

X.

Über Fermente und Enzyme.

Von

Dr. A. Hansen.

Die Vorstellungen, welche man mit dem Worte »Fermente« verbunden hat, haben sich im Laufe der Jahrzehnte sehr verändert. Das erscheint begreiflich, denn zu jener Zeit, als man zuerst gewisse Vorgänge als Fermentationen und gewisse Substanzen als Fermente bezeichnete, wußte man über die eigentliche Natur heider sehr wenig und es kann nicht wunder nehmen, daß unter dem Namen Fermente ganz verschiedene Dinge subsumirt wurden, deren Trennung, durch den heutigen Stand unserer Kenntnisse gehoten, dennoch wegen der eingehürgerten gemeinsamen Wortbezeichnung einige Schwierigkeiten bereitet.

Die alkoholische Gährung des Zuckers ist ein Vorgang, der seit den ältesten Zeiten in der Kulturentwicklung der Menschheit eine so wichtige Rolle gespielt hat, daß der charakteristische Verlauf dieses Prozesses auch ohne wissenschaftliches Bedürfniß oft genug beobachtet wurde. Natürlich richtete sich die Aufmerksamkeit wie bei jeder primitiven Beobachtung nur auf das Äußerliche der Erscheinung. Das Aufschäumen, die Gasentwicklung war es besonders, welche bei der Gährung zuckerhaltiger Flüssigkeiten in die Augen fiel und sich daher als Characteristicum dieser zuerst und ursprünglich als Fermentation bezeichneten Erscheinung der Vorstellung einprägte. Zugleich wurde die Gährung eines der ersten Phänomene, bei welchem die Ahnung dessen, was man später einen chemischen Prozeß nannte, aufdämmerte, und dieser Anfang chemischer Erfahrung wurde von so bestimmendem Einfluß, daß man in der That viele später beobachtete chemische Vorgänge sich zunächst als eine Art von Gährung dachte.

Die Alkoholgährung wurde aber auch die Veranlassung, zuerst von einem Ferment zu reden. Die Praxis hatte die Thatsache ergeben, daß bei der Fermentation sich ein Niederschlag (nämlich die Hefe) bilde, welcher, in zuckerhaltige Flüssigkeiten übertragen, in diesen die gleiche Fermentation hervorrief. Aus diesem Grunde bezeichnete man das unbekante, bei der Alkoholgährung abgesehiedene Produkt dannals ganz consequent als »Fer-

mentum«, als »das Ferment«, wobei man sich eines causalen Zusammenhanges des Fermentes und der Gährung wohl bewußt war, da die Weinhefe von den Alten auch zum Hervorrufen der Brotgahrung aufbewahrt und verwendet wurde.

Die Vermengung der Wissenschaft mit der Mystik, welche die Alchemisten des 13., 14. und 15. Jahrhunderts zu den verworrensten Phantasien verleitete, brachte nicht nur Inkonsequenzen in diese Bezeichnungen, sondern veranlaßte ein unklares und geheimnißvolles Durcheinander von Worten und Vorstellungen, dessen Entwirrung ebenso unmöglich wie unfruchtbar ist.¹⁾ Trat auch das mystische Element bei den Chemikern des 17. und 18. Jahrhunderts bis zum Auftreten LAVOISIER'S allmählich zurück, so war doch der Begriff der Gährung ein sehr unbestimmter geworden, da man ihn auf die mannigfachsten Vorgänge ausgedehnt hatte.

Fermentationen nannten die Chemiker vor LAVOISIER, offenbar wegen dieser äußeren Ähnlichkeit mit der Alkoholgährung, alle chemischen Reaktionen, welche unter Aufbrausen, also mit Gasentwicklung vor sich gingen. Man braucht nur ein beliebiges Buch der alten Literatur, in welchem chemische Experimente mitgetheilt werden, aufzuschlagen, um die heterogensten chemischen Prozesse, sofern eine Gasentwicklung dabei stattfindet, unter der Rubrik Fermentationen aufgeführt zu finden. Beispielsweise stellt HALEY in seinen bekannten statical essays vom Jahre 1727 Oxydationen mit Salpetersäure, Kohlensäureentwicklung beim Zusammenbringen von Carbonaten mit Säuren u. a. m. als Fermentationen zusammen. Dasselbe thaten VAN HELMONT und andere Chemiker jener Epoche. War auch schon von SYLVIVS DE LE BOE (1659) und von LEMERY (1675) auf das Falschliche dieser Bezeichnungsweise, wenigstens für die Zerlegung der Carbonate durch Säuren, hingewiesen worden, so wurde doch erst nach dem gewaltigen Fortschritt der Chemie durch LAVOISIER die Sache endgültig in's Reine gebracht. Nach der richtigen Erkenntniß der Prozesse der Oxydation u. a. fiel für alle ebengenannten Vorgänge die Bezeichnung »Fermentatio« fort und verblieb, wie es im Anfange war, allein der Alkoholgährung, für welche, nachdem die lateinische Sprache als literarisches Verkehrsmittel in der Naturwissenschaft allmählich zurücktrat, im Deutschen das Wort »Gährung« als Terminus sich einhurgerte.

Für diese letztere mußte sich aber aus der erweiterten Erkenntniß unmittelbar ergeben, daß die Gasentwicklung gar nicht als hervorragendes Merkmal der Gährung gelten könne, da Gas bei den verschiedensten Prozessen entbunden wurde. Es kam vielmehr noch auf etwas Anderes an, das war die Entstehung von Alkohol. LEMERY hatte in seinen Publikationen schon betont, daß man erst nach vollendeter Gährung aus dem Gahrgemisch

1) Bezüglich dieser Epoche ist auf H. Kopp's Geschichte der Chemie 4. Theil zu verweisen, wo die alten Autoren ausführlich citirt sind.

Weingeist abdestilliren könne, und BECHER und STAHL hatten in ihren 1669 und 1697 publizirten Schriften über Gährung gesagt, nur zuckerhaltige Flüssigkeiten unterlägen der Gährung und der Weingeist sei ein Produkt dieses Vorganges. Aber es war doch wieder LAVOISIER, welcher auch in diesem Falle die noch ungeklärten Ansichten und Thatsachen zusammenfaßte und wissenschaftlich formulirte.

»Die Wirkungen der Weingährung«, sagt er, »sind folgende: Der Zucker, ein Oxyd, wird in zwei Theile getrennt, der eine Theil, nämlich der Sauerstoff, verbindet sich mit einem Theil des Kohlenstoffs und macht Kohlensäure, der andere Theil des Kohlenstoffs, dem der Sauerstoff entzogen ist, verbindet sich mit dem Wasserstoff, um eine brennbare Substanz, den Alkohol zu erzeugen, so daß, wenn es möglich wäre, die Kohlensäure mit dem Alkohol zu verbinden, wiederum Zucker entstehen müßte. Übrigens ist noch zu bemerken, daß der Wasser- und Kohlenstoff nicht im Zustande eines Öls sich im Alkohol befinden, sondern sie sind noch mit einem Antheil Sauerstoff verbunden, der sie mit Wasser mischbar macht.«¹⁾

In diesen Sätzen war zum ersten Mal klar ausgesprochen, daß die Gährung eine Zersetzung, eine chemische Spaltung, und zwar des Zuckers in Alkohol und Kohlensäure sei.²⁾ Auf die Veranlassung der Alkoholgährung, auf das Ferment, ging LAVOISIER nicht weiter ein. Ihm kam es zunächst darauf an, durch eine chemische Gleichung den Gährungsprozeß verständlich zu machen. Damit war in der That ein bedeutender Fortschritt in einer Richtung erlangt. Eine vollständige Erklärung war aber damit nicht gewonnen, und konnte nicht gegeben werden, ohne ganz besonders wieder auf das Ferment zurückzukommen, welches bei den nun fortschreitenden Bestrebungen, eine Theorie der Gährung zu schaffen, in den Vordergrund treten mußte.

Obgleich LAVOISIER das Ferment nicht besonders beachtete, so zweifelte man im allgemeinen nicht an seiner Nothwendigkeit für die Gährung. Vielmehr war diese schon vor LAVOISIER mehrfach hervorgehoben worden, z. B. von WILLIS in dessen *Diatribae de fermentatione* von 1659 mit folgenden Worten: »Primus et praecipuus erit fermenti cujusdam corpori fermentando adjectio; ejus particulae cum prius sint in vigore et motu positae alias in massa fermentanda otiosas et torpidas exsuscitant et in motum vindicant.«

Es ist in diesen Sätzen nicht nur das Vorhandensein des Fermentes für den Beginn der Gährung postulirt, sondern in ihnen auch schon der Keim einer Theorie der Gährung enthalten, welche in erweiterter und wissenschaftlicherer Form später von LIEBIG aufgestellt wurde. Denn schon in WILLIS' Sätzen ist es, freilich nur sehr im allgemeinen, ausgedrückt, daß die

1) LAVOISIER'S physikalisch-chemische Schriften, aus dem Franz. v. H. F. LISK. Greifswald 1794. Bd. V. p. 498. — Das französische Original befindet sich leider nicht auf der hiesigen Universitätsbibliothek.

2) Bekanntlich entstehen außerdem noch kleine Mengen Bernsteinsäure und Glycerin.

Zersetzung der gährenden Flüssigkeit durch eine von der Gegenwart eines Fermentes abhängige und das Gährmaterial ergreifende innere Bewegung zu stande komme. Ganz ähnlich wie WILLIS sprach sich STAHL über die Fermentwirkung aus (in der *Zymotechnica fundamentalis* 1697), aber natürlich mußten alle diese Äußerungen ziemlich unbestimmt bleiben, so lange man über die elementare Zusammensetzung der Substanzen, mit denen man operirte, noch völlig im Unklaren war. So lange man noch Schwefel, Quecksilber, Salz, Wasser oder Erde für die eigentlichen Grundbestandtheile aller Substanzen hielt, wie WILLIS, STAHL und andere Chemiker vor LAVOISIER, konnte man über die substantiellen Verhältnisse des Fermentes ebenfalls bloß ganz vage Vorstellungen haben. Freilich blieb auch in den Jahrzehnten nach LAVOISIER das Ferment eine sehr hypothetische Substanz und kam zeitweise ziemlich außer Acht, besonders dann, als GAY-LUSSAC auf Grund seiner Versuche dem Sauerstoff der Luft eine hervorragende Rolle für das Zustandekommen der Gährung zuertheilte. Doch mußte sich die Überzeugung von der Nothwendigkeit des Fermentes selbstverständlich wieