

Die Arbeit der Zymase und der Endotryptase in den abgetöteten Hefezellen unter verschiedenen Verhältnissen.

Von

T. Gromow und O. Grigoriew.

Mit neun Kurven.

(Aus dem botanischen Laboratorium von Prof. W. Palladin in der St. Petersburger Frauenhochschule.)

(Der Redaktion zugegangen am 16. Juni 1904.)

Eine großartige Umwälzung in der Lehre von der Gärung bewirkte die von E. Buchner im Jahre 1897 gemachte Entdeckung. Er bewies, daß in dem beim Abpressen von Hefezellen erhaltenen Saft ein Ferment enthalten ist, welches die Fähigkeit besitzt, Zucker zu zerspalten. Somit ist die Gärung nicht von dem Leben der Hefe abhängig und stellt einen rein chemischen Prozeß dar.

R. Albert¹⁾ zeigte, daß man aus durch Alkohol und Äther getöteten Hefezellen ein pulverartiges Präparat erhalten kann, welches aus getöteten Hefezellen mit tätig gebliebenen Fermenten besteht: «abgetötete», aber nicht «abgestorbene» Hefezellen, nach der von E. Buchner eingeführten Bezeichnung.

Die von Albert angewandte Methode wurde mit Erfolg von Rapp durch Aceton und Äther ersetzt: bei allen diesen Versuchen bekommt man sogenannte «Dauerhefe», welche die Eigenschaft, Kohlehydrate in Gärung zu versetzen, nicht verloren hat, aber unfähig ist, sich zu vermehren.

Der Preßsaft enthält, ebenso wie diese Dauerhefe, außer der Zymase noch andere Fermente und zwar diastatische, invertierende, reduzierende, proteolytische usw.

Nach der Rappschen Methode abgetötete Hefezellen befinden sich unter dem Namen «Zymin» im Handel. Dieses

¹⁾ E. Buchner, H. Buchner u. M. Hahn, Die Zymasegärung, 1903.

Präparat ermöglicht das allseitige Studium der darin enthaltenen Enzyme.

Auf Vorschlag und unter der Leitung des Herrn Prof. W. Palladin haben wir Untersuchungen über die Wirkung verschiedener chemischer Agentien auf die Arbeit der beiden wichtigsten der im «Zymin» enthaltenen Enzyme, nämlich der Zymase und der Endotryptase, ausgeführt.

«Zymin» bezogen wir von Schroder.¹⁾ Die Versuche mit Zymase wurden von Frl. O. Grigoriew, diejenigen mit Endotryptase von Frl. T. Gromow gemacht.

Da beide Arbeiten sich gegenseitig erklären und ergänzen, so haben wir sie in einem Artikel vereinigt.

I. Die Arbeit der Endotryptase von T. Gromow.

Bei der Untersuchung der Gärungsprozesse ist es schon vielen Forschern aufgefallen, daß bei Mangel an Nahrungstoffen die Hefe anfängt, die Eiweißstoffe ihrer eigenen Zellen zu verbrauchen. Weitere, bei totaler Abwesenheit von Nahrungstoffen ausgeführte Versuche haben diese Beobachtung bestätigt. Salkowski²⁾ erhielt Zerfallprodukte von Eiweißkörpern bei Digestion von Hefe mit Chloroformwasser. Kutscher³⁾ erhielt bei dauernder Digestion auch vollständigen Zerfall der Eiweißstoffe. M. Hahn und L. Geret⁴⁾ untersuchten das Verdauungsvermögen des vollständig von Hefezellen befreiten Preßsaftes. Sie fanden, daß bei 37° der Verdauungsprozeß viel schneller vor sich geht als bei Zimmertemperatur; ein kleiner Säurezusatz beschleunigt den Selbstverdauungsprozeß, während Alkaligehalt ihn hemmt. Salze verhalten sich verschieden: die einen beschleunigen, die andern hemmen den Prozeß. Außerdem haben letztgenannte Forscher auch die Frage nach dem Einfluß von Rohrzucker und Glyzerin auf die Verdauung berührt und gezeigt, daß 50%ige Lösungen den Eiweißzerfall stark hemmen.

¹⁾ München, Landwehrstraße 45.

²⁾ Salkowski, Diese Zeitschr., Bd. XIII, S. 506.

³⁾ Kutscher, Diese Zeitschr., Bd. XXXII, S. 52.

⁴⁾ Buchner, Die Zymasegärung.

wobei die hemmende Wirkung des Glycerins fast das Doppelte von derjenigen des Zuckers beträgt. Ich habe eingehendere Untersuchungen der Wirkung verschiedener Zuckerarten, einiger Alkohole und Gifte auf den Gang des Verdauungsprozesses veranstaltet. Als Objekt dieser Untersuchungen diente Zymin. Die Versuche wurden in folgender Weise angestellt: kleine, vorher sterilisierte Erlenmeyersche Kolben von 70—100 ccm Inhalt wurden mit 20 ccm Flüssigkeit versehen. Nach mehrmaliger Sterilisation wurde die Flüssigkeit unter vollkommen sterilen Verhältnissen mit einer bestimmten Menge Zymin (ca. 0,2—0,5 g)¹⁾ und 8 Tropfen Toluol versetzt. Darauf wurden die Kolben im Laufe von 5, 3 und 2 Tagen bei Zimmertemperatur gehalten. Die Reinheit der Kultur wurde mit Hilfe mikroskopischer Analyse und Impfungen kontrolliert. Die Menge des Stickstoffs wurde nach Kjeldahl, diejenige des Eiweißstoffes nach der Stutzerschen Methode bestimmt.

Versuch 1.

Menge des Gesamt- und Eiweißstickstoffs im verwendeten Zymin.

	Menge der Trocken- substanz	N g	In Prozent der Trocken- substanz	Durch- schnitt	In Prozent des Gesamt-N.
Gesamt-N	0.5	0.0414367	8.29	8,24	100
	0.5	0.0409769	8.19		
	0.3	0.0247988	8.26		
Eiweiß-N	0.2009	0.0159195	7.93	7,48	90.2
	0.3789	0.0267815	7.07		
	0.326	0.0242965	7.45		

Es geht hieraus hervor, daß das Zymin sehr reich an Eiweißstoffen ist. Die Menge anderer Stickstoffverbindungen beträgt weniger als 10%.

¹⁾ Die Gewichtsbestimmungen des Zymins wurden in folgender Weise ausgeführt: kleine, sterile Probierröhrchen wurden nach Augenmaß mit gleichen Mengen Zymin versehen und in kleinen Gläsern gewogen; dann wurde ein Teil ihres Inhalts in Erlenmeyersche Kolben übertragen, worauf die Probierröhrchen nochmals gewogen wurden. Der Gewichtsunterschied gab die genaue Menge des verwendeten Zymins.

Versuch 2.

Der Verlauf der Selbstverdauung im Wasser und in 25%igen Glukose- und Saccharoslösungen.

Dauer des Versuchs	Substrat	Menge der Trockensubstanz	Eiweiß-N g	In Prozent der Trockensubstanz	Durchschnitt	In Prozent der Kontrollportion
Kontrollportion		0.2009	0.0159195	7.93	7.48	100
		0.3789	0.0267815	7.07		
		0.326	0.0242965	7.45		
2 Tage	Wasser	0.4183	0.0252011	6.02	5.83	77.9
		0.4517	0.0255459	5.65		
	Glukose	0.3897	0.0274999	7.05	6.49	86.7
		0.3752	0.0219597	5.85		
	Saccharose	0.3188	0.0210631	6.61	6.24	83.4
		0.352	0.0234195	6.65		
3 Tage	Wasser	0.3398	0.0225287	6.63	4.27	57
		0.4696	0.0256608	5.46		
	Glukose	0.5548	0.0210631	3.79	6.24	83.4
		0.4725	0.0230172	4.87		
	Saccharose	0.4762	0.0197988	4.15	6.46	86.3
		0.4874	0.0304022	6.23		
5 Tage	Wasser	0.5243	0.0326723	6.23	3.81	50.9
		0.3983	0.0250861	6.28		
	Glukose	0.571	0.0367528	6.43	6.09	81.4
		0.4979	0.0310344	6.43		
	Saccharose	0.4921	0.0321264	6.52	5.87	78.4
		0.4692	0.0195114	4.15		
		0.449	0.0168965	3.76	6.11	
		0.482	0.0170114	3.52		
		0.5164	0.0309712	5.99		

Die erhaltenen Resultate sind dargestellt in Fig. 1.

Sie zeigen, wie stark die Saccharose und die Glukose den Zerfall der Eiweißstoffe verhindern.

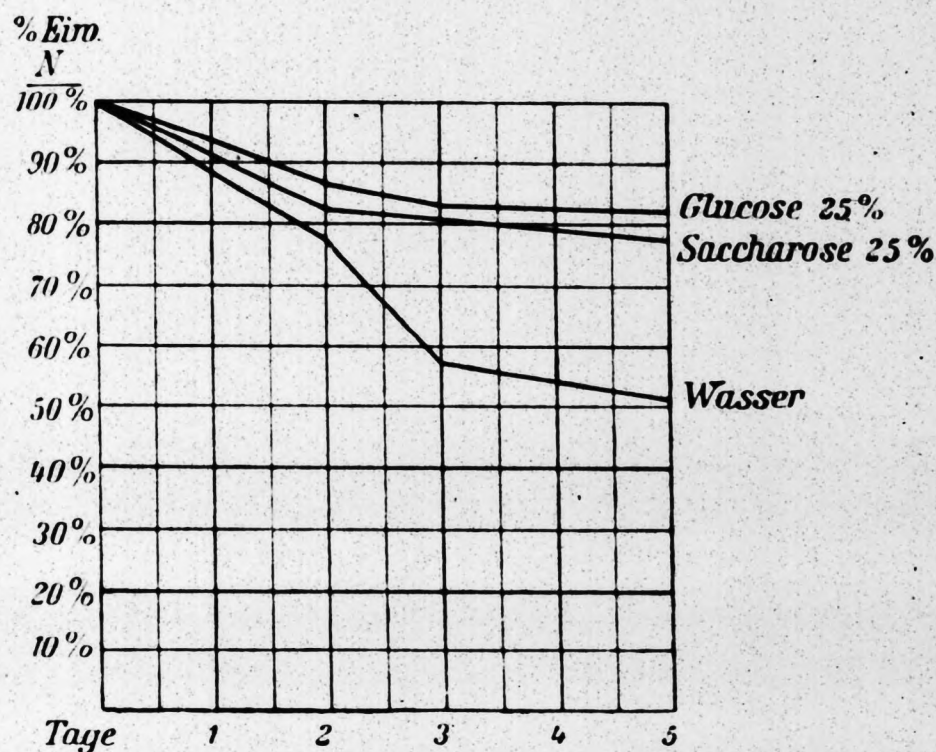


Fig. 1. — Proteolyse in Wasser, Glukose- und Saccharoselösungen.

Versuch 3.

Einwirkung von Mannit, Glycerin und Milchzucker auf Selbsterdauung. Der Versuch dauerte 5 Tage.

Substrat	Die Menge der Trockensubstanz	Eiweiß-N g	In Prozent der Trockensubstanz	Durchschnitt	In Prozent der Kontrollportion.
Kontrollportion	0.4638	0.0349137	7.61	7.45	100
	0.4732	0.033793	7.14		
	0.4013	0.0305746	7.61		
Wasser	0.5595	0.0209482	3.74	3.74	50.2
	0.5156	0.0321838	6.26		
	0.543	0.0319827	5.88		
Mannit 25%	0.5226	0.0317241	6.06	6.06	81.3
	0.5154	0.032885	6.38		
	0.52	0.033247	6.58		
Glycerin 25%	0.4366	0.0274999	6.29	6.41	86
	0.4783	0.0280746	5.91		
	0.5402	0.0320976	5.94		
Lactose 25%	0.4979	0.0306896	6.16	6	80.5

Die Resultate dieses Versuches zeigen, daß Mannit, Glycerin und Milchzucker ebenso stark den Zerfall der Eiweißstoffe verhindern.

Versuch 4.

Einfluß der Saccharoselösungen von verschiedener Konzentration auf die Selbsterdung. Dauer des Versuchs 5 Tage.

Substrat	Die Menge der Trockensubstanz	Eiweiß-N g	In Prozent der Trockensubstanz	Durchschnitt	In Prozent der Kontrollportion
Kontrollportion	0.4638	0.03449137	7.61	7.45	100
	0.4732	0.033793	7.14		
	0.4013	0.0305746	7.61		
Wasser	0.5595	0.0209482	3.74	3.74	50.2
	0.3495	0.0162068	4.63		
	0.3532	0.0166091	4.7		
Saccharose 5%	0.3438	0.0163505	4.75	4.69	62.9
	0.4062	0.0224137	5.51		
	0.4117	0.0164425	3.99		
Saccharose 10%	0.4336	0.0235689	5.43	4.97	66.7
	0.3795	0.0214942	5.66		
	0.3579	0.020862	5.79		
Saccharose 15%	0.4115	0.0242241	5.88	5.77	77.4
	0.4972	0.0320976	6.45		
	0.5268	0.0318103	6.03		
Saccharose 25%	0.3391	0.023793	7.01	6.24	83.4
	0.4195	0.028908	6.89		

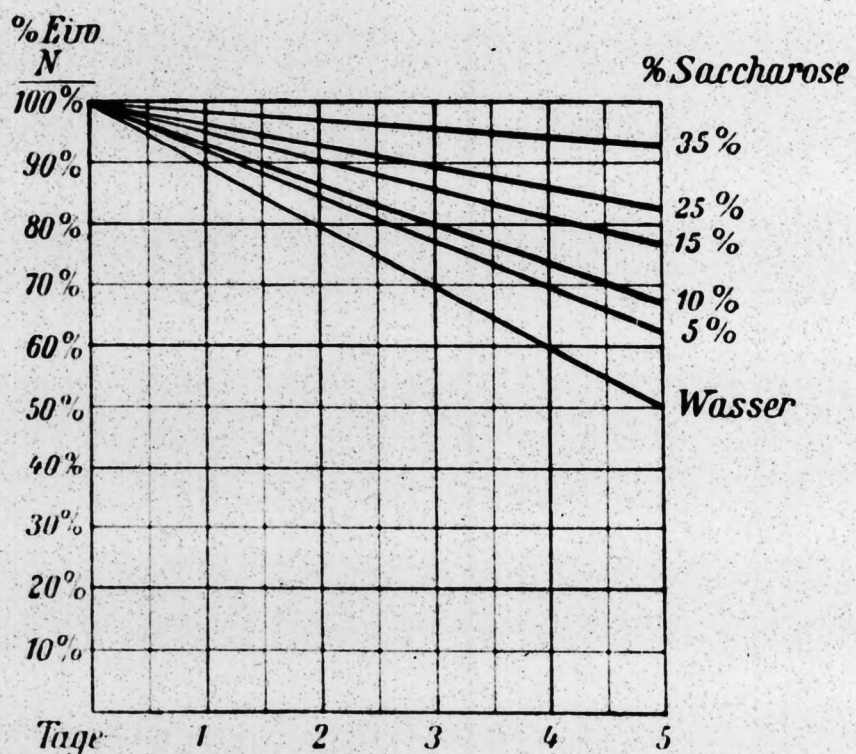


Fig. 2. — Hemmende Wirkung der Konzentration der Saccharoselösungen auf Endotryptase.

Hieraus ergibt sich: Je konzentrierter die Saccharoselösung ist, desto mehr hemmend wirkt sie auf die Arbeit des proteolytischen Enzymes. Die erhaltenen Resultate sind dargestellt in Fig. 2.

Versuch 5.

Einfluß isotonischer Lösungen von Saccharose, Glycerin und Glykokoll. Dauer des Versuches 5 Tage. Angewendete Konzentration der Lösungen: Saccharose 34,2^o/_o, Glycerin 9,2^o/_o, Glykokoll 7,5^o/_o. (Normallösungen.)

Substrat	Menge der Trockensubstanz	Eiweiß-N g	In Prozent der Trockensubstanz	Durchschnitt	In Prozent der Kontrollportion
Kontrollportion	0,3873	0,0274846	7,09	7,15	100
	0,434	0,0313761	7,22		
	0,4321	0,03095	7,16		
Wasser	0,4899	0,018128	3,7	4,03	57,7
	0,3967	0,0176735	4,45		
	0,3815	0,0151853	3,98		
Saccharose	0,4038	0,0262632	6,5	6,48	90,6
	0,4382	0,0279107	6,36		
	0,4248	0,0280243	6,59		
Glycerin	0,4164	0,0213491	5,12	5,12	72
	0,4677	0,0232068	4,96		
	0,4307	0,022741	5,28		
Glykokoll	0,4533	0,0200993	4,43	4,37	61,1
	0,5561	0,0246725	4,43		
	0,5056	0,0216048	4,27		

In isotonischen Lösungen übt Saccharose einen stärker hemmenden Einfluß aus, als Glycerin und Glykokoll. Die Ergebnisse dieses Versuches sind in Fig. 3 dargestellt. Folglich stellt die hemmende Wirkung dieser Lösungen auf die Arbeit der proteolytischen Enzyme keinen rein physikalischen Prozeß dar. Wahrscheinlich ging bei den Lösungen von Saccharose und Glycerin der umgekehrte Prozeß — die Eiweißsynthese — vor sich, welche in der Glykokolllösung fehlte, weshalb in diesem Falle ein fast ebenso starker Zerfall beobachtet wurde, wie in Wasser.

