

ACTA BOTANICA FENNICA 41
EDIDIT
SOCIETAS PRO FAUNA ET FLORA FENNICA

PERMEABILITÄTSSTUDIEN AN CHARA CERATOPHYLLA

II. DIE PERMEABILITÄT FÜR NICHELEKTROLYTE

VON

RUNAR COLLANDER UND HUGO BÄRLUND

VORGELEGT AM 14. DEZEMBER 1932

HELSINGFORSIAE 1933

HELSINGFORS
1 9 3 3
DRUCK VON A.-G. F. TILGMANN

Inhalt.

	Seite
I. Einleitung	5
II. Methodisches	6
A. Beschreibung der allgemeinen Versuchsmethodik	6
B. Besprechung der Fehlerquellen	8
C. Auswahl, Herkunft, Reinigung und Benennung der benutzten Chemikalien	15
III. Allgemeine Gesetzmässigkeiten hinsichtlich der Aufnahme und Abgabe von Nichtelektrolyten seitens der <i>Chara</i> -Zellen	16
A. Der Gleichgewichtszustand	17
1. Bisherige Befunde an anderen Zellen	17
2. Einzelbefunde an <i>Chara</i>	17
3. Zusammenfassung und Schlussfolgerungen	23
B. Die Gültigkeit des Diffusionsgesetzes	24
C. Wie verteilt sich der Diffusionswiderstand der Zellen auf Zellwand, Zytoplasma und Zellsaft?	34
1. Versuche mit abgetöteten Zellen	35
2. Versuche mit der isolierten Zellwand	38
D. Die Permeabilität der Zellgrenzschichten in entgegengesetzten Richtungen	39
E. Beeinflussung der Permeabilität seitens der permeierenden Stoffe	42
1. Einfluss grosser Zuckerkonzentrationen	43
a. Aufnahme von Zucker aus verschiedenen konzentrierten Lösungen	43
b. Einfluss des Zuckers auf die Permeation anderer Verbindungen	45
2. Einfluss lipoidlöslicher Verbindungen	45
3. Weitere Fälle	46
F. Besitzen verschiedene Teile der Zelloberfläche eine verschiedene Permeabilität?	48
IV. Das Permeiervermögen der einzelnen Verbindungen	50
A. Das Permeiervermögen der gelösten Substanzen	50
1. Wie ist der Vergleich hinsichtlich des Eindringungsvermögens durchzuführen?	51
2. Wie ist der Vergleich hinsichtlich des Permeiervermögens durchzuführen?	52
3. Die Ergebnisse	54
B. Die relative Permeabilität für Wasser	63
C. Beziehungen zwischen Permeiervermögen und chemischer Konstitution	71

	Seite
V. Die Permeabilitätshypothesen	72
A. Die Adsorptionshypothese	73
B. Die Lipoidlöslichkeitshypothese	79
1. Sind bestimmte Beziehungen zwischen der relativen Lipoidlöslichkeit und dem Permeiervermögen zu erwarten, falls die Lipoidlöslichkeitshypothese zu recht besteht?	79
2. Die »Lipoidlöslichkeit« der untersuchten Substanzen	82
a. Der Verteilungskoeffizient Äthyläther:Wasser	82
b. Der Verteilungskoeffizient Olivenöl:Wasser sowie (Olivenöl + Ölsäure):Wasser	84
c. Beziehungen zwischen Ätherlöslichkeit, Öllöslichkeit und Ölsäurelöslichkeit der untersuchten Verbindungen	88
3. Beziehungen zwischen Lipoidlöslichkeit und Permeiervermögen	91
C. Die Ultrafilterhypothese	96
D. Zusammenfassendes über die Theorie der Zelldurchlässigkeit bei <i>Chara</i>	99
VI. Vergleich mit anderen Zellen	100
VII. Betrachtungen über die wahrscheinliche Dicke der Plasmahaut	106
VIII. Zusammenfassung.	108
Zitierte Literatur.	111

I. Einleitung.

Systematische Studien über die Permeabilität des lebenden Protoplasmas für eine grössere Anzahl verschiedenartiger Nichtelektrolyte sind bisher nur an verhältnismässig wenigen Zellarten durchgeführt worden. Als die vorliegende Untersuchung im Sommer 1928 angefangen wurde, lagen eingehendere diesbezügliche Angaben nur für vier Objekte vor, und zwar 1) für die Muskeln des Frosches, untersucht von OVERTON (1902), 2) für die Zellen von *Beggiatoa mirabilis*, untersucht von RUHLAND und C. HOFFMANN (1925) sowie später von SCHÖNFELDER (1930), 3) für die Epidermiszellen von *Rhoeo discolor*, untersucht von uns (COLLANDER und BÄRLUND 1926, BÄRLUND 1929), und 4) für die Erythrocyten des Rindes, untersucht von MOND und FR. HOFFMANN (1928). Die Untersuchung eines weiteren Objektes, welches in systematischer und physiologischer Hinsicht allen vorher untersuchten fern steht, schien daher schon an und für sich wünschenswert.

Unser Ziel war aber diesmal nicht bloss, der obigen Objektenreihe ein weiteres Glied hinzuzufügen. Vielmehr verfolgten wir darüber hinaus noch zwei weitere Zwecke, indem wir nämlich nach *eindeutigeren* und *strenger quantitativen* Permeabilitätsbestimmungen als die bisherigen strebten. Sämtliche bisherige Untersuchungen über die Permeabilität der Protoplasten für Nichtelektrolyte basieren ja auf der Anwendung der sog. osmotischen Methoden der Permeabilitätsbestimmung. Bekanntlich sind aber in neuerer Zeit von mehreren Seiten ernste Bedenken gegen die Zuverlässigkeit dieser Methoden und vor allem gegen die plasmolytische Methode ausgesprochen worden (z. B. HANSTEEN CRANNER 1922 S. 136 f., STILES 1924, CHOLODNY 1924, ILJIN 1928, GELLHORN 1929 S. 65, DERRY 1929, KOSTYTSCHEW und WENT 1931 S. 57 f., WEBER 1932). Trotzdem wir persönlich der Ansicht sind, dass die osmotischen Methoden, mit der nötigen Kritik gehandhabt, recht zuverlässige Ergebnisse liefern können, schien es uns immerhin in Anbetracht der gegen sie erhobenen Einwände sehr wünschenswert, einmal das Permeiervermögen verschiedener Nichtelektrolyte mittelst einer ganz andersartigen Methode zu studieren, die von den speziellen Fehlerquellen der osmotischen Methoden frei ist. Im Falle unseres Versuchsobjektes, der grossen Blattzellen von *Chara ceratophylla*, war dies auf dem Wege quantitativer mikrochemischer Analysen des Zellsaf-

tes leicht zu erreichen. In dieser Weise konnten auch strenger quantitative Ergebnisse als mit den meisten bisherigen Permeabilitätsbestimmungsmethoden erhalten werden.

Bisher haben wir die Permeabilität unseres Versuchsobjektes nur unter etwas willkürlich gewählten Versuchsbedingungen untersucht, nämlich hauptsächlich an Zellen, die sich bei gewöhnlicher Zimmertemperatur und vollständiger Dunkelheit in künstlichem Standortswasser befinden. Die zu prüfenden Substanzen wurden dabei meist in Konzentrationen von 0,05—0,25 GM benutzt. Wenn möglich, soll später der Einfluss verschiedener Milieufaktoren auf die Permeabilität unseres Objektes untersucht werden.

Anschliessend an die Permeabilitätsbestimmungen haben wir uns aber noch eine weitere Aufgabe gestellt, die gleichfalls recht viel Arbeit erfordert hat. Bekanntlich enthält die Literatur noch immer, trotz der lebhaften Diskussion über die Bedeutung der »Lipoidlöslichkeit« für die Permeation, nur äusserst dürftige Daten über die tatsächliche Lipoidlöslichkeit verschiedener Substanzen. Um diesem Mangel wenigstens teilweise abzuhelpen, haben wir soweit möglich für alle Verbindungen, deren Permeiervermögen gegenüber den *Chara*-Zellen untersucht wurde, auch die Verteilung zwischen Olivenöl und Wasser sowie zwischen Olivenöl + Ölsäure und Wasser ermittelt.

II. Methodisches.

A. Beschreibung der allgemeinen Versuchsmethodik.

Das Prinzip der von uns hauptsächlich benutzten Methode besteht darin, die zu untersuchenden Zellen (die bereits im ersten Teil dieser Permeabilitätsstudien beschrieben sind) eine bestimmte Zeit in einer Lösung des zu prüfenden Stoffes zu halten und die während dieser Zeit eingedrungenen Stoffmengen durch Analyse des aus den Zellen isolierten Zellsaftes zu bestimmen.

Die Einzelheiten des Verfahrens gehen aus folgendem hervor:

Die *Chara*-Pflanzen wurden wenigstens etwa alle 8 Tage aus der Natur geholt und im Laboratorium in einer Salzlösung aufbewahrt, deren Zusammensetzung derjenigen des natürlichen Standortswassers der Hauptsache nach entspricht. Dieses »künstliche Brackwasser« wurde hergestellt durch Zufügen von solchen Mengen Natriumchlorid, Kaliumchlorid, Magnesiumchlorid, Calciumchlorid, Magnesiumsulfat und Natriumbicarbonat zum Helsingforscher Leitungswasser, dass die resultierende Lösung pro Liter etwa 66 Milliäquivalente Na, 1,4 Milliäq. K, 15 Milliäq. Mg, 3 Milliäq. Ca, 77 Milliäq. Cl, 8

Milliäq. SO_4 und 0,4 Milliäq. HCO_3 enthielt. Die Reaktion der Lösung war ziemlich genau neutral.

Vor jedem Versuch wurde die nötige Anzahl *Chara*-Blätter gepflickt und auf etwa je 15 Blätter umfassende Portionen verteilt, die unter sich in Bezug auf Grösse, Form, Farbe und Vorgeschichte der Zellen möglichst gleichartig waren. Wenn nötig, wurden die Zellen, die fortwährend in künstlichem Brackwasser aufbewahrt wurden, durch vorsichtiges Bürsten mit einem weichen Pinsel von anhaftenden Verunreinigungen befreit.

Die hinsichtlich ihres Permeiervermögens zu prüfenden Stoffe wurden immer in dem oben gekennzeichneten künstlichen Brackwasser gelöst. (Nur ausnahmsweise wurde, damit der osmotische Wert der Lösung nicht zu hoch werde, fünfmal verdünntes künstliches Brackwasser als Lösungsmittel verwendet.) Da die *Chara*-Zellen eine Plasmolyse schlecht vertragen (vgl. JOST 1929), wurde die Konzentration der Lösungen immer so niedrig gewählt, dass keine auch nur vorübergehende Plasmolyse zustandekam. Nur frisch bereitete Lösungen wurden verwendet.

Die Lösungen wurden in Mengen von etwa 25—50 ccm auf kleine Erlenmeyerkölbchen verteilt. In diesen wurden die Zellportionen, nachdem das überschüssige Wasser von ihnen abgelaufen war, eingeführt. Um Sauerstoffmangel zu vermeiden, wurden die Kölbchen meistens nicht verschlossen. Bei langdauernden Versuchen wurden die Lösungen in Zwischenräumen von ein paar Tagen gewechselt, um allzu grosse Konzentrationsänderungen infolge Verdunstung oder Zersetzung zu vermeiden. Die Kölbchen mit den Zellen wurden in einem Dunkelzimmer aufbewahrt, dessen Temperatur nur sehr allmählichen Schwankungen unterworfen war. Meistens standen die Kölbchen hier auf einer elektrisch getriebenen Schüttelmaschine. Bei sehr langsam permeierenden Verbindungen wurde jedoch das Schütteln unterlassen. Im Falle sehr schnell permeierender Substanzen wurden dagegen die *Chara*-Blätter einzeln bei gedämpftem Tageslicht mit einer Pinzette in der Lösung hin und her bewegt.

Nach Ablauf der jeweiligen Versuchszeit wurden die Blätter einzeln oder zu zweit aus der Lösung aufgenommen und auf vorher bereitgelegten Filterpapierstückchen abgetrocknet. Im Falle langsam oder mässig schnell permeierender Verbindungen geschah dies Abtrocknen recht sorgfältig, bei sehr schnell permeierenden Stoffen dagegen notgedrungen ziemlich eilig. Um das Abtrocknen zu erleichtern, waren im letzteren Falle sämtliche abstehende »Blättchen« schon im voraus von den Blättern entfernt. Bei den Versuchen mit langsam oder mässig schnell permeierenden Stoffen kamen die Blätter dagegen unversehrt in die zu prüfenden Lösungen, um eine traumatische Beeinflussung der Permeabilität nach Möglichkeit zu vermeiden. Nach dem Abtrocknen wurde die grösste Zelle jedes Blattes mit einer Nadel aufgestochen und der

Zellsaft aus ihr isoliert und in eine Kapillarpipette eingesogen. Wenn eine genügende Menge »Rohzellsaft« in dieser Weise gesammelt war (je nach der Grösse der Zellen aus etwa 6—12 Zellen), wurde er, wie im ersten Teil dieser Permeabilitätsstudien (COLLANDER 1930 S. 7) beschrieben, in eine 0,1 ccm fassende, in 0,001 ccm geteilte Kapillarpipette hineinfltriert und hier gemessen. Aus jeder Blattportion wurde in dieser Weise etwa 0,05—0,1 ccm filtrierter Zellsaft gewonnen.

Zur quantitativen Bestimmung der im isolierten Zellsaft jeweils vorhandenen permeierten Stoffmengen wurden nur zwei Verfahren benutzt: die meisten N-haltigen Stoffe wurden mittelst der Mikro-Kjeldahlmethode bestimmt, alle N-freien und einzelne N-haltige Verbindungen dagegen mittelst der Chromsäuremethode, welche von BANG (1927) zur Bestimmung der Blutlipide ausgearbeitet worden ist. Da der Zellsaft schon an sich wechselnde Mengen von N-Verbindungen und reduzierenden Stoffen enthält, wurden immer wenigstens zwei (in kritischen Fällen zahlreichere) den eigentlichen Versuchsblattportionen möglichst ähnliche Kontrollportionen im Dunkelmzimmer in künstlichem Brackwasser gleichzeitig mit den Versuchsportionen gehalten und in derselben Weise wie diese der Analyse unterworfen. Aus der Differenz zwischen Versuchs- und Kontrollzellen hinsichtlich des N-Gehaltes bzw. des Reduktionsvermögens des Zellsaftes wurde dann die Konzentration des permeierten Stoffes im Zellsaft berechnet.

Bei der Auswertung der Versuchsergebnisse kommt es im allgemeinen weniger auf die absolute Konzentration der permeierenden Verbindung im Zellsaft an als vielmehr auf das Verhältnis ihrer Konzentration im Zellsaft zu ihrer Konzentration in der Aussenlösung oder aber auf das Verhältnis ihrer jeweiligen Konzentration im Zellsaft zu ihrer Gleichgewichtskonzentration daselbst. Die letztgenannte Verhältniszahl nennen wir im folgenden den *Sättigungsgrad* des Zellsaftes in Bezug auf den in Rede stehenden Stoff. Also:

$$\text{der Sättigungsgrad} = \frac{c}{C},$$

wo c die jeweilige Konzentration der permeierenden Substanz im Zellsaft und C ihre Konzentration daselbst nach erreichtem Gleichgewicht bedeutet. Die Tatsache wiederum, dass die Konzentration irgendeiner Verbindung im Zellsaft a Prozent ihrer Konzentration in der Aussenlösung beträgt, bezeichnen wir mit dem Ausdruck: der Zellsaft enthält a Rel.-Proz. von dieser Verbindung.

B. Besprechung der Fehlerquellen.

Das in vorliegender Arbeit benutzte Verfahren gehört zweifellos zu den direktesten und daher sichersten der vielen bisher benutzten Permeabilitätsbestimmungsmethoden. Trotzdem müssen auch bei dieser Arbeitsweise mehrere

Fehlerquellen berücksichtigt werden. Dieselben sollen unten besprochen werden.

1. *Schwankungen hinsichtlich der relativen Oberflächengrösse der benutzten Zellen sowie bezüglich der Temperatur und der Schüttelgeschwindigkeit*¹⁾ konnten nicht vermieden werden. Ihr Einfluss auf die Schlussfolgerungen wird aber dadurch grösstenteils eliminiert, dass in der vorliegenden Arbeit nur solche Analysendaten direkt miteinander verglichen werden, die *gleichzeitig* an *möglichst gleichartigen* Zellportionen gewonnen sind. Nur im Falle der am allerschnellsten permeierenden Verbindungen konnten die Zellen nicht gleichzeitig geschüttelt, sondern mussten sie nacheinander mit der Pinzette in der Lösung bewegt werden. Bei diesen Versuchen sind also grössere Ungenauigkeiten denkbar.

2. *Fehler bei der Abmessung der Permeationszeit* können nur im Falle der am schnellsten permeierenden Verbindungen, die bloss wenige Minuten oder Bruchteile von Minuten auf die Zellen einwirken dürfen, eine nennenswerte Rolle spielen.

3. *Die Grösse der Analysenfehler* lässt sich nicht genau angeben, da nicht alle Analysen von derselben Person ausgeführt wurden. Da alle Bestimmungen wenigstens in duplice ausgeführt, meist aber mehrere Male wiederholt wurden, dürften jedoch grobe Analysenfehler bei den in vorliegender Arbeit besprochenen Versuchen ausgeschlossen sein. Einzelne offenbar unrichtige Mikro-Kjeldahlbestimmungen mussten verworfen werden.

4. *Verunreinigung des Zellsaftes mit Spuren der Aussenlösung* kann bei der Isolierung des Zellsaftes vorkommen. Bei vorsichtigem Arbeiten bleibt aber die Beimischung von Aussenlösung immer sehr gering. Das zeigt u. a. folgender Versuch:

Versuch A 93. 16. VII. 1931. Von acht unter sich möglichst gleichartigen Zellportionen²⁾ kommen vier auf 20–30 Minuten in einer 0,2 molaren Lösung von Rohrzucker in künstlichem Brackwasser, die übrigen vier verbleiben dagegen in reinem künstl. Brackwasser. Dann wird der Zellsaft aus jeder Portion getrennt isoliert und auf sein Reduktionsvermögen hin untersucht. Das Reduktionsvermögen pro 0,1 ccm Zellsaft betrug bei den Zellen aus reinem Brackwasser 0,223, 0,224, 0,240 und 0,252 oder durchschnittlich 0,235 ccm 0,1 norm. $K_2Cr_2O_7$ -Lösung und bei den Zellen aus der Zuckerlösung 0,269, 0,275, 0,293 und 0,296 oder durchschnittlich 0,283 ccm 0,1 norm. $K_2Cr_2O_7$ -Lösung, während 0,1 ccm der Zuckerlösung 9,00 ccm derselben $K_2Cr_2O_7$ -Lösung verbrauchte.

Wenn wir die vereinfachende Annahme machen, dass der Unterschied

¹⁾ Die Variationen in der Schüttelgeschwindigkeit dürften die Permeationsgeschwindigkeit in unseren Versuchen kaum beeinflusst haben.

²⁾ Da die Gleichartigkeit der Zellportionen bei *allen* in dieser Arbeit erwähnten Versuchen erstrebt wurde, wird dieselbe in den späteren Versuchen nicht mehr besonders hervorgehoben.

im Reduktionsvermögen allein davon abhängt, dass der Zellsaft der vier letztgenannten Zellportionen mit Spuren der Zuckerlösung vermischt worden ist¹⁾, so würde also hierdurch eine Permeation von

$$\frac{(0,283 - 0,235) \cdot 100}{9} = 0,53 \%$$

der Aussenkonzentration an Zucker vorgetäuscht sein.

Überhaupt dürfte die Verunreinigung des Zellsaftes mit Aussenlösung bei sorgfältigem Arbeiten immer unterhalb 1 % bleiben. Wenn es sich um einigermaßen gut eindringende Verbindungen handelt, deren Konzentration in den analysierten Zellen wenigstens etwa 20 % betrug, ist eine Verunreinigung des Zellsaftes in diesem Ausmass praktisch belanglos. Anders dagegen im Falle sehr langsam permeierender Stoffe, deren Konzentration im Zellsaft am Ende des Versuchs bloss ein paar Prozent der Aussenkonzentration oder sogar noch weniger betrug. Bei den mit solchen Substanzen ausgeführten Versuchen wurden daher die Zellen, nachdem sie während der bestimmten Zeit in der Lösung des zu prüfenden Stoffes gelegen hatten, etwa 10 Minuten (eine kürzere Zeit hätte genügt!) mit künstl. Brackwasser gespült, ehe der Zellsaft aus ihnen isoliert wurde.

5. *Spontane Variationen bezüglich des Reduktionsvermögens und des N-Gehaltes des Zellsaftes.* — Da die Konzentration des permeierenden Stoffes im Zellsaft immer aus der *Differenz* zwischen dem Reduktionsvermögen bzw. dem N-Gehalt der Versuchs- und der Kontrollzellen berechnet wurde, bedingen alle von vornherein bestehenden diesbezüglichen Unterschiede einen entsprechenden Fehler. Die Variationen hinsichtlich des N-Gehaltes waren im allgemeinen bedeutend kleiner als die hinsichtlich des Reduktionsvermögens. Sonst lässt sich jedoch schwerlich etwas Allgemeingültiges betreffs der Grösse dieser Fehlerquelle aussagen, u. a. weil die Schwankungen in der Zusammensetzung des Zellsaftes in verschiedenen Jahreszeiten verschieden gross waren. (Gegen den Herbst nahmen sie immer zu.) Selbstverständlich ist die in Rede stehende Fehlerquelle am gefährlichsten, wenn es sich um die Untersuchung von Verbindungen handelt, deren Reduktionsvermögen klein ist, oder die wegen ihrer Schwerlöslichkeit oder Giftigkeit nur in sehr geringen Konzentrationen benutzt werden können, oder aber die so langsam permeieren, dass die auch in einer langen Versuchszeit eingedrungenen Mengen klein sind. Zur Vermeidung von Fehlschlüssen war es in solchen Fällen nötig, meh-

¹⁾ Tatsächlich wird das grössere Reduktionsvermögen der Zuckerzellen z. T. davon herrühren, dass der Zellsaft infolge des osmotischen Wasserentzuges konzentriert worden ist. Auch eine gewisse Zuckerpermeation ist natürlich theoretisch denkbar.

rere Parallelbestimmungen des Reduktionsvermögens auszuführen sowohl mit Zellen, die in der zu prüfenden Lösung gelegen hatten, wie auch mit Kontrollzellen.

Da auf diese Fehlerquelle immer genau geachtet wurde, glauben wir, dass sie zu keinen ernstern Fehlschlüssen hat Anlass geben können, wohl aber setzte sie sowohl der Bestimmung des Permeiervermögens sehr langsam permeierender Verbindungen wie auch der Prüfung sehr verdünnter Lösungen eine Grenze.

6. *Durch den permeierenden Stoff veranlasste Veränderungen in der Zusammensetzung des Zellsaftes.* — Es liesse sich denken, dass die permeierenden Substanzen irgendwelche chemischen Umsetzungen in den Zellen hervorriefen, wodurch der N-Gehalt oder das Reduktionsvermögen des Zellsaftes beeinflusst werden könnte. So z. B. gibt ja ILJIN an, dass Alkalisalze die Stärkehydrolyse in lebenden Pflanzenzellen befördern, wodurch die Zuckerkonzentration des Zellsaftes ansteigt. In entgegengesetztem Sinn würde z. B. eine durch den permeierenden Stoff hervorgerufene Exosmose von gelösten Zellsaftbestandteilen wirken. Wenn solche Vorgänge in unseren Versuchen vorkämen, würden sie eine noch gefährlichere Fehlerquelle darstellen als die soeben besprochenen regellosen Variationen hinsichtlich der Zusammensetzung des Zellsaftes.

Zum Glück sprechen jedoch zahlreiche Befunde dafür, dass derartige Vorgänge, wenn sie überhaupt bei den *Chara*-Zellen vorkommen, jedenfalls keine grosse Rolle in unseren Versuchen spielen können.

In diesem Sinne sprechen erstens die ausgeführten Gleichgewichtsbestimmungen (vgl. Abschnitt III A). Die Gleichgewichtskonzentrationen der permeierenden Verbindungen im Zellsaft wurden unter Benutzung desselben Verfahrens (entweder Mikro-Kjeldahl- oder Chromsäureverfahren), welches bei den eigentlichen Permeationsbestimmungen benutzt wurde, bestimmt. Das Ergebnis war, dass das Verteilungsverhältnis zwischen Zellsaft und Aussenlösung im allgemeinen zwischen 0,86 und 1,02 schwankt; nur bei drei Verbindungen (Methyl- und Äthylalkohol sowie Triäthylcitrat) wurden niedrigere Werte erhalten, bei keiner höhere. Eine so grosse Konstanz der Ergebnisse wäre offenbar nicht möglich gewesen, wenn die permeierenden Stoffe irgendwelche bedeutenden Änderungen in der Zusammensetzung des Zellsaftes bewirkt hätten.

Im Falle der drei ebengenannten Verbindungen, deren Verteilungsverhältnis aussergewöhnlich niedrig gefunden wurde, lag es nahe anzunehmen, dass sie eine Verminderung des ursprünglichen Reduktionsvermögens des Zellsaftes bewirken, sei es, dass sie eine Exosmose zelleigener Substanzen hervorrufen, oder in anderer Weise. Experimentell konnte jedoch einwandfrei festgestellt werden, dass dieser Verdacht nicht stichhaltig ist:

Versuch B 268. 6. VII. 1932. Vier Zellportionen werden 5 Stunden in einer 0,5 molaren Lösung von Äthylalkohol gehalten. Darauf kommen sie auf 2 Stunden in mehrmals gewechseltes (künstl. Brack-) Wasser, wo der Alkohol wieder exosmiert. Pro 0,1 ccm Zellsaft werden folgende Mengen 0,1 norm. $K_2Cr_2O_7$ -Lösung verbraucht: 0,294, 0,294, 0,314 und 0,315 oder durchschnittlich 0,304 ccm. Vier Kontrollportionen, die nur in künstl. Brackwasser gelegen haben, verbrauchten pro 0,1 ccm Zellsaft 0,275, 0,290, 0,304 und 0,307 oder durchschnittlich 0,294 ccm 0,1 norm. $K_2Cr_2O_7$ -Lösung.

Versuch B 273. 15. VII. 1932. Wie voriger Versuch, aber 0,5 GM Methylalkohol statt Äthylalkohol. Dauer der Alkoholbehandlung 13 Stunden. Dauer der Alkohol-exosmose 3,5 Stunden. Die mit Alkohol behandelten Zellen verbrauchen pro 0,1 ccm Zellsaft 0,405, 0,415, 0,436 und 0,495 oder durchschnittlich 0,438 ccm $K_2Cr_2O_7$ -Lösung. Die Kontrollzellen verbrauchen 0,437, 0,442, 0,462 und 0,496 oder durchschnittlich 0,459 ccm $K_2Cr_2O_7$ -Lösung pro 0,1 ccm Zellsaft.

Versuch B 284. 25. VII. 1932. Ein ähnlicher Versuch wie die beiden vorigen, aber mit einer 0,05 molaren Triäthylcitratlösung ausgeführt. Die Zellen werden 3 Stunden damit behandelt. Dann Exosmose des Citrats während 3 weiterer Stunden. Die so vorbehandelten Zellen verbrauchen pro 0,1 ccm Zellsaft 0,441, 0,460, 0,465 und 0,488 oder durchschnittlich 0,464 ccm $K_2Cr_2O_7$ -Lösung. Die Kontrollzellen verbrauchen 0,444, 0,464, 0,472 und 0,493 oder durchschnittlich 0,468 ccm derselben $K_2Cr_2O_7$ -Lösung.

Das Reduktionsvermögen des Zellsaftes der vorbehandelten Zellen war also in allen Versuchen praktisch dasselbe wie dasjenige der unbehandelten Kontrollzellen.

7. *Veränderungen der eingedrungenen Stoffe in den Zellen.* — Theoretisch besteht die Möglichkeit, dass die in die Zellen eingedrungenen organischen Verbindungen dort etwa zu Kohlensäure und Wasser oxydiert werden, dass die Zuckerarten zu unlöslicher Stärke oder die N-Verbindungen zu unlöslichem Plasmaeiweiss verwandelt werden usw., kurzum: es ist von vornherein denkbar, dass die permeierten Stoffe in den Zellen so verändert werden, dass sie sich dem Nachweis mittelst der von uns benutzten analytischen Methoden entziehen.

Diese Gefahr ist selbstverständlich hinsichtlich der am langsamsten permeierenden Substanzen am grössten. Es ist daher wichtig, dass wir gerade betreffs einiger sehr langsam permeierenden Verbindungen über Versuchsergebnisse verfügen, welche zeigen, dass jedenfalls kein bedeutender Verbrauch derselben innerhalb der Zellen stattfindet.

Versuch A 54. 26. VIII. 1930. Sechs Zellportionen lagen 48 Stunden in einer 0,2 molaren Malonamidlösung. Drei Portionen, die unmittelbar hiernach analysiert wurden, enthielten in ihrem Zellsaft 0,019, 0,021 und 0,023 oder durchschnittlich 0,021 GM Malonamid. Die drei weiteren Portionen blieben nach der Malonamidbehandlung 45 Stunden in künstl. Brackwasser. Hiernach analysiert, enthielten sie 0,018, 0,020 und 0,020 oder durchschnittlich 0,019 GM Malonamid. Der Unterschied zwischen den gefundenen Malonamidkonzentrationen ist so klein, dass er die Fehlergrenze nicht überschreitet. (Wollte man ihm dennoch eine

reelle Bedeutung beimessen, so würde er sehr gut zu der Tatsache stimmen, dass während der ersten 48 Stunden 10,5 Rel.-Proz. in die Zellen eingedrungen war. Um ungefähr gleich viele Prozente hat sich ja nach dem Analysenergebnis die Malonamidkonzentration des Zellsaftes nachträglich in Brackwasser vermindert — durch Exosmose, wie es scheint.) Ein merkbarer Verbrauch von Malonamid innerhalb der Zellen hat also auf keinen Fall stattgefunden.

Versuch A 55. 7. IX. 1930. Sechs Zellportionen lagen 70 Stunden in einer 0,25 molaren Erythritlösung. Drei Portionen wurden gleich hiernach analysiert, die drei übrigen Portionen, nachdem sie weitere 44 Stunden in Brackwasser (ohne Erythrit) gelegen hatten. Ergebnis: Sofort analysiert, enthielt der Zellsaft 0,007, 0,008 und 0,011 oder durchschnittlich 0,009 GM Erythrit. Nach Aufenthalt der Zellen in Brackwasser enthielt er 0,008, 0,009 und 0,010 oder durchschnittlich gleichfalls 0,009 GM Erythrit. Ein merkbarer Verbrauch von Erythrit hat also in den Zellen nicht stattgefunden und auch keine nachweisbare Exosmose.

Ein experimenteller Beweis dafür, dass auch Rohrzucker nicht in merklichem Umfang innerhalb der *Chara*-Zellen verbraucht wird, ergibt sich aus den folgenden Versuchen:

Versuch A 41. 8. VIII. 1930. Zwei Glasnäpfchen, deren Bodenfläche je 6 cm² beträgt, wurden mit je genau 0,6 ccm einer 0,1 molaren Lösung von Rohrzucker in künstlichem Brackwasser beschickt. In dem einen Näpfchen werden 19 auf Filtrierpapier abgetrocknete *Chara*-Zellen so angeordnet, dass sie, in einer einfachen Schicht möglichst dicht nebeneinander liegend, von der Zuckerlösung eben bedeckt sind. Das Gesamtgewicht der Zellen betrug 355 mg. Das zweite Näpfchen, das als Kontrolle diente, blieb ohne Zellen. Über die Näpfchen wurde ein Becherglas gestülpt, dessen Innenfläche mit feuchtem Filtrierpapier ausgekleidet war. Dann blieben die Gefäße 22 St. in einem Dunkelzimmer bei etwa 22° stehen. Nach Ablauf der Versuchszeit wurde zunächst festgestellt, dass die Plasmarotation in sämtlichen Zellen noch fortfuhr. Dann wurde die Zuckerlösung in einen 10 ccm Messkolben gegossen, die Zellen wiederholt mit kleinen Mengen künstl. Brackwasser gespült, die Waschwässer mit in den Messkolben gegossen und der Kolben zuletzt bis zur Marke gefüllt. In derselben Weise wurde mit der Zuckerlösung des Kontrollgefäßes verfahren. Die Zuckerkonzentration in beiden Lösungen wurde mittelst der K₂Cr₂O₇-Methode bestimmt. Bezeichnet man die Zuckermenge des Kontrollnäpfchens mit 1, so ergab sich diejenige des mit den Zellen beschickten Näpfchens zu 0,986.

Versuch A 44. 13. VIII. 1930. Dieser Versuch wurde ganz wie der obige ausgeführt. Nur war die Zahl der Zellen jetzt 17, ihr Gewicht 390 mg, die Versuchszeit 20 St. Bezeichnet man wieder die Zuckermenge des Kontrollnäpfchens mit 1, so ergibt sich diejenige des Versuchsnäpfchens zu 1,015.

Das Gesamtergebnis dieser beiden Versuche ist, dass die Rohrzucker- menge in der Aussenlösung innerhalb der Fehlergrenzen konstant bleibt. Man kann also nicht etwa annehmen, dass der Zucker zwar mit beträchtlicher Geschwindigkeit eindringt, im Zellinnern aber stetig verbraucht wird, so dass sich infolge dieses Verbrauchs kein Zucker im Zellsaft nachweisen lässt. Denn

bei dem kleinen relativen Volumen der Aussenlösung müsste schon ein mässiger Zuckerverbrauch seitens der Zellen eine merkbare Konzentrationsabnahme der Aussenlösung verursachen.

8. *Der Lebenszustand der Zellen während des Permeationsvorganges.* — Durch spezielle Vorversuche wurde zunächst festgestellt, dass abgepflückte Chara-Blätter, wie sie zu den Versuchen benutzt wurden, in künstlichem Brackwasser im Dunkeln aufbewahrt sehr lange (durchschnittlich etwa 12—18 Tage) am Leben blieben, was aus der andauernden Plasmarotation zu ersehen war. Und zwar war die Lebensdauer der Zellen wenigstens ebenso lang, wenn die Blätter in der Lösung dauernd auf der Schüttelmaschine geschüttelt wurden, wie wenn die Kölbchen mit den Blättern unbewegt auf dem Tisch standen.

Bei Permeationsversuchen mit langsam permeierenden Substanzen wurden im allgemeinen alle Zellen unmittelbar vor dem Abzapfen des Zellsaftes auf die Plasmarotation hin untersucht und nur die noch rotierenden benutzt. Wenn bei schneller permeierenden Substanzen eine Prüfung jeder einzelnen Zelle wegen der Kürze der Permeationszeit nicht möglich war, wurde in besonderen Vorversuchen festgestellt, wie grosse Konzentrationen der betreffenden Verbindung von den Zellen ohne Schaden vertragen werden. Ausserdem wurden dann bei den eigentlichen Permeationsversuchen zunächst in jede Lösung etwas zahlreichere Zellen eingetragen, als allein zur Gewinnung der nötigen Zellsaftmenge nötig war; nachdem der Zellsaft isoliert war, wurde dann festgestellt, dass die übriggebliebenen Zellen — die einen längeren Aufenthalt in den Lösungen hinter sich hatten als die zur Zellsaftgewinnung benutzten Zellen — noch alle Plasmarotation aufwiesen.

Die zu prüfenden Substanzen wurden somit im allgemeinen in so niedrigen Konzentrationen verwendet, dass nach Ablauf der Versuchszeit Rotation in allen Zellen festzustellen war. Bei den Versuchen mit Harnstoff¹⁾, Methylharnstoff, Monacetin, Monochlorhydrin, Schleimsäurediäthylester, Diäthylmalonamid und Formamid fand jedoch häufig ein Absterben zahlreicher Zellen statt. Hier war also die Feststellung der Plasmarotation in jeder einzelnen für die Zellsaftanalysen zu verwendenden Zelle besonders nötig.

Der Schleimsäureäthylester wurde immer in Gegenwart von Calciumcarbonat benutzt, um die hydrolytisch abgespaltene Säure zu neutralisieren.

9. *Traumatische Beeinflussung der Permeabilität.* — HÖFLER und STIEGLER (1930) u. a. haben bemerkt, dass in der Nähe von Schnittwunden gelegene Zellen häufig eine abweichende Permeabilität zeigen, auch wenn sie am Leben

¹⁾ Die Schädigungen in den Harnstofflösungen waren äusserst wechselnd, manchmal fehlten sie ganz. Vgl. Abschnitt III A.

bleiben und sonst einen unbeschädigten Eindruck machen. Da die *Chara*-Blätter nur aus wenigen Zellen bestehen (vgl. COLLANDER 1930, Abb. 1), wird die zum Versuch benutzte Zelle immer einer Wundfläche mehr oder weniger nahe liegen. Es schien deshalb möglich, dass die Permeabilität dieser Zellen traumatisch beeinflusst sein könnte.

Um diese Möglichkeit zu prüfen, wurden vergleichende Versuche teils mit in gewöhnlicher Weise abgepflückten *Chara*-Blättern und teils mit ganzen *Chara*-Pflanzen, die in ihrer Gesamtheit in die zu prüfenden Lösungen versenkt wurden, ausgeführt. Die in die grössten Blattzellen eingedrungenen Substanzmengen wurden dabei in gewöhnlicher Weise bestimmt. Solche Versuche wurden mit drei verschiedenen Verbindungen, Harnstoff, Methylharnstoff und Glycerin, ausgeführt. Das Ergebnis war, wie aus den folgenden Versuchsprotokollen hervorgeht, dass irgendein deutlicher Unterschied zwischen den abgetrennten und den an der Mutterpflanze sitzen gebliebenen Zellen nicht beobachtet werden konnte. Eine traumatische Beeinflussung der Permeabilität dürfte also in unseren Versuchen nicht in erheblichem Masse stattgefunden haben.

Versuch B 224. 29. VII. 1931. 0,05 molare Harnstofflösung.

Permeationszeit (Stunden)		6	13
Permeierte Mengen (Rel.-Proz.)	} Blätter nicht abgetrennt	26,3	52,0
		» abgetrennt	28,9

Versuch B 226. 30. VII. 1931. 0,15 molare Glycerinlösung.

Permeationszeit (Stunden)		22	44
Permeierte Mengen (Rel.-Proz.)	} Blätter nicht abgetrennt	33,1	49,1
		» abgetrennt	35,8

Versuch B 227. 31. VII. 1931. 0,1 molare Lösung von Methylharnstoff.

Permeationszeit (Stunden)		2	3,5
Permeierte Mengen (Rel.-Proz.)	} Blätter nicht abgetrennt	41,1	62,2
		» abgetrennt	40,0

10. *Verunreinigungen der benutzten chemischen Verbindungen.* — Siehe Abschnitt II C.

C. Auswahl, Herkunft, Reinigung und Benennung der benutzten Chemikalien.

Bei der Auswahl der für die Versuche zu benutzenden Verbindungen kamen — ausser ökonomischen Rücksichten hinsichtlich des Preises — vornehmlich die folgenden Gesichtspunkte in Betracht: — 1. Es sollte eine Auswahl in Bezug auf chemische Konstitution, Lipoidlöslichkeit, Grenzflächenaktivität und Molekülgrösse möglichst verschiedenartiger Substanzen geprüft werden. — 2. Verbindungen, deren osmotisches Verhalten anderen Zellarten gegenüber

bereits untersucht war, waren vorzuziehen. — 3. Die Substanzen müssen genügend wasserlöslich und nicht zu giftig sein. — 4. Sie müssen entweder mittelst des Chromsäureverfahrens von BANG oder mittelst des Kjeldahlverfahrens bestimmt werden können. — 5. Die Untersuchung wurde vorläufig allein auf Nichtelektrolyte oder doch auf Verbindungen, deren Dissoziation in neutraler wässriger Lösung verschwindend klein ist, beschränkt. (Z. B. die Aminosäuren blieben somit diesmal unberücksichtigt.)

Im allgemeinen wurden reinste Präparate von Schering-Kahlbaum oder Merck benutzt. Einzelne Präparate stammten von Schuchardt (Äthylharnstoff, Lactamid), Fraenkel & Landau (Cyanamid, Methylolharnstoff, Schleimsäurediäthylester) oder aus anderen Quellen (Äthylalkohol, Urotropin, Saccharose, Antipyrin). Glycerinmethyläther und Propylenglykol waren im hiesigen chemischen Laboratorium hergestellt.

Acetamid, Propionamid, Butyramid, i-Valeramid, Lactamid, Trimethylcitrat und Diäthylharnstoff wurden vor dem Gebrauch aus Äther umkristallisiert oder mit Äther gewaschen. Thioharnstoff wurde aus Wasser umkristallisiert. Methylol- und Dimethylharnstoff wurden aus Alkohol umkristallisiert, Schleimsäurediäthylester mit Alkohol gewaschen. Das Formamid wurde für die Permeabilitätsversuche nach der Methode von WILLSTÄTTER und WIRTH (1909) gereinigt; zu den Löslichkeits- und Oberflächenaktivitätsbestimmungen wurde jedoch das ursprüngliche Kahlbaumsche Präparat benutzt, welches sich etwas weniger oberflächenaktiv und öllöslich zeigte.

Die Lösungen von Propylenglykol, Glycerinäthyläther und Methylolharnstoff waren opaleszierend, die betreffenden Substanzen also offenbar nicht ganz rein.

Nachstehende Verkürzungen werden benutzt: Diäthylharnstoff pro asymm. Diäthylharnstoff, Dimethylharnstoff pro asymm. Dimethylharnstoff, Glycerinäthyläther pro Glycerinmonoäthyläther, Glycerinmethyläther pro Glycerinmonomethyläther, Monochlorhydrin pro α -Glycerinmonochlorhydrin, Methylglucosid pro α -Methylglucosid, Schleimsäureester pro Schleimsäurediäthylester, Urethylan pro Carbamidsäuremethylester, Urotropin pro Hexamethylentetramin.

III. Allgemeine Gesetzmässigkeiten hinsichtlich der Aufnahme und Abgabe von Nichtelektrolyten seitens der Chara-Zellen.

Ehe wir daran gehen, das Permeiervermögen der einzelnen Verbindungen zu behandeln, ist es nötig, die allgemeinen Gesetzmässigkeiten festzustellen, denen die Aufnahme und Abgabe gelöster Nichtelektrolyte seitens der Chara-Zellen unterliegt. Besonders folgende Fragen sind dabei zu untersuchen: — 1. Welchem Gleichgewichtszustand hinsichtlich der Verteilung der permeierenden Substanz zwischen Aussenlösung und Zellsaft strebt das System zu? — 2. Erfolgt die Aufnahme der gelösten Nichtelektrolyte nach dem Diffusionsgesetz? — 3. Wie verteilt sich der Diffusionswiderstand der Zellen auf Zellwand, Plasma und Zellsaft? — 4. Geschieht der Austritt der gelösten Nicht-

elektrolyte aus dem Zellsaft *ceteris paribus* mit derselben Geschwindigkeit wie ihr Eindringen in die Zellen? — 5. Wie beeinflussen die permeierenden Stoffe selbst die Zellpermeabilität? — 6. Besitzen verschiedene Teile der Zelloberfläche eine verschieden grosse Permeabilität?

Im folgenden sollen diese Fragen der Reihe nach behandelt werden.

A. Der Gleichgewichtszustand.

1. BISHERIGE BEFUNDE AN ANDEREN ZELLEN.

Sehr mit Recht schrieb STILES vor kaum zehn Jahren: »It is a remarkable fact, and one indicating how little the complexity of the problems involved in the phenomena of permeability and absorption have been realised by workers in these fields, that scarcely any of those who have attempted to obtain quantitative data with regard to permeability have concerned themselves with the equilibrium attained in the passage of dissolved substances into plant cells. Yet it is obvious that a determination of the rate of intake of a substance can give no indication of the permeability of the cell unless the position of the equilibrium in the intake is known.« (STILES 1924 S. 188.)

