben Betrag verringert. Nach den oben dargelegten Überlegungen muß, wenn in  $B_1$  ein Druck  $a$  herrscht, das Gas in  $A$  unter dem Druck  $a + 2h$  stehen, wobei  $h$  die Höhe der für beide Absorptionsgefäße gleich groß angenommenen Flüssigkeitssäule vom Niveau der Lauge bis zur unteren Öffnung der eintauchenden Röhre bedeutet. Somit entspricht die in  $A$  eingeschlossene Luftmenge einer solchen von  $\frac{a + 2h}{p}$  ( $A + H$ ) unter normalem Druck  $p$ . Für  $B_1$  gilt

$$VB_1 = \frac{a + h}{p} \cdot B_1 \quad \text{und für } B_2: VB_2 = \frac{a}{p} \cdot (B_2 - H).$$

Die Summe der Luftvolumina bleibt unverändert, daher

$$\frac{(a + 2h)(A + H)}{p} + \frac{(a + h)B_1}{p} + \frac{a}{p}(B_2 - H) = A_1 + B_1 + B_2.$$

oder

$$(a + 2h)(A + H) + (a + h)B_1 + a(B_2 - H) = p(A_1 + B_1 + B_2)$$

oder

$$+ a(A + H + B_1 + B_2 - H) = p(A_1 + B_1 + B_2) - h(2A + 2H + B_1)$$

Somit

$$a = \frac{p(A + B_1 + B_2) - h(2A + 2H + B_1)}{A + B_1 + B_2}$$

oder

$$a = p - h \frac{2(A + H) + B_1}{A + B_1 + B_2}$$

Für die Größenverhältnisse unserer Apparatur gilt nun  $A = 3500 \text{ cm}^3$ ;  $B_1 = 200 \text{ cm}^3$ ;  $B_2 = 300 \text{ cm}^3$  ( $200 \text{ cm}^3$  des Barytgefäßes +  $100 \text{ cm}^3$  der Syringe).

$H = 1 \text{ cm}^3$ ;  $h = 10 \text{ cm}$  Wasserdruck;  $p = 1033 \text{ cm}$  Wasserdruck.

Wie ersichtlich, kann die Größe  $H$  vernachlässigt werden. Dann geht die Formel für  $a$  nach Einsetzung der Werte über in:

$$a = 1033 - 10 \cdot \frac{7200}{4000} \text{ cm Wasserdruck (1/10 n Ba(OH)}_2 = \text{Wasser gerechnet)}$$

$$= (1033 - 18) \text{ cm} = 1015 \text{ cm Wasserdruck.}$$

Somit  $a - p = 18 \text{ cm}$  Wasserdruck, d. h. in  $m_2$  fällt die Flüssigkeit im offenen Schenkel um  $18 \text{ cm}$ -Wasserdruck  $= \frac{18}{13,5} \text{ cm}$  Quecksilberdruck,

und  $a + 2h = 1015 + 20 = 1035 \text{ cm}$  Wasserdruck,

somit  $a + 2h - p = 2 \text{ cm}$  Wasserdruck,

d. h. im offenen Schenkel von  $m_1$  steigt die Flüssigkeit um  $2 \text{ cm}$  (bei Verwendung von Wasser als Sperrflüssigkeit).