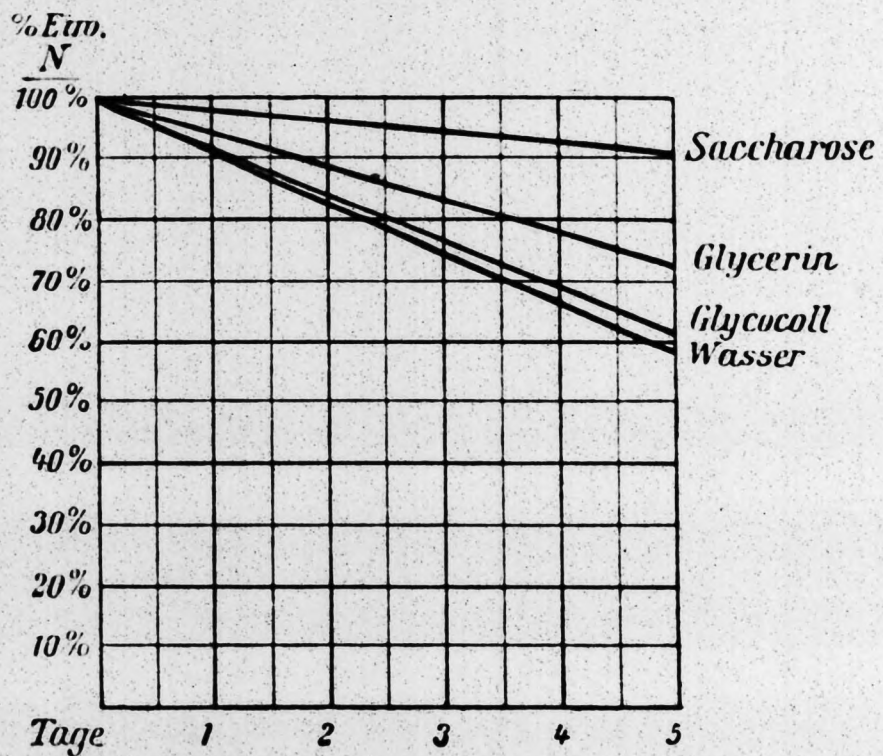


Fig. 3. — Arbeit der Endotryptase auf isotonische Lösungen von Saccharose, Glycerin und Glykokoll.

Versuch 6.

Einfluß der Zerfallprodukte auf die Selbstverdauung. Zum Zymon wurde eine solche Menge Wasser hinzugefügt, daß sich ein dicker Brei bildete. Der Versuch dauerte 5 Tage.

	Menge der Trockensubstanz	Eiweiß-N mg	In Prozent der Trockensubstanz	Durchschnitt	In Prozent der Kontrollportion
Kontrollportion	0.3873	0.0274846	7.09	7.15	100
	0.434	0.0313761	7.22		
	0.4321	0.03095	7.16		
Wasser	0.3967	0.0176735	4.45	4.03	57.7
	0.3815	0.0151853	3.98		
	0.4899	0.018128	3.7		
Brei	0.5374	0.0268597	4.99	5.32	74.7
	0.406	0.02169	5.34		
	0.4046	0.0227978	5.63		

Bei geringerer Wassermenge ist die Eiweißzersetzung viel schwächer. Die Anhäufung der Zerfallprodukte hemmt den weiteren Zerfallprozeß.

Versuch 7.

Einwirkung des CaCl_2 auf die Selbstverdauung. Dauer des Versuchs 5 Tage.

Substrat	Die Menge der Trocken- substanz	Eiweiß-N g	In Prozent der Trocken- substanz	Durch- schnitt	In Prozent der Kontroll- portion
Kontroll- portion	0,4638	0,0349137	7,61	7,45	100
	0,4732	0,033793	7,14		
Wasser	0,4013	0,0305746	7,61	3,74	50,2
	0,5595	0,0209482	3,74		
Saccharose 25%	0,5602	0,0355172	6,34	6,51	87,3
	0,4633	0,0313232	6,76		
Saccharose 25%	0,5325	0,0343677	6,45	5,28	70,8
	0,6092	0,031839	5,22		
+ CaCl_2 1%	0,4811	0,0251436	5,22	6,01	80,6
	0,5154	0,0278735	5,4		
Glukose 25%	0,4258	0,0256034	6,01	5,24	70,3
	0,54	0,0283907	5,25		
+ CaCl_2 1%	0,5292	0,0277585	5,25		

Calciumchlorid stimuliert die Wirkung der proteolytischen Enzyme. Die erhaltenen Resultate sind dargestellt in Fig. 4.

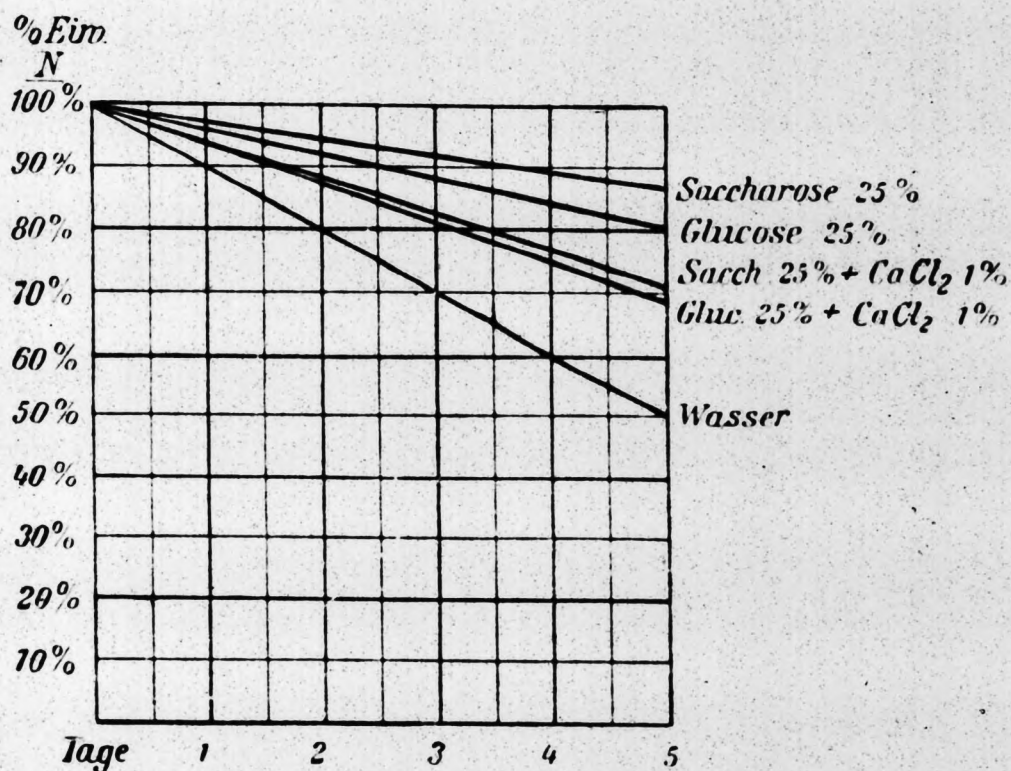


Fig. 4. — Stimulierende Wirkung des Calciumchlorids auf Endotryptase.

Versuch 8.

*Einwirkung von Kalisalpeter auf die proteolytischen Enzyme.
Der Versuch dauerte 5 Tage.*

Substrat	Menge der Trocken- substanz	Eiweiß-N g	In Prozent der Trocken- substanz	Durch- schnitt	In Prozent der Kontroll- portion
Kontroll- portion	0,4638	0,0349137	7,61	7,45	100
	0,4732	0,033793	7,14		
	0,4013	0,0305746	7,61		
Wasser	0,3572	0,0137068	3,83	3,7	49,6
	0,4	0,0156034	3,9		
	0,4083	0,0138218	3,38		
Glukose 30%	0,3416	0,0218965	6,41	6,26	84
	0,3582	0,0215517	6,01		
	0,3572	0,0227298	6,36		
Kalisalpeter 1%	0,3665	0,0065501	1,78	1,91	25,6
	0,3189	0,0069762	2,18		
	0,338	0,0060104	1,77		
Glukose 30% + Kali- salpeter 1%	0,346	0,0194176	5,62	5,46	73,2
	0,3898	0,0209883	5,38		
	0,4862	0,0262064	5,39		
Kalisalpeter 5%	0,5211	0,0051583	0,98	1,08	14,4
	0,4194	0,0046186	1,1		
	0,399	0,0046754	1,17		
Glukose 30% + Kali- salpeter 5%	0,3455	0,0145604	4,21	4,54	60,9
	0,4728	0,0226842	4,79		
	0,454	0,0209799	4,62		
Glukose 30% + Kali- salpeter 10%	0,4428	0,0201277	4,54	4,52	60,6
	0,4137	0,0186223	4,5		

In Übereinstimmung mit Versuchen von M. Hahn und Geret habe ich gefunden, daß der Kalisalpeter einen sehr begünstigenden Einfluß auf die Wirkung des proteolytischen Enzyms ausübt. Die erhaltenen Resultate sind dargestellt in Fig. 5.

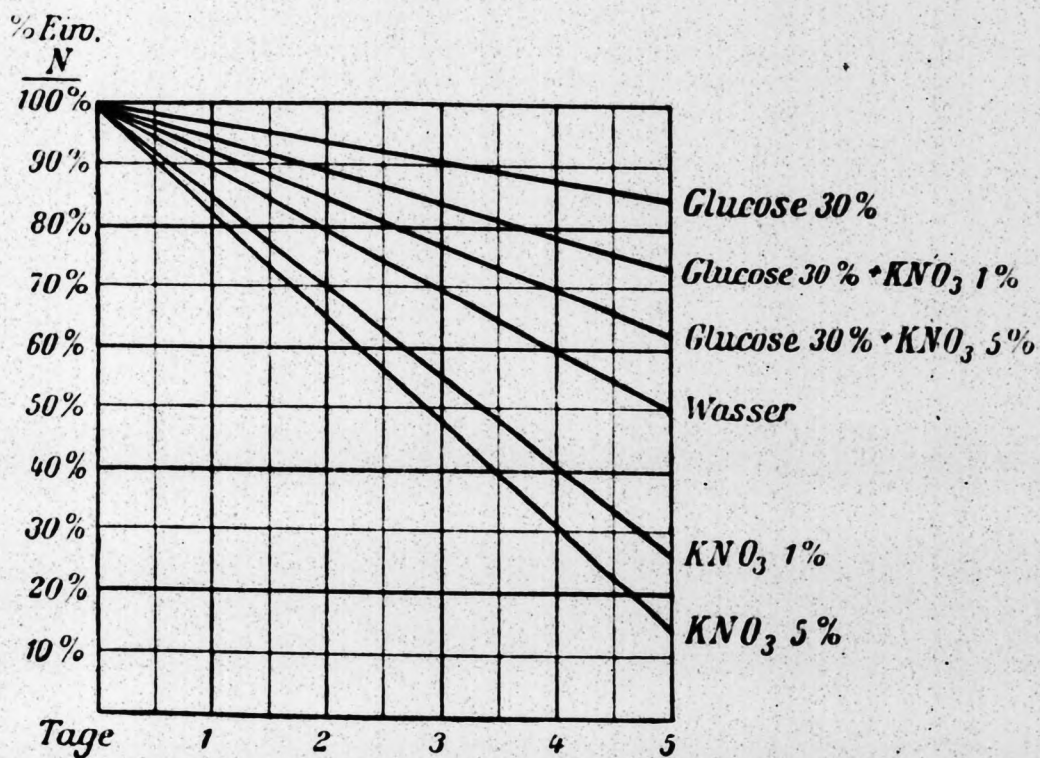


Fig. 5. — Stimulierende Wirkung des Kalisalpeters auf Endotryptase.

Versuch 9.

Einwirkung von Alkohol und salzsaurem Chinin auf die Selbstverdauung. Der Versuch dauerte 5 Tage.

Substrat	Die Menge der Trockensubstanz	Eiweiß-N g	In Prozent der Trockensubstanz	Durchschnitt	In Prozent der Kontrollportion
Kontrollportion	0,5404	0,0397125	7,34	8,06	100
	0,4082	0,035862	8,78		
Wasser ohne Toluol	0,4829	0,0179884	3,72	3,79	47
Wasser mit Toluol	0,4912	0,0190229	3,87		
Alkohol 10%	0,4974	0,0259125	5,21	6,31	64,6
Chinin $\frac{1}{2}$ ‰	0,4079	0,0266666	6,53		
	0,5044	0,030747	6,09		78,2

Alkohol und Chinin wirken stark hemmend auf die Arbeit des proteolytischen Enzyms. Die erhaltenen Resultate sind dargestellt in Fig. 6.

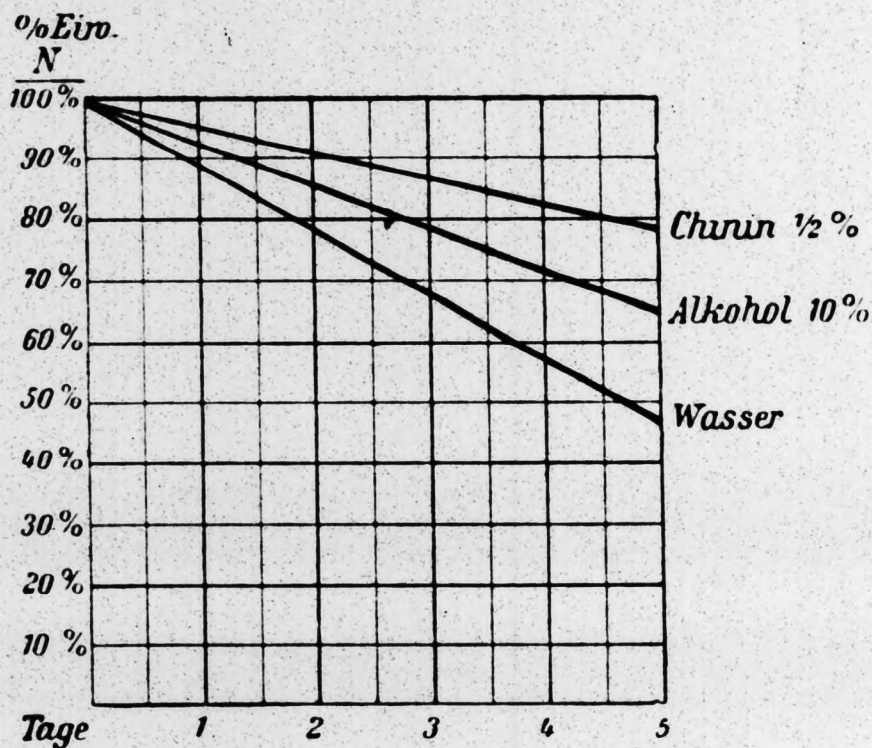


Fig. 6. — Hemmende Wirkung des Alkohols und Chinins auf die Endotryptase.

II. Die Arbeit der Zymase von O. Grigoriew.

Die Arbeit der Zymase ist schon eingehend von E. Buchner und seinen Mitarbeitern wie auch von andern Forschern untersucht worden. In meinen Versuchen wurde die Arbeit der Zymase aus der Menge der vom Zymin abgegebenen Kohlensäure bestimmt, welche ihrerseits mit Hilfe Pettenkoferscher Röhren bestimmt wurde. Ich nahm für jeden Versuch 20 ccm Nährsubstanz, welche dreimal im Kochschen Apparat sterilisiert wurden. Dann wurde in der Hansenschen Kammer eine genau abgewogene Menge Zymin, gewöhnlich bis 2 g (die Unterschiede überstiegen nicht 0,04 g), in einen 10 ccm sterilisierten Wassers enthaltenden Kolben übertragen und bis zur gleichmäßigen Verteilung in dem Wasser bewegt. Darauf wurde der Inhalt des Kolbens in einen Zylinder von 500 ccm Inhalt übertragen, welcher die vorher vorbereitete Lösung enthielt. Das Ganze wurde möglichst sorgfältig geschüttelt und dann eine Rollkultur gemacht, wie es von Prof. W. Palladin beschrieben ist.¹⁾ Die Lösung von 18% Gelatinenährsubstanz + Zymin mit Wasser verteilte sich regelmäßig an den Wänden des Zylinders und erstarrte allmählich. Die Zylinder wurden mit schwarzem Stoff bedeckt.

¹⁾ W. Palladin, Zentralblatt f. Bakteriologie, 2. Abt., 1903, S. 146.

Im Laufe von 1—1½ Stunden wurde ein von CO₂ befreiter Luftstrom durch den Zylinder geleitet und die bei der Gärung gebildete Kohlensäure durch Barytwasser aufgenommen.

Der Durchgang des Luftstroms, in einigen Versuchen des Wasserstroms, hörte während der ganzen Dauer des Versuchs nicht auf, obgleich die Bestimmung der Kohlensäure während der Nacht unterbrochen wurde.

A. Einfluß des Nährsubstrates.

Versuche mit Kohlehydraten und andern organischen Substanzen waren von E. Buchner und seinen Schülern vielfach mit Preßsaft, aber nur in geringem Umfange mit Zymin angestellt worden.

Außerdem wurden seine Bestimmungen der CO₂ mit Hilfe eines Kaliapparates gemacht, in welchem die Gesamtmenge der im Laufe des Versuches gebildeten Kohlensäure bestimmt wurde. Indem ich mich zur Bestimmung der ausgeschiedenen CO₂ der Pettenkoferschen Röhren bediente, gelang es mir, den ganzen Verlauf des Prozesses zu verfolgen.

Versuch 10.

Zwei Zylinder mit Saccharose und Glukose in ³/₄-Normallösungen. Zymin bis 2 g.

Datum	Dauer des Versuchs	CO ₂ in einer Stunde in mg		Temperatur
		Saccharose	Glukose	
4. XII. 03	1 Stunde	13.8	—	18—20°
	1 „	9.2	9.2	
	1 Std. 45 Min.	9.3	6.1	
5. XII. 03	15 „ 45 „	—	—	18—20°
	1 „ 40 „	6.0	6.5	
	1 „ 15 „	5.7	—	
	1 Stunde	—	—	
	1 „	5.2	3.3	
6. XII. 03	17 Stunden	—	—	18—20°
	3 „	2.8	2.0	
	2 Std. 15 Min.	2.6	1.8	
	20 Stunden	0.9	1	
	4 „	0	0	

Versuch 11.

*Drei Rollkulturen: Saccharose 25% + 2,088 g Zymin;
Raffinose 14% + 1,998 g Zymin; Wasser + 1,994 g Zymin.*

Datum	Dauer des Versuchs	CO ₂ in einer Stunde in mg			Tem- peratur
		Saccharose	Raffinose	Wasser	
24. V. 04	1 Stunde	6.0	6.0	4.8	18—20°
	50 Minuten	—	—	—	
	1½ Stunde	5.9	5.7	2.8	
	3 Stunden	—	—		
	16 Std. 40 Min.	—	—	—	
25. V. 04	2 Stunden	4.0	4.0	2.2	18—20°
	2 „	5.2	5.4		
	19¼ „	—	—	—	
26. V. 04	2½ „	2.5	1.8	1.0	18—20°
	1 Stunde	3.8	2.1		
	18½ Stunden	—	—	—	
27. V. 04	1 Stunde	0	0	0	18°

Versuch 12.

