Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Über das Gummiferment.

Ein neues diastatisches Enzym, welches die Gummi- und Schleimmetamorphose in der Pflanze bedingt.

Von dem w. M. **Julius Wiesner.**

Über die Entstehung des Gummi in der Pflanze ist nur wenig bekannt. Dass die bassorinführenden Gummiarten aus Cellulose hervorgehen, wird allgemein angenommen; hingegen sind die Ansichten darüber noch getheilt, ob auch die arabin- und cerasinführenden Pflanzengummiarten desselben Ursprunges sind.

Die bassorinhaltigen Gummiarten verrathen ihr Hervorgehen aus Cellulose zumeist schon durch ihre zellige Textur, welche beim Traganth, wie bekanntlich H. v. Mohl zuerst zeigte, mehr oder minder deutlich ausgesprochen ist, beim Gummi von *Moringa pterygosperma* Gärt., wie ich zuerst darlegte[1], mit weitaus grösserer Schärfe hervortritt. Hier gibt also das Gummi im fertigen Zustande Auskunft über das Materiale, aus welchem es hervorgegangen. Die Form des Gewebes ist im Wesentlichen erhalten geblieben; was aber im Gewebe Cellulose war, tritt uns nun als Gummi, und zwar in dem genannten Falle der Hauptsache nach als Bassorin entgegen.

Die cerasinhaltigen Gummiarten, zu welchen unter anderen das Gummi unserer Stein- und Kernobstbäume (Kirschen-, Pflaumen-, Aprikosengummi etc.) gehört, lassen im fertigen Zustande keine Spur einer zelligen Textur erkennen. Nach Wigand[2]

---

[1] Wiesner, die Gummiarten, Harze und Balsame. Erlangen 1869, p. 51; im Nachfolgenden kurz mit „Gummi und Harze" citirt.

[2] Über die Desorganisation der Pflanzenzelle, in Pringsheim's Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. III., p. 115 ff.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

gehen dieselben, gleich dem Traganth, aus Cellulose hervor, hingegen soll nach einigen anderen Beobachtern die Stärke das Materiale für diese Gummiarten bilden. Die Angaben Wigand's fanden später, namentlich durch Frank, Bestätigung. Es kann keinem Zweifel mehr unterliegen, dass sowohl stärkefreie Zellen der Rinde als des Holzes der Gummimetamorphose verfallen können. Frank räumt indess der Stärke in manchen Fällen doch einen grösseren Einfluss bei der Gummibildung ein, indem sie nach seinen Beobachtungen neben der Cellulose Materiale zur Entstehung dieses Körpers liefert[1]. Hingegen soll nach den Angaben Mercadante's[2] das Stärkmehl der der Gummimetamorphose unterliegenden Geweben in der Pflanze eine andere Verwendung finden.

Auch die arabinhaltigen Gummiarten (arabisches, Senegalgummi etc.) lassen im fertigen Zustande keinerlei Structurverhältnisse erkennen, so dass auch hier nur die Entwicklungsgeschichte entscheiden kann, aus welchen Gewebsantheilen dieselben hervorgehen. Auf Grund von Beobachtungen, welche im Wesentlichen mit den auf die Entstehung der cerasinhaltigen Gummiarten bezugnehmenden übereinstimmen, wird hier die Cellulose als jenes Material betrachtet, aus welchem in der Regel der integrirende Bestandtheil dieser Substanzen — das Arabin — hervorgeht.

So ist es also bezüglich einzelner Gummiarten gewiss, dass sie gänzlich aus Cellulose hervorgehen; ferner kann es derzeit auch schon als gewiss angesehen werden, dass die übrigen Gummiarten meist gänzlich oder vorwiegend aus Cellulose entstehen. Ob nicht in manchen Fällen der Gummibildung das Stärkemehl die Cellulose substituiren könne, werden spätere Untersuchungen erst zu entscheiden haben.

Durch welche in den Geweben der Pflanze stattfindende Processe die Cellulose in Gummi oder Schleim umgewandelt wird, ist derzeit noch unbekannt. Einige gelegentlich am arabischen Gummi gemachte Wahrnehmungen führten mich auf die Vermuthung, dass diese Umwandlung durch ein (ungeformtes) Ferment

---

[1] Frank, Krankheiten der Pflanzen. Breslau 1880, p. 85 ff. und Ber. der Deutsch. Bot. Gesell. 1884. p. 321 ff.

[2] Ber. der Deutsch. Chem. Gesell. 1876, p. 518.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

erfolge. Von vornherein steht dieser Vermuthung wohl auch nichts im Wege, da eine Umwandlung von Kohlenhydraten in andere durch Fermente im pflanzlichen Organismus etwas ganz gewöhnliches ist, beispielsweise die Stärke durch diastatische Fermente in Dextrin und Maltose übergeht.

Die nachfolgenden Untersuchungen beziehen sich in erster Linie auf die natürlichen Gummiarten, also auf Substanzen, welche im Wesentlichen aus Arabin, Cerasin und Bassorin bestehen. Doch soll auch die Frage der Entstehung der vegetabilischen Schleime und der Gummiharze erörtert werden. Die ersteren bilden sich in vielen Fällen, wie dies die mikroskopische Beobachtung lehrt, ähnlich wie der Traganth, aus Cellulose hervor.[1] Da nun die Schleime in chemischer Beziehung den Gummiarten sehr nahe stehen, so schien es zweckmässig, zum mindesten auf jene Arten Rücksicht zu nehmen, welche gleich den natürlichen Gummiarten aus Cellulose hervorgehen. Über die Entstehung der Gummiharze liegen noch keine genaueren Beobachtungen vor. Es schien mir zweckmässig, anschliessend an die Gummiarten, auch einige Versuche mit Gummiharzen anzustellen. Auch über die Entstehung des Holzgummi werden einige Beobachtungen folgen.

---

1. Wird eine Lösung von arabischem Gummi mit Guajaktinctur versetzt, so tritt nach kurzer Zeit eine intensive Blaufärbung des sich emulsionsartig ausscheidenden Guajakharzes ein.[2] Noch rascher, fast augenblicklich, stellt sich die Blaufärbung ein, wenn man eine Lösung von frischem Aprikosengummi mit dem genannten Reagens behandelt.

---

[1] Frank in Pringsheim's Jahrbüch. Bd. V. p 25 ff.

[2] Dass arabisches und Senegalgummi durch Guajaktinctur blau gefärbt werden, gab Planche (Vergl. Schwanert und Stohmann in Muspratts Chemie Bd. II. p, 1563) zuerst an und gründete hierauf den Nachweis dieser Gummiarten in verfälschtem Traganth. Dieser Nachweis aber ist, wie ich fand, keineswegs sicher, indem nicht nur fast alle cerasin- und arabinhaltigen Gummiarten, sondern auch, wie ich weiter unten zeigen werde, selbst der Traganth bei Beobachtung gewisser Vorsichten die Guajakemulsion bläuen.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Da nun einige (ungeformte) Fermente, z. B. Diastase, gleichfalls die Guajakemulsion bläuen [1], da ferner die wässerigen Lösungen der Gummiarten beim Schütteln stark schäumen, eine Eigenthümlichkeit, welche gleichfalls mehreren Fermenten zukömmt, z. B. der Diastase, dem Myrosin etc., so wurde ich auf den Gedanken geleitet, in den Gummiarten ein Ferment anzunehmen, welches als Begleiter des Arabins, bzw. Cerasins und Bassorins auftritt und möglicherweise den Rest eines bei der Entstehung der Gummiarten betheiligten Körpers repräsentirt, eine Annahme, welche, wie die nachfolgenden Zeilen zeigen werden, durch die Beobachtung bestätigt wurde.

Der Hauptbeweis für das Vorhandensein eines Fermentes im Gummi liegt in den fermentativen Wirkungen des fraglichen Körpers, welche im dritten Paragraphen dieser Abhandlung ausführlich abgehandelt werden sollen. Hier will ich nur hervorheben, dass sich die Gegenwart stickstoffhaltiger Verbindungen — und alle bis jetzt bekannten Fermente sind stickstoffhaltig — durch die bekannte Natriumprobe (Bildung von Cyannatrium) nachweisen lässt, und dass sowohl durch die Raspail'sche Reaction (mittelst Zuckerlösung und Schwefelsäure) als auch durch das Millon'sche Salz das Vorkommen von Eiweisssubstanzen im Gummi festgestellt werden kann. Die Raspail'sche Reaction gelingt am besten unter Mikroskop.

