

Fermentreaktionen im Preßsaft fettreicher Keimlinge.

Von

Astrid und Hans Euler.

(Aus dem chemischen Laboratorium der Hochschule in Stockholm.)

(Der Redaktion zugegangen am 6. März 1907.)

Es ist eine noch gänzlich ungelöste Frage, wie sich die Umwandlung von Fett in Kohlehydrate bei der Keimung fettreicher Samen vollzieht. Fett, welches bekanntlich ein äußerst häufiger Reservestoff in Pflanzensamen ist, verschwindet während der Keimung wieder vollständig. Das nähere Schicksal des Fettes beim Verbrauch ist aber keineswegs bekannt. Zwar ist die Vermutung allgemein, daß die intensive Atmung während der Keimung auf Kosten des Fettes geschieht, eine Annahme, welche dadurch gestützt wird, daß beim Keimen von Fettsamen der respiratorische Quotient $\text{CO}_2 : \text{O}_2$ kleiner als 1 ist, daß also hier der Sauerstoffbedarf relativ größer ist, als bei kohlehydratführenden Samen. Andererseits geht nur ein Teil des Fettes bei der Atmung verloren, und wir haben keine Anhaltspunkte, um zu beurteilen, durch welche Zwischenstadien die angenommene Kohlensäureabspaltung aus Fett verläuft. Ein größerer Anteil des Reservefettes muß zu Kohlehydraten oxydiert werden, da es längst bekannt ist, daß teils reduzierende Kohlehydrate in den Keimlingen neu auftreten und sich stetig vermehren, teils Cellulose in den Wänden der sich streckenden und vermehrenden Zellen neugebildet wird. Eine weitere Frage ist, inwieweit die aus dem Fett stammenden, gelösten Kohlehydrate bei der Atmung verbraucht werden.

Schon aus älteren Analysen (Laskowsky,¹⁾ Detmer²⁾ ist ersichtlich, daß der ungefähr 10% betragende Glycerinanteil

¹⁾ Versuchsstat., Bd. XVII, S. 240 (1874).

²⁾ Phys.-chem. Untersuch. über die Keimung ölhaltiger Samen. Leipzig 1875. S. 40.

der Pflanzenfette zur tatsächlichen Kohlehydratbildung nicht ausreicht, daß es zur Erklärung der Zuckerbildung also nicht genügt, einen seit den Arbeiten Emil Fischers chemisch leicht verständlichen Übergang von Glycerin in Triosen, Hexosen und höhere Kondensationsprodukte anzunehmen. Auch die Fettsäuren müssen an der Synthese der Kohlehydrate beteiligt sein, vorausgesetzt, daß diese nicht auf Kosten der Reserveproteide erfolgt.¹⁾ Gegen letzteres spricht aber der große Fettverbrauch, welcher einer Erklärung bedarf. Es ist wohl hierbei nebensächlich, ob die Spaltung durch die den Fetten immer folgenden Lipasen eine vollständige oder teilweise ist.

Wir haben nun einige Versuche angestellt, um die chemischen Reaktionen im frischen Keimlingspreßsaft zu beobachten und dadurch, wenn möglich, dem Verständnis der oben erwähnten Oxydation Fettsäure \rightarrow Kohlehydrat näher zurückzukommen. Von früheren Versuchen dieser Art scheinen nur wenige vorzuliegen. Eine Untersuchung Mazés²⁾ hat gezeigt, daß eine Vermehrung von reduzierenden Kohlehydraten im Samenbrei von Ricinus stattfindet, in derselben Art wie im lebenden Keimling. Jedoch sagen diese Versuche nichts aus über den Mechanismus der Umwandlung von Fett in Zucker, da sogar die Herkunft der reduzierenden Kohlehydrate aus Fett nicht bewiesen wird. Es ist wohl auch ein Vorkommen unverletzter Zellen nicht ausgeschlossen. Wegen der Unsicherheit in letzterer Beziehung haben wir auch vorläufig darauf verzichtet, mit Zellenbrei zu arbeiten, und zu allen Versuchen nur völlig zellfreien Preßsaft verwendet. Wir werden uns jedoch künftig bestreben, eine homogene, sicher zellfreie Reibmasse herzustellen, weil sonst die bekanntlich schwer- oder unlösliche Lipase³⁾ beinahe vollständig im Preß-

¹⁾ Vgl. Maquenne, Compt. rend., Bd. CXXVII, S. 625 (1898), welcher dies speziell für ungesättigte Fettsäuren dargetan hat, während bei Samen mit gesättigten Fettsäuren (Arachis) die während der Keimung gebildeten Kohlehydrate den Glyceringehalt nicht überstiegen.