Sofern es sich um Nichtelektrolyte handelt, liegen noch heute sehr wenig Bestimmungen der Gleichgewichtslage vor. Die einzige Untersuchung, in der dieselbe für eine grössere Zahl von Nichtelektrolyten bestimmt worden ist, ist diejenige des einen von uns (BÄRLUND 1929) an Epidermiszellen von *Rhoeo*. Auf plasmolytischem Wege wurde hier festgestellt, dass alle diejenigen Verbindungen, bei denen der Gleichgewichtszustand innerhalb der benutzten Versuchszeit annähernd erreicht wird, sich ungefähr im Verhältnis 1:1 zwischen Aussenlösung und Zellsaft verteilen. Die eventuellen Abweichungen von dieser Gleichgewichtslage waren jedenfalls nicht so gross, dass sie experimentell sicher zu fassen waren.

2. EINZELBEFUNDE AN CHARA.

Im Falle der *Chara*-Zellen lässt sich die Frage von der Gleichgewichtskonzentration der einigermassen schnell permeierenden Nichtelektrolyte ohne Schwierigkeit experimentell beantworten. Zu diesem Zweck wurden die Zellen so lange in einer Lösung des betreffenden Stoffes belassen, dass vorauszusehen war, dass der Gleichgewichtszustand praktisch erreicht sein musste. Die Zellen befanden sich dabei im Dunkeln bei gewöhnlicher Zimmertemperatur (etwa 18—23°C), in den meisten Fällen auf der Schüttelmaschine. Dann wurde die im Zellsaft vorhandene Konzentration des permeierenden Stoffes

in gewöhnlicher Weise, d. h. entweder mittelst des Chromsäure- oder des Mikro-Kjeldahlverfahrens bestimmt. Das Ergebnis der in dieser Weise ausgeführten Versuche findet sich in Tabelle 1 zusammengestellt. Darin bedeutet »Konz.» die Konzentration der zu untersuchenden Substanz in der Aussenlösung, während die analytisch gefundene Gleichgewichtskonzentration der permeierenden Stoffe im Zellsaft in Rel.-Proz. angegeben ist. Die Zahl 100 gibt somit an, dass die Konzentration des permeierenden Stoffes im Zellsaft genau gleich ihrer Konzentration in der Aussenlösung gefunden wurde. Division der in dieser Weise ausgedrückten Gleichgewichtskonzentrationen durch 100 ergibt mithin die »absorption ratio« von STILES und KIDD (1919), d. h. das Verteilungsverhältnis des betreffenden Stoffes zwischen Zellsaft und Aussenlösung.

Zu beachten ist, dass die mit Methyl- und Äthylalkohol erhaltenen Werte der Gleichgewichtskonzentration infolge der Flüchtigkeit dieser Verbindungen wahrscheinlich zu niedrig ausgefallen sind. Als nämlich die Gleichgewichtskonzentration in gleicher Weise wie hier, aber unter Benutzung mit Formalin abgetöteter Zellen, aus denen die gelösten Zellsaftbestandteile grösstenteils exosmiert waren, ausgeführt wurde, erhielten wir wiederum für Methylalkohol einen extrem niedrigen Wert (8¼ Rel.-Proz.) der kaum in anderer Weise zu erklären ist. Die anderen geprüften Verbindungen (Trimethylcitrat, Acetamid, Harnstoff, Glycerin und Saccharose) ergaben dagegen bei Verwendung von abgetöteten Zellen Gleichgewichtskonzentrationswerte, die von 100 Rel.-Proz. kaum abwichen.

Im Falle etwas langsamer permeierender Stoffe wurde der Eintritt des Gleichgewichtszustandes nicht abgewartet, sondern die Gleichgewichtskonzentration im Zellsaft wurde in folgender Weise extrapoliert¹⁾:

Wir gehen aus von der später (Abschnitt III B) zu besprechenden Gleichung

$$k' = \frac{1}{t} \cdot \ln \frac{C}{C-c}, \quad (1)$$

worin c die dem Zeitpunkt t entsprechende Konzentration des permeierenden Stoffes im Zellsaft, C seine Gleichgewichtskonzentration und k' eine Konstante (die Permeationskonstante) bedeuten.

Die Konstanten k' und C sind eindeutig bestimmt durch zwei Konzentrationsbestimmungen, welche je eine Gleichung ergeben:

$$k' = \frac{1}{t_1} \cdot \ln \frac{C}{C-c_1} \quad (2)$$

$$k' = \frac{1}{t_2} \cdot \ln \frac{C}{C-c_2} \quad (3)$$

¹ Den Hinweis auf dieses Extrapolationsverfahren verdanken wir der Freundlichkeit von Herrn mag. phil. GUSTAV ELFVING.

Tabelle 1.

Direkt bestimmte Gleichgewichtskonzentrationen im Zellsaft.

Permeierender Stoff	Datum	Konz. (GM)	Zeit (Stunden)	Gleichgewichtskonzentration (Rel.-Proz.)			
				Einzelwerte			Mittel
Methylalkohol	2. 9. 1930	0,5	1	78	79		} 70
»	24. 9. 1930	0,5	0,5—1	61	65	67	
»	25. 9. 1930	0,5	24	57	62	65	
»	13. 7. 1931	0,5	5	81	82		
Triäthylcitrat	30. 9. 1930	0,05	3	81	84		} 79
»	2. 10. 1930	0,05	3	76	77	79	
»	2. 7. 1931	0,05	3	77	80	81	
Äthylalkohol	2. 9. 1930	0,5	1	76	79		} 80
»	23. 9. 1930	0,5	2	78	85		
»	14. 7. 1931	0,5	5	78	81	81	
Trimethylcitrat	4. 10. 1930	0,05	5	83	85	90	} 86
»	6. 7. 1931	0,05	2	84	86		
»	7. 7. 1931	0,1	2	83	89		
i-Valeramid	22. 7. 1930	0,2	1,1	87	88		} 89
»	6. 10. 1930	0,2	4,5	87	92	92	
Diacetin	4. 10. 1930	0,1	16	87	89	93	} 90
»	10. 10. 1930	0,1	14	90	90	91	
Antipyrin	19. 7. 1930	0,1	0,8—1,5	91	93	95	93
Glycerinmethyläther	22. 9. 1930	0,1	24	93	93	95	94
Diäthylharnstoff	8. 8. 1931	0,1	12	93	97	99	96
Urethan	2. 8. 1930	0,2	0,8—1,5	96	96	98	97
Succinimid	8. 8. 1930	0,2	6	95	97	99	97
Cyanamid	19. 9. 1931	0,2	1—2	96	98		97
Glycerinäthyläther	26. 9. 1930	0,1	24	97	98		98
Acetamid	26. 8. 1929	0,2	15	95	98	99	} 98
»	29. 8. 1929	0,2	10	98			
Butyramid	14. 7. 1930	0,2	1,5	98	98		98
Monochlorhydrin	21. 7. 1932	0,1	14	95	96	102	98
Formamid	16. 8. 1929	0,14	10	97	98	101	99
Propionamid	14. 7. 1930	0,2	1,5	96	101		99
Äthylenglykol	24. 7. 1929	0,1	16—24	97	101		} 100
»	11. 7. 1929	0,2	24	102	105		
»	12. 7. 1929	0,2	48	97	99		
»	17. 7. 1929	0,2	18	96	101		
»	24. 7. 1929	0,2	16—24	101	101		
»	24. 7. 1929	0,4	16—24	99	99		
Propylenglykol	25. 9. 1930	0,2	24	98	102		100
Dimethylharnstoff	4. 7. 1931	0,05	13—19	98	99	102	100
Äthylharnstoff	1. 10. 1930	0,1	23—48	100	100	102	101
Urethylan	29. 7. 1930	0,2	1—1,5	98	103	105	102

Dieses Äquationssystem wird durch Approximation gelöst. Als ersten Näherungswert C_1 für C benutzen wir c_2 und schreiben also $C_1 = c_2$. Die Gleichung (2) gibt nun als erste Approximation für k'

$$k'_1 = \frac{1}{t_1} \cdot \ln \frac{C_1}{C_1 - c_1}$$

Diesen Wert setzen wir in die Gleichung (3) ein, welche in Bezug auf C gelöst wird, so dass ein zweiter Näherungswert für die Gleichgewichtskonzentration erhalten wird:

$$C_2 = \frac{c_2}{1 - e^{-k'_1 t_2}}$$

worin e die Basis der natürlichen Logarithmen bezeichnet.

Indem man den so erhaltenen Wert von C in die Gleichung (1) einsetzt, findet man eine zweite Approximation für k' , mit deren Hilfe ein dritter Näherungswert von C erhalten wird. In dieser Weise fährt man fort, bis C mit dem gewünschten Grad von Genauigkeit bestimmt worden ist. Die sukzessiven Werte C_1, C_2, C_3 usw. bilden nämlich eine konvergierende Reihe. So z. B. erhält man in dem unten erwähnten Versuch mit Thioharnstoff (wenn $t_1 = 7, t_2 = 24, c_1 = 0,605, c_2 = 0,888$ ist) für die Gleichgewichtskonzentration die folgenden Werte: $C_1 = 88,8, C_2 = 91,8, C_3 = 92,5$ und $C_4 = 92,6$ Rel.-Proz. Benutzt wurde in diesem Falle der Wert $C = 93$ Rel.-Proz. (Die genauesten Werte für C dürften zu erwarten sein, wenn t_2 möglichst gross ist und wenn c_1 etwa um $0,3-0,5$ herum liegt.)

In dieser Weise wurden die Gleichgewichtskonzentrationen der folgenden Verbindungen extrapoliert:

Monacetin. 10. IX. 1930. 0,1 molare Lösung. Nach 3 Stunden war die Konzentration des Monacetins im Zellsaft 75,6, nach 6 Stunden 90,4 Rel.-Proz. Hieraus berechnet sich die Gleichgewichtskonzentration zu 94 Rel.-Proz.

Methylharnstoff. 8. X. 1930. 0,1 molare Lösung. Nach 1,5 Stunden war die Konzentration im Zellsaft 31,6 (I), nach 3 Stunden 54,1 (II), nach 6 Stunden 76,0 (III) und nach 24 Stunden 97,2 (IV) Rel.-Proz. Aus I und IV berechnet sich die Gleichgewichtskonzentration zu 98, aus II und IV sowie aus III und IV berechnet sie sich gleichfalls zu 98 Rel.-Proz.

Thioharnstoff. 18. X. 1930. 0,1 molare Lösung. Nach 7 Stunden war die Konzentration 60,5, nach 21 Stunden 88,8 Rel.-Proz. Berechnete Gleichgewichtskonzentration 93 Rel.-Proz.

Lactamid. 14. X. 1930. 0,2 molare Lösung. Nach 12 Stunden war die Konzentration 70,7, nach 48 Stunden in zwei Parallelbestimmungen 93,9 bzw. 96,5 oder durchschnittlich 95,2 Rel.-Proz. Berechnete Gleichgewichtskonzentration 96 Rel.-Proz.

Urotropin. 23. VIII. 1931. 0,1 molare Lösung. Nach 6 Stunden war die Konzentration 35,4, nach 48 Stunden 97,5 Rel.-Proz. Berechnete Gleichgewichtskonzentration 101 Rel.-Proz.

Mit Harnstoff, Diäthylmalonamid, Dicyandiamid und Glycerin wurden mehrere Versuche zur Bestimmung der Gleichgewichtskonzentration ausgeführt, ohne dass dabei ein ganz präzises Ergebnis erreicht wurde. Harnstoff und Diäthylmalonamid wirken nämlich auf die Dauer giftig auf die Zellen, so dass hierdurch die Erreichung des Gleichgewichtszustandes oft vereitelt wurde. Dicyandiamid und Glycerin wiederum verlangen wegen ihrer sehr langsamen Permeation überaus lange Versuchszeiten, wobei irgendwelche Fehlerquellen, die bei kürzeren Versuchen belanglos sind, erhebliche Störungen veranlassen können. So kam es, dass die mit Glycerin erhaltenen Werte der Gleichgewichtskonzentration zwischen 85 und 119 Rel.-Proz. schwankten, während die entsprechenden Werte für Dicyandiamid sogar zwischen 84 und 131 variierten. Aus den einzelnen Harnstoffversuchen ergaben sich Werte zwischen 72 und 106. Mit Diäthylmalonamid gelang nur ein Versuch, aus dem die relative Gleichgewichtskonzentration sich zu 94 berechnete. Die einzige Schlussfolgerung, die aus den mit Harnstoff, Diäthylmalonamid, Dicyandiamid und Glycerin ausgeführten Gleichgewichtsversuchen gezogen werden kann, ist daher die, dass die Gleichgewichtskonzentration dieser vier Verbindungen rund 100 Rel.-Proz. betragen muss.

Im Falle des Methylolharnstoffs und des Schleimsäureäthylesters gelang uns die Bestimmung der Gleichgewichtskonzentration nicht, da diese beiden Verbindungen langsam permeieren und auf die Dauer schädlich auf die *Chara*-Zellen wirken. Ebensowenig konnte die Gleichgewichtskonzentration für diejenigen Verbindungen ermittelt werden, welche langsamer als Glycerin permeieren. Für *eine* solche Verbindung, Malonamid, wurde jedoch in folgender Weise festgestellt, dass das Verteilungsverhältnis zwischen Zellsaft und Aussenlösung jedenfalls ungefähr 1 beträgt:

Versuch A 46. 16. VIII. 1930. Vier Zellportionen lagen zuerst 47 Stunden in einer 0,25 molaren Malonamidlösung. Der Zellsaft aus zwei von diesen Portionen wurde unmittelbar hiernach analysiert. Analysenergebnis: 0,022 bzw. 0,023 GM Malonamid. Die beiden übrigen Zellportionen wurden nach Ablauf der ersten 47 Versuchsstunden in eine 0,023 molare Malonamidlösung versetzt. Nachdem sie hier 45 Stunden verweilt hatten, wurden sie analysiert. Analysenergebnis: 0,025 bzw. 0,026 GM Malonamid, d. h. innerhalb der Fehlergrenzen dieselbe Konzentration wie in der Aussenlösung.

Es fragt sich nun weiter, ob das Verteilungsverhältnis eines gelösten Nichtelektrolyten vielleicht von seiner Konzentration abhängig ist, wie dies bei Salzen nach STILES und KIDD (1919) der Fall sein soll. Wir haben diese Frage unter Benutzung von Lösungen einiger recht verschiedenartigen Nichtelektrolyte studiert:

Athylenglykol. Bereits die in der Tabelle 1 enthaltenen Daten zeigen, dass sich das Verteilungsverhältnis dieser Verbindung nicht merklich ändert, wenn die Konzentration zwischen 0,1 und 0,4 GM variiert.

Trimethylcitrat. Versuch B 200. 7. VII. 1931. Versuchszeit 2 Stunden. Konz. der Aussenlösung 0,01 bzw. 0,1 GM. Verteilungsverhältnis im ersten Falle 0,80 und 0,88, im zweiten Falle 0,83 und 0,89, also in beiden Fällen innerhalb der Fehlergrenzen dasselbe.

Methylharnstoff. Versuch B 202. 9. VII. 1931. Versuchszeit 24 Stunden (in dieser Zeit wird der Gleichgewichtszustand eben fast vollständig erreicht).

Aussenkonzentration (GM)	0,1	0,02	0,002
Verteilungsverhältnis	0,97 1,00	0,97 1,03	2,81 3,00

Im Falle der kleinsten Aussenkonzentration (0,002 GM) scheint auf den ersten Blick eine Speicherung des Methylharnstoffs im Zellsaft stattgefunden zu haben. Es kann aber durchaus nicht als festgestellt betrachtet werden, dass eine Speicherung tatsächlich stattgefunden hat, denn bei der in Frage stehenden kleinen Konzentration ist das Analysenergebnis mit einer sehr grossen Unsicherheit behaftet. (Angenommen, dass bei der Titration der rückständigen Säuremenge in der Vorlage nach der Mikro-Kjeldahldestillation etwa $\frac{n}{100}$ ccm mehr NaOH-Lösung verbraucht worden wären, würde man das Verteilungsverhältnis 1 bekommen haben.) Die Aussenkonzentration 0,002 GM Methylharnstoff wurde daher noch zweimal (13. VII. und 15. VII. 1931) in gleicher Weise wie oben untersucht, nur mit dem Unterschied, dass die Versuchszeit das letzte Mal 43 Stunden betrug. Drei Parallelbestimmungen ergaben jetzt bei 24-stündiger Versuchsdauer als Verteilungsverhältnis die Werte 0,53, 0,92 und 1,22 und bei 43-stündiger Versuchsdauer die Werte 0,28, 0,61 und 1,06.

Das Gesamtergebnis der mit Methylharnstoff ausgeführten Versuche ist also, dass ein Einfluss der Aussenkonzentration auf die Grösse des Verteilungsverhältnisses nicht feststellbar ist.

Harnstoff. An das diesbezügliche Verhalten des Harnstoffs knüpft sich ein besonderes Interesse, indem diese Verbindung nach Angaben von HOAGLAND and DAVIS (1929 S. 622) von *Nitella*-Zellen aus kleinen Konzentrationen gespeichert werden soll. Auch *Chara*-Zellen nehmen, wie wir mehrmals feststellten, aus einer 0,001 molaren Harnstofflösung deutlich mehr N auf, als dem Verteilungsverhältnis 1 entsprechen würde. Dies beweist aber noch nicht, dass Harnstoff als solcher in den Zellen gespeichert wird. Es liegt nämlich nahe anzunehmen, dass der Harnstoff in den benutzten Lösungen durch Bakterieneinwirkung unter Ammoniakbildung zersetzt wird und dass erst das Ammoniak in den Zellen gespeichert wird. Die verhältnismässig grosse und dabei sehr »launenhafte« Giftwirkung der Harnstofflösungen¹⁾ auf die *Chara*-Zellen scheint in der Tat darauf hinzudeuten, dass in diesen Lösungen unter Umständen irgendein giftiger Stoff entsteht. Wenn aber Ammoniak in der Aussenlösung vorhanden ist, muss es in den Zellen stark gespeichert werden, da der Zellsaft bedeutend saurer als die Aussenlösung ist.

¹⁾ Sogar in 0,001 molaren Harnstofflösungen ist manchmal die Zahl der abgestorbenen *Chara*-Zellen auffallend gross, wogegen Methylharnstoff noch in einer 200-mal grösseren Konzentration gut vertragen wird.

Um zu entscheiden, ob die beobachtete N-Speicherung auf eine Aufnahme von NH_3 oder von Harnstoff zurückzuführen ist, wurde untersucht, wie die N-Speicherung von dem pH der Aussenlösung beeinflusst wird. Handelt es sich um eine NH_3 -Speicherung, so wird dieselbe voraussichtlich ausbleiben, wenn das Aussenmedium ebenso sauer wie der Zellsaft gemacht wird. Handelt es sich dagegen um eine Speicherung von Harnstoff, so ist ein derartiger Einfluss der Reaktion der Aussenlösung nicht zu erwarten. Es wurden zwei Versuche der angedeuteten Art ausgeführt:

Versuch A 94. 17. VII. 1931. Zellportionen werden gehalten in

- a) einer Lösung von 0,001 GM Harnstoff in künstlichem Brackwasser
- b) » » » » » » » saurer Salzlösung¹⁾
- c) künstlichem Brackwasser ohne Harnstoff
- d) saurer Salzlösung » »

Bei der Ausführung der Mikro-Kjeldahlanalysen verbrauchte 0,1 ccm des Zellsaftes der vier Zellportionen folgende Mengen 0,1 norm. HCl (ccm):

a) 0,09	}	0,22	b) 0,10	}	0,11	c) 0,12	}	0,12	d) 0,10	}	0,10
0,18			0,10			0,12			0,10		
0,40			0,12			0,12			0,10		

Versuch A 103. 1. VIII. 1931. Versuchsdauer 92 Stunden. Bezeichnungen wie im vorigen Versuch.

Ergebnis:

a) 0,34	}	0,36	b) 0,12	}	0,14	c) 0,12	}	0,13	d) 0,02	}	0,04
0,37			0,14			0,13			0,06		
			0,17								

Man sieht, dass in beiden Versuchen die N-Speicherung fehlt bzw. nicht sicher nachweisbar ist, wenn der Harnstoff in der sauren Salzlösung gelöst dargeboten wird, wogegen eine zwar unregelmässige, aber deutliche N-Speicherung in der neutralen Lösung stattgefunden hat. Es handelt sich also allem Anschein nach nicht um eine Speicherung von Harnstoff, sondern bloss um eine Ammoniakspeicherung.

Aus obigen Versuchen ergibt sich, dass eine Änderung des Verteilungsverhältnisses zwischen Zellsaft und Aussenlösung mit der Konzentration in unseren mit Nichtelektrolyten ausgeführten Versuchen in keinem Falle nachzuweisen war.

3. ZUSAMMENFASSUNG UND SCHLUSSFÖLGERUNGEN.

Überblickt man die obigen Ergebnisse, so findet man, dass das Verteilungsverhältnis der untersuchten Nichtelektrolyte zwischen Zellsaft und Aussenlösung nur innerhalb sehr enger Grenzen schwankt. Das Verhältnis der Innen-

¹⁾ Benutzt wurde eine Lösung, welche sich von dem sonst verwendeten künstlichen Brackwasser darin unterschied, dass NaHCO_3 und KCl weggelassen und durch 0,04 GM KH_2PO_4 ersetzt waren. Das pH dieser Lösung betrug etwa 4,8 gegenüber etwa 7,0 bei dem gewöhnlichen künstlichen Brackwasser.

konzentration zur Aussenkonzentration nach erreichtem Gleichgewicht liegt nämlich in den allermeisten Fällen zwischen 0,9 und 1,0. Nur ausnahmsweise wurde ein so niedriger Wert wie 0,8 gefunden. (Die vereinzelt noch niedrigeren Werte sind wahrscheinlich durch Verdunstung vorgetäuscht.) Nie ist das Verteilungsverhältnis deutlich grösser als 1. Die Grösse der Aussenkonzentration hat keinen wahrnehmbaren Einfluss auf das Verteilungsverhältnis.

Das Gesamtergebnis spricht somit entschieden dafür, dass es sich in den von uns studierten Fällen um ein einfaches Diffusionsgleichgewicht zwischen zwei wässrigen Lösungen — Aussenlösung und Zellsaft — handelt, die durch eine beschränkt permeable Scheidewand voneinander getrennt sind. Da der Zellsaft eine grössere Salzkonzentration als die Aussenlösung hat, war nämlich von vornherein zu erwarten, dass die Löslichkeit der sich verteilenden Nicht-elektrolyte im Zellsaft ein wenig kleiner als diejenige im Aussenmedium sei, oder anders ausgedrückt, dass das Verteilungsverhältnis der betreffenden Substanzen zwischen Zellsaft und Aussenlösung etwas kleiner als 1 sei.

Weiter geht aus den experimentellen Befunden hervor, dass der nichtlösende Raum im Zellsaft klein ist, sowie dass keine merkliche Anreicherung der geprüften Stoffe etwa durch Adsorption an Zellsaftkolloide stattfindet. Ebenso wenig ist ein Eingreifen irgendwelcher »vitaler« Faktoren hinsichtlich des Gleichgewichtszustandes bemerkbar.

Alle diese Feststellungen scheinen uns recht beachtenswert in Anbetracht der gegenteiligen Ansichten, denen man in der Literatur vielfach begegnet. Hier sei nur daran erinnert, dass nach den Ausführungen von STILES (1924 S. 189 ff.) die »absorption ratio« innerhalb sehr weiter Grenzen schwanken soll. Die (scheinbare?) Diskrepanz zwischen der Auffassung von STILES und unseren Befunden beruht wohl in erster Linie darauf, dass er hauptsächlich das Verhalten der Ionen ins Auge gefasst hat, während unsere Ergebnisse sich allein auf undissoziierte Moleküle beziehen. Auch ist es selbstverständlich, dass Zellen, deren Zellsaft mehr Kolloide enthält, sich in Bezug auf die hier in Rede stehenden Erscheinungen anders als die *Chara*-Zellen, deren Zellsaft ja erwiesenermassen sehr arm an Kolloiden ist, verhalten können.

B. Die Gültigkeit des Diffusionsgesetzes.

Von fundamentaler Bedeutung beim Studium eines jeden Prozesses der Stoffaufnahme bzw. -abgabe seitens lebender Zellen ist die Frage, ob es sich dabei im wesentlichen nur um eine (mehr oder weniger gehemmte) *Diffusion* aus der Aussenlösung ins Zellinnere oder umgekehrt handelt, oder aber ob ein Stoffaustausch wesentlich komplizierterer Natur vorliegt. Mit anderen

Worten: haben wir es mit der »physikalischen« Permeabilität der Zelle zu tun oder haben wir vor uns einen Fall »aktiver«, »physiologischer« Stoffbeförderung, wie sie etwa bei der Sekretionstätigkeit der Drüsenzellen, aber auch in zahlreichen anderen Fällen zu Tage tritt? Im ersten Falle gehorcht der in Rede stehende Vorgang dem Diffusionsgesetz von FICK, im letzten Falle dagegen irgendeiner komplizierteren Gesetzmässigkeit.

Die FICKSche Diffusionsgleichung lautet bekanntlich

$$dm = -D \cdot q \cdot \frac{dc}{dx} \cdot dt. \quad (1)$$

Hierin bedeutet dm die Substanzmenge, die in der Zeit dt durch den Querschnitt q eines Diffusionszylinders wandert, wenn an der Stelle x dieses Zylinders im ganzen Querschnitt die Konzentration c herrscht, an der Stelle $x + dx$ aber die Konzentration $c + dc$. D , der Diffusionskoeffizient, ist ein Proportionalitätsfaktor.

Wir wollen jetzt versuchen, dieses Gesetz auf den uns hier interessierenden Fall anzuwenden: auf das Eindringen eines gelösten Stoffes durch Diffusion in die *Chara*-Zellen bzw. auf das Austreten eines Stoffes aus diesen Zellen durch Diffusion. Wir gehen dabei von der Betrachtung zweier extremer Grenzfälle aus.

Grenzfall I. (Vgl. u. a. RUNNSTRÖM 1914, MIYAZAKI 1927 S. 273 ff., BÄRLUND 1929 S. 65, JACOBS und STEWART 1932.) Wir nehmen an, dass der permeierende Stoff nur langsam die dünne Zellgrenzschicht¹⁾ passieren kann, sich dagegen unbehindert im Zellinnern ausbreitet. Infolgedessen bestimmt allein die Diffusion durch die Grenzschicht die Geschwindigkeit des Gesamtvorganges.

Die Geschwindigkeit des Eindringens ist in diesem Falle proportional dem Unterschied zwischen der Gleichgewichtskonzentration des permeierenden Stoffes im Zellsaft und seiner augenblicklichen Konzentration daselbst. Sie ist auch proportional der Zelloberfläche. Wir bekommen also die Gleichung

$$\frac{dm}{dt} = k \cdot q \cdot (C - c), \quad (2)$$

worin dm die in der Zeit dt eindringende Stoffmenge, q die wirksame Zelloberfläche, C die Gleichgewichtskonzentration des permeierenden Stoffes im Zellsaft und c seine jeweilige Konzentration daselbst bedeuten. k ist eine Kon-

¹⁾ Ob es sich um eine schwerpermeable Schicht oder um zwei solche (äussere Plasmahaut + Vakuolenwand) handelt, ist in diesem Zusammenhang nebensächlich, denn die gesamte Zytoplasmachicht der *Chara*-Zellen hat eine Dicke von nur etwa 5μ , was im Vergleich zum Durchmesser der Zellen (etwa $1,0$ bis $1,8$ mm) eine recht geringe Grösse ist.

stante, welche ein Mass der Permeabilität der Zellgrenzschicht für den betreffenden Stoff darstellt.

Bezeichnen wir das Volumen der Zelle mit v , so wird $m = v \cdot c$. Wir erhalten somit

$$\frac{dc}{dt} = \frac{k \cdot q}{v} (C - c) \quad (3)$$

oder integriert¹⁾

$$k = \frac{v}{q \cdot t} \cdot \ln \frac{C}{C - c} \quad (4)$$

Wenn unter sich ganz gleichartige Zellen betrachtet werden, bleiben v und q konstant. Begnügt man sich mit Relativwerten, welche z. B. das Permeiervermögen verschiedener Substanzen gegenüber unter sich identischen Zellen charakterisieren sollen, so können diese Grössen daher in die Konstante aufgenommen werden, und wir erhalten die einfachere Gleichung

$$k' = \frac{1}{t} \cdot \ln \frac{C}{C - c} \quad (5)$$

Alle diese Gleichungen lassen sich aus der FICKSchen Diffusionsgleichung ableiten.

Grenzfall II. (Vgl. MIYAZAKI 1927 S. 270 ff. und HILL 1929 S. 70 ff.) Im Gegensatz zum Grenzfall I denken wir uns jetzt, dass der Diffusionswiderstand in allen Teilen der zylindrischen Zelle gleich ist, dass also keine besondere durchtrittshemmende Grenzschicht vorhanden ist. Dann gilt nach HILL, wenn das Eindringen des diffundierenden Stoffes durch die Endflächen des Zylinders vernachlässigt wird, die Differentialgleichung

$$\frac{\partial c}{\partial t} = \frac{D}{r} \frac{\partial}{\partial r} \left(r \frac{\partial c}{\partial r} \right), \quad (6)$$

worin c die Konzentration des diffundierenden Stoffes in einem beliebigen Punkt innerhalb des Zylinders zur Zeit t und r den Achsenabstand des betreffenden Punktes bedeuten. D ist die Diffusionskonstante. HILL hat diese Gleichung integriert und die zeitliche Zunahme des durchschnittlichen Sättigungsgrades des Zylinderinhaltes graphisch dargestellt (l. c. Fig. 5). Unter dem »durchschnittlichen Sättigungsgrad des Zylinderinhaltes« ist dabei das Verhältnis der jeweiligen durchschnittlichen Konzentration des diffundierenden Stoffes im Zylinder zu seiner Gleichgewichtskonzentration daselbst zu verstehen.

Der Unterschied des Diffusionsverlaufes in den beiden oben gekennzeichneten theoretischen Grenzfällen ist in Abb. 1 veranschaulicht. Kurve I be-

¹⁾ v und q werden hier als während des einzelnen Versuchs unveränderlich betrachtet, was allerdings nur annäherungsweise zutrifft. Vgl. S. 32.

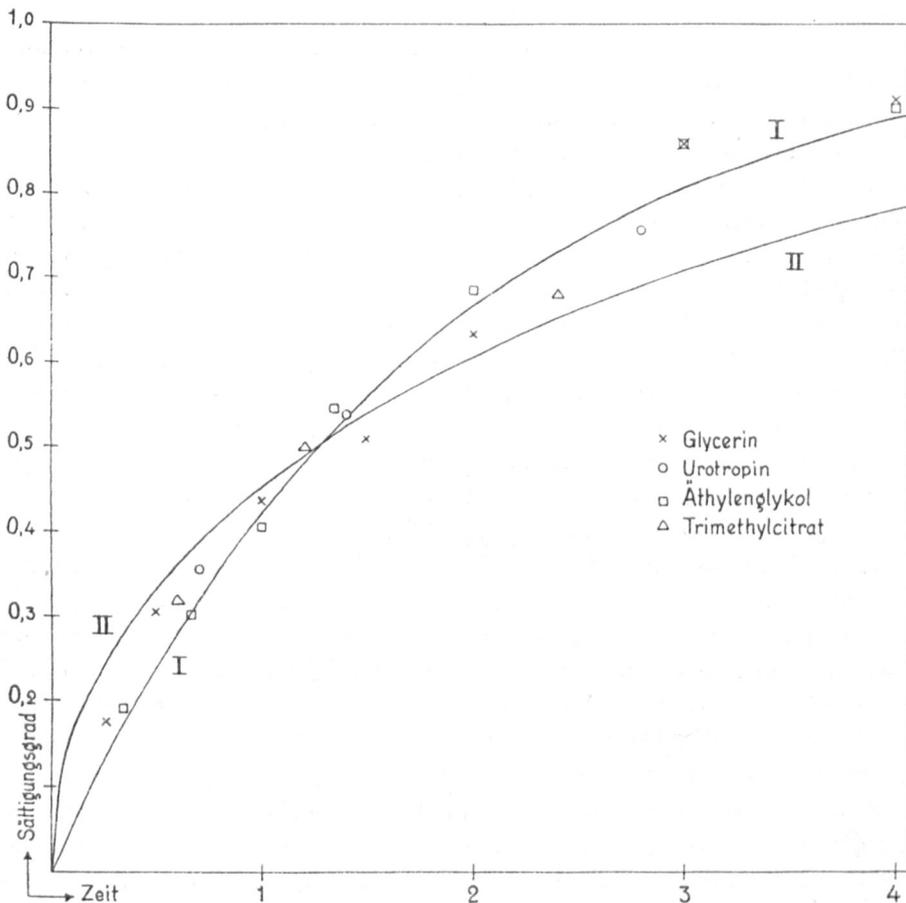


Abb. 1. Erklärung siehe Text.

zieht sich auf den Grenzfall I und zeigt einen Diffusionsverlauf, der die Gleichung (5) befolgt. Kurve II bezieht sich dagegen auf den Grenzfall II und veranschaulicht einen Diffusionsverlauf gemäss der Gleichung (6). Die Abszisse ist der Zeit proportional; auf der Ordinatenachse ist der durchschnittliche Sättigungsgrad des Zellinhaltes aufgetragen. Die Werte von k' (Kurve I) und D (Kurve II) sind so gewählt, dass sich die beiden Kurven in dem Punkte schneiden, welcher dem Sättigungsgrad 0,5 entspricht. Beide Kurven sind rein theoretisch konstruiert. (Über die Bedeutung der in derselben graphischen Darstellung eingetragenen empirisch bestimmten Punkte siehe S. 28.) Der charakteristische Unterschied zwischen den beiden Kurven tritt klar hervor. Im Grenzfall II verläuft die Diffusion anfangs schneller als im Grenzfall I, dann relativ langsamer. Doch ist der Unterschied zwischen den beiden

Diffusionsverläufen nicht übermässig gross. Beiden Kurven ist gemeinsam, dass sie zuerst steil aufwärts steigen, dann allmählich einen flacheren Verlauf annehmen und sich zuletzt asymptotisch dem Sättigungsgrad 1 nähern.

Nun ist es klar, dass, wenn das Eindringen eines gelösten Stoffes in die *Chara*-Zellen (oder umgekehrt das Austreten desselben aus den Zellen) einen einfachen Diffusionsvorgang darstellt, dann im konkreten Fall der Prozess eine Kurve befolgen muss, die irgendwo zwischen den theoretischen Kurven I und II liegt. Je langsamer die Permeation durch die Zellgrenzschichten und je schneller die Diffusion des permeierenden Stoffes im Zellinnern geschieht, um so mehr nähert sich der Prozess dem Grenzfall I. Je mehr sich aber die Permeiergeschwindigkeit durch die Grenzschicht der Diffusionsgeschwindigkeit im Zellinnern nähert, um so näher schliesst sich die empirische Kurve der Kurve II an. Da aber die Diffusibilität der verschiedenen Verbindungen im Zellsaft innerhalb verhältnismässig enger Grenzen schwankt, das Permeiervermögen durchs Plasma dagegen stark variiert, so ist vor auszusehen, dass die Form der empirischen Kurve in erster Linie vom Permeiervermögen der betreffenden Verbindung abhängig sein wird. Da, wie in den Abschnitten III C und IV A gezeigt wird, die meisten von uns studierten Verbindungen die Zellgrenzschichten verhältnismässig sehr langsam durchdringen, ist in den meisten Fällen — sofern keine störenden Momente hinzutreten — ein Diffusionsverlauf zu erwarten, der praktisch mit der Kurve I zusammenfällt.

Soviel über die Theorie des Konzentrationsausgleichs zwischen Aussenlösung und Zellsaft durch Diffusion. Um zu untersuchen, wie das Eindringen gelöster Nichtelektrolyte in die *Chara*-Zellen tatsächlich geschieht, wurde im Falle verschiedenartiger Verbindungen geprüft, wie viel von denselben im Verlauf mehrerer zweckmässig gewählten Zeitabschnitte in die Zellen eindringt. Solche Versuche wurden mit langsam, mässig schnell und schnell permeierenden Stoffen ausgeführt. Die so erhaltenen empirischen Befunde sollen unten mit dem theoretisch berechneten Diffusionsverlauf verglichen werden und zwar teils an der Hand der graphischen Darstellung in Abb. 1 und teils direkt an der Hand des Zahlenmaterials der Versuchsprotokolle.

In Abb. 1 sind ausser den beiden theoretischen Kurven auch eine Anzahl einzelner Punkte eingetragen, welche den empirischen Diffusionsverlauf in je einem Versuch mit Glycerin, Urotropin, Äthylenglykol und Trimethylcitrat zeigen. Da die genannten Verbindungen sehr verschieden leicht permeieren, musste für jeden Stoff eine besondere Zeiteinheit bei der graphischen Darstellung benutzt werden. Und zwar entspricht eine Abszisseneinheit beim Glycerin 48 Stunden, beim Urotropin 8,57 Stunden, beim Äthylenglykol 30 Minuten und beim Trimethylcitrat 3,33 Minuten. Man sieht, dass die empirischen Werte sich recht gut der Kurve I anschliessen. Nur die mit Trimethylcitrat erhaltenen Werte zeigen eine gewisse Annäherung auch an Kurve II; die bei-

den Kurven liegen aber einander so nahe, dass die hier mitgeteilten Befunde keine sichere Entscheidung darüber zulassen, ob das Eindringen des Trimethylcitrats sich mehr nach der Gleichung (5) oder nach der Gleichung (6) vollzieht. Auch darf nicht verschwiegen werden, dass die Streuung der einzelnen Punkte, wie aus den nachfolgenden Versuchsprotokollen hervorgeht, in manchen anderen Versuchen grösser war als in den in Abb. 1 wiedergegebenen Versuchen.

Unten folgt dann eine Zusammenstellung der Ergebnisse sämtlicher Versuche, die speziell zur Ermittlung der Kinetik des Eindringens ausgeführt sind. Die Versuche sind nach zunehmendem Permeiervermögen geordnet. Die Versuchszeiten sind in den mit Acetamid, Trimethylcitrat und Urethylan ausgeführten Versuchen in Minuten, in allen übrigen Versuchen in Stunden angegeben. Die mit »gef.« bezeichnete Zeile gibt die experimentell gefundenen Sättigungsgrade an. Die folgende Zeile gibt an, welche Sättigungsgrade zu den betreffenden Zeitpunkten erreicht worden wären, wenn das Eindringen gemäss der Gleichung (5) geschehen wäre. Die zugehörigen k' -Werte sind bei jedem Versuch angegeben. Sie wurden erhalten, indem aus einigen um 0,5 herum liegenden experimentell gefundenen Sättigungsgraden die entsprechenden k' -Werte berechnet wurden. Aus diesen wurde dann das Mittel genommen. Die letzte Zeile in jedem Versuch gibt die Differenz zwischen den experimentell erhaltenen und den berechneten Sättigungsgraden an. Die Differenz wird als positiv bezeichnet, wenn der gefundene Wert grösser als der berechnete ist, im umgekehrten Falle als negativ.

Versuch B 61. 22. VIII. 1929. 0,25 GM Glycerin. $k' = 0,012$.

Zeit	12	24	48	72	96	144	192
gef.	0,18	0,31	0,44	0,51	0,63	0,86	0,92
ber.	0,13	0,25	0,44	0,58	0,68	0,82	0,90
Differenz	+0,05	+0,06	±0,00	−0,07	−0,05	+0,04	+0,02

Versuch B 210. 13. VII. 1931. 0,25 GM Glycerin. $k' = 0,018$.

Zeit	24	48	96
gef.	0,38	0,61	0,77
ber.	0,35	0,58	0,82
Differenz	+0,03	+0,03	−0,05

Versuch A 43. 11. VIII. 1930. 0,1 GM Dicyandiamid. $k' = 0,021$.

Zeit	10	20	46	90
gef.	0,18	0,38	0,55	0,87
ber.	0,19	0,34	0,62	0,85
Differenz	−0,01	+0,04	−0,07	+0,02

Versuch A 100. 26. VII. 1931. 0,1 GM Harnstoff (in einer sauren Salzlösung gelöst; vgl. S. 23). $k' = 0,022$.

Zeit	13,1	23,4	47,3	69	117
gef.	0,28	0,43	0,68	0,71	0,84
ber.	0,25	0,40	0,65	0,78	0,92
Differenz	+0,03	+0,03	+0,03	-0,07	-0,08

Versuch A 95. 21. VII. 1931. 0,1 GM Harnstoff (in saurer Lösung). $k' = 0,023$.

Zeit	6	13,2	24	71
gef.	0,13	0,31	0,44	0,68
ber.	0,13	0,26	0,42	0,81
Differenz	$\pm 0,00$	+0,05	+0,02	-0,13

Versuch B 181. 10. X. 1930. 0,1 GM Harnstoff (in künstl. Brackwasser). $k' = 0,072$.

Zeit	3	6	12	24 ¹⁾
gef.	0,19	0,35	0,52	0,87
ber.	0,19	0,35	0,58	0,82
Differenz	$\pm 0,00$	$\pm 0,00$	-0,06	+0,05

Versuch B 242. 23. VIII. 1931. 0,1 GM Urotropin. $k' = 0,066$.

Zeit	6	12	24	48
gef.	0,35	0,54	0,76	0,98
ber.	0,33	0,55	0,80	0,96
Differenz	+0,02	-0,01	-0,04	+0,02

Versuch B 124. 14. VIII. 1930. 0,2 GM Lactamid. $k' = 0,091$.

Zeit	2,5	5	7,5	10
gef.	0,23	0,37	0,50	0,60
ber.	0,20	0,37	0,50	0,60
Differenz	+0,03	$\pm 0,00$	$\pm 0,00$	$\pm 0,00$

Versuch B 185. 14. X. 1930. 0,2 GM Lactamid. $k' = 0,095$.

Zeit	12	24	48
gef.	0,74	0,84	0,99
ber.	0,68	0,89	0,99
Differenz	+0,06	-0,05	$\pm 0,00$

Versuch B 125. 15. VIII. 1930. 0,2 GM Lactamid. $k' = 0,099$.

Zeit	2	4	6	8	10
gef.	0,24	0,38	0,50	0,53	0,59
ber.	0,18	0,33	0,45	0,55	0,63
Differenz	+0,06	+0,05	+0,05	-0,02	-0,04

1) Zahlreiche Zellen abgestorben.

Versuch B 178. 8. X. 1930. 0,1 GM Methylharnstoff. $k' = 0,265$.

Zeit	1,5	3	6	12	24
gef.	0,32	0,55	0,78	0,91	0,97
ber.	0,33	0,55	0,80	0,96	1,00
Differenz	-0,01	$\pm 0,00$	-0,02	-0,05	-0,03

Versuch B 5. 15. VII. 1929. 0,2 GM Äthylenglykol. $k' = 1,01$.

Zeit	0,17	0,33	0,5	1,0	1,5	2	3	6	8
gef.	0,23	0,31	0,39	0,61	0,74	0,89	0,95	0,97	0,99
ber.	0,16	0,29	0,40	0,64	0,78	0,87	0,95	1,00	1,00
Differenz	+0,07	+0,02	-0,01	-0,03	-0,04	+0,02	$\pm 0,00$	-0,03	-0,01

Versuch B 4. 13. VII. 1929. 0,2 GM Äthylenglykol. $k' = 1,13$.

Zeit	0,17	0,33	0,5	1,0	1,5	2	3	6	8
gef.	0,19	0,30	0,41	0,69	0,86	0,90	0,96	0,96	0,98
ber.	0,17	0,31	0,43	0,68	0,82	0,90	0,97	1,00	1,00
Differenz	+0,02	-0,01	-0,02	+0,01	+0,04	$\pm 0,00$	-0,01	-0,04	-0,02

Versuch B 60. 29. VIII. 1929. 0,2 GM Acetamid. $k' = 1,60$.