2. Zur Nachweisung diastatischer Fermente. Es sollte zunächst geprüft werden, ob der im arabischen Gummi vorhandene fragliche Körper in die Kategorie der diastatischen Fermente zu stellen ist. Hierunter ist nicht nur die gewöhnliche oder Malzdiastase (Maltin), sondern jedes Ferment zu ver-

---

[1] Schönbein (Journ. f. prakt. Chem. CVI [1869]) gab Guajaktinctur als empfindlichstes Reagens auf Fermente an. Die letzteren färben bei Gegenwart von kleinen Mengen von Wasserstoffsuperoxyd das Guajakharz blau, selbst wenn sie nur in sehr geringen Mengen vorhanden sind. Später hat Baranetzky (Die stärkeumbildenden Fermente, Leipzig 1878. p. 9 ff.) gezeigt, dass manche Fermente schon ohne Zusatz von Wasserstoffhyperoxyd die Guajakemulsion bläuen. Doch sollen auch stärkeumbildende Fermente in der Pflanze vorkommen, welche auf Guajakharz nicht reagiren. Es wären dies diastatische, aber mit der Malzdiastase nicht übereinstimmende Fermente.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

stehen, welches die Stärke in andere lösliche Kohlenhydrate verwandelt, also alle jene Körper, welche Baranetzky als „stärkeumbildende Fermente" zusammengefasst hat.[1]

Zum Nachweise der diastatischen Fermente empfiehlt sich am meisten — jedoch mit gewissen in diesem Paragraph näher auseinandergesetzten Abänderungen — die von Baranetzky angegebene Methode, welche er[2] in folgenden Worten schildert: „Die Anwesenheit des diastatischen Fermentes wurde an Verflüssigung des Kleisters und dessen Verwandlung in eine vollkommen klare Lösung erkannt. Dieses Kriterium ist sicherer als das Erscheinen des Zuckers in der Flüssigkeit, denn wir werden später sehen, dass die Bildung des Zuckers nicht mit dem Auflösen der Stärke parallel zu gehen braucht."

Mit Zuhilfenahme dieses Verfahrens fand Baranetzky diastatische Fermente in vielen stärkehaltigen Samen, stärkehaltigen Knollen, in Stengeln und Blättern zahlreicher Pflanzen und selbst in stärkefreien Organen vieler Gewächse, z. B. in der gelben Rübe auf.

Wenn die diastatische Wirkung des Fermentes eine sehr energische ist, so dass die Kleisterflüssigkeit sich schon in wenigen Stunden oder in noch kürzerem Zeitraum klärt, so ist das genannte Verfahren ohne Bedenken anzuwenden. Wenn hingegen, wie dies in vielen von Baranetzky beobachteten Fällen nöthig war, ein Zeitraum von 24—48 Stunden erforderlich ist, um den Kleister in eine klare Flüssigkeit zu verwandeln, so muss mit einer bestimmten Vorsicht vorgegangen werden.

Wird nämlich ein halbprocentiger Stärkekleister an der Luft stehen gelassen — bei einer Temperatur von 20—22° C. — so bleibt er entweder durch 48 Stunden unverändert oder er klärt sich nach 10 — 40 Stunden gewissermassen von selbst

---

[1] Der Ausdruck „diastatische" oder „stärkeumbildende" Fermente als zusammenfassende Bezeichnung für alle jene Enzyme, welche aus Stärke Dextrin und andere lösliche Kohlenhydrate bilden, scheint mir empfehlenswerther als der Ausdruck „zuckerbildende Fermente", welchen A. Mayer in seinem unten citirten Werke für diese Substanzen gebraucht, denn es gibt stärkeumbildende Fermente, welche keinen Zucker bilden, wie diese Abhandlung lehren wird.

[2] l. c. p. 13.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

vollständig, oder er wird innerhalb 48 Stunden noch trüber als er anfangs war; beides in Folge Bildung von Fermentorganismen, welche zum mindesten im ersteren Falle diastatisch wirkten.[1]

Stellt man gekochten Stärkekleister in einer vorher auf 200° erhitzten Eprouvette auf und verschliesst man die letztere mit einer auf 140° erhitzten Watte, so bleibt derselbe tagelang vollständig unverändert. Es scheint mithin empfehlenswerth, die Prüfung des fraglichen Fermentes mit sterilisirtem Stärkekleister vorzunehmen. Da indess auch die Gummilösung sterilisirt werden müsste, das Gummi aber, wie wir später sehen werden, durch das Kochen seine fermentative Wirkung vollkommen einbüsst, so lässt sich das Sterilisirungsverfahren nicht anwenden. Wohl aber lehren die Beobachtungen über die scheinbar spontanen Veränderungen des Stärkekleisters, dass es nothwendig ist, neben jeder zur Prüfung auf die diastatische Wirkung eines Fermentes verwendeten Stärkekleistermischung noch zum Vergleiche eine Probe des verwendeten Kleisters unter völlig gleichen Verhältnissen aufzustellen, und nöthigenfalls das geklärte Gemenge des Kleisters mit dem auf seine diastatische Wirkung zu prüfenden Ferment auf Bacterien zu untersuchen.

Es scheint nun am zweckmässigsten, die Trommer'sche Zuckerprobe zum Nachweise der diastatischen Wirkung zu verwenden. Dieser Weg führt aber, so sicher er zur Auffindung des Maltins sich erwies, in unserem Falle gar nicht zum Ziele, indem die Wirkung des im Gummi enthaltenen Fermentes eine ganz andere ist, als die der bisher untersuchten diastatischen Fermente; es wird nämlich unter Einwirkung des Fermentes auf den Stärkekleister gar kein reducirender Zucker gebildet, wie ich weiter unten bei der Schilderung der Eigenschaften des fraglichen Fermentes noch näher angeben werde.

[1] Die diastatische Wirkung gewisser Bacterien hat zuerst J. Wortmann (Zeitschrift für physiologische Chemie Bd. 6 Heft 4 und 5) nachgewiesen, indem er zeigte, dass die Bacterien, wenn ihnen nicht eine andere brauchbare Kohlenstoffverbindung zu Gebote steht, den Kleister in gleicher Weise, wie die Malzdiastase in Dextrin und schliesslich in reducirenden Zuker umsetzen. Vergl. auch die unten citirte Schrift von A. Meyer p. 3 und Prazmowski, Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte und Fermentwirkung einiger Bacterienarten. Leipzig 1880.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Die bisher bekannten diastatischen Fermente haben die Eigenschaft, die Jodreaction auf Stärkekleister aufzuheben oder einzuschränken. Wird Stärkekleister mit Diastase versetzt und sodann ein Tropfen wässerige Jodlösung eingetragen, so entsteht Blaufärbung, welche aber fast so rasch, als sie entstanden ist, wieder verschwindet. Setzt man mehr von der Jodlösung zu, so tritt lebhafte Blaufärbung ein, welche aber je nach der Menge des vorhandenen Ferments in kürzerer oder längerer Zeit verschwindet. Diese Reaction ist wohl recht auffällig, empfiehlt sich aber zum Nachweis auf Diastase nicht, da auch andere Fermente dasselbe Verhalten dem Jodstärkekleister gegenüber zeigen, besonders auffällig das Invertin, und weil zahlreiche anorganische und organische Verbindungen ein gleiches Verhalten zeigen.

Lässt sich nun auch die Reaction mittelst Jodlösung zur Auffindung des diastatischen Fermentes nicht heranziehen, so gibt dieselbe in Verbindung mit dem auf die Löslichmachung des Kleisters basirten Verfahren, unter Anwendung bestimmter Vorsichten, den Beobachtungen eine grössere Sicherheit. Ist nämlich der Stärkekleister durch die Wirkung des diastatischen Ferments verflüssigt, so geht dessen Wirkung noch weiter, indem die Granulose sich successive in andere lösliche Kohlenhydrate umwandelt, auf welche entweder die Jodlösung nicht mehr reagirt (z. B. Maltose, Dextrose, Achrodextrin) oder Farbenerscheinungen hervorruft, welche von der bei Granulosereaction auftretenden vollkommen verschieden sind. Letzteres ist bekanntlich bei Erythrodextrin der Fall, welches unter den bei diastatischen Processen auftretenden Producten bisher niemals vermisst wurde. Verschwindet nun bei Einwirkung der Diastase auf Stärkekleister die eigentliche Stärkesubstanz — die Granulose — so gibt Jodlösung keine Bläuung mehr, während bei Gegenwart von solchen Körpern, welche wie z. B. Phenol, die Jodstärkereaction beeinträchtigen, wenigstens vorübergehend oder bei starkem Jodzusatz durch längere Zeit die Gegenwart der Granulose sich zu erkennen gibt.

Nach den im Vorstehenden kurz mitgetheilten Erfahrungen hat sich folgendes Verfahren zur Auffindung der diastatischen Fermente als das zweckmässigste herausgestellt. Die zu prüfende

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Substanz wird im gelösten Zustande mit halbprocentigem Stärkekleister gemischt und in einer Eprouvette unter losem Watteverschluss aufgestellt, daneben eine Eprouvette mit Kleister, welcher mit destillirtem Wasser so weit verdünnt wurde, dass er in Färbung und Durchsichtigkeit mit der Probe übereinstimmt. Auch diese Eprouvette wird unter losem Watteverschluss gehalten. Von Zeit zu Zeit wird das Aussehen beider Flüssigkeiten verglichen. Am deutlichsten treten die Unterschiede hervor, wenn man die Eprouvette in schief auffallendem Lichte betrachtet. Ist die Probeflüssigkeit klar geworden, während der Kleister noch sein bläuliches opalisirendes Aussehen bewahrt hat, so lässt sich schon mit grosser Wahrscheinlichkeit auf das Vorhandensein eines diastatischen Fermentes schliessen. Unterbleibt nach einiger Zeit in der Probeflüssigkeit die Blaufärbung auch bei reichlichem Jodzusatz vollständig, während der reine Kleister noch tiefblau gefärbt wird, so kann an dem Vorhandensein eines diastatischen Fermentes nicht mehr gezweifelt werden. Nur wenn die Klärung des Kleisters lange auf sich warten lässt, hat man sich zu vergewissern, dass die Auflösung nicht durch Bacterien hervorgerufen wurde.

3. Nachweis eines diastatischen Fermentes im arabischen Gummi. Werden fünf CC. einer zweiprocentigen Lösung von arabischem Gummi mit einem CC. eines halbprocentigen Stärkekleisters gemengt und mit verdünntem Kleister verglichen, so stellt sich bei einer Temperatur von 20—22° C. und nach sechsstündiger Dauer des Versuches in der erstgenannten Probeflüssigkeit völlige Klärung ein, während der reine Kleister unverändert erscheint. Nach 21 Stunden ist in der Gummilösung durch Jodsolution keine Granulose, wohl aber Erythrodextrin nachweisbar, während der reine Kleister noch die normale Blaufärbung auf Jodzusatz annimmt.

Der Versuch wurde mit ähnlichem Erfolge mehrmals wiederholt. Bei Anwendung einer fünfprocentigen Lösung von arabischem Gummi tritt in kürzerer Zeit sowohl die Klärung der Flüssigkeit als die Enythrodextrinreaction ein.

Zahlreiche analoge mit 1—10 procentiger Gummilösung durchgeführte Versuche lieferten ein gleiches Ergebniss: in allen Fällen wurde der Kleister in eine klare Lösung verwandelt, die

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Jodreaction auf Granulose wurde immer undeutlicher und die Erythrodextrinreaction stellte sich ein. Nach weiterer Einwirkung verschwand das Erythrodextrin, indem es sich in das auf Jod nicht mehr reagirende Achroodextrin umwandelte.

Wie die Wirkung der Malzdiastase, so kann auch die Wirkung des im Gummi enthaltenen Fermentes auf Stärkekleister durch Erwärmung gesteigert werden, wie folgender Versuch lehrt. Eine zweiprocentige Lösung von arabischem Gummi im Wasser wurde mit halbprocentigem Stärkekleister gemengt und in zwei gleiche Theile getheilt. Eine Portion *(a)* blieb bei gewöhnlicher Temperatur, die andere *(b)* bei 40° C. stehen. Nach anderthalb Stunden wurde *a* durch Jodlösung noch intensiv blau, während *b* blos mehr die Erythrodextrinreaction zeigte. Nach vier und einer halben Stunde war in *b* auch das Erythrodextrin nicht mehr nachweisbar, während in *a* wohl alle Granulose verschwunden war, aber noch reichlich Erytrodextrin durch Jod angezeigt wurde.

Wie schon früher angedeutet, geht die diastatische Wirkung des im arabischen Gummi enthaltenen Fermentes nicht weiter als bis zur Bildung von Achroodextrin. Auch wenn das Gummi durch 24 Stunden bei einer Temperatur von 40° oder durch 8 Tage bei gewöhnlicher Temperatur auf den Kleister einwirkt, so lässt sich durch die Trommer'sche Probe keine Spur einer reducirenden Zuckerart nachweisen. Auch reines Dextrin geht unter langanwährender Einwirkung von arabischen Gummi nicht in Zucker über.

4. Zerstörung des Fermentes durch Kochen. Es ist bekannt, dass die meisten Fermente die Siedehitze nicht oder nicht durch längere Zeit vertragen. Es gilt dies unter anderem auch für die diastatischen Fermente. Wird eine Lösung von Malzdiastase in Wasser eine halbe Stunde auf Siedhitze erhalten, so ist die stärkeumbildende Kraft desselben erloschen. Wird frische Diastaselösung mit einem Tropfen Guajaktinctur versetzt, so färbt sich in wenigen Augenblicken die ausgeschiedene Harzemulsion intensiv blau. Wird die Lösung hingegen gekocht, so nimmt die Guajakreaction sehr rasch ab. Nach viertelstündigem Kochen stellt sich in der abgekühlten Lösung erst nach einigen Stunden eine Spur einer Blaufärbung ein, wenn man mit Guajaktinctur

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

versetzt hat. Länger andauerndes Kochen hebt diese Reaction vollkommen auf.

Ein gleiches Verhalten bietet eine Lösung von arabischem Gummi dar. Wird die Lösung durch anderthalb Stunden im Sieden erhalten, so ist sie dem Kleister gegenüber vollkommen unwirksam geworden. Im frischen Zustande stark und rasch auf die Guajakharzemulsion wirkend, genügt ein nur wenige Minuten anhaltendes Kochen, um diese Reaction stark abzuschwächen. Indess muss man die Gummilösung länger als eine Stunde im Sieden erhalten, um die Guajakreaction vollkommen zu eliminiren. Nach anderthalbstündigem Kochen zeigt die Lösung selbst nach 12 Stunden keine Spur einer Blaufärbung, wenn Guajaktinctur zugesetzt wurde.

Aus den mitgetheilten Beobachtungen ergibt sich nicht nur die Zerstörung des im Gummi enthaltenen Fermentes durch die Siedehitze, sondern es lässt sich aus denselben auch folgern, dass das Ferment des Gummi mit jener Substanz des arabischen Gummi identisch sein dürfte, welche dessen Blaufärbung durch Guajaktinctur bedingt.

5. Specifische Eigenschaften des Gummifermentes. Das im arabischen Gummi enthaltene Ferment lässt sich, wie ich später zeigen werde, auch in den meisten anderen natürlichen Gummiarten, ferner in den aus Cellulose hervorgehenden Pflanzenschleimen, sodann im Holzgummi und in einigen Gummiharzen nachweisen, ferner in jenen Geweben, in welchen aus Cellulose Gummi entsteht. Ich schlage für dasselbe den Namen Gummiferment vor.

Dieser Körper ist mit keinem der bekannten Fermente identisch. Er wirkt weder invertirend, noch peptonisirend, noch emulgirend. Auch ist dieses Enzym nach mehrfachen Versuchen, welche mit Amygdalin angestellt wurden, nicht befähigt, Glycoside gleich dem Emulsin und Myrosin zu zerlegen.

Wohl aber ist es nach den früher mitgetheilten Versuchen in die Reihe der diastatischen Fermente zu stellen, sofern man unter diesen alle stärkeumbildenden Fermente versteht. Mit der gewöhnlichen oder Malzdiastase (Maltin) ist das Gummiferment nicht identisch, da es nicht wie jenes die Stärke in Dextrin und Maltose spaltet. Als Product der diastatischen Wirkung des

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Gummifermentes konnte bis jetzt, wie schon erwähnt, nur Dextrin nachgewiesen werden. Die später folgenden mikrochemischen Befunde lassen wohl keinen Zweifel darüber, dass das Gummiferment die Cellulose[1] der Zellwand in Gummi, nämlich in Arabin, beziehungsweise Cerasin oder Bassorin umsetzt.

Ist das Gummiferment schon durch die Eigenthümlichkeit, nach Auflösung der Stärke Dextrin, aber keine die Trommer'sche Probe reducirenden Zucker zu bilden, von der Diastase unterschieden, so lässt sich auch durch die folgende Reaction eine Unterscheidung herbeiführen.

Vor einigen Jahren hat C. Reiche[2] eine Methode angegeben, welche erlaubt, Gummi (arabisches, Kirschgummi, Traganth etc.) von anderen ähnlichen Kohlenhydraten, namentlich von dem den Gummiarten in den physikalischen Eigenschaften so nahestehenden Dextrin, aber auch von sämmtlichen Zuckerarten, von Stärke und Cellulose mit Sicherheit zu unterscheiden und die Anwesenheit des Gummi neben den genannten Kohlenhydraten in Gemengen zu constatiren.

Kocht man nämlich ein Gemenge von Gummi und Orcin mit concentrirter Salzsäure durch einige Zeit, so färbt sich die Flüssigkeit roth, hierauf violett und scheidet einen tiefblau gefärbten Niederschlag ab, welcher in Weingeist löslich ist.

Von dem Zutreffen dieser Reaction habe ich mich vielfach überzeugt.

Diese sehr auffälligen Reactionen rühren aber nicht von den wesentlichen Bestandtheilen des Gummi (Arabin, Cerasin, Bassorin), sondern wie ich finde von dem in den käuflichen Gummiarten nie fehlenden Ferment her, wie schon der Vergleich mit anderen den gleichen Reactionen unterworfenen Fermenten lehrt.

---

[1] Dass das Gummiferment Cellulose auflöst, geht schon aus der Thatsache hervor, dass es den Stärkekleister, welcher ja nur durch die Cellulosehäutchen der Stärkekörnchen getrübt ist, klärt. Indess theilt es diese Eigenschaft mit der gewöhnlichen Diastase. Ob die letztere die Cellulose in dieselben Producte zerlegt wie die Granulose, ist bis jetzt noch nicht untersucht werden.

[2] Zeitschrift für analytische Chemie 19. Jahrg. p. 357; nach Chem. news 38. p. 145.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Wird Diastase mit Orcin und Salzsäure gekocht, so färbt sich die Flüssigkeit tiefroth und scheidet ohne violett zu werden einen braunen Niederschlag ab, welcher in Weingeist mit gelbbräunlicher Farbe sich löst.

Bei Anwendung von Pepsin statt Diastase erhält man eine rothe Flüssigkeit, welche einen schmutzig violett gefärbten Niederschlag abscheidet, der sich in Weingeist mit rother Farbe löst. Der blaue, durch das Gummiferment erzeugte Niederschlag löst sich hingegen in Weingeist mit violetter, später rother Farbe.

Völlig gleiche Färbung entsteht, wenn arabisches Gummi beziehungsweise Diastase oder Pepsin mit Pyrogallussäure und Salzsäure gekocht werden. Die Flüssigkeit färbt sich in jedem Falle tief zirkonroth und scheidet nach längerem Kochen einen braunen Niederschlag ab.

Hingegen lässt sich das Gummiferment sowie durch Orcin auch durch Phloroglucin von Diastase und Pepsin unterscheiden. Wird etwa 1 Cgm. arabisches Gummi mit einigen Tropfen einer wässerigen vierprocentigen Phloroglucinlösung und mit circa 2 CC. concentrirter Salzsäure gekocht, so wird die Flüssigkeit sehr rasch roth, dann violett und scheidet einen dunklen Niederschlag aus, welcher in Weingeist vertheilt lebhaft violett gefärbt erscheint. Wird ein kleines Quantum von Diastase in analoger Weise behandelt, so wird die Flüssigkeit zuerst goldgelb, sodann roth, endlich braun und scheidet einen braunen Niederschlag ab, welcher sich in Alkohol mit rothbrauner und bei starker Verdünnung goldgelber Farbe löst. Dasselbe Ergebniss erhält man bei Verwendung von Pepsin statt Diastase.

Die Reaction auf das Ferment des arabischen Gummi ist eine sehr empfindliche, denn in einer einprocentigen Gummilösung lässt sich durch Orcin und Salzsäure noch immer an den sich einstellenden Färbungen die Gegenwart des Fermentes erkennen, obgleich in dem verwendeten Materiale vielleicht nur einige Procente, in der zur Reaction benützten Gummilösung mithin nur zehntausentel Theile des Fermentes zugegen gewesen sein mochten.

Auch in sehr verdünnten Pepsinlösungen, welche auf 10.000 Gewichtstheile blos 5—8 Gewichtstheile Pepsin enthielten, liess sich durch Orcin und Salzsäure noch die Gegenwart des Pepsins nachweisen.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Die Empfindlichkeit der Orcinprobe stimmt, nach Beobachtungen zu schliessen, welche ich an arabischem Gummi anstellte, mit der der Guajakprobe überein; denn die Grenze für die Guajakreaction ist auch durch eine einprocentige Lösung des Gummi gegeben.

Bezüglich der Orcinprobe auf Gummiferment möchte ich noch bemerken, dass dieselbe sich auch noch zu erkennen gibt, wenn das Ferment durch Kochen zerstört wurde. Es ist, wie indess das Zustandekommen der Reaction schon vermuthen lässt, ein Spaltungs- oder Zersetzungsproduct des Fermentes, welches die beim Kochen mit Orcin (oder Phloroglucin etc.) und Salzsäure entstehenden charakteristischen Farbstoffe hervorbringt.

Die im Vorstehenden mitgetheilten Thatsachen werden wohl genügen, um darzuthun, dass die Reactionen des arabischen und der anderen Gummiarten mit Orcin (oder Phloroglucin) und Salzsäure nicht von den dieselben vornehmlich constituirenden Kohlenhydraten, sondern von dem begleitenden Fermente herrühren. Noch anschaulicher als durch die angeführten vergleichenden Reactionen wird dies durch die später folgenden mikrochemischen Nachweise dargethan, welche lehren, dass das Gummiferment im Zellinhalte auftritt und der Entstehung des aus der Zellhaut sich bildenden Gummi voraneilt.

5. Nachweis des Fermentes in anderen Gummiarten. Um die Verbreitung des Fermentes kennen zu lernen habe ich zunächst zahlreiche von den verschiedensten Pflanzen abstammende Gummiarten auf dasselbe und zwar durch Anwendung von Stärkekleister, Orcin und Guajak geprüft. Es waren die folgenden:

Gummi von Amygdalenen und zwar von *Amygdalus communis* L., *Persica vulgaris* DC., *Prunus domestica* L., *P. avium* L., *P. cerasus* L. und *P. Armeniaca* L. Frisch ausgeflossene Stücke geben in wässeriger Lösung sowohl die Orcin- als die Guajakreaction, entfärben nach kurzer Zeit den Jodstärkekleister und klären verdünnten Stärkekleister, dessen Granulose successive in Dextrin verwandelnd. Auch Stücke dieser Gummiarten, welche durch zehn Jahre in der Sammlung aufbewahrt waren, gaben die genannten Reactionen. Hingegen war an einem Stücke Pflaumengummi, welches durch lange Zeit der Einwirkung der

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Atmosphärilien ausgesetzt war und in Folge dessen ganz rissig und braunschwarz geworden war, keine dieser Reactionen mehr deutlich zu bekommen.

Arabisches Gummi. Ausser den besten Sorten von arabischem Gummi, welche zu den oben mitgetheilten Versuchen dienten, benützte ich noch einige Sorten von Gummi echter Acacien, welche mit dem arabischen Gummi nahezu oder vollkommen übereinstimmen, und zwar Handelssorten von Senegal-, Cap- und Geddagummi. Sowohl diese als Proben dieser Gummiarten, welche durch 10—20 Jahren in Sammlungen lagen, gaben alle genannten Reactionen in sehr ausgesprochener Weise.

Gummi von *Moringa pterygosperma* Gärt. (Gomme de ben-ailé)[1], *Swietenia senegalensis* Desr. Aus der Sammlung des pharmakognostischen Institutes der Wiener Universität[2], *Eriodendron orientale* Steud. (Pharmakogn. Sammlung), *Acacia Lebbek* Willd. (Pharmakogn. Sammlung), *Puja coarctata* Gay, (Chagualgummi),[3] *Feronia Elephantum* Corr. (echtes ostindisches Gummi),[4] *Odina Wodier* Roxb. (Pharmakogn. Sammlung) und *Mangifera indica* L. (Pharmakogn. Sammlung).

Mit Ausnahme der letztgenannten Gummiart färbten alle anderen das aus der Guajaktinctur sich ausscheidende Harz blau, gaben die oben beschriebene Orcinreaction, entfärbten den blauen Jodstärkekleister und liessen die Umwandlung der Granulose in Dextrin erkennen. Das Gummi von *Mangifera indica* gab weder mit Orcin noch mit Guajak die Fermentreactionen und wirkte nur in zweifelhafter, zum mindesten auffällig träger Weise auf Stärkekleister ein, so dass entweder in dieser Gummiart das Ferment gar nicht oder nur spurenweise vorhanden ist. Aber selbst angenommen, dass in dem untersuchten Mangifera-Gummi das Ferment vollständig fehlen würde, so könnte aus dieser Thatsache noch nicht der Schluss abgeleitet werden, dass dasselbe auf andere Weise als die übrigen durch die Gegenwart

---

[1] Beschrieben in Wiesner, Gummi und Harze, Erlangen 1869 p. 50 ff.

[2] Diese und noch mehrere andere seltenere, derselben Sammlung angehörigen oben näher bezeichnete Gummiarten wurden mir von Herrn Prof. A. Vogl freundlichst zur Untersuchung überlassen.

[3] S. über diese Gummiart: Gummi und Harze, p. 46 ff.

[4] Gummi und Harze, p. 33.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

des Fermentes ausgezeichneten Gummiarten entstehe, wie ja auch unter Umständen das Pflaumengummi, wie ich oben erwähnte, seines Fermentes verlustig geht.

Die Beziehung des Fermentes zur Entstehung des Gummi aus Cellulose wird erst weiter unten näher dargelegt werden; ich wollte an dieser Stelle nur andeuten, dass, so sehr die Anwesenheit des Ferments im fertigen Gummi auf die Mitwirkung des ersteren bei der Bildung des letzteren hinweist, aus seiner Abwesenheit noch nicht gefolgert werden dürfe, dass es bei der Entstehung des Gummi nicht betheiligt sei.

Ich bemerke noch, dass sowohl die Guajak- als die Orcinreaction sich in den angeführten Fällen stets leicht mit einem CC. 2—5 procentiger Lösung durchführen liess, die Orcinreaction zudem leicht mit einem Körnchen festen Gummi, das mit einigen Tropfen vierprocentiger Orcinlösung und mit 1—2 CC. Salzsäure gekocht wurde. Besonders auffällig trat in Lösungen des Gummi folgender Pflanzen die Orcinreaction ein: *Acacia Lebbek, Puja coarctata, Feronia Elephantum* und *Eriodendron orientale.*

Der Nachweis des Fermentes erfordert in einzelnen Fällen einige Aufmerksamkeit. Wird z. B. der Traganth zerkleinert und mit Wasser übergossen, so gibt die Lösung selbst nach 24 Stunden keine Bläuung durch Guajaktinctur. Und so lässt sich thatsächlich der Traganth von arabischem und Senegalgummi unterscheiden, wie Planche angab. Doch ist die Unterscheidung insoferne keine sichere, als nicht nur, wie gezeigt wurde, zahlreiche andere Gummiarten, vielleicht geradezu alle, die Guajakemulsion bläuen, sondern auch der Traganth, bei Anwendung bestimmter Vorsichten.

Wird derselbe nämlich mit Wasser übergossen, bis zum vollkommenen Aufquellen stehen gelassen und dann durchgerührt, bis ein vollkommen gleichartiger, mit Wasser sich gleichmässig mischender Schleim entstanden ist, so gelingt der Nachweis des Fermentes sehr leicht. Ein kleines Quantum des Schleimes mit Wasser geschüttelt gibt zunächst durch starkes Schäumen die Gegenwart des nunmehr in aufgelöstem Zustande vorhandenen Fermentes zu erkennen. Wird diesem verdünnten Schleime Guajaktinctur zugesetzt, so stellt sich nach einigen Minuten eine sehr lebhafte blaue Färbung des ausgeschiedenen Harzes ein.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Im Tragantschleim lässt sich auch durch Orcin und Salzsäure die Gegenwart des Fermentes feststellen.

Durch lange andauerndes Kochen verlieren auch die oben genannten Gummiarten gleich dem arabischen Gummi die Fähigkeit, die Guajakemulsion zu bläuen und fermentirend zu wirken.

6. Nachweis des Fermentes in den Gummiharzen. Die wässerigen Auszüge der nachfolgend genannten Gummiharze wurden nach dem Filtriren zunächst sowohl mit Guajaktinctur als mit Orcin und Salzsäure geprüft.

Myrrhe lieferte nach dem Zerkleinern und nach längerer Einwirkung von Wasser einen farblosen, klaren, beim Schütteln stark schäumenden Auszug, welcher auf Zusatz von Guajaktinctur alsbald eine tiefblaue Farbe annahm. Auch durch die Orcinprobe wurde das Ferment sehr deutlich angezeigt, namentlich wenn Gummi und Ferment vorerst durch Alkohol ausgefällt und nach dem Auswaschen in Wasser gelöst wurden.

Asa foetida. Der wässerige Auszug schäumte beim Schütteln stark. Durch Guajak stellte sich nach einiger Zeit eine merkliche Bläuung ein. Die Orcinreaction deutet zum mindesten auf Spuren des Fermentes hin.

Hingegen liess sich in dem im Wasser löslichen Theil von Gummigutt durch keines der beiden Reagentien die Gegenwart des Fermentes mit Sicherheit constatiren. Ein Gleiches gilt für den durch Wasser ausziehbaren Antheil des Ammoniakgummi.

In allen jenen Fällen, in welchen durch die genannten Reagentien das Ferment nachgewiesen werden konnte, trat Entfärbung des Jodstärkekleisters ein. Das Gummi der Myrrhe wirkt deutlich diastatisch. Wird die Lösung des Gummi gekocht, so verliert sie die Fähigkeit, Guajak zu bläuen und diastatisch zu wirken.

Immerhin geht aus diesen Beobachtungen hervor, dass zum mindesten gewisse Gummiharze das in den natürlichen Gummiarten vorkommende Ferment enthalten. Ob bei jenen Gummiharzen, welche die Gegenwart des Fermentes nicht erkennen lassen dasselbe durch spätere Einwirkungen zerstört wurde oder daselbst überhaupt fehlt, muss einstweilen dahingestellt bleiben.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

7. Nachweis des Fermentes in schleimgebenden Geweben. Wie die Untersuchungen Frank's[1] lehrten, geht in den Geweben zahlreicher Pflanzen aus der anfänglich aus Cellulose bestehenden Zellwand Schleim hervor. Da die Pflanzenschleime dem Gummi nahestehende Kohlenhydrate bilden, so liegt der Gedanke nahe, zu prüfen, ob nicht auch bei ihnen ein Ferment die Umwandlung der Cellulose bewirkt.

Zu meinen Versuchen dienten die Samen des Leines *(Linum usitatissimum)*, der Quitte *(Cydonia vulgaris)* und die Flohsamen von *Plantago Psyllium*.

Die ersten Versuche gaben ein negatives Resultat. Als nämlich der durch Einwirkung von Wasser auf die Samen entstandene Schleim mit Orcinlösung und Salzsäure gekocht wurde, stellte sich die Fermentreaction nicht oder doch nur in sehr zweifelhafter Weise ein. Die Guajakreaction unterblieb vollständig, desgleichen wurde durch Jod blau gefärbter Stärkekleister nicht entfärbt.

Wurden hingegen die den Schleim liefernden Samenschalen der genannten Pflanzen mit Salzsäure und Orcinlösung erwärmt, so stellte sich nach kürzester Zeit die Orcinreaction in der prachtvollsten Weise ein. Die Flüssigkeit wurde nach wenigen Secunden rothviolett, sodann violett und schied alsbald einen blauen Niederschlag aus, welcher sich so wie der durch das Gummiferment gelieferte verhielt.

Verfolgt man die Einwirkung der Reagentien auf die schleimbildenden Zellwandpartien der Quittensamen unter Mikroskop, so sieht man, dass jene Zellwandschichten, welche der Schleimmetamorphose unterliegen, die Färbungen erkennen lassen, ganz besonders deutlich die noch unvollständig metamorphosirten radial liegenden Hautantheile. Es sind also gerade diese letztgenannten Zellwandpartien noch mit dem Fermente stark imprägnirt. Bei vollständiger Metamorphose scheint das Ferment fast gänzlich zu schwinden. Aus den Samenschalen, woselbst das Ferment nicht nur in den Wänden, sondern, wie weiter unten gezeigt werden wird, auch im Inhalte der Schleimzellen

[1] Über die anatomische Bedeutung und die Entstehung der vegetabilischen Schleime. Pringsheim's Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. V, p. 25 ff.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

seinen Sitz hat, lässt sich dasselbe durch verdünnte Salzsäure ausziehen; denn behandelt man die von allen anderen Samenbestandtheilen befreiten Schalen mit Salzsäure, so erhält man eine etwas bräunlich gefärbte Flüssigkeit, welche auf Zusatz von einigen Tropfen Orcinlösung nach dem Erwärmen alsbald die Fermentreaction gibt.

Die mit Pflanzenschleim gewonnenen Resultate sind unter anderem auch desshalb interessant, weil dieselben noch eindringlicher als die mit den Gummiarten erzielten lehren, dass nicht etwa die im Schleime beziehungsweise Gummi vorhandenen Kohlenhydrate (Arabin, Cerasin etc.), sondern neben denselben vorkommende Substanzen die Orcinreaction bedingen.

Durch folgendes Verfahren lässt sich indess auch in den wässerigen schleimreichen Auszügen reifer Lein-, Quitten- und Flohsamen das Ferment, welches, wie erwähnt, in diesen Auszügen nur in sehr kleinen Mengen vorhanden ist, nachweisen. Wird der Schleim mit einigen Tropfen Orcinlösung und überschüssiger Salzsäure im Wasserbade eingedunstet, so scheiden sich an den Gefässwänden zarte rothviolette, beim Kochen mit Salzsäure blau werdende Ringe aus. Diese Methode empfiehlt sich stets, wenn es sich um Nachweis sehr kleiner Mengen des Fermentes handelt.

8. Nachweisung des Fermentes im Holze. Neuere Untersuchungen haben die weite Verbreitung des Gummi in verholzten Pflanzengeweben constatirt. So fand es Thomson[1] im Holze zahlreicher Baumarten, und Max Singer[2] hat in einer im Wiener pflanzenphysiologischen Institute ausgeführten Arbeit gezeigt, dass Gummi einen gewöhnlichen Bestandtheil verholzter Zellwände bildet. Er wies es nicht nur in zahlreichen Holzarten, sondern u. A. auch in den bekanntlich verholzten Membranen des Hollundermarkes nach. Das Gummi lässt sich durch stundenlanges Kochen mit Wasser den Wänden verholzter Gewebe entziehen, es gibt, wie schon Singer fand, Lösungen, welche beim Schütteln schäumen und aus denen durch Bleiessig sich ein

[1] Th. Thomson, Journ. f. prakt. Chem. N. F. Bd. 19 (1879), p. 146.

[2] Beiträge zur näheren Kenntniss der Holzsubstanz und der verholzten Gewebe. Sitzber. d. kais. Akad. d. W. Bd. 85 (1882).

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Niederschlag abscheidet, was eine Übereinstimmung des Holzgummi mit arabischem Gummi vermuthen lässt.

Da das Holzgummi in der Regel nur in kleinen Mengen im normalen Holze auftritt, so ist auch zu erwarten, dass, falls dasselbe von einem Fermente begleitet sein sollte, dieses nur in sehr geringen Quantitäten vorhanden sein könnte.

Auch stösst die Nachweisung des Fermentes im Holze und im Holzgummi noch auf eine andere Schwierigkeit. Die mit Orcin resultirende Fermentreaction hat viele Ähnlichkeit mit jener, welche dieses Reagens in der verholzten Zellenmembran hervorruft. In letzterer kommt, wie Singer (l. c.) zeigte, Vanillin als constanter Begleiter vor und dieses wird durch Salzsäure und Orcin intensiv roth gefärbt. Um durch die Vanillinreaction des Holzes nicht irregeleitet zu werden, ist es nöthig, Folgendes bei den Versuchen zu beachten. Wird das zum Fermentnachweis dienende Holz zuerst mit Alkohol digerirt, hierauf mit Wasser durch länger Zeit erwärmt, sodann das wässerige Extract filtrirt, eingeengt und mit Alkohol gefällt, so bleibt das Vanillin in Lösung, während das Ferment nur im Niederschlage zu finden sein kann, falls es mit dem Gummifermente identisch ist. Letzteres ist, wie schon die mit arabischem Gummi angestellten Versuche lehrten, in Alkohol unlöslich. In der That, wird der Niederschlag nach sorgfältigem Auswaschen mit absolutem Alkohol in Wasser gelöst, durch neuerliches Fällen mittelst Alkohol und Lösung in Wasser gereinigt und sodann mit Orcinlösung und Salzsäure im Wasserbade eingedampft, so stellt sich, wenn der Versuch mit nicht zu kleinen Quantitäten von Holz vorgenommen wird, ganz deutlich die oben beschriebene Fermentreaction ein.

Es lässt sich indess die Reaction des Fermentes von jener des Vanillins oder der Holzsubstanz leicht auf folgende Weise unterscheiden. Wird Vanillin oder Holzsubstanz mit Orcin und Salzsäure zusammengebracht, so tritt sofort, ohne Anwendung von Wärme, die Reaction ein, während zur Nachweisung des Fermentes mittelst Orcin und Salzsäure stets länger andauerndes starkes Erwärmen nothwendig ist. Ferner gibt schwefelsaures Anilin mit Vanillin oder Holzsubstanz gelbe Färbungen, welche durch das genannte Reagens bei Gegenwart des Fermentes weder in der Kälte noch in der Wärme erzielt werden können.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Wird ein heiss bereiteter wässeriger Holzauszug im Wasserbade bis zum Trocknen eingedampft, so geben Orcin und Salzsäure Phloroglucin und Salzsäure, schwefelsaures Anilin sofort in der Kälte die Holzstoffreactionen, zum Beweise, das im Holze Vanillin enthalten ist. Hingegen gibt die aus dem bei mässiger Wärme (35—40 °) bereiteten wässerigen Holzextrat mittelst Alkohol ausgefällte Substanz mit keiner der genannten Substanzen in der Kälte die Vanillinreaction, wohl aber ruft Orcin und nachfolgende Einwirkung von Salzsäure beim Eindunsten im Wasserbade, wie schon erwähnt, die die Gegenwart des Fermentes anzeigenden Reactionen hervor.

Noch will ich bei dieser Gelegenheit kurz bemerken, dass die eben berührte grosse Verbreitung des Vanillins in den Pflanzengeweben und die Ähnlichkeit seiner Orcinreaction mit jener des Gummi auf die Vermuthung führen könnte, die für Gummi und Schleim angegebene Reaction zeige Vanillin an. Diese Annahme wäre aber ganz ungerechtfertigt; denn die Orcinreaction der Gummi- und Schleimarten tritt ohne Anwendung von Wärme nicht ein; auch werden alle diese Körper durch schwefelsaures Anilin nicht gelb gefärbt, was doch eintreten müsste, falls in denselben Vanillin enthalten wäre.

9. Mikrochemischer Nachweis des Gummifermentes in den gummi- und schleimerzeugenden Geweben. Wird ein frisches Gewebestück, welches im Beginne der Gummosis sich befindet, aus der Rinde herausgeschnitten, so gibt ein wässeriges Extract desselben, wenn auch nur Spuren von Gummi in demselben nachweislich sind, doch die Orcinreaction in auffälligster Weise. Solche Gewebestücke, welche in der Nähe von Rindenwunden aufzufinden sind, repräsentiren ein sehr gutes Material zur Aufsuchung des Fermentes in den Zellen und zur Bereitung von Fermentauszügen, zumal Stücke, welche eine Dicke von 2 Mm. und mehr besitzen, da sich solche nach beliebiger Richtung durchschneiden und von den übrigen Geweben befreien lassen. Derartige Wundgewebe sind in den Rinden aller unserer Steinobstbäumen häufig anzutreffen.

Ich benützte zu meinen Versuchen die in Gummosis begriffenen Gewebe der Rinde von *Amygdalus communis, Armeniaca vulgaris, Prunus avium, cerasus* und *domestica.* Ich erhielt

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

in allen Fällen durchaus die gleichen Resultate, wesshalb ich über dieselben nur summarisch referiren werde.

Die genannten Gewebe bestehen der Hauptmasse nach aus Parenchymzellen, zwischen welchen verholzte Bastzellen, theils isolirt, theils zu Bündeln vereinigt, auftreten. In allen Parenchymzellen erscheint ein körniger protoplasmatischer Inhalt. Diese Zellen bilden den Sitz des Fermentes, welcher am besten in folgender Weise ausfindig zu machen ist. Schnitte durch das zu prüfende Gewebe werden in einen Tropfen vierprocentiger Oreinlösung eingelegt und mit einem Deckgläschen bedeckt, aber dafür Sorge getragen, dass die Flüssigkeit nicht weit über den Schnitt hinausrage. Hierauf wird so viel Salzsäure zugefügt, bis der zwischen Deckglas und Objectträger liegende Raum mit der Flüssigkeit erfüllt ist. Betrachtet man nun den Schnitt unter Mikroskop, so findet man, dass bloss die Zellwände der faserförmigen Elemente, weil sie verholzt sind, violett geworden sind. Die Inhalte und die Wände der Parenchymzellen erscheinen noch völlig unverändert. Nunmehr legt man den in angegebener Weise mit den vorbehandelten Schnitten versehenen Objectträger auf ein Drahtnetz und erwärmt, anfangs gelinde, dann stärker und so lange, bis die unter dem Deckglase befindliche Flüssigkeit zu sieden beginnt. Nun unterbricht man die Erwärmung und bringt den erkalteten Objectträger unter Mikroskop. Man sieht nun, dass die Inhalte der Parenchymzellen violett oder blau geworden sind. Im ersteren Falle genügt ein kurzes weiteres Erwärmen, um den blauen Farbenton hervorzurufen. Die Zellwände zeigen nur dann eine deutliche blauviolette Färbung, wenn sie durch ihre starke Quellung den Beginn der Gummimetamorphose zu erkennen geben.