Der Druck in  $B_1$  ist  $a + h = 1025 \text{ cm}$ ; somit herrscht in  $B_1$  gegenüber der Außenatmosphäre ein Unterdruck von  $8 \text{ cm}$  Wasserdruck. Stellt man nun, wie FERNANDES tat, zwischen  $A$  und der Außenluft eine Kommunikation her, so tritt aus  $A$  Luft aus, da  $a + 2h > p$ ; infolgedessen ändern sich auch die Druckverhältnisse in  $B_1$  und  $B_2$ , deren Binnenluft infolge der Druckverminderung in  $A$  eine Ausdehnung erfährt, was ein Einpressen von Flüssigkeit in die längeren Röhren der Barytgefäße im Gesamtbetrag von  $a + 2h - p = 2 \text{ cm}$  zur Folge haben muß, wenn man die hierdurch bedingten kleinen Volumenveränderungen in  $B_1$  und  $B_2$  außer Rechnung läßt. Die Flüssigkeit im offenen Schenkel von  $m_2$  muß daher, wie FERNANDES auch beobachtet hat, um einen entsprechenden Betrag weiter sinken, während beide Flüssigkeitssäulen von  $m_1$  nivelliert sind. Unterbricht man nun die Verbindung von  $A$  mit der Außenatmosphäre wieder und setzt die Pumpe aufs neue in Gang, so wird zwischen  $A$  und  $B_2$  wieder ein Druckgefälle von  $d = 2h$  hergestellt, das beim ersten Durchperlen der Luft durch die Barytvorlagen erreicht ist. In  $A$  wird somit die Luft wieder etwas verdichtet, in  $B_2$  dagegen verdünnt. Jedoch ist die Drucksteigerung in  $A$  diesmal geringer als beim ersten Anstellen der Pumpe, weil ja nur bis zum Durchperlen der Luft  $2 \text{ cm}$  Wasserdruckgefälle zwischen  $A$  und  $B_2$  entstehen muß; davon wirkt sich der größte Teil als Verdünnung in  $B_2$  aus, während die Drucksteigerung in  $A$  (entsprechend dem größeren Volumen von  $A$ ) nur gering ist und daher offensichtlich von FERNANDES übersehen wurde (angebliche Konstanz in  $m_1$ ), während der Unterdruck in  $m_2$  sich entsprechend stärker auswirken und daher die Flüssigkeit — wie FERNANDES richtig beobachtete — im freien Schenkel von  $m_2$  weiter fallen muß. Beim zweiten Öffnen von  $A$  nach der Außenluft hin bedingt der diesmal kleinere Überdruck in  $A$  gegenüber  $p$  ein geringeres Zurückströmen der Barytlauge in die eintauchenden Röhren der Absorptionsgefäße.

Ist der Enddruck in  $B_2$  nach dem zweiten Anstellen der Pumpe  $= b$ , so ist der Druck in  $B_1 = b + h$  und in  $A = b + 2h$ . Aus  $A$  sind beim ersten Öffnen von  $h_5$  entwichen

$$\frac{a + 2h - p}{p} \cdot A \text{ cm}^3 \text{ Luft};$$

es blieben also zurück

$$\begin{aligned} A + B_1 + B_2 - \frac{a + 2h - p}{p} \cdot A \text{ cm}^3 \text{ Luft} &= A \frac{p - a - 2h + p}{p} + B_1 + B_2 \text{ cm}^3 \\ &= A \frac{2p - (a + 2h)}{p} + B_1 + B_2 \text{ cm}^3 \end{aligned}$$

$$\text{Nun ist } \frac{B_2 \cdot b}{p} + B_1 \cdot \frac{b + h}{p} + A \frac{(b + 2h)}{p} = A \frac{2p - (a + 2h)}{p} + B_1 + B_2$$

oder

$$b \cdot B_2 + b B_1 + B_1 h + b \cdot A + 2 h \cdot A = A [2 p - (a + 2 h)] + p (B_1 + B_2)$$

oder

$$b (A + B_1 + B_2) = A (2 p - (a + 2 h)) - h (2 A + B_1) + p (B_1 + B_2)$$

$$\begin{aligned} \text{Somit } b &= \frac{A (2 p - (a + 2 h)) - h (2 A + B_1) + p (B_1 + B_2)}{A + B_1 + B_2} \text{ cm Wasserdruck} \\ &= \frac{A 2 p - a A - 2 A h - 2 h A - h B_1 + p B_1 + p B_2}{A + B_1 + B_2} \text{ cm Wasserdr.} \\ &= \frac{A (2 p - a - 4 h) + B_1 (p - h) + p B_2}{A + B_1 + B_2} \text{ cm Wasserdruck} \\ &= p + \frac{A (p - a - 4 h) - B_1 h}{A + B_1 + B_2} \text{ cm Wasserdruck} \\ &= p - \frac{A (a + 4 h - p) + B_1 h}{A + B_1 + B_2} \text{ cm Wasserdruck} \end{aligned}$$

Die für unsere Apparatur gültigen Werte eingesetzt, ergibt

$$\begin{aligned} b &= p - \frac{3500 \cdot 22 + 2000}{4000} \text{ cm Wasserdruck} \\ &= p - 19,75 \text{ cm Wasserdruck} \end{aligned}$$

$$\text{Somit } b + h = p - 9,75 \text{ cm Wasserdruck}$$

$$\text{und } b + 2h = p + 0,25 \text{ cm Wasserdruck}$$

Der Überdruck in  $A$  beträgt also nur noch 0,25 cm Wasserdruck (Quecksilberdruck = 0,18 mm). Diese kleine Schwankung ist von FERNANDES offensichtlich übersehen worden.

Inwiefern können nun durch diese Druckschwankungen in den einzelnen durch Flüssigkeiten gegeneinander abgesperrten Teilräumen der Apparatur Fehler bei der Sauerstoffbestimmung eintreten?

Wie oben erwähnt, steigt beim Öffnen in  $A$  nach der erstmaligen Tätigkeit der Pumpe die Barytlaug in die Röhren der Barytgefäße zurück (für unseren Fall etwa 2 cm). Bleibt nun die dadurch geschaffene Druckverteilung in den Teilräumen bei erneuter Tätigkeit der Pumpe konstant? Daß das nicht der Fall ist, geht schon aus der Berechnung



der Größe  $b$  hervor, ergibt sich aber auch aus der Überlegung, daß nach erneuter Tätigkeit — soll die Luft durch die Barytgefäße perlen — die Druckdifferenz zwischen  $A$  und  $B_2$  wieder  $2h$  und nicht nur  $p-a$  bzw.  $p-b$  sein muß, d. h. der Druck im Atmungsgefäß steigt an. Demzufolge wird also FERNANDES, der auf das Manometer  $m_1$  einstellte, bei allen ersten Bestimmungen einen Fehler von  $2h - (p - a)$  bzw.  $2b - (p - b)$  bzw.  $a - b$  cm Wasserdruck mitgeschleppt haben, der in der Richtung einer Druck- bzw. Volumenvermehrung, d. h. eines zu geringen  $O_2$ -Konsums in Rechnung kam. Der Fehler beträgt im berechneten Fall 0,25 cm Wasserdruck, was einer Volumgröße von  $\frac{0,25}{1033} \cdot 3500 \text{ cm}^3 = 0,84 \text{ cm}^3$  entspricht. Bei Verwendung von drei oder mehr Vorlagen wird sich dieser Fehler noch erhöhen, und besonders bei relativ kleinen Mengen der in den Stoffwechsel einbezogenen Gase in einer scheinbaren Erhöhung des Atmungsquotienten zur Auswirkung kommen. Dafür scheinen auch die von FERNANDES erzielten hohen Anfangswerte von  $\frac{CO_2}{O_2}$  beim Beginn der Atmung der Keimlinge zu sprechen, die mit zunehmender Intensivierung der Atmung bzw. zeitlichen Verlängerung des Versuches rasch abfallen. Nach den Untersuchungen von SACHSE<sup>1</sup> nimmt nun zwar der prozentuale Sauerstoffgehalt keimender Erbsen ständig ab, jedoch erstreckt sich die Sauerstoffabnahme auf längere Zeiten und ist nicht so groß, daß derartig hohe  $\frac{CO_2}{O_2}$ -Werte sich ergeben könnten.

Aus dem Dargelegten ergibt sich die Notwendigkeit einer Einrichtung, die einen vollkommenen Druckausgleich im ganzen Apparatsystem ermöglicht. Druckdifferenzen können nun — wie oben festgestellt wurde — in allen durch Flüssigkeiten gegeneinander begrenzten Teilräumen entstehen. In der in Abb. 4 dargestellten Anlage entstehen Druckdifferenzen vom Atmungsgefäß nach dem 1. Barytgefäß ( $B_1$ ) von  $B_1$  nach  $B_2$  und in Summa von  $B_2$  zu dem Atmungsgefäß  $A$ , deren Ausgleich durch die Ventile verhindert wird. Daher erwies sich die Einsetzung von Druckausgleichsvorrichtungen in Form von Hähnen als notwendig. Der Hahn  $h_3$  (Abb. 4) ermöglicht den Ausgleich zwischen  $A$  und  $B_2$ , der Dreiweghahn  $h_2$  denjenigen zwischen  $B_1$  und  $B_2$ . Die Anstellung eines Versuchs möge nun kurz beschrieben werden:

Nachdem das zur Untersuchung vorhandene Pflanzenmaterial 1—2 Stunden dunkel gestanden hatte, wird es in das Atmungsgefäß gebracht, die Pumpe in Betrieb gesetzt, und der Luftstrom mittels Hahnstellung 2 und 3 durch die Barytvorlagen  $B_1$  und  $B_2$  und Waschgefäße  $D_2$  und  $D_1$  getrieben, wodurch das Röhrensystem und die Barytgefäße  $B_1$  und  $B_2$  von  $CO_2$  befreit werden. Darauf kann die Füllung

<sup>1</sup> SACHSE, R.: Untersuchungen über die Keimung von *Pisum* 1872.

derselben aus den angeschlossenen Standgefäßen erfolgen. Die dadurch bedingte Drucksteigerung wird durch Lüften von  $h_9$  und  $h_{10}$  beseitigt. Nun werden die Hähne in Stellung 1 gebracht und der Vorlauf beginnt. Nachdem Temperatur- und  $\text{CO}_2$ -Ausgleich stattgefunden haben (siehe oben), wird durch entsprechende Hahnstellung Druckausgleich in allen Teilen des Apparates einschließlich des Kontrollgefäßes mit der Außenluft bewerkstelligt. Der Ausgleich vollzieht sich rasch und kann am BARCROFT-Manometer kontrolliert werden. Durch entsprechende Hahnstellung kann nun dem zirkulierenden Luftstrom die gewünschte Richtung gegeben und die Pumpe angestellt werden, nachdem man zuvor die Verbindung des Kontrollgefäßes mit der Außenluft unterbrochen hat. Durch entsprechende Stellung von  $h_5$  läßt sich die Wirkung der durch die Pumpe erzeugten Druckwellen auf das Manometer ausschließen. Diese ganze Manipulation nimmt nach einiger Übung nicht mehr als  $\frac{1}{2}$  Minute in Anspruch. Die während dieser Zeit expirierte  $\text{CO}_2$  wird nach Anstellung der Pumpe in den Barytgefäßen absorbiert, wodurch ein der Menge von  $\text{CO}_2$  entsprechender Unterdruck im Atmungsgefäß entsteht. Dieser entspricht der verbrauchten  $\text{O}_2$ -Menge nur bei einem Atmungsquotienten = 1, während er bei  $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} > 1$  relativ zu groß, bei  $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} < 1$  zu klein ausfällt. Der Fehler, der bei ganz kurz dauernden Versuchen oder solchen mit weit von 1 abweichenden Atm. Quo. eine Rolle spielen könnte, kann jedoch leicht durch Extrapolation beseitigt werden.

Nachdem die Apparatur etwa 10 Minuten im Gang war, wird die Pumpe abgestellt, durch entsprechende Hahnstellung einheitlicher Druck im ganzen System hergestellt und der am BARCROFT-Manometer ablesbare Unterdruck durch Zugabe von  $\text{O}_2$  aus der Vorratsflasche in angegebener Weise ausgeglichen. An der Bürette kann dann gleich die absolute Menge des verbrauchten  $\text{O}_2$  abgelesen und nach einfacher Umrechnung der Hahn 4 entsprechend geöffnet werden. Zur genaueren Dosierung empfiehlt es sich, wie bereits erwähnt, am Hahngriff in der Richtung desselben einen Stab zu befestigen, der in Verbindung mit einer untergelegten Skala eine genaue Einstellung ermöglicht.

Soll der Versuch beendet werden, so stellt man bei  $U_2$  die Pumpe ab, gleicht die Druckdifferenzen in den Teilräumen der Apparatur aus und gibt evtl. noch  $\text{O}_2$  bis zum völligen Druckausgleich zwischen Apparatur und Kontrollgefäß zu. Herrscht in  $A$  ein Überdruck, so muß der Versuch bis zu dessen Verschwinden fortgesetzt werden.