Zeit	8'	16'	32'	64'	128'	256'	600'
gef.	0,20	0,39	0,58	0,76	0,96	0,98	1,00
ber.	0,19	0,35	0,57	0,82	0,97	1,00	1,00
Differenz	+0,01	+0,04	+0,01	-0,06	-0,01	-0,02	$\pm 0,00$

Versuch B 214. 18. VII. 1931. 0,1 GM Trimethylcitrat. $k' = 8,1$.

Zeit	1'	2'	4'	8'	16'	32'	64'
gef.	0,17	0,29	0,42	0,56	0,82	0,94	1,00
ber.	0,13	0,24	0,42	0,66	0,89	0,99	1,00
Differenz	+0,04	+0,05	$\pm 0,00$	-0,10	-0,07	-0,05	$\pm 0,00$

Versuch B 213. 17. VII. 1931. 0,1 GM Trimethylcitrat. $k' = 9,3$.

Zeit	2'	4'	8'	16'	32'	64'
gef.	0,32	0,50	0,68	0,88	0,94	1,00
ber.	0,27	0,46	0,71	0,92	0,99	1,00
Differenz	+0,05	+0,04	-0,03	-0,04	-0,05	$\pm 0,00$

Versuch B 217. 21. VII. 1931. 0,2 GM Urethylan. $k' = 25,7$.

Zeit	0,5'	1'	2'	4'	8'	16'	32'
gef.	0,27	0,38	0,57	0,78	0,94	1,01	0,99
ber.	0,19	0,35	0,58	0,82	0,97	1,00	1,00
Differenz	+0,08	+0,03	-0,01	-0,04	-0,03	+0,01	-0,01

Versuch B 218. 22. VII. 1931. 0,2 GM Urethylan. $k' = 27,2$.

Zeit	0,5'	1'	2'	4'	8'	16'	32'
gef.	0,16	0,44	0,58	0,75	0,93	0,99	1,00
ber.	0,20	0,37	0,60	0,84	0,97	1,00	1,00
Differenz	-0,04	+0,07	-0,02	-0,09	-0,04	-0,01	± 0,00

Ein Blick auf die mitgeteilten Befunde zeigt, dass zwischen dem auf Grund der Gleichung (5) theoretisch berechneten Diffusionsverlauf und dem experimentell gefundenen Verlauf der Stoffaufnahme im grossen und ganzen eine recht gute Übereinstimmung herrscht. Die Abweichungen sind meistens nicht grösser, als dass sie ungezwungen auf zufällige Analysenfehler, Temperaturschwankungen während des Versuchs, Unterschiede zwischen den einzelnen Zellportionen und andere derartige unvermeidliche Störungen zurückgeführt werden können. Leicht verständlich ist es auch, dass die mässig schnell permeierenden Verbindungen (von Urotropin bis Acetamid) im allgemeinen die gleichmässigsten Ergebnisse geliefert haben, wogegen die Unregelmässigkeiten grösser sind erstens im Falle der am langsamsten permeierenden Verbindungen, bei denen im Verlauf der übermässig langen Versuchszeit allerhand Störungen sich wohl am meisten geltend machen können, dann aber auch im Falle der am allerschnellsten permeierenden Verbindungen, welche wegen der benötigten sehr kurzen Versuchszeiten die grössten Ansprüche an die manuelle Geschicklichkeit des Experimentators stellen.

Ausser regellosen Schwankungen, die ungezwungen auf zufällige Versuchsfehler zurückgeführt werden können, treten in einigen Fällen vielleicht auch gewisse systematische Abweichungen von dem nach Gleichung (5) berechneten Diffusionsverlauf zu Tage, und zwar insofern, als die Sättigungsgrade um 0,1 bis 0,4 herum oft ein wenig zu gross, diejenigen um 0,6 bis 0,9 herum dagegen oft etwas zu klein ausgefallen sind. Im Falle der am schnellsten permeierenden Verbindungen dürfte dies wenigstens zum Teil davon herrühren, dass der tatsächliche Diffusionsverlauf zwischen den Grenzfällen I und II liegt. Wahrscheinlich bewirken aber auch irgendwelche anderen Faktoren eine geringe Abweichung in derselben Richtung. Wenigstens zwei solche Faktoren lassen sich in der Tat leicht finden: — 1. Beim Abzapfen des Zellsaftes mischen sich, wie vorhin (S. 9 f.) erwähnt, Spuren der Aussenlösung mit dem Zellsaft. Die hierdurch vorgetauschte Vergrösserung der tatsächlichen Zellsaftkonzentration ist selbstverständlich relativ am grössten im Anfang des Versuchs. — 2. Wenn die Zellen in die beim Versuch benutzten Lösungen eingetragen werden, entziehen diese den Zellen zunächst eine gewisse Menge Wasser auf osmotischem Wege. In dem Masse aber, als der gelöste Stoff in die Zellen eindringt, nehmen diese wieder Wasser auf. Diese Wasserver-

schiebungen bewirken natürlich auch, dass die Anfangskonzentrationen relativ zu gross ausfallen müssen.

Das Hauptergebnis der oben mitgeteilten Versuche ist jedenfalls die Feststellung, dass der zeitliche Verlauf der Stoffaufnahme in allen genau untersuchten Fällen einer *Diffusion* entspricht, und zwar wohl im allgemeinen einem solchen Diffusionsprozess, bei dem der effektive Widerstand praktisch allein in den peripheren Teilen der Zelle lokalisiert ist, während im Falle der sehr schnell permeierenden Stoffe auch der Diffusionswiderstand im Zellinnern sich vielleicht geltend macht.

Den Diffusionsverlauf bei *allen* von uns benutzten Substanzen in eigens hierauf gerichteten Versuchen zu studieren, schien uns nicht nötig, nachdem bereits für so viele Stoffe ein formelmässiger Verlauf des Eindringens festgestellt worden war. Doch verfügen wir über Befunde, die dafür sprechen, dass auch diejenigen Substanzen, welche in dieser Hinsicht nicht so genau untersucht worden sind wie die obengenannten, in ähnlicher Weise eindringen. Bei der Bestimmung des Permeiervermögens der verschiedenen Substanzen (Abschnitt IV A) wurden nämlich in fast jedem Versuch zwei verschiedenen lange Versuchszeiten benutzt. Meist war die eine genau zweimal länger als die andere. Wenn dann aus beiden Bestimmungen der k' -Wert auf Grund der Gleichung (5) S. 26 berechnet wird, ist selbstverständlich eine um so bessere Übereinstimmung der Parallelwerte zu erwarten, je genauer der Permeationsvorgang die genannte Gleichung befolgt. Wie aus Tabelle 4 zu ersehen ist, stimmen tatsächlich die beiden zu vergleichenden k' -Werte im allgemeinen recht befriedigend überein.

Wenn die Stoffaufnahme in die *Chara*-Zellen dem Diffusionsgesetz gemäss stattfindet und wenn die permeierenden Stoffe nicht selbst die Zellpermeabilität verändern, dann muss in einer gegebenen Zeit ein bestimmter Sättigungsgrad erreicht sein *unabhängig von der Konzentration der permeierenden Verbindung in der Aussenlösung*. Um die Stichhaltigkeit dieser Voraussetzung zu prüfen, wurde die Aufnahme von einigen verschiedenartigen Verbindungen aus verschiedenen konzentrierten Lösungen studiert. Bei der Bewertung der Ergebnisse ist zu berücksichtigen, dass die relativen Versuchsfehler bei der Verwendung von sehr verdünnten Lösungen erheblich grösser werden als sonst. Wenn man dies im Auge behält, ersieht man aus den folgenden Versuchen, dass die erreichten Sättigungsgrade den theoretischen Erwartungen gemäss von der Konzentration der Aussenlösung unabhängig sind.

<i>Versuch B 66. 1. IX. 1929. Harnstoff. Versuchsdauer 6 Stunden.</i>			
Konzentration der Aussenlösung (GM):	0,2	0,1	0,05
Sättigungsgrad des Zellsaftes:	0,330	0,301	0,304

Versuch B 203. 9. VII. 1931. Trimethylcitrat. Versuchsdauer 5 Minuten.
 Konzentration der Aussenlösung (GM): 0,1 0,05 0,02
 Sättigungsgrad des Zellsaftes: 0,540 0,591 0,529 0,533 0,470 0,680

Versuch B 204. 10. VII. 1931. Methylharnstoff. Versuchsdauer 2 Stunden.
 Konzentration der Aussenlösung (GM): 0,25 0,1 0,02
 Sättigungsgrad des Zellsaftes: 0,392 0,430 0,373 0,387 0,339 0,379

Versuch B 209. 14. VII. 1931. Glycerin. Versuchsdauer 24 Stunden.
 Konzentration der Aussenlösung (GM): 0,25 0,1
 Sättigungsgrad des Zellsaftes: 0,295 0,302 0,314 0,295 0,313 0,358

Alle in diesem Abschnitt mitgeteilten Resultate sprechen somit dafür, dass die Aufnahme der von uns studierten Nichtelektrolyte in die *Chara*-Zellen durch einen einfachen Diffusionsprozess stattfindet. Mit diesem Ergebnis harmonieren auch alle unsere sonstigen Erfahrungen an diesem Objekt, so u. a. der im vorigen Abschnitt besprochene Befund, dass die Aufnahme der Nichtelektrolyte in den Zellsaft in einem Gleichgewichtszustand resultiert, wobei die Konzentration der aufgenommenen Verbindung im Zellsaft nahezu ihre Konzentration in der Aussenlösung erreicht. Auch die Feststellung, dass der Austritt der untersuchten Nichtelektrolyte aus den Zellen *ceteris paribus* mit derselben Geschwindigkeit wie ihr Eindringen geschieht (vgl. Abschnitt III D), spricht natürlich entschieden gegen die Annahme, es handle sich in den studierten Fällen um irgendeine Art eines »aktiven« Stofftransportes.

C. Wie verteilt sich der Diffusionswiderstand der Zellen auf Zellwand, Zytoplasma und Zellsaft?

Es ist selbstverständlich wichtig, zu entscheiden zu suchen, in welchen Teilen der Zelle der grosse Widerstand, den die *Chara*-Zellen dem Eindringen vieler gelösten Substanzen entgegensetzen, lokalisiert ist.

Wie im vorigen Abschnitt (III B) bereits dargetan, deutet eine Analyse des Diffusionsverlaufs beim Eindringen gelöster Nichtelektrolyte in die *Chara*-Zellen am ehesten darauf hin, dass im Falle der meisten permeierenden Verbindungen der effektive Diffusionswiderstand fast allein an der Peripherie der Zellen lokalisiert ist. Nur im Falle derjenigen Verbindungen, die am allerschnellsten durch die peripheren Zellgrenzschichten dringen, scheint auch die Zeit, welche nötig ist, damit die Substanz sich durch Diffusion im Zellsaft verbreitet, eine Rolle neben der zum Durchdringen der Zellgrenzschichten nötigen Zeit zu spielen. Dieser Schluss wird durch die im folgenden beschriebenen Versuche vollauf bestätigt.

Ausserdem gilt es aber hier zu entscheiden, wie der periphere Diffusionswiderstand sich auf Zellwand und Zytoplasma verteilt. Die Zellwand der von

uns benutzten Zellen erwies sich weder als kutinisiert noch als verkorkt. Sie färbte sich nämlich nicht mit Sudan-Glycerin, trotzdem andere gleichzeitig in demselben Bad behandelte Pflanzenteile (Blattquerschnitte von *Ficus elastica*) eine sehr schöne Kutikulafärbung ergaben. Unter diesen Umständen war wohl zu erwarten, dass sich die Zellwand der *Chara*-Zellen als leicht durchlässig zeigen würde. Auch diese Vermutung wird durch die nachfolgenden Versuche bestätigt.

Dagegen haben wir leider keine Möglichkeit gehabt, zu entscheiden, wie der Diffusionswiderstand des Plasmas sich auf die Plasmahäute und auf das Mesoplasma verteilt. (Vgl. HÖFLER 1931.) Was wir gemessen haben, ist vielmehr immer der Gesamtwiderstand des Plasmas beim Übergang eines gelösten Stoffes aus der Aussenlösung in den Zellsaft oder umgekehrt.

I. VERSUCHE MIT ABGETÖTETEN ZELLEN.

Werden *Chara*-Zellen vorsichtig abgetötet, so kann man hoffen, dass die Permeabilitätseigenschaften der Zellwand hierbei im wesentlichen unverändert bleiben, trotzdem das Plasma seinen diffusionshemmenden Einfluss grösstenteils einbüsst. Auch der Diffusionswiderstand des Zellsaftes wird bei der Abtötung der Zellen im wesentlichen unverändert bleiben. Durch einen Vergleich der Geschwindigkeiten des Eintritts gelöster Stoffe in lebende und vorsichtig abgetötete Zellen wird man also mit einem recht hohen Grade von Wahrscheinlichkeit approximativ schätzen können, welchen Widerstand die leblosen Zellteile (Zellwand + Zellsaft) und welchen Widerstand das lebende Zytoplasma dem Eintritt diffundierender Stoffe entgegensetzen.

Ein solcher Vergleich ist in Tabelle 2 durchgeführt. Die erste Spalte enthält die Namen der sechs Verbindungen, die zu dem Vergleich gewählt wurden. Die zweite Spalte gibt an, in wie vielen Minuten das Stadium der Halbsättigung bei lebenden *Chara*-Zellen erreicht wird. Unter Halbsättigung ist dabei der Zustand zu verstehen, wobei die durchschnittliche Konzentration der diffundierenden Substanz im Zellinnern gleich der Hälfte der Gleichgewichtskonzentration ist. Die Zahlen der dritten Spalte geben an, in wie vielen Minuten der Halbsättigungszustand bei vorsichtig abgetöteten Zellen erreicht wird. Die letzte Spalte endlich enthält zum Vergleich Angaben darüber, in wie vielen Minuten das Stadium der Halbsättigung erreicht worden wäre, wenn es sich um das Eindringen der genannten Substanzen durch freie Hydrodiffusion in aus Wasser bestehende Zylinder von den Dimensionen der *Chara*-Zellen handelte.

Die Zahlen der zweiten Spalte der Tabelle 2 stellen einen Auszug aus der grösseren Tabelle 6 dar. Die Zahlen der dritten Spalte wurden in folgender Weise erhalten: *Chara*-Zellen wurden zur Abtötung wenigstens über Nacht mit einer

Tabelle 2.

Halbsättigungszeit in Minuten beim Eindringen einiger verschiedenartigen Verbindungen in lebende und abgetötete Chara-Zellen verglichen mit den theoretisch berechneten Halbsättigungszeiten gleich dimensionierter Wasserzylinder.

Diffundierende Verbindung	Halbsättigungszeit		
	an lebenden Zellen	an abgetöteten Zellen	berechnet für Wasserzylinder
Methylalkohol	1,3	0,8	0,27
Harnstoff	320	0,9	0,34
Acetamid	24	1,2	0,38
Glycerin	1 700	1,9	0,49
Trimethylcitrat	5,5	2,2	0,67
Saccharose	>50 000	4,1	0,92

5-prozentigen Formalinlösung behandelt, wonach das Formalin gründlich mit Leitungswasser ausgewaschen wurde. Nach dieser Behandlung besitzt die Mehrzahl der Zellen auffallenderweise noch eine gewisse Steifheit, wie von einem schwachen Turgordruck herrührend. Mit derartigen Zellen wurde in derselben Weise wie sonst mit lebenden Zellen eine Reihe von Permeationsversuchen angestellt, wobei immer eine Zellportion mit Saccharose, eine andere möglichst ähnliche Zellportion mit Methylalkohol, Harnstoff, Acetamid, Glycerin oder Trimethylcitrat behandelt wurde. Jede Verbindung wurde wenigstens ein paarmal geprüft. Aus jedem Versuch wurde unter Zugrundelegung der Gleichung (6) S. 26 die Halbsättigungszeit berechnet. Die erhaltenen durchschnittlichen Halbsättigungszeiten sind in der Tabelle 2 enthalten, die einzelnen Versuche werden dagegen, um Raum zu sparen, nicht mitgeteilt.

Die Zahlen der letzten Spalte der Tabelle 2 sind theoretisch berechnet auf Grund der Angabe von HILL (1929, S. 70 ff.), dass beim Eindringen von gelösten Stoffen durch Diffusion in einen homogenen Zylinder das Stadium der Halbsättigung erreicht wird nach der Zeit

$$t = 0,063 \cdot \frac{r^2}{D}, \quad (1)$$

worin r den Radius des Zylinders und D die Diffusionskonstante (ausgedrückt in $\text{cm}^2/\text{Minuten}$) bedeutet. Hierbei wird vorausgesetzt, dass das Eindringen allein durch die Seitenflächen des Zylinders geschieht, was bei der relativ grossen Länge der Chara-Zellen in erster Annäherung zutreffen dürfte. Im Falle der von uns benutzten Zellen ist r durchschnittlich etwa $0,062$ cm. Also ist

$$t = \frac{0,063 \cdot 0,0038}{D} = \frac{0,00024}{D}. \quad (2)$$

Den *International Critical Tables* (Vol. V, S. 63 ff.) entnehmen wir die folgenden Diffusionskoeffizienten, ausgedrückt in $\text{cm}^2/\text{sec.}$ und gültig bei 20°C. und bei der Konzentration 0,25 oder 0,5 GM: Harnstoff $1,18 \cdot 10^{-5}$, Acetamid $1,04 \cdot 10^{-5}$, Glycerin $0,82 \cdot 10^{-5}$, Saccharose $0,43 \cdot 10^{-5}$. Für Methylalkohol schätzen wir

auf Grund der Angaben a. a. O. den entsprechenden Wert zu etwa $1,46 \cdot 10^{-5}$. Für den Diffusionskoeffizienten des Trimethylcitrats haben wir in der Literatur keinen Wert gefunden. Da seine Molrefraktion ($MR_D = 50,3$) etwa in der Mitte zwischen derjenigen des Glycerins (20,6) und derjenigen der Saccharose (70,4) steht, können wir seinen Diffusionskoeffizienten bei 20° zu rund $0,6 \cdot 10^{-5}$ veranschlagen. Verwandeln wir diese in cm^2/sec . ausgedrückten Diffusionskoeffizienten in $\text{cm}^2/\text{Minuten}$ und setzen die so erhaltenen Zahlenwerte in die Gleichung (2) ein, so bekommen wir die in der letzten Spalte der Tabelle 2 angegebenen »berechneten« Halbsättigungszeiten.

Das Zahlenmaterial der Tabelle 2 bietet manches von Interesse. Wie ersichtlich, liegen die für freie Hydrodiffusion berechneten Halbsättigungszeiten im Falle der sechs in Rede stehenden Verbindungen innerhalb sehr enger Grenzen, nämlich zwischen 0,27 und 0,92 Minuten. Die empirisch gefundenen Halbsättigungszeiten abgetöteter Zellen bewegen sich gleichfalls innerhalb recht enger Grenzen (von 0,8 bis zu 4,1 Minuten) und sind etwa 3- bis 4-mal grösser als die vorigen, was gut verständlich erscheint, wenn man bedenkt, dass die Zellwand und das Plasma wohl in keinem Falle ganz so durchlässig wie eine gleich dicke Wasserschicht sein können. Wenn man die geprüften Substanzen nach zunehmender Halbsättigungszeit ordnet, bekommt man ganz dieselbe Reihenfolge, einerlei ob man die theoretisch berechneten oder die empirisch bestimmten Halbsättigungszeiten benutzt. Daraus geht hervor, dass die Zellwand ziemlich gleichmässig diffusionshemmend auf Verbindungen verschiedener Art wirkt; nur werden, wie es scheint, grössermolekulare Verbindungen ein wenig stärker als kleinemolekulare Verbindungen in ihrer Bewegung gebremst, was auf eine (allerdings nur wenig hervortretende) Siebwirkung der Zellwand (oder des abgetöteten Plasmas) hindeutet. Gehen wir jetzt zu der Spalte über, welche die Halbsättigungszeiten der lebenden Zellen enthält, so ändert sich das Bild gänzlich. Die einzelnen Verbindungen dringen mit äusserst verschiedener Geschwindigkeit in die lebenden Zellen ein. Während der Methylalkohol fast ebenso schnell in die lebenden wie in die abgetöteten Zellen eindringt, diffundiert das Glycerin rund 2500-mal und die Saccharose sogar mehr als 10000-mal langsamer in die lebenden als in die abgetöteten Zellen hinein. Wenn man nicht annehmen will, dass die Durchlässigkeit der Zelloberfläche durch die Formalinbehandlung radikal verändert worden ist, was wohl wenig Wahrscheinlichkeit für sich hat, muss man also schliessen, dass eben das lebende Zytoplasma das praktisch allein wirkende Diffusionshemmnis beim Eindringen der meisten hier in Rede stehenden Verbindungen darstellt.

Der in der Tabelle 2 durchgeführte Vergleich zwischen der Permeabilität lebender und abgetöteter Zellen ist insofern nicht ganz exakt, als die zu vergleichenden Versuche nicht gleichzeitig ausgeführt worden sind und somit keine Gewähr für gleiche Temperatur und gleiche Grösse der benutzten Zellen besteht. Um den Vergleich wenigstens für zwei Verbindungen, Methylalkohol

und Trimethylcitrat, genauer durchzuführen, wurden mit diesen Substanzen Permeabilitätsversuche gleichzeitig an lebenden und abgetöteten, sonst aber möglichst gleichartigen Zellportionen gemacht. Die Ergebnisse finden sich in der Tabelle 3 zusammengestellt. Es bedeutet A lebende und B abgetötete Zellen.

Tabelle 3.

Eindringungsgeschwindigkeit von Methylalkohol und Trimethylcitrat in lebende (A) und abgetötete (B) Chara-Zellen.

Versuchsnummer	Diffundierende Substanz	Konz. (GM)	Temp.	Diffusionszeit (Minuten)		Konz. im Zellinnern (Rel.-Proz.)			
				A	B	A		B	
B 309	Methylalkohol ..	0,3	19°	0,5	0,5	42,1	45,9	47,7	49,0
B 310	» ..	0,3	19°	0,5	0,5	43,4	44,1	44,5	46,7
B 315	Trimethylcitrat ..	0,05	21°	4	2	41,5	47,4	40,5	43,9
B 317	» ..	0,05	21°	4	2	42,1	48,0	41,9	42,0

Die Ergebnisse stimmen mit denjenigen der Tabelle 2 gut überein. Es zeigt sich wieder, dass der Methylalkohol eben merklich schneller in abgetötete als in lebende Zellen eindringt, wogegen das Trimethylcitrat etwa 2-mal schneller in abgetötete als in lebende Zellen hineindiffundiert.

2. VERSUCHE MIT DER ISOLIERTEN ZELLWAND.

Da die Möglichkeit theoretisch vorhanden ist, dass das Formalin die Durchlässigkeit der Zellwand durchgreifend verändert, haben wir versucht, die Permeabilität auch der nicht vorbehandelten Zellwand in isoliertem Zustand zu untersuchen. Zu diesem Zweck wurden zunächst grosse Chara-Zellen der Länge nach aufgeschlitzt. Die Zellwand wurde dann mit Wasser abgespült und mittelst zweier Gummiringe zwischen zwei dickwandigen Glasrohren membranartig ausgespannt. Zum Abdichten der Fugen zwischen Gummi und Zellwand sowie zwischen Gummi und Glas wurde Vaseline verwendet. Das eine Rohr wurde dann mit reinem Wasser, das zweite mit einer Lösung eines Stoffes, dessen Vermögen, durch die Zellwand zu diffundieren, untersucht werden sollte, gefüllt. Nach einer angemessenen Zeit wurde dann festgestellt, wie viel Substanz durch die Membran hindurchgegangen war.

Die Ausführung dieser Versuche war aber nicht leicht, und die Zahl der gelungenen Experimente genügt nicht, um sichere Schlüsse zuzulassen. Soweit aber die Versuche ein Urteil gestatten, scheint es, dass die Zellwand für Saccharose leicht durchlässig, für Orange G (einen hochdispersen,

lipoidunlöslichen Sulfosäurefarbstoff) ziemlich durchlässig, für Alkaliblau (einen hochkolloidalen, lipoidunlöslichen Sulfosäurefarbstoff) dagegen undurchlässig ist.

Jedenfalls scheinen somit auch diese Versuche die grosse Durchlässigkeit der nativen Zellwand für molekular-disperse Lösungen zu bestätigen.

SCHÖNFELDER (1930 S. 495) scheint zu glauben, dass die Kutikula in unseren mit *Rhoeo* ausgeführten Versuchen die Permeation der lipoidlöslichen Stoffe gegenüber derjenigen der lipoidunlöslichen gefördert habe. Wir können dieser Ansicht nicht beipflichten (vgl. BÄRLUND 1929 S. 51). Noch weniger aber kommt dieser Einwand im Falle der *Chara*-Zellen in Betracht, nachdem festgestellt worden ist, dass sogar in hohem Grade lipoidunlösliche und grossmolekulare Verbindungen, wie Saccharose, rasch durch die Zellwand diffundieren.

D. Die Permeabilität der Zellgrenzschichten in entgegengesetzten Richtungen.

Über die relative Permeabilität der Zellgrenzschichten in entgegengesetzten Richtungen, d. h. von aussen nach innen und von innen nach aussen, ist bisher überaus wenig mit Sicherheit ermittelt worden. Was speziell das Permeieren der Nichtelektrolyte in entgegengesetzten Richtungen betrifft, liegen hierüber kaum andere systematische Beobachtungen vor als diejenigen des einen von uns (BÄRLUND 1929 S. 77 ff.) an Epidermisprotoplasten von *Rhoeo*. Diese zeigten sich für mehrere Nichtelektrolyte in beiden Richtungen gleich permeabel.

In Anbetracht der Dürftigkeit der bisherigen diesbezüglichen Erfahrungen schien es uns wichtig, das Verhalten der *Chara*-Zellen in dieser Hinsicht zu untersuchen.

Zunächst einige Versuche mit Äthylenglykol.

Versuch B 6. 17. VII. 1929. Temp. 20°. Es wird gleichzeitig untersucht a) das *Eindringen* des Glykols aus einer 0,2 molaren Lösung in die nicht vorbehandelten *Chara*-Zellen und b) das *Austreten* des Glykols aus ebensolchen Zellen, die zunächst 18 Stunden in einer 0,2 molaren Glykollösung waren, wobei das Glykol praktisch bis zur Sättigung eingetreten war, wonach die Zellen in (künstliches Brack-)Wasser versetzt wurden. Ergebnis:

Permeationszeit:		30'	60'	90'
Permeierte Menge (Rel.-Proz. ¹⁾)	a)	35,7	52,0	70,8
	b)	46,6	66,8	83,0

¹⁾ Die Bezeichnung Rel.-Proz. wird bei den Exosmoseversuchen in einem etwas anderen Sinne verwendet als sonst in dieser Arbeit. Wenn aus Zellen, die ursprünglich *a* GM der permeierenden Substanz enthielten, *b* GM exosmiert sind, bezeichnen wir die exosmierte Menge als $\frac{b}{a} \cdot 100$ Rel.-Proz.

Versuch B 10. 25. VII. 1929. Temp. 21°. Wie voriger Versuch, nur dass die Glykolkonzentration der Aussenlösung 0,1 GM und die Dauer der Vorbehandlung 12 Stunden betrug.

Permeationszeit:		30'	60'	90'
Permeierte Menge (Rel.-Proz.)	a)	45,7	73,9	84,1
	b)	53,7	74,3	82,7

Versuch B 11. 27. VII. 1929. Temp. 21°. Glykolkonzentration 0,2 GM. Dauer der Vorbehandlung 6 Stunden. Sonst wie im vorigen Versuch.

Permeationszeit:		30'	60'	90'
Permeierte Menge (Rel.-Proz.)	a)	50,0	65,1	80,6
	b)	53,6	69,5	84,1

Versuch B 12. 28. VII. 1929. Temp. 21°. Glykolkonzentration 0,1 GM. Dauer der Vorbehandlung 10 Stunden. Sonst wie im vorigen Versuch.

Permeationszeit:		30'	60'	90'
Permeierte Menge (Rel.-Proz.)	a)	49,2	62,8	86,9
	b)	49,1	67,2	86,4

Man sieht, dass in den obigen Versuchen die in entgegengesetzten Richtungen durchgetretenen Stoffmengen immer ganz derselben Grössenordnung sind. Irgendein bedeutender Unterschied hinsichtlich der Permeabilität für Glykol in entgegengesetzten Richtungen besteht also jedenfalls nicht.

Doch sind, besonders im Versuch B 6, andeutungsweise aber auch in den anderen Versuchen, die ausgetretenen Mengen fast immer ein wenig grösser als die unter denselben Bedingungen eingetretenen. Berechnet man die Permeationskonstanten für den Ein- und Austritt getrennt, so verhalten sie sich zu einander im Versuch B 6 wie 1: 1,45, im Versuch B 10 wie 1: 1,07, im Versuch B 11 wie 1: 1,12 und im Versuch B 12 wie 1: 1,03.

Es wäre sicher verfrüht, wollte man aus diesen Zahlen den Schluss ziehen, dass die *Chara*-Zellen ein wenig permeabler für Glykol in der Richtung von innen nach aussen als in entgegengesetzter Richtung seien. Denn abgesehen davon, dass der Unterschied hinsichtlich der permeierten Mengen nur im Versuch B 6 die gewöhnliche Fehlergrenze der Bestimmungen deutlich übersteigt, könnte man sich leicht auch eine andere Erklärung für diesen Unterschied denken: Die Zellen, an denen die Exosmosegeschwindigkeit untersucht wurde, haben in obigen Versuchen mehrere Stunden in einer 0,1—0,2 molaren Glykollösung verweilt; die Zellen, an denen die Eintrittsgeschwindigkeit gemessen wurde, haben dagegen keine derartige Vorbehandlung hinter sich. Wenn man nun etwa annimmt, dass die betreffende Vorbehandlung die Zellpermeabilität für Glykol ein wenig erhöht, so erklärt sich hierdurch der beobachtete Unterschied zwischen der Eintritts- und Austrittsgeschwindigkeit, ohne dass man eine verschiedene Permeabilität in entgegengesetzten Richtungen anzunehmen braucht.

Zur weiteren Klärung dieser Frage wurden folgende Versuche ausgeführt:

Versuch B 295. 5. VIII. 1932. Temp. 25°. Zwei Zellportionen (A und B) liegen 15 Minuten in einer 0,1 molaren Glykollösung und werden dann analysiert. Eindringen 33,0 bzw. 39,9 Rel.-Proz. Glykol. Vier weitere Zellportionen (C—F) blieben erst 24 Stunden in einer 0,1 molaren Glykollösung. Da das Verteilungsverhältnis des Glykols 1 beträgt, enthielt also der Zellsaft nach dieser Vorbehandlung gleichfalls 0,1 GM Glykol. Jetzt kommen C und D auf 15 Minuten in 0,2 GM Glykol, E und F dagegen auf 15 Minuten in künstl. Brackwasser ohne Glykol. Das Diffusionsgefälle ist also in allen Fällen gleich gross. Eingetreten in C und D (während der zweiten Permeationsperiode) 31,1 bzw. 36,7 Rel.-Proz., ausgetreten aus E und F 31,1 bzw. 33,6 Rel.-Proz. Die Permeation war also in allen Fällen innerhalb der Fehlergrenzen gleich gross.

Versuch B 297. 6. VIII. 1932. Temp. 25°. Ausgeführt ganz wie der vorige Versuch, nur das die Permeationszeit 20 statt 15 Minuten betrug. Analysenergebnis: A und B 41,9 bzw. 45,9 Rel.-Proz., C und D 42,2 bzw. 47,5 Rel.-Proz., E und F 41,0 bzw. 46,7 Rel.-Proz. Die Permeation war also auch hier unter den verschiedenen Bedingungen innerhalb der Fehlergrenzen gleich gross.

Das Endergebnis sämtlicher Glykolversuche ist somit die Erkenntnis, dass die *Chara*-Zellen innerhalb der Fehlergrenzen der Versuchsmethode gleich permeabel für diese Verbindung in entgegengesetzten Richtungen sind.

Mit Acetamid wurden zwei Versuche in ganz derselben Weise wie die beiden letzterwähnten Glykolversuche ausgeführt, nur dass die Permeationszeit jedesmal 15 Minuten betrug und dass die Zellportionen C—F zuerst 12—16 Stunden in einer 0,1 molaren Acetamidlösung verweilten. Das Ergebnis war:

Versuch B 243. 23. VIII. 1931. Temp. 21°. Die permeierten Mengen betragen bei A 37,2, B 43,5, C 46,9, D 49,1, E 37,5 und bei F 43,6 Rel.-Proz.

Versuch B 245. 29. VIII. 1931. Temp. 20°. Die permeierten Mengen betragen bei A 40,3, B 41,8, C 36,1, D 41,4, E 39,9 und bei F 42,7 Rel.-Proz.

Ein Unterschied hinsichtlich der Permeabilität in entgegengesetzten Richtungen ist also auch bei Anwendung von Acetamid nicht zu bemerken.

Mit zwei langsamer permeierenden Verbindungen, Methylharnstoff und Urotropin, wurden entsprechende Versuche nach folgendem Schema ausgeführt: Die Zellen verweilen zunächst t Stunden in einer a -molaren Lösung der zu prüfenden Substanz. Ein Teil der Zellen (Gruppe I) wird hiernach analysiert. Die Konzentration der permeierenden Verbindung im Zellsaft sei b . Die übrigen in derselben Weise vorbehandelten Zellen werden jetzt in zwei Gruppen eingeteilt. Die Zellen der einen Gruppe (II) kommen auf t Stunden in eine Lösung der zu prüfenden Substanz, deren Konzentration $2b$ beträgt. Die Zellen der letzten Gruppe (III) kommen dagegen auf t Stunden in künstl. Brackwasser. Zuletzt werden die Zellen der Gruppen II und III

analysiert. Hier wird also wie in den beiden letzten Glykolversuchen an in gleicher Weise vorbehandelten Zellen teils die Eintrittsgeschwindigkeit (Gruppe II) und teils die Austrittsgeschwindigkeit (Gruppe III) untersucht. Ausserdem wird noch die Geschwindigkeit des Eindringens in nicht vorbehandelte Zellen (Gruppe I) festgestellt.

Versuch B 246. 30. VIII. 1931. Temp. 20°. Methylharnstoff. $a = 0,1$ GM, $t = 2,5$ Stunden.

	Gruppe I	Gruppe II	Gruppe III
Permeierte Mengen (Rel.-Proz.)	31,9 34,6	nicht bestimmt	35,2 41,4

Versuch B 247. 2. IX. 1931. Methylharnstoff. $a = 0,1$ GM, $t = 4$ Stunden.

	Gruppe I	Gruppe II	Gruppe III
Permeierte Mengen (Rel.-Proz.)	41,8 43,9	41,6 43,7	40,0 45,8

Versuch B 248. 4. IX. 1931. Urotropin. $a = 0,05$ GM, $t = 12$ Stunden.

	Gruppe I	Gruppe II	Gruppe III
Permeierte Mengen (Rel.-Proz.)	35,0 38,1	32,8 35,9	33,6 40,3

Versuch B 249. 6. IX. 1931. Urotropin. $a = 0,05$ GM, $t = 12$ Stunden.

	Gruppe I	Gruppe II	Gruppe III
Permeierte Mengen (Rel.-Proz.)	34,7 34,8	33,2 34,6	37,5 41,8

Man ersieht aus obigen Versuchsprotokollen, dass, abgesehen von regellosen Schwankungen, die wohl von zufälligen Versuchsfehlern bedingt sind, kein bestimmter Unterschied zwischen den drei Gruppen vorhanden ist. Offenbar besteht also kein wahrnehmbarer Unterschied hinsichtlich der Permeabilität der *Chara*-Zellen für Methylharnstoff und Urotropin in entgegengesetzten Richtungen.

Schliesslich wurden noch ähnliche Versuche mit Dicyandiamid und Glycerin ausgeführt. Da diese Verbindungen sehr langsam permeieren, waren die permeierten Mengen immer recht klein. Infolgedessen war die Genauigkeit der Resultate bedeutend geringer als sonst. Der einzige Schluss, der aus diesen Versuchen, die hier nicht in extenso mitgeteilt werden, gezogen werden kann, war daher der, dass die Permeabilität der *Chara*-Zellen in entgegengesetzten Richtungen auch für diese Verbindungen jedenfalls der Grössenordnung nach gleich gross ist.

Es konnte also an den *Chara*-Zellen in keinem Falle eine polare Permeabilität für Nichtelektrolyte nachgewiesen werden.

E. Beeinflussung der Permeabilität seitens der permeierenden Stoffe.

Als eine fundamentale Eigenschaft der Protoplasmapermeabilität wird von vielen Forschern ihre grosse *Veränderlichkeit* unter dem Einfluss der verschiedensten äusseren und inneren Faktoren angesehen.

Die Frage nach dem Einfluss aller in Frage kommenden Faktoren auf die Permeabilität der *Chara*-Zellen gehört nicht in den Rahmen der vorliegenden Veröffentlichung. Dagegen erscheint es wichtig, schon jetzt zu entscheiden zu suchen, ob die hier studierten Nichtelektrolyte selbst die Permeabilität der Protoplasten wesentlich verändert haben. Gewisse Literaturangaben liessen nämlich eine derartige Beeinflussung in wenigstens zwei verschiedenen Richtungen denkbar erscheinen.

1. EINFLUSS GROSSER ZUCKERKONZENTRATIONEN.

Zahlreiche Forscher haben mit Nachdruck der Vermutung Ausdruck gegeben, dass die etwa in plasmolytischen Experimenten zu Tage tretende äusserst geringe Permeabilität der Protoplasten für Zucker und ähnliche Verbindungen keine Eigenschaft der normalen Protoplasten sei. Vielmehr sei die Protoplasmapermeabilität durch die benutzten grossen Konzentrationen an Zucker oder anderen Stoffen abnorm herabgesetzt. Äusserungen in dieser Richtung, wenn auch mit etwas variierender Begründung, findet man z. B. bei HANSTEEN CRANNER (1922, S. 136 f.), JACOBS (1924), DERRY (1929), GELLHORN (1929 S. 14 f. und 65) und KOSTYTSCHEW (KOSTYTSCHEW-WENT 1931, S. 57 f.).

Um zu entscheiden, ob diese Vorstellung von dem permeabilitätsvermindernden Einfluss grosser Zuckerkonzentrationen für unsere *Chara*-Zellen zutrifft, haben wir Versuche zweierlei Art ausgeführt: teils so, dass die Aufnahme von Zucker aus möglichst verdünnten Zuckerlösungen mit derjenigen aus konzentrierteren Lösungen verglichen wurde, und teils so, dass die Aufnahme von einigermassen schnell permeierenden Verbindungen in Anwesenheit und Abwesenheit von Zucker vergleichend untersucht wurde.

a. Aufnahme von Zucker aus verschieden konzentrierten Lösungen.

Die grösste Zuckerkonzentration, die bei Permeabilitätsversuchen mit unserem *Chara*-Material gefahrlos verwendet werden kann, ist 0,25 GM, denn die *Chara*-Zellen, deren Plasma mit der Zellwand innig verwachsen ist, sind gegen Plasmolyse sehr empfindlich (vgl. JOST 1929). Bei den Versuchen mit der genannten Zuckerkonzentration hatte es sich gezeigt, dass die *Chara*-Zellen in 43—48 Stunden keine nachweisbaren Zuckermengen aus der Aussenlösung aufnehmen (vgl. Abschnitt IV A). Folgende Versuche zeigen nun, dass auch aus recht verdünnten, d. h. 0,01—0,02 molaren Zuckerlösungen keine nachweisbaren Zuckermengen in die Zellen eindringen.

Versuch A 36. 31. VII 1930. Vier Zellportionen lagen 42 Stunden (im Dunkeln) in einer 0,01 molaren Rohrzuckerlösung (der Zucker, wie immer, in

künstl. Brackwasser gelöst). Vier ähnliche Zellportionen lagen gleichzeitig daneben in künstl. Brackwasser ohne Zuckerzusatz. Der Zellsaft verbrauchte folgende Mengen 0,1 norm. $K_2Cr_2O_7$ -Lösung (ccm pro 0,1 ccm Zellsaft):

Ohne Zuckerzusatz:	0,235	0,264	0,266	0,266	Mittel:	0,258
Mit »	0,253	0,257	0,259	0,271	»	0,260

Versuch A 39. 4. VIII. 1930. Der Versuch wurde in derselben Weise ausgeführt wie der vorige, nur mit dem Unterschiede, dass diesmal eine 0,02 molare Saccharoselösung verwendet wurde und dass die Versuchszeit 45 Stunden betrug. Der $K_2Cr_2O_7$ -Verbrauch war:

Ohne Zuckerzusatz:	0,213	0,222	0,224	0,280	Mittel:	0,235
Mit »	0,212	0,241	0,263	0,267	»	0,246

Versuch A 102. 27. VII. 1931. Fünf Zellportionen lagen 70 Stunden in einer 0,02 molaren Glukoselösung, fünf ähnliche Zellportionen in künstl. Brackwasser. Der $K_2Cr_2O_7$ -Verbrauch war:

Ohne Zuckerzusatz:	0,243	0,256	0,263	0,265	0,293	Mittel:	0,264
Mit »	0,245	0,254	0,254	0,269	0,306	»	0,266

Wie ersichtlich, ist das Reduktionsvermögen des Zellsaftes in allen drei Versuchen innerhalb der Fehlergrenzen dasselbe, einerlei ob die Zellen in Zuckerlösung oder in reiner Salzlösung gelegen haben. Wir müssen somit feststellen, dass bei *Chara*-Zellen, die in einer 0,01 bis 0,02 molaren Lösung von Saccharose oder Glukose in künstlichem Brackwasser liegen, das Eindringen des Zuckers in den Zellsaft ebenso wenig nachweisbar ist wie bei Zellen, die in einer konzentrierteren Zuckerlösung liegen¹⁾. Eine Herabsetzung der Zuckerpermeabilität unter dem Einfluss der grösseren Zuckerkonzentration liess sich also jedenfalls in dieser Weise nicht feststellen.

Theoretisch besteht ja allerdings die Möglichkeit, dass bereits die 0,01 molare Zuckerlösung die Permeabilität herabgesetzt hat und dass eine grössere Zuckerpermeabilität also erst bei noch kleineren Zuckerkonzentrationen zum Vorschein kommen würde. In unseren Versuchen konnten dermassen kleine Zuckerkonzentrationen jedoch nicht geprüft werden, weil dann die Bestimmung der aufgenommenen Zuckermengen auf alle Fälle sehr unsicher ausgefallen wäre.

¹⁾ Wollte man aus den am meisten auseinanderliegenden Mittelwerten (0,235 und 0,246 im Versuch A 39) die aufgenommene Zuckermenge berechnen — was allerdings wegen der Kleinheit dieser Differenz nicht zulässig erscheint —, bekäme man als Ergebnis, dass in der Zeit von 45 Stunden 1,3. Rel.-Proz. Saccharose permeiert wäre. Also auf alle Fälle eine sehr langsame Permeation!

b. Einfluss des Zuckers auf die Permeation anderer Verbindungen.

Versuch A 105. 4. VIII. 1931. Zwei Zellportionen (A und B) kommen nach zweistündiger Vorbehandlung mit 0,15 GM Saccharose (als Lösungsmittel wird in diesem Versuch 5-mal verdünntes künstl. Brackwasser benutzt) auf 3 Stunden in eine Lösung, welche 0,1 GM Methylharnstoff + 0,15 GM Saccharose enthält. Zwei ähnliche Zellportionen (C und D) kommen nach zweistündiger Vorbehandlung mit verdünntem künstl. Brackwasser auf 3 Stunden in eine Lösung von 0,1 GM Methylharnstoff ohne Zuckerzusatz. Die permeierten Methylharnstoffmengen waren: A 48,1, B 48,4, C 48,3 Rel.-Proz. (D ging bei der Kjeldahl-analyse verloren.)

Versuch B 286. 26. VII. 1932. Ausführung und Bezeichnung ganz wie im vorigen Versuch. Die permeierten Methylharnstoffmengen waren: A 54,9, B 56,6, C 55,0 und D 55,3 Rel.-Proz.

Auch mit 0,05 GM Succinimid mit und ohne Zusatz von 0,25 GM Saccharose wurde ein ähnlicher Versuch mit im Prinzip gleichem Ergebnis ausgeführt.

Die Versuche zeigen eindeutig, dass 0,15—0,25 GM Saccharose keinen nachweisbaren Einfluss auf die Permeabilität der *Chara*-Zellen für die geprüften Nichtelektrolyte hat. Ob der Gegensatz zwischen diesem Befunde und manchen in der Literatur niedergelegten Beobachtungen an anderen Objekten etwa darauf zurückzuführen ist, dass die Permeabilität eben der *Chara*-Zellen ungewöhnlich stabil ist, oder ob irgendwelche fehlerhaften Deutungen die anders lautenden Schlüsse verursacht haben, vermögen wir nicht zu entscheiden.

2. EINFLUSS LIPOIDLÖSLICHER VERBINDUNGEN.

Man könnte sich vielleicht denken, dass die lipidlöslichen Verbindungen die Zellpermeabilität abnorm erhöhen und dass sie eben deshalb so schnell permeieren. Um diese Möglichkeit zu prüfen, schien es uns nützlich, an unserem Versuchsobjekt die *gleichzeitige* Permeation eines ausgesprochen lipidlöslichen und eines fast lipoidunlöslichen Stoffes in die *gleichen* Zellen zu verfolgen.

Versuch A 50. 22. VIII. 1930. Vier Zellportionen (A—D) kommen zuerst auf 15 Minuten in eine 0,1 molare Harnstofflösung und dann auf weitere 15 Minuten in eine Lösung, welche 0,1 GM Harnstoff und 0,05 GM Trimethylcitrat enthält. Der Zellsaft aus den Portionen A und B wird hiernach analysiert. A enthält 3,3 Rel.-Proz. Harnstoff, B 74,1 Rel.-Proz. Trimethylcitrat (trotz der um die Hälfte kürzeren Permeationszeit des Trimethylcitrats!). Die Zellportionen C und D werden dann in eine Lösung eingetragen, welche 0,1 GM Harnstoff (ohne Trimethylcitrat) enthält. Nachdem sie 30 Minuten hier verweilt haben, werden sie analysiert. C enthält jetzt 7,2 Rel.-Proz. Harnstoff (eingedrungen in 60 Minuten). D enthält jetzt nur noch 5 Proz. derjenigen Trimethylcitrat-

konzentration, welche B enthielt; 95 Proz. des Trimethylcitrats sind also exosmiert.

Versuch A 57. 11. IX. 1930. Vier Zellportionen (A—D) kommen zuerst auf 20 Minuten in eine Lösung, welche 0,05 GM Trimethylcitrat und 0,1 GM Harnstoff enthält. Der Zellsaft von A und B wird hiernach analysiert: A enthält 80,4 Rel.-Proz. Trimethylcitrat, B 1,9 Rel.-Proz. Harnstoff. C und D kommen dann auf weitere 20 Minuten in eine Lösung, welche 0,1 GM Harnstoff (ohne Trimethylcitrat) enthält. Hiernach enthält D 3,2 Rel.-Proz. Harnstoff, während C nur noch 21,5 Proz. der Trimethylcitratkonzentration von A enthält (etwa 78,5 Proz. der Trimethylcitratmenge sind also während der zweiten Periode von 20 Minuten exosmiert).

Das lipidlösliche Trimethylcitrat dringt also schnell in die Zellen ein und tritt ebenso schnell aus den Zellen heraus, während der gleichzeitig anwesende Harnstoff (trotz seiner viel geringeren Molekülgrösse) wie auch sonst nur ganz langsam permeiert. Obige Versuche zeigen somit einwandfrei, dass das grosse Permeiervermögen des Trimethylcitrats nicht etwa auf einer hypothetischen permeabilitätserhöhenden Wirkung dieser Verbindung beruhen kann. Wir bezweifeln nicht, dass Entsprechendes für alle oder wenigstens für die allermeisten von uns studierten schnell permeierenden Stoffe gilt.

3. WEITERE FÄLLE.

Schliesslich wurde noch in folgender Weise versucht, die Frage zu entscheiden, ob die permeierenden Nichtelektrolyte die Permeabilität der *Chara*-Zellen merklich verändern: Wir bestimmen zuerst das Permeiervermögen der Verbindungen A und B in gewöhnlicher Weise, d. h. so, dass ähnliche Zellportionen in Lösungen von A und in Lösungen von B gebracht werden, wonach die permeierten Mengen bestimmt werden. Hiernach wird in einem anderen Versuch untersucht, wie schnell die beiden Verbindungen aus einer Mischlösung von A und B in die Zellen eindringen. Wenn das Verhältnis des Permeiervermögens von A zum Permeiervermögen von B in beiden Versuchen dasselbe ist, dann zeigt dies, dass weder A noch B die Zellpermeabilität beeinflusst hat — oder aber, dass sie die Permeabilität nur für sich selbst verändern, eine Möglichkeit, die indessen praktisch kaum berücksichtigt zu werden braucht. Ist dagegen das Verhältnis der Permeierfähigkeiten in beiden Versuchen ein verschiedenes, dann deutet dies darauf hin, dass A oder B die Zellpermeabilität verändert hat.

Versuche dieser Art haben wir mit den Substanzpaaren Urethan-Trimethylcitrat, Formamid-Acetamid und Harnstoff-Glycerin ausgeführt.

Versuch B 290. 29. VII. 1932. Temp. 26°. Mischlösung 0,1 GM Urethan und 0,05 GM Trimethylcitrat enthaltend.

Substanz	Zeit	Permeierte Menge (Rel.-Proz.)		Permeationskonstante ¹⁾ (k')	
Urethan	2'	51,2	52,3	21,5	22,2 Mittel: 21,9
Trimethylcitrat	4'	46,9	50,3	9,5	10,5 » 10,0

Versuch B 292. 31. VII. 1932. Temp. 26°. Mischlösung wie oben.

Substanz	Zeit	Permeierte Menge (Rel.-Proz.)		Permeationskonstante (k')	
Urethan	2'	32,5	37,4	11,8	14,1 Mittel: 13,0
Trimethylcitrat	4'	39,9	43,0	7,6	8,4 » 8,0

Versuch B 293. 3. VIII. 1932. Temp. 26°. Mischlösung wie oben.

Substanz	Zeit	Permeierte Menge (Rel.-Proz.)		Permeationskonstante (k')	
Urethan	2'	35,2	36,6	13,0	13,7 Mittel: 13,4
Trimethylcitrat	4'	34,3	38,1	6,3	7,2 » 6,8

Aus Versuch B 290 berechnet sich somit $P_{\text{Urethan}} : P_{\text{Trimethylcitrat}}$ zu 2,2, aus Versuch B 292 zu 1,6 und aus Versuch B 293 zu 2,0. Aus den im Abschnitt IV A mitgeteilten Versuchen, wobei immer nur je eine Verbindung in die Zellen eindrang, berechnet sich $P_{\text{Urethan}} : P_{\text{Trimethylcitrat}}$ zu im Mittel 1,8. Ein Unterschied zwischen den mit reinen Lösungen und mit Mischlösungen erzielten Ergebnissen besteht also nicht.

Versuch B 271. 12. VII. 1932. Temp. 25°. Mischlösung 0,15 GM Formamid und 0,15 GM Acetamid enthaltend.

Substanz	Zeit	Permeierte Menge		Permeationskonstante (k')	
Formamid	15'	41,2	46,4 Rel.-Proz.	2,12	2,49 Mittel: 2,31
Acetamid	15'	33,2	37,4 »	1,61	1,87 » 1,74

Versuch B 272. 13. VII. 1932. Temp. 25°. Mischlösung wie oben.

Substanz	Zeit	Permeierte Menge		Permeationskonstante (k')	
Formamid	20'	60,2	66,0 Rel.-Proz.	2,76	3,24 Mittel: 3,00
Acetamid	20'	43,6	46,5 »	1,72	1,88 » 1,80

Aus Versuch B 271 berechnet sich $P_{\text{Formamid}} : P_{\text{Acetamid}}$ zu 1,3 und aus Versuch B 272 zu 1,7. Aus den im Abschnitt IV A mitgeteilten Versuchen, wobei immer nur je eine Verbindung in die Zellen eindrang, berechnet sich dasselbe Verhältnis zu 1,5. Auch hier herrscht also vollständige Übereinstimmung zwischen den mit getrennten Lösungen und mit Mischlösungen erzielten Ergebnissen.

Die Versuche mit dem Substanzpaar Harnstoff-Glycerin wurden erschwert durch den Umstand, daß die Zellen in einer Lösung, welche diese beiden Stoffe enthält, nicht so lange am Leben bleiben, als zur Feststellung des Permeiervermögens des langsam eindringenden Glycerins nötig wäre. Es konnte daher

¹⁾ Vgl. Abschnitt IV A.

bloss das Eindringen des schneller permeierenden Harnstoffs in Anwesenheit und Abwesenheit von Glycerin studiert werden.

Versuch B 233. 8. VIII. 1931. Temp. 24°. 0,05 GM Harnstoff teils (A) in Abwesenheit von Glycerin, teils (B) in Anwesenheit von 0,15 GM Glycerin.

	A	B	A	B
Zeit (Stunden)	6	6	12	12
Permeierte Harnstoff-Menge (Rel.-Proz.)	42,5	39,9	62,2	65,1

Das Glycerin übt also keinen merkbaren Einfluss auf die Permeation des Harnstoffs aus.

In keinem der obigen Fälle war somit eine deutliche Beeinflussung der Permeation durch andere gleichzeitig anwesende Nichtelektrolyte festzustellen. Andererseits verfügen wir jedoch auch über Versuchsergebnisse, welche zeigen, dass wenigstens ein Nichtelektrolyt bereits in mässigen Konzentrationen die Permeabilität der *Chara*-Zellen merklich zu verändern im Stande ist. Und zwar handelt es sich um eine Vergrösserung der Permeabilität für Äthylenglykol durch Äthyläther. Da diese Beobachtungen aber noch eine Ergänzung benötigen, sollen sie erst später in anderem Zusammenhang veröffentlicht werden.

6. Besitzen verschiedene Teile der Zelloberfläche eine verschiedene Permeabilität?

Die Annahme eines Permeabilitätsunterschiedes zwischen den End- und Seitenflächen der annähernd zylindrischen *Chara*-Zellen hat a priori recht viel Wahrscheinlichkeit für sich. Nach den Untersuchungen von BIERBERG (1908) sowie von VOUK und BENZINGER (1928) soll nämlich ein grosser Teil der Nahrungsaufnahme der *Chara*-Pflanzen durch die Rhizoiden stattfinden. Die so aufgenommenen Stoffe müssen dann wohl akropetal von Zelle zu Zelle durch die Pflanze geleitet werden. Andererseits müssen offenbar Assimilate in entgegengesetzter Richtung befördert werden. Wenn bei diesen Stofftransporten verhängnisvolle Materialverluste vermieden werden sollen, muss die Seitwärtsdiffusion der betreffenden Stoffe irgendwie verhindert sein. Aber wie soll das geschehen? Im Anschluss an die Ideen von MÜNCH (1930) könnte man sich vorstellen, dass die einzelnen Zellen im *Chara*-Körper durch Plasmodesmen zu einem einzigen Symplasten vereinigt sind. Doch dürften Plasmodesmen bisher nicht bei den Characeen nachgewiesen sein. Da auch keine schwer durchlässige Kutikula an der Oberfläche der *Chara*-Pflanzen nachzuweisen ist (Abschnitt III C), wäre wohl in erster Linie die Möglichkeit zu prüfen, ob die Protoplasten selbst an ihren Seitenflächen bedeutend weniger permeabel sind als an ihren Endflächen.

Um einen eventuell bestehenden Permeabilitätsunterschied zwischen den End- und Seitenflächen der Zellen nachzuweisen, wurden Versuche in folgender Weise ausgeführt: Man benutzt zwei einander möglichst ähnliche Blattportionen, bestehend aus ausgewählt grossen Zellen. Die Blätter der einen Portion werden einzeln mittelst Fliesspapier sorgfältig abgetrocknet und dann die beiden Enden der Blätter in geschmolzenes Paraffin getaucht. (Benutzt wurde ein Gemisch von gleichen Teilen Paraffinum solidum vom Schmelzpunkt 48° und Paraffinum liquidum. Das Gemisch schmolz bei 36° .) Nach dem Erstarren der Paraffinhülle waren die Blätter für den Versuch fertig. Sie hatten etwa das in Abb. 2 dargestellte Aussehen. Die Blätter der zweiten Portion blieben unparaffiniert und dienten als Kontrolle. Beide Blattportionen kamen auf gleich lange Zeit in eine Lösung des permeierenden Stoffes, und die Permeiergeschwindigkeit wurde in gewöhnlicher Weise bestimmt.

Es wurde versucht, das Paraffinieren der Zellen so vorzunehmen, dass möglichst genau die Hälfte der Zelloberfläche vom Paraffin bedeckt war. Da hierbei jedoch nur nach Augenmass geschätzt wurde, sind diese Versuche recht wenig exakt. Ausserdem ist zu beachten, dass das Eintauchen der Zellen in das warme Paraffin womöglich schon an sich die Permeabilität beeinflussen kann. Das Fortdauern der Plasmarotation wurde allerdings, wie immer, am Ende jedes Versuches mikroskopisch festgestellt. Der Paraffinbeleg haftete anscheinend sehr fest an der Zelloberfläche.



Abb. 2.
Paraffiniertes
Chara-
Blatt.
(Etwas
vergrössert.)

Versuch A 97. 23. VII. 1931. 0,2 molare Glycerinlösung. Permeationszeit 27 Stunden. Vier Zellportionen. Die permeierte Menge betrug im Falle der unparaffinierten Zellen 26,8 bzw. 35,5 oder durchschnittlich 31,2 Rel.-Proz., im Falle der paraffinierten Zellen dagegen 22,6 bzw. 22,9 oder durchschnittlich 22,8 Rel.-Proz.

Versuch A 98. 23. VII. 1931. 0,1 molare Harnstofflösung. Permeationszeit 15,5 Stunden. Vier Zellportionen. Die permeierte Menge betrug im Falle der unparaffinierten Zellen 52,4 bzw. 53,3 oder durchschnittlich 52,9 Rel.-Proz., im Falle der paraffinierten Zellen 40,1 bzw. 40,5 oder durchschnittlich 40,3 Rel.-Proz.

Trotzdem etwa die Hälfte der Zelloberfläche mit Paraffin überzogen wurde, geschah in obigen Versuchen mit zwei langsam permeierenden Stoffen, Glycerin und Harnstoff, die Permeation in die paraffinierten Zellen nur etwa 25–30 Proz. langsamer als in die nicht paraffinierten Zellen. Dieser Befund ist bei näherer Betrachtung gut verständlich. Während der verhältnismässig langen Versuchszeit haben nämlich die permeierenden Stoffe Gelegenheit, sich in der Zellwand unter dem Paraffinbelag durch Diffusion auszubreiten. Von der

Oberfläche des Protoplasten ist also in den paraffinierten Zellen bedeutend mehr als die Hälfte dem permeierenden Stoff zugänglich. — Eine grössere Permeabilität der Endflächen der Zellen konnte in dieser Weise jedenfalls nicht beobachtet werden.

Es wurden dann auch einige Versuche mit einem schneller eindringenden Stoff und zwar mit Trimethylcitrat ausgeführt. Die Konzentration des Trimethylcitrats war 0,05 GM. Die Permeationszeit betrug 5 Minuten. Das Ergebnis geht aus folgender Zusammenstellung hervor:

Versuchsnummer:		A 99	A 104	A 106
	a) unparaff. Zellen	39,6	31,0	27,5
Permeierte Menge (Rel.-Proz.)				
	b) paraff. Zellen	18,7	17,3	21,5

Wie ersichtlich, ist die Permeationsgeschwindigkeit des Trimethylcitrats in die paraffinierten Zellen meist etwa um die Hälfte kleiner als in die nicht paraffinierten (im Versuch A 106 ist der Unterschied noch geringer). Eine ausgesprochen grössere Permeabilität der Zellendflächen scheint also auch nicht hinsichtlich dieser Verbindung zu bestehen.

Das Gesamtergebnis der mit teilweise paraffinierten Zellen ausgeführten Versuche lautet somit, dass eine bevorzugte Permeabilität der Zellenden sich in unseren verhältnismässig groben Versuchen nicht nachweisen liess. Doch bedarf wohl diese Frage noch einer eingehenderen Prüfung, ehe sie als endgültig gelöst angesehen werden kann.

IV. Das Permeiervermögen der einzelnen Verbindungen.

A. Das Permeiervermögen der gelösten Substanzen.

Nachdem im vorigen Abschnitt die allgemeinen Gesetzmässigkeiten bezüglich des Eindringens gelöster Nichtelektrolyte in die *Chara*-Zellen untersucht worden sind, soll in diesem Abschnitt ein möglichst streng quantitativer Vergleich zwischen den einzelnen Verbindungen sowohl hinsichtlich ihres Vermögens, in die Zellen einzudringen, wie auch hinsichtlich ihres Vermögens, durch das Plasma zu permeieren, durchgeführt werden. Dabei wollen wir uns zunächst überlegen, wie ein solcher Vergleich am besten stattzufinden hat.

1. WIE IST DER VERGLEICH HINSICHTLICH DES EINDRINGUNGSVERMÖGENS DURCHZUFÜHREN?

Um das Vermögen der einzelnen Verbindungen, in die Zellen einzudringen, zahlenmässig zu charakterisieren, kann man so vorgehen, dass man die in passend gewählten Zeitabschnitten eingedrungenen Stoffmengen analytisch bestimmt und die so erhaltenen Werte in die Gleichung (5) S. 26 einsetzt.¹⁾ Die Konstante k' gibt dann ein Mass für das Vermögen der betreffenden Verbindungen, in die untersuchten Zellen einzudringen, ab.

Nun ist es aber nicht möglich, immer ganz gleich grosse und sonst gleichartige Zellen für die Versuche zu beschaffen. Auch die Temperatur in unserem Versuchszimmer war langsamen Schwankungen unterworfen. Um trotzdem gut vergleichbare Ergebnisse zu erzielen, war es nötig, immer gleichzeitig das Eindringen von zwei verschiedenen Substanzen (A und B) in zwei (oder meistens vier) unter sich möglichst ähnliche Zellportionen zu verfolgen. Die dabei erzielten Konstanten seien k'_A und k'_B . Das Verhältnis $k'_A : k'_B$ sei n . Aus sämtlichen Versuchen, in denen die Eindringungsgeschwindigkeiten von A und B miteinander verglichen sind, berechnet man das Mittel der einzelnen n -Werte. Dieses Mittel sei n_m . Wenn nun ein bestimmter Wert für k'_A bereits festgesetzt ist, ergibt sich somit $k'_B = k'_A : n_m$. In dieser Weise wird fortgefahren, bis für sämtliche untersuchte Verbindungen solche untereinander vergleichbare k' -Werte erhalten sind. Wir nennen sie reduzierte k' -Werte (k'_r).

Wir müssen zugeben, dass die Berechtigung der ausgeführten »Reduktion« der k' -Werte zum Teil etwas zweifelhaft sein kann. Es steht nämlich nicht fest, dass, wenn eine Verbindung unter bestimmten Umständen schneller oder langsamer als sonst in die Zellen eindringt, auch die anderen Verbindungen unter denselben Umständen in entsprechendem Grade schneller oder langsamer als sonst permeieren müssen. Immerhin ist nicht zu bezweifeln, dass die ausgeführte Reduktion Werte liefert, die unter sich besser als die ursprünglichen k' -Werte vergleichbar sind. Übrigens bedingt die Reduktion, wie aus der Tabelle 4 hervorgeht, durchaus keine durchgreifende Veränderung der direkt erhaltenen k' -Werte.

Als Ausgangspunkt für dieses System von reduzierten k' -Werten dienten zwei Versuche mit im ganzen fünf Portionen mikroskopisch gemessener Zellen, an denen das Eindringen des Äthylenglykols aus einer 0,2 molaren Lösung untersucht wurde. Der Durchmesser dieser Zellen schwankte zwischen 1,1

¹⁾ Im Falle der am schnellsten permeierenden Verbindungen ist, wie im Abschnitt III B gezeigt wurde, die Benutzung der Gleichung (5) nicht ganz einwandfrei. Doch sind die hierdurch entstehenden Fehler nicht übermässig gross, besonders wenn die eingedrungenen Mengen einer bestimmten Verbindung teils kleiner und teils grösser als 50 Rel.-Proz. sind.

und 1,4 mm und betrug im Mittel etwa 1,24 mm. Die Temperatur schwankte zwischen 19,2° und 19,3° C. Die in 30 Minuten permeierten Mengen betragen beziehungsweise 49,3, 50,2, 50,4, 51,2 und 51,5 Rel.-Proz., woraus sich der k' -Wert des Äthylenglykols zu 1,36, 1,39, 1,40, 1,43 bzw. 1,45 oder im Mittel zu 1,41 berechnet. Der zuletztgenannte Wert wurde der Berechnung sämtlicher übrigen k_r' -Werte zugrundegelegt. Er steht übrigens im Einklang mit den anderen sehr zahlreichen Versuchen mit Äthylenglykol.

Das so erhaltene System von k_r' -Werten ermöglicht, wie gesagt, einen quantitativen Vergleich der Fähigkeiten der einzelnen Verbindungen, in die *Chara*-Zellen einzudringen. Um die verschiedenen Eindringungsgeschwindigkeiten noch anschaulicher darzustellen, kann man auf Grund der k_r' -Werte berechnen, nach wie langer Zeit die Hälfte der Gleichgewichtskonzentration der betreffenden Substanzen im Zellsaft erreicht wird. Diese »Halbsättigungszeiten« sind ganz wie die ihnen zugrundeliegenden k_r' -Werte der Hauptsache nach als empirisch ermittelte, von jeder Hypothese unabhängige Daten zu betrachten.

2. WIE IST DER VERGLEICH HINSICHTLICH DES PERMEIERVERMÖGENS DURCHZUFÜHREN?

Bisher war nur ganz allgemein von dem Vermögen verschiedener Substanzen, in die Zellen einzudringen, die Rede, nicht aber speziell von deren Vermögen, durch das Plasma zu permeieren. Auf Grund der Ausführungen im Abschnitt III C können wir allerdings feststellen, dass im Falle der allermeisten von uns studierten Verbindungen, die mittelst der Gleichung (5) S. 26 berechneten k' -Werte ein gutes Mass auch des Vermögens, durch das Plasma zu permeieren, abgeben. Und zwar gilt dies im Falle aller langsam bis ziemlich schnell permeierenden Verbindungen. In solchen Fällen können wir somit die Konstante k' die Permeationskonstante nennen und sie durch das Symbol P' bezeichnen.

Anders jedoch im Falle der am allerschnellsten permeierenden Verbindungen. Sie durchdringen das Plasma so leicht, dass die Geschwindigkeit ihres Eindringens in die Zellen nicht nur von dem Diffusionswiderstand des Plasmas, sondern ebensowohl oder vielleicht sogar noch mehr von demjenigen des Zellsaftes abhängt. In solchen Fällen stellen die k' -Werte bloss ein Mindestmass für das Vermögen der betreffenden Substanzen, durch das Plasma zu permeieren, dar.

Eine scharfe Grenze zwischen denjenigen Verbindungen, deren Eindringen praktisch allein von der Plasmapermeabilität abhängt, und denjenigen, bei deren Eindringen auch der Diffusionswiderstand des Zellsaftes sich geltend

macht, gibt es selbstverständlich nicht. Im Folgenden betrachten wir die k' -Werte als praktisch identisch mit den wirklichen P' -Werten bei allen Substanzen, die langsamer als das Triäthylcitrat eindringen.

Die in eben erläuteter Weise berechneten P' -Werte genügen vollauf, um die Permeierfähigkeiten verschiedener Substanzen in Bezug auf die Grenzschichten einer bestimmten Zellart quantitativ untereinander zu vergleichen. Sie genügen aber nicht, wenn man etwa die Protoplasmapermeabilität verschiedenartiger Zellen vergleichen will. Nehmen wir an, es handle sich z. B. um den Vergleich der Plasmapermeabilität eines *Micrococcus* von 1 μ Durchmesser mit derjenigen einer gleichfalls kugeligen *Valonia*, deren Zelldurchmesser 1 cm beträgt. Wir hätten z. B. festgestellt, die Halbsättigungszeit der Zellen in Bezug auf eine bestimmte Substanz sei im Falle der *Valonia* 10000-mal grösser als im Falle des *Micrococcus*. Auf den ersten Blick läge es nun gewiss nahe, hieraus zu folgern, das *Micrococcus*-Plasma sei bezüglich der in Frage stehenden Substanz erheblich permeabler als das *Valonia*-Plasma. Dieser Schluss wäre aber nicht berechtigt. Da die relative Oberflächenentwicklung oder »spezifische Oberfläche« (d. h. das Verhältnis Oberfläche : Volumen) der kleinen *Micrococcus*-Zellen 10000-mal grösser als die der grossen *Valonien* ist, ist tatsächlich in beiden Fällen gleich viel Substanz *pro Flächeneinheit* permeiert.

Um die Plasmapermeabilität verschieden grosser oder verschieden geformter Zellen vergleichen zu können, brauchen wir also *auf die Flächeneinheit bezogene* Permeationskonstanten. Solche können mittelst der Gleichung (4) S. 26 berechnet werden. Wir bezeichnen die auf die Flächeneinheit bezogenen Permeationskonstanten mit P im Gegensatz zu den ohne Berücksichtigung der Zelldimensionen errechneten Permeationskonstanten, die wir mit P' bezeichnen. (Zu berücksichtigen ist, dass die Konstante, welche u. a. in den Arbeiten von POIJÄRVI (1928) und BÄRLUND (1929) mit P bezeichnet wurde, dieselbe ist wie diejenige, welche wir in der vorliegenden Arbeit mit P' bezeichnen.) Man könnte vielleicht sagen: die P' -Werte sind ein Mass für die Permeabilität der *Protoplasten*, die P -Werte sind dagegen ein Mass für die Permeabilität des *Protoplasmas*.

Auf die Flächeneinheit bezogene Permeationskonstanten sind bereits von einigen Forschern benutzt worden, so z. B. von NORTHROP (1927), MC CUTCHEON und LUCKÉ (1928), WILBRANDT (1931) sowie von JACOBS und STEWART (1932). Übrigens hat schon OVERTON (1902 S. 226 sowie 1907 S. 813 und 850) hervorgehoben, wie wichtig die Berücksichtigung der relativen Oberflächengrösse der Protoplasten für die richtige Beurteilung der Plasmapermeabilität ist. Dagegen haben wir (BÄRLUND 1929) die an Epidermiszellen von *Rhoeo* ermittelten Permeationskonstanten nicht auf die Oberflächeneinheit bezogen, weil es bei jenem Objekt nicht ganz leicht ist, die Grösse der für die Permeation in Frage kommenden Protoplastenoberfläche zu bestimmen.

Bei den von uns benutzten *Chara*-Zellen lässt sich die Oberflächengrösse verhältnismässig leicht bestimmen. Die Zellen können annähernd als Zylinder, deren Radius durchschnittlich 0,062 cm beträgt, betrachtet werden. Wenn die Permeation durch die Zellenden vernachlässigt wird, beträgt somit die einem Zellvolumen von 1 cm³ entsprechende Diffusionsfläche 32,3 cm². Also ist in unserem Falle $P = P' : 32,3$.

Der Übersichtlichkeit halber stellen wir unten noch einmal zusammen die Definitionen der Grössen P und P' sowie die Beziehungen zwischen diesen unter sich und zwischen diesen und dem Diffusionskoeffizienten D . (Vgl. in dieser Beziehung auch S. 25 f.)

P ist gleich der Substanzmenge in Mol, welche in der Zeiteinheit (einer Stunde) durch eine 1 cm² grosse Protoplastenoberfläche permeiert, wenn der Unterschied zwischen der jeweiligen Konzentration des permeierenden Stoffes im Zellsaft und seiner Gleichgewichtskonzentration daselbst 1 Mol pro cm³ beträgt.¹⁾ P hat die Dimension LT^{-1} , wogegen D die Dimension L^2T^{-1} hat. (L = Längeneinheit, T = Zeiteinheit.)

P' ist gleich der in der Zeiteinheit (einer Stunde) stattfindenden relativen Konzentrationszunahme des permeierenden Stoffes im Zellsaft. Unter »relative Konzentrationszunahme« ist dabei das Verhältnis der Konzentrationszunahme zu der Grösse $C - c$, wo C die Gleichgewichtskonzentration und c die jeweilige Konzentration des permeierenden Stoffes im Zellsaft bedeuten, zu verstehen. P' hat die Dimension T^{-1} .

Zwischen diesen Grössen und D besteht die Beziehung

$$P = \frac{D}{d} = \frac{v}{q} P', \quad (1)$$

worin d die Dicke der durchtrittshemmenden Schicht, v das Volumen und q die Oberfläche der Zelle bedeuten.

3. DIE ERGEBNISSE.

Die Ergebnisse der Versuche, deren Zweck es war, die Eindringungsgeschwindigkeit und das Permeiervermögen der verschiedenen Verbindungen zu vergleichen, ist grösstenteils in der Tabelle 4 zusammengestellt. Die erste Spalte enthält die Versuchsnummer. Unter den Bezeichnungen Substanz I

¹⁾ Da JACOBS und STEWART (1932) μ als Längeneinheit und die Minute als Zeiteinheit benutzen, müssen unsere P -Werte durch $6 \cdot 10^{12}$ dividiert werden, um mit den P -Werten der genannten Autoren vergleichbar zu werden.

bzw. Substanz II stehen dann die Namen der beiden jeweils miteinander verglichenen Verbindungen, unter k'_{I} und k'_{II} die auf Grund der Gleichung (5) S. 26 experimentell bestimmten k' -Werte der Substanz I bzw. II. Im allgemeinen wurden mit jeder Verbindung gleichzeitig zwei k' -Bestimmungen ausgeführt, und zwar soweit möglich unter Benutzung solcher Permeationszeiten, dass im einen Falle etwa 20—50 Rel.-Proz., im anderen Falle dagegen etwa 50—70 Rel.-Proz. in die Zellen eingedrungen war. (Die zweite Permeationszeit war meistens genau 2-mal so lang wie die erste.) Die beiden auf verschiedenen lange Versuchszeiten bezüglichen k' -Werte stehen untereinander, der erste (kürzere Versuchsdauer) mit a , der zweite (längere Versuchsdauer) mit b in der ersten Spalte bezeichnet. Die mit n bezeichnete Spalte enthält die einzelnen Verhältniszahlen k'_{I}/k'_{II} . Unter n_m steht das Mittel aus den einzelnen n -Werten eines bestimmten Substanzpaares. Die letzte Spalte enthält die auf Grund der betreffenden n_m -Werte berechneten reduzierten k' -Werte. Der k'_r -Wert bezieht sich immer auf diejenige Verbindung, deren Name *kursiv* gedruckt ist.

Hinsichtlich der Ausführung der Versuche ist noch zu erwähnen, dass die allermeisten Verbindungen in einer Konzentration von 0,05—0,2 GM benutzt wurden, nur Methyl- und Äthylalkohol in einer Konzentration von 0,5 GM. Die Versuchsdauer schwankte je nach der Permeiergeschwindigkeit der geprüften Substanzen von 1—2 Minuten bei Methyl- und Äthylalkohol bis zu 2 Tagen bei Glycerin, Malonamid, Erythrit und Arabinose.

Die Tabelle 4 fängt mit dem Ausgangsstoff, Äthylenglykol, an, dessen k'_r -Wert, wie erwähnt, zu 1,41 festgelegt war. Dann folgen die schneller als Äthylenglykol eindringenden Verbindungen bis zum Methylalkohol, zuletzt die langsamer als Äthylenglykol permeierenden Substanzen (unter ihnen der etwas schneller eindringende Diäthylharnstoff).

Einen gewissen Begriff von der Genauigkeit der ausgeführten Vergleiche erhält man durch den folgenden Umstand: Der k'_r -Wert des Urethylans ergibt sich aus dem Vergleich Äthylenglykol—Acetamid—Propionamid—Butyramid—Urethylan zu 10,4, andererseits aber aus dem Vergleich Äthylenglykol—Äthylalkohol—Urethylan zu 14,8. Die beiden unabhängig voneinander erhaltenen k'_r -Werte stimmen also einigermaßen befriedigend miteinander überein. In der Folge wurde das Mittel 12,6 benutzt. Ganz analog wurde der k'_r -Wert des Harnstoffs aus dem Vergleich Äthylenglykol—Dimethylharnstoff—Äthylharnstoff—Methylharnstoff—Harnstoff zu 0,112 und aus dem Vergleich Äthylenglykol—Glycerin—Harnstoff zu 0,094 berechnet, während der direkte Vergleich Äthylenglykol—Harnstoff 0,176 ergab; benutzt wurde weiterhin das Mittel 0,127. Auch die k'_r -Werte des Diäthylmalonamids und des Urotropins wurden auf zwei verschiedenen Wegen berechnet und das Mittel weiterhin benutzt.

Tabelle 4.

Vergleich der Eindringungsgeschwindigkeiten verschiedener Nichtelektrolyte in die Chara-Zellen. (Erklärung siehe Text!)

Nr.	Substanz I	Substanz II	k'_I	k'_{II}	n	n_m	k'_r
	<i>Äthylenglykol</i>						1,41
B 152 a	<i>Glycerinmethyläther</i>	Äthylenglykol	1,74	1,75	0,99		
b	»	»	1,77	1,87	0,95		
B 153 a	»	»	1,76	1,62	1,09		
b	»	»	1,68	1,43	1,17		
B 154 a	»	»	1,54	1,57	0,98		
b	»	»	1,49	1,58	0,94	1,02	1,44
B 56 a	<i>Acetamid</i>	Äthylenglykol	1,39	1,40	0,99		
b	»	»	1,57	1,33	1,18		
B 58 a	»	»	1,31	1,03	1,27		
b	»	»	1,53	1,05	1,46	1,23	1,73
B 119 a	<i>Succinimid</i>	Acetamid	2,14	2,08	1,03		
b	»	»	2,32	1,91	1,21		
B 120 a	»	»	2,38	2,26	1,05		
b	»	»	2,39	2,03	1,18	1,12	1,94
B 45	<i>Formamid</i>	Äthylenglykol	2,02	1,29	1,57		
B 46	»	»	2,78	1,50	1,85		
B 47	»	»	2,72	1,43	1,90		
B 48	»	»	2,72	1,64	1,66		
B 49	»	»	3,01	1,67	1,80	1,76	2,48
B 146 a	<i>Glycerinäthyläther</i>	Äthylenglykol	2,85	1,60	1,78		
b	»	»	2,68	1,34	2,00		
B 147 a	»	»	3,47	2,13	1,63		
b	»	»	3,26	1,90	1,72	1,78	2,51
B 149 a	<i>Diacetin</i>	Äthylenglykol	2,87	1,54	1,86		
b	»	»	2,85	1,66	1,72		
B 151 a	»	»	2,59	1,41	1,84		
b	»	»	2,59	1,43	1,81	1,81	2,55
B 149 a	<i>Propylenglykol</i>	Äthylenglykol	2,88	1,54	1,87		
b	»	»	2,91	1,66	1,75		
B 151 a	»	»	2,76	1,41	1,96		
b	»	»	3,15	1,43	2,20	1,95	2,75
B 146 a	<i>Monochlorhydrin</i>	Äthylenglykol	3,11	1,60	1,94		
b	»	»	3,25	1,34	2,43		
B 147 a	»	»	3,88	2,13	1,82		
b	»	»	4,04	1,90	2,13	2,08	2,98
B 88 a	<i>Propionamid</i>	Acetamid	4,44	1,72	2,58		
b	»	»	4,24	1,58	2,68		
B 91 a	»	»	5,29	2,67	1,98		
b	»	»	5,82	2,44	2,40	2,41	4,17
B 93 a	<i>Butyramid</i>	Propionamid	7,39	5,28	1,40		
b	»	»	6,82	5,21	1,31		

Tabelle 4. (Forts.)

Nr.	Substanz I	Substanz II	k'_I	k'_{II}	n	n_m	k'_r
B. 94 a	<i>Butyramid</i>	Propionamid	6,39	5,04	1,27		
b	»	»	6,47	5,18	1,25	1,31	5,46
B 107 a	<i>i-Valeramid</i>	Butyramid	8,51	7,62	1,12		
b	»	»	8,27	7,12	1,16		
B 108 a	»	»	9,74	8,98	1,09		
b	»	»	9,93	8,66	1,15	1,13	6,17
B 262 a	<i>Cyanamid</i>	Butyramid	7,11	6,56	1,08		
b	»	»	7,39	5,68	1,30		
B 264 a	»	»	8,03	6,47	1,24		
b	»	»	8,01	6,08	1,32	1,24	6,77
B 103 a	<i>Antipyrin</i>	Butyramid	9,19	7,00	1,31		
b	»	»	8,57	7,10	1,21		
B 104 a	»	»	8,32	6,91	1,20		
b	»	»	11,1	7,58	1,46	1,30	7,10
B 110 a	<i>Urethylan</i>	Butyramid	20,9	10,6	1,97		
b	»	»	16,7	10,1	1,65		
B 111 a	»	»	20,3	10,4	1,95		
b	»	»	19,3	9,60	2,01	1,90	(10,4)
B 275 a	<i>Äthylalkohol</i>	Äthylenglykol	20,8	1,39	15,0		
b	»	»	14,4	1,55	9,3		
B 276 a	»	»	21,0	1,26	16,7		
b	»	»	16,2	1,19	13,6		
B 277 a	»	»	20,4	1,46	14,0		
b	»	»	16,6	1,35	12,3		
B 280 a	»	»	17,9	1,44	12,4		
b	»	»	14,6	1,50	9,7	12,9	18,2
B 137 a	Äthylalkohol	<i>Urethylan</i>	32,8	28,7	1,14		
b	»	»	29,8	23,7	1,26		
B 138 a	»	»	32,1	25,3	1,27		
b	»	»	31,6	25,3	1,25	1,23	(14,8)
B 130 a	Urethylan	<i>Methylcitrat</i>	12,0	7,26	1,65		
b	»	»	11,2	6,19	1,81		
B 131 a	»	»	11,5	7,11	1,62		
b	»	»	10,1	6,07	1,51	1,65	7,64
B 135 a	<i>Äthylcitrat</i>	Methylcitrat	8,80	6,60	1,33		
b	»	»	10,1	7,07	1,43		
B 136 a	»	»	9,37	5,83	1,61		
b	»	»	9,62	5,52	1,74	1,53	11,7
B 115 a	<i>Urethan</i>	Urethylan	27,7	28,0	0,99		
b	»	»	28,3	24,3	1,17		
B 117 a	»	»	22,6	19,8	1,14		
b	»	»	19,2	16,9	1,14	1,11	14,0
B 140 a	<i>Methylalkohol</i>	Äthylalkohol	66,5	35,4	1,88		
b	»	»	56,7	31,5	1,80		

Tabelle 4. (Forts.)

Nr.	Substanz I	Substanz II	k'_I	k'_{II}	n	n_m	k'_r
B 141 a	<i>Methylalkohol</i>	Äthylalkohol	51,2	31,6	1,62		
b	»	»	48,9	27,9	1,75	1,76	32,0
B 152	Äthylenglykol	<i>Monacetin</i>	1,75	0,54	3,24		
B 153 a	»	»	1,62	0,54	3,00		
b	»	»	1,43	0,57	2,51		
B 154 a	»	»	1,57	0,65	2,42		
b	»	»	1,58	0,60	2,63	2,76	0,511
B 220 a	Äthylenglykol	<i>Dimethyl-</i> <i>harnstoff</i>	2,05	1,56	1,31		
b	»	»	1,80	1,46	1,23		
B 222 a	»	»	2,57	1,85	1,39		
b	»	»	2,19	1,68	1,30		
B 282 a	»	»	1,19	0,97	1,23		
b	»	»	1,26	0,91	1,38		
B 283 a	»	»	1,11	0,80	1,39		
b	»	»	0,99	0,97	1,02	1,28	1,10
B 157 a	<i>Diäthylharnstoff</i>	<i>Dimethyl-</i> <i>harnstoff</i>	2,50	1,28	1,95		
b	»	»	2,45	1,34	1,83		
B 158 a	»	»	2,10	1,38	1,52		
b	»	»	1,85	1,24	1,49	1,70	1,87
B 83 a	<i>Dimethylharnstoff</i>	<i>Äthylharnstoff</i>	0,74	0,30	2,47		
b	»	»	0,69	0,33	2,09		
B 84 a	»	»	1,05	0,31	3,39		
b	»	»	0,92	0,30	3,07	2,76	0,399
B 81 a	Äthylharnstoff	<i>Methylharnstoff</i>	0,32	0,17	1,88		
b	»	»	0,27	0,16	1,69		
B 82 a	»	»	0,25	0,15	1,67		
b	»	»	0,265	0,13	2,04	1,82	0,219
B 265 a	<i>Methylharnstoff</i>	<i>Methylolharnstoff</i>	0,19	0,018	10,5		
b	»	»	0,18	0,021	8,6		
B 266 a	»	»	0,14	0,022	6,4		
b	»	»	0,13	0,020	6,5	8,0	0,027
B 68 a	Äthylenglykol	<i>Glycerin</i>	0,63	0,012	52,5		
b	»	»	0,69	0,014	49,3		
B 70 a	»	»	0,84	0,011	76,4		
b	»	»	0,69	0,012	57,5	58,9	0,024
B 78 a	<i>Methylharnstoff</i>	<i>Harnstoff</i>	0,12	0,061	1,97		
b	»	»	0,11	0,055	1,95	1,96	(0,112)
B 68 a	Äthylenglykol	<i>Harnstoff</i>	0,65	0,077	8,18		
b	»	»	0,69	0,088	7,84	8,01	(0,176)
B 65 a	<i>Harnstoff</i>	<i>Glycerin</i>	0,049	0,015	3,27		
b	»	»	0,048	0,015	3,20		
B 225 a	»	»	0,050	0,014	4,21		
b	»	»	0,050	0,013	3,85		

Tabelle 4. (Forts.)

Nr.	Substanz I	Substanz II	k'_I	k'_{II}	n	n_m	k'_r
B 232 a	<i>Harnstoff</i>	Glycerin	0,092	0,018	5,11		
b	»	»	0,081	0,021	3,86	3,91	(0,094)
B 75 a	<i>Thioharnstoff</i>	Harnstoff	0,098	0,058	1,69		
b	»	»	0,099	0,055	1,80		
B 76 a	»	»	0,12	0,053	2,26		
b	»	»	0,11	0,055	2,00	1,94	0,216
B 236	<i>Diäthylmalonamid</i>	Harnstoff	0,057	0,046	1,24	1,24	(0,157)
B 239 a	Methylharnstoff	<i>Diäthyl-</i> <i>malonamid</i>	0,173	0,102	1,76		
b	»	»	0,186	0,106	1,76	1,76	(0,124)
B 124 a	<i>Lactamid</i>	Harnstoff	0,092	0,073	1,26		
b	»	»	0,090	0,060	1,50		
B 125 a	»	»	0,12	0,075	1,60		
b	»	»	0,093	0,065	1,43	1,45	0,184
B 236 a	Harnstoff	<i>Urotropin</i>	0,046	0,035	1,31	1,31	(0,098)
B 239 a	Methylharnstoff	<i>Urotropin</i>	0,179	0,051	3,51		
b	»	»	0,186	0,066	2,82	3,17	(0,099)
B 70 a	<i>Dicyandiamid</i>	Glycerin	0,021	0,011	1,91		
b	»	»	0,016	0,012	1,33		
B 73 a	»	»	0,023	0,015	1,53		
b	»	»	0,016	0,011	1,45	1,56	0,037
B 296	Glycerin	<i>Schleims.-Ester</i>	0,018	0,011	1,64		
B 298	»	»	0,021	0,016	1,31		
B 299	»	»	0,023	0,018	1,28	1,41	0,017
A 23	Glycerin	<i>Erythrit</i>	0,010	0,00058	17,2		
A 34	»	»	0,0082	0,00053	15,5	16,4	0,0015
A 23	Glycerin	<i>Arabinose</i>	0,010	0,00039	26		
A 24	»	»	0,0079	0,00041	19	23	0,0010
A 43 a	Dicyandiamid	<i>Malonamid</i>	0,024	0,0029	8,3		
b	»	»	0,018	0,0027	6,7		
A 46	»	»	0,018	0,0020	9,0	8,0	0,0046

Verbindungen, welche noch langsamer als die Arabinose permeieren, dringen so langsam in den Zellsaft ein, dass sich die eingedrungenen Mengen mittelst der von uns benutzten Methode nicht quantitativ bestimmen lassen. Für diese Substanzen lassen sich somit keine k' -Werte berechnen. Die mit diesen Verbindungen erhaltenen Versuchsergebnisse sind in der Tabelle 5 zusammengestellt. Die Konzentration der geprüften Stoffe war meist 0,25 GM. Die Versuchsdauer schwankte zwischen 43 und 47 Stunden, nur bei der Verwendung von Maltoselösungen musste wegen der geringen Haltbarkeit derselben die Versuchszeit auf 22 Stunden beschränkt werden. Als Vergleichssubstanz wurde bei diesen Versuchen jedesmal Glycerin benutzt. Auch die beiden am

langsamsten permeierenden Verbindungen der Tabelle 4 sind vergleichshalber in die Tabelle 5 mit aufgenommen. Die negativen Werte sind selbstverständlich durchaus fiktiver Natur. Sie wurden erhalten, wenn der Zellsaft derjenigen Zellen, die in einer Lösung der zu prüfenden Substanz gelegen hatten, ein geringeres Reduktionsvermögen aufwiesen als der Zellsaft der Kontrollzellen, die sich in künstlichem Brackwasser befunden hatten.

