

# Über den Vorgang der Zuckeroxydation bei der Pflanzenatmung.

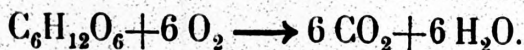
Von

S. Kostytschew.

(Aus dem pflanzenphysiologischen Laboratorium der Universität St. Petersburg.)

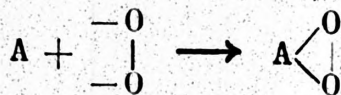
(Der Redaktion zugegangen am 20. Mai 1910.)

Es ist schon längst bekannt, daß Kohlenhydrate das hauptsächlichste Material für die Pflanzenatmung bilden. Die kompliziert gebauten Kohlenhydrate (wie z. B. Stärke, Inulin u. a.) werden zunächst zu Hexosen hydrolysiert und diese alsdann zu Kohlensäure und Wasser verbrannt.



Für diesen Oxydationsvorgang wird der Luftsauerstoff verwendet; die Aufnahme und Aktivierung des molekularen Sauerstoffs ist also die erste Phase der Sauerstoffatmung.

Durch die hervorragenden Untersuchungen von Bach,<sup>1)</sup> Engler und dessen Mitarbeiter<sup>2)</sup> ist nachgewiesen worden, daß bei den Autoxydationsvorgängen ungesättigte Sauerstoffmoleküle —O—O— entstehen, welche sich alsdann an die autoxydablen Stoffe (Autoxydatoren) anlagern.



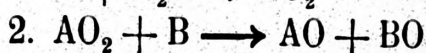
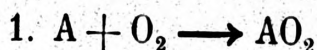
Die peroxydartigen «Moloxyle»  $\text{A} \begin{array}{l} \diagup \text{O} \\ | \\ \diagdown \text{O} \end{array}$ <sup>3)</sup> haben ein höheres

<sup>1)</sup> Bach, Comptes rendus, Bd. CXXIV, S. 951 (1897).

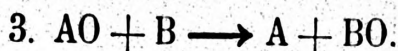
<sup>2)</sup> Engler und Wild, Chemische Berichte, Bd. XXX, S. 1669 (1897) und Bd. XXXI, S. 3055 (1898). — Engler, ebenda, Bd. XXXIII, S. 1090 und 1109 (1900). — Engler und Weissberg, ebenda, Bd. XXXIII, S. 1097 (1900) und «Kritische Studien über die Vorgänge der Autoxydation» (1904). — Engler und Frankenstein, Chem. Berichte, Bd. XXXIV, S. 2933 (1901). — Engler und Herzog, Diese Zeitschrift, Bd. LIX, S. 327 (1909).

<sup>3)</sup> Nach Luther und Schilow (Zeitschrift für physikal. Chemie, Bd. XLVI, S. 811, 1903) sind diese Verbindungen als Sauerstoffsalze («Oxygenide») aufzufassen.

Oxydationspotential als der molekulare Sauerstoff und können also verschiedene Stoffe oxydieren, welche Verbindungen mit dem molekularen Sauerstoff nicht oder nur sehr langsam eingehen; diese Stoffe bezeichnet man als Acceptoren. Die Oxydation der Acceptoren durch Moloxyde kann je nach den Eigenschaften der an der Reaktion beteiligten Stoffe auf verschiedene Art und Weise zustande kommen; betreffs der Einzelheiten muß auf die zitierten Originalarbeiten von Engler und dessen Schüler verwiesen werden; hier ist nur der für das Wesen der physiologischen Oxydation wichtige Umstand zu betonen, daß die Oxydation der Acceptoren durch Moloxyde entweder direkt oder indirekt stattfindet.<sup>1)</sup> Die direkte Oxydation wird ohne Mitwirkung anderweitiger Stoffe herbeigeführt und es kommen hierbei folgende gekoppelte Reaktionen zustande.



und eventuell auch



Nach der von Luther und Schilow<sup>2)</sup> eingeführten Systematik der gekoppelten Oxydations-Reduktionsvorgänge ist in dem soeben besprochenen Falle der molekulare Sauerstoff als Aktor und der Autoxydator als Induktor zu bezeichnen.

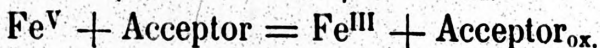
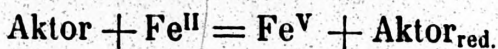
In anderen Fällen erweist sich die durch Moloxydbildung bewirkte Sauerstoffaktivierung als unzureichend; für die Oxydation der Acceptoren ist dann eine weitere Erhöhung des Oxydationspotentials notwendig; dieser Potentialhub wird u. a. durch Bildung von sekundären Peroxyden hervorgerufen.<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> Diese Vorgänge sind nicht zu verwechseln mit denjenigen der direkten und indirekten Autoxydation, die von Engler und Weissberg (Kritische Studien über die Vorgänge der Autoxydation, 1904), bzw. Engler und Herzog (Diese Zeitschrift, Bd. LIX, S. 327, 1909) ausführlich erläutert wird.

<sup>2)</sup> Luther und Schilow, Zeitschrift f. physikal. Chemie, Bd. XLVI, S. 777 (1903).

<sup>3)</sup> Es ist praktisch gleichgültig, ob wir es hier mit einer wirklichen

Typische Fälle dieser Art von Koppelung sind Oxydationen in Gegenwart von Ferroion; als ein Beispiel derartiger Oxydation mag die von Fenton<sup>1)</sup> beschriebene Oxydation der Weinsäure durch Hydroperoxyd in Gegenwart von Ferrosalzen Erwähnung finden. Die Weinsäure wird von Hydroperoxyd nur äußerst langsam angegriffen; nach Zusatz einer Spur von Ferrosulfat erfolgt aber eine schnelle Oxydation von Weinsäure zu Hydroxymaleinsäure. Manchot und Wilhelms<sup>2)</sup> haben gefunden, daß bei derartigen Vorgängen eine Reduktion von Hydroperoxyd unter Bildung von sekundärem Eisenperoxyd  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ <sup>3)</sup> stattfindet; das Eisenperoxyd oxydiert dann verschiedene Acceptoren, welche von Hydroperoxyd unangreifbar sind. In diesem Falle ist also Hydroperoxyd als Aktor und Ferroion als Induktor anzusehen:



Es ist einleuchtend, daß bei dieser Art von Koppelung die chemische Natur des Aktors keine große Rolle spielt, denn für die Oxydation der Acceptoren ist nur von Belang, daß bei der Reduktion des Aktors sich Eisenperoxyd bildet.

Die Oxydationsvorgänge in lebenden Pflanzen sind ebenfalls nichts anderes als Systeme der gekoppelten Reaktionen. Bach und Chodat gebührt das Verdienst, nachgewiesen zu haben, daß die physiologische Oxydation sich im wesentlichen nach demselben Schema vollzieht, welches von Bach, Engler und dessen Mitarbeiter für die langsame Oxydation *in vitro* aufgestellt worden war. Der molekulare Sauerstoff wird von den in lebenden Pflanzengeweben vorhandenen

Potentialerhöhung oder mit einer Verringerung der passiven Widerstände der induzierten Reaktion zu tun haben.