Die Titration der Barytlaug erfolgt im abgeschlossenen Raum durch Zugabe von  $\frac{1}{10} n$  HCl. Eine gute Durchmischung der Vorlagenflüssigkeit wird durch die Pumpe unter Benutzung der Hahnstellung 2 erreicht.

Sind beide Barytgefäße benutzt worden, so muß nach ihrer erneuter Füllung unter oben beschriebenen Vorsichtsmaßregeln bis zum Temperaturengleich etwa  $\frac{1}{4}$  Stunde der Vorlauf eingeschaltet werden (Hahnstellung 1).

Der Gang einer Untersuchung läßt sich zusammenfassend folgendermaßen skizzieren:

Vorbehandlung der Pflanzen, Füllen und Einsetzen des Atmungsgefäßes — Vorlauf unter Hahnstellung 2 bzw. 3 — Füllung der Barytgefäße — Druckausgleich — Vorlauf unter Hahnstellung 1 (1 Std.) — Druckausgleich in *A* und *C*; Hahnstellung bzw. 4, 5, 6, Dosierung des zuströmenden  $O_2$  bei  $h_4$ .

Unterbrechung des Versuches: Abstellung der Pumpe — Druckausgleich in der Apparatur, Nivellierung des Drucks in *A* und *C* — Ablesen an der Hg-Bürette — Hahnstellung 2 — Titration.

Das Entleeren der Barytgefäße kann ohne Abmontierung mit Hilfe eines Saughebers evtl. in Verbindung mit einer Syringe geschehen.

Die von der Bürette angezeigte resorbierte  $O_2$ -Menge wird nach der bekannten Formel  $v = \frac{v_1(b-h)}{760(1+at)}$  auf  $0^\circ$  und 760 mm Druck umgerechnet, während sich die  $CO_2$ -Menge aus der titrierbaren Alkalitätsdifferenz der Lauge ergibt.

*Kontrollversuche* zur Genauigkeitsprüfung der Apparatur. Aus einem KIRPSCHEN Apparat wurde in  $H_2SO_4$  und  $H_2O$  gewaschene  $CO_2$  in das Atmungsgefäß eingeleitet, sodann nach Temperatur- und Druckausgleich die Pumpe in Gang gesetzt. Nach  $1\frac{1}{2}$ stündiger Dauer wurde der Versuch mit folgendem Resultat abgebrochen: Die Titration ergab  $32,50\text{ cm}^3$  absorbierte  $CO_2$ , während gleichzeitig eine Volumverringerng von  $32,53\text{ cm}^3$  (auf  $0^\circ$ , und 760 mm Druck umgerechnet) angezeigt wurde. Fehler  $0,03\text{ cm}^3 = 0,1\%$ ;  $CO_2$ : Volumverringerng 0,999.

Ein direkt anschließender Kontrollversuch ergab die Vollständigkeit der  $CO_2$ -Absorption. Ein zweiter Versuch ergab:  $53,26\text{ cm}^3$  absorbierte  $CO_2$  gegen  $53,83\text{ cm}^3$  Volumverringerng; Fehler  $0,57\text{ cm}^3 = 1,1\%$ .  $CO_2$ : Volumverringerng 0,989.

Versuche mit kleinen Mengen  $CO_2$ :

1. Versuchsdauer 45 Minuten. Absorbierte  $CO_2$ :  $2,12\text{ cm}^3$ ; Volumverringerng  $2,18\text{ cm}^3$ ; Fehler  $0,06\text{ cm}^3 = 2,8\%$ .

2. Versuchsdauer 25 Minuten: Absorbierte  $CO_2$ :  $2,12\text{ cm}^3$ ; Volumverringerng  $2,08\text{ cm}^3$ ; Fehler  $0,04\text{ cm}^3 = 1,9\%$ .

