

	Versuche	I	II	III	IV	V	VI
Spez. Gewicht bei 17.5°		0.89408	0.88251	0.79312	0.83762	0.98820	0.83444
Skalenteile bei 17.5°		52.6	82.7	63.9	86.1	20.7	99.55
Aus dem Diagramm abgelesen	$\left\{ \begin{array}{l} \% \text{CH}_3\text{-OH} \\ \% \text{C}_6\text{H}_5\text{-OH} \\ \% \text{H}_2\text{O} \end{array} \right.$	47.4	19.2	32.5	18.3	3.8	3.0
		13.3	46.3	67.5	65.5	2.2	81.7
		39.3	34.5	—	16.2	94.0	15.3

Es ist wohl verständlich, daß die Ergebnisse an jenen Stellen genauer bestimmt werden können, wo die beiden Kurven nahezu senkrecht aufeinander stehen, und daß ein Schneiden der Kurven unter allzu spitzem Winkel für die Genauigkeit der Werte nachteilig ist. Bei Versuch V z. B. weichen die Ergebnisse von den theoretischen Werten erheblich mehr ab als bei den übrigen Versuchen, weil in der Ecke des reinen Wassers die Kurven einen verhältnismäßig spitzen Winkel bilden.

396. Hans Gaffron: Die photochemische Bildung von Peroxyd bei der Sauerstoff-Übertragung durch Chlorophyll.

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Biologie, Abt. Warburg, Dahlem.]
(Eingegangen am 9. August 1927.)

Ich habe mich mit der oft diskutierten Frage beschäftigt, ob sich bei der photochemischen Sauerstoff-Übertragung durch fluoreszierende Farbstoffe Peroxyde dieser Farbstoffe bilden. Alle Versuche, derartige Peroxyde nachzuweisen, sind negativ ausgefallen. Dagegen entstehen, wie ich gefunden habe, bei der Photoxydation von aliphatischen Aminen durch Chlorophyll Peroxyde, die Acceptor-Peroxyde, nicht Farbstoff-Peroxyde sind. Löst man Chlorophyll in Amylamin, belichtet und verdunkelt wieder, so enthält die Lösung ungefähr soviel peroxydischen Sauerstoff, wie sie während der Belichtung an molekularem Sauerstoff absorbiert hat. Durch Zusatz eines Katalysators, z. B. Mangandioxyd, zu der verdunkelten Lösung kann dieser Peroxyd-Sauerstoff quantitativ entwickelt werden. Er läßt sich auch jodometrisch nachweisen und bestimmen, indem man die vorher belichtete Lösung im Dunkeln in saure Jodkalium-Lösung eingießt.

I. Vorbemerkungen über die Photoxydation der aliphatischen Amine.

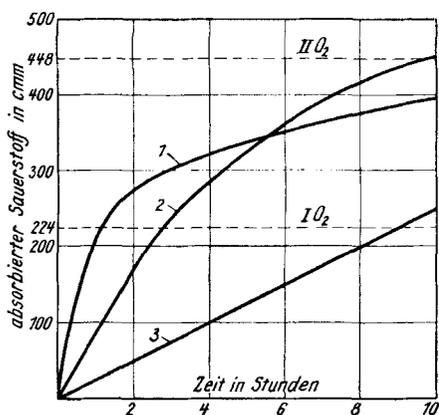
Wie ich früher zeigen konnte¹⁾, werden Eiweißkörper, sowie Thioharnstoff-Derivate in Gegenwart von belichteten fluoreszierenden Farbstoffen durch molekularen Sauerstoff oxydiert²⁾. Ich habe die Beobachtung

¹⁾ H. Gaffron, Naturwiss. **13**, 859 [1925]; Biochem. Ztschr. **179**, 157 [1926]; B. **60**, 755 [1927]