²⁾ Compt. rend., Bd. CXXX, S. 424 (1900), Bd. CXXXIV, S. 309 (1902). Mazé fand während 22 Stunden bei 53° eine Zunahme von 2,65% an reduzierenden Zuckern, auf das Gewicht der ruhenden Samen berechnet.

³⁾ Nicloux, Compt. rend. Soc. biol., Bd. LVI, S. 840.

rückstand bleibt und eine erhebliche Fettspaltung im Preßsaft also nicht stattfinden kann. Immerhin wurde eine merkbare, wenn auch geringe Lipasewirkung im Saft durch direkte Versuche mit Äthylbutyrat festgestellt, in Übereinstimmung mit dem Zuwachs freier Fettsäuren im Ätherextrakt bei den später zu erwähnenden, entscheidenden Versuchen.

Vom Preßsaft aus 16 tägigen Rapskeimlingen wurden 5 ccm mit 50 ccm einer wässrigen Äthylbutyratlösung vermischt und 10 ccm des Gemisches von Zeit zu Zeit mit 0.14 n-Barytlösung titriert. Der Preßrückstand aus 50 g Keimlingen wurde gleichfalls mit 50 ccm der Äthylbutyratlösung geschüttelt und die dekantierte Lösung in Portionen von 10 ccm titriert.

10 ccm verbrauchten:

Zeit in Minuten	Kubikzentimeter 0.14 n-Barytlösung	
	Preßsaft	Rückstand
0	0,23	0,22
10	0,24	0,29
20	0,26	0,36
40	0,28	0,49
60	0,29	0,55

Die Spaltung ist somit in Gegenwart des Rückstandes 4 bis 5 mal kräftiger als im Saft. Die ursprüngliche Acidität des Präparates (Zeit 0) ist zur kräftigen Spaltung hinreichend. Als diese Acidität durch Zusatz von Salzsäure verzehnfacht wurde, war die Lipasenwirkung aufgehoben, ein Ergebnis, das wir in Rücksicht auf die hohen Säurekonzentrationen anführen, welche Connstein, Hoyer und Wartenberg¹⁾ für optimale Lipasewirkung angegeben haben.

Versuchsordnung. Rapssamen (*Brassica Napus*) wurden nach 1 tägigem Quellen zum Keimen im Dunkeln teils bei Zimmertemperatur, teils bei 30° ausgelegt und von Zeit zu Zeit, zur Entfernung von Spaltpilzen, mit Wasser gespült. Die Keimlinge wurden mit dem doppelten Gewicht gewaschenen

¹⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XXXV, S. 3988 (1902).

Sandes und ein wenig Thymol verrieben, die Reibmasse dann durch Tuch gut ausgepreßt. Es wurde, je nach dem weniger oder mehr fortgeschrittenen Alter der Keimlinge, eine gelbliche, undurchsichtige Emulsion oder ein dünner, trüber Saft erhalten, welcher letzterer sich klar filtrieren ließ. Bei der mikroskopischen Prüfung waren keine Zellen oder Zellwände wahrzunehmen.

Mengen von 25 ccm wurden nun nach Zugabe von 0,1 g fein pulverisiertem Thymol im Thermostaten von 37° von einem feuchten, mäßigen Luftstrom durchzogen, welcher zuerst durch Kalilauge von Kohlensäure befreit worden war. Der Luftstrom wurde dann nach Trocknen mit Chlorcalcium durch einen Kaliapparat geleitet, um die aus dem Preßsaft stammende Kohlensäure darin zur Wägung zu bringen. Nach meist zwei Tagen wurde der Versuch abgebrochen und in dem Saft, je nach den Umständen, Zuckergehalt, Fett nebst Fettsäuren, oder der Gehalt an gerinnbaren Eiweißstoffen und an in der Hitze gelöst gebliebenen Stoffen analysiert. Jedesmal war vorher eine gleich große Menge des Saftes unmittelbar nach dem Auspressen oder zu Anfang des Versuches in genau derselben Weise zum Vergleich untersucht worden.