<sup>1)</sup> Fenton, Journal of the chemical Society, Bd. LXV, S. 899 (1895).

<sup>2)</sup> Manchot und Wilhelms, Chemische Berichte, Bd. XXXIV, S. 2479 (1901).

<sup>3)</sup> Die Konstitutionsformel dieser Verbindung sollte die folgende sein:  $\begin{array}{c} \text{O} \\ \diagup \\ \text{Fe} \\ \diagdown \\ \text{O} \end{array} - \text{O} - \begin{array}{c} \text{O} \\ \diagdown \\ \text{Fe} \\ \diagup \\ \text{O} \end{array}$ ; sie entspricht einem Hydroxyd von der Formel

$\text{HO} - \text{O} - \text{Fe}(\text{OH})_2$ , welches 1 Atom aktivierten Sauerstoff enthält (vgl. Engler und Weissberg, Kritische Studien usw., S. 104).

Autoxydatoren unter Bildung von peroxyartigen Verbindungen aufgenommen. Die Anwesenheit von organischen Peroxyden («Oxygenasen») in lebenden Pflanzen wurde durch die Untersuchungen von Bach und Chodat<sup>1)</sup>, Kastle und Loewenhardt<sup>2)</sup> und Engler und Wöhler<sup>3)</sup> festgestellt. Die erstgenannten Forscher<sup>4)</sup> haben außerdem den wichtigen Befund gemacht, daß das Oxydationspotential der pflanzlichen Peroxyde durch organische Induktoren,<sup>5)</sup> die sogenannten Peroxydasen erhöht wird. Da aber die Peroxydasen nicht aus allen Pflanzen isoliert werden können, so ist die Annahme naheliegend, daß in einigen Fällen eine direkte Oxydation der Acceptoren durch primäre Peroxyde zustandekommt; meistens wird jedoch Peroxydase in Mitleidenschaft gezogen und die Oxydation der Acceptoren auf indirekte Weise herbeigeführt. Nach dem oben Erörterten ist es kaum zweifelhaft, daß hierbei sekundäre Peroxyde entstehen, und daß die Rolle der Peroxydase derjenigen des Ferroions durchaus analog ist.<sup>6)</sup> Diese Voraussetzung wird noch durch den Befund bekräftigt, daß sowohl die aus verschiedenen Pflanzen isolierten organischen Peroxyde, als auch Hydroperoxyd von einem und demselben Peroxydasepräparat aktiviert werden.<sup>7)</sup> Die so universale Wirkung der Peroxydase unterscheidet sich scharf von der meistens außer-

<sup>1)</sup> Bach, Comptes rendus, Bd. CXXIV, S. 954 (1897). — Chemische Berichte, Bd. XLI, S. 216 (1908). — Bach und Chodat, Chemische Berichte, Bd. XXXV, S. 2466 und 3943 (1902); Bd. XXXVII, S. 36 (1904).

<sup>2)</sup> Kastle und Loewenhardt, Amer. Chem. Journ., Bd. XXVI, S. 539 (1901).

<sup>3)</sup> Engler und Wöhler, Zeitschrift für anorganische Chemie, Bd. XXIX, S. 1 (1902).

<sup>4)</sup> Bach und Chodat, Chemische Berichte, Bd. XXXV, S. 3943 (1902); Bd. XXXVI, S. 601 (1903). — Archives des sciences physiques et naturelles, Genève, Bd. XVII, S. 477 (1904).

<sup>5)</sup> Nachstehend wird dargetan, daß hier die Annahme von Katalyse wenig wahrscheinlich ist.

<sup>6)</sup> Vgl. auch die einschlägigen Untersuchungen von Chodat und Bach (Chemische Berichte, Bd. XXXVII, S. 1346 und 3785, 1904, und Bd. XXXVIII, S. 1878, 1905) und Bach (Chemische Berichte, Bd. XL, S. 3185, 1907).

<sup>7)</sup> Engler und Herzog, Diese Zeitschrift, Bd. LIX, S. 358 (1909).

ordentlich spezifischen Tätigkeit der übrigen Fermente und ist nur im Sinne der Koppelung durch Zwischenstufe des Induktors<sup>1)</sup> zu erklären; hierbei spielt die Zwischenstufe des Induktors die Hauptrolle, während die chemische Natur des Aktors und des Acceptors weniger wichtig ist. Als typische Fälle dieser Art von Koppelung sind die vorstehend besprochenen Oxydationen in Gegenwart des Ferroions anzusehen.

Aus dem Gesagten ist ersichtlich, daß der Mechanismus der physiologischen Oxydationsvorgänge auf Grund der im Gebiete der reinen Chemie gemachten Erfahrungen vollkommen erklärlich ist. Anders gestaltet sich die Frage nach den Beziehungen der in der Pflanzenchemie bekannt gewordenen Oxydationserscheinungen zu dem Atmungsprozesse. Bei der Atmung erfolgt eine vollständige Oxydation des Zuckers, die bis zur CO<sub>2</sub>-Bildung fortschreitet; die bisher in den Pflanzen aufgefundenen Oxydasen und Peroxydasen sind aber nicht imstande, Zucker anzugreifen. Portier<sup>2)</sup> hatte in dieser Beziehung nur negative Resultate zu verzeichnen; auf Grund dieser Erfahrungen kommt er zu dem Schluß, daß die oxydierenden Fermente am Atmungsprozesse nicht beteiligt sind und nur als Schutzstoffe fungieren. Auch Porodko<sup>3)</sup> behauptet, daß den Oxydasen keine Bedeutung bei der Atmung zukommt. Bertrand<sup>4)</sup> zeigte, daß die oxydierende Wirkung der Laccase sehr beschränkt ist: die Laccase ist nur imstande, einige Phenol- und Anilinderivate anzugreifen. Die aus den Pflanzen isolierten oxydierenden Agenzien wurden bisher überhaupt nur für die Oxydation unbeständiger zyklischer Verbindungen mit Erfolg verwendet; diese Oxydationen schritten nicht bis zu den Endprodukten der Atmung: die letzten Produkte der genannten Reaktionen waren immer noch organische Verbindungen.

---

<sup>1)</sup> Luther und Schilow, Zeitschrift f. physikal. Chemie, Bd. XLVI, S. 790 (1903).

<sup>2)</sup> Portier, Les oxydases dans la série animale (1897).

<sup>3)</sup> Porodko, Beihefte z. Botan. Zentralblatt, Bd. XVI, S. 1 (1904).

<sup>4)</sup> Bertrand, Comptes rendus, Bd. CXXII, S. 1132 (1896).