²⁾ Über Photoxydationen vergl. die wichtigen Arbeiten von: W. Straub, Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **51**, 383 [1904]; W. Hausmann, Biochem. Ztschr. **12**, 33f [1908], **30**, 276 [1910]; C. Neuberg und Mitarbeiter, Biochem. Ztschr. **13**, 305 [1908], **17**, 270 [1909], **27**, 271 [1910], **29**, 279 [1910], **39**, 158 [1912], **44**, 495 [1912], **61**, 315 [1914], **67**, 59 und 63 [1914]; K. Noack, Ztschr. Botanik **19**, 273 [1920], **17**, 481 [1925]; Naturwiss. **14**, 385 [1926]; Biochem. Ztschr. **183**, 153 [1927]. — Die Oxydation von Eiweiß unter der Wirkung von ultraviolettem Licht ist ein Vorgang, der nach seinem Me

gemacht, daß die primären aliphatischen Amine sich ebenso verhalten. Von großer Bedeutung ist dabei, in welchem Lösungsmittel die Reaktion vor sich geht. Die photochemische Wirkung steigt, wenn man statt in wäßriger, in Aceton-³⁾ oder Pyridin-Lösung arbeitet, um mehr als das Hundertfache. Die schließlich aufgenommene Menge Sauerstoff erreicht 2 Mol. O_2 für jedes Mol. primäres oder sekundäres Amin (vergl. Figur 1 und 2).

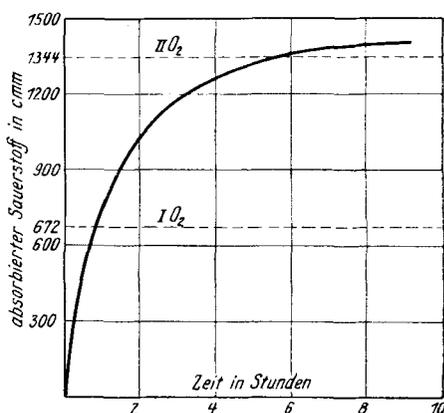
Fig. 1.



Photoxydation von 1 cm³
m/100-Propylamin
mit 0.15 mg Erythrosin
1. in 100-proz. Aceton
2. „ 95- „ „
3. „ 85- „ „

(Metallfaden-Lampe; 60 Watt; 10 cm Abstand;
19°; Luft).

Fig. 2.



Photoxydation von 3 cm³ m/100-Di-
äthylamin mit 5 mg Erythrosin in Aceton.
(Metallfaden-Lampe; 75 Watt; 20°; Luft).

Die Photoxydation greift an der Aminogruppe an⁴⁾. Anders als bei der Oxydation durch Wasserstoffperoxyd oder Kaliumpermanganat tritt bei der Photoxydation der primären Amine Isonitril auf⁵⁾. Doch scheint dieses nicht das Hauptprodukt der Reaktion zu sein.

Tertiäre Amine sind photochemisch am beständigsten. Diese und die aromatischen Amine (Anilin), deren Photoxydation äußerst langsam verläuft, wurden nicht näher untersucht.

chanismus von den hier behandelten Reaktionen durchaus verschieden ist. F. Lieben, *Biochem. Ztschr.* **184**, 453 [1927], übersieht das, und schreibt die von mir gefundene Eiweiß-Oxydation im sichtbaren Spektrum Hrn. Harris zu, dessen Arbeit $\frac{1}{2}$ Jahr nach meiner ersten Mitteilung erschienen ist. (Gaffron, l. c.; D. T. Harris, *Biochem. Journ.* **20**, 280 [1926].)

³⁾ Nur frische, sehr verdünnte Lösungen von Amin in Aceton sind für die angegebenen Versuche brauchbar, da die Amine mit Aceton schon im Dunkeln unter Autoxydation und Braunfärbung reagieren.

⁴⁾ vergl. Goldschmidt und Beuschel, *A.* **447**, 197 [1926].

⁵⁾ Über die Bildung von Isonitril bei der Oxydation von Anilin durch Kaliumpermanganat siehe E. Bamberger und Landsteiner, *B.* **26**, 482 [1893]. — Über elektrolytische Bildung von Isonitril aus Anilin siehe Möller, *Ztschr. Elektrochem.* **5**, 463 [1899]; ferner F. Haber und C. Schmidt, *Ztschr. physikal. Chem.* **32**, 271.