Tabelle 5.

In 43—47 Stunden eingedrungene Mengen (Rel.-Proz.) einiger langsam permeierenden Verbindungen.

Verbindung	Einzelwerte										Mittel
Glycerin	25,9	26,6	27,2	27,4	31,4	31,5	31,6	32,2	32,9		31,7
Erythrit	32,9	34,3	38,0	40,1							2,3
Arabinose	2,0	2,2	2,3	2,6	2,6						1,7
Methylglucosid	1,0	1,2	1,5	2,1	2,9						0,9
Arbutin	0,3	0,5	0,7	1,1	1,8						0,3
Mannit	-0,2	0,3	0,5	0,6							0,3
Mannit	-0,3	-0,2	0,2	0,2	0,3	0,6	0,6	1,3			0,3
Glucose	-0,4	-0,2	-0,2	0,0	0,0	0,0	0,2	0,5	1,8		0,2
Lactose	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	0,5					0,2
Saccharose	-0,1	0,1	0,1	0,4							0,1
Maltose ¹⁾	-0,2	-0,2	0,0	0,1	0,2	0,3					0,0
Salicin	-0,8	-0,3	-0,2	0,1	0,2						-0,2

Da der k'_r -Wert des Glycerins 0,024 beträgt, wird man aus den in der Tabelle 5 zusammengestellten Versuchsergebnissen schliessen können, dass sämtliche in dieser Tabelle aufgenommenen Substanzen mit Ausnahme der drei erstgenannten einen k'_r -Wert unterhalb von 0,001 haben müssen. Genauer lässt sich das Permeiervermögen dieser extrem langsam permeierenden Verbindungen in dem vorliegenden Falle kaum präzisieren.

Die Permeationskonstanten der am langsamsten permeierenden Substanzen sind auch insofern am unsichersten, als bei diesen Verbindungen die Gefahr einer Oxydation zu $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$, einer Überführung in Stärke oder einer sonstigen Umwandlung am grössten ist. Doch konnten in den auf S. 12 f. genannten speziell hierauf gerichteten Versuchen keine Anzeichen derartiger Prozesse beobachtet werden. Ebenso wenig konnte in einigen Stichproben Stärkebildung in Zuckerlösung mittelst Jodjodkaliumlösung nachgewiesen werden. Doch wurde leider versäumt, diese Beobachtungen systematisch durchzuführen. Über entsprechende Befunde an *Nitella* vgl. WILDERVANCK 1932 S. 325 ff.

¹⁾ Die Permeationszeit der Maltose betrug nur 22 Stunden.

In der Tabelle 6 sind dann die Daten über die Eindringungsgeschwindigkeit und das Permeiervermögen sämtlicher von uns geprüften gelösten Substanzen übersichtlich zusammengestellt. Die Halbsättigungszeiten ($t_{1/2}$) geben an, nach wie vielen Minuten die Hälfte der Gleichgewichtskonzentration der betreffenden Substanz im Zellsaft erreicht wird. Die mit * bezeichneten Zahlen sind durch Extrapolation erhalten, da wir mit diesen sehr langsam permeierenden Verbindungen keine Versuche ausgeführt haben, bei denen die Hälfte der Gleichgewichtskonzentration im Zellsaft erreicht worden wäre. In der folgenden Spalte stehen die reduzierten, nicht auf die Oberflächeneinheit bezogenen Permeationskonstanten (P'). Sie stellen ein direktes Mass für die Grösse der Permeabilität der Protoplasten (eventuell: der Protoplasten nebst umhüllender Zellwand) für die betreffenden Substanzen dar. Von den k_v' -Werten der Tabelle 4 unterscheiden sich die P' -Werte nur in einer Hinsicht: im Falle der am allerschnellsten permeierenden Verbindungen ist berücksichtigt worden, dass die Permeation durch das Plasma wahrscheinlich schneller geschehen könnte, wenn nicht die diffusionshemmende Wirkung des Zellsaftes in Frage käme. In der letzten Spalte endlich stehen die reduzierten, auf die Einheit der Plasmaoberfläche bezogenen Permeationskonstanten (P).

Aus der Tabelle 6 geht klar hervor, wie ausserordentlich verschieden leicht die einzelnen Verbindungen in die *Chara*-Zellen eindringen. Beträgt doch die Halbsättigungszeit für die am raschesten permeierende Verbindung kaum mehr als eine Minute, für die am langsamsten permeierenden dagegen mehr (vielleicht sogar beträchtlich mehr) als etwa 30 Tage. Noch grösser erscheint aber der Unterschied im Permeiervermögen zwischen den Endgliedern der Reihe, wenn man bedenkt, dass die am leichtesten permeierenden Verbindungen vermutlich noch schneller eindringen könnten, käme nicht die diffusionshemmende Wirkung des Zellsaftes in Betracht.

Da man sich vielleicht noch nicht allgemein klar gemacht hat, wie ausserordentlich effektiv die diffusionshemmende Wirkung des Plasmas in vielen Fällen ist, möge diese Frage hier noch kurz beleuchtet werden.

Wir gehen von der Voraussetzung aus, dass die Eintrittshemmung praktisch allein in der etwa 5μ dicken Protoplasmaschicht lokalisiert ist, wie es bei nicht zu schnell permeierenden Stoffen tatsächlich der Fall ist. Die Geschwindigkeit, mit der gelöste Stoffe durch diese Schicht diffundieren würden, wenn der Diffusionswiderstand des Plasmas gleich gross wie derjenige des Wassers wäre, lässt sich berechnen mittelst der Gleichung

$$t = \frac{v \cdot a}{D \cdot q} \cdot \ln \frac{C}{C-c}, \quad (1)$$

worin c die jeweilige Konzentration der permeierenden Substanz im Zellinnern, C die Gleichgewichtskonzentration daselbst, t die Zeit, q die Ober-

Tabelle 6.

Halbsättigungszeit ($t_{1/2}$) der Chara-Zellen in Lösungen verschiedener Nicht-elektrolyte sowie die Permeationskonstanten (P und P') dieser Substanzen.

Wegen der Bedeutung von P und P' siehe S. 54. Die mit * bezeichneten Werte sind extrapoliert.

Verbindung	$t_{1/2}$ (Minuten)	P'	P	Verbindung	$t_{1/2}$ (Minuten)	P'	P
Methylalkohol ..	1,3	≥ 32	$\geq 0,99$	Äthylharnstoff .	100	0,40	0,012
Äthylalkohol	2,3	≥ 18	$\geq 0,56$	Thioharnstoff ..	170	0,25	0,0077
Urethan	3,0	≥ 14	$\geq 0,43$	Methylharnstoff	190	0,22	0,0068
Urethylan	3,2	≥ 13	$\geq 0,40$	Lactamid	230	0,18	0,0056
Triäthyleitrat ...	3,5	≥ 12	$\geq 0,37$	Diäthylmalona-			
Trimethyleitrat ..	5,5	7,6	0,24	mid	300	0,14	0,0043
Antipyrin	5,9	7,1	0,22	Harnstoff	320	0,13	0,0040
Cyanamid	6,1	6,8	0,21	Urotropin	500	0,084	0,0026
<i>i</i> -Valeramid	6,7	6,2	0,19	Dicyandiamid..	1100	0,037	0,0011
Butyramid	7,6	5,5	0,17	Methylolharn-			
Propionamid	9,9	4,2	0,13	stoff	1500*	0,027	0,00084
Monochlorhydrin .	14	2,9	0,090	Glycerin	1700	0,024	0,00074
Propylenglykol ..	15	2,8	0,087	Schleimsäure-			
Diacetin	16	2,6	0,080	diäthylester..	2400*	0,017	0,00053
Glycerinäthyl-				Malonamid	9000*	0,0046	0,00014
äther	17	2,5	0,077	Erythrit	28000*	0,0015	0,000046
Formamid	17	2,5	0,077	Arabinose	42000*	0,0010	0,000031
Succinimid	22	1,9	0,059	Methylglucosid .			
Diäthylharnstoff .	22	1,9	0,059	Arbutin			
Acetamid	24	1,7	0,053	Mannit			
Glycerinmethyl-				Glucose	} > 42000*	< 0,001	< 0,00003
äther	30	1,4	0,043	Lactose			
Äthylenglykol ..	30	1,4	0,043	Saccharose			
Dimethylharnstoff	38	1,1	0,034	Maltose			
Monacetin	82	0,51	0,016	Salicin			

fläche, durch die die Diffusion stattfindet, v das Zellvolumen, a die Dicke der Diffusionsschicht und D die Diffusionskonstante bedeuten. Vgl. Gleichung (4) S. 26.

Im Falle der Chara-Zellen ist nach obiger Voraussetzung $a = 5 \cdot 10^{-4}$ cm. Weiter ist in unserem Falle, wenn $v = 1$ cm³ gesetzt wird, $q = 32,3$ cm². Wenn es sich um die Bestimmung der Halbsättigungszeit handelt, ist $\frac{C}{C-c} = 2$. Somit ist die Halbsättigungszeit

$$t_{1/2} = \frac{0,0000107}{D} \quad (2)$$

Unter Benutzung der auf S. 36 genannten Diffusionskoeffizienten ergeben sich hieraus die folgenden berechneten Halbsättigungszeiten: Harnstoff 0,9, Acetamid 1,0, Glycerin 1,3 und Saccharose 2,5 *Sekunden*. Da nun die an lebenden *Chara*-Zellen tatsächlich beobachteten Halbsättigungszeiten bzw. 320, 24, 1700 und > 50000 *Minuten* betragen, so besagt dies also, dass das Protoplasma die Diffusion der betreffenden Substanzen um das 21000-, 1400-, 80000- bzw. > 1200000 -fache gegenüber ihrer Diffusion in Wasser verzögert. Zieht man aber weiter in Betracht, dass die Diffusionshemmung nicht gleichmässig über die ganze Dicke der Plasmaschicht verteilt sein dürfte, sondern vermutlich hauptsächlich nur in den sehr dünnen Plasmahäuten stattfindet, so erscheint die spezifische Durchtrittshemmung in diesen Schichten noch sehr viel grösser.

Wie kommen diese gewaltigen Durchtrittshemmungen zustande? Und worauf sind überhaupt die enormen Unterschiede hinsichtlich des Permeiervermögens verschiedener Substanzen zurückzuführen? Diese Fragen werden uns im Schlussteil der vorliegenden Arbeit beschäftigen, nachdem wir vorerst noch die Permeabilität der *Chara*-Zellen für Wasser besprochen haben.

B. Die relative Permeabilität für Wasser.

Bekanntlich hat OVERTON als erster nachgewiesen, dass die einwertigen Alkohole etwa ebenso leicht wie Wasser durch die unbeschädigten Protoplasten pflanzlicher und tierischer Zellen permeieren. Bei plasmolytischen Versuchen an den Epidermiszellen von *Rhoeo* kam dann der eine von uns (BÄRLUND 1929) zu dem Ergebnis, dass 1 GM Methyl- oder Äthylalkohol, zu einer sehr schwach hypotonischen Zuckerlösung hinzugefügt, die Lösung eben merklich hypertonisch macht. Er zog aus dieser Beobachtung den Schluss, dass die genannten Alkohole also doch wohl nicht ganz so leicht wie Wasser durch das Plasma der *Rhoeo*-Zellen permeieren. Gegen diese Deutung hat HOLDHEIDE (1931) opponiert. Die Streitfrage ist Gegenstand einer erneuten, noch nicht abgeschlossenen Untersuchung seitens des einen von uns.

An zahlreichen anderen pflanzlichen Zellen — darunter auch an solchen einer *Chara*-Art (*Ch. coronata*) — hat nun aber HOLDHEIDE (1930, 1931) die interessante Beobachtung gemacht, dass sie in starken (z. B. 3 oder 4 molar) Lösungen unter anderem von Methyl- und Äthylalkohol platzen. Er wies einwandfrei nach, dass dies davon herrührt, dass der Alkohol schneller in die Zellen eindringt, als das Wasser aus ihnen austritt. Er glaubt auch schliessen zu können, dass »das Platzen der Zellen zu einer Zeit erfolgt, in der die massgebende Plasmahaut noch im wesentlichen unverändert ist«.

Nach LAIBACH (1932) soll auch bei *Valonia* eine geringe Volumzunahme der Zelle bei der Einwirkung von geeigneten Alkoholkonzentrationen stattfinden.

Es war nun natürlich von Interesse, der Frage nachzugehen, wie sich an unserem Versuchsobjekt das Permeiervermögen des Wassers zu demjenigen der übrigen leicht permeierenden Stoffe, etwa der einwertigen Alkohole, verhält.

Um die Permeabilität der *Chara*-Zellen für Wasser mit ihrer Permeabilität für Alkohol zu vergleichen, kann man am einfachsten so vorgehen, dass man die Änderungen der Zelllänge beobachtet, welche eintreten, wenn die Zellen aus Wasser in eine wässrige Lösung des Alkohols versetzt werden oder umgekehrt. Eine Verkürzung der Zelle in der Lösung deutet darauf hin, dass der

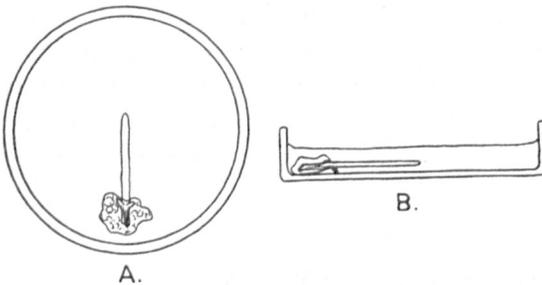


Abb. 3. *Chara*-Blatt in einer Petrischale festgekittet. A von oben gesehen, B im Längsschnitt. (Etwas verkleinert.)¹⁾

gelöste Stoff der Zelle Wasser entzieht und also langsamer als das Wasser permeiert. Verlängert sich dagegen die Zelle, wenn sie aus reinem Wasser in die wässrige Lösung übertragen wird, so spricht dies dafür, dass der betreffende gelöste Stoff leichter als das Wasser permeiert. Selbstverständlich ist aber auch die Möglichkeit zu berücksichtigen,

dass ein eventueller Einfluss des gelösten Stoffes auf den Quellungs- und den Quellungsgrad des Zellinhaltes oder der Zellwand die Zelllänge mit beeinflussen kann.

Um die Längenänderungen der Zellen zu messen, wurde in folgender Weise vorgegangen: Man wählt ein *Chara*-Blatt, welches an seiner Spitze eine wenigstens etwa 15 mm lange, möglichst gerade Zelle trägt. Das Blatt wird mit geschmolzenem, nicht zu heißem Cacaowachs (1 Teil gelbes Wachs + 3 Teile Cacaobutter) an dem Boden einer Petrischale festgekittet (Abb. 3). Damit die lange Zelle reibungslos beweglich bleibt und damit der Diffusionsausgleich auch nach unten unbehindert stattfinden kann, wird sie, wie aus Abb. 3 B ersichtlich, so befestigt, dass sie den Boden der Schale nicht direkt berührt. Dies gelingt leicht, wenn man beim Festkitten des Blattes die Zelle auf einem mit Wasser befeuchteten Filtrierpapierstreifen ruhen lässt. Nach dem Erstarren des Cacaowaxes wird der Papierstreifen entfernt. Die Schale wird mit Wasser gefüllt und mit etwas Wachs an dem beweglichen Objektisch eines Mikroskops befestigt, so dass die Zellspitze im Gesichtsfeld sichtbar ist. Mit Hilfe eines Okularmikrometers können die Längenänderungen der

Zelle jetzt gut gemessen werden. Benutzt wurde Objektiv 3 und Mikrometerokular 2 von Leitz. Ein Teilstrich entsprach 18μ . Die Lage der Zellspitze wurde in den Versuchsprotokollen in Zehntelskalenteilen angegeben. Die Ablesungsfehler dürften $\pm 0,2$ Skalenteile, d. h. etwa $3,6 \mu$ nicht übersteigen. Bei einer Zelllänge von 15 mm können also bereits Längenänderungen von etwa $0,03 \text{ Proz.}$ wahrgenommen werden. Voraussetzung für diese Genauigkeit der Längenmessung ist allerdings, dass die Zelle während des Versuchs keine merkliche Krümmung ausführt; diese Voraussetzung war in den meisten Versuchen erfüllt. Die in der Petrischale befindliche Flüssigkeit konnte mittels einer Pipette entfernt und durch eine neue Flüssigkeit ersetzt werden. Beim Eingiessen der neuen Flüssigkeit verstrichen etwa 10 Sekunden , bis das

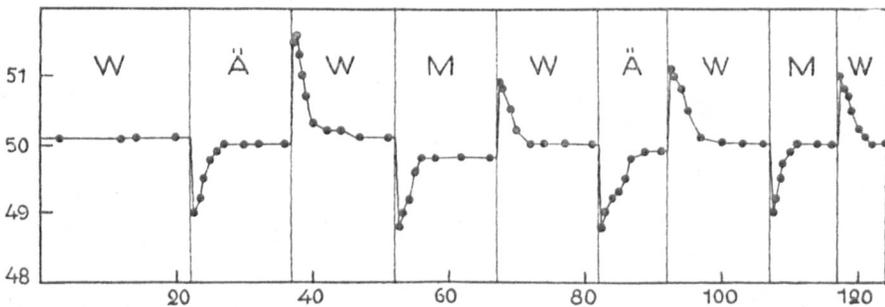


Abb. 4. Längenveränderungen einer *Chara*-Zelle in 0,8 molaren Lösungen von Methylalkohol (M) und Äthylalkohol (Ä) sowie in Wasser (W). Abszisse: Zeit in Minuten. Ordinate: Mikrometerskalenteile (Lage der Zellspitze an der Mikrometerskala). (Versuch A 64).

Mikroskop wieder genau eingestellt und die erste Messung ausgeführt war. Sämtliche Lösungen, auch die unten kurzweg als »Wasser« bezeichnete Flüssigkeit, enthielten $0,1 \text{ \%}$ Seesalz.

Die Ergebnisse einiger instruktiven Versuchsabschnitte werden in den Abbildungen 4—7 graphisch dargestellt. Die Abszisse gibt überall die Zeit in Minuten, die Ordinate die Lage der Zellspitze an der Mikrometerskala an. Beim Versuchsbeginn wurde die Zellspitze meist auf $50,0$ eingestellt. Jedes Ansteigen der Kurve bedeutet eine Längenzunahme der untersuchten Zelle, jedes Absinken der Kurve dagegen eine Längenabnahme der Zelle.

Wir betrachten zunächst das in Abb. 4 dargestellte Diagramm, welches uns das Verhalten einer Zelle gegenüber 0,8 molaren Lösungen von Methyl- und Äthylalkohol vor Augen führt. Die Zelle wurde erst in Wasser ($+ 0,1 \text{ \%}$ Salz) gehalten. Ihre Länge blieb hier unverändert. Dann wurde das Wasser durch eine 0,8 molare Lösung von Äthylalkohol

ersetzt. Unter dem Einfluss dieser Lösung zog sich die Zelle in 20 Sekunden um 1,1 Skalenteile zusammen.

An sich braucht dies noch nicht zu bedeuten, dass der Alkohol der Zelle auf *osmotischem* Wege Wasser entzogen hat. Denn zunächst liesse sich ja auch denken, dass der Alkohol die mechanischen Eigenschaften der Zellwand etwa durch Entquellung der Zellwandkolloide verändert hat, oder aber dass er den Quellungsdruck der Zellinhaltskolloide vermindert hat. Eine nähere Prüfung zeigt jedoch, dass die beiden zuletzt erwähnten Deutungsversuche die tatsächlichen Befunde nur sehr mangelhaft erklären können. Erstens bleibt die Verkürzung der Zelle nicht bestehen, wie zu erwarten wäre, wenn es sich um einen Entquellungsvorgang handelte. Vielmehr fing die Zelle schon 1 $\frac{1}{2}$ Minute nach ihrer Versetzung in die Alkohollösung an, sich wieder auszu dehnen, und erreichte in etwa 5 Minuten von neuem ihre ursprüngliche Länge. (In vielen anderen Versuchen setzte die Wiederverlängerung der Zellen bereits etwa $\frac{1}{2}$ Minute nach der Übertragung ein.) Diese Wiederverlängerung erklärt sich zwanglos daraus, dass der Alkohol, nachdem er zunächst osmotisch wasserentziehend auf die Zelle eingewirkt hat, allmählich in die Zelle eindringt. Wenn schliesslich die Alkoholkonzentrationen aussen und innen einander gleich sind, ist der osmotische Einfluss des Alkohols eliminiert. Ein zweiter Umstand, der gleichfalls mit der Annahme einer Entquellung als Ursache der Verkürzung so ziemlich unvereinbar ist, dagegen stark für die Annahme einer osmotisch bedingten Wasserverschiebung spricht, ist folgender: Wenn die Zelle, nachdem sie sich in der Alkohollösung verkürzt und wieder ausgedehnt hat, ins Wasser zurückübertragen wird, spielt sich eine genau entsprechende Längenveränderung, jedoch in umgekehrter Richtung ab: die Zelle dehnt sich zuerst aus und zieht sich dann auf ihre ursprüngliche Länge zurück. Dies ist ja zu erwarten, wenn der Alkohol langsamer als das Wasser permeiert. Zunächst zieht der im Zellsaft vorhandene Alkohol osmotisch Wasser aus der Umgebung an, diese Wirkung des Alkohols nimmt aber in dem Masse ab, als er aus der Zelle exosmiert. Ein dritter Umstand, der die osmotische Natur der in Rede stehenden Längenänderungen beweist, macht sich erst beim Vergleich der Einwirkung verschiedener Stoffe bemerkbar. Es zeigt sich nämlich, dass eine deutliche Beziehung zwischen dem durch die Zellsaftanalysen ermittelten Permeiervermögen eines jeden Stoffes und seinem Einfluss auf die Zelllänge besteht: je langsamer eine Verbindung permeiert, um so stärker und nachhaltiger ist die Verkürzung, die diese Verbindung, in der Aussenlösung anwesend, bewirkt, und um so stärker und anhaltender ist auch die Verlängerung, welche dieser Stoff, im Zellsaft anwesend, verursacht. So z. B. sind die Längenänderungen, welche von den einwertigen Alkoholen, den Urethanen und dem Aceton hervorgerufen werden, verhältnismässig sehr gering, äquimolare Lösungen von Propionamid oder Äthylenglykol sind schon um ein Viel-

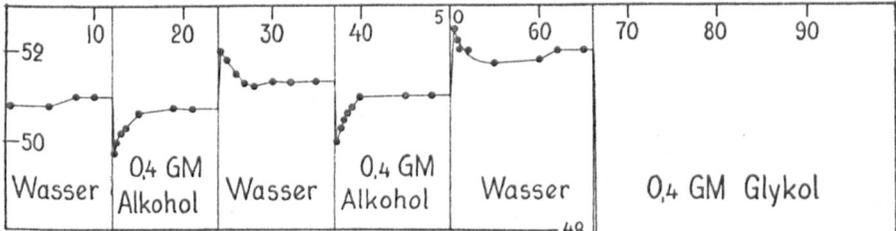
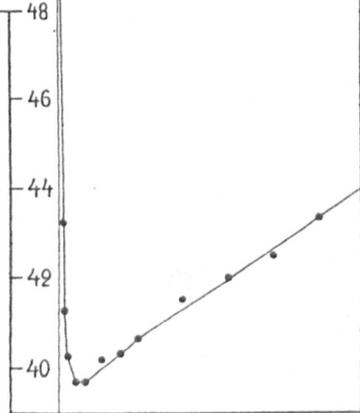


Abb. 5. Einfluss 0,4 molarer Lösungen von Äthylalkohol bzw. Äthylenglykol auf die Länge einer *Chara*-Zelle. Abszisse: Zeit in Minuten. Ordinate: Mikrometer-skalenteile. (Versuch A 58.)



faches wirksamer, und noch energischer wirkt in dieser Hinsicht etwa eine Lösung von Glycerin. (Vgl. in dieser Hinsicht das in Abb. 5 dargestellte Diagramm,

welches die sehr verschieden kräftige Wirkung äquimolarer Lösungen von Äthylalkohol und Äthylenglykol klar veranschaulicht.) Angesichts sämtlicher eben angedeuteten Beobachtungen kann es somit als sicher gelten, dass die in Rede stehenden Längenänderungen der Zellen wenigstens ganz überwiegend osmotisch bedingt sind, dass dagegen Quellungs- und Entquellungserscheinungen hierbei höchstens eine ganz untergeordnete Rolle spielen.

Verfolgen wir das in Abb. 4 dargestellte Diagramm weiter, so sehen wir, dass 0,8 molare Lösungen von Methyl- und Äthylalkohol in ihrer Wirkung einander sehr ähnlich sind. Beide Alkohole permeieren offenbar unter den obwaltenden Umständen etwas langsamer als das Wasser.

Ein Beispiel eines Versuchs mit verschiedenen grossen Konzentrationen von Methylalkohol zeigt das in Abb. 6 dargestellte Diagramm. Die betreffende Zelle unterschied sich von den in den vorangehenden Diagrammen dargestellten in der Hinsicht, dass sie sich während des Versuchs verlängerte, also, wie es scheint, noch im Wachstum begriffen war. Bei der Überführung des Blattes aus Wasser in eine 0,8 molare Methylalkohollösung trat, wie gewöhnlich, eine deutliche Verkürzung der Zelle ein, die in drei Minuten fast vollständig ausgeglichen wurde. Wenn dann die Alkohollösung durch Wasser ersetzt wurde, trat eine entsprechende Verlängerung der Zelle ein. Diese Verlängerung ging aber beim längeren Liegen des Blattes in Wasser nur zum kleinsten Teil zurück. Es hat also den Anschein, als ob die Verlängerung durch Wachstum fixiert sei oder als ob die Zellwand etwas plastisch dehnbar sei. Wenn dann an

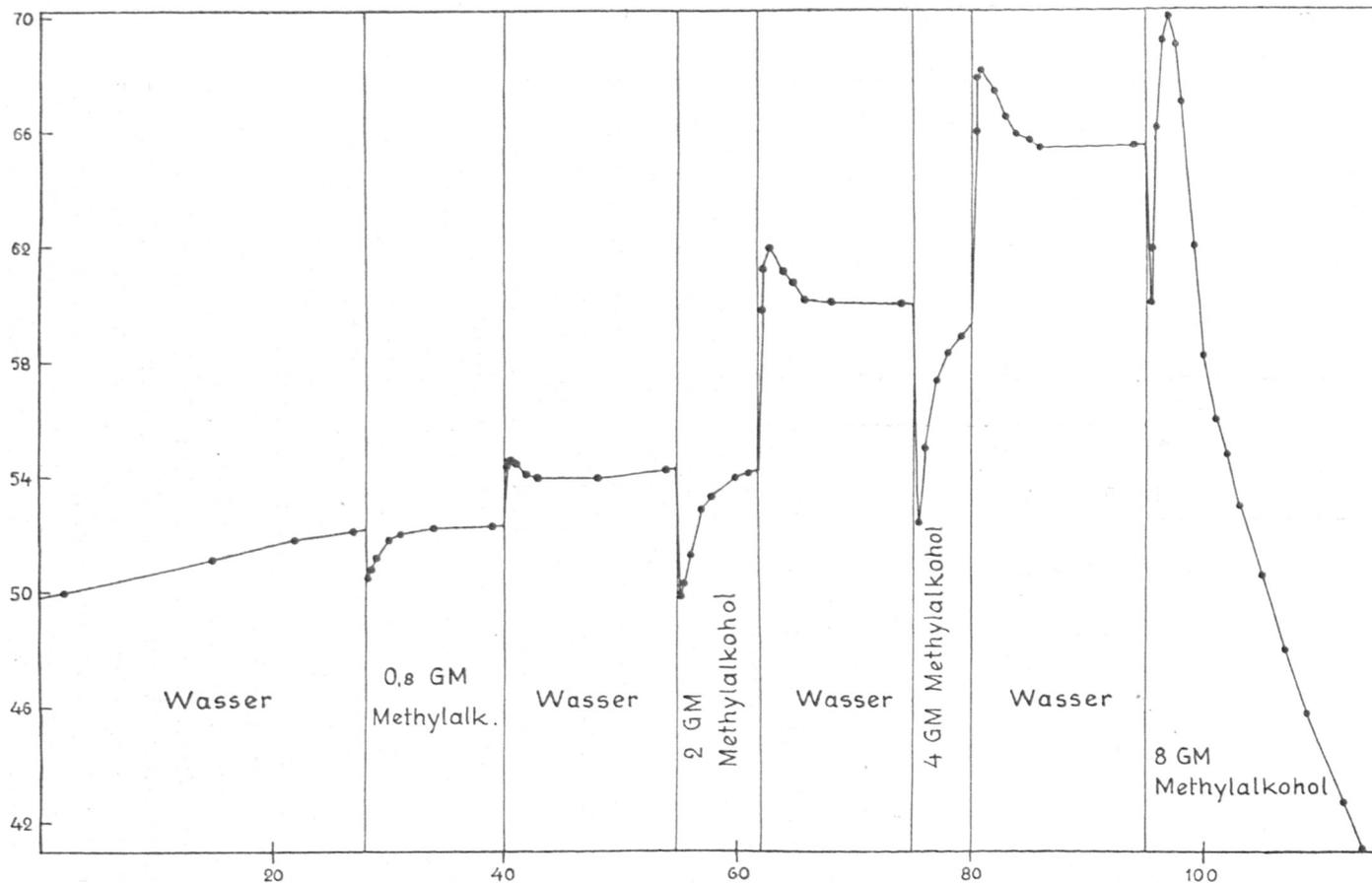


Abb. 6. Einfluss verschiedener Konzentrationen von Methylalkohol auf die Länge einer *Chara*-Zelle. Abszisse: Zeit in Minuten. Ordinate: Mikrometerskalenteile. (Versuch A 83.)

Stelle des Wassers eine 2 molare (8,1 Vol.-Proz.) und hiernach eine 4 molare (16,2 Vol.-Proz.) Lösung von Methylalkohol mit der Zelle in Berührung gebracht wurden, fanden Kontraktionen statt, deren Ausmass den verwendeten Alkoholkonzentrationen ungefähr proportional war. Auch die beim Zurückversetzen der Zelle in Wasser auftretenden Verlängerungen waren den vorher verwendeten Alkoholkonzentrationen einigermassen proportional. So weit steht also alles in voller Übereinstimmung mit der Annahme, dass der Methylalkohol langsamer als das Wasser permeiert. Wenn aber die Zelle zuletzt mit einer 8 molaren (32,4 Vol.-Proz.) Lösung von Methylalkohol übergossen wurde, trat etwas Unerwartetes ein: Im ersten Moment zeigte die Zelle zwar eine schnell vorübergehende Verkürzung, gleich danach dehnte sie sich aber kräftig aus, so dass sie nicht bloss die Länge erreichte, die sie vor der Berührung mit dieser Alkoholkonzentration besass, sondern die Verlängerung ging noch beträchtlich darüber hinaus. Offenbar war also die Zelle, als sie zuerst mit der 8 molaren Alkohollösung in Berührung kam (ebenso wie als sie mit den niedrigeren Alkoholkonzentrationen in Berührung stand) durchlässiger für Wasser als für Methylalkohol, unter dem Einfluss der hohen Alkoholkonzentration trat aber, wie es scheint, eine Permeabilitätsänderung ein. Entweder nahm die Permeabilität für Wasser ab oder diejenige für Alkohol zu, jedenfalls scheint während der zweiten Minute der Behandlung mit 8 molarer Alkohollösung die Permeabilität der Zelle für Alkohol grösser als diejenige für Wasser zu sein. Die genannte Alkoholkonzentration wirkt aber stark toxisch, denn schon in der dritten Minute setzte eine Verkürzung der Zelle ein, die von einer Exosmose von Zellinhaltsstoffen herrührte und allmählich zu einem vollständigen Kollaps der Zelle führte.

Es kann aber bisweilen vorkommen, dass bereits eine 4 molare Methylalkohollösung eine Längenzunahme der Zellen bewirkt. Ein Beispiel hiervon zeigt das in Abb. 7 dargestellte Diagramm. Man sieht, dass diese Zelle sich stark verlängerte, als das Wasser in der Petrischale mit einer 4 molaren Alkohollösung vertauscht wurde, während eine entsprechende Kontraktion stattfand, als der Alkohol durch Wasser ersetzt wurde. Auch noch in einer anderen Hinsicht war das Verhalten der betreffenden Zelle von Interesse: Mit einer 8 molaren Lösung von Methylalkohol übergossen, nahm die Zelle ohne merkbare vorangehende Verkürzung sofort Flüssigkeit auf und zwar so kräftig, dass nach 20 Sekunden Plasmoptyse eintrat: die Zellwand zerriss plötzlich an der Zellbasis, und der ganze obere Teil der Zelle wurde heftig davongeschleudert.

Unsere Beobachtungen über das Verhalten der *Chara*-Zellen gegenüber Methylalkohollösungen verschiedener Konzentration lassen sich in folgender Weise zusammenfassen:

0,8 molare Lösungen bewirken fast immer eine schwache, aber deutlich wahrnehmbare Kontraktion der Zellen. Unter 12 in dieser Hinsicht geprüften

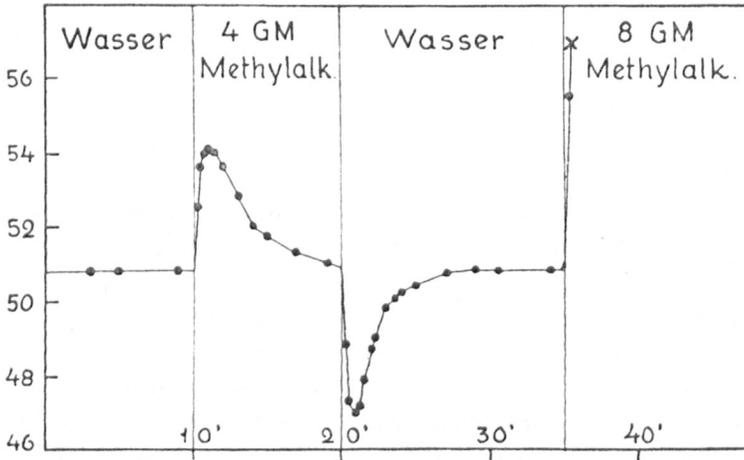


Abb. 7. Einfluss 4 und 8 molarer Lösungen von Methylalkohol auf die Länge einer *Chara*-Zelle. Bei × trat Plasmoptyse ein. Abszisse: Zeit in Minuten. Ordinate: Mikrometerskalenteile. (Versuch A 79.)

Zellen zeigten nämlich 10 eine unzweideutige Verkürzung, während nur eine sich indifferent verhielt und bloss eine Zelle sich kaum nachweisbar verlängerte. Die Plasmarotation wurde durch diese Alkoholkonzentration nicht merkbar beeinflusst.

Mit 4 molarer Methylalkohollösung wurden ebenfalls 12 Zellen geprüft. Unter ihnen zeigten 10 eine kräftige Kontraktion, 2 eine kräftige Verlängerung. Spätestens nach einer halben Minute stand die Plasmarotation vollkommen still, fing aber von neuem an, wenn die Zellen nachher in Wasser zurückversetzt wurden.

Mit 8 molarer Methylalkohollösung wurden 11 Zellen geprüft. Unter ihnen zeigten 8 eine starke Verlängerung, die in zwei Fällen mit Plasmoptyse endete. Wenigstens bei 4 Zellen ging aber der Verlängerung eine deutliche Verkürzung voraus. Drei Zellen zeigten sogar ausschliesslich Kontraktion. Die 8 molare Methylalkohollösung bewirkt immer nach etwa 5 Minuten eine starke Kontraktion der Zellen, die von einer Exosmose von Zellinhaltsstoffen herrührt und zu einem vollständigen Kollaps der Zellen führt.

Aus diesen experimentellen Befunden ergibt sich, dass die normalen *Chara*-Zellen, in einer genügend verdünnten Methylalkohollösung liegend, wenigstens in den allermeisten Fällen deutlich permeabler für Wasser als für Methylalkohol sind. Bei der Einwirkung von grossen Konzentrationen an Methylalkohol (z. B. 8 GM, bisweilen schon 4 GM) scheint aber eine auffallende Permeabilitätsänderung einzutreten, so dass die Zellgrenzschichten weniger permeabel für Wasser als für Alkohol werden. Die Frage, wie diese

Permeabilitätsänderung zustandekommt, möchten wir noch unentschieden lassen.

In osmotischer Hinsicht gleicht die Wirkung des Äthylalkohols derjenigen des Methylalkohols, nur ist der Äthylalkohol bedeutend giftiger. 0,8 molare Lösungen des Äthylalkohols bewirkten immer (5 Zellen geprüft) eine reversible Kontraktion der Zellen. Unter 3 Zellen, die mit 8 molarer Äthylalkohol-lösung behandelt wurden, zeigten zwei bloss Kontraktion, während die dritte Zelle sich nach der zuerst stattfindenden Kontraktion über ihre ursprüngliche Länge hinaus ausdehnte. Nach etwa 4 Minuten fingen alle drei Zellen zu kollabieren an.

Mit Urethylan, Urethan und Aceton wurden nur wenige Versuche dieser Art ausgeführt. Dabei wurde festgestellt, dass auch diese Verbindungen (als 0,4 bis 0,8 molare Lösungen angewandt) eine reversible Kontraktion der Zellen bewirken und somit langsamer als das Wasser permeieren.

Zusammenfassend lässt sich somit sagen, dass unter normalen Verhältnissen das Wasser leichter als irgendeine andere in dieser Hinsicht geprüfte Verbindung durch die osmotisch massgebenden Grenzschichten der Chara-Zellen dringt. Erst bei der Anwendung grosser, für die Zelle offenbar nicht mehr indifferenten Konzentrationen kann eine Umkehrung dieses Verhaltens beobachtet werden.

Damit soll allerdings nicht gesagt werden, dass alle anderen Zellen sich in dieser Hinsicht gleich verhalten müssten. Ein Versuch von HOLDHEIDE (1930, S. 711) deutet im Gegenteil darauf hin, dass die *Hydrodictyon*-Zellen auch in ziemlich normalem Zustand entschieden permeabler für Methylalkohol als für Wasser sind.

C. Beziehungen zwischen Permeiervermögen und chemischer Konstitution.

Die in der Tabelle 6 zusammengestellten Befunde bestätigen mit wenigen Ausnahmen die bekannten, von OVERTON aufgestellten empirischen Regeln hinsichtlich der Abhängigkeit des Permeiervermögens organischer Verbindungen von ihrer chemischen Konstitution.

1. Alkoholische Hydroxylgruppen verkleinern das Permeiervermögen. (Beispiele: Äthylenglykol permeiert wenigstens 13-mal langsamer als Äthylalkohol; Glycerin 117-mal langsamer als Propylenglykol; Methylolharnstoff 8,0-mal langsamer als Methylharnstoff; Lactamid 23-mal langsamer als Propionamid.)

2. Veresterung eines Alkohols vergrössert das Permeiervermögen. (Beispiele: Monacetin permeiert 21-mal leichter als Glycerin; Diacetin 5,1-mal leichter als Monacetin; Glycerinmonochlorhydrin 124-mal leichter als Glycerin.)

3. Ersatz des H-Atoms einer Hydroxylgruppe durch Alkyl vergrößert das Permeiervermögen. (Beispiel: Glycerinmonomethyläther permeiert 58-mal leichter als Glycerin.)

4. Die den Säureamiden eigene Atomgruppierung erschwert die Permeation noch mehr als die Hydroxylgruppe. So permeieren Monamide langsamer als einwertige Alkohole mit gleicher Anzahl von C-Atomen. (Beispiele: Methylalkohol permeiert wenigstens 13-mal leichter als Formamid; Äthylalkohol wenigstens 11-mal leichter als Acetamid.) Dagegen permeieren Monamide nur wenig schneller als zweiwertige Alkohole mit gleicher C-Atomanzahl. (Beispiele: Acetamid permeiert 1,2-mal leichter als Äthylenglykol; Propionamid 1,5-mal leichter als Propylenglykol.) Diamide permeieren weit schwieriger als Monamide. (Beispiel: Malonamid 913-mal langsamer als Propionamid.)

5. Der Ersatz der H-Atome der Amidogruppe durch Alkyle vergrößert das Permeiervermögen. (Beispiele: Methylharnstoff permeiert 2,0-mal leichter als Harnstoff; Dimethylharnstoff 5,0-mal leichter als Methylharnstoff; Diäthylmalonamid 30-mal leichter als Malonamid.)

6. In homologen Reihen vergrößert sich das Permeiervermögen mit zunehmender Länge der C-Kette. (Beispiele: Propionamid permeiert 2,4-mal leichter als Acetamid; Butyramid 1,3-mal leichter als Propionamid; *i*-Valeramid 1,1-mal leichter als Butyramid; Urethan leichter als Urethylan; Diäthylharnstoff 1,7-mal leichter als Dimethylharnstoff; Triäthylcitrat leichter als Trimethylcitrat; Propylenglykol 1,9-mal leichter als Äthylenglykol; Äthylharnstoff 1,8-mal leichter als Methylharnstoff; Glycerinmonoäthyläther 1,8-mal leichter als Glycerinmonomethyläther. *Ausnahmen*: Acetamid 1,5-mal langsamer als Formamid; Äthylalkohol langsamer als Methylalkohol.)

8. Der Ersatz eines O-Atoms durch ein S-Atom vergrößert das Permeiervermögen. (Beispiel: Thioharnstoff permeiert 1,9-mal leichter als Harnstoff.)

Diese Regeln können vermutlich alle in dem einen Satz zusammengefasst werden: das Permeiervermögen nimmt mit zunehmender Polarität der Moleküle ab.

V. Die Permeabilitätshypothesen.

Im folgenden soll untersucht werden, wie sich die an den *Chara*-Zellen festgestellten Tatsachen zu den Hypothesen über die Protoplasmapermeabilität verhalten.

Wir stellen uns dabei auf den Standpunkt, dass es nicht unsere Aufgabe sein kann, zu entscheiden zu suchen, welche von den ursprünglichen Permeabilitätshypothesen, von denen jede bloss *ein* Moment berücksichtigt, die allein

richtige ist. Wir glauben vielmehr, dass das Permeabilitätsproblem nur unter gleichzeitiger Berücksichtigung mehrerer Gesichtspunkte gelöst werden kann. Wir fragen uns daher nicht: ist das differente Permeiervermögen verschiedener Stoffe von ihrer Molekulargrösse, von ihrer Lipoidlöslichkeit oder aber von ihrer Grenzflächenaktivität bedingt? Sondern: in welchem Umfang hängt das Permeiervermögen von der Molekulargrösse, in welchem Umfang von der Lipoidlöslichkeit und in welchem Umfang von der Grenzflächenaktivität oder noch anderen Eigenschaften der betreffenden Substanzen ab?

A. Die Adsorptionshypothese.

In Anbetracht der grossen Grenzflächenentwicklung kolloidaler Systeme liegt es nahe anzunehmen, dass Adsorptionsvorgänge eine grosse Rolle bei der Permeation gelöster Stoffe durch beschränkt durchlässige kolloidale Membranen spielen werden. Hinsichtlich der bisher studierten leblosen Membranen bestätigt sich diese Annahme jedoch nur in sehr beschränktem Umfang. So wurde festgestellt, dass beschränkt durchlässige Kupferferrocyanid-, Kollodium- und Gelatinemembranen *ceteris paribus* etwa gleich durchlässig für grenzflächeninaktive wie für grenzflächenaktive Verbindungen sind (COLLANDER 1924, 1925, 1926 und 1927). Doch lässt sich wohl die auffallend grosse Durchlässigkeit der Kupferferrocyanidmembranen für Wasser am besten durch die Annahme einer bevorzugten Adsorption von Wasser seitens der hydrophilen Membransubstanz erklären. Auch einige andere Befunde machen eine gewisse Bedeutung der Adsorptionsprozesse für die Permeabilität lebloser Membranen wahrscheinlich.

Wie steht es nun in dieser Hinsicht mit der Plasmamembran?

Die Vorstellung, wonach Adsorptionsvorgänge eine wichtige oder eventuell sogar eine entscheidende Rolle bei den Permeationsprozessen durch das Plasma spielen würden, stützt sich wohl in erster Linie auf den oft konstatierten Parallelismus zwischen Grenzflächenaktivität und Permeiervermögen verschiedener Stoffe.

Wie aus der Tabelle 7 hervorgeht, lässt sich ein solcher Parallelismus auch im Falle der *Chara*-Zellen feststellen. In dieser Tabelle sind die geprüften Verbindungen nach abnehmender Oberflächenaktivität geordnet auf Grund von stalagmometrischen Bestimmungen der relativen Oberflächenspannung 0,1 bzw. 0,5 molarer Lösungen gegen Luft. Die betreffenden Werte sind grösstenteils der Arbeit von BÄRLUND (1929) entnommen. Für die in jener Arbeit nicht untersuchten Verbindungen wurde jetzt die Oberflächenaktivität in ganz derselben Weise wie damals ermittelt. Alle Bestimmungen geschahen bei 20° C.

Tabelle 7.

Relative Oberflächenspannung der 0,1 und 0,5 molaren Lösungen der geprüften Nichtelektrolyte verglichen mit den auf die Oberflächeneinheit bezogenen Permeationskonstanten (P) dieser Verbindungen.

Verbindung	Oberflächenspannung		$P \times 10^3$	Verbindung	Oberflächenspannung		$P \times 10^3$
	0,1 GM	0,5 GM			0,1 GM	0,5 GM	
Triäthyleitrat ..	0,659	—	≥ 370	Lactamid	—	0,971	6,5
Diacetin	0,841	—	80	Acetamid	0,994	0,973	53
<i>i</i> -Valeramid	0,861	0,664	190	Äthylenglykol ..	—	0,978	43
Trimethylcitrat ..	0,871	—	≥ 240	Methylglucosid ..	0,997	0,980	$< 0,03$
Propylenglykol ..	—	0,761	87	Methylharnstoff ..	—	0,983	6,8
Glyc.-Äthyläther ..	0,903	0,765	77	Methylolharnstoff	—	0,985	0,84
Diäthylharnstoff ..	—	0,769	59	Cyanamid	—	0,991	210
Urethan	—	0,896	≥ 430	Glycerin	0,998	0,994	0,74
Butyramid	—	0,820	170	Urotropin	—	0,994	2,8
Antipyrin	—	0,834	220	Formamid	—	0,994	77
Monacetin	—	0,838	16	Dicyandiamid ..	0,999	—	1,1
Äthylalkohol	0,969	0,865	≥ 560	Wasser	1,000	1,000	> 990
Dimethylharnstoff	0,969	—	34	Malonamid	—	1,001	0,14
Salicin	0,971	—	$< 0,03$	Thioharnstoff ..	—	1,001	8,7
Monochlorhydrin ..	0,980	0,914	90	Harnstoff	—	1,001	4,3
Glyc.-Methyläther	—	0,916	43	Erythrit	—	1,003	0,05
Propionamid	—	0,922	130	Arabinose	—	1,004	0,03
Urethylan	0,983	0,930	≥ 400	Glucose	—	1,005	$< 0,03$
Äthylharnstoff ..	—	0,931	12	Mannit	1,001	1,006	$< 0,03$
Methylalkohol ..	0,986	0,944	≥ 990	Maltose	1,001	—	$< 0,03$
Arbutin	0,991	—	$< 0,03$	Saccharose	1,001	—	$< 0,03$
Succinimid	0,993	0,958	59	Lactose	1,001	—	$< 0,03$

Ein Blick auf die in der Tabelle 7 mitgeteilten Zahlen zeigt, dass in grossen Zügen ein Parallelismus zwischen Oberflächenaktivität und Permeiervermögen besteht, insofern als im allgemeinen stark oberflächenaktive Verbindungen schnell, ausgesprochen oberflächeninaktive Verbindungen dagegen meistens langsam permeieren. Im Einzelnen ergeben sich allerdings zahlreiche und zum Teil sehr beträchtliche Ausnahmen von diesem Parallelismus. Die auffallendsten von diesen Abweichungen bestehen darin, dass Salicin, Arbutin und Monacetin im Verhältnis zu ihrer beträchtlichen Oberflächenaktivität viel zu langsam permeieren, während umgekehrt Cyanamid, Formamid, Methylalkohol und Wasser viel schneller permeieren, als auf Grund ihrer geringen Oberflächenaktivität zu erwarten wäre. Doch brauchen diese Abweichungen nicht unbedingt gegen eine entscheidende Beteiligung von Grenzflächenerscheinungen zu sprechen.

nungen bei den Permeationsprozessen zu sprechen. Erstens ist nämlich zu bedenken, dass in obiger Zusammenstellung allein die Grenzflächenaktivität gegen Luft berücksichtigt worden ist, während die betreffenden Verbindungen sich an den beim Permeationsprozess in Frage kommenden Grenzflächen anders verhalten können. Zweitens können womöglich in einzelnen Fällen irgendwelche in kleiner Menge anwesende Verunreinigungen die Oberflächenspannung der geprüften Lösungen abnorm herabgesetzt haben¹⁾. Drittens endlich ist zu beachten, dass die trotz grosser Oberflächenaktivität langsam permeierenden Verbindungen grossmolekular, die trotz geringer Oberflächenaktivität schnell permeierenden Substanzen dagegen kleinmolekular sind, so dass man also die grössten Diskrepanzen zwischen Oberflächenaktivität und Permeiervermögen unter Bezugnahme auf die Ultrafilterhypothese zu erklären versuchen könnte.

Trotzdem will es uns scheinen, dass eine weitgehende Abhängigkeit der Permeationsprozesse von der Grenzflächenaktivität der permeierenden Verbindungen wenig Wahrscheinlichkeit für sich hat. Zu diesem negativen Schluss kommen wir, wenn wir uns etwas genauer überlegen, in welcher Weise die experimentell festgestellten gewaltigen Unterschiede hinsichtlich des Permeiervermögens verschiedener Substanzen vom Standpunkt der Adsorptionstheorie aus zu erklären wären. Man kann dabei zwei verschiedene Wege einschlagen, die wir nun der Reihe nach besprechen wollen.

1. *Positive Adsorption.* Man sagt wohl bisweilen, dass Substanzen, welche an der Protoplastenoberfläche positiv adsorbiert werden, infolge dieser Ansammlung eine grössere Chance haben werden, ins Plasma einzudringen. Die Stichhaltigkeit dieser Behauptung dürfte nicht bewiesen sein und scheint uns auch nicht ohne weiteres einleuchtend. Aber auch wenn jene Behauptung richtig wäre, würde sie, wie uns scheint, den Kernpunkt des Permeabilitätsproblems nicht aufhellen. Am meisten einer Erklärung bedürftig scheint uns nämlich nicht so sehr das leichte Permeieren mancher Stoffe, sondern vielmehr die extreme Schwierigkeit des Durchdringens anderer Substanzen durch das Plasma. Haben wir doch vorhin (Abschnitt IV A 3) festgestellt, dass sogar kleinmolekulare Stoffe, wie etwa Harnstoff und Glycerin, 21 000- bzw. 80 000-mal langsamer durch das Plasma als durch eine gleich dicke Wasserschicht diffundieren, während der Durchtritt der Saccharose sogar um mehr als das 1 000 000-fache verzögert wird. Ist aber der Diffusionswiderstand hauptsäch-

¹⁾ Ein extremes Beispiel: Nach BÄRLUND (1929) ist die relative Oberflächenspannung einer 0,1 molaren Lösung von Dimethylharnstoff 0,831. Als wir jetzt an einem neuen von Kahlbaum bezogenen Präparat dieselbe Messung ausführten, ergab sich der Wert 0,866. Als aber das Präparat aus Alkohol umkristallisiert worden war, erhielt man den Wert 0,969.

lich nur in den Plasmahäuten lokalisiert, dann ist die spezifische Durchtrittshemmung in diesen Schichten sogar noch beträchtlich grösser.

Wie kommen diese gewaltigen Durchtrittshemmungen zustande? Mit einer positiven Adsorption ist hier — soweit wir sehen — nichts anzufangen¹⁾. Wir müssen also irgendeinen anderen Weg einschlagen.

2. *Negative Adsorption.* Will man die extreme Dyspermeabilität des Plasmas für zahlreiche sogar recht kleinmolekulare Verbindungen vom Standpunkt der Adsorptionshypothese aus erklären, so muss man wohl voraussetzen, dass die betreffenden Substanzen von den Porenwandungen der Plasmamembran *negativ* adsorbiert und hierdurch verhindert werden, in die wassergefüllten Kanälchen einzudringen.

Diese auf LUDWIG (1849) und PFEFFER (1877) zurückgehende Anschauung hat bekanntlich in der Neuzeit wieder viele Anhänger gefunden. Sie erscheint auch an sich durchaus plausibel, sie hat aber einen Haken: *findet die von dieser Hypothese vorausgesetzte negative Adsorption der langsam permeierenden Substanzen an den Porenwandungen der Plasmamembran tatsächlich statt?* Solange man die chemische Natur der betreffenden Porenwandungen nicht mit Gewissheit kennt, muss wohl die Antwort auf diese Frage ziemlich unsicher ausfallen. Wie unten gezeigt werden soll, scheint uns aber eine verneinende Antwort wahrscheinlicher als eine bejahende.

Zwei Stoffgruppen kommen wohl in erster Linie als mögliche Bestandteile der Plasmahaut in Betracht: Lipide (im weitesten Sinne des Wortes) und Eiweissstoffe.

Fassen wir zunächst die erstgenannte Stoffgruppe ins Auge, so müssen wir feststellen, dass die Adsorptionerscheinungen an Grenzflächen zwischen wässrigen Lösungen und lipoidähnlichen Phasen bisher recht wenig studiert worden sind. Wir haben deshalb einige orientierende Versuche über die Adsorption einiger uns interessierenden Nichtelektrolyte an derartigen Grenzflächen ausgeführt. Als nichtwässrige Phase wurde teils Olivenöl (Marke »Calvo«) und teils Benzol (»kristallisierbar, thiophenfrei, pro Analysis« Merck) benutzt. Als Kriterium der positiven bzw. negativen Adsorption wurde die Herabsetzung bzw. Erhöhung der Grenzflächenspannung dieser Phasen gegen

¹⁾ An sich erscheint es zwar gut denkbar, dass eine starke positive Adsorption die gelösten Moleküle fesseln und so ihren Durchtritt durch die beschränkt permeable Schicht hemmen könnte (vgl. z. B. WEISER 1930). Eine solche Annahme ist aber hier ausgeschlossen im Hinblick auf den Befund, dass im allgemeinen gerade die am stärksten oberflächenaktiven Verbindungen am leichtesten durch das Plasma permeieren. — Auch der Versuch von SCHÖNFELDER (1930), die Adsorptionstheorie, welche WARBURG für die Narkose entwickelt hat, auf die Permeabilitätserscheinungen anzuwenden, scheint uns von vornherein aussichtslos. Vgl. COLLANDER 1931 und WILBRANDT 1931.

eine wässrige Phase benutzt. Die Bestimmung der Grenzflächenspannungen erfolgte mittelst einer eigens für derartige Messungen konstruierten Modifikation des TRAUBESchen Stalagmometers (WEBER und TRAUBE 1930).¹⁾ Die zu prüfenden Adsorbenda — Harnstoff, Methylharnstoff, Äthylenglykol, Acetamid und als Beispiel einer stärker oberflächenaktiven Substanz Urethan — wurden als 0,5 molare Lösungen benutzt, die aus den reinsten Präparaten von Schering-Kahlbaum hergestellt waren. Das Acetamid war ausserdem mit frisch destilliertem Äther gründlich ausgewaschen. Der Methylharnstoff wurde teils mit und teils ohne Vorbehandlung mit Äther verwendet. Von jeder Verbindung wurden im allgemeinen drei Lösungen bereitet, die zu verschiedenen Zeiten untersucht wurden. Jedesmal wurde zum Vergleich die Grenzflächenspannung des reinen Wassers gegen die betreffende nichtwässrige Phase bestimmt. Die spezifischen Gewichte der wässrigen und nichtwässrigen Phasen wurden pyknometrisch ermittelt. Alle Bestimmungen geschahen bei 20° C. Die gefundenen relativen Grenzflächenspannungen, bezogen auf die Grenzflächenspannung des reinen Wassers als Einheit, sind in der Tabelle 8 zusammengestellt. Für jede geprüfte Verbindung und jede Grenzfläche werden drei zu verschiedenen Zeiten bestimmte Werte sowie das Mittel aus diesen Werten mitgeteilt. Zum Vergleich sind auch die an der Grenzfläche wässrige Lösung/Luft gemessenen Grenzflächenspannungen nach BÄRLUND (1929) angegeben.

Man sieht, dass der Harnstoff kaum merkbar die Grenzflächenspannung des Wassers gegen Luft oder Benzol verändert und dass er, wie es scheint, eben merkbar positiv an der Grenzfläche gegen Olivenöl adsorbiert wird. Bei den übrigen geprüften Stoffen ist die positive Adsorption an sämtlichen studierten Grenzflächen sogar deutlich und ausnahmslos. Man wird hieraus schliessen, dass wenigstens die zuletztgenannten Verbindungen (Methylharnstoff, Äthylenglykol, Acetamid und Urethan), aber vielleicht auch der Harnstoff höchst wahrscheinlich ganz allgemein aus einer wässrigen Phase *nicht negativ*, sondern eher schwach positiv an der Grenzfläche angrenzender weniger polarer Phasen, darunter auch solcher von lipoidähnlicher Beschaffenheit, adsorbiert werden. Ein solches Verhalten ist übrigens schon theoretisch vorauszusehen.

¹⁾ EFIMOFF und REHBINDER (1929) haben bekanntlich einige Einwände gegen die stalagmometrische Messung von Grenzflächenspannungen erhoben. In dem vorliegenden Falle schien uns trotzdem die Benutzung dieser recht bequemen Methode zulässig. Was uns hier interessiert, ist ja nämlich nicht so sehr die Grösse der Erhöhung bzw. Herabsetzung der Grenzflächenspannung, als einfach die Frage, in welchem Sinne die Grenzflächenspannung sich verschiebt. Da wir zudem bloss mit schnell diffundierenden Substanzen, die sich nur schwach an der Grenzfläche anreichern, gearbeitet und eine geringe Ausflussgeschwindigkeit benutzt haben (etwa vier Tropfen in der Minute), werden die Ergebnisse hoffentlich sogar in quantitativer Hinsicht einigermaßen richtig sein.

Tabelle 8.

Relative Grenzflächenspannung 0,5 molarer wässriger Lösungen einiger Nicht-elektrolyte gegen Luft, Olivenöl und Benzol bezogen auf die entsprechende Grenzflächenspannung des reinen Wassers als Einheit. Temp. 20° C.

Grenzflächenspannung gegen	Luft	Olivenöl	Benzol
Harnstoff	1,001	0,977	0,989
		0,978	0,998
		0,981	1,001
Methylharnstoff	0,983	0,948	0,934
		0,956	0,941
		0,960	0,942
Äthylenglykol	0,978	0,981	0,957
		0,986	0,959
		0,989	0,962
Acetamid	0,973	0,966	0,941
		0,971	0,943
		0,972	0,944
Urethan	0,806	0,817	0,615
		0,822	0,616
		0,823	0,619

Die von uns hinsichtlich ihres Permeiervermögens studierten Verbindungen dürften nämlich zum allergrössten Teil (mit Ausnahme hauptsächlich nur der Zuckerarten und der vier- bis sechswertigen Alkohole) ihrer Polarität nach zwischen Wasser und Lipoid stehen. Nun gilt aber als Regel, dass, wenn die Polarität eines gelösten Stoffes zwischen denjenigen zweier nicht mischbarer Flüssigkeiten steht, sich dann der gelöste Stoff an der Grenzfläche zwischen diesen Flüssigkeiten anreichert (REHBINDER 1927, LAZAREW, LAWROW und MATWEJEW 1930). Nach dieser Regel müssten also die meisten von uns geprüften Substanzen positiv an der Grenzfläche Wasser/Lipoid adsorbiert werden.

Es sprechen somit sowohl theoretische Erwägungen wie experimentelle Befunde gegen den Versuch, die experimentell festgestellte starke Durchtrittshemmung der in Rede stehenden Substanzen seitens des Plasmas auf eine negative Adsorption dieser Stoffe seitens lipoidähnlicher Plasmahautbestandteile zurückzuführen.

Es bleiben aber noch die Eiweissstoffe als mögliche Plasmahautbestandteile, an denen die negative Adsorption stattfinden könnte, übrig. Eiweissmembranen scheinen aber nach den bisher vorliegenden, allerdings noch viel zu knappen Erfahrungen nicht leichter durchlässig für oberflächenaktive als für oberflächeninaktive Substanzen zu sein (COLLANDER 1927). Auch Ei-

weise kommen daher kaum als spezifische Adsorbentien in dem hier postulierten Sinne in Betracht.

Wir kommen daher zu dem Schluss, dass auch die Erklärung der in Rede stehenden Durchtrittshemmungen seitens des Plasmas durch negative Adsorption auf grosse Schwierigkeiten stösst.

B. Die Lipoidlöslichkeitshypothese.

Wir haben hier die Frage zu behandeln, inwieweit die an den *Chara*-Zellen beobachteten Permeabilitätseigenschaften ihre Erklärung finden, wenn man annimmt, dass die osmotisch massgebenden Zellgrenzschichten Lipide enthalten, welche lipoidunlösliche Stoffe zurückhalten, lipoidlösliche Stoffe dagegen nach Massgabe ihrer Lipoidlöslichkeit durchlassen.

Ehe wir aber an die Betrachtung der experimentellen Befunde herantreten, muss ein neuerdings erhobener theoretischer Einwand gegen die übliche Begründung der Lipoidtheorie der Plasmapermeabilität kurz behandelt werden.¹⁾

1. SIND BESTIMMTE BEZIEHUNGEN ZWISCHEN DER RELATIVEN LIPOIDLÖSLICHKEIT UND DEM PERMEIERVERMÖGEN ZU ERWARTEN, FALLS DIE LIPOIDLÖSLICHKEITSHYPOTHESE ZU RECHT BESTEHT?

BROOKS und BROOKS (1932) unterziehen in einer eben erschienenen Arbeit den Prozess des Übergangs eines gelösten Stoffes aus einer Phase durch eine zweite Phase in eine dritte Phase einer eingehenden mathematischen Analyse.

¹⁾ Dagegen bedürfen wohl die jüngstens von MANSHEIM (1932) gegen die Grundlagen der Lipoidtheorie erhobenen Einwände kaum einer ernsten Widerlegung. Falls den gleichzeitig sowohl lipoid- als wasserlöslichen Substanzen gut passierbare Wasserwege offenstehen, wie es in den Diffusionsversuchen MANSHEIMS wohl der Fall war (die Konzentration des benutzten Gelatinegels wird allerdings nicht angegeben!), dann ist es von vornherein einleuchtend, dass ein Lipoidzusatz die Diffusionsgeschwindigkeit nicht noch mehr vergrössern kann. Auch eine Diffusionsverzögerung durch Speicherung der diffundierenden Substanz im Lipoid ist in diesem Falle durchaus verständlich. Ganz anders jedoch im Falle der osmotisch massgebenden Plasmaschichten! Von diesen wissen wir ja, dass sie selbst viel kleineren Teilchen, als die von MANSHEIM benutzten Farbstoffmoleküle sind, den Durchtritt beinahe vollständig verwehren können. Den Farbstoffteilchen wird also vermutlich kein genügend breiter Wasserweg durch die Plasmahaut zur Verfügung stehen. Wenn sie nun trotzdem, sofern sie lipoidlöslich sind, passieren können, so fordert dies eine Erklärung. Eine Erklärung, wenn auch vielleicht nicht die einzig denkbare, bietet die Lipoidtheorie der Plasmapermeabilität. Sie wird durch die Befunde MANSHEIMS nicht im geringsten erschüttert.

Sie kommen dabei zu dem Ergebnis, dass es nicht möglich sei, aus Verteilungskoeffizienten, die sich ja auf *Gleichgewichts*phänomene beziehen, irgendwelche Schlüsse hinsichtlich der Permeation, also hinsichtlich einer *Geschwindigkeits*erscheinung, zu ziehen. Diese Behauptung erscheint uns, wie unten dargelegt werden soll, etwas zu radikal.

Der betrachtete Prozess kann in drei Teilprozesse aufgelöst werden: 1. Der gelöste Stoff tritt aus der Wasserphase W_1 in die Lipoidphase L der Plasmahaut über. 2. Er diffundiert durch die Phase L hindurch. 3. An der entgegengesetzten Grenzfläche der Phase L angelangt, tritt der gelöste Stoff aus L in die wässrige Phase W_2 über. (Es bedeutet z. B. W_1 das die Zelle umgebende Medium, L die Lipoidphase der äusseren Plasmahaut und W_2 die wässrige Phase des Binnenplasmas. An der Vakuolenwand wiederholt sich dann ein entsprechender Vorgang, wobei W_1 nun die wässrige Phase des Binnenplasmas, L die Lipoidphase der Vakuolenwand und W_2 den Zellsaft darstellen.)

Die Gesamtgeschwindigkeit des Prozesses kann nun je nach der relativen Leichtigkeit, mit der die drei Teilprozesse verlaufen, entweder vom Teilprozess 1, 2 oder 3 oder aber von deren zwei oder drei gemeinsam abhängen. BROOKS und BROOKS richten ihre Aufmerksamkeit allein auf die Teilprozesse 1 und 3 und gelangen daher folgerichtig zu dem Schluss, dass zwischen dem Permeiervermögen einerseits und dem Verteilungskoeffizienten des permeierenden Stoffes zwischen den beteiligten Phasen andererseits keine bestimmte Beziehung besteht. A priori erscheint es wohl aber wenigstens ebenso wahrscheinlich, dass im Gegenteil eben der Teilprozess 2 der langsamste ist und dass er somit die Geschwindigkeit des Gesamtprozesses praktisch allein bestimmt. (Vgl. DIRKEN und MOOK 1930.) Und zwar wird dies um so mehr der Fall sein, je mehr zu ungunsten der Phase L die Verteilung der permeierenden Substanz zwischen W und L ausfällt¹⁾ und je dicker die Schicht L ist. Dann aber ist, wie unten an der Hand der schematischen Abbildung 8 gezeigt werden soll, ein Zusammenhang zwischen Permeiervermögen und Verteilungskoeffizienten durchaus zu erwarten.

Es diffundieren zwei Substanzen, A und B, aus der Wasserphase W_1 , wo ihre Konzentration 100 beträgt, durch die Lipoidphase L in die Wasserphase W_2 hinein, wo ihre Konzentration in dem betrachteten Augenblick 10 beträgt. Der Verteilungskoeffizient Lipoid : Wasser beträgt für A 0,1, für B 0,01. Wenn wir annehmen, dass der Übergang der beiden Substanzen aus

¹⁾ Da wir hier in erster Linie das Verhalten von permeierenden Nicht-elektrolyten ins Auge fassen, bei denen verschiedene Dissoziationszustände in den Phasen W_1 und W_2 nicht in Frage kommen, können wir hier der Einfachheit halber den Verteilungskoeffizienten L : W_2 gleich dem Verteilungskoeffizienten L : W_1 setzen.

der Wasser- in die Lipoidphase sehr schnell verläuft, wird die an W_1 grenzende äusserste Schicht der Lipoidphase praktisch mit W_1 im Gleichgewicht stehen. In dieser Schicht hat somit A die Konzentration 10 und B die Konzentration 1. Wenn der Übergang der diffundierenden Substanzen aus der Lipoid- in die zweite Wasserphase gleichfalls sehr schnell verläuft, ist die äusserste an W_2 grenzende Schicht der Lipoidphase mit W_2 praktisch im Gleichgewicht. In dieser Lipoidschicht haben somit die Substanzen A und B die Konzentrationen 1 bzw. 0,1. Das Diffusionsgefälle in bezug auf die Substanz A innerhalb der Lipoidphase beträgt also $10 - 1 = 9$. Das Diffusionsgefälle der Substanz B daselbst beträgt dagegen bloss $1 - 0,1 = 0,9$. Die Grösse des Diffusionsgefälles der betrachteten Verbindungen innerhalb der Lipoidphase ist somit, wie ersichtlich, direkt proportional ihren Verteilungskoeffizienten Lipoid : Wasser. Und da die Diffusionsgeschwindigkeit ceteris paribus — d. h. vor allem gleich grosse Diffusionskoeffizienten vorausgesetzt — dem Diffusionsgefälle proportional ist, kommen wir also zu dem Schluss, dass unter den angegebenen Voraussetzungen das Permeiervermögen verschiedener Substanzen durch die Lipoidphase hindurch ihrem Verteilungskoeffizienten Lipoid : Wasser proportional ist. Die Lipoidschicht vermindert also die Diffusionsgeschwindigkeit wenig lipoidlöslicher Substanzen dadurch, dass sie eine Zone verminderten Diffusionsgefälles darstellt. Und zwar ist, wie wir gesehen haben, das Diffusionsgefälle um so stärker herabgesetzt, je mehr zu ungunsten der Lipoidphase die Verteilung der diffundierenden Substanz zwischen Lipoid und Wasser ausfällt.

Die oben konstatierte Proportionalität zwischen Permeiervermögen und Verteilungskoeffizienten gilt, wie leicht einzusehen, nur solange der Verteilungskoeffizient Lipoid : Wasser genügend klein bleibt; wird er grösser, so hört die Proportionalität allmählich auf. (Im Falle der in der vorliegenden Arbeit benutzten Substanzen sind die Voraussetzungen für das Bestehen der in Rede stehenden Proportionalität wenigstens insofern erfüllt, als sie recht wenig bis sehr wenig lipoidlöslich sind. Vgl. Tabelle 10.)

Oben sind wir zu dem Schluss gelangt, dass unter bestimmten, durchaus nicht unwahrscheinlichen Umständen zu erwarten ist, dass das Permeiervermögen verschiedener Substanzen durch die hypothetischen Lipide der Plasmahaut ihren Verteilungskoeffizienten Plasmahautlipoid : Wasser annähernd proportional sei. Man kann aber auch umgekehrt behaupten: Falls eine Proportionalität zwischen der relativen Lipoidlöslichkeit verschiedener Sub-

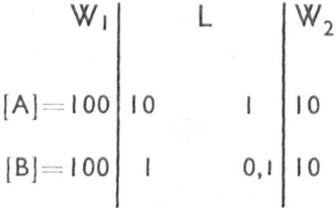


Abb. 8. Schema über die Verteilung zweier Verbindungen (A und B) zwischen zwei Wasserphasen (W_1 und W_2) und einer Lipoidphase (L) bei der Diffusion aus W_1 in W_2 .

stanzen und ihrem Permeiervermögen festgestellt werden kann, so ist dies ein Indizium, welches zugunsten der Auffassung spricht, wonach diese Substanzen durch eine Lipoidphase hindurch in die Zellen eindringen.

2. DIE »LIPOIDLÖSLICHKEIT« DER UNTERSUCHTEN SUBSTANZEN.

Soviel auch in der Permeabilitätsliteratur von »Lipoidlöslichkeit« die Rede ist, liegen bisher erstaunlich wenig Bestimmungen derselben vor. Infolgedessen schweben alle bisherigen Erörterungen über die Bedeutung der Lipoidlöslichkeit für das Permeiervermögen bedenklich in der Luft. Um eine feste Basis für die Diskussion zu schaffen, sind also neue Bestimmungen der Lipoidlöslichkeit vonnöten. Da jedoch die tatsächliche chemische Natur der in den osmotisch massgebenden Plasmaschichten eventuell vorkommenden Lipoiden nicht genauer bekannt ist, wäre es wichtig, die Lösungseigenschaften nicht nur eines willkürlich herausgegriffenen lipoiden Lösungsmittels zu bestimmen, sondern diejenigen möglichst verschiedenartiger Lipoiden vergleichend zu untersuchen, um entscheiden zu können, ob unter den Lipoiden solche vorhanden sind, deren Lösungseigenschaften die Permeabilitätseigenschaften des Plasmas erklären könnten. Das Programm einer derartigen Untersuchung findet sich schon bei OVERTON (1902 S. 259) aufgestellt. Dass dieses Programm nicht schon längst verwirklicht worden ist, beruht zweifellos u. a. darauf, dass eine derartige Untersuchung ausserordentlich viel Arbeit erfordern würde.

Auch wir haben die Löslichkeitseigenschaften der von uns zu den Permeabilitätsexperimenten benutzten Substanzen nur in beschränktem Umfang untersuchen können, indem wir ihr Verteilungsverhältnis in drei Systemen bestimmt haben, und zwar in den Systemen Äthyläther/Wasser, Olivenöl/Wasser und Olivenöl + Ölsäure/Wasser. Bereits die Untersuchung dieser Gleichgewichte hat erhebliche Arbeit benötigt.

a. Der Verteilungskoeffizient Äthyläther : Wasser.

Für die meisten Nichtelektrolyte, deren Permeiervermögen in die Chara-Zellen wir untersucht haben, hat der eine von uns bereits früher den Verteilungskoeffizienten Äthyläther : Wasser bestimmt (BÄRLUND 1929). Für die damals noch nicht untersuchten Verbindungen, deren Permeiervermögen gegenüber den Chara-Zellen untersucht worden ist, ist dieser Koeffizient jetzt ermittelt worden. Ausserdem haben wir die am wenigsten ätherlöslichen Substanzen, deren Verteilungskoeffizient damals nur annäherungsweise geschätzt wurde, unter Benutzung eines genaueren Verfahrens neu untersucht. Während in jener Untersuchung die in die Ätherphase übergetretenen Substanzmengen

Tabelle 9.

Der Verteilungskoeffizient Äther:Wasser für die geprüften Nichtelektrolyte.

Verbindung	Konz.	k	k_m	Verbindung	Konz.	k	k_m
Triäthylcitrat ..	0,1		4,4	Arbutin	0,3	0,00070	
Äthylalkohol	1,0		1,9	»	0,3	0,00072	
Urethan	0,5		0,64	»	0,3	0,00074	
Trimethylcitrat ..	0,1—0,3		0,43	»	0,3	0,00081	0,00074
Methylalkohol ..	1,0		0,27	Glycerin	1,0	0,00064	
Diacetin	0,5		0,22	»	1,0	0,00064	
<i>i</i> -Valeramid	0,25—0,5		0,17	»	1,0	0,00066	
Urethylan	0,5		0,14	»	1,0	0,00069	0,00066
Cyanamid	0,05	0,10		Harnstoff	1,0	0,00045	
»	0,05	0,11		»	1,0	0,00048	0,00047
»	0,05	0,12	0,11	Salicin	0,15	0,00016	
Monochlorhyd-				»	0,15	0,00020	
rin	0,5—1,0		0,080	»	0,15	0,00041	
Antipyrin	0,1		0,073	»	0,15	0,00047	
Butyramid	0,25—0,5		0,058	»	0,15	0,00056	
Monacetin	0,5		0,041	»	0,15	0,00056	0,00039
Succinimid	0,5—1,0		0,031	Malonamid	0,9	0,00029	
Glycerinmono-				»	0,9	0,00031	0,00030
äthyläther	0,5—1,0		0,026	Methylolharnstoff	0,8	0,00024	
Propylenglykol ..	1,0	0,025		»	0,8	0,00031	
»	0,5	0,022	0,024	»	0,6	0,00023	
Glycerinmono-				»	0,6	0,00033	0,00028
methyläther ..	1,0	0,018		Urotropin	0,25	0,00022	
»	1,0	0,019	0,019	»	0,25	0,00028	
Diäthylharnstoff .	0,5		0,019	»	0,25	0,00029	0,00026
Propionamid	0,5—1,0		0,013	Erythrit	2,0	0,000143	
Diäthylmalonamid	0,05	0,012		»	2,0	0,000086	
»	0,05	0,012	0,012	»	2,0	0,000088	0,00011
Schleims.-Diäthyl-				Methylglucosid ..	1,5	0,000044	
ester	0,05	0,0079		»	1,5	0,000048	
»	0,05	0,0079		»	1,5	0,000057	
»	0,05	0,0089		»	1,5	0,000066	0,00005
»	0,05	0,0092		Arabinose	2,0	0,000040	
»	0,05	0,0097	0,0087	»	2,0	0,000045	
Äthylenglykol ..	1,0		0,0068	»	2,0	0,000049	
Thioharnstoff ..	1,0—2,0		0,0063	»	2,0	0,000050	0,00005
Dimethylharnstoff	0,2	0,0045		Glucose	2,0	<0,00001	
»	0,2	0,0046	0,0046	»	2,0	<0,00001	<0,00001
Äthylharnstoff ..	0,5	0,0039		Mannit	0,8	<0,00001	
»	0,5	0,0040		»	0,8	<0,00001	<0,00001
»	0,5	0,0043	0,0041	Maltose	1,0	<0,00001	<0,00001
Dicyandiamid ..	0,2		0,0029	»	1,0	<0,00001	<0,00001
Acetamid	2,0		0,0025	Saccharose	1,0	<0,00001	
Lactamid	1,0		0,0018	»	1,0	<0,00001	<0,00001
Formamid	5,0		0,0014	Lactose	0,47	<0,00001	
Methylharnstoff .	1,0—5,0		0,0012	»	0,47	<0,00001	<0,00001

im Falle nichtflüchtiger Verbindungen durch Wägung des Trockenrückstandes eines bestimmten Volumens der Ätherphase ermittelt wurde, haben wir sie diesmal nach Verjagen des Äthers entweder mittelst der BANGSchen Mikromethode zur Bestimmung der Blutlipide (BANG 1927) oder — bei N-haltigen Verbindungen — durch die Mikro-Kjeldahlanalyse ermittelt. Immer wurden Blindproben (mit Wasser geschüttelter Äther) gleichzeitig mit den eigentlichen Bestimmungen untersucht. Der Äther war frisch destilliert. Es konnten in dieser Weise rund 10-mal geringere Substanzmengen als bei der früheren Untersuchung quantitativ bestimmt werden.

Die ermittelten Verteilungskoeffizienten Äther : Wasser sind in der Tabelle 9 zusammengestellt. Die mit »Konz.« überschriebene Spalte gibt die ursprüngliche molare Konzentration der Wasserphase an. k bezeichnet die in den Einzelversuchen ermittelten Verteilungskoeffizienten, k_m das Mittel aus diesen.

Ein Vergleich obiger Befunde mit denjenigen anderer Forscher ist nicht möglich, da, nach den Zusammenstellungen bei LANDOLT-BÖRNSTEIN und in den *International Critical Tables* zu urteilen, unter den von uns untersuchten Verbindungen allein der Äthylalkohol bisher in dieser Hinsicht studiert worden ist. Sein Verteilungskoeffizient Äther : Wasser wurde von MORGAN und BENSON (1907) bei 25° zu 1,41—1,85 bestimmt.

b. *Der Verteilungskoeffizient Olivenöl : Wasser und Olivenöl-Ölsäure: Wasser.*

Mit sauberen Gummistopfen versehene Erlenmeyerkölbchen wurden mit je 10 ccm Olivenöl (Marke Calvo) bzw. mit ebenso viel eines Gemisches von Olivenöl mit 20 Volumproz. Ölsäure (»Kahlbaum«) beschickt. Dann wurden 10 ccm einer wässrigen Lösung der zu untersuchenden Substanz hinzugefügt und das Gemisch 18—24 Stunden auf der Schüttelmaschine sanft geschüttelt, wonach die beiden Phasen durch Zentrifugieren voneinander getrennt wurden. Die in die Ölphase übergetretenen Stoffmengen¹⁾ wurden dann in folgender Weise bestimmt: Mittelst einer sauberen, trockenen Pipette wurde ein Teil der Ölphase (selbstverständlich unter peinlichster Vermeidung auch der kleinsten Tröpfchen der Wasserphase) in ein tariertes Erlenmeyerkölbchen gebracht und gewogen. Die Probe wurde dann mit ihrem eigenen Volumen²⁾ destillierten Wassers versetzt und über Nacht auf der Schüttelmaschine ge-

¹⁾ Da die meisten von uns untersuchten Substanzen sehr wenig öllöslich sind, wäre die Konzentrationsverminderung der wässrigen Phase oft analytisch kaum nachzuweisen gewesen. Aus diesem Grunde musste stattdessen der in die Ölphase übergetretene Anteil bestimmt werden.

²⁾ Das Volumen der Ölphase wurde erhalten, indem man ihr Gewicht durch das spezifische Gewicht (0,91) des Öles dividierte.

schüttelt. Um diese zweite Wasserphase vollständig frei von Öltröpfchen untersuchen zu können, wurde sie zuerst zentrifugiert, dann wurde das Öl möglichst vollständig von der Oberfläche mittelst eines an die Saugpumpe angeschlossenen Glasrohres abgesaugt, und schliesslich wurde die Wasserphase filtriert. Zur Filtration wurden anfangs Jenaer Glasfilter benutzt. Da sich aber die einwandfreie Reinigung der Glasfilter etwas umständlich zeigte, wurde später zur Verwendung von Papierfiltern übergegangen, und zwar wurden, wenn vollständig faserfreie Filtrate nötig waren (für die Reduktionsbestimmungen nach BANG), gehärtete Filter N:o 575 von Schleicher & Schüll verwendet, während sonst gewöhnliche Filter für quantitative Analysen benutzt wurden. Die schliessliche Untersuchung der so vorbereiteten zweiten Wasserphase geschah im Falle N-haltiger Verbindungen mittelst der Mikro-Kjeldahlmethode und im Falle N-freier Substanzen mittelst der Mikromethode von BANG zur Bestimmung der Blutlipoiden. Blindversuche, bei denen reines Wasser mit Olivenöl bzw. Olivenöl-Ölsäure-Gemisch geschüttelt wurde, wurden jedesmal gleichzeitig mit den eigentlichen Versuchen angesetzt. Es zeigte sich, dass das Olivenöl und noch mehr das Olivenöl-Ölsäure-Gemisch deutliche Spuren einer reduzierenden Substanz, dagegen keine merkbaren N-Mengen an das Wasser abgaben.

Die Berechnung des Verteilungskoeffizienten geschah in folgender Weise: Bezeichnen wir die ursprüngliche Konzentration der ersten Wasserphase mit a , die analytisch bestimmte Gleichgewichtskonzentration der zweiten Wasserphase mit b , die nicht bestimmte Gleichgewichtskonzentration der Ölphase nach der ersten Umschüttelung mit c und das als konstant vorausgesetzte Verteilungsverhältnis des untersuchten Stoffes zwischen Öl- und Wasserphase mit k , so erhalten wir die beiden Gleichungen

$$\frac{c}{a-c} = k \text{ und } \frac{c-b}{b} = k. \quad (1, 2)$$

Wir eliminieren c und erhalten so

$$ak - 2bk - bk^2 = b. \quad (3)$$

Da sowohl b wie k klein sind, kann bk^2 vernachlässigt werden. Wir erhalten dann

$$k = \frac{b}{a - 2b}. \quad (4)$$

Diese Gleichung wurde zur Berechnung von k benutzt.

Die Ergebnisse der in dieser Weise ausgeführten Bestimmungen sind in der Tabelle 10 zusammengestellt. Unter »Konz.» ist auch in dieser Tabelle die ursprüngliche Konzentration der Wasserphase zu verstehen. Der Verteilungs-

Tabelle 10.

Verteilungskoeffizienten Olivenöl : Wasser (k_o) und (Olivenöl + Ölsäure) : Wasser (k_s).

Substanz	Analysator	Temp. °C	Konz. (GM)	k_o		k_s	
				Einzel- werte	Mittel	Einzel- werte	Mittel
Triäthyleitrat ..	A	18	0,1	0,57		0,56	
» ..	B	17	0,1	0,43	0,50	0,41	0,49
Diacetin	A	17—18	0,5	0,068		0,070	
»	B	21—24	0,2	0,073	0,071	0,086	0,077
»	B	18	0,1	0,073		0,04	
Urethan	A	20	1,0	0,081		—	
»	B	22	0,1	0,068	0,074	0,23	0,23
Trimethylcitrat ..	A	20	0,1	0,049		—	
» ..	B	17	0,1	0,045	0,047	0,053	0,053
Antipyrin	A	17	0,5	0,026		—	
»	B	20—24	0,2	0,038	0,032	0,13	0,13
Urethylan	A	19—20	1,0	0,025		—	
»	B	22	0,4	0,024	0,025	0,074	0,074
i-Valeramid	A	19	0,5	0,017		0,16	
»	B	22	0,2	0,028	0,023	0,20	0,18
Äthylalkohol	A	18	0,8	0,024		—	
»	B	17	1,0	0,019	0,022	0,037	0,037
Monochlorhydrin .	A	18	0,5	0,012		—	
»	B	20	0,5	0,012	0,012	0,014	0,014
Butyramid	A	17—19	0,5	0,0090		0,11	
»	B	23	0,3	0,0099	0,0095	0,11	0,11
Monacetin	A	19—20	0,5	0,0099		0,012	
»	B	18—20	0,5	0,0090	0,0095	0,011	0,012
Methylalkohol ..	A	20	0,5	0,0079		—	
» ..	B	17—21	0,5	0,0077	0,0078	0,013	0,013
Diäthylharnstoff .	A	20	1,0	0,0076	0,0076	0,19	0,19
Glycerinäthyl- äther	B	17—18	0,4	0,0074	0,0074	0,012	0,012
Propylenglykol ..	B	18	1,0	0,0057	0,0057	0,0098	0,0098
Succinimid	A	20	1,0	0,0046		0,0105	
»	B	23	1,0	0,0052	0,0049	0,0097	0,010
Propionamid	A	17—18	2,0	0,0034		0,040	
»	B	22	1,0	0,0038	0,0036	0,033	0,037
Cyanamid	B	19	0,2	(0,0036)		(0,0035)	
»	B	19	0,6	0,0045	0,0045	0,0059	0,0059
Glycerinmethyl- äther	B	17—18	0,3	0,0026	0,0026	0,0038	0,0038
Dimethylharnstoff	B	18—20	ca. 0,1	0,0022		0,030	
» ..	B	23	» 0,1	0,0023	0,0023	0,028	0,029

Tabelle 10. (Forts.)

Substanz	Analysator	Temp. °C	Konz.	k_o		k_s	
				Einzelwerte	Mittel	Einzelwerte	Mittel
Diäthylmalonamid	B	19	ca. 0,05	0,0014		0,019	
»	B	19	» 0,05	0,0024	0,0019	0,024	0,022
Äthylharnstoff ..	A	18—20	1,0	(0,0003)		0,026	
» ..	B	22	1,0	0,0016	0,0017	0,039	
» ..	B	22	1,0	0,0017		0,038	0,034
» ..	B	22	1,0	0,0018		—	
Thioharnstoff ..	A	19—20	1,0	(0,0005)		0,0041	
» ..	B	23	1,0	0,0012		0,0039	0,0040
» ..	B	22	1,0	0,0013	0,0012	—	
Acetamid	A	19—21	2,0	0,00087		0,0008	
»	B	21	2,0	0,00078	0,00083	0,0092	0,0095
Formamid	B	16—17	2,0	0,00076		0,0049	
»	B	16	2,0	0,00076	0,00076	—	0,0049
Lactamid	A	19—22	2,0	0,00055		0,0037	
»	A	17—21	2,0	0,00060	0,00058	0,0036	0,0037
Äthylenglykol ..	A	15—17	1,0	0,00048		0,0015	
» ..	B	18	4,0	0,00049	0,00049	0,0016	0,0016
Dicyandiamid....	A	19—21	ca. 0,2	(0,0004)		0,0079	
»	B	21	» 0,2	0,00047	0,00047	0,0103	0,0091
Methylharnstoff ..	A	19	2,0	0,00043		0,012	
» ..	B	21	1,0	0,00044	0,00044	0,0073	0,0096
Urotropin	A	18—19	2,0	(0,0000)		0,020	
»	B	19	1,0	0,00023	0,00021	0,015	0,018
»	B	18	1,0	0,00018		—	
Harnstoff	A	18—19	4,0	0,00014		0,0058	
»	B	21	4,0	0,00015	0,00015	0,0045	0,0052
Malonamid	A	18—20	ca. 0,9	0,00018		0,0010	
»	B	19	» 0,9	0,00007		0,0012	
»	B	18—19	0,9	0,00004	0,00008	—	0,0011
»	B	19	0,9	0,00005		—	
Glycerin	A	18	4,0	0,00007		(0,0002)	
»	B	18	4,0	0,00007	0,00007	0,00013	0,00015
»	B	17	4,0	0,00006		0,00017	
Methylolharnstoff	B	17	0,6	0,00005		0,0011	
» ..	B	18	0,6	0,00002	0,00004	0,0010	0,0011
Erythrit	B	17	2,5	0,00003		0,00005	
»	B	17	2,5	0,00003	0,00003	0,00007	0,00006

koeffizient Olivenöl : Wasser ist mit k_o bezeichnet, der Verteilungskoeffizient Olivenöl-Ölsäure : Wasser mit k_s . Die in der Tabelle als »Einzelwerte« bezeichneten k_o - und k_s -Werte sind grösstenteils Mittelwerte aus zwei gleichzei-

tig ausgeführten Parallelbestimmungen. Die eingeklammerten Werte erscheinen aus irgendeinem Grunde (meist wegen der Benutzung einer allzu kleinen N-Menge bei der Mikro-Kjeldahlbestimmung) weniger zuverlässig und sind daher bei der Berechnung der definitiven Mittelwerte unberücksichtigt geblieben.

Die Bestimmungen wurden von zwei Personen (in der Tabelle als A bzw. B bezeichnet) zu verschiedenen Zeiten ausgeführt, ohne dass der letztere Untersucher (B) die Resultate des ersteren (A) kannte. Die grundsätzliche Übereinstimmung der in dieser Weise erzielten Befunde scheint die Zuverlässigkeit der benutzten Methodik zu beweisen. Allerdings muss hervorgehoben werden, dass die Verteilungskoeffizienten der am allerwenigsten öllöslichen Verbindungen, vor allem des Methylolharnstoffs und des Erythrits, natürlich recht unsicher ausfallen mussten, da in diesem Falle die N-Menge bzw. das Reduktionsvermögen der analysierten Lösung sehr klein war. Bei den am allerwenigsten ätherlöslichen Verbindungen musste leider auf eine Bestimmung der Öllöslichkeit verzichtet werden, da vorauszusehen war, dass die Methodik in diesen Fällen nicht ausreichen würde, um zahlenmässige Ergebnisse zu liefern.

Ein Vergleich unserer k_o -Werte mit den entsprechenden früheren Bestimmungen, soweit sie in den *International Critical Tables* zusammengestellt sind, zeigt, dass unsere Werte meist etwa 1,5- bis 3-mal kleiner als die dort zitierten sind. (Unter den von uns untersuchten Verbindungen ist allerdings nur für sechs der Verteilungskoeffizient in den *Tables* enthalten.) Ob diese Diskrepanz etwa auf eine abweichende Zusammensetzung des von uns benutzten Olivenöls zurückzuführen ist, können wir nicht entscheiden. Mit den neuerdings von WATZADSE (1929) veröffentlichten Verteilungskoeffizienten stimmen unsere Werte aber meist auch nicht der Grössenordnung nach überein. (Ein Beispiel: Für Harnstoff bestimmte WATZADSE den Verteilungskoeffizienten Olivenöl : Wasser zu 0,01, wir erhielten dagegen den Wert 0,00015.) Wir sind geneigt, diese groben Diskrepanzen darauf zurückzuführen, dass das von WATZADSE benutzte Verfahren überhaupt ungeeignet ist, um sehr kleine Verteilungskoeffizienten Öl : Wasser zu bestimmen. Er berechnete nämlich die Verteilungskoeffizienten aus der Konzentrationsabnahme der wässrigen Phase. Diese Abnahme fällt aber bei vielen der in Frage stehenden Verbindungen entschieden innerhalb der Fehlergrenzen der benutzten Analysemethoden.

c. Beziehungen zwischen Ätherlöslichkeit, Öllöslichkeit und Ölsäurelöslichkeit der untersuchten Verbindungen.

Relative Ätherlöslichkeit und relative Löslichkeit in Olivenöl variieren bei den von uns studierten Substanzen im grossen und ganzen parallel, wie aus der Tabelle 11 ersichtlich ist. In dieser Tabelle ist für jede Verbindung, deren Äther- wie Öllöslichkeit bestimmt wurde, der Quotient $k_a:k_o$ angegeben.

(k_a = Verteilungskoeffizient Äther : Wasser, k_o = Verteilungskoeffizient Olivenöl : Wasser.) Während die relativen Äther- und Öllöslichkeiten der betreffenden Verbindungen innerhalb sehr weit auseinanderliegender Grenzen variieren (z. B. die Öllöslichkeit zwischen 0,5 und 0,00003), schwankt das Verhältnis der beiden Verteilungskoeffizienten innerhalb recht enger Grenzen, und zwar, wie ersichtlich, mit wenigen Ausnahmen etwa zwischen 2 und 14. (Ob die ausnahmsweise grossen Werte für Methyl- und Äthylalkohol etwa durch irgendwelche Versuchsfehler vorgetäuscht sind, wagen wir nicht zu entscheiden.)

Tabelle 11.

Beziehungen zwischen relativer Ätherlöslichkeit und relativer Öllöslichkeit verschiedener Verbindungen. Die Zahlen geben an, wie vielmal grösser der Verteilungskoeffizient Äther:Wasser (k_a) als der Verteilungskoeffizient Olivenöl:Wasser (k_o) bei den einzelnen Verbindungen ist.

Substanz	$\frac{k_a}{k_o}$	Substanz	$\frac{k_a}{k_o}$
Urotropin	1,2	Urethylan	5,8
Formamid	1,8	Butyramid	6,1
Dimethylharnstoff	2,0	Dicyandiamid	6,2
Antipyrin	2,3	Diäthylmalonamid	6,3
Äthylharnstoff	2,4	Succinimid	6,3
Diäthylharnstoff	2,5	Monochlorhydrin	6,7
Methylharnstoff	2,7	Methylolharnstoff	7
Acetamid	3,0	Glycerinmonomethyl- äther	7,3
Lactamid	3,1	<i>i</i> -Valeramid	7,4
Harnstoff	3,1	Urethan	8,6
Diacetin	3,1	Triäthyleitrat	8,8
Glycerinmonoäthyläther	3,5	Glycerin	9
Propionamid	3,6	Trimethylcitrat	9,1
Erythrit	4	Äthylenglykol	14
Malonamid	4	Cyanamid	24
Propylenglykol	4,2	Methylalkohol	35
Monacetin	4,3	Äthylalkohol	86
Thioharnstoff	5,3		

Regelmässige Beziehungen zwischen der Grösse des Verhältnisses $k_a : k_o$ einerseits und der chemischen Konstitution der betreffenden Verbindungen andererseits zeigen sich nur andeutungsweise, und zwar z. B. darin, dass die zehn Verbindungen, bei denen das genannte Verhältnis den kleinsten Wert hat, ausser dem Urotropin lauter Amide sind. Dies ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass das benutzte Olivenöl eine gewisse Menge — etwa 0,4 bis 0,6 Proz. — freier Fettsäure enthielt, welche ein grosses »Lösungsvermögen« gerade für derartige Verbindungen hat (vgl. weiter unten).

Recht interessant ist der in der Tabelle 12 durchgeführte Vergleich zwischen den Lösungsseigenschaften des unvermischten und des mit Ölsäure gemischten Olivenöls. Es ergeben sich nämlich hier sehr deutliche Beziehungen zwischen dem Grade der Löslichkeitsbegünstigung verschiedener Verbindungen durch den Ölsäurezusatz und der chemischen Konstitution dieser Substanzen.

Tabelle 12.

Einfluss eines Ölsäurezusatzes auf das Lösungsvermögen des Olivenöls für verschiedene Substanzen. Die Zahlen geben an, wie vielmal grösser der Verteilungskoeffizient (Olivenöl + 20 % Ölsäure):Wasser (k_s) als der Verteilungskoeffizient reines Olivenöl:Wasser (k_o) bei den einzelnen Verbindungen ist.

Substanz	$\frac{k_s}{k_o}$	Substanz	$\frac{k_s}{k_o}$
Triäthyleitrat	1,0	Thioharnstoff	3,3
Trimethyleitrat	1,1	Antipyrin	4,1
Diacetin	1,1	Lactamid	6,4
Monochlorhydrin	1,2	Formamid	6,4
Monacetin	1,3	<i>i</i> -Valeramid	7,8
Cyanamid	1,3	Propionamid	10
Glycerinmonomethyl- äther	1,5	Acetamid	11
Glycerinmonoäthyläther	1,6	Diäthylmalonamid	12
Methylalkohol	1,7	Butyramid	12
Äthylalkohol	1,7	Dimethylharnstoff	13
Propylenglykol	1,7	Malonamid	14
Erythrit	2	Dicyandiamid	19
Succinimid	2,0	Äthylharnstoff	20
Glycerin	2,1	Methylharnstoff	22
Urethylan	3,1	Diäthylharnstoff	25
Urethan	3,1	Harnstoff	35
Äthylenglykol	3,3	Methylolharnstoff	37
		Urotropin	86

Wie ersichtlich, hat der Quotient $k_s : k_o$ bei sämtlichen N-freien Verbindungen einen Wert, der nur zwischen 1,0 und 3,3 schwankt (und zwar abgesehen von einer einzigen Ausnahme sogar nur zwischen 1,0 und 2,1). Bei Verbindungen, die eine oder zwei Amidgruppen enthalten, liegt dieser Wert dagegen zwischen 3,1 und 37 (Ausnahme: Cyanamid), und zwar bei den Carbamidsäureestern bei 3,1, bei den Fettsäureamiden zwischen 6,4 und 12 und bei den Alkylharnstoffen zwischen 13 und 37. Den höchsten Wert (86) hat der in Rede stehende Quotient beim Urotropin, welches unter den von uns studierten Verbindungen die ausgeprägtesten basischen Eigenschaften hat. Es ist somit deutlich, dass gerade basische Eigenschaften (wenn auch sehr schwache wie bei den hier betrachteten Verbindungen) die Aufnahme der

betreffenden Verbindungen seitens des ölsäurehaltigen Olivenöls sehr begünstigen. Dieser Schluss ist bereits von WATZADSE (1929), allerdings auf Grund eines nicht einwandfreien Tatsachenmaterials, gezogen worden.

Die Frage, inwieweit es sich bei der Aufnahme schwach basischer Verbindungen seitens des Öl-Ölsäure-Gemisches um Löslichkeit und inwieweit um eine reversible chemische Reaktion (Salzbildung) handelt, kann hier offen gelassen werden. Im folgenden werden wir in derartigen Fällen der Einfachheit halber schlechtweg von Löslichkeit sprechen.

3. BEZIEHUNGEN ZWISCHEN LIPOIDLÖSLICHKEIT UND PERMEIERVERMÖGEN.

Die aus unserem Versuchsmaterial sich ergebenden Beziehungen zwischen relativer Ätherlöslichkeit und Permeiervermögen sind in Abb. 9 graphisch dargestellt und ebenso die Beziehungen zwischen relativer Öllöslichkeit und Permeiervermögen in Abb. 10. In beiden Darstellungen geben die Ordinaten die auf die Flächeneinheit bezogenen Permeationskonstanten (P) an, während als Abszissen die Verteilungskoeffizienten Äthyläther :Wasser (k_a in Abb. 9) bzw. Olivenöl :Wasser (k_o in Abb. 10) benutzt werden. Der Übersichtlichkeit wegen wurde in beiden Darstellungen ein logarithmisches Netz verwendet. Auch wurden der Deutlichkeit halber in beiden Abbildungen zwei schräge parallele Linien so gezogen, dass die Mehrzahl der Punkte zwischen ihnen zu liegen kommt. Um gleichzeitig auch Schlüsse hinsichtlich der Bedeutung der Molekulargröße für die Permeation zu ermöglichen, sind die Verbindungen auf Grund ihrer Molrefraktion (MR_D) in vier Klassen eingeteilt, die durch verschiedene Zeichen charakterisiert sind. Die Molrefraktionen sind auf Grund der entsprechenden Atomrefraktionen berechnet. (Vgl. BÄRLUND 1929 S. 92.) Bei Verbindungen, deren Permeiervermögen oder relative Löslichkeit nur durch einen Grenzwert gekennzeichnet werden konnte, gibt ein Pfeil an, in welcher Richtung der betreffende Punkt event. zu verschieben ist.

Man sieht sofort, dass das Permeiervermögen im grossen und ganzen mit wachsender relativer Äther- bzw. Öllöslichkeit zunimmt. Man bemerkt auch, dass die Korrelation zwischen Permeiervermögen und Öllöslichkeit etwas regelmässiger als die zwischen Permeiervermögen und Ätherlöslichkeit ist. Zu dem regelmässigeren Eindruck der Abb. 10 trägt allerdings auch der Umstand bei, dass hier drei Verbindungen (Schleimsäurediäthylester, Arbutin und Salicin) fehlen, die in Abb. 9 verhältnismässig stark aus der Reihe herausfallen. (Die Öllöslichkeit dieser drei Verbindungen konnte wegen ihrer Kleinheit nicht bestimmt werden.)

Wir wollen Abb. 10 etwas näher betrachten. Dass auch hier eine gewisse Streuung der Punkte zu bemerken ist, kann auch vom Standpunkt der Lipoid-

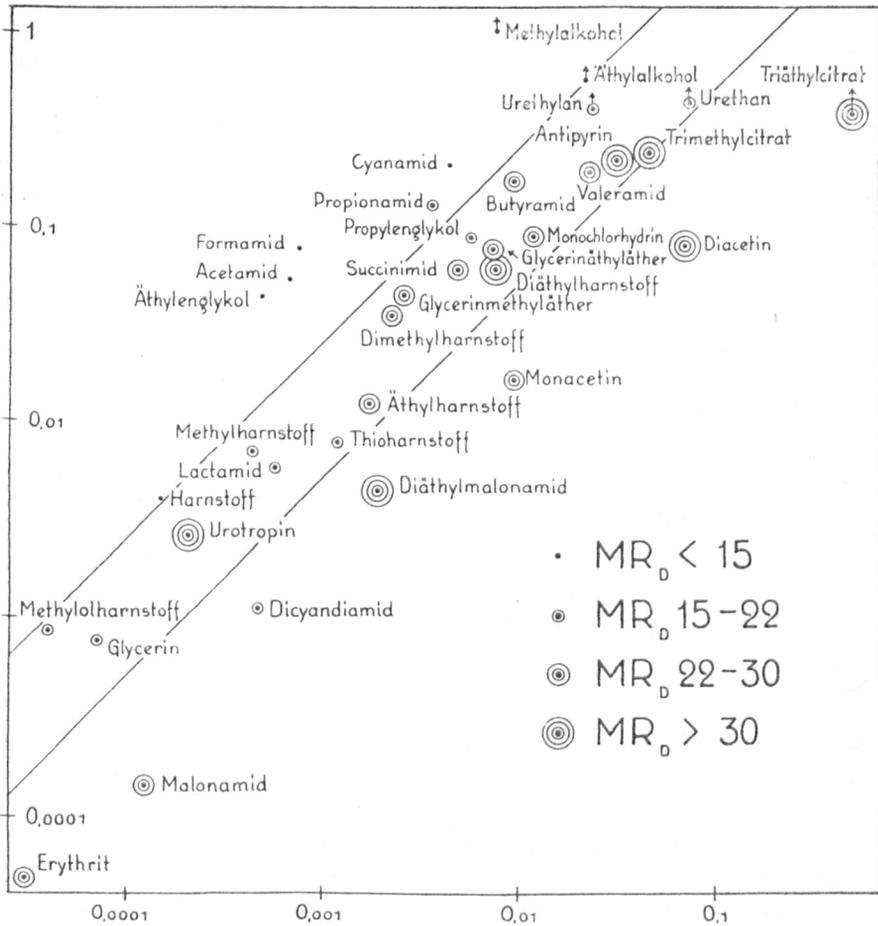


Abb. 10. Abszisse: Verteilungskoeffizient Olivenöl: Wasser. Ordinate: Permeationskonstante (P).

lichkeit und Permeiervermögen zu erwarten. Dass eine solche grundsätzliche Übereinstimmung tatsächlich vorhanden ist, geht aus Abb. 10 deutlich hervor. Dazu kommt noch, dass sich für die Mehrzahl der am meisten abweichenden Substanzen eine einigermaßen plausible Erklärung ihres abweichenden Verhaltens geben lässt: Alle Verbindungen, die oberhalb der oberen Linie liegen und die somit im Verhältnis zu ihrer Öllöslichkeit allzu schnell permeieren, haben eine recht kleine Molrefraktion. Dieselbe liegt nämlich mit einer einzigen Ausnahme unterhalb 15. Ihre schnelle Permeation lässt sich daher unter Bezugnahme auf die Ultrafilterwirkung des Plasmas (vgl. Abschnitt V C) recht gut verstehen. Unterhalb der unteren Linie liegen die Punkte für Diacetin, Monacetin, Diäthylmalonamid, Dicyandiamid, Malonamid und

Erythrit. Diese Verbindungen permeieren also langsamer, als auf Grund ihrer Öllöslichkeit zu erwarten wäre. Im Falle der beiden erstgenannten Verbindungen beruht die Abweichung vielleicht darauf, dass die betreffenden Präparate vermutlich nicht rein waren, da reines Monacetin und Diacetin überhaupt sehr schwer herzustellen sind. Es lässt sich nämlich denken, dass ein in geringer Menge anwesender stark lipoidlöslicher Bestandteil für die grosse Öllöslichkeit des Präparats verantwortlich ist, während die Permeationsgeschwindigkeit in erster Linie durch den weniger öllöslichen Hauptbestandteil des Präparats bestimmt wird. (Auch gegenüber den *Rhoo*-Zellen zeigten Monacetin und Diacetin ein im Verhältnis zu ihrer Ätherlöslichkeit abnorm geringes Permeiervermögen. Vgl. BÄRLUND l. c. S. 105.) Malonamid und Erythrit wiederum permeieren so langsam und sind so wenig öllöslich, dass die Bestimmung sowohl des Permeiervermögens wie der Öllöslichkeit verhältnismässig ungenau ausfallen musste. Vielleicht ist also das abweichende Ergebnis bei diesen zwei Verbindungen Versuchsfehlern zuzuschreiben. Es bleiben dann noch übrig Diäthylmalonamid und Dicyandiamid. Bei Betrachtung der Abb. 9 kommen dazu noch Schleimsäurediäthylester, Arbutin und Salicin, die im Verhältnis zu ihrer Ätherlöslichkeit viel zu langsam permeieren. Eine auch nur halbwegs sichere Erklärung für das abweichende Verhalten dieser Verbindungen können wir nicht geben. Doch möchten wir nicht versäumen, auf drei Punkte hinzuweisen, die womöglich in dieser Hinsicht von Bedeutung sind: — 1. Diäthylmalonamid und Schleimsäurediäthylester gehören unter den von uns untersuchten Verbindungen zu denjenigen, welche die *Chara*-Zellen am allermeisten beschädigen. Manchmal war sogar die Mehrzahl der Zellen abgestorben. Eine weitere Verkleinerung der benutzten Substanzkonzentration (0,05 GM) war aber nicht möglich, weil die Bestimmung der aufgenommenen Mengen dann allzu unsicher ausgefallen wäre. Da der Zellsaft für die Analysen jedoch nur solchen Zellen entnommen wurde, die noch Plasma-rotation (wenn auch vielleicht abgeschwächt) zeigten, glaubten wir die betreffenden Bestimmungen doch benutzen zu können. Auch das Arbutin wirkt bereits in kleinen Konzentrationen leicht schädigend auf Pflanzenzellen. (Vgl. BÄRLUND l. c. S. 29 u. 32.) — 2. Der Schleimsäurediäthylester wurde immer in Gegenwart eines Überschusses an CaCO_3 geprüft, weil die Zellen sonst leicht von der hydrolytisch abgespaltenen Säure allzu sehr beschädigt wurden. — 3. Alle hier in Rede stehenden Verbindungen mit Ausnahme des Dicyandiamids sind sehr grossmolekular, was möglicherweise zu der Langsamkeit ihrer Permeation beitragen kann (vgl. Abschnitt V C).

Ein wichtiger Umstand muss noch hervorgehoben werden. In den Abb. 9 und 10 schneiden die beiden schrägen Linien, zwischen denen die überwiegende Mehrzahl der Punkte liegt, die Ordinaten- und Abszissenachse unter einem Winkel von 45° . Hieraus geht hervor, dass das Permeiervermögen der

verschiedenen Verbindungen ihrer relativen Öl- bzw. Ätherlöslichkeit nicht nur *sympat*, sondern auch im grossen und ganzen *direkt proportional* ist. Wenn also die relative Öllöslichkeit der Verbindung A z. B. 1000-mal grösser als die der Verbindung B ist, so ist zugleich das Permeiervermögen von A etwa 1000-mal grösser als das von B — natürlich innerhalb der Fehlergrenzen, von deren Weite Abb. 10 eine Vorstellung gibt. Diese Feststellung ist, soweit wir sehen, neu. Auch hätte sie bisher kaum gemacht werden können, da wirklich quantitative Bestimmungen des Permeiervermögens nicht früher in genügendem Umfang ausgeführt worden sind und auch die Daten bezüglich der relativen Lipoidlöslichkeit bisher ja äusserst mangelhaft waren.

Wenn wir uns auf den Standpunkt einer Löslichkeitstheorie der Plasmapermeabilität stellen, so bedeutet die gefundene Proportionalität zwischen relativer Öllöslichkeit und Permeiervermögen, dass das in den osmotisch massgebenden Zellgrenzschichten vorhandene Lösungsmittel, welches durch seine auswählende Löslichkeit die selektive Permeabilität bedingt, nicht nur qualitativ, sondern auch quantitativ ähnliche Lösungsseigenschaften wie das als Modell benutzte Olivenöl besitzt. Und zwar muss wohl vor allem eine gewisse Übereinstimmung hinsichtlich der Polarität zwischen dem Olivenöl und dem hypothetischen Lösungsmittel in der Plasmahaut angenommen werden. Denn je geringer der Polaritätsunterschied zweier Phasen, zwischen denen gelöste Stoffe sich verteilen, ist, um so näher liegen im allgemeinen die Verteilungskoeffizienten der verschiedenen Substanzen zueinander, je grösser dagegen der Polaritätsunterschied der beiden Phasen ist, um so weiter gehen die Verteilungskoeffizienten auseinander. Wenn nun die Verteilungskoeffizienten zahlreicher Substanzen zwischen Olivenöl und Wasser ungefähr gleich gross wie zwischen der hypothetischen Substanz der Plasmahaut und Wasser sind, so zeigt dies also, dass die beiden miteinander verglichenen Phasen (das Olivenöl und die unbekannte Substanz) ungefähr denselben Polaritätsunterschied dem Wasser gegenüber besitzen. Allerdings darf der Grad der Genauigkeit dieser Feststellung nicht überschätzt werden. Die beiden schrägen Grenzlinien in Abb. 10 hätten auch etwas vertikaler oder umgekehrt etwas horizontaler gezogen werden können, ohne dass sehr viel mehr Punkte ausserhalb der Grenzen zu liegen kämen. Auch der Umstand, dass die Verteilungskoeffizienten Olivenöl : Wasser den Verteilungskoeffizienten Äther : Wasser so weitgehend proportional sind, trotzdem die Polarität des Äthers im Vergleich mit derjenigen des Olivenöls deutlich grösser sein dürfte, zeigt ja, dass es sich hier nur um eine annähernde Schätzung der Polarität des hypothetischen Lösungsmittels der Plasmahaut handeln kann.

Trotzdem scheint uns die erstmalige Feststellung einer annähernden Proportionalität zwischen relativer Öllöslichkeit und Permeiervermögen interessant. Wir sehen darin einen neuen Wahrscheinlichkeitsbeweis für die Lipoid-

löslichkeitshypothese der Plasmapermeabilität, denn wenn es sich etwa um Adsorption an Lipide handeln würde, wäre wohl eine derartige quantitative Beziehung kaum zu erwarten.

C. Die Ultrafilterhypothese.

Welche Bedeutung für das Permeiervermögen der einzelnen Verbindungen hat ihre Teilchengröße in den benutzten Lösungen? Oder mit anderen Worten: Inwieweit ist die selektive Durchlässigkeit des Plasmas auf eine Ultrafilterwirkung zurückzuführen?

Nach der Meinung GICKLHORNS (1931) wäre eine Diskussion der obigen Fragen in unserem Falle zwecklos, da wir über keine »ad hoc« ausgeführten Bestimmungen der Teilchengröße der verschiedenen Substanzen in den von uns benutzten Lösungen verfügen. Ein so weitgehender Skeptizismus scheint uns jedoch etwas übertrieben. Das entweder nach KOPP oder aus der Molrefraktion berechnete Molekularvolumen entspricht zweifellos *nicht exakt* der tatsächlichen Teilchengröße der Substanz in wässrigen Lösungen. Z. B. bei manchen Farbstoffen dürften sogar recht weitgehende Schwankungen des Dispersitätsgrades möglich sein. Andererseits liegt aber bereits ein zwar noch sehr lückenhaftes, aber immerhin recht umfassendes Tatsachenmaterial sowohl über die freie Diffusion wie über die Diffusion durch poröse Membranen verschiedener Art vor, und aus diesem Material ersieht man, dass die theoretisch berechneten Molekularvolumina gewöhnlicher nichtkolloidaler Substanzen in wässriger Lösung *im grossen und ganzen* mit den hydrodynamisch wirksamen Teilchengrößen übereinstimmen. (Vgl. auch RUHLAND, ULLRICH und YAMAHA 1932 S. 340 ff.) Nur eine solche annähernde Gültigkeit der aus der Molrefraktion berechneten Teilchengröße setzen wir im Folgenden voraus.¹⁾ Das genügt aber schon, um wenigstens einige Schlüsse

¹⁾ Die Befunde von SÜLLMANN (1931) können es zunächst zweifelhaft erscheinen lassen, ob auch nur eine derartige angenäherte Übereinstimmung zwischen Molrefraktion und Teilchengröße gelöster Stoffe besteht. So z. B. gibt er an, dass das Glycerin bei manchen Konzentrationen einen kleineren Diffusionskoeffizienten als die Saccharose hat, was ja zur Molrefraktion dieser beiden Verbindungen gar nicht passt. Hierzu ist aber zu bemerken, dass der erwähnte Befund von SÜLLMANN im Widerspruch mit allen älteren diesbezüglichen Diffusionsmessungen, soweit sie etwa in den *International Critical Tables* zusammengestellt sind, steht. Auch durch Molekülsiebmembranen dringt das Glycerin nach den bisherigen Erfahrungen (COLLANDER 1924, FUJITA 1926) viel leichter als die Saccharose. Unter solchen Umständen ist es wohl wahrscheinlich, dass in der Methodik von SÜLLMANN irgendeine Fehlerquelle steckt, welche die mit ihrer Hilfe erhaltenen Ergebnisse unzuverlässig macht.

hinsichtlich der eventuellen Ultrafilterwirkung der *Chara*-Protoplasten ziehen zu können.

Erstens scheinen uns die an den *Chara*-Zellen erhobenen Befunde so ziemlich klar zu zeigen, dass die Teilchengröße der einzelnen Verbindungen jedenfalls nicht der *Hauptfaktor* sein kann, der in erster Linie über ihr Permeiervermögen entscheidet. Haben wir doch z. B. festgestellt, dass das Permeiervermögen des Trimethylcitrats rund 50-mal grösser als dasjenige des Harnstoffs ist. Dies gilt auch, wenn beide Verbindungen gleichzeitig aus derselben Lösung in dieselben Zellen eindringen (vgl. Abschnitt III E). Es kann sich also nicht etwa darum handeln, dass die Plasmapermeabilität durch Trimethylcitrat temporär erhöht oder durch Harnstoff erniedrigt wird, sondern die Zellen sind unzweifelhaft gleichzeitig sehr leicht permeabel für Trimethylcitrat (Formelgewicht 234, KOPPSches Molekularvolumen 244, MR_D 50,3) und sehr schwer permeabel für Harnstoff (Formelgewicht 60, Molekularvolumen 59, MR_D 13,7). Wenn wir die Annahme machen wollten, dass das Permeiervermögen dieser Verbindungen in erster Linie von ihrer Teilchengröße abhänge, wären wir also gezwungen anzunehmen, dass die Teilchengröße des Trimethylcitrats in den benutzten Lösungen *erheblich kleiner* als die des Harnstoffs gewesen wäre. Eine solche Annahme muss entschieden als höchst unwahrscheinlich bezeichnet werden. Und so muss man, bis das Gegenteil erwiesen ist, annehmen, dass irgendein anderer Faktor als die Teilchengröße für das sehr differente Permeiervermögen der beiden betrachteten Verbindungen entscheidend ist. Ähnlich steht es in zahlreichen anderen Fällen, die hier nicht einzeln aufgezählt zu werden brauchen. Die Teilchengröße kann somit nicht der für das Permeiervermögen der untersuchten Nichtelektrolyte in erster Linie ausschlaggebende Hauptfaktor sein, soweit die nach KOPP berechneten Molekularvolumina oder die Molrefraktionen eine *auch nur in erster Annäherung* richtige Vorstellung von der tatsächlichen Teilchengröße der betreffenden Verbindungen in den benutzten Lösungen geben.

Andererseits gibt es doch auch Befunde, die entschieden dafür sprechen, dass die Teilchengröße der permeierenden Stoffe nicht ganz ohne Bedeutung für ihr Permeiervermögen hinsichtlich der *Chara*-Zellen ist. Betrachten wir nämlich Abb. 10, so finden wir, dass unter den acht Verbindungen, die oberhalb der oberen schrägen Grenzlinie liegen und die somit wesentlich leichter permeieren, als auf Grund ihrer Öllöslichkeit zu erwarten wäre, sieben ein MR_D unterhalb 15 besitzen. Andere Verbindungen als jene sieben, die eine ähnlich kleine Molrefraktion hätten, gibt es unter den von uns studierten gelösten Substanzen überhaupt nicht. Ausserdem haben wir in diesem Zusammenhang noch des Wassers zu gedenken, dessen Molrefraktion gleichfalls weit unter 15 liegt, das aber in der graphischen Darstellung nicht mit aufgenommen werden konnte, da seine relative Öllöslichkeit nicht quantitativ be-

stimmt werden kann. Dass aber das Wasser ausserordentlich viel leichter in die *Chara*-Zellen permeiert, als seiner offenbar recht geringen Lipoidlöslichkeit entspricht, ist unzweifelhaft.

Alle diese Tatsachen sprechen zugunsten der Vorstellung, wonach eine gewisse Ultrafilterwirkung an der selektiven Permeabilität der *Chara*-Zellen beteiligt ist. Und zwar insofern, als Verbindungen, deren Molrefraktion unterhalb etwa 15 (—18?) liegt und deren Molekülradius somit höchstens etwa $0,4 \mu\mu$ beträgt, wesentlich leichter permeieren als in gleichem Masse öllösliche Verbindungen, deren Molekülgrösse jene Grenze überschreitet. Besonders beweiskräftig erscheint uns in dieser Hinsicht die Tatsache, dass auch innerhalb homologer Reihen, wo im allgemeinen das Permeiervermögen mit zunehmender Molekülgrösse wächst, gerade das erste Glied der Reihe bisweilen leichter als das nächstfolgende permeiert. Ein klares Beispiel hierfür bietet das Permeiervermögen des Formamids, verglichen mit demjenigen des Acetamids. Dieses Argument ist um so einwandfreier, da festgestellt werden konnte, dass der genannte Unterschied hinsichtlich des Permeiervermögens auch dann bestehen bleibt, wenn die beiden Amide in einer *Mischlösung* dargeboten werden. (Vgl. Abschnitt III E.) Das schnellere Eindringen des Formamids kann also nicht darauf zurückgeführt werden, dass gewisse schädliche Verunreinigungen, die sich schwer vollständig entfernen lassen, die Zellpermeabilität abnorm vergrössern.

Welchen Einfluss auf das Permeiervermögen hat ein Variieren der Teilchengrösse oberhalb jener kritischen Grenze ($MR_D = 15$)? Um diese Frage zu beantworten, haben wir Abb. 10 zu betrachten, indem wir prüfen, ob Verbindungen, deren relative Öllöslichkeit etwa gleich gross ist, nach der Molekülgrösse geordnet auftreten, so dass die kleineren Moleküle am höchsten und die grössten am niedrigsten liegen. (Von den kleinsten Molekülen, deren MR_D unterhalb 15 liegt und deren grösseres Permeiervermögen oben bereits festgestellt wurde, sehen wir hier ab.) Eine solche Prüfung ergibt, dass ein Unterschied hinsichtlich des Permeiervermögens im angedeuteten Sinne zwischen mittelgrossen und grossen Molekülen vielleicht andeutungsweise vorhanden ist, immerhin bei weitem nicht so ausgeprägt zu Tage tritt wie derjenige zwischen mittelgrossen und kleinsten Molekülen. Vom Standpunkt der kombinierten Lipoidlöslichkeits-Ultrafiltertheorie («Lipoidfilterhypothese») erscheint ein solches Ergebnis gut verständlich. Dass zwischen dem Permeiervermögen mittelgrosser und grosser Moleküle kein grosser Unterschied zu erwarten ist, versteht man nämlich, wenn man bedenkt, dass, sobald die Teilchengrösse den effektiven Porendurchmesser überschreitet, die »intermizellare« Permeation (GUREWITSCH) nicht mehr möglich ist. Der betreffende Stoff kann alsdann nur noch »mizellar« permeieren. Dass aber andererseits doch ein gewisser Unterschied hinsichtlich des Permeiervermögens mittelgrosser und grosser

Moleküle zu spüren ist, findet seine Erklärung erstens darin, dass nicht alle »Poren« der Plasmahaut genau dieselbe Weite haben müssen, was zur Folge hat, dass die Permeation auf dem Wasserwege nicht bei einer ganz bestimmten Teilchengrösse plötzlich aufhört, sondern mit wachsender Teilchengrösse nur allmählich abnimmt, wie es ja auch bei künstlichen Molekülfiltern der Fall ist (vgl. z. B. COLLANDER 1926). Ein zweiter Umstand, der gleichfalls bewirkt, dass die grössten Teilchen etwas langsamer permeieren müssen, ist der, dass ja der Diffusionskoeffizient (auch von jeder Ultrafilterwirkung abgesehen) mit wachsender Teilchengrösse regelmässig abnimmt.

D. Zusammenfassendes über die Theorie der Zelldurchlässigkeit bei *Chara*.

Aus der empirischen Feststellung, dass das Permeiervermögen der geprüften Verbindungen mit wenigen Ausnahmen ihrem Verteilungskoeffizienten Olivenöl : Wasser annähernd proportional ist, haben wir geschlossen, dass die Permeation dieser Verbindungen in die *Chara*-Zellen wahrscheinlich durch eine lipoidähnliche Phase hindurch geschieht, deren Lösungseigenschaften (im weitesten Sinne des Wortes) im grossen und ganzen mit denjenigen des Olivenöls übereinstimmen.

Die häufig erwogene Möglichkeit, die Lipoidlöslichkeitshypothese durch eine Hypothese zu ersetzen, welche das Schwergewicht auf die (positive oder negative) Adsorption der permeierenden Substanzen seitens der Plasmabestandteile legt, scheint uns aus Gründen, die wir im Abschnitt V A dargelegt haben und hier nicht wiederholen wollen, kaum in Frage zu kommen.

Dagegen scheinen die experimentellen Befunde darauf hinzudeuten, dass die massgebenden Zellgrenzschichten auch eine Ultrafilterwirkung ausüben, so dass Substanzen, deren Teilchengrösse genügend klein ist, ausser auf dem Wege durch die Lipide hindurch (»mizellar«) auch zwischen den Lipoidteilchen (»intermizellar«) permeieren können. In nennenswertem Grade scheint dies aber nur mit Substanzen zu geschehen, deren Molrefraktion (MR_D) unterhalb etwa 15 liegt. Hiernach zu urteilen, beträgt der effektive Porendurchmesser der Plasmahaut der *Chara*-Zellen etwa $0,4 \mu\mu$.

Wir glauben somit die Permeabilität der *Chara*-Zellen im wesentlichen in derselben Weise erklären zu können wie vorher die Plasmapermeabilität einiger anderen Objekte (COLLANDER 1925, POIJÄRVI 1928, BÄRLUND 1929), d. h. durch eine Kombination der Lipoid- und der Ultrafilterhypothese.

Obige Schlüsse gründen sich auf Versuche mit Nichtelektrolyten allein. Eine weitere Einschränkung liegt darin, dass keine Kolloide und auch fast keine Verbindungen, deren Verteilungskoeffizient Olivenöl : Wasser grösser als 0,1 ist, untersucht worden sind. (Öllöslichere Substanzen sind nämlich

allzu giftig, um in der von uns benutzten Weise auf ihr Permeiervermögen hin geprüft zu werden.) Dass weitere Untersuchungen unter Benutzung andersartiger Stoffe das bisherige Bild der Permeabilitätseigenschaften von *Chara* ergänzen und vielleicht auch modifizieren können, liegt auf der Hand.

VI. Vergleich mit anderen Zellen.

Die *vergleichende* Permeabilitätsforschung ist in jüngster Zeit besonders dank den Anregungen HÖFLERS (HÖFLER und STIEGLER 1930, HUBER und HÖFLER 1930, HÖFLER 1932) und JACOBS' (1931a) aktuell geworden. Hier wollen wir uns allerdings in dieser Hinsicht Beschränkungen auferlegen und begnügen uns im wesentlichen damit, die Permeabilitätseigenschaften der *Chara*-Zellen mit denjenigen einer einzigen anderen Zellart etwas eingehender zu vergleichen. Dabei liegt es nahe, die von uns früher studierten Epidermiszellen von *Rhoeo discolor* zum Hauptvergleichsobjekt zu wählen, nicht nur weil wir die Permeabilität gerade dieser Zellen aus eigener Anschauung kennen, sondern auch weil mit wenigen Ausnahmen dieselben Verbindungen in ihrem Verhalten gegenüber *Rhoeo* sowohl wie *Chara* untersucht worden sind. Da die mit *Rhoeo* ausgeführten Permeabilitätsbestimmungen nur zum kleinsten Teil streng quantitativ waren, kann hauptsächlich nur die *Reihenfolge* der Permeierfähigkeiten der geprüften Substanzen verglichen werden.

Ein solcher Vergleich hinsichtlich sämtlicher an beiden Objekten geprüfter Verbindungen ist in der Tabelle 13 durchgeführt. Die auf *Rhoeo* bezügliche Reihenfolge ist hier aus der Arbeit von BÄRLUND (1929 S. 87) übernommen, nur mit dem Unterschied, dass einige Verbindungen, deren Permeiervermögen hinsichtlich der *Rhoeo*-Zellen später in derselben Weise wie in der Untersuchung von BÄRLUND bestimmt worden ist, hinzugekommen sind. Wo es nicht möglich erscheint, sicher zu entscheiden, welche von zwei oder mehreren Verbindungen ein grösseres Permeiervermögen hat, sind die Namen dieser Verbindungen durch geschwungene Klammern miteinander vereinigt.

Wie ersichtlich, ist die Übereinstimmung hinsichtlich der Permeabilitätseigenschaften zwischen *Rhoeo* und *Chara* beinahe überraschend gross — überraschend vor allem, wenn man bedenkt, wie gänzlich verschiedenartig die beiden miteinander verglichenen Objekte sind: auf der einen Seite (*Rhoeo*) mikroskopisch kleine, chlorophyllfreie, anthocyanreiche Zellen einer physiologisch-anatomisch hochdifferenzierten, terrestrisch lebenden Blütenpflanze, auf der anderen Seite (*Chara*) makroskopisch grosse, chlorophyllreiche, anthocyanfreie Coenocyten eines anatomisch wenig differenzierten, submers lebenden Thalloyphyten. Wir haben somit hier eine neue Illustration zu dem von OVERTON ausgesprochenen Satz, dass sonst sehr verschiedenartige Zellen oft

Tabelle 13.

Reihenfolge der Permeierfähigkeiten verschiedener Nichtelektrolyte in bezug auf *Rhoeo*- und *Chara*-Zellen.

	<i>Rhoeo</i>	<i>Chara</i>		<i>Rhoeo</i>	<i>Chara</i>
1	Wasser	Wasser	22	Dimethylharnstoff	Dimethylharnstoff
2	Triäthylcitrat	Methylalkohol	23	Monacetin	Monacetin
3	Methylalkohol	Äthylalkohol	24	Glycerin	Thioharnstoff
4	Äthylalkohol	Urethan	25	Methylharnstoff	Methylharnstoff
5	Urethan	Urethylan	26	Thioharnstoff	Lactamid
6	Urethylan	Triäthylcitrat	27	Lactamid	Harnstoff
7	Antipyrin	Trimethylcitrat	28	Harnstoff	Urotropin
8	Trimethylcitrat	Antipyrin	29	Dicyandiamid	Dicyandiamid
9	<i>i</i> -Valeramid	<i>i</i> -Valeramid	30	Urotropin ¹⁾	Glycerin
10	Butyramid	Butyramid	31	Erythrit	Malonamid
11	Propylenglykol ¹⁾	Propionamid	32	Arabinose	Erythrit
12	Äthylenglykol	Monochlorhydrin	33	Methylglucosid	Arabinose
13	Propionamid	Propylenglykol	34	Glucose	Methylglucosid
14	Formamid	Diacetin	35	Maltose	Arbutin
15	Monochlorhydrin	Glycerinäthyläther	36	Malonamid	Mannit
16	Diacetin	Formamid	37	Arbutin	Glucose
17	Glycerinäthyläther	(Succinimid	38	Mannit	Lactose
18	Acetamid	Diäthylharnstoff	39	Lactose	Saccharose
19	Succinimid	Acetamid	40	Salicin	Maltose
20	Glycerinmethylether ¹⁾	(Glycerinmethylether	41	Saccharose	Salicin
21	Diäthylharnstoff	Äthylenglykol			

hinsichtlich ihrer Permeabilitätseigenschaften eine nahe Übereinstimmung zeigen. Beachtenswert ist auch der Umstand, dass die Permeabilität der beiden Objekte unter Anwendung ganz verschiedenartiger Methoden studiert wurde: im Falle der *Rhoeo*-Zellen auf plasmolytischem Wege, im Falle der *Chara*-Zellen durch direkte mikrochemische Analyse des aus den Zellen isolierten Zellsaftes. Wir können nicht umhin, in der trotzdem erreichten Übereinstimmung einen kräftigen Wahrscheinlichkeitsbeweis für die Anwendbar-

¹⁾ Nach unveröffentlichten Versuchen von Fräulein mag. phil. HELVI VEIJOLA.

keit und Zuverlässigkeit der von manchen Seiten stark angezweifelten plasmolytischen Methode der Permeabilitätsmessung zu sehen.