Zur Fett- und Fettsäurebestimmung wurde der Preßsaft mit Wasser auf 150 ccm verdünnt, 5—10 Minuten in kochendem Wasserbade bis zur vollständigen Gerinnung gehalten und filtriert, worauf sowohl Filtrat wie Koagulum mit Äther mehrmals extrahiert wurde. Das Öl fand sich beinahe vollständig im letzteren. Nach dem Trocknen und Abdestillieren des Äthers wurde das Rohfett gewogen und mit 0,1 n-Baryt titriert. Eine genaue Fettbestimmung wurde in dieser Weise nicht erzielt, weil ein Teil des Thymols (nach besonderen Kontrollversuchen etwa 0,03 - 0,05 g) immer dem Fett beigemischt blieb, und eine Destillation mit Dampf wegen ihrer fettspaltenden Wirkung nicht zweckmäßig war. Das Rohfett wurde nicht weiter gereinigt.

Wegen des sehr geringen Lipasegehaltes im Saft (vgl. oben S. 246) war hier von vornherein nur ein unbedeutender Fettumsatz zu erwarten, die Verminderung der Fettmenge war in der Tat so gering, daß sie wegen des oben angegebenen,

schwankenden Thymolgehaltes nicht klar hervortrat: jedenfalls war auf eine Abnahme schon daraus zu schließen, daß der Gehalt an freien Fettsäuren während des Versuchs zunahm. Es wurde besonders geprüft, daß Gegenwart von Thymol das Resultat der Titration nicht im geringsten beeinflusste.

Die Größe der Fetthydrolyse geht aus folgender Tabelle hervor. 25 cem Preßsaft von Rapskeimlingen enthielten vor und nach zweitägigem Durchleiten von Luft bei 37°:

	Fettes Öl		Freie Fettsäuren als g-Äqu. Ölsäure		%o-Verhältnis von g-Äqu. g-Mol. Ölsäure : Triolein	
	mg	g-Mol. Triolein	vor dem Versuch	nach dem Versuch	vor dem Versuch	nach dem Versuch
Keimlinge 3 Tage alt nicht grün	2.06	23×10^{-4}	0.6×10^{-4}	3.6×10^{-4}	2,6	16
Keimlinge 10 Tage alt nicht grün	0.285	3×10^{-4}	0.5×10^{-4}	1.0×10^{-4}	17	33
Keimlinge 10 Tage alt grün	0.174	1.5×10^{-4}	1.4×10^{-4}	2.4×10^{-4}	93	160

In Übereinstimmung mit früheren Befunden sind bei älteren Keimlingen im frischen Saft, also auch in den lebenden Zellen relativ mehr freie Fettsäuren vorhanden, als bei jüngeren.

Die proteolytischen Vorgänge im Saft wurden folgendermaßen ermittelt. Nach der vollständigen Gerinnung des wie oben verdünnten Saftes wurde das Gerinnsel abfiltriert, mit Wasser, Alkohol und Äther gewaschen, bei 100° getrocknet, gewogen und zur Ermittlung des Stickstoffgehaltes analysiert. Das entfettete Filtrat wurde zur Trockene verdampft, abgekratzt, während einiger Stunden bei 100° getrocknet, und der Kohlenstoff wie der Stickstoffgehalt von aliquoten Teilen des Rückstandes durch Elementaranalyse bestimmt. In der folgenden Tabelle sind die Analysenresultate von zwei Saftpräparaten aus Keimlingen gleichen Alters zusammengestellt. Die eine Portion

von Keimlingen war im Dunkeln gehalten und gelb, die andere grün und etwas weiter entwickelt.