*Drei Rollkulturen: mit Wasser, Saccharose ¾-Norm. und
und Mannit ¾-Norm. Durch alle Zylinder wurde ein Luft-
strom hindurchgeleitet. Zymin bis 2 g.*

Datum	Dauer des Versuchs	CO ₂ in einer Stunde in mg			Tem- peratur
		Wasser	Mannit	Saccharose	
18. X. 03	2 Std. 15 Min.	7.2	7.9	11.1	18—20°
	2 Stunden	5.6	6.4	10.1	
	20 „	—	—	—	
19. X. 03	3 „	1.7	1.9	9.0	18—20°
	2 „	0	0	4.0	

Versuch 13.

Vergleich der Wirksamkeit der Zymase mit Wasser und mit $\frac{3}{4}$ -Norm.-Lactoselösung. Zymin 2,107 g und 2,136 g.

Datum	Dauer des Versuchs	CO ₂ in einer Stunde in mg		Tem- peratur
		Laktase	Wasser	
7. XI. 03	6 Stunden	3.7	3.7	16—19°
8. XI. 03	22 »	1.7	1.4	16—19°
9. XI. 03	20 »	0	0	16—19°

Aus allen beschriebenen Versuchen folgt, daß das Zymin in Rollkulturen verschiedene Mengen Kohlensäure ausscheidet, je nach dem Nährsubstrat. Auf gärungsfähigen Substanzen wird viel mehr Kohlensäure ausgeschieden, als auf Substanzen, welche keiner Gärung unterliegen oder bei Selbstgärung. Auf gärungsunfähigen Substanzen (Mannit, Lactose) und bei Selbstgärung werden gleiche Mengen von Kohlensäure ausgeschieden. Folglich geht in beiden Fällen nur Selbstgärung auf Kosten des im Zymin befindlichen Glykogens vor sich.

Versuch 14.

2 Zylinder. Beide mit 20 cem $\frac{1}{2}$ -Norm.-Saccharoselösung und einer gewissen Menge Zymin (über 2 g nach Augenmaß abgemessen genommen).

Als die Gärung am fünften Tage aufgehört hatte, wurde zur Aufklärung der Ursache dieses Stillstandes zu dem Inhalt des einen Zylinders A wieder eine gewisse Menge Zymin hinzugesetzt, worauf ein plötzliches Steigen der CO₂-Ausscheidung erfolgte: zu dem Inhalt des andern Zylinders B 20 cem $\frac{1}{2}$ -Norm.-Saccharoselösung. Nachdem konstatiert worden war, daß das Hinzufügen von Zucker keine Ausscheidung von CO₂ hervorgerufen hatte, wurde zu demselben Zylinder B wieder Zymin hinzugeführt. Es erfolgte ein fast eben solches Aufbrausen wie in dem Zylinder A. Die Tatsache dieser plötzlichen CO₂-

Ausscheidung ruft den Gedanken hervor, ob nicht die Anhäufung der Gärungsprodukte einen fördernden Einfluß auf die Zymase habe oder der Konzentrationsveränderung der Zuckerrösung eine gewisse Bedeutung zuzuschreiben ist, da im Zylinder B das Verhältnis der nach Hinzufügen von Zucker und darauf Zymin ausgeschiedenen CO_2 in der anfänglichen CO_2 -Menge sich etwas von dem beim Zylinder A beobachteten Verhältnis unterscheidet.

Da jedoch die unten beschriebenen Versuche die Annahme von dem Einflusse der Konzentration nicht bestätigt haben, so muß man dieselbe fallen lassen und es bleibt nur die Annahme von dem Einfluß der Anhäufung der Gärungsprodukte bestehen, umsomehr, als Versuche mit verschiedenen Zyminmengen diese Annahme bestätigt haben.

Tage	Dauer des Versuchs	CO ₂ in 1 Stunde in mg		Temperatur
		Zylinder A	Zylinder B	
Am 1. Tage	1 Stunde	22,4	17,0	18—20°
	2 Stunden	—	17,0	
	1 Stunde	17,2	13,6	
	20 Stunden	—	—	
Am 2. Tage	1 Stunde	12,26	10,7	18—20°
	2 Stunden	—	—	
	1 Stunde	11,7	6,9	
Am 3. Tage	—	—	—	
Am 4. Tage	20 Stunden	0,5	0,5	
	2	0	0	
Am 1. Tage	1 Stunde	Zymin 31,4	Saccharose 0	
	2 Stunden	—	0	
	1 Stunde	36,0	0	
Am 2. Tage	20 Stunden	—	Zymin 30	
	1 Stunde	20,0	30	
	1	—	31	
	—	—	—	
	—	—	18	
		—	13,2	

Versuch 15.

Zwei Zylinder: Zylinder A mit Saccharose + 2 g Zymin; Zylinder B mit Saccharose + 1 g Zymin. Als in beiden Zylindern keine CO₂-Ausscheidung mehr zu merken war, so wurde in Zylinder A wieder 2 g Zymin und in Zylinder B 1 g Zymin hinzugesetzt, worauf in beiden Zylindern starke CO₂-Ausscheidung erfolgte.

Datum	Dauer des Versuchs	CO ₂ in 1 Stunde in mg		Temperatur
		A. Saccharose 2.1672 g Zymin	B. Saccharose 1.1872 g Zymin	
21. III. 04	1/2 Stunde	14.8	3.5	21°
	1 Stunde	—		
	1 „	13.6		
	19 Stunden	—		
22. III. 04	1 Stunde	13.6	2.1	22°
	1/2 Stunde	—		
	1 Stunde	8.4		
	1 „	—		
	1 „	8.4		
	20 Stunden	—		
23. III. 04	2 Stunden	5.0	1.7	20°
	2 „	5.8		
	1 1/2 Stunde	5.4		
24. III. 04	17 1/2 Stunden	—	0 12 (Zymin)	18°
	2 Stunden	3.6		
	3 „	2.4		
25. III. 04	20 1/2 Stunden	—	12 5.2 4.6	15°
	1 1/2 „	0		
	1 Stunde	20.0 Zymin		
	1 „	20.0		
	1 „	18.4		

Versuch 16.

*Einfluß von verschiedenen Mengen des Zymins auf die Gärung.
Zwei Rollkulturen mit Saccharoselösung: Zymin 2,008 g und 1,004.*

Datum	Dauer des Versuchs	CO ₂ in 1 Stunde in mg		Temperatur
		Saccharose + 2 g Zymin	Saccharose + 1 g Zymin	
24. V. 04	1 Stunde	6.0	2.3	18°
	50 Minuten	—		
	1 1/2 Stunden	5.9		
	3 Stunden	5.9		
25. V. 04	16 Std. 40 Min.	—	1.3	
	2 Stunden	4.0		
	2	5.2		
26. V. 04	19 1/4 Stunden	—	0.8	
	2 Std. 30 Min.	2.5		
	1 Stunde	3.8		
27. V. 04	18 1/2 Stunden	—	0	
	1 Stunde	0		

Aus diesen Versuchen folgt, daß nach dem Hinzufügen von neuem Zymin in der anfänglich genommenen Menge zum Nährsubstrat mit gärungsunfähigem Zymin von neuem CO₂-Ausscheidung in bedeutend größerer Menge erfolgt. Also die Gärungsprodukte wirken stimulierend auf die Arbeit des von neuem zugefügten Zymins. Infolge dieser stimulierenden Wirkung der Gärungsprodukte verhalten sich die von 1 und 2 g Zymin ausgeschiedenen CO₂-Mengen zu einander nicht wie 1 : 2, sondern ungefähr wie 1 : 3.

B. Wirkung des Sauerstoffs.

Versuch 17.

Vergleich der Arbeit des Zymins auf 3/4 Norm.-Saccharoselösung in Luft und in einem sauerstofffreien Räume (Wasserstoff). Zymin 1,839 und 1,8334 g. Durch einen Zylinder wurde ein Luftstrom, durch den andern ein Wasserstoffstrom hindurchgeleitet.

Datum	Dauer des Versuchs	CO ₂ in mg in 1 Stunde Saccharose		Temperatur
		Luft	Wasserstoff	
23. X. 03	2 Stunden	10.4	8.3	16—20°
	2 „	9.8	9.0	20°
	3 „	9.0	8.2	18—20°
	14 „	—	—	—
24. X. 03	2 „	7.4	8.2	16—20°
	3 „	6.0	6.1	20°
	18 „	—	—	—
25. X. 03	4 „	5.0	6.9	16—22°
	3 „	4.5	6.0	—
	4 „	2.6	4.65	16—20°
26. X. 03	14 „	1.7	1.3	—
	1 Stunde	0	0	—

Die Bestimmungen der Kohlensäure wurden jedesmal gegen 4 Uhr nachmittags ausgeführt und zwar in beiden Zylindern gleichzeitig. Der Sauerstoff zeigte keine besondere Wirkung. Es ist nicht ausgeschlossen, daß Oxydationsprozesse aufgetreten sind, doch sind diese jedenfalls so gering, daß es unmöglich war, sie mit unserem Apparate nachzuweisen. Die erhaltenen Resultate sind dargestellt in Fig. 7.

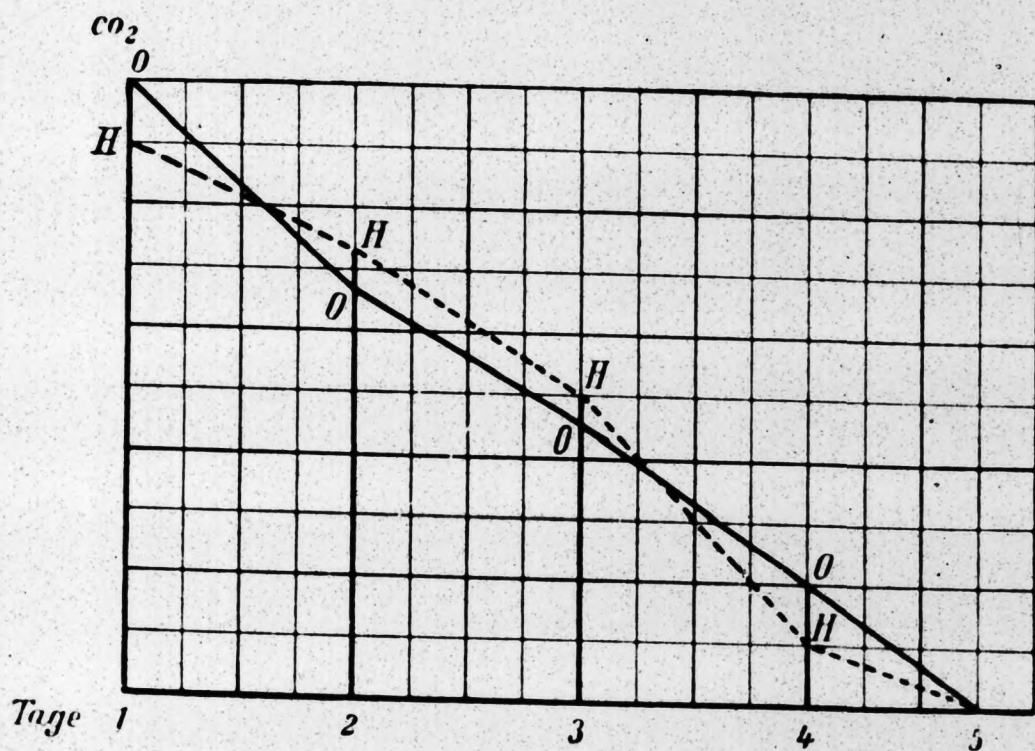


Fig. 7. — Die von Zymen in Saccharoselösungen ausgeschiedene Kohlensäure im Luft- (O) und Wasserstoffströme (H).

Versuch 18.

Vergleich der Wirkung der Zymase auf $\frac{3}{4}$ -Norm.-Mannitlösung in der Luft und im Wasserstoffe. Zymen 1,8122 g und 1,7912 g.

Datum	Dauer des Versuchs	CO ₂ in mg in einer Stunde Mannit		Temperatur
		Luft	Wasserstoff	
28. X. 03	2 Stunden	6.1	6.1	16—22°
	3 „	4.9	4.73	
	4 „	4.5	4.5	
	13 „	—	—	
29. X. 03	4 „	4.5	5.6	16—22°
	3 „	3.6	5.4	
	18 „	1.5	1.7	
30. X. 03	1 Stunde	0	0	

Dieselben Resultate wie in dem vorhergehenden Versuche.

Versuch 19.

Die Wirkung der Zymase auf $\frac{3}{4}$ -Norm.-Lactoselösung in der Luft und im Wasserstoffe. Zymen 2,107 und 2,165 g.

Datum	Dauer des Versuchs	CO ₂ in mg in einer Stunde Lactase		Temperatur
		Luft	Wasserstoff	
7. XI. 03	6 Stunden	3.7	3.7	16—19°
	—	1.7	—	
	22 Stunden	1.7	1.6	
8. XI. 03	4 „	0	0	

Kein Unterschied.

Versuch 20.

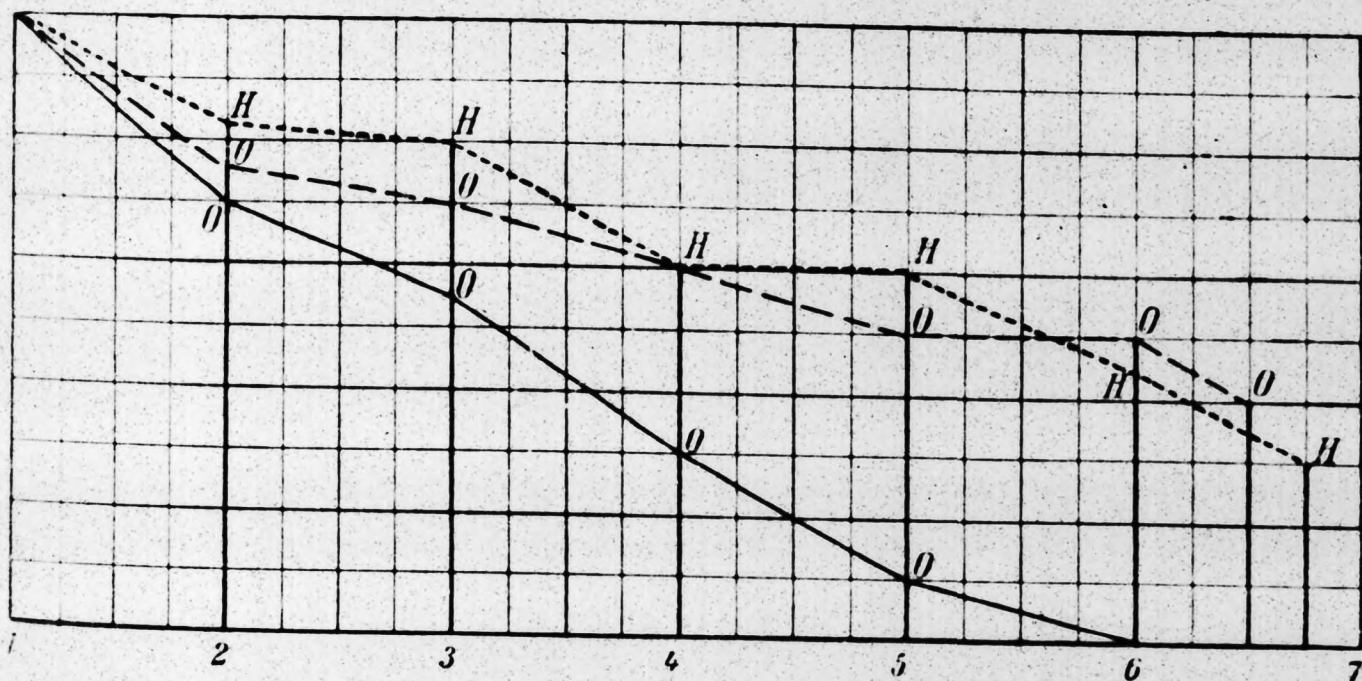
Selbstgärung des Zymins in der Luft und im Wasserstoff.
Zymin 1,983 g und 1,984 g.

Datum	Dauer des Versuchs	CO ₂ in mg in einer Stunde Selbstgärung		Temperatur
		Luft	Wasserstoff	
21. X. 03	2 Stunden	5.5	5.7	18—22°
	2 »	5.6	5.2	
	2 »	6.4	4.67	
22. X. 03	18 »	—	—	18—22°
	5 »	3.1	3.1	
	19 »	2.2	2.2	
23. X. 03	1 Stunde	0	0	

Kein Unterschied.

C. Einfluß giftiger Substanzen.

Der Einfluß giftiger Substanzen auf die Enzyme war der Gegenstand vielfacher Untersuchungen. Dieser Einfluß wurde schon von E. Buchner beobachtet und studiert. Meine Aufgabe bestand darin, diese Untersuchungen zu ergänzen.



Die von Zymin in Saccharoselösungen mit und ohne Chinin ausgeschiedene Kohlensäure im Luft-(O) und im Wasserstoffströme. Die beiden oberen Kurven mit Chinin, die untere Kurve ohne Chinin

Versuch 21.

Einwirkung von salzsaurem Chinin auf die Arbeit der Zymase. Drei Zylinder mit 25% Saccharose. Der erste ohne, die zwei anderen mit 0,33% Chinin. Es wurde durch die ersten zwei Zylinder Luft, durch den dritten Wasserstoff geleitet.

Datum	Dauer des Versuchs	CO ₂ in einer Stunde in mg			Temperatur
		Luft		Wasserstoff	
		ohne Chinin	Chinin 0,33%	Chinin 0,33%	
13. XI. 03	3 Stunden	10.4	10.5	10.5	19° C.
	3 „	10.5	10.6	10.1	20°
	3 „	10.6	8.1	10.4	19°
	12 „	—	—	—	
14. XI. 03	3 „	7.0	7.6	8.4	19—20°
	3 „	9.0	9.3	8.6	
	3 „	8.7	7.7	—	
	3 „	6.8	9.6	9.2	
	15 „	—	—	—	
15. XI. 03	3 „	5.6	7.0	8.0	19—20°
	3 „	4.2	8.4	8.1	
	2 „ 40 Min.	4.9	8.72	7.2	
	15 „	—	—	—	
16. XI. 03	3 „	2.8	6.1	—	18—20°
	5 „	2.6	7.68	6.1	
	13 „	—	—	—	
17. XI. 03	11 „ u. 3 Std.	1.1	5.3	6.0	18—20°
	5 „	0.0	6.0	—	
	2 „ 45 Min.	—	6.0	8.0	
	13 „	—	—	—	
18. XI. 03	4 „	—	5.2	4.8	18—20°
	3 „	—	6.2	5.1	
	17 „	—	—	—	
19. XI. 03	3 „	—	4.2	4.4	18—20°
	4 „	—	4.2	—	
	2 „	—	4.2	4.4	

Die erhaltenen Resultate sind dargestellt in Fig. 8.

Versuch 22.

Einwirkung von salzsaurem Chinin. Zwei Zylinder mit Saccharoselösung. In einem derselben wurde salzsaures Chinin in

1° iger Lösung zugesetzt. Es wurde durch die beiden Zylinder ein Luftstrom geleitet.

Datum	Dauer des Versuchs	CO ₂ in einer Stunde in mg		Temperatur
		Saccharose ohne Chinin	Saccharose mit Chinin	
22. XI. 03	2 Stunden	10.4	9.6	19—20° C.
	2 »	10.4	9.6	
	2 »	9.6	8.8	
	14 »	—	—	
23. XI. 03	3 »	6.4	6.4	20°
	3 »	6.8	6.8	
	3 »	7.1	7.7	18°
	13 ¹ / ₄ »	—	—	
24. XI. 03	3 »	5.8	6.5	18—20°
	4 »	5.5	7.5	
	3 ¹ / ₂ »	4.9	6.9	
	15 » 35 Min.	—	—	
25. XI. 03	14 »	2.3	4.9	20°
	4 »	2.1	4.9	
	14 »	2.1	4.9	
26. XI. 03	20 » u. 5 Std.	1.3	3.4	19—20°
	3 » 45 Min.	—	4.0	
27. XI. 03	14 »	—	—	
	5 »	—	3.8	

Die erhaltenen Resultate sind abgebildet in Fig. 9.

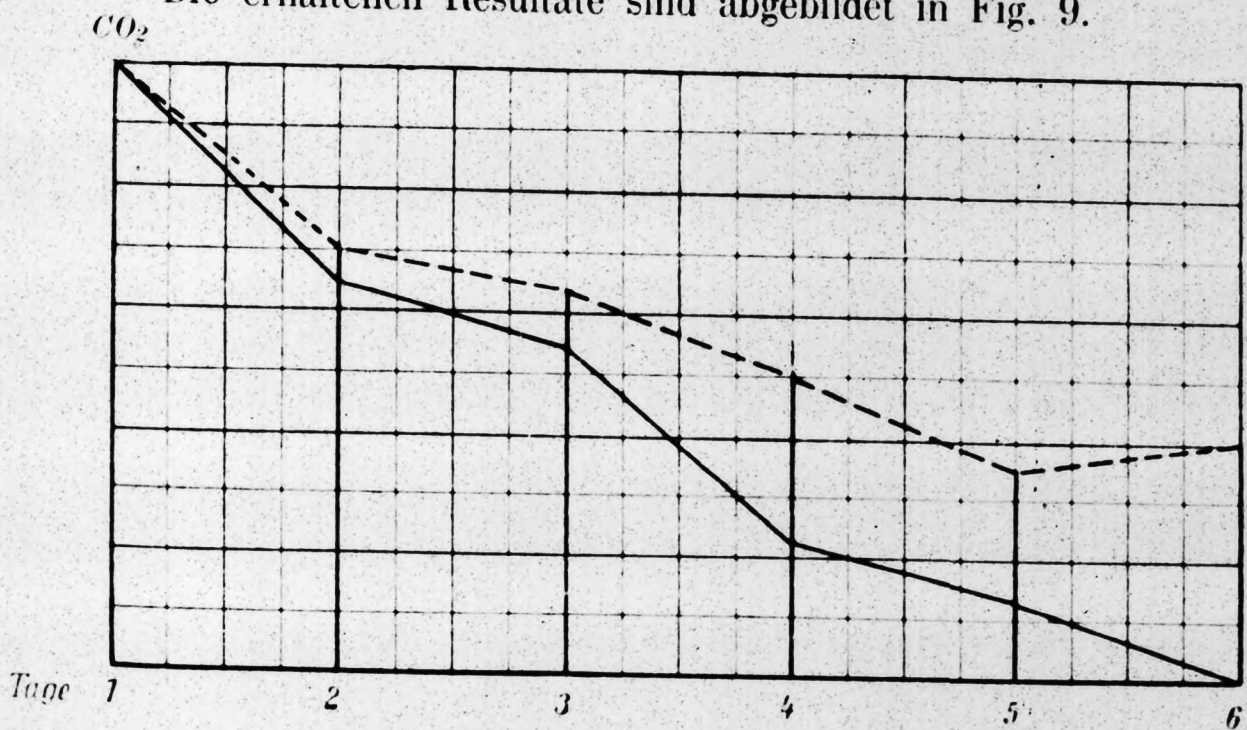


Fig. 9. — Einwirkung von Chinin auf die Kohlensäureausscheidung des Zymins. Die obere Kurve mit Chinin, die untere ohne Chinin.

Versuch 23.

Einwirkung von salzsaurem Chinin.

Datum	Dauer des Versuchs	CO ₂ in einer Stunde in mg		Temperatur
		Saccharose ohne Chinin	Saccharose mit Chinin 2%	
29. XI. 03	1 Stunde	10,8	6,8	18° C.
	1 » 10 Min.	10,4	7,2	20°
	1 »	—	—	
	1 ³ / ₄ Stunden	9,5	6,6	16°
30. XI. 03	17 » 55 Min.	—	—	
	3 ¹ / ₄ »	7,2	3,4	16—20°
	2 »	8,0	4,4	
	1 ¹ / ₃ »	5,7	3,5	
1. XII. 03	13 » 50 Min.	—	—	
	4 »	3,4	3,4	16—20°
	2 » 35 Min.	5,7	} 3,5	
	1 ¹ / ₂ »	1,7		
2. XII. 03	19 »	—	—	
	6 »	1,4	1,7	16—20°
	5 »	0	1,6	
3. XII. 03	12 »	0	—	
	4 »	0	1,3	

Alle mit Chinin ausgeführten Versuche ergeben vollkommen übereinstimmende Resultate hinsichtlich der eigenartigen Wirkung dieser Substanz auf die Zymase.

Während der ersten Stunden zeigen unbedeutende Mengen Chinin (ca. 0,5%) keine Wirkung auf die Tätigkeit der Zymase. Größere Mengen (ca. 1—2%) üben einen schädlichen Einfluß aus. Eine stimulierende Wirkung übt Chinin auf Zymase nicht aus. Am zweiten und noch deutlicher am dritten Tage beginnt aber die Zymase in Gegenwart von Chinin kräftiger zu arbeiten, als ohne dasselbe. Dieses geschieht sowohl an der Luft, als auch in einer Wasserstoffatmosphäre. Endlich stellt die Zymase in den Kontrollversuchen ohne Chinin ihre Arbeit ein, während sie dieselbe in Anwesenheit von Chinin noch 2 Tage lang fortsetzt.

Folglich verlängert Chinin die Lebensdauer der Zymase, ohne jedoch eine stimulierende Wirkung auf sie auszuüben. Diese sonderbare Tatsache findet ihre Erklärung in den im ersten Kapitel beschriebenen Versuchen von Frl. Gromow, welche zeigen, wie stark Chinin die Arbeit der proteolytischen Enzyme schwächt. Schon Buchner hat darauf hingewiesen, daß Zymase durch proteolytische Enzyme zerstört wird.

Während wir also durch die Zuführung von Chinin die Arbeit der Zymase hemmen, gewähren wir derselben doch eine Unterstützung im Kampf ums Dasein und ermöglichen für ihre Tätigkeit eine bedeutend längere Dauer.

Versuch 24.

Einfluß des Alkohols. Zwei Zylinder mit 25% Saccharose-lösung, mit und ohne 5% Alkohol. Durch beide Zylinder wurde ein Luftstrom durchgeleitet.

Datum	Dauer des Versuchs	CO ₂ in einer Stunde in mg		Tem- peratur
		Saccharose ohne	Saccharose mit 5% C ₂ H ₅ OH	
29. XI. 03	1 Stunde	10.8	12.8	18—20°
	1 Std. 10 Min.	10.4	12.8	
	1 Stunde	—	—	16°
	1 ³ / ₄ »	9.5	12.8	
	17 Std. 35 Min.	—	—	
30. XI. 03	3 » 15 »	7.2	7.5	16°
	2 Stunden	8.0	7.4	
	1 ³ / ₄ »	5.7	7.7	
	13 Std. 50 Min.	—	—	
1. XII. 03	4 Stunden	3.4	5.2	16°

Gleich dem Chinin hat auch der Alkohol der Zymase ihre Arbeit erleichtert, indem er diejenige der Endotryptase gehemmt hat.

Versuch 25.

Einfluß von KOH 1^o/_o.

Datum	Dauer des Versuchs	CO ₂ in einer Stunde in mg		Tem- peratur
		Saccharose ohne KOH	Saccharose mit KOH 1 ^o / _o	
24. I. 04	2 Stunden	10.0	14.9	21 ^o
	2 Std. 50 Min.	8.5	10.9	
	16 Stunden	—	10.9	
25. I. 04	3 »	4.7	3.2	19 ^o
	3 »	4.0	3.7	
	3 »	4.0	3.7	

Versuch 26.

Einfluß von Kalisalpeter 3,3^o/_o. Zwei Rollkulturen mit 25^o/_o Saccharoselösung. Eine mit, die andere ohne KNO₃ 3,3^o/_o.