Vor einiger Zeit habe ich<sup>1)</sup> die Anschauung entwickelt, daß der bereits von Pfeffer<sup>2)</sup> und Wortmann<sup>3)</sup> ange deutete Zusammenhang der anaeroben mit der normalen Atmung darin besteht, daß bei der anaeroben Atmung leicht oxydierbare Acceptoren entstehen; die anaerobe Spaltung des Betriebsmaterials ist also, ebenso wie die Sauerstoffaufnahme eine primäre Phase des Atmungsprozesses. Bei Zucker- veratmung ist der anaerobe Spaltungsprozeß nichts anderes als Alkoholgärung; da aber Äthylalkohol nach eigenen Ver- suchen<sup>4)</sup> von lebenden Pflanzen meistens gar nicht angegriffen und jedenfalls nicht zu den Endprodukten der Atmung oxydiert wird, so habe ich vorausgesetzt, daß nur die Zwischenprodukte der Alkoholgärung durch das Eingreifen oxydierender Agenzien zu  $\text{CO}_2$  und  $\text{H}_2\text{O}$  verbrannt werden. Der Mechanismus der Alkoholgärung bleibt leider bis heute nicht aufgeklärt; über die chemische Natur der bei diesem Vorgang entstehenden Zwischenprodukte haben wir keine bestimmten Erfahrungen. Buchner und Meisenheimer<sup>5)</sup> haben zwar vor einiger Zeit die Voraussetzung ausgesprochen, daß Hexosen zunächst in zwei Moleküle von Milchsäure zerfallen; diese Theorie er- wies sich aber als nicht stichhaltig und ist von den Verfassern selbst aufgegeben worden.<sup>6)</sup> Trotzdem ist eine experimentelle Untersuchung der Anteilnahme intermediärer Gärungsprodukte am Atmungsprozesse wohl möglich, wenn man die durch ab- getötete Hefe vergorenen Zuckerlösungen verwendet. Lebende Organismen bewirken meistens eine vollständige Verarbeitung des Betriebsmaterials bis zu den Endprodukten; in abgetöteten

<sup>1)</sup> Kostytschew, Untersuchungen über die anaerobe Atmung der Pflanzen (1907, russisch); Biochemische Zeitschrift, Bd. XV, S. 164 (1908) und Bd. XXIII, S. 137 (1909).

<sup>2)</sup> Pfeffer, Landwirtschaftl. Jahrbücher, Bd. VII, S. 805 (1878).

<sup>3)</sup> Wortmann, Arbeiten d. bot. Instituts Würzburg, Bd. II, S. 500 (1880).

<sup>4)</sup> Kostytschew, Biochemische Zeitschrift, Bd. XV, S. 164 (1908).

<sup>5)</sup> Buchner und Meisenheimer, Chemische Berichte, Bd. XXXVII, S. 417 (1904) und Bd. XXXVIII, S. 620 (1905).

<sup>6)</sup> Buchner und Meisenheimer, Landwirtschaftl. Jahrbücher, Bd. XXXVIII, Ergänz. 5, S. 265 (1909).

Zellen wird aber die selbstregulierende Korrelation der Enzyme zerstört und es bilden sich also beträchtliche Mengen von Zwischenprodukten. Speziell für die fermentative Alkoholgärung hat A. Lebedew<sup>1)</sup> bewiesen, daß der Zuckerverbrauch bedeutend schneller als die CO<sub>2</sub>-Bildung stattfindet: die primäre Zuckerspaltung schreitet also nicht bis zu den Endprodukten der Gärung fort.

In meinen früher veröffentlichten Versuchen habe ich gefunden,<sup>2)</sup> daß die durch Zymin vergorenen Zuckerlösungen eine stark stimulierende Wirkung auf die Sauerstoffatmung lebender Weizenkeime ausüben; in diesen Versuchen wurden total vergorene Lösungen verwendet, die keine Spur von Zucker enthielten. Hiernach ist die Annahme wahrscheinlich, daß intermediäre Produkte der Alkoholgärung wirklich zu den Endprodukten der Atmung oxydiert werden. Versuche mit lebenden Pflanzen können jedoch nicht als ausschlaggebend betrachtet werden, denn es bleibt die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß es sich hier um eine Reizwirkung handelt. Andererseits können diese Versuche keine Auskunft hinsichtlich der Rolle der oxydierenden Fermente im Atmungsprozesse geben. Es müssen also noch folgende Fragen beantwortet werden:

1. Sind in fermentativ vergorenen Zuckerlösungen leicht oxydierbare Stoffe vorhanden?

2. Sind diese Stoffe durch die Einwirkung von Peroxydase zu den Endprodukten der Atmung oxydierbar?

Behufs Lösung der ersten Frage habe ich die Einwirkung des Hydroperoxyds in Gegenwart von Ferrosulfat auf Zucker, Eiweiß und Gärungsprodukte untersucht. Aus obiger Darstellung ist ersichtlich, daß die Wirkung der Peroxydase derjenigen des Ferroions im wesentlichen analog ist. Nun haben Cross, Bevan und Smith<sup>3)</sup> dargetan, daß Glukose von Hydroperoxyd in

<sup>1)</sup> A. Lebedew, Biochemische Zeitschrift, Bd. X, S. 454 (1908).

<sup>2)</sup> Kostytschew, Biochemische Zeitschrift, Bd. XV, S. 164 (1908) und Bd. XXIII, S. 137 (1909).

<sup>3)</sup> Cross, Bevan and Claude Smith, Proceedings of the chemical Society, Bd. XIV, S. 115 (1897—1898); Journal of the chemical Society, Bd. LXXIII, S. 463 (1898).

Gegenwart einer Spur von Ferrosulfat unter Bildung verschiedener Säuren und furoidähnlicher Stoffe oxydiert wird.<sup>1)</sup> Die genannten Forscher haben eine solche Menge von Hydroperoxyd verwendet, daß 1 Atom aktivierten Sauerstoffs einem Glukosemolekül entsprach; bei diesem Verhältnis ist eine vollständige Zuckerverbrennung natürlich nicht zu erzielen. Nachstehende Versuche zeigen jedoch, daß durch Anwendung von überschüssigem Hydroperoxyd in Gegenwart größerer Mengen von Ferrosulfat eine bis zur  $\text{CO}_2$ -Bildung schreitende Oxydation der Glukose bewirkt wird. Dasselbe Resultat erhielt ich mit den Gärungsprodukten; die verwendeten vergorenen Lösungen enthielten keine Spur von Zucker und waren alkohol- und eiweißfrei. Sämtliche Versuche waren bei  $0^\circ$  unter beständiger Durchleitung der  $\text{CO}_2$ -freien Luft ausgeführt; die bei der Oxydation gebildete Kohlensäure wurde in titriertem Barytwasser aufgefangen,<sup>2)</sup> wodurch zugleich ein qualitativer Nachweis von  $\text{CO}_2$  ermöglicht war. Für die Titration wurde Salzsäure verwendet.

Das Hydroxydpräparat (Merck) erwies sich als vollkommen  $\text{CO}_2$ -frei und enthielt keine Spur von Säuren; anderseits ergaben die Kontrollbestimmungen, daß die Gesamtmenge der aus 100 ccm destilliertem, aber vor dem Versuche nicht ausgekochtem Wasser auszutreibenden und bei Einfüllen und Titration des Barytwassers absorbierten Kohlensäure 3–4 mg beträgt. Von allen erhaltenen  $\text{CO}_2$ -Mengen wurden also immer 4 mg abgezogen. Der erste Versuch zeigt, daß bei Anwendung nicht sehr großer Mengen von Ferrosulfat eine langsame, aber dennoch bis zur  $\text{CO}_2$ -Bildung schreitende Oxydation der Glukose stattfindet. Nach Zusatz einer beträchtlichen Menge von Ferrosalz erfolgt sogleich eine stürmische Oxydation. Das für die Versuche verwendete Glukosepräparat (Kahlbaum) war sehr rein.

<sup>1)</sup> Bei Abwesenheit des Ferroions wird dagegen Glukose von Hydroperoxyd nicht angegriffen.

<sup>2)</sup> Palladin und Kostytschew, Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden von Abderhalden, Bd. III, S. 480 (1910).



## Versuch 1.

Destilliertes Wasser . . 50 ccm

30%ige  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Lösung . 100 »

Glukose (krystallisiert) . 2 g

Temperatur  $0^\circ$ . Luftstrom.

1. Nach 2 Stunden  $\text{CO}_2 = 1,6$  mg. Zusatz von 0,4 g  $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ .

2. Nach 2 Stunden  $\text{CO}_2 = 37,5$  mg. 18 Stunden ohne  $\text{CO}_2$ -Absorption. (Luftstrom.)

3. Nach 2 Stunden  $\text{CO}_2 = 28,4$  mg. Zusatz von 2 g  $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ .

4. Nach  $1\frac{1}{2}$  Stunden war die Barytlösung (100 ccm) übersättigt. 100 ccm von Barytwasser entsprechen 131,2 mg  $\text{CO}_2$ .

Es ist also ersichtlich, daß Glukose durch Überschuß von Hydroperoxyd bei Abwesenheit von Ferrosalz nur äußerst langsam oxydiert wird. Nach Zusatz von Ferrosulfat erfolgt eine bis zur  $\text{CO}_2$ -Bildung schreitende Oxydation. Die Geschwindigkeit der  $\text{CO}_2$ -Produktion ist von der Menge des Ferrosalzes abhängig.

Im folgenden Versuche wurde dieselbe Methode für die Oxydation der Glukose und eines von mir dargestellten Präparates von Konglutin (aus Lupinensamen) verwendet.

## Versuch 2.

A. Destilliertes Wasser 95 ccm    B. Destilliertes Wasser 95 ccm

30%ige  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Lösung 5 »    30%ige  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Lösung 5 »

krystallisierte Glukose 1 g    Konglutin . . . . . 1 g

 $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$  . . . . . 2 »     $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$  . . . . . 2 »Luftstrom.    Temperatur  $0^\circ$ .

Im Verlaufe von 40 Minuten wurden folgende  $\text{CO}_2$ -Mengen gebildet:

A. Glukose  $\text{CO}_2 = 106,4$  mg.    B. Konglutin  $\text{CO}_2 = 6,4$  mg.

Während Glukose unter ausgiebiger  $\text{CO}_2$ -Abscheidung oxydiert wurde, lieferte das Eiweißpräparat nur eine sehr geringe  $\text{CO}_2$ -Menge, die übrigens vielleicht auf eine Oxydation der im Konglutin vorhandenen Kohlenhydratgruppe zurückzu-

führen ist: das Konglutinpräparat färbt sich nach Zusatz von  $\alpha$ -Naphthol und konzentrierter Schwefelsäure schön violett (Reaktion von Molisch).

In folgenden Versuchen wurde die Oxydation der bei der fermentativen Alkoholgärung entstehenden Stoffe untersucht. Für die Zuckervergärung wurde käufliches Hefanol<sup>1)</sup> verwendet. Das Hefanol besteht zum größten Teil aus abgetöteter Hefe: die Abtötung erfolgt offenbar beim Trocknen der Hefe und ist auf Wasserverlust zurückzuführen. Da Zucker durch Hydroperoxyd und Ferrosulfat zu  $\text{CO}_2$  oxydiert wird, so müssen die zu untersuchenden Lösungen vollkommen zuckerfrei sein. Um dies zu erzielen, habe ich immer einen Überschuß von Hefanol und außerdem Natriumphosphat zugesetzt. Bereits Buchner und Antoni<sup>2)</sup> haben dargetan, daß Natriumphosphat die fermentative Zuckervergärung stark stimuliert. Die vergorene Lösung wurde mit Schwefelsäure bis zur schwach sauren Reaktion versetzt, erhitzt und filtriert. Das beinahe vollkommen eiweißfreie Filtrat wurde mit verdünnter Kalilauge neutral gemacht und nochmals bis zum Austreiben des Alkohols erwärmt. Die eiweiß- und alkoholfreie Lösung wurde abgekühlt und für die Versuche verwendet.

### Versuch 3.

Ein Gemisch von 50 g Hefanol, 25 g Glukose, 6 g Natriumphosphat und 200 ccm destilliertem Wasser wurde 4 Tage stehen gelassen, dann auf die soeben beschriebene Weise von Alkohol und Eiweiß befreit; eine Probe mit Fehlingscher Lösung ergab negatives Resultat; die vergorene Lösung war also vollständig zuckerfrei. Es wurden drei Portionen A, B und C zu je 50 ccm für den Versuch verwendet. Luftstrom. Temperatur  $0^\circ$ .

#### Portion A.

1. 1 Stunde im Luftstrome ohne Zusätze. Keine  $\text{CO}_2$ -Produktion. Zusatz von 45 ccm Wasser und 5 ccm 30%iger  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Lösung.

<sup>1)</sup> Von der Firma Schroder in München.

<sup>2)</sup> Buchner und Antoni, Diese Zeitschrift, Bd. XLVI, S. 136 (1905).

2. 2<sup>1</sup>/<sub>2</sub> Stunden im Luftstrome. Keine CO<sub>2</sub>-Produktion. Zusatz von 2 g FeSO<sub>4</sub> · 7 H<sub>2</sub>O.

3. 1<sup>1</sup>/<sub>2</sub> Stunden im Luftstrome. Lebhaftes CO<sub>2</sub>-Produktion. Das Barytwasser (100 ccm) war übersättigt; die gebildete CO<sub>2</sub>-Menge war also größer als 131 mg.

#### Portion B.

15 Stunden im Luftstrome unter Zusatz von 3 g FeSO<sub>4</sub> · 7 H<sub>2</sub>O. Keine CO<sub>2</sub>-Produktion.

#### Portion C.

15 Stunden im Luftstrome unter Zusatz von 3 g MnSO<sub>4</sub> · 7 H<sub>2</sub>O. Keine CO<sub>2</sub>-Produktion.

#### Versuch 4.

Eine zuckerfreie vergorene Lösung, welche aus einem Gemisch von 10 g Hefanol, 5 g Glukose, 3 g Natriumphosphat und 50 ccm Wasser erhalten und auf die vorstehend beschriebene Weise behandelt war, wurde mit 5 ccm 30%iger H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Lösung und 2 g FeSO<sub>4</sub> · 7 H<sub>2</sub>O versetzt und mit destilliertem Wasser bis auf 100 ccm aufgefüllt. Luftstrom, Temperatur 0°.

Nach 1 Stunde CO<sub>2</sub> = 73,2 mg.