Das Gummiferment hat mithin seinen Hauptsitz im Inhalte der später der Gummimetamorphose unterliegenden Zellen. Aus dem Inhalte tritt es später erst in die Membran ein und bewirkt dort die Umsetzung der Cellulose in Gummi.

Auch in den Wundmeristemen, aus denen sich das der Gummimetamorphose verfallende Parenchym bildet, ist das Ferment nachweislich, desgleichen in dem der Gummosis verfallenden Wundholze, wie ich an Quitte und Kirschbaum mich überzeugte.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Auch in jenen schleimgebenden Geweben, in denen der Schleim aus den Zellhäuten hervorgeht, lässt sich das Gummiferment nachweisen. Zu den Versuchen dienten die Schalen der Quitten-, Lein- und Flohsamen.

Werden durch die reifen Samen geführte Querschnitte der Schalen in der oben angegebenen Weise behandelt, so färben sie sich anfänglich roth, dann violett, endlich blau. Im Mikroskop gesehen erscheinen die Zellhäute, welche der Schleimmetamorphose unterlagen, mehr oder minder deutlich in den genannten Farben tingirt, bei der Quitte namentlich die radialen Wände der palissadenförmigen Schleimzellen. Intensivere Färbungen nehmen die Protoplasmareste der Schleimzellen an.

Eine weitaus schärfere Reaction auf das Gummiferment durch Orcin und Salzsäure erhält man, wenn die Samen nicht im reifen Zustande, sondern zur Zeit der beginnenden Schleimmetamorphose geprüft werden. So wurden beispielsweise die Samenschalen unreifer in den ersten Tagen des Juni gepflückter Quitten, welche im Wasser nur mässig quollen, nach dem Erwärmen in Orcinlösung und Salzsäure intensiv indigoblau und bei der mikroskopischen Untersuchung ergab sich, dass der noch reichlich vorhandene protoplasmatische Inhalt tief blau gefärbt war, während die Zellhäute weniger intensive Färbung angenommen hatten, aber doch lebhafter tingirt waren, als die correspondirenden Membranen der gereiften Samen.

Alle diese Beobachtungen lehren, dass die Bildungsstätte des Gummifermentes im Protaplasma liegt. Daselbst ist auch, namentlich zur Zeit des Lebens der der Gummi- und Schleimmetamorphose unterliegenden Zellen, der Hauptsitz desselben zu finden.

Erst mit dem Eintritte des Fermentes in die Zellwand beginnt die Gummi- beziehungsweise Schleimmetamorphose. Während sich die Cellulose der Zellwände in Schleim umsetzt, lässt sich in diesen das Ferment fortwährend nachweisen, weniger deutlich, manchmal gar nicht, nach beendigter Metamorphose.

Die mitgetheilten Thatsachen lassen wohl kaum einen Zweifel darüber, dass das Gummiferment es ist, welches die Umsetzung der Cellulose in der lebenden Zelle in Gummi oder Schleim bewirkt.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

10. Vielfache Versuche unternahm ich zu dem Zwecke, die Wirkung des aus den Geweben abgeschiedenen Gummifermentes kennen zu lernen, und zwar erstlich die Wirkung auf Stärkekleister, sodann die aus dem mikrochemischen und anatomischen Befunden abgeleitete Umsetzung von Cellulose in Gummi.

Die Versuche wurden mit frischen, im ersten Beginne der Gummimetamorphose befindlichen Wundrindengeweben unserer Steinobstbäume ausgeführt. Es hat sich mir nicht darum gehandelt, das Ferment zu isoliren, dies wird Aufgabe der Chemiker sein. Ich wünschte nur einen an Ferment möglichst reichen Gewebsauszug zu gewinnen, welcher es gestattete, die durch das Gummiferment hervorgerufenen Hauptveränderungen der Stärke zu erkennen und die Frage zu lösen, ob sich mittelst des Fermentes auch ausserhalb des Organismus die Cellulose in Gummi oder Schleim umsetzen lasse.

Die Auszüge wurden in verschiedener Weise bereitet. Entweder wurde das zerkleinerte Gewebe sofort mit Wasser ausgezogen, oder zuerst mit Alkohol erschöpft und dann erst mit Wasser extrahirt, oder endlich, das zerkleinerte Gewebe wurde, nachdem es lufttrocken geworden war, durch einige Zeit bei 100° erwärmt, dann mit Alkohol erschöpft und sodann mit Wasser extrahirt. Die Vorbehandlung mit Alkohol hat den Zweck, das wässerige Extract von den in Alkohol löslichen Gewebsbestandtheilen zu befreien. Durch die Erhitzung auf 100° war die Coagulation löslicher Eiweissstoffe und auch eine grössere Permeabilität der das Ferment umschliessenden Plasmaschichte und Zellhaut zu erwarten. Die Trocknung bei 100° ist erlaubt, weil erwiesenermassen die Fermente eine trockene Wärme von 100° und sogar mehr ertragen, während sie im gelösten Zustande schon unter dem Siedepunkt zerstört werden.[1]

Auf welche Art auch immer das Fermentextract bereitet wurde, stets liess sich in demselben durch die Orcinreaction die Gegenwart des Gummifermentes nachweisen. Wurden die frischen Auszüge mit Guajaktinctur behandelt, so färbte sich stets die ausgeschiedene Harzemulsion blau, zumeist rasch und intensiv;

[1] A. Mayer. Die Lehre von den chemischen Fermenten. Heidelberg 1882. p. 20 ff.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

diese Reaction unterblieb aber, wenn der Auszug früher einige Minuten hindurch auf Siedehitze erhalten wurde.

Am geeignetsten erwiesen sich zu den Fermentationsversuchen jene Extracte, welche aus lufttrocken gemachten, dann bei 100° erhitzten und mit Alkohol vorbehandelten Geweben mittelst Wasser bereitet wurden.

Die Verwandlung der Stärke in Dextrin war jedesmal leicht zu verfolgen. In keinem Falle konnte die Gegenwart auch nur von Spuren eines reducirenden Zuckers nachgewiesen werden. Die Wirkung der Extracte ist im Allgemeinen eine weniger intensive als die einer Gummilösung. Der Grund hiefür liegt vielleicht in dem Umstande, dass mit dem Fermente Substanzen ausgezogen werden, welche die Reaction behindern[1], Substanzen, die im Gewebe in anderen Zellen als in den fermentführenden liegen mögen; oder darin, dass die Gummilösungen in Folge ihres Gehaltes an Arabin und freier Arabinsäure deutlich sauer reagiren[2], die genannten Extracte aber neutral sind oder nur eine Spur saurer Reaction aufweisen. Da nun kleine Mengen von Säuren, wie Detmer[3] zeigte, die diastatischen Wirkungen begünstigen, so wäre es immerhin möglich, dass die von mir dargestellten Fermentextracte zu wenig sauer waren, um eine kräftige und rasche Umsetzung von Stärke in Dextrin zu bewirken.[4] Es mag aber auch der Umstand in's Gewicht fallen, dass das Ferment den Zellen durch die angewendeten Mittel nur schwer zu entziehen ist und bei der nur einige Stunden anwährenden

---

[1] Vergl. A. Mayer, l. c. p. 43 ff.

[2] Säuren wirken auf Stärke in ähnlicher Weise umsetzend wie Diastase. Man könnte nun vermuthen, dass das Gummi den Stärkekleister nur in Folge seiner sauren Eigenschaften löst und in Dextrin umsetzt. Dagegen ist zu bemerken, dass Gummilösungen durch Kochen ihrer Fähigkeit, diastatisch zu wirken beraubt werden, während sie nicht nur ihren sauren Charakter beibehalten, sondern in Folge der Wasserverdunstung relativ reicher an Säure werden. Die Gummilösungen lassen sich indess durch kleine Mengen von Alkalien neutralisiren, da sie doch nur eine schwache saure Reaction besitzen.

[3] Über Fermentbildung und fermentative Processe. Jena 1884.