Diese Ergebnisse zeigen, daß selbst geringe Mengen von  $CO_2$  noch mit hinreichender Genauigkeit erfaßt werden können. Dabei ist wohl zu beachten, daß die Versuche mit dem großen Atmungsgefäß ( $V = 2500\text{ cm}^3$ ) durchgeführt wurden. Für den Fall, daß solch geringer Gaswechsel erwartet wird, d. h. wenn wenig Material zur Verfügung steht,

wird man ein kleineres Atmungsgefäß verwenden, da die Empfindlichkeit der manometrischen Sauerstoffbestimmung der Größe des Atmungsgefäßes umgekehrt proportional ist.

Über die Genauigkeit der Methode vermögen auch Serien zeitlich unmittelbar aufeinanderfolgender Versuche mit Blättern von grünen Pflanzen Aufschluß zu geben. So wurden Blätter von *Begonia semperflorens* abends 9<sup>h</sup>30' gepflückt, darauf 15<sup>1</sup>/<sub>2</sub> Stunde im Wärmezimmer bei 30,5° verdunkelt und dann für den Atmungsversuch verwendet. Versuchsdauer 115 Minuten.

I. Serie: Exspirierte CO<sub>2</sub>: 21,28 cm<sup>3</sup>; absorbiertes O<sub>2</sub>: 18,5 cm<sup>3</sup>.

$$\text{Somit} \quad \frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = 1,15$$

Direkt anschließender Kontrollversuch:

Ausgeschiedene CO<sub>2</sub>: 10,13 cm<sub>2</sub> verbrauchter O<sub>2</sub> = 8,63 cm<sup>3</sup>.

$$\text{Somit} \quad \frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = 1,16. \text{ Differenz } 0,8 \%$$

Entsprechende Versuche wurden noch in größerer Zahl mit ähnlichem Ergebnis ausgeführt.

II. Serie mit Blättern von *Begonia* bei  $t = 19^\circ$ . Vorbehandlung wie Serie I unter entsprechender Temperaturänderung.

$$1. \text{ Versuch (Dauer 4 Stunden)} \quad \frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = 1,10$$

$$2. \text{ Versuch (Dauer 1 Stunde)} \quad \frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = 1,10$$

III. Serie: Blätter von *Sparmannia africana*.

Vorbehandlung: Die abgeschnittenen Blätter wurden bei 19° 1 Stunde verdunkelt, dann ins Atmungsgefäß gebracht, und nach einstäündigem Vorlauf wurde die expirierte Kohlensäure quantitativ erfaßt.

$$1. \text{ Versuch: } \frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = 1,04$$

$$\text{Kontrollversuch } \frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = 1,05. \text{ Differenz } 1 \%$$

Nach 18stündiger Verdunkelung ergab sich im

$$1. \text{ Versuch: } \frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = 1,01$$

$$\text{Kontrollversuch } \frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = 1,00. \text{ Differenz } 1 \%$$

Diese Daten zeigen, daß die Apparatur hinsichtlich der möglichen Genauigkeit der quantitativen Untersuchung des Gaswechsels der Pflanzen den besten bekannten Methoden nicht nachsteht, ihnen dagegen in physiologischer Hinsicht in bezug auf die Konstanthaltung der Zusammensetzung der Respirationsluft überlegen ist. Bei sorgfältiger Bedienung tritt in der Atmungskammer niemals ein erheblicher Abfall

der O<sub>2</sub>-Tension ein, während andererseits jede Ansammlung von CO<sub>2</sub> verhindert ist, die, wenn nicht eine Schädigung der Pflanzen, so doch immer Bestimmungsfehler im Gefolge hat. Ein besonderer Vorzug der Apparatur scheint weiterhin darin zu liegen, daß sie ohne störende Unterbrechung fortlaufende Serienuntersuchungen zuläßt, und damit eine Möglichkeit schafft, den Gaswechsel einer bestimmten Pflanze unter völlig konstanten äußeren Bedingungen durch längere Zeiträume hindurch quantitativ zu verfolgen, wodurch in Vereinigung mit der chemischen Analyse mancher wertvolle Einblick in den pflanzlichen Stoffwechsel unter der Herrschaft bestimmter äußerer und innerer Bedingungen gewonnen werden kann. Es mag hier noch angefügt werden, daß die Apparatur unter geringfügiger Abänderung sowohl Transpirations- wie Assimilationsuntersuchungen dienstbar gemacht werden kann.

---