» 3 » CO<sub>2</sub> = 49,6 »

» 3 » CO<sub>2</sub> = 33,6 »

#### Versuch 5.

Eine zuckerfreie vergorene Lösung, erhalten aus einem Gemisch von 25 g Hefanol, 15 g Glukose, 3 g Natriumphosphat und 150 ccm Wasser, wurde in drei gleiche Portionen A, B und C geteilt:

Portion A wurde mit 45 ccm Wasser und 5 ccm 30%iger H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Lösung versetzt und 2 Stunden im Luftstrome bei 0° belassen; hierbei wurde aber keine nennenswerte Menge von CO<sub>2</sub> gebildet. Dann wurde 0,75 g FeSO<sub>4</sub> · 7 H<sub>2</sub>O hinzugefügt. Im Verlaufe von 1 Stunde wurde 34,1 mg CO<sub>2</sub> abgeschieden.

Portion B wurde mit 2 g FeSO<sub>4</sub> · 7 H<sub>2</sub>O versetzt und 18 Stunden im Luftstrome bei Zimmertemperatur (16°—18°) belassen. Keine CO<sub>2</sub>-Produktion.

Portion C wurde mit 2 g Manganacetat versetzt und 18 Stunden im Luftstrome bei Zimmertemperatur belassen. Keine  $\text{CO}_2$ -Produktion.

#### Versuch 6.

Die aus einem Gemisch von 25 g Hefanol, 10 g Glukose, 3 g Natriumphosphat und 80 ccm destilliertem Wasser erhaltene zuckerfreie vergorene Lösung wurde nach der oben angegebenen Methode von Alkohol und Eiweiß befreit. 50 ccm dieser Lösung wurden mit 100 ccm 30%iger Hydroperoxydlösung und 0,3 g  $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$  versetzt und im Luftstrome bei  $0^\circ$  belassen.

1. Nach  $4\frac{1}{2}$  Stunden  $\text{CO}_2 = 14,4$  mg.

2. Nach weiteren 19 Stunden  $\text{CO}_2 = 28,8$  mg. Zusatz: 0,3 g  $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ .

3. Nach 25 Stunden  $\text{CO}_2 = 36,0$  mg. Zusatz: 2 g  $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ .

4. Nach 1 Stunde  $\text{CO}_2 = 61,6$  mg.

Es ist also ersichtlich, daß die bei der fermentativen Alkoholgärung entstehenden Stoffe durch Hydroperoxyd in Gegenwart von Ferrosulfat zu  $\text{CO}_2$  verbrannt werden. Versuche 5 und 6 zeigen, daß die Geschwindigkeit der  $\text{CO}_2$ -Produktion von der Menge des Ferrosalzes in hohem Grade beeinflusst ist. In Gegenwart geringer Menge von Ferrosulfat findet eine langsame, aber tagelang dauernde  $\text{CO}_2$ -Abscheidung statt; setzt man aber eine beträchtliche Menge von Ferrosulfat hinzu, so erfolgt eine stürmische, bis zur  $\text{CO}_2$ -Bildung schreitende Oxydation der Gärungsprodukte. Diese Stoffe werden jedoch durch molekularen Sauerstoff in Gegenwart metallischer Induktoren nicht angegriffen.

Obige Versuche zeigen also, daß sowohl Glukose, als die bei der fermentativen Alkoholgärung entstehenden Stoffe durch Hydroperoxyd in Gegenwart beträchtlicher Mengen von Ferrosulfat zu  $\text{CO}_2$  verbrannt werden; aus den vorstehend dargelegten Betrachtungen ist ersichtlich, daß die Wirkung der Ferroverbindung auf Bildung von sekundärem Eisenperoxyd beruht und also der Wirkung von Peroxydase vollkommen analog ist.

Die erste von den beiden oben aufgeworfenen Fragen ist also gelöst. Es ergab sich, daß bei der Alkoholgärung leicht oxydierbare Stoffe entstehen, welche durch Hydroperoxyd in Gegenwart des Ferroions zu  $\text{CO}_2$  verbrannt werden. Da aber das Ferroion sowohl Glukose, als die Gärungsprodukte oxydiert, so geben die vorstehend beschriebenen Versuche keinen Aufschluß darüber, ob durch Eingreifen der Zymase die Zuckeroxydation wirklich befördert wird. Es muß also noch die zweite Frage beantwortet werden, ob die intermediären Gärungsprodukte von Peroxydase oxydierbar sind. In lebenden Pflanzen wird das Atmungsmaterial durch das System Oxygenase + Peroxydase oxydiert; bei diesem Vorgang spielt die Bildung von sekundärem Peroxyd die Hauptrolle; die primären Peroxyde (Oxygenasen) können also durch andere von Peroxydase aktivierbaren Peroxyde ersetzt werden.

In meinen Versuchen habe ich die Oxydation der Gärungsprodukte durch das System Hydroperoxyd + Peroxydase herbeigeführt. Bereits Palladin<sup>1)</sup> hat die durch Erfrierung abgetöteten Pflanzen mit Hydroperoxyd versetzt und erzielte hierdurch eine zwar sehr langsame, aber tagelang dauernde  $\text{CO}_2$ -Abscheidung. Palladin betont mit Recht, daß derartige Versuche keinen Aufschluß über den Mechanismus der Atmung, aber nur eine Vorstellung von der in den untersuchten Pflanzen vorhandenen Peroxydasemenge geben. Ich habe die nach dem Verfahren von Bach und Chodat dargestellten Peroxydasepräparate verwendet, welche, mit Hydroperoxyd allein versetzt, keine  $\text{CO}_2$ -Abscheidung bewirkten; nach Zusatz von Gärungsprodukten erfolgte aber eine stürmische bis zur  $\text{CO}_2$ -Bildung schreitende Oxydation, die nach kurzer Zeit, infolge des Verbrauches von Peroxydase, ein Ende hatte. Für die Darstellung der Peroxydase habe ich Weizenkeime verwendet. In je einen Versuchskolben wurde eine Peroxydasemenge hineingetan, welche aus 100 g Weizenkeime im Verlaufe von 4 Tagen mit 500 Chloroformwasser extrahierbar ist. Aus diesem Extrakte wurde Peroxydase nach den An-

<sup>1)</sup> Palladin, Diese Zeitschrift, Bd. XLVII, S. 407 (1906).

gaben von Chodat<sup>1)</sup> mit Alkohol gefällt. Nachdem der Niederschlag sich abgesetzt hat, wurde er abfiltriert, mit 95%igem Alkohol ausgewaschen, nach dem Abtropfen auf eine Glasplatte übertragen und nach dem Verschwinden des Alkoholgeruchs in 30 ccm destilliertem Wasser (bezw. Kaliumphosphatlösung) gelöst. Ein dauerndes Trocknen scheint die oxydierende Wirkung der Peroxydase auf Gärungsprodukte zu beeinträchtigen, während die Guajakreaktion hierdurch nicht gehemmt wird. Stark hemmend wirkt ein selbst minimaler Überschuß von H<sup>+</sup>-Ionen; es muß daher immer darauf Rücksicht genommen werden, daß der Inhalt der Versuchskolben saure Reaktion nicht aufweist. Ebenso schädlich wirkt ein Überschuß von Äthylalkohol.