[4] Mehrfache von mir namentlich mit Citronsäure unternommene Versuche, die Wirkung des Fermentes zu steigern, haben indess ein negatives Resultat ergeben.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Extraction mittelst Wasser von gewöhnlicher Temperatur nur in sehr kleinen Mengen austrat. Länger andauernde Extraction habe ich aber vermieden, um nicht bacteriöse Auszüge zu bekommen. Es werden sich zweifellos durch Sterilisirungsmethoden Wege finden lassen, um die Extraction beliebig lange ausdehnen zu können. Indess, wie schon erwähnt, die Gewinnung und Reindarstellung das Fermentes muss ich in chemischen Arbeiten berufeneren Forschern überlassen.

Die Umsetzung der Cellulose in Gummi oder Schleim ist mir durch Anwendung der genannten Extracte trotz mehrfacher Versuche nicht gelungen. Wahrscheinlich ist die Cellulose, wie dieselbe in Form zerkleinerter, vorher gereinigter Gewebe und Zellen zu Gebote stand, im Vergleiche zu der für das Ferment leicht durchdringlichen Wand der lebenden Zelle doch zu derb, um die Umwandlung möglich zu machen. Dass indess das Gummiferment Cellulose löst, geht schon, wie früher bemerkt wurde, aus dem Umstande hervor, dass dasselbe den Kleister klärt, wobei die zarten Cellulosehäute der Stärkekörner in Lösung übergehen.

11. Sehr bemerkenswerth scheint mir noch die folgende Beobachtung, welche vermuthen lässt, dass das Gummiferment die zuckerbildenden diastatischen Fermente unwirksam zu machen befähigt ist.

Wird nämlich eine Kleisterlösung in einer offenen Glasröhre stehen gelassen, so entwickeln sich in derselben nach einigen Tagen reichlich Bacterien und es lässt sich in Folge diastatischer Wirkungen der letzteren in der Flüssigkeit durch die Trommer'sche Probe Zucker nachweisen. Versetzt man aber eine Kleisterlösung mit etwa der gleichen Menge einer verdünnten Kleisterlösung, so wird dieselbe wohl auch bacteriös, es lässt sich aber in der Flüssigkeit kein réducirender Zucker nachweisen, auch wenn der Versuch auf viele Tage ausgedehnt wird.

Von mehreren diesbezüglichen Versuchen erwähne ich hier nur den folgenden. Eine halbprocentige Kleisterlösung wurde durch eine Stunde im Sieden erhalten und in einem Glasrohre bei 20—22° C. aufgestellt, daneben eine Glasröhre mit einer Partie derselben Kleisterlösung, welcher die gleiche Menge einer zweiprocentigen Lösung von arabischem Gummi zugemischt wurde.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

Am dritten Tage war in jedem der Gefässe die Granulose vollkommen verschwunden. Am vierten Tage konnte im ersten Gefässe bereits die erste Spur von Zucker nachgewiesen werden, am fünften Tage war Zucker bereits reichlich vorhanden. Im zweiten Gefässe liess sich aber selbst nach Ablauf von zwölf Tagen noch keine Spur von Zucker auffinden, obgleich in der in diesem Gefässe enthaltenen Flüssigkeit Bacterien ebenso reichlich als im reinen Kleister vorhanden waren. Der Einwand, der Zuckernachweis durch die Trommer'sche Probe wäre in Folge der Anwesenheit von Gummi nicht zu erbringen gewesen, ist ausgeschlossen, denn durch Zufügung eines kleinen Quantums von Zucker liess sich dieser in dem Gummigemisch durch die genannte Probe scharf nachweisen.

Reine Dextrinlösungen, in welchen Diastase rasch reducirenden Zucker bildet, werden durch Zusatz von arabischem Gummi unfähig, durch Diastase diese Veränderung einzugehen. Erst auf sehr reichlichen Zusatz von Diastase erscheinen in solchen Lösungen kleine Mengen reducirenden Zuckers.

12. Schlussbemerkungen. Durch die vorliegende Arbeit ist gezeigt worden, dass in den Gummiarten und in den in Gummi- und Schleimmetamorphose begriffenen Geweben der Pflanzen ein charakteristisches Ferment vorkommt, welches in die Kategorie der stärkeumbildenden oder diastatischen Enzyme zu stellen ist, von diesen sich aber dadurch unterscheidet, dass es die Stärke wohl in Dextrin, nicht aber in eine reducirende Zuckerart umsetzt.

Das Auftreten des Fermentes in solchen Zellen, deren Zellwände sich in Gummi oder Schleim zu verwandeln beginnen, das Eintreten des Fermentes aus dem Zellinhalte in die in Gummi oder Schleim sich umsetzenden Zellwände, das Zurücktreten, ja Verschwinden des Fermentes aus dem Zellinhalte nach beendigter Gummimetamorphose, das Auftreten des Fermentes in den Gummiarten, all' dies führt zu der allerdings durch das directe Experiment noch nicht bekräftigten Anschauung, dass in der Pflanze die Umwandlung der Cellulose in Gummi oder Schleim durch das genannte Ferment erfolgt.

In der Orcinreaction wurde ein Mittel gefunden, um das Gummiferment in den Geweben der Pflanze mikrochemisch nach-

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

weisen zu können, aber auch, weil Gummi und Schleim fast ausnahmslos etwas Ferment eingeschlossen enthalten, um durch Orcin und Salzsäure die Gegenwart von Gummi und Schleim mit grösserer Sicherheit und Anschaulichkeit, als dies bisher möglich war, mikrochemisch zu constatiren. Schon gelang es mir, mit Zuhilfenahme dieser Reaction diese beiden Substanzen in Zellen und Geweben nachzuweisen, woselbst sie bis jetzt noch nicht aufgefunden wurden. Ich fand, dass diese Kohlenhydrate eine weit grössere Verbreitung im Pflanzenreiche besitzen als bis dahin angenommen wurde.

Die oben mitgetheilten Beobachtungen über die Einwirkung des Gummifermentes auf Stärke machen es wahrscheinlich, dass in jenen der Gummimetamorphose unterliegenden Geweben, welche Stärke enthalten, diese in Dextrin, die Cellulose der Zellhaut in Gummi umgewandelt wird. Hierfür spricht die schon vor längerer Zeit theils von Herm. Ludwig[1], theils von mir[2] in mehreren natürlichen Gummiarten constatirte Gegenwart von Dextrin.

Sollte sich die oben (im §. 11) ausgesprochene Vermuthung, dass das Gummiferment die gewöhnlichen diastatischen Wirkungen (Umsetzung der Stärke in reducirenden Zucker) aufhebt bestätigen, so wäre damit eine in biologischer Beziehung interessante Thatsache gewonnen, welche u. A. erklären würde, wie durch Gummi- und Schleimbildung das Stärkemehl aus dem normalen Stoffwechsel ausgeschlossen wird.

Ich schliesse diese Untersuchung mit dem Wunsche ab, es mögen die gegebenen Anregungen von Seite der Chemiker nicht unbeachtet bleiben und zu genaueren chemischen Studien über die Eigenschaften und über die Wirkungsweise des Gummifermentes Veranlassung geben.

Nachschrift. Nach Vollendung der vorliegenden Arbeit erhielt ich Kenntniss von einer Abhandlung Beyerrink's (Onderzoekingen over de Besmettelijkheid der Gomziekte bij Planten. Amsterdam. Joh. Müller 1884), worin der Nachweis zu führen

---

[1] Archiv d. Pharm. Bd. 82, p. 38 ff.

[2] Gummi und Harze, p. 46. 50 und 52.

Download from The Biodiversity Heritage Library http://www.biodiversitylibrary.org/; www.biologiezentrum

gesucht wird, dass bestimmte Pilze die Gummibildung bedingen. In all' den Fällen, welche ich untersuchte, ist die Mitwirkung von Pilzen bei Entstehung des Gummi ausgeschlossen. Auch Frank (Über Gummibildung im Holze; Berichte der deutschen bot. Ges. 1884, p. 327) hat bei seinen eingehenden Studien über die Entstehung des Gummi im Holze der Obstbäume niemals das Eingreifen von Pilzen in die Gummosis wahrgenommen, was der Autor mit Bezug auf die Arbeit Beyerrink's ausdrücklich hervorhebt.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Sitzungsberichte der Akademie der Wissenschaften mathematisch-naturwissenschaftliche Klasse

Jahr/Year: 1886

Band/Volume: 92

Autor(en)/Author(s): Wiesner Julius Ritter

Artikel/Article: Über das Gummiferment. Ein neues diastatisches Enzym, welches die Gummi- und Schleimmetamorphose in der Pflanze bedingt. 40-67