Datum	Dauer des Versuchs	CO ₂ in einer Stunde in mg		Tem- peratur
		Saccharose ohne KNO ₃	Saccharose mit KNO ₃	
21. I. 04	2 Stunden	6.5	3.2	19 ^o
	2 »	—	—	
	2 »	7.6	3.7	
	19 »	—	—	
22. I. 04	2 »	5.4	0	19—20 ^o
	3 Std. 30 Min.	4.2	0	
	17 Stunden	—	0	
23. I. 04	4 »	2.5	0	
	4 Std. 15 Min.	3.2	0	
		usw.		

Versuch 27.

Einfluß von 10% Kalisalpeter.

Datum	Dauer des Versuchs	CO ₂ in einer Stunde in mg		Temperatur
		Saccharose ohne KNO ₃	Saccharose mit KNO ₃	
24. I. 04	2 Stunden	10.0	0	19°
	2 1/2 „	8.5	0	
	16 „	8.5	0	
25. I. 04	3 „	4.7	0	21°
	3 „	4.0	0	
	—	4.0	0	

Nach Buchner wird die Zymase durch Salpeter abgeschwächt. Diese Erscheinung erklärt sich nach den Versuchen von Gromow dadurch, daß Salpeter die Tätigkeit der proteolytischen Enzyme stark stimuliert, welche deshalb die Zymase schnell zerstört.

Versuch 28.

Einfluß von CaCl₂ 1%. Zwei Rollkulturen mit Saccharoselösung, von denen einer CaCl₂ 1% zugesetzt und zwei mit Glukose (mit und ohne CaCl₂ 1%).

Datum	Dauer des Versuchs	CO ₂ in 1 Stunde in mg				Temperatur
		Saccharose		Glucose		
		ohne CaCl ₂	mit CaCl ₂	ohne CaCl ₂	mit CaCl ₂	
4. XII. 03	1 Std.	13.8	1.5	—	1.4	18°
	1 „	9.2		9.2		
	1 3/4 Std.	9.3	0.9	6.1	1.6	
	15 3/4 „	—	—	—	—	
5. XII. 03	1 St. 40 M.	6.0	0.6	6.5	1.7	13—18°
	1 „ 15 „	5.7		—		
	1 Std.	5.2		3.3		
	1 „	5.2		3.3		
6. XII. 03	17 „	—	—	—	1.7	18°
	3 „	2.8	0	2.0	0.5	
	2 St. 15 M.	2.6	0	1.8	0	
7. XII. 03	20 Std.	—	0	—	0	
	4 „	0.9	—	1.0	0	
	1 „	0	—	0	0	

CaCl_2 1% schwächt stark die Gärung, ebensowohl die der Glukose- als auch die der Saccharoselösung, weil dies Salz, wie Gromow gezeigt hat, die Wirkung der Endotryptase steigert.

D. Einfluß der Konzentration der Lösungen.

Versuch 29.

Einfluß der Konzentration der Saccharoselösung. Vier Zylinder mit 5%, 15%, 25% und 35% Saccharoselösung.

Mittlere Menge CO_2 in 1 Stunde. (Drei Beobachtungen.)

Versuchstage	CO_2 in 1 Stunde in mg				Temperatur
	Saccharose 5%	Saccharose 15%	Saccharose 25%	Saccharose 35%	
Am 1.	6.9	6.5	6.2	6.6	17°
» 2.	5.2	5.4	4.4	4.6	16°
» 3.	4.2	4.3	3.8	4.3	18°
» 4.	2.0	1.2	2.0	1.3	18°
» 5.	0	0	0	0	

Versuch 30.

Einfluß von Konzentration der Saccharoselösung 25% und 40%. Zymin: 1,974 g und 1,969 g.

Datum	Dauer des Versuchs	CO_2 in 1 Stunde in mg		Temperatur
		Saccharose 25%	Saccharose 40%	
19. V. 04	2 Stunden	6.4	6.4	20°
	1 Stunde	8.0	8.0	
20. V. 04	1 »	6.4	6.4	18°
	17 Stunden	—	—	
20. V. 04	3 »	4.0	3.4	18°
	2 »	5.6	3.4	
	18 »	—	—	
21. V. 04	2 Std. 45 Min.	3.2	3.2	18°
	2 ¹ / ₄ Stunden	3.1	3.0	
22. V. 04	21 Stunden	—	—	18—20°
	2 »	0	0	

Also die Konzentration der Saccharoselösung übt keinen merklichen Einfluß auf die Menge der vom Zymin entwickelten Kohlensäure aus.

Schlußfolgerungen.

1. Das Zymin enthält ein stark wirkendes proteolytisches Enzym. (Endotryptase E. Buchners.) (Versuch 1.)
2. Die Arbeit der Endotryptase wird stark gehemmt durch Saccharose, Glukose, Lactose, Mannit und Glyzerin. (Versuch 2 und 3.)
3. Je konzentrierter die Saccharoselösung, desto stärker ist ihre hemmende Wirkung auf die Arbeit der Endotryptase. (Versuch 4.)
4. Die hemmende Wirkung der angeführten Nährsubstanzen hängt aller Wahrscheinlichkeit nach zusammen mit der Begünstigung der Eiweißsynthese. In den zur Eiweißsynthese untauglichen Glykokollösungen hingegen geht ein fast ebenso starker Zerfall vor sich, wie in Wasser. (Versuch 5.)
5. Die Zerfallprodukte hemmen den weiteren Zerfall der Eiweißstoffe. (Versuch 6.)
6. Salpeter und Chlorcalcium stimulierten die Arbeit der Endotryptase, sowohl in Gegenwart von Kohlehydraten wie auch in Abwesenheit derselben. (Versuch 7 und 8.)
7. Chinin und Alkohol wirken stark hemmend auf die Arbeit der Endotryptase. (Versuch 9.)
8. In Rollkulturen scheidet Zymin verschiedene Mengen Kohlensäure aus, je nach dem Nährsubstrat. Auf gärungsfähigen Substanzen wird viel mehr Kohlensäure ausgeschieden als auf Substanzen, welche keiner Gärung unterliegen, oder bei Selbstgärung. (Versuche 10 und 11.)
9. Mit gärungsunfähigen Substanzen (Mannit, Lactose) und bei Selbstgärung werden gleiche Kohlensäurequantitäten ausgeschieden. Folglich geht in beiden Fällen nur ein Selbstgärungsprozeß auf Kosten des im Zymin befindlichen Glykogens vor sich. (Versuche 12 und 13.)

10. Die Menge der vom Zymin entwickelten Kohlensäure nimmt allmählich ab und wird endlich gleich 0.

11. Das Aufhören der CO_2 -Ausscheidung hängt nicht von der Erschöpfung des Nährsubstrates, sondern von dem Verbrauch des Zyminvorrats ab, da das Hinzufügen neuer Zuckermengen keine Gärung hervorruft, während nach Zusatz neuer Zyminnengen wieder CO_2 -Bildung erfolgt. (Versuch 14.)

12. Nach Zusatz von neuem Zymin in den anfänglich genommenen Mengen zu dem Nährsubstrat mit gärungsunfähigem Zymin erfolgt von neuem CO_2 -Ausscheidung, aber in viel größerer Quantität, obgleich die Zymin-Mengen in beiden Fällen gleich waren. Folglich wird die Arbeit der neuen Zyminnenge durch die Anwesenheit der Gärungsprodukte der ersten Zyminquantität gefördert. (Versuche 14 und 15.)

13. Die von 1 und 2 g Zymin ausgeschiedenen CO_2 -Mengen verhalten sich zu einander nicht wie 1 : 2, sondern ungefähr wie 1 : 3. Diese Tatsache findet ihre Erklärung in der in § 12 erläuterten stimulierenden Wirkung der Gärungsprodukte der Zymase. (Versuche 15 und 16.)

14. In der Luft und in sauerstofffreier Atmosphäre scheidet Zymin auf verschiedenen Nährsubstraten ungefähr gleiche CO_2 -Mengen aus. (Versuche 17, 18, 19 und 20.)

15. Die Konzentration der Saccharoselösung übt keinen merklichen Einfluß aus auf die Menge der vom Zymin ausgeschiedenen Kohlensäure. (Versuche 29 und 30.)

16. In Gegenwart von Chinin oder Alkohol ist die Gesamtmenge der ausgeschiedenen CO_2 bedeutend größer, als in den Kontrollversuchen ohne Chinin oder Alkohol. Diese Erscheinung wird nicht durch Förderung der Zymase durch Chinin bedingt, sondern findet ihre Erklärung in der Verlängerung der Arbeitsdauer der Zymase. Chinin hemmt die Arbeit der proteolytischen Enzyme und ihre zerstörende Wirkung auf die Zymase. (Versuche 21, 22, 23 und 24.)

17. In Gegenwart von Kalisalpeter oder von Chlorcalcium scheidet Zymin bedeutend weniger CO_2 aus als in Abwesenheit dieser Salze, weil die sogenannten Substanzen die Arbeit der

proteolytischen Enzyme stimulieren, was zur raschen Zerstörung der Zymase führt. (Versuche 26, 27 und 28.)

18. Die Wirkungen giftiger Substanzen und verschiedener Salze auf die Zymase und die Endotryptase sind einander entgegengesetzt. Substanzen, welche die Arbeit der Endotryptase hemmen, vergrößern gleichzeitig die Arbeitsfähigkeit der Zymase. Diejenigen Substanzen dagegen, welche die Arbeit der Endotryptase beschleunigen, wirken schädlich auf die Tätigkeit der Zymase.