Die auf die beschriebene Weise dargestellten Präparate enthielten immer eine bedeutende Menge von Katalase; dieser Umstand bereitete große Schwierigkeiten, denn nach Zusatz von Hydroperoxyd zerstört die Katalase nicht nur dieses, sondern mithin auch die Peroxydase. Davon kann man sich auf folgende Weise vergewissern: versetzt man eine Lösung von katalasehaltigem Peroxydasepräparat mit Guajakolemulsion und Hydroperoxyd, so tritt, trotz ausgiebigen Schäumens, sofort die charakteristische Färbung auf; wenn man aber in der Weise verfährt, daß man zunächst nur einen Überschuß von Hydroperoxyd und erst nach beendigter Gasentwicklung Guajakol hinzusetzt, so bleibt die Flüssigkeit farblos; nach Zusatz von frischer Peroxydase erfolgt sofort die Farbenreaktion. Nach dauerndem Stehen ist die Wirkung von Katalase stark gelähmt, während diejenige von Peroxydase nur wenig abgeschwächt ist. Viel bequemer ist es jedoch, die Katalasewirkung durch Kaliumphosphat zu mildern.<sup>2)</sup> Wenn man das katalasehaltige Peroxydasepräparat nicht in destilliertem Wasser, sondern in einer etwa 5%igen Lösung von K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> auflöst und die Nacht über stehen läßt, so ist am folgenden Tage die Katalase-

<sup>1)</sup> Chodat, Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden von Abderhalden, Bd. III, S. 45 (1910).

<sup>2)</sup> Preobraschensky, Travaux de la Société impériale des Naturalistes de St. Pétersbourg, Bd. XL, S. 276 (1910); russisch.

wirkung entweder ganz aufgehoben, oder wenigstens bedeutend abgeschwächt.<sup>1)</sup> Es ist übrigens zu betonen, daß eine ganz schwache Tätigkeit der Katalase diejenige der Peroxydase sehr stark herabsetzt. In lebenden Pflanzen wird Peroxydase von Katalase nicht gehemmt, da letztere nur Hydroperoxyd zersetzt und auf die organischen Peroxyde (Oxygenasen) keine Wirkung ausübt.

Die zu oxydierenden Gärungsprodukte wurden auf folgende Weise erhalten: Glukoselösungen wurden ohne Zusatz von Phosphaten 1—3 Stunden der Einwirkung von Hefanol unterworfen; die so kurze Dauer der Gärung wurde aus dem Grunde bevorzugt, daß Glukose von Hydroperoxyd + Peroxydase zu  $\text{CO}_2$  nicht verbrannt wird; folglich kann die Anwesenheit von nicht vergorenem Zucker die Versuchsergebnisse keineswegs entstellen; andererseits bilden sich die primären labilen Zwischenprodukte hauptsächlich in den anfänglichen Stadien des Gärungsprozesses, wie es auch Lebedew (l. c.) hervorhebt. Ich habe immer drei Kolben mit je 5 g Glukose, 10 g Hefanol und 50 ccm destilliertem Wasser versetzt. Im ersten Kolben wurde die Gärung nach 1 Stunde, im zweiten nach 2 Stunden und im dritten nach 3 Stunden durch Erhitzen auf  $100^\circ$  eingestellt. Dann wurden die Lösungen filtriert, die drei Filtrate vereinigt, nochmals zum Beginn des Siedens erhitzt, abgekühlt und zu den Versuchszwecken verwendet. Nachstehend bezeichne ich die so dargestellte Flüssigkeit kurz gefaßt als «Lösung der Gärungsprodukte».

Der erste Versuch zeigt, daß die Gärungsprodukte durch Hydroperoxyd allein nicht oxydierbar sind; in Gegenwart von Hydroperoxyd und Peroxydase aus Weizenkeimen findet aber eine bis zur  $\text{CO}_2$ -Bildung schreitende Oxydation der Gärungsprodukte statt. Alle nachstehend beschriebenen Versuche waren bei Zimmertemperatur ( $16$ — $18^\circ$ ) ausgeführt.

---

<sup>1)</sup> Die so dargestellten Peroxydaselösungen sind selbstverständlich vor dem Gebrauche zu neutralisieren, da sonst eine nicht zu unterschätzende  $\text{CO}_2$ -Menge von  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  gebunden werden kann.

## Versuch 7.

- A. Lösung der Gärungsprodukte . . . . 50 ccm  
 Destilliertes Wasser . . . . . 45 »  
 30%ige Hydroperoxydlösung . . . . . 5 »  
 Luftstrom im Verlaufe von 20 Stunden. Keine CO<sub>2</sub>-Produktion.
- B. Lösung der Gärungsprodukte . . . . 50 ccm  
 Destilliertes Wasser . . . . . 45 »  
 30%ige Hydroperoxydlösung . . . . . 5 »  
 Lösung von Peroxydase (katalasefrei)<sup>1)</sup> 30 »  
 Luftstrom im Verlaufe von 20 Stunden. CO<sub>2</sub> = 91,2 mg.

Am Ende des Versuches war die Peroxydase vollständig verbraucht. Guajakolprobe negativ (nach Zusatz von frischer Peroxydase positiv).

Der vorstehende Versuch dauerte 20 Stunden, doch war die gesamte CO<sub>2</sub>-Menge im Verlaufe der anfänglichen Stunden gebildet, wie es aus den nachfolgenden Versuchen zu ersehen ist.

## Versuch 8.

- A. Lösung der Gärungsprodukte . . 75 ccm  
 30%ige Hydroperoxydlösung . . 15 »  
 Peroxydase (katalasefrei).

## Luftstrom.

- Nach 1/2 Stunde . . CO<sub>2</sub> = 46,4 mg  
 » 4 Stunden . . » = 43,6 »  
 » 20 » . . » = 0,0 »

Summe . . CO<sub>2</sub> = 90,0 mg

Am Ende des Versuches war die Peroxydase verbraucht. Guajakolprobe negativ.

- B. 5%ige Glukoselösung . . . . 75 ccm  
 30%ige Hydroperoxydlösung . . 15 »  
 Peroxydase (dasselbe Präparat).

Luftstrom im Verlaufe von 20 Stunden. CO<sub>2</sub> = 1,6 mg.

- C. Lösung der Gärungsprodukte . . 75 ccm  
 30%ige Hydroperoxydlösung . . 15 »

Luftstrom im Verlaufe von 20 Stunden. Keine CO<sub>2</sub>-Produktion.

<sup>1)</sup> Dieses Präparat ist nach eintägigem Stehen ohne Zusatz von Phosphaten katalasefrei geworden.



Dieser Versuch zeigt, daß weder Glukose durch Hydroperoxyd + Peroxydase, noch die Gärungsprodukte durch Hydroperoxyd allein zu  $\text{CO}_2$  oxydierbar sind; das System Hydroperoxyd + Peroxydase bewirkt aber eine bis zur  $\text{CO}_2$ -Bildung schreitende Oxydation der Gärungsprodukte. Die  $\text{CO}_2$ -Produktion hört auf, sobald die Peroxydase verbraucht ist.

### Versuch 9.

- A. Lösung der Gärungsprodukte . . 75 ccm  
 30%ige Hydroperoxydlösung . . 15 »  
 Peroxydase (etwas katalasehaltig).  
 Luftstrom.  
 Nach 3 Stunden . .  $\text{CO}_2 = 26,2$  mg  
 » 20 » . .  $\text{CO}_2 = 0,0$  »
- B. 5%ige Glukoselösung . . . . . 75 ccm  
 30%ige Hydroperoxydlösung . . 15 »  
 Peroxydase (dasselbe Präparat).  
 Nach 3 Stunden . . .  $\text{CO}_2 = 1,4$  mg  
 » 20 » . . .  $\text{CO}_2 = 0,0$  »

Dieser Versuch stimmt im wesentlichen mit den vorstehenden Versuchen überein. Die geringere  $\text{CO}_2$ -Produktion ist offenbar darauf zurückzuführen, daß der größte Teil von Peroxydase durch die anwesende Katalase zerstört worden war.

Folgender Versuch zeigt, daß Alkohol durch Peroxydase zu  $\text{CO}_2$  nicht oxydiert wird und sogar die Oxydation der Gärungsprodukte hemmt.

### Versuch 10.

- A. Lösung der Gärungsprodukte . . 50 ccm  
 30%ige Hydroperoxydlösung . . 15 »  
 Peroxydase (etwas katalasehaltig).  
 Luftstrom.  
 Nach 8 Stunden . .  $\text{CO}_2 = 35,0$  mg  
 » 12 » . .  $\text{CO}_2 = 0,0$  »
- B. Lösung der Gärungsprodukte . . 50 ccm  
 30%ige Hydroperoxydlösung . . 15 »  
 Äthylalkohol 95% . . . . . 10 »  
 Peroxydase (dasselbe Präparat).

Luftstrom im Verlaufe von 12 Stunden. Keine  $\text{CO}_2$ -Produktion.

C. 5 %ige Glukoselösung . . . . . 50 ccm

30 %ige Hydroperoxydlösung . . . . . 15 »

Peroxydase (dasselbe Präparat).

Luftstrom.

Nach 6 Stunden . . .  $\text{CO}_2 = 4,2 \text{ mg}$

» 12 » . . .  $\text{CO}_2 = 0,0 \text{ »}$

Aus dem nachfolgenden Versuche ist ersichtlich, daß die saure Reaktion der Lösung eine hemmende Wirkung auf Peroxydase ausübt.

### Versuch 11.

Lösung der Gärungsprodukte . . . . . 50 ccm.

30 %ige Hydroperoxydlösung . . . . . 5 »

Peroxydase (durch Zusatz von  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  schwach sauer gemacht).

Luftstrom.

Nach 3 Stunden . . .  $\text{CO}_2 = 1,4 \text{ mg}$

Neutralisiert mit KHO.

Nach 3 Stunden . . .  $\text{CO}_2 = 23,4 \text{ mg}$ .

Die beschriebenen Versuche ergaben ein und dasselbe Resultat: nur die Zwischenprodukte der Alkoholgärung sind durch Peroxydase unter Bildung bedeutender Menge von  $\text{CO}_2$  oxydierbar. Es ist somit zum erstenmal gelungen, ein oxydierendes Pflanzenferment für die Verbrennung der Produkte des pflanzlichen Stoffwechsels mit Erfolg anzuwenden, denn bisher wurden mit Hilfe von Peroxydase nur Oxydationen ausgeführt, welche in der lebenden Pflanze meistens kaum stattfinden sollten und jedenfalls nicht zur  $\text{CO}_2$ -Bildung schritten. Besonders wichtig scheint aber gerade der Umstand zu sein, daß bei der Oxydation der Gärungsprodukte durch Peroxydase  $\text{CO}_2$  gebildet wird, denn es ist dies eine Stütze für die Annahme, daß Peroxydase am Atmungsprozesse direkt beteiligt ist. Die in meinen Versuchen ausgeführten Oxydationen unterscheiden sich von den sich bei der Atmung abspielenden Prozessen wahrscheinlich nur in der Beziehung, daß Oxygenase durch Hydroperoxyd

ersetzt war; dieser Umstand ist aber von geringer Bedeutung, da die Wirkung der Peroxydase, den oben angegebenen Erörterungen zufolge, derjenigen des Ferroions durchaus analog und auf eine Koppelung durch Zwischenstufe des Induktors zurückzuführen ist; hierbei spielt die chemische Natur des Aktors keine Rolle. In unserem Falle bildet sich aus verschiedenartigen primären Peroxyden ein und dasselbe sekundäre Peroxyd, und nur dieses bewirkt sodann die Oxydation der Acceptoren. Der Verbrauch von Peroxydase bei dem Oxydationsvorgang deutet darauf hin, daß letztere nicht als Katalysator, sondern als Induktor fungiert.<sup>1)</sup> Auch das Ferrosalz wird bei dem Oxydationsvorgang verbraucht, denn das aus  $\text{Fe}^{\text{II}}$  entstehende  $\text{Fe}^{\text{V}}$  geht unter Abgabe des aktivierten Sauerstoffs in  $\text{Fe}^{\text{III}}$  über; letzteres ist aber zur Peroxydbildung unfähig. Es sei hier beiläufig bemerkt, daß meine Peroxydasepräparate keine Reaktionen der anorganischen Ferroverbindungen gaben; übrigens hat Bach<sup>2)</sup> nachgewiesen, daß die oxydierende Wirkung von Oxydasen überhaupt nicht auf die Anwesenheit von Ferro- oder Manganverbindungen zurückzuführen ist.

Auch die Rolle der Zymase im Pflanzenorganismus ist nunmehr begreiflicher geworden. Die fortwährend bei tadelloser Aeration vegetierenden und unter normalen Umständen keinen Alkohol erzeugenden Pflanzen enthalten immer nicht zu unterschätzende Mengen von Gärungsfermenten, welche für die betreffenden Organismen auf den ersten Blick als vollkommen überflüssig erscheinen. In Wirklichkeit sind aber die Gärungsfermente für den Atmungsprozeß unentbehrlich, da dieselben eine Umwandlung des vorrätigen Betriebsmaterials in leicht oxydierbare Acceptoren bewirken. Wenn die Alkoholgärung der Saccharomyceten vom Luftsauerstoff unabhängig ist, so rührt dies, wie Palladin<sup>3)</sup> sehr richtig bemerkt, nur

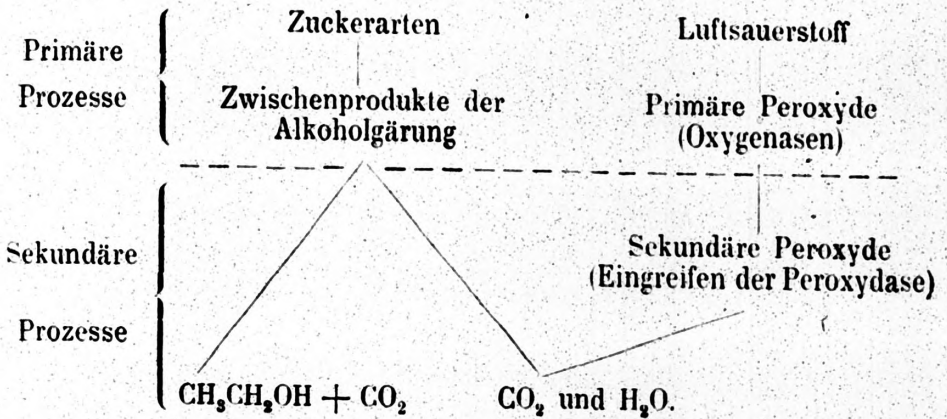
<sup>1)</sup> In lebender Pflanze könnte die Induktion durch eine Änderung der Geschwindigkeiten der einzelnen Reaktionen in Katalyse übergehen. Diese Voraussetzung ist aber keineswegs als bewiesen oder gar als sehr wahrscheinlich anzusehen.

<sup>2)</sup> Bach, Chemische Berichte, Bd. XLIII, S. 364 und 366 (1910).

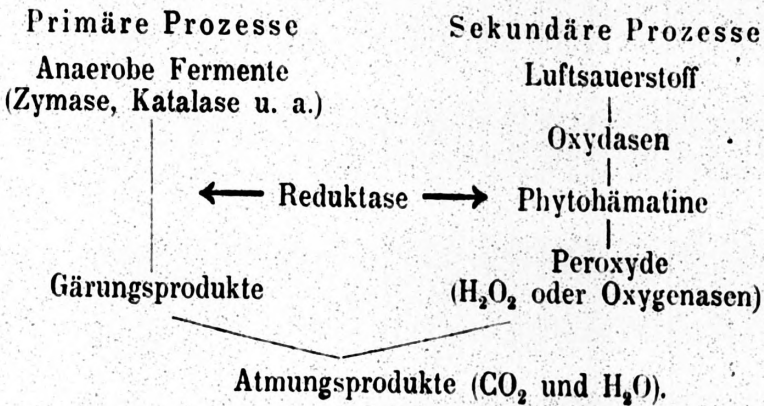
<sup>3)</sup> Palladin, Biochemische Zeitschrift, Bd. XVIII, S. 176 (1909).

davon her, daß die Hefe über eine äußerst geringe Menge der oxydierenden Agenzien verfügt; wegen der mangelnden Aktivierung des molekularen Sauerstoffs wird der größte Teil der bei der Gärung gebildeten Acceptoren nicht oxydiert, sondern zu Alkohol und  $\text{CO}_2$  verarbeitet.

Den Verlauf der hauptsächlichsten Phasen der Zucker-  
veratmung stelle ich durch folgendes Schema dar:



Palladin<sup>1)</sup> hat vor einiger Zeit den Atmungsprozeß der Pflanzen in folgende Phasen eingeteilt:



Auf Grund der oben angegebenen Erörterungen halte ich nur die intermediären Gärungsprodukte für die bei der Atmung zu oxydierenden Acceptoren und betrachte die Alkoholbildung als eine Nebenreaktion. Den Ergebnissen meiner Versuche zufolge dürfte diese ausführlichere Einteilung als wohl berechtigt erscheinen. Wenn andererseits Palladin die Sauerstoffaktivierung als einen sekundären Vorgang bezeichnet, so ist

<sup>1)</sup> Palladin, Biochemische Zeitschrift, Bd. XVIII, S. 202 (1909).

dies nur ein scheinbarer Widerspruch mit meiner Auffassung, da es sich hier offenbar bloß um eine verschiedene Ausdrucksweise handelt; vom biochemischen Standpunkt aus ist die Sauerstoffaufnahme nach dem Palladinschen Schema wohl ebenfalls als eine primäre Phase der Atmung anzusehen. In Übereinstimmung mit Bach und Engler halte ich die primären Peroxyde (Oxygenasen) für die ersten Produkte der Sauerstoffaufnahme. Die Anteilnahme der pflanzlichen Chromogene (Phytohämatine) an den sekundären Oxydationsvorgängen nimmt Palladin wohl aus dem Grunde an, da es damals noch nicht gelungen war, durch oxydierende Pflanzenfermente Pflanzenstoffe direkt zu  $\text{CO}_2$  zu verbrennen. Nachdem ich es jedoch erzielt habe, halte ich die Annahme für wahrscheinlicher, daß die bei der Gärung entstehenden Acceptoren von den sekundären Peroxyden ohne Mitwirkung anderweitiger Stoffe zu den Endprodukten der Atmung oxydiert werden. Den Chromogenen sollte also eine andere Rolle, und zwar diejenige der Sauerstoffspeicher zukommen. Diese Bedeutung der pflanzlichen Chromogene hat Palladin<sup>1)</sup> in einer früher veröffentlichten Mitteilung hervorgehoben und hierbei darauf hingewiesen, daß die so präziserte Rolle der Chromogene mit derjenigen des Blutfarbstoffs identisch ist. Nach dem trefflichen Ausdrucke Bredigs<sup>2)</sup> ist das Oxyhämoglobin nicht als Sauerstoffaktivator, sondern als Sauerstoffspeicher zu bezeichnen; für die eigentliche Oxydation des Atmungsmaterials hat das Oxyhämoglobin keine Bedeutung.

Schließlich muß noch die Nebenreaktion der Alkoholbildung kurz besprochen werden. Da der Alkohol kein Zwischenprodukt der Atmung ist, so ist die Frage am Platze, auf welche Weise der in den Pflanzengeweiben etwa entstandene Alkohol<sup>3)</sup> entfernt bzw. verbraucht wird? In einer früher publizierten Arbeit<sup>4)</sup> habe ich dargetan, daß einige Pflanzen

<sup>1)</sup> Palladin, Diese Zeitschrift, Bd. LV, S. 221 (1908).

<sup>2)</sup> Bredig, Anorganische Fermente, S. 87 (1901).

<sup>3)</sup> Eine Alkoholbildung könnte z. B. bei zeitweiligem Sauerstoffmangel erfolgen.

<sup>4)</sup> Kostytschew, Biochemische Zeitschrift, Bd. XV, S. 164 (1908).

gar nicht imstande sind, Alkohol zu oxydieren; auch in den Fällen, wo diese Oxydation zustande kommt, schreitet sie nicht bis zur  $\text{CO}_2$ -Bildung. Findet keine Oxydation des Alkohols statt, so wird dieser offenbar schlechthin bei der Transpiration abgeschieden; eine Oxydation des Alkohols könnte aber zu der Zuckersynthese führen, wenn z. B. Äthylalkohol zu Glykolaldehyd oxydiert würde; aus Glykolaldehyd bilden sich sehr leicht zuckerartige Kondensationsprodukte. Vom rein chemischen Standpunkte aus ist freilich eine Oxydation des Alkohols zu Acetaldehyd und Essigsäure als wahrscheinlicher anzusehen.

---