25 ccm Preßsaft von 10 tägigen Rapskeimlingen enthielten vor und nach zweitägigem Durchleiten von Luft bei 36°:

		Vor dem Versuch g	Nach g	Differenz g
Nicht grüne Keimlinge	Koaguliertes Eiweiß . . .	0,185	0,15	— 0,035
	Totaler N-Gehalt desselben	0,014	0,012	— 0,002
	Gelöste Stoffe im Filtrat .	0,32	0,31	— 0,01
	Totaler N-Gehalt derselben	0,014	0,017	+ 0,003
	» C- » »	0,13	0,12	— 0,01
Grüne Keimlinge	Koaguliertes Eiweiß . . .	0,26	0,18	— 0,08
	Totaler N-Gehalt desselben	0,020	0,018	— 0,002
	Gelöste Stoffe	0,52	0,44 ¹⁾	— 0,08 ²⁾
	Totaler N-Gehalt derselben	0,025	0,026	+ 0,001
	» C- » »	0,23	0,18	— 0,05

oder zusammengefaßt:

		Gewicht vor dem Versuch g	Gewichtsänderung während des Versuches in g
Nicht grüne Keimlinge	Gerinnsel	0,50	— 0,035
	Gelöste Stoffe		— 0,01
			0,045
Grüne Keimlinge	Gerinnsel	0,78	— 0,08
	Gelöste Stoffe		— 0,08
			0,16 ²⁾

Den Tabellen ist folgendes zu entnehmen:

1. Eine Verminderung der gerinnbaren Eiweißstoffe und auch des totalen Stickstoffgehaltes des Koagulums (Gerinnsels) findet während der Versuchszeit statt. Letztere Abnahme ist

¹⁾ Dürfte zufolge Ungleichmäßigkeit des Trocknens bei 100° ein wenig zu niedrig ausgefallen sein. Der amorphe, sich bräunende Rückstand nimmt während längerer Zeit konstantes Gewicht nicht an.

²⁾ Vgl. obige Anmerkung.

verhältnismäßig geringer: das Gerinnsel wird also stickstoffreicher. Ein proteolytisches Enzym ist somit im Saft wirksam, was mit ein paar analogen Befunden im Einklang steht.¹⁾

2. Wie zu erwarten, wird die Stickstoffverminderung im Gerinnsel durch eine entsprechende Vermehrung im Filtratrückstand — innerhalb der Analysenfehler — kompensiert. Stickstoff geht dabei ebensowenig wie im lebenden Keimling verloren.

3. Dagegen findet man trotz der Proteolyse (und Lipolyse) eine Abnahme der Kohlenstoffmenge im Filtrat, welche der zunächst zu besprechenden «Atmung» im Preßsaft zugeschrieben werden muß.

4. In allen genannten Beziehungen verhalten sich die beiden Saftpräparate (das gelbe und das grüne) ähnlich. Die Umsetzungen gehen stets in derselben Richtung und sind ausschließlich Abbauprozesse. Hieraus darf jedoch kein weiterer Schluß gezogen werden, da die Versuche bei schwacher Belichtung ausgeführt wurden.

5. Die Umsetzungen sind intensiver im grünen als im gelben Saft. Dieses gilt auch für die in der Tabelle I angegebene Lipolyse. Hierbei ist zu beachten, daß bei den grünen Keimlingen das Reservefett noch mehr verbraucht war, als bei den Dunkelkeimlingen.

Ein Vergleich zwischen den Mengenverhältnissen:

	Fettes Öl	Gerinnbare Eiweißstoffe	Gelöste Stoffe
Nicht grüne Keimlinge	46	29	52
Grüne	17	26	52

zeigt, daß unabhängig von dem verschiedenen Fettgehalt ein ziemlich konstantes Verhältnis zwischen den beiden letzteren Stoffgruppen besteht.

¹⁾ L. Geret und M. Hahn, Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XXXI, S. 2335 (1898).

Fernbach und Hubert, Compt. rend., Bd. CXXX, S. 1783; Bd. CXXXI, S. 293 (1900), fanden proteolytische Enzyme im Malzsaft, der durch eine Chamberlandkerze filtriert worden war.

Die Kohlensäurebildung im Preßsaft.

Bei einer Anzahl Saftproben aus Keimlingen von recht verschiedenem Alter wurde die durch den Luftstrom mitgeführte Kohlensäure in oben angegebener Weise gesammelt und gewogen. Der Saft aus früheren Keimungsstadien war stets unfiltriert und milchig, in älteren Stadien wurden auch rasch filtrierte, klare Proben, immer mit Thymol (0,1 g in 25 ccm) sterilisiert, untersucht. In zwei Fällen waren die Saftproben vorher mit 5 ccm Äther geschüttelt worden.

25 ccm Preßsaft von Rapskeimlingen lieferten: ¹⁾				Ungerechnet auf:		
Alter der Keimlinge in Tagen	Temperatur	Dauer des Versuchs in Stund.	CO ₂ in g	Saft	CO ₂ -Menge pro 24 Stund. bezogen auf	
					100 ccm Saft	100 g ruh. Samen
2	37°	17	0,055	unfiltriert, kein Äther	0,31	0,337
3	37°	41	0,069	"	0,16	0,191
9	35°	46	0,059	ätherisiert (5 ccm Äther)	0,12	0,625
9	35°	46	0,078	filtriert (5)	0,16	0,833
7	37°—45°	38	0,016	kein Äther	0,040	0,133
10	31°	41	0,030	"	0,046	0,267
20	35—50°	47	0,019	"	0,040	0,417
20	36°	24	0,009	"	0,023	0,240

¹⁾ Zur Beurteilung der Wirksamkeit des von uns benützten Antiseptikums, Thymol in einer Konzentration von 0,4%, seien einige diesbezüglich ermittelte Daten von Stoklasa (Ber., Bd. XXXVI, S. 4062) erwähnt. Er fand, daß 25 ccm einer 15%igen, mit 0,4% Thymol sterilisierten, dann mit 2,5 ccm einer starken Bouillonkultur von gewöhnlichen (bei nicht sterilisierter Flüssigkeit auftretenden) Bakterien versetzten Kontrollprobe in 36 Stunden bei 30° 0,0015—0,0045 g CO₂ entwickelten. Da die Bakterienmengen, welche sich im filtrierten Preßsaft vorfinden und bei Thymolgegenwart bilden können, mit derartigen Impfungen keineswegs vergleichbar sind, sind auch die niedrigsten, für filtrierte Säfte in der Tabelle erhaltenen Werte nicht mit Bakterienwirkungen zu verwechseln.

Die Zahlen der letzten Kolumne gestatten einen direkten Vergleich mit der Atmung keimender Samen, worüber zahlreiche ältere Angaben vorliegen. Borodin¹⁾ z. B. fand bei maximaler Atmung von *Lepidium*-Keimlingen bei 24° eine Kohlensäureproduktion entsprechend 1,20 g pro 100 g Samen in 24 Stunden. Johannsen²⁾ fand, daß Erbsenkeimlinge in 24 Stunden 0,93% des Frischgewichtes an Kohlensäure ausatmeten. Diese Werte sind wenige Mal größer als die meisten in der obigen Tabelle. Nach Palladin³⁾ entwickeln 10 g Weizenkeime pro Stunde in der Luft 9,1 mg CO₂.

Ein genauer Vergleich mit den vorliegenden Untersuchungen an lebenden Keimpflanzen läßt sich meistens schon deshalb nicht durchführen, weil bei diesen die Kulturen gewöhnlich nicht steril gehalten waren. Ein weiterer störender Umstand ist, daß sowohl bei jenen Arbeiten wie bei unseren eigenen Versuchen die chemisch entbundene Kohlensäure, wegen der mit der Beschaffenheit der Gewebe, bzw. des Saftes wechselnden, nicht genau bekannten Absorption, nicht ganz scharf gemessen werden kann. Man muß sich einstweilen mit einer möglichst guten Annäherung begnügen.

Daß bei unseren Versuchen Kohlensäure wirklich neugebildet, nicht nur bereits gelöste Kohlensäure aus der Lösung entfernt wird, geht teils daraus hervor, daß bei 37°—50° eine kontinuierliche, während 48 Stunden langsam abnehmende Kohlensäureabscheidung beobachtet wurde, teils aus dem entsprechenden, besonders bestimmten und S. 249 angegebenen Kohlenstoffverlust des Saftes. Gelöste Kohlensäure kommt zufolge der Bestimmungsmethode hier gar nicht in Betracht. Eine gleichzeitige Bestimmung des gesamten Kohlenstoffverlustes in der Reaktionsflüssigkeit und der entwickelten Kohlensäure können wir leider noch nicht mitteilen, sie wird sich aber unschwer ausführen lassen und wird zugleich zeigen, welchen Betrag die Korrektur für die Absorption der Kohlensäure im Saft ausmacht.

Die Atmungstabelle zeigt ferner auffallend hohe Werte für

¹⁾ Justs Bot. Jahresber., 1875, S. 880.

²⁾ Unters. aus d. bot. Institut Tübingen, Bd. I, S. 695.

³⁾ Ber. d. bot. Ges., Bd. XXIV, S. 97, 1906.

die beiden ätherisierten Proben, übereinstimmend mit den Befunden über den steigernden Einfluß der Ätherisierung auf die Atmung lebender Pflanzen.¹⁾

Von Interesse ist indessen ein Vergleich zwischen der Abnahme von Trockensubstanz bei unseren S. 249 tabellierten Versuchen und bei der Respiration lebender Keimpflanzen. Wilsing²⁾ fand nach 9tägiger Keimung von Samen eine Abnahme von 14,5% der Trockensubstanz; Detmer³⁾ gibt an, daß Hanfsamen während 7tägiger Keimung nur 3% des Trockengewichtes verloren. Für Kleesamen fand Boussingault⁴⁾ vor 70 Jahren eine Abnahme von 7% der Trockensubstanz während der Keimung. Der Versuch mit Preßsaft aus Dunkelkeimlingen von Raps (S. 249) ergab einen Verlust von 9% in zwei Tagen bei 37°. Bei dem Versuch mit grünen Keimpflanzen ergibt sich der wahrscheinlich zu hoch gefundene Wert 20% (siehe Anm. S. 249). Näheres läßt sich wegen der Verschiedenheit des Materials und der Temperatur kaum sagen.

Das Vorkommen von kohlen säure bildenden Enzymen und zwar Zymasen im Preßsaft höherer Pflanzen wurde bisher von J. Stoklasa⁵⁾ für anaërob gärende Erbsenkeimlinge, Kartoffelknollen und Rüben konstatiert, also für kohlehydratspeichernde Pflanzenteile. Dieser Verfasser isolierte aus dem filtrierten Pflanzensaft Enzymfällungen, welche, fein verrieben, mit 10 bis 15% iger Zuckerlösung, am besten Glukose (unter Sterilisierung mit Thymol, Kaliummetaarsenit oder Toluol) sofort deutliche Alkoholgärung erzeugten. Auch 20tägige, an der Luft gekeimte

¹⁾ Elfving, Öfv. finska Vet. Soc., Bd. XXVIII (1886); W. Johannsen, Bot. Zentralbl., Bd. LXVIII, S. 337 (1896).

C. Gerber, C. R. Soc. biol., S. 1497 (1902). W. Palladin fand (Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXIII, S. 240, 1905), daß in durch Erfrieren getötetem Plasma keine solche Ätherwirkung mehr auftritt. Auf diesen Unterschied gründete er die Annahme einer besonderen, für lebendes Plasma charakteristischen Reizkohlen säure, deren Besonderheit wohl aber noch nicht sicher nachgewiesen ist.

²⁾ Journ. f. Landwirtsch., Bd. XXXII, S. 523 (1884).

³⁾ Phys. Unters. über d. Keimung, 1875.

⁴⁾ Ann. Sc. natur. [2], Bd. X, S. 257 (1838).

⁵⁾ J. Stoklasa und F. Czerny, Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XXXVI, S. 622, 1904.

Erbsenpflänzchen gaben einen zymaschaltigen Niederschlag, wovon 2,8 g in 50 ccm einer 15%igen Glukoselösung bei 30° in 48 Stunden 0,38 g CO₂ durch Alkoholgärung lieferten. Über Desinfektion wird zwar hier nichts ausdrücklich angegeben, das Resultat von Stoklasa dürfte aber im wesentlichen feststehen.

So viel ist sicher, daß bei unseren Versuchen wenigstens ein Teil der Respiration die im Zellsaft gelösten oder beim Auspressen darin emulgierten Bestandteile trifft und auch extracellulär fortschreitet. Auch Palladin hat für Gladioluszwiebeln eine Kohlensäureentwicklung im Preßsaft beobachtet, die allerdings im Vergleich zu derjenigen in Gegenwart festen Preßrückstandes gering war.¹⁾