II. Methodisches.

Die Messung der Photoxydation geschieht wie früher manometrisch nach O. Warburg⁶⁾. Die Versuchsanordnung ist aus Figur 3 ersichtlich. Ich benutze Gefäße mit Anhang (vergl. Figur 4), die gestatten, durch Neigen des Manometers irgendein Reagens zu der im Hauptraum be-

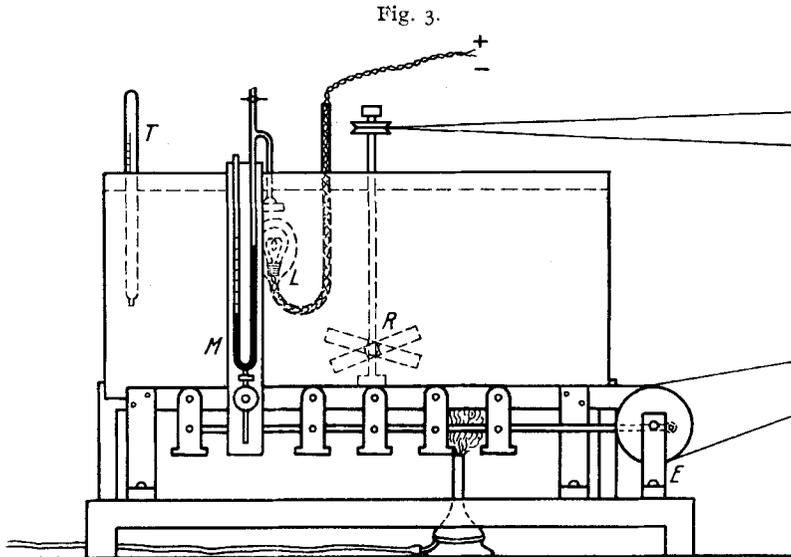
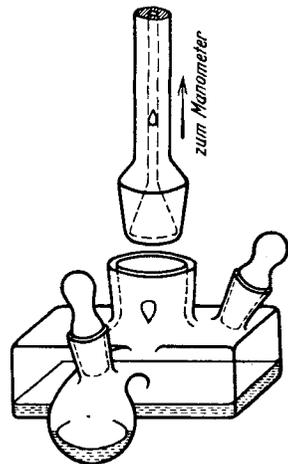


Fig. 3. E . . . Exzenter, R . . . Rührer, T . . . Thermometer, L . . . Lampe, M . . . Manometer.

findlichen Lösung treten zu lassen. Um Temperatur- und Barometer-Schwankungen, sowie andere störende Vorgänge, z. B. Autoxydation, zu eliminieren, werden gleichzeitig Kontroll-Manometer beobachtet, die nur Farbstoff + Lösungsmittel oder farbstoff-freie Lösung enthalten.

Da sich Chlorophyll ohne Acceptor in der Lösung langsam verfärbt und unter geringer Sauerstoff-Aufnahme zerstört wird, sind für die Bestimmung des Endwertes bei der Photoxydation der Acceptoren die ziemlich beständigen Farbstoffe der Fluorescein-Reihe geeigneter⁷⁾. Zu den im folgenden Abschnitt beschriebenen Versuchen habe ich jedoch kristallisiertes Äthyl-chlorophyllid benutzt⁸⁾. Es hat den Vorteil, daß es keine Verunreinigungen enthält, die eine vorzeitige Zerstörung des Peroxydes bewirken könnten.

Fig. 4.



⁶⁾ Biochem. Ztschr. **152**, 51 [1924], **179**, 158 [1926].

⁷⁾ vergl. die Bestimmung des Endwertes der Photoxydation des Phenols und der Harnsäure, Biochem. Ztschr. **179**, 171 [1926].

⁸⁾ Die Fluorescenz von Äthyl-chlorophyllid in organischen Lösungsmitteln, die primäres Amin und Spuren von Wasser enthalten, ist auffallend stark. In der Durchsicht erscheint eine solche Lösung viel bläulicher, als reine Lösungen von Chlorophyll.

III. Die photochemische Bildung von Peroxyd.

Seine manometrische und jodometrische Bestimmung.

Löst man Chlorophyll in reinem Amin und belichtet, so wird Sauerstoff verbraucht. Der größte Teil dieses Sauerstoffs befindet sich nach beendeter Belichtung in Form von Peroxyd in der Lösung, und kann aus dieser durch katalytische Zersetzung wieder freigemacht werden. Zu diesem Zwecke gebe ich zu einer Lösung von Chlorophyll in Isoamylamin, die in einem sauerstoff-gefüllten Manometer belichtet worden ist, im Dunkeln eine geringe Menge MnO_2 hinzu. Wie sich die Mengen von photochemisch absorbiertem und später katalytisch abgespaltenem Sauerstoff zueinander verhalten, zeigen die in Tabelle 1 zusammengestellten Versuchsergebnisse.

Tabelle 1.

1 ccm Isoamylamin; 1 mg Chlorophyll; 20°; Gas: O_2 .

Zeit	Versuchs-Nr. 1	Zeit	Versuchs-Nr. 2
5' belichtet	288 cmm O_2 absorbiert	3' belichtet	269 cmm O_2 absorbiert
6' dunkel	+ 0.1 mg MnO_2 274 cmm O_2 entwickelt	25' dunkel	+ 0.5 mg MnO_2 240 cmm O_2 entwickelt
	= 95 % des absorbierten Sauerstoffs		= 89 % des absorbierten Sauerstoffs

Wartet man nach beendeter Belichtung mit dem Zugeben des Katalysators, so zersetzt sich in der anschließenden Dunkelzeit ein kleiner Teil des vorhandenen Peroxydes freiwillig. Setzt man dann, wenn die spontane Sauerstoff-Entwicklung klein geworden ist, etwas Braunstein zu, so wird auch der Rest des Peroxydes gespalten. Man erhält auf diese Weise (vergl. Tabelle 2) insgesamt die gleiche Menge Sauerstoff, wie nach dem zuerst beschriebenen Verfahren.

Tabelle 2.

1 ccm Isoamylamin; 0.5 mg Chlorophyll; 20°.

Zeit	Versuchs-Nr. 7	Zeit	Versuchs-Nr. 8
5' belichtet	282 cmm O_2 absorbiert	5' belichtet	298 cmm O_2 absorbiert
6' dunkel	+ 1 mg MnO_2	15' dunkel	44 cmm O_2 abgegeben
	234 cmm O_2 entwickelt	6' dunkel	+ 1 mg MnO_2 200 cmm O_2 entwickelt
			Summe: 244 cmm O_2
	= 83 % des absorbierten O_2		= 82 % des absorbierten O_2

Um den Peroxyd-Sauerstoff jodometrisch zu bestimmen, wird nach der Belichtung der Inhalt des Meßgefäßes in überschüssige saure Jodkalium-Lösung gespült. Aus experimentellen Gründen kann dies nicht gleich

Tabelle 3.

1 ccm Isoamylamin; 0.5 mg Chlorophyll; 19⁰; Gas: O₂.

Zeit	Versuchs-Nr. 8	Zeit	Versuchs-Nr. 9	Zeit	Versuchs-Nr. 10
5' belichtet	298 cmm O ₂ absorbiert	5' belichtet	287 cmm O ₂ absorbiert	5' belichtet	300 cmm O ₂ absorbiert
15' dunkel	44 cmm O ₂ abgegeben	18' dunkel	53 cmm O ₂ abgegeben	25' dunkel	58 cmm O ₂ abgegeben
6' dunkel	+ 1 mg MnO ₂ 200 cmm O ₂ entwickelt	Titriert*):	3.5 ccm n/100-Thiosulfat	Titriert*):	3.35 n/100-Thiosulfat
			= 196 cmm O ₂		= 188 cmm O ₂
	Summe: 244 cmm O ₂ = 82% des absorbierten O ₂		Summe: 249 cmm O ₂ = 87% des absorbierten O ₂		Summe: 246 cmm O ₂ = 82% des absorbierten O ₂

*) 3.5 ccm n/100-Thiosulfat = 3.5 ccm n/100-J = 3.5/2 ccm molar/100-J₂ = 3.5/4 ccm molar/100-O₂ = 0.875 × 224 = 196 cmm O₂.

Tabelle 4.

Versuchs-Nr. 8		Versuchs-Nr. 9		Versuchs-Nr. 14		Versuchs-Nr. 17	
Chlorophyll	Peroxyd-O ₂						
0.5 mg	244 cmm	0.5 mg	249 cmm	0.5 mg	560 cmm	0.2 mg	226 cmm
0.8 × 10 ⁻⁶ Mol	11.0 × 10 ⁻⁶ Mol	0.8 × 10 ⁻⁶ Mol	11.0 × 10 ⁻⁶ Mol	0.8 × 10 ⁻⁶ Mol	25.0 × 10 ⁻⁶ Mol	0.3 × 10 ⁻⁶ Mol	10.0 × 10 ⁻⁶ Mol

Tabelle 5.
1 ccm 50-proz. Isoamylamin in Dioxan; 0.2 mg Chlorophyll; 19°; Gas: O₂.

Zeit	Versuchs-Nr. 16	Zeit	Versuchs-Nr. 17	Zeit	Versuchs-Nr. 18	Zeit	Versuchs-Nr. 19
5' belichtet	213 cmm O ₂ absorbiert	8' belichtet	297 cmm O ₂ absorbiert	5' belichtet	202 cmm O ₂ absorbiert	7.5' belichtet	312 cmm O ₂ absorbiert
20' dunkel	+ 1 mg MnO ₂ : 185 cmm O ₂ entwickelt	4.5' dunkel	5 cmm O ₂ abgegeben	9' dunkel	4 cmm O ₂ abgegeben	5' dunkel	5 cmm O ₂ abgegeben
		30' dunkel	+ 0.03 mg MnO ₂ : 92 cmm O ₂ entwickelt	Titriert:	2.34 ccm n_{1000} Thiosulfat = 132 cmm O ₂	Titriert:	3.96 ccm n_{1000} Thiosulfat = 222 cmm O ₂
		12 Stdn. dunkel	221 cmm O ₂ entwickelt				
Summe:	185 cmm O ₂ = 87% des ab- sorbierten O ₂	Summe:	226 cmm O ₂ = 76% des ab- sorbierten O ₂	Summe:	136 cmm O ₂ = 68% des ab- sorbierten O ₂	Summe:	227 cmm O ₂ = 73% des ab- sorbierten O ₂

nach dem Verdunkeln erfolgen, man muß vielmehr warten, bis die eben erwähnte spontane Sauerstoff-Abgabe beendet ist. Diese O₂-Menge, die etwa 20% des ganzen Peroxyd-Sauerstoffs ausmacht, wird zu der titrimetrisch gefundenen addiert. Der Vergleich der Titration mit dem manometrischen Parallelversuch ergibt, daß für jedes manometrisch nachgewiesene Mol. Sauerstoff 4 Atome = 2 Mol. Jod ausgeschieden worden sind (siehe Tab. 3 auf S. 2233).

Die Tatsache, daß nach dem Verdunkeln 90% des im Licht absorbierten Sauerstoffs bei der manometrischen Bestimmung wieder erscheinen, beweist, daß der Sauerstoff in der Farbstoff-Amin-Lösung nur locker gebunden ist; die Tatsache, daß dieser Sauerstoff aus Jodwasserstoff Jod frei macht, charakterisiert ihn als „aktivierten“ Sauerstoff. Es kann sich nicht um ein Farbstoff-Peroxyd handeln, da die Zahl der entwickelten Sauerstoff-Moleküle die Zahl der in der Lösung befindlichen Farbstoff-Moleküle weit übertrifft (vergl. Tabelle 4 auf S. 2233). Wasserstoff-peroxyd — etwa entstanden bei der Dehydrierung des Amins — dürfte nach dem Ver-

Versuch 16—19). Weitere Verdünnung oder längere Belichtung läßt die Ausbeute an peroxydischem O_2 sinken (Versuch 15a).