Andererseits bemerkt man jedoch auch bei einem Vergleich der Permeabilitätsreihen von *Chara* und *Rhoeo* Unterschiede, die nicht gut auf Versuchsfehler zurückgeführt werden können, sondern offenbar realer Natur sind. Und zwar liegt der grösste Unterschied zwischen den beiden Objekten darin, dass bei *Chara* die Amide und das noch stärker basische Urotropin im Verhältnis zu den nicht-basischen Verbindungen relativ schneller als bei *Rhoeo* permeieren. So permeiert bei *Chara* Malonamid 4- bis 5-mal so leicht wie Arabinose und etwa 3-mal leichter als Erythrit; *Rhoeo* ist dagegen entschieden permeabler für Erythrit als für Malonamid und wahrscheinlich etwas permeabler für Arabinose als für Malonamid. Weiter ist *Chara* etwa 10-mal permeabler für Thioharnstoff und Methylharnstoff, etwa 8-mal permeabler für Lactamid, etwa 5-mal permeabler für Harnstoff, etwa 3-mal permeabler für Urotropin und etwa 1,5-mal permeabler für Dicyandiamid als für Glycerin, wogegen *Rhoeo* entschieden weniger permeabel für alle jene Substanzen als für Glycerin ist. Schliesslich ist *Chara* etwa 3-mal permeabler für Propionamid, etwa 1,8-mal permeabler für Formamid und etwa 1,4-mal permeabler für Diäthylharnstoff als für Äthylenglykol sowie wenigstens ebenso permeabel für Acetamid wie für Äthylenglykol, während bei *Rhoeo* Diäthylharnstoff und Acetamid beträchtlich schwieriger, Formamid und Propionamid etwas schwieriger als Äthylenglykol permeieren.

Ein ähnlicher Permeabilitätsunterschied wie der hier zwischen *Rhoeo* und *Chara* konstatierte ist bereits mehrfach zwischen anderen Objekten festgestellt worden, so 1. von MARKLUND (vgl. COLLANDER und BÄRLUND 1926 S. 12) zwischen *Rhoeo* einerseits und *Oedogonium*, *Elodea* u. a. Pflanzenzellen andererseits, 2. von WILBRANDT (1931) zwischen *Rhoeo* einerseits und den Epidermiszellen von *Basella* und *Begonia* andererseits, 3. von HÖFLER (1932) zwischen *Rhoeo* und den subepidermalen Zellen von *Majanthemum* und 4. von JACOBS (1931) zwischen den Erythrocyten der Fische einerseits und denjenigen der Säugetiere andererseits.

Diese Permeabilitätsunterschiede können nicht auf Verschiedenheiten hinsichtlich der Porenweite oder Porendichte der betreffenden Zellgrenzschichten zurückgeführt werden. Sie sind überhaupt schwer zu erklären, solange man an einer identischen Zusammensetzung der Plasmahautlipide der untereinander verglichenen Objekte festhält. Dagegen erscheint uns die von der HÖBERSCHEN Schule gegebene Deutung derartiger Permeabilitätsunterschiede sehr plausibel. HÖBER (vgl. WATZADSE 1929, HÖBER 1930, HÖBER und PUPILLI 1931, WILBRANDT 1931) nimmt nämlich an, dass es sich um Unterschiede hinsichtlich der chemischen Zusammensetzung der Plasmahautlipide verschiedener Zellen handelt, indem die Lipide (oder Lipoidgemische)

einiger Zellen ein spezifisch grösseres Lösungsvermögen (im weitesten Sinne des Wortes) für schwach basische Substanzen besitzen, während diese Eigenschaft bei den Lipoiden anderer Zellen zurücktritt. Mit dieser Hypothese stehen unsere Befunde in guter Übereinstimmung. Haben wir doch festgestellt, dass ein Ölsäurezusatz das Aufnahmevermögen des Olivenöls gerade für diejenige Substanzen am meisten steigert, welche durch das *Chara*-Plasma relativ leichter als durch das *Rhoeo*-Plasma permeieren. Die Plasmahautlipoide der *Chara*-Zellen hätten demnach einen saureren Charakter als diejenigen der *Rhoeo*-Zellen.

Die Frage nach der Ursache einiger kleineren Unterschiede hinsichtlich der Permeabilitätsreihen von *Rhoeo* und *Chara* bleibt dagegen vorläufig noch offen.

Bisher haben wir allein die Reihenfolge der Permeierfähigkeiten verschiedener Substanzen gegenüber *Rhoeo* und *Chara* betrachtet. Jetzt sei auch die quantitative Seite des Problems ganz kurz berührt. Wenn die Halbsättigungszeit z. B. in bezug auf Glycerin bei den *Chara*-Zellen 28 Stunden, bei den *Rhoeo*-Zellen dagegen nur etwa 3 Stunden beträgt, so besagt dies noch nicht, wie man zunächst meinen könnte, dass das *Rhoeo*-Plasma permeabler als das *Chara*-Plasma für Glycerin sei. Die relative Oberflächenentwicklung oder spezifische Oberfläche der Protoplasten ist nämlich bei *Rhoeo* etwa 20-mal grösser als bei *Chara*, und die pro Flächeneinheit berechnete Glycerinpermeabilität ist somit bei beiden Objekten von derselben Grössenordnung, eher sogar bei *Chara* etwas grösser als bei *Rhoeo*. Die pro Flächeneinheit berechnete Permeabilität z. B. für Harnstoff und Methylharnstoff ist bei *Chara* sogar etwa 40- bis 50-mal grösser als bei *Rhoeo*. Vielleicht steht das in Zusammenhang mit dem von uns angenommenen grösseren Lösungsvermögen der Plasmahautlipoide der *Chara*-Zellen für Amide.

In diesem Zusammenhang sei es uns gestattet, auf einen Einwand einzugehen, den SCHÖNFELDER (1930) gegen unsere Deutung der Permeabilitätseigenschaften von *Rhoeo* erhebt. Sie schreibt: »Auch kann ich mich der Ansicht BÄRLUNDS, dass die Molekülgrösse nur bei extrem kleinmolekularen Stoffen eine Rolle spiele, nicht anschliessen. Da bei den ätherunlöslichen Stoffen die Grenze der Durchtrittsfähigkeit erst mit der Saccharose erreicht ist, das Permeiervermögen der übrigen aber ungefähr ihrer Molekülgrösse entspricht, und da es obendrein weder FLEISCHMANN noch WATZADSE trotz aller erdenklichen Versuche gelungen ist, den Durchtrittsmechanismus der ätherunlöslichen Stoffe mit Hilfe der Lipoid- oder Adsorptionstheorie zu erklären, so bleibt für diese allein der Porenweg übrig.« (l. c. S. 495.) Als Beleg für die Richtigkeit ihrer Ansicht weist SCHÖNFELDER dann auf eine graphische Darstellung (l. c. Abb. 6) hin, aus der hervorgeht, dass das Permeiervermögen derjenigen in ihrem Verhalten gegenüber *Rhoeo* geprüften Verbindungen, deren Verteilungskoeffizient Äther : Wasser kleiner als 0,01 ist, im grossen und ganzen mit wachsender Molekülgrösse abnimmt.

Zunächst eine Bemerkung zu dem von SCHÖNFELDER in dem eben zitierten Abschnitt und auch sonst gebrauchten Ausdruck »ätherunlösliche Stoffe«. Dieser Ausdruck scheint uns in diesem Zusammenhang durchaus irreführend. Wenn wir uns nämlich — versuchsweise — auf den Standpunkt der Lipoidtheorie oder der Lipoidfiltertheorie stellen, so finden wir, dass bereits sogar die etwa für Arabinose oder Methylglucosid bestimmten sehr geringen Ätherlöslichkeiten genügen würden, um die an den *Rhoeo*-Zellen beobachtete äusserst langsame Permeation dieser Verbindungen auf dem Lipoidwege zu erklären. (Vgl. die entsprechenden Berechnungen für *Chara* im Abschnitt VII.) Wir können uns somit auch nicht der Ansicht SCHÖNFELDERS anschliessen, wonach es »trotz aller erdenklichen Versuche« nicht gelungen sei, den Durchtrittsmechanismus der in Rede stehenden Stoffe mit Hilfe der Lipoidtheorie zu erklären. (Die Frage, ob bei besonders schnellen Zuckertransporten, wie z. B. bei der Entleerung von Reservestoffbehältern, auch andere Mechanismen mitwirken, möchten wir allerdings noch offen lassen.)

Wie kommt es aber, dass in der graphischen Darstellung SCHÖNFELDERS (l. c. Abb. 6) eine so deutliche Antibasis zwischen Molekülgrösse und Permeiervermögen zu Tage tritt? Die Antwort hierauf ist sehr einfach: Bei den in Rede stehenden Substanzen (die ja nur etwa die Hälfte sämtlicher von BÄRLUND geprüften Verbindungen ausmachen) nimmt unglücklicherweise die Molekülgrösse im allgemeinen mit abnehmender relativer Ätherlöslichkeit zu. Wenn SCHÖNFELDER diese Verbindungen nach wachsender Molekülgrösse ordnet, werden sie also gleichzeitig im grossen und ganzen nach abnehmender Ätherlöslichkeit geordnet, und dann ist es ja auch vom Standpunkt der Lipoidtheorie nicht verwunderlich, dass in dieser Reihe das Permeiervermögen abnimmt.

Es scheint uns also, dass eine objektive Betrachtung des bisher vorliegenden Tatsachenmaterials nichts erkennen lässt, was zu der Auffassung zwingt, dass grosse Moleküle merklich langsamer als mittelgrosse Moleküle von gleicher relativer Ätherlöslichkeit durch die Protoplasten von *Rhoeo* permeieren. Aus theoretischen Gründen kommt uns eine derartige Beziehung zwischen Molekülgrösse und Permeiervermögen allerdings gut denkbar vor. (Vgl. das auf S. 98 f. betreffs *Chara* Gesagte.) Endgültig kann diese Frage wohl nur durch Versuche mit Substanzen gelöst werden, bei denen die in der bisher geprüften Stoffauswahl herrschende Antibasis zwischen Molekülgrösse und relativer Ätherlöslichkeit nicht vorhanden ist.

Andere Objekte, über deren Permeabilität für eine grössere Zahl verschiedenartiger Nichtelektrolyte mehr oder weniger eingehende Angaben vorliegen, sind: die Muskeln des Frosches (OVERTON 1902), die Schwefelbakterie *Beggiatoa mirabilis* (RUHLAND und C. HOFFMANN 1925, SCHÖNFELDER 1930), die Erythrocyten des Rindes (MOND und FR. HOFFMANN 1928) sowie zahlreicher anderer Tiere (JACOBS 1931 a u. b)¹⁾, die Knorpelzellen des Frosches (MOND und

¹⁾ *Korrekturzusatz:* Vgl. auch die nach dem Abschluss unseres Manuskriptes erschienene Arbeit von HÖBER und ØRSKOV: Untersuchungen über die Permeiergeschwindigkeit von Anelektrolyten bei den roten Blutkörperchen verschiedener Tierarten (Pflügers Arch. 231, 599—615, 1933).

FR. HOFFMANN 1929), die Eier des Seeigels *Arbacia* (STEWART 1931, JACOBS und STEWART 1932), die Epidermiszellen von *Begonia Credneri* und von *Basella rubra* (WILBRANDT 1931), die Leber des Frosches (HÖBER 1932) sowie die subepidermalen Zellen von *Majanthemum bifolium* (HÖFLER 1932).

Ohne auf Einzelheiten hinsichtlich der Permeabilitätseigenschaften der einzelnen Objekte einzugehen, greifen wir zwei Objekte heraus, welche die Übereinstimmung mit den *Chara*-Zellen besonders schön zeigen. Es sind dies die von HÖFLER mittelst der plasmometrischen Methode untersuchten subepidermalen Zellen von *Majanthemum* und die von JACOBS und STEWART unter Benutzung eines anderen osmotischen Verfahrens studierten unbefruchteten Eier von *Arbacia*. Wenn man die sowohl von den genannten Autoren wie von uns geprüften Verbindungen nach abnehmendem Permeiervermögen ordnet, bekommt man, wie aus den Tabellen 14 und 15 ersichtlich, bei den miteinander verglichenen Objekten ganz dieselbe Reihenfolge. Auch in quantitativer Hinsicht besteht eine recht gute Übereinstimmung wenigstens zwischen *Chara* und *Arbacia*. (Die Werte für *Majanthemum* sind dagegen nicht auf die Oberflächeneinheit bezogen, so dass ein quantitativer Vergleich in diesem Falle vorläufig nicht möglich ist.) Die festgestellten Übereinstimmungen machen einen um so tieferen Eindruck, wenn man sich vergegenwärtigt, wie durchaus verschiedenartig sowohl die miteinander verglichenen Objekte als auch die benutzten Untersuchungsmethoden sind.

Tabelle 14.

Permeabilitätsreihe von Majanthemum nach HÖFLER (1932) verglichen mit derjenigen von Chara.

Substanzen	<i>Majanthemum</i>	<i>Chara</i>
	$\Delta G = \frac{M^*}{C}$	P'
Wasser	8—12	>32
Thioharnstoff	0,54 (?)	0,25
Methylharnstoff	0,45	0,22
Lactamid	0,17	0,18
Harnstoff	0,14 — 0,20	0,13
Glycerin	0,059	0,024
Malonamid	0,033	0,0046
Verschiedene Zuckerarten	0,002— 0,005	< 0,001

*) ΔG = mittlere stündl. Änderung des Plasmolysegrades, M = Stundenwert der endosmierten Substanzmenge in GM, C = Konz. der untersuchten Verbindung im Plasmolytikum.

Tabelle 15.

Quantitativer Vergleich der Permeabilität der unbefruchteten Eier von *Arbacia* (nach JACOBS und STEWART) mit derjenigen der Blattzellen von *Chara*.

S u b s t a n z	Permeationskonstante (cm Stunden ⁻¹)	
	<i>Arbacia</i>	<i>Chara</i>
Butyramid	0,22	0,17
Propionamid	0,085	0,13
Acetamid	0,035	0,053
Äthylenglykol	0,022	0,043
Glycerin	0,003 (?)	0,00074

Auch zwischen den Permeabilitätseigenschaften der übrigen oben genannten sehr heterogenen Objekte herrscht eine grundsätzliche Übereinstimmung. Die Unterschiede sind, wie es scheint, mehr gradueller als prinzipieller Natur. Sie lassen sich grossenteils verhältnismässig leicht entweder auf Unterschiede hinsichtlich der Porenweite oder aber auf Differenzen bezüglich des Lösungsvermögens der beteiligten Lipide zurückführen. Sogar die *Beggiatoa*, deren Permeabilitätseigenschaften zunächst so gänzlich eigenartig anmuteten, schliesst sich ja nach den Untersuchungen SCHÖNFELDERS dem gewöhnlichen Typus an, allerdings mit dem bemerkenswerten Unterschiede, dass die Porenweite der Zellgrenschichten bei *Beggiatoa* ganz aussergewöhnlich gross ist, was zur Folge hat, dass die Permeabilität auf dem Wasserwege bei diesem Objekt eine ganz ausnahmsweise grosse Rolle spielt.

VII. Betrachtungen über die wahrscheinliche Dicke der Plasmahaut.

Über die Dicke der Plasmahäute liegen bisher nur wenig Schätzungen vor. So z. B. haben FRICKE (1925) und MC CLENDON (1926) aus Beobachtungen über die elektrische Kapazität von roten Blutkörperchen geschlossen, dass die Plasmahaut dieser Zellen etwa 3×10^{-8} bis 3×10^{-7} cm dick sei. Die Plasmahaut bestände hiernach nur aus ganz wenigen, vielleicht aus bloss einer oder zwei Molekülschichten.

Im Folgenden soll nun untersucht werden, ob es vielleicht auf Grund der in der vorliegenden Arbeit durchgeführten quantitativen Bestimmungen des Permeiervermögens und der relativen Öllöslichkeit verschiedener Nichtelektrolyte möglich wäre, die Dicke der durchtrittshemmenden Lipoidschicht der Grössenordnung nach zu schätzen. Wir betrachten dabei die Permeation einer Substanz, deren Porenpermeation praktisch = 0 ist, und setzen voraus, dass ihre Permeiergeschwindigkeit allein von der Diffusionsgeschwindigkeit durch die

beiden Lipoidschichten (äussere Plasmahaut und Vakuolenhaut) abhängt, dass dagegen der Übergang aus den wässrigen Phasen in die Lipoidphasen und umgekehrt keine Zeit in Anspruch nimmt. Da der effektive Diffusionswiderstand unserer Voraussetzung gemäss allein in den Plasmahäuten seinen Sitz hat, können die beiden Schichten im Folgenden als eine einheitliche Schicht behandelt werden, deren Gesamtdicke d sei. Wir werden somit von »der Lipoidschicht« statt von »den Lipoidschichten« sprechen. Schliesslich nehmen wir noch an, dass der permeierende Stoff sich im Verhältnis 1 : 1 zwischen Aussenlösung und Zellsaft verteilt.

Wie früher (S. 54) erwähnt, bezeichnet P die Stoffmenge, welche in der Zeiteinheit durch die Flächeneinheit permeiert, wenn der Konzentrationsunterschied zwischen den Wasserphasen zu beiden Seiten der Lipoidschicht 1 beträgt. Wenn der Verteilungskoeffizient Lipoid : Wasser des betreffenden Stoffes n beträgt, ist somit der Konzentrationsunterschied zwischen den äussersten Elementarschichten der Lipoidschicht gleich n (vgl. Abschnitt V B 1). Das Diffusionsgefälle (die Grösse $\frac{dc}{dx}$ der Gleichung von FICK) innerhalb der Lipoidschicht beträgt somit n/d . Da die Diffusionsgeschwindigkeit dem Diffusionsgefälle proportional ist, beträgt die in der Zeiteinheit durch die Flächeneinheit diffundierte Substanzmenge, wenn das Diffusionsgefälle = 1 ist, $P : \frac{n}{d} = \frac{P \cdot d}{n}$. Definitionsgemäss ist aber gerade der Diffusionskoeffizient D gleich der Substanzmenge, welche in der Zeiteinheit durch die Flächeneinheit unter dem Einfluss des Diffusionsgefälles 1 diffundiert. Somit ist

$$D = \frac{P \cdot d}{n} \quad \text{und} \quad d = \frac{D \cdot n}{P}$$

Wenn wir auf Grund dieser Gleichung d bestimmen wollen, können wir an die in Abb. 10 gegebene graphische Darstellung der Beziehungen zwischen P und dem Verteilungskoeffizienten Olivenöl : Wasser anknüpfen, indem wir als erste Approximation annehmen, dass die Verteilung der permeierenden Substanz zwischen dem unbekanntem Plasmalipoid und Wasser in derselben Weise ausfällt wie ihre Verteilung zwischen Olivenöl und Wasser. Man sieht, dass, wenn n z. B. 10^{-4} beträgt, P , ausgedrückt in den von uns benutzten Einheiten etwa 10^{-3} cm/Stunde, d. h. etwa $3 \cdot 10^{-7}$ cm/sec ist. Noch unsicherer ist die Abschätzung von D , d. h. des Diffusionskoeffizienten der permeierenden Substanz innerhalb der hypothetischen Lipoidphase der Plasmahaut. Wir gehen dabei von der Tatsache aus, dass die Diffusionskoeffizienten der von uns studierten Substanzen bei Diffusion in Wasser durchschnittlich etwa $0,8 \cdot 10^{-5}$ cm²/sec betragen, sowie von der bekannten Diffusionsgleichung von EINSTEIN, wonach der Diffusionskoeffizient umgekehrt proportional der Viskosität des Lösungsmittels ist. Nun wechselt aber die Viskosität der verschiedenen Lipoide innerhalb sehr weiter Grenzen, und es ist daher nur ein Notbehelf, wenn wir in Ermangelung aller sicheren Daten die Viskosität der Plasmahautlipoide vorläufig gleich derjenigen des Olivenöls setzen. Sie wäre hiernach rund 80-mal grösser als diejenige des Wassers. Wir bekommen dann für D den Wert $0,8 \cdot 10^{-5} : 80 = 10^{-7}$ cm²/sec. Das Endergebnis lautet somit

$$d = \frac{10^{-7} \cdot 10^{-4}}{3 \cdot 10^{-7}} = 3 \cdot 10^{-5} \text{ cm oder } 0,3 \mu.$$

Die Dicke der einzelnen Plasmahaut wäre hiernach von der Grössenordnung $0,1 \mu$. Doch können besonders zwei Umstände bewirkt haben, dass bei der obigen Berechnung eine allzu grosse Dicke der durchtrittshemmenden Lipoidschicht vorgetäuscht worden ist. Erstens ist es gut möglich, dass die Viskosität der Plasmahautlipoide weit grösser als die des Olivenöls ist. Hat doch schon OVERTON in erster Linie an Lecithin und Cholesterin als Bestandteile der Plasmahaut gedacht, also an Verbindungen, die bei gewöhnlicher Temperatur fest oder salbenartig sind und die infolgedessen der Diffusion einen bedeutend grösseren Widerstand bieten müssen als ein flüssiges Öl. Zweitens ist zu bedenken, dass die Plasmahaut ausser Lipoiden wahrscheinlich auch Eiweissstoffe enthält, welche die effektive Diffusionsfläche herabsetzen und somit dazu beitragen, dass bei einer Berechnung der obigen Art eine allzu grosse Dicke der durchtrittshemmenden Schicht herauskommt. Hierzu kommt noch die Unsicherheit hinsichtlich der tatsächlichen Verteilung der permeierenden Stoffe zwischen Plasmahautlipoid und Wasser. Es wäre somit nicht verwunderlich, wenn es sich in der Zukunft herausstellen würde, dass die Plasmahäute der *Chara*-Zellen tatsächlich eine Dicke weit unterhalb $0,1 \mu$ besitzen.

VIII. Zusammenfassung.

Das Eindringen von zahlreichen gelösten Nichtelektrolyten in lebende Blattzellen von *Chara ceratophylla* wurde auf Grund von mikrochemischen Analysen des isolierten Zellsaftes quantitativ verfolgt. Als Analysemethoden wurden hierbei teils die Mikroreduktionsbestimmung nach BANG und teils das Mikro-Kjeldahlverfahren benutzt. Während des Permeationsvorganges befanden sich die Zellen im allgemeinen im Dunkeln; die zu prüfenden Substanzen waren in künstlichem Standortswasser gelöst.

Beim Eindringen der geprüften Substanzen in die *Chara*-Zellen wird schliesslich ein Gleichgewichtszustand erreicht, der dadurch charakterisiert ist, dass die Konzentration der permeierenden Substanz im Zellsaft etwa 90—100 Proz. ihrer Konzentration in der Aussenlösung beträgt. (Ausnahmsweise wurden Werte bis 70 Proz. hinab gefunden, die jedoch vermutlich durch Versuchsfehler bedingt sind.)

Das Eindringen der geprüften Substanzen in die *Chara*-Zellen befolgt das Diffusionsgesetz von FICK. Im Falle der allermeisten untersuchten Verbindungen ist dabei der effektive Diffusionswiderstand praktisch allein in den Zellgrenzschichten lokalisiert. Der Prozess des Eindringens befolgt dann die Gleichung

$$P = \frac{v}{q \cdot t} \cdot \ln \frac{C}{C-c},$$

worin v das Volumen und q die Oberfläche der Zelle, t die Zeit, C die Gleichgewichtskonzentration der permeierenden Substanz im Zellsaft und c ihre jeweilige Konzentration daseibst bedeuten. P ist eine Konstante, welche ein

Mass der Permeabilität der Zellgrenzschichten für den betreffenden Stoff abgibt; sie wird daher die Permeationskonstante genannt. Nur bei den am allerleichtesten permeierenden Substanzen scheint auch der Diffusionswiderstand des Zellsaftes eine Rolle neben demjenigen der Zellgrenzschichten zu spielen.

Die Durchlässigkeit der Zellwand scheint verglichen mit derjenigen des Plasmas so gross zu sein, dass die Zellwand nicht störend auf die Permeabilitätsbestimmungen am Protoplasten einwirkt.

In allen untersuchten Fällen zeigte sich die Permeabilität des Plasmas von innen nach aussen innerhalb der Fehlergrenzen der Versuchsmethode gleich gross wie seine Permeabilität von aussen nach innen.

Einflüsse »vitaler« Kräfte irgendwelcher Art machten sich nie bemerkbar, sei es hinsichtlich des Stoffdurchtritts durch das Plasma oder hinsichtlich der resultierenden Gleichgewichtskonzentration.

In den benutzten Konzentrationen wirken die geprüften Nichtelektrolyte nicht merklich ändernd auf die Grösse der Plasmapermeabilität.

Eine verschieden grosse Permeabilität verschiedener Teile der Zelloberfläche konnte nicht nachgewiesen werden.

Als anschauliches Mass für die Geschwindigkeit des Eindringens verschiedener Substanzen in die Zellen wird die »Halbsättigungszeit« benutzt, welche angibt, nach wie langer Zeit die Hälfte der Gleichgewichtskonzentration der betreffenden Substanz im Zellsaft erreicht wird. In der Tabelle 6 (S. 62) sind die Halbsättigungszeiten sowie die Permeationskonstanten sämtlicher untersuchten Verbindungen hinsichtlich lebender *Chara*-Zellen zusammengestellt. Tabelle 2 (S. 36) enthält u. a. die Halbsättigungszeiten vorsichtig abgetöteter Zellen für einige Substanzen. Die Halbsättigungszeiten der lebenden Zellen variieren bei den von uns studierten Substanzen zwischen 1,3 Minuten und mehr als etwa 30 Tagen, diejenigen der abgetöteten Zellen dagegen bloss zwischen 0,8 und 4,1 Minuten. Es wird berechnet (S. 63), dass z. B. Harnstoff 21 000-mal, Glycerin 80 000-mal und Saccharose mehr als 1 000 000-mal langsamer durch das Plasma als durch eine gleich dicke Wasserschicht diffundieren.

Die Permeabilität für Wasser wurde unter anderem mit derjenigen für Methyl- und Äthylalkohol in der Weise verglichen, dass die Änderungen der Zelllänge mikroskopisch beobachtet wurden, welche eintreten, wenn *Chara*-Zellen, die vorher in Wasser lagen, mit einer wässrigen Lösung des Alkohols übergossen wurden oder umgekehrt. Mit mässigen Alkoholkonzentrationen übergossen, ziehen sich die Zellen zuerst etwas zusammen und nehmen nach ein paar Minuten ihre ursprüngliche Länge wieder an. Aus der Alkohollösung in Wasser zurückversetzt, nehmen sie zuerst an Länge zu und ziehen sich dann auf ihre ursprüngliche Länge zusammen. Hieraus wird geschlossen, dass das

Wasser noch leichter als die Alkohole permeiert. Bei der Verwendung extrem grosser Alkoholkonzentrationen scheint allerdings eine Permeabilitätsänderung einzutreten, so dass die Zellen nunmehr permeabler für Alkohol als für Wasser sind.

Die Permeabilitätsregeln von OVERTON werden — abgesehen von vereinzelten Ausnahmen — für die *Chara*-Zellen bestätigt.

Adsorptionsprozesse scheinen keine entscheidende Rolle für die Plasma-permeabilität zu spielen. Vom Standpunkt der Adsorptionstheorie der Plasma-permeabilität aus könnten nämlich die beobachteten grossen Hemmungen der Permeation wohl nur durch die Annahme einer ausgesprochen *negativen* Adsorption der betreffenden Substanzen seitens der Plasmahautkolloide erklärt werden. Eine solche hat aber wenig Wahrscheinlichkeit für sich. Wenigstens werden einige recht langsam permeierende Substanzen wie z. B. Methylharnstoff an den Grenzflächen Olivenöl / Wasser und Benzol / Wasser positiv adsorbiert, und der noch langsamer permeierende Harnstoff verhält sich gegenüber diesen Grenzflächen ziemlich indifferent (eher positiv als negativ).

Die Verteilungskoeffizienten Äther : Wasser, Olivenöl : Wasser und (Olivenöl + Ölsäure) : Wasser wurden für die auf ihr Permeationsvermögen hin untersuchten Substanzen ermittelt. Zwischen den beiden erstgenannten Verteilungskoeffizienten besteht im allgemeinen ein ausgesprochener Parallelismus. Der Zusatz von Ölsäure zum Olivenöl befördert stark die Aufnahme von Amiden sowie von Urotropin.

Zwischen den Permeationskonstanten der untersuchten Verbindungen und ihren Verteilungskoeffizienten Olivenöl : Wasser besteht im grossen und ganzen eine direkte *Proportionalität* (nicht bloss Symbasie!). Wir sehen hierin einen neuen Wahrscheinlichkeitsbeweis für die Auffassung, wonach die Zellgrenzschichten Lipide (von ähnlichem Lösungsvermögen wie das Olivenöl) enthalten und wonach die Permeation zum grossen Teil durch diese Lipide hindurch geschieht.

Verbindungen, deren Molrefraktion unterhalb etwa 15 liegt, permeieren schneller, als ihrer relativen Öllöslichkeit entsprechen würde. Die osmotisch massgebenden Plasmaschichten scheinen demnach auch eine Ultrafilterwirkung auszuüben, indem Teilchen mit einem Durchmesser unterhalb etwa $0,4 \mu\mu$ auch intermizellar, d. h. unter Umgehung der Lipoidphase permeieren.

Es besteht somit eine vollständige prinzipielle Übereinstimmung zwischen den Permeabilitätseigenschaften der *Chara*-Zellen und denjenigen ganz andersartiger Zellen (z. B. Epidermiszellen von *Rhoeo*, Muskeln vom Frosch, Säugetiererythrozyten, Seeigeleiern usw.), die früher hinsichtlich ihrer Permeabilität für Nichteletrolyte untersucht worden sind. Diese Übereinstimmung ist um so bemerkenswerter, als die Permeabilität der früher studierten Objekte nur mittelst osmotischer Methoden, *Chara* dagegen in ganz anderer Weise

untersucht worden ist. Dies spricht zu gunsten der Zuverlässigkeit der oft angezweifelte osmotischen Methoden der Permeabilitätsbestimmung.

Trotz der prinzipiellen Übereinstimmung besteht zwischen der Permeabilität der *Chara*- und derjenigen der *Rhoeo*-Zellen ein deutlicher Unterschied, insofern als *Chara* für Amide relativ permeabler ist. Dieser Unterschied ist höchst wahrscheinlich auf Verschiedenheiten in der chemischen Zusammensetzung der für die Permeabilität massgebenden Lipoidschichten zurückzuführen, indem anzunehmen ist, dass die *Chara*-Lipide ein spezifisch grösseres »Lösungsvermögen« für schwach basische Verbindungen haben.

Wenn man versuchsweise annimmt, dass die Plasmahautlipide der *Chara*-Zellen dasselbe Lösungsvermögen und dieselbe Viskosität wie das Olivenöl besitzen, ergibt sich unter gewissen vereinfachenden Annahmen aus der Permeiergeschwindigkeit der geprüften Stoffe die Gesamtdicke der durchtrittshemmenden Lipoidschichten zu $0,3 \mu$. Die tatsächliche Dicke dürfte jedoch bedeutend kleiner sein.

Die Ausführung der zahlreichen zeitraubenden Zellsaftanalysen und Verteilungsbestimmungen wurde durch eine Zuwendung seitens des Unterrichtsministeriums ermöglicht, für die wir hier unseren besten Dank aussprechen. Ebenso danken wir den Herren BJÖRN BJÖRKENHEIM, HARALD TÖTTERMAN, LENNART WASASTJERNA und BERTEL WIDÉN für die sorgfältige Ausführung der Analysen. Für die wertvolle Beratung in mathematischen Fragen gebührt unser Dank Herrn mag. phil. GUSTAV ELFVING.

Helsingfors, Botanisches Institut der Universität, Dezember 1932.

Zitierte Literatur.

- BANG, I., 1927, Mikromethoden zur Blutuntersuchung. 6. Aufl. München.
BÄRLUND, H., 1929, Permeabilitätsstudien an Epidermiszellen von *Rhoeo discolor*. Acta bot. fenn. 5.
BIERBERG, W., 1908, Die Bedeutung der Protoplasmrotation für den Stofftransport in den Pflanzen. Flora 99, 52—80.
BROOKS, S. C. und M. M. BROOKS, 1932, The rate of penetration of dyes into *Valonia*, with special reference to solubility theories of permeability. J. Cell. and Comp. Physiol. 2, 53—73.
CHOLODNY, N., 1924, Über Protoplasmaveränderungen bei Plasmolyse. Biochem. Z. 147, 22—29.
COLLANDER, R., 1924, Über die Durchlässigkeit der Kupferferrozyanidniederschlagsmembran für Nichtelektrolyte. Kolloidchem. Beih. 19, 72—105.

- COLLANDER, R., 1925, Über die Durchlässigkeit der Kupferferrozyanidmembran für Säuren nebst Bemerkungen zur Ultrafilterfunktion des Protoplasmas. *Ibid.* **20**, 273—287.
- »— 1926, Über die Permeabilität von Kollodiummembranen. *Soc. Scient. Fenn. Comm. Biol.* **2**, Nr. 6.
- »— 1927, Einige Permeabilitätsversuche mit Gelatinemembranen. *Protoplasma* **3**, 213—222.
- »— 1930, Permeabilitätsstudien an *Chara ceratophylla* I. *Acta bot. fenn.* **6**.
- »— 1931, Besprechung. *Protoplasma* **12**, 620—621.
- COLLANDER, R. und H. BÄRLUND, 1926, Über die Protoplasmapermeabilität von *Rhoeo discolor*. *Soc. Scient. Fenn. Comm. Biol.* **2**, Nr. 9.
- DERRY, B. H. EL, 1929, Plasmolyseform- und Plasmolysezeit-Studien. *Protoplasma* **8**, 1—49.
- DIRKEN, M. N. J. und H. W. MOOK, 1930, Geschwindigkeit der Kohlendisaufnahme durch Flüssigkeiten. *Biochem. Z.* **219**, 452—462.
- EFIMOFF, W. und P. REHBINDER, 1929, Grenzflächenenergie und Grenzflächenaktivität an einem Protoplasmamodell. *Biochem. Z.* **211**, 154—162.
- FRICKE, H., 1925, The electric capacity of suspensions with special reference to blood. *J. Gen. Physiol.* **9**, 137—152.
- FUJITA, A., 1926, Untersuchungen über elektrische Erscheinungen und Ionen-durchlässigkeit von Membranen. VIII. *Biochem. Z.* **170**, 18—29.
- GELLHORN, E., 1929, Das Permeabilitätsproblem. Berlin.
- GICKLHORN, J., 1931, Zur Diskussion der Grundlagen und Beweise der Ultrafiltertheorie der Permeabilität. *Protoplasma* **13**, 567—591.
- GUREWITSCH, A., 1929, Untersuchungen über die Permeabilität der Hülle des Weizenkorns. *Jahrb. wiss. Bot.* **70**, 657—706.
- HANSTEEN CRANNER, B., 1922, Zur Biochemie und Physiologie der Grenzschichten lebender Pflanzenzellen. *Meld. fra Norges Landbrukshoiskole* **2**, 1—160.
- HILL, A. V., 1929, The diffusion of oxygen and lactic acid through tissues. *Proc. Roy. Soc. (London) B* **104**, 39—96.
- HOAGLAND, D. R. und A. R. DAVIS, 1929, The intake and accumulation of electrolytes by plant cells. *Protoplasma* **6**, 610—626.
- HÖBER, R., 1930, The present conception of the structure of the plasma membrane. *Biol. Bull.* **58**, 1—17.
- »— 1932, Über die Hemmung der Farbstoffkonzentrierung in der Leber durch organische Nichtleiter und organische Salze. *Pflügers Arch.* **229**, 402—421.
- HÖBER, R. und G. PUPILLI, 1931, Neue Versuche über die Aufnahme von Farbstoffen durch die roten Blutkörperchen. *Ibid.* **226**, 585—599.
- HÖFLER, K., 1931, Das Permeabilitätsproblem und seine anatomischen Grundlagen. *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* **49**, (79)—(95).
- »— 1932, Vergleichende Protoplasmatik. *Ibid.* **50**, (53)—(67).
- HÖFLER, K. und A. STIEGLER, 1930, Permeabilitätsverteilung in verschiedenen Geweben der Pflanze. *Protoplasma* **9**, 469—512.
- HOLDHEIDE, W., 1930, Über einen eigenartigen Fall von Plasmoptyse. *Biol. Zentralbl.* **50**, 705—712.
- »— 1931, Über Plasmoptyse bei *Hydrodictyon utriculatum*. *Planta (Berl.)* **15**, 244—298.

- HUBER, B. und K. HÖFLER, 1930, Die Wasserpermeabilität des Protoplasmas. *Jahrb. wiss. Bot.* **73**, 351—511.
- IIJIN, W. S., 1928, Die Durchlässigkeit des Protoplasmas. *Protoplasma* **3**, 558—602.
- International Critical Tables of Numerical Data, Physics, Chemistry and Technology.* Vol. V. New York 1929.
- JACOBS, M. H., 1924, Permeability of the cell to diffusing substances. *General Cytology* ed. by E. V. COWDRY. Chicago.
- 1931a, Osmotic hemolysis and zoological classification. *Proc. Amer. Philos. Soc.* **70**, 363—370.
- 1931b, The permeability of the erythrocyte. *Ergebn. d. Biol.* **7**, 1—55.
- JACOBS, M. H. und D. R. STEWART, 1932, A simple method for the quantitative measurement of cell permeability. *J. Cell. and Comp. Physiol.* **1**, 1—32.
- JOST, L., 1929, Einige physikalische Eigenschaften des Protoplasmas von *Valonia* und *Chara*. *Protoplasma* **7**, 1—22.
- KOSTYTSCHEW, S. und F. A. F. C. WENT, 1931, *Lehrbuch der Pflanzenphysiologie.* Bd. 2. Berlin.
- LAIBACH, F., 1932, Interferometrische Untersuchungen an Pflanzen. II. *Jahrb. wiss. Bot.* **76**, 218—282.
- LAZAREW, N. W., J. N. LAWROW und A. P. MATWEJEW, 1930, Über die Polarität der Moleküle, die Grenzflächenaktivität und die Theorien der Narkose. *Biochem. Z.* **217**, 454—464.
- LUDWIG, C., 1849, Über die endosmotischen Äquivalente und die endosmotische Theorie. *Pogg. Ann.* **154**, 307—326.
- MANSHEIM, M., 1932, Über die Bedeutung der Lipotide für die Permeabilität. *Biochem. Z.* **244**, 268—277.
- MC CLENDON, J. F., 1926, Colloidal properties of the surface of the living cell. II. *J. Biol. Chem.* **69**, 733—754.
- MC CUTCHEON, M. und B. LUCKÉ, 1928, The effect of certain electrolytes and non-electrolytes on permeability of living cells to water. *J. Gen. Physiol.* **12**, 129—138.
- MIYAZAKI, H., 1927, Theory of membrane diffusion. *J. of Biophysics* **2**, 257—281.
- MOND, R. und FR. HOFFMANN, 1928, Weitere Untersuchungen über die Membranstruktur der roten Blutkörperchen. *Pflügers Arch.* **219**, 467—480.
- MOND, R. und FR. HOFFMANN, 1929, Untersuchungen über die Permeabilität der Knorpelzellen. *Ibid.* **221**, 460—468.
- MORGAN, J. L. R. und H. K. BENSON, 1907, Die Bestimmung von Molekelgewichten durch Verteilungsversuche. *Ztschr. f. anorg. Chem.* **55**, 356—360.
- MÜNCH, E., 1930, Die Stoffbewegungen in der Pflanze. Jena.
- NORTHROP, J. H., 1927, Kinetics of the swelling of cells and tissues. *J. Gen. Physiol.* **11**, 43—56.
- OVERTON, E., 1902, Beiträge zur allgemeinen Muskel- und Nervenphysiologie. *Pflügers Arch.* **92**, 115—280, 346—386.
- 1907, Über den Mechanismus der Resorption und der Sekretion. *Handb. d. Physiol. d. Menschen* herausgeg. von W. NAGEL. Bd. 2. Braunschweig.
- PFEFFER, W., 1877, *Osmotische Untersuchungen.* Leipzig.
- POIJÄRVI, I. A. P., 1928, Über die Basenpermeabilität pflanzlicher Zellen. *Acta bot. fenn.* **4**.

- REHBINDER, P., 1927, Grenzflächenaktivität (Adsorbierbarkeit) und Dielektrizitätskonstante. I. Ztschr. f. physik. Chem. **129**, 161—175.
- RUHLAND, W. und C. HOFFMANN, 1925, Die Permeabilität von *Beggiatoa mirabilis*. *Planta* (Berl.) **1**, 1—83.
- RUHLAND, W., H. ULLRICH und G. YAMAHARA, 1932, Über den Durchtritt von Elektrolyten mit organischem Anion und einwertigem Kation in die Zellen von *Beggiatoa mirabilis* usw. *Planta* (Berl.) **18**, 338—382.
- RUNNSTRÖM, J., 1911, Untersuchungen über die Permeabilität des Seeigeleies für Farbstoffe. *Arkiv för Zoologi* **7**, N:o 13.
- SCHÖNFELDER, S., 1930, Weitere Untersuchungen über die Permeabilität von *Beggiatoa mirabilis* usw. *Planta* (Berl.) **12**, 414—504.
- STEWART, D. R., 1931, The permeability of the *Arbacia* egg to non-electrolytes. *Biol. Bull.* **60**, 152—170.
- STEWART, D. R. und M. H. JACOBS, 1932, The effect of fertilization on the permeability of the eggs of *Arbacia* and *Asterias* to ethylene glycol. *J. Cell. and Comp. Physiol.* **1**, 83—92.
- STILES, W., 1924, Permeability. *New Phytologist Reprint*, No. 13. London.
- STILES, W. und FR. KIDD, 1919, The influence of external concentration on the position of the equilibrium attained in the intake of salts by plant cells. *Proc. Roy. Soc. (London) B* **90**, 448—470.
- SÜLLMANN, H., 1931, Diffusionskoeffizienten und Teilchengröße farbloser Stoffe. *Protoplasma* **13**, 546—566.
- VOUK, V. und F. BENZINGER, 1928, Some preliminary experiments on physiology of Charophyta. *Acta bot. inst. bot. univ. zagrebens.* **4**, 1—13.
- WATZADSE, G., 1929, Physikalisch-chemische Untersuchungen zur Frage der Stoffverteilung zwischen Zelle und Umgebung. *Pflügers Arch.* **222**, 640—648.
- WEBER, F., 1932, Gallensalz-Wirkung und Plasmolyse-Permeabilität. *Protoplasma* **17**, 102—107.
- WEBER, L. J. und I. TRAUBE, 1930, Die Anwendung des Stalagmometers zur Messung der Grenzflächenspannung flüssig/flüssig. *Biochem. Z.* **219**, 468—472.
- WEISER, H. B., 1930, Adsorption and permeability of membranes. *J. Physic. Chem.* **34**, 335—351.
- WILBRANDT, W., 1931, Vergleichende Untersuchungen über die Permeabilität pflanzlicher Protoplasten für Anelektrolyte. *Pflügers Arch.* **229**, 86—99.
- WILDERVANCK, L. S., 1932, Osmotic adaptation of *Nitella translucens* Agardh. *Rec. des trav. bot. néerl.* **29**, 227—378.
- WILSTÄTTER, R. und TH. WIRTH, 1909, Über Thioformamid. *Ber. d. Deutsch. Chem. Ges.* **42**, 1908—1922.