In unserem Falle handelt es sich nicht wie bei Stoklasas Versuchen um eigentliche Gärung, sondern um normale Atmung.²⁾ Indessen liegt hierin nach der herrschenden, durch Arbeiten von Pfeffer und besonders von Godlewski und Pilszeniusz³⁾ begründeten Auffassung der Atmung kein wesentlicher Unterschied. Nach diesen Autoren besteht ja die Atmung in intramolekularen, von dem vorhandenen Sauerstoffdruck nicht direkt abhängigen Spaltungen. Der Sauerstoff hat die indirekte Bedeutung, einen Ersatz des zerfallenden Atmungsmaterials zu ermöglichen. Im Einklang hiermit fand Godlewski, daß Sauerstoff zum Keimen von Lupinensamen nicht notwendig ist, wenn genug Zucker zur Veratmung dargeboten wird. Auch Stoklasa schließt sich dieser Auffassung an und stellt die anaërobe Atmung (Gärung) in genetischen Zusammenhang mit der normalen Atmung.⁴⁾ Wir möchten dazu noch hervorheben, daß der Atmungsverlust von Kohlensäure in den von uns untersuchten Preßsäften, wo die Fettzersetzung beinahe zu vernachlässigen ist oder gar nicht in Frage kommt, wie für die filtrierten, fettfreien Präparate, eine weitere Stütze für die vertretene Ansicht über die Natur der Atmung gewährt. Im filtrierten, klaren Preßsaft hat man eine

¹⁾ l. c. S. 242.

²⁾ Eine quantitative Bestimmung von eventuell gebildetem Alkohol wurde bei unseren Versuchen nicht ausgeführt.

³⁾ Bull. Acad. sciences de Cracovie, Avril 1901, Mars 1904.

⁴⁾ l. c. S. 634.

Möglichkeit, die Atmung von der Fettzersetzung getrennt zu studieren. Die zu einem gewissen Grad unabhängig von der letzteren stattfindende Kohlensäurebildung läßt jedenfalls schließen, daß das Fett nicht als solches direkt verbrannt wird, sondern erst in lösliche, höher oxydierte Verbindungen übergeht. Aus verschiedenen Gründen hat man unter diesen in erster Linie nach reduzierenden Kohlehydraten (Zuckern) zu suchen: sie entstehen auch tatsächlich, wie oben dargetan wurde, aus dem Reservefett, sogar den Fettsäuren selbst. Man beobachtet nicht nur eine bedeutende Produktion von reduzierenden Stoffen in den Keimlingen,¹⁾ sondern wir haben auch gefunden, daß im Preßsaft derselben eine Steigerung des Gehaltes an reduzierenden Kohlehydraten eintritt, wenn gut antiseptisch gearbeitet wird.

Untersuchung der reduzierenden Kohlehydrate im Preßsaft von Rapskeimlingen. Um zuverlässige und vergleichbare Resultate zu gewinnen, wurden die Bestimmungen stets in genau derselben Weise ausgeführt. 25 ccm von filtriertem Saft wurden in einem 200 ccm-Kolben mit 100 ccm neubereiteter Fehlingscher Lösung (34,6 g $\text{CuSO}_4 + 5 \text{ aq.}$, 173 g Seignettesalz, 65 g NaOH pro Liter²⁾) vermischt, das Gefäß bis zur Marke gefüllt und 15 Minuten im kochenden Wasserbade gehalten; dann wurde im Gooch-Tiegel filtriert, mit Wasser, Alkohol und Äther gewaschen und bei 120° getrocknet. Für die Umrechnung der Cu_2O -Menge in Traubenzucker wurde stets derselbe Mittelwert $2,45 \text{ g Cu}_2\text{O} = 1 \text{ g Glukose}$ benützt. Die Analysen wurden teils mit frischem Saft, unmittelbar nach dem Auspressen und raschem Filtrieren vorgenommen, teils mit Proben derselben Saftpräparate, welche entweder zuerst im Thermostaten während 1 bis 2 Tagen von einem Luftstrom durchströmt oder in der Kälte aufbewahrt worden waren. Als Antiseptikum wurde wie früher 0,1 g pulverisiertes Thymol verwendet. Nur bei sorgfältig sterilisierten Säften trat ein Zuwachs des Reduktionsvermögens

¹⁾ Vgl. Leclerc du Sablon, Compt. rend., Bd. CXVII, S. 524; Bd. CXIX, S. 610; Rev. gén. de Bot., Bd. IX, S. 313 (1897) u. a.