2. Sehr bemerkenswert ist der Einfluß des Wassers. Mischt man reines Isoamylamin mit Wasser im molekularen Verhältnis, also 8.7 g $C_5H_{13}N$ mit 1.8 g H_2O , so tritt nach der Photoxydation durch Chlorophyll nur noch die Hälfte des absorbierten Sauerstoffs als Peroxyd in Erscheinung. Weiterer Zusatz von Wasser, bis zu 50%, ändert an diesem Ergebnis wenig. Nach dem Verdunkeln treten hier keine positiven Drucke auf, d. h. das vorhandene Peroxyd ist vollkommen beständig, wahrscheinlich Wasserstoffperoxyd (Tabelle 6 auf S. 2235).

Tabelle 7.

1 ccm Diisobutylamin; 0.5 mg Chlorophyll; Gas: O_2 ; 19°.

Zeit	Versuchs-Nr. 27	Zeit	Versuchs-Nr. 29
5' belichtet	212 cmm O_2 absorbiert	5' belichtet	200 cmm O_2 absorbiert
17' dunkel	+ 1 mg MnO_2 137 cmm O_2 entwickelt	Titriert:	2.25 ccm $n/100$ -Thiosulfat = 126 cmm O_2
	= 65% des absorbierten O_2		= 63% des absorbierten O_2

Tabelle 8.

5' belichtet; 19°; Gas: O_2 ; 0.5 mg Chlorophyll

1 ccm Isoamylamin	1 ccm Diisobutylamin
300 cmm O_2	200 cmm O_2
absorbiert	absorbiert

(60 Watt in 15 ccm Abst.)

3. Eine Lösung von Chlorophyll in Diisobutylamin enthält nach der Bestrahlung ungefähr 65% des im Licht absorbierten Sauerstoffs in Form von Peroxyd (Tabelle 7). Wie aus dem Vergleich mit Isoamylamin hervorgeht (Tabelle 8), verläuft die Photoxydation hier viel träger.

4. Bei einer $1/1$ -molaren Lösung von Äthylamin in Dioxan-Alkohol lassen sich etwa 50% des bei der Photoxydation verbrauchten Sauerstoffs im Dunkeln wiederfinden (Tabelle 9 auf S. 2238).

Zum Schluß sei noch erwähnt, daß die photochemische Bildung eines Peroxydes sich sehr einfach folgendermaßen nachweisen läßt: Man gibt in 2 Reagensgläser wenige ccm Tetrachlorkohlenstoff und einen Tropfen einer Lösung von Chlorophyll in Alkohol, in Dioxan oder dergl. Zu der einen Probe fügt man etwas Amylamin. Beide Gläser werden 1—2 Min. der Sonne oder einer anderen starken Lichtquelle ausgesetzt, ihr Inhalt darauf im Dunkeln mit Titan-Reagens überschichtet. Die amin-haltige Lösung gibt bei leichtem Umschütteln die bekannte Wasserstoffperoxyd-Reaktion, während die Kontrolle farblos bleibt. Natürlich entscheidet diese Farbreaktion nicht, ob Amin-Peroxyd oder Wasserstoffperoxyd beim Belichten gebildet wurde.

Beispiel einiger Versuchsprotokolle.

In den Protokollen auf S. 2237 bedeutet: H Hauptraum des Manometergefäßes, A dessen Anhang; G das Gas, mit dem das Manometer gefüllt ist;

Vers.-Nr.	3	4	8	9	15a	18
H	1 ccm Iso-amylin	1 ccm Iso-amylin	1 ccm Iso-amylin 0.5 mg Chlorophyll	1 ccm Iso-amylin 0.5 mg Chlorophyll	2 ccm 50-proz. Iso-amylin in Dioxan 2 mg Chlorophyll	1 ccm 50-proz. Isoamylin in Dioxan 0.2 mg Chlorophyll
A	2.5 mg MnO ₂ (trocken)	1 mg MnO ₂ + 0.05 ccm Isoamylin	1 mg MnO ₂ (feucht)	—	0.9 mg MnO ₂	—
G	O ₂ 19 ⁰	O ₂ 19 ⁰	O ₂ 19 ⁰	O ₂ 19 ⁰	O ₂ 18 ⁰	O ₂ 19 ⁰
T	Vf = 1 Ko ₂ = 1.24	Vf = 1 Ko ₂ = 1.24	Vf = 1.1 Ko ₂ = 1.20	Vf = 1.1 Vg = 12.6 Ko ₂ = 1.20	Vf = 2 Vg = 31.6 Ko ₂ = 3.0	Vf = 1.0 Vg = 12.7 Ko ₂ = 1.21
	gekippit: 2' dunkel	+20 +20	5' hell 7' dunkel 10' „ 15' „ gekippit 2' dunkel 4' „ 6' „	—239 +42 +44 Titriert: 3.5 ccm n/100 ^o Kontrolle: 0.0 ccm n/100 ^o - Thiosulfat	—2803 +6 +1120 +1610 +1835 +1863	5' hell 5' dunkel 9' dunkel Titriert: 2.62 ccm n/100 ^o Kontrolle: 0.28 ccm n/100 ^o = 2.34 ccm n/100 ^o -Thiosulfat

Tabelle 9.
1 ccm $1/1$ -molar. Äthylamin in Dioxan-alkohol 5:1; 18°, Gas: O₂.

Zeit	Versuchs-Nr. 30	Zeit	Versuchs-Nr. 31	Zeit	Versuchs-Nr. 32
5' belichtet	0.3 mg Chlorophyll 241 cmm O ₂ absorbiert	10' belichtet	0.2 mg Chlorophyll 321 cmm O ₂ absorbiert	10' belichtet	0.5 mg Chlorophyll 455 cmm O ₂ absorbiert
10' dunkel	+ 0.5 mg MnO ₂ ; 135 cmm O ₂ entwickelt = 56% des absorbierten O ₂	Titriert:	2.65 ccm $n_{/100}$ -Thiosulfat = 148 cmm O ₂ = 46% des absorbierten O ₂	40' dunkel	+ 0.5 mg MnO ₂ ; 232 cmm O ₂ entwickelt = 51% des absorbierten O ₂

T die Temperatur des Thermostaten, Vf das Flüssigkeits-, Vg das Gasvolumen in ccm; Ko₂ die Gefäßkonstante⁹⁾. Angegeben sind die in den zugehörigen Zeiten (Minuten) eingetretenen Druckänderungen in mm. Diese, multipliziert mit der Gefäßkonstanten, ergeben den absorbierten bzw. entwickelten Sauerstoff in cmm.

Das Kahlbaumsche Isoamylamin wurde frisch destilliert und nur der bei 96° übergelende Anteil verwendet. Das Dioxan wurde durch mehrfaches Destillieren über Ätzkali und durch fraktioniertes Ausfrieren gereinigt (Schmp. 9–10°, Sdp. 102°). Zur Abmessung kleiner Mengen Äthylchlorophyllid diente eine Lösung in Dioxan, die 0.5 mg in 0.1 ccm enthielt. Mengen über 1 mg wurden auf der Mikrowage abgewogen und direkt im Amin usw. gelöst. Das Mangandioxyd war gefälltes und bei 100° getrocknetes Hydrat. Es wurde im Anhang des Versuchs-Gefäßes stets mit einem Tropfen der jeweils verwendeten Lösung befeuchtet, um zu verhindern, daß anhaftende Gase beim späteren Einkippen Drucke im Manometer erzeugten (vergl. Nr. 3 u. 4). Die Titrationen wurden mit $n_{/100}$ -Thiosulfat in einer Lösung ausgeführt, die pro ccm Versuchslösung ca. 20 ccm $n_{/1}$ -H₂SO₄ enthielt. Die entsprechenden Kontrollversuche (Eingießen von unbelichteten und einige Zeit im Dunkeln gehaltenen Amin-Chlorophyll-Lösungen in saure überschüssige Jodkalium-Lösung) gaben in einigen Fällen eine meßbare Jod-Ausscheidung, die in Rechnung gestellt wurde (vergl. Nr. 18). Die Belichtung erfolgte meistens mit einer 75-Watt-Metallfaden-Lampe in 10 cm Entfernung (vergl. Fig. 3).

⁹⁾ Nach O. Warburg, Biochem. Ztschr. **152**, 51 [1924].