²⁾ Brown, Morris und Millar, Journ. Chem. Soc., Bd. LXXI, S. 278 (1895).

ein: war das Antiseptikum nicht oder in ungenügender Menge zugegen, so wurde im Gegenteil eine Verminderung der reduzierenden Stoffe während des Versuches beobachtet.

In der folgenden Tabelle wird das Reduktionsvermögen von vier verschiedenen Saftpräparaten aus nicht grünen Keimlingen vor (Zeit 0) und nach dem Versuch zusammengestellt. Die fünfte Spalte enthält die in Prozent berechnete Änderung des Reduktionsvermögens. Sämtliche Werte beziehen sich auf 25 ccm Saft. Die vier Präparate sind unter einander nicht direkt vergleichbar, da die Keimlinge wie der Sand vor dem Reiben verschieden naß waren.

Alter der Keimlinge in Tagen	Versuchstemperatur	Versuchsdauer in Stunden	Cu ₂ O in g	Differenz in %	Hieraus berechnet sich als Glukose in g pro:	
					100 ccm Saft	100 g ruh. Samen
7	—	0	0,671	—	1,096	3,65
7	37°	47	0,756	+ 12,7	1,234	—
9	—	0	0,482	—	0,725	4,35
9	35°	46	0,552	+ 14,5	0,901	—
10	—	0	0,902	—	1,475	8,55
10	5°	20	0,921	+ 2,2	1,505	—
10	5°	24	0,926	+ 2,8	1,512	—
	31°	67				
20	—	0	0,682	—	1,112	11,6
20	5°	100	0,700	+ 2,6	1,144	—
20	5°	20	0,713	+ 4,6	1,164	—
	36°	56				
20	50°	16	0,705	+ 3,4	1,152	—
	35°	31				

In sämtlichen Fällen vermehrt sich im Saft der Gehalt an reduzierenden Kohlehydraten, nicht nur bei Bruttemperatur, sondern auch beim Stehen in der Kälte. Der Betrag ist aber meist ziemlich klein, nur wenige Prozente, und die nächstliegende Annahme ist daher, daß Invertase im Preßsaft wirksam

gewesen ist.¹⁾ Im Preßsaft von älteren, im letzten Beispiel (20 Tage) bereits etiolierten Keimlingen vermehrt sich die Menge des reduzierenden Zuckers auch bei höherer Temperatur nur wenig; viel größer ist der Unterschied auf früheren Stadien, und die Frage wird offen gelassen, ob auch hier die Zunahme nur einer Inversion von Saccharose zuzuschreiben ist. Die Gegenwart kleiner Mengen Saccharose im Keimlingssaft darf man wohl, nach allem, was in dieser Hinsicht bei den Pflanzen bekannt ist, sicher annehmen können. Es gelang uns aber vorläufig nicht, diesen Zucker aus dem klebrig-amorphen, sich in der Wärme bräunenden Rückstand nach dem Strontianverfahren von E. Schulze²⁾ zu isolieren.

Zusammenfassung.

1. Auch im Preßsaft von fetthaltigen Samen (Raps) werden Fette gespalten. In diesem Preßsaft wurden ferner die folgenden Vorgänge beobachtet:

2. Proteolytische Spaltungen, wodurch die gerinnbaren Stoffe im Saft abnehmen. Hierbei vermindert sich die Menge des Eiweißstickstoffes, aber verhältnismäßig weniger als die übrigen Bestandteile des Koagulums.

3. Kohlensäureatmung und dadurch Kohlenstoffverbrauch, welcher durch die gleichzeitige Proteolyse im Saft nicht gedeckt wird.

4. Zunahme von reduzierenden Kohlehydraten zu einigen Prozenten.

Diese bis jetzt erhaltenen Resultate veranlassen uns, die Untersuchung zunächst in folgender Richtung fortzusetzen:

Das Verhältnis zwischen Atmungsintensität, resp. Steigerung des reduzierenden Zuckergehaltes in filtrierten und unfiltrierten Saftproben, bzw. in festen Preßkuchen desselben Materials soll festgestellt werden. Es soll versucht werden, die

¹⁾ Czapek, Bioch. d. Pfl., Bd. I, S. 333 sagt: «Invertase scheint in keimenden Samen verbreitet vorzukommen», führt aber nur kohlenhydratspeichernde Samen an.

²⁾ Ber., Bd. XXI, S. 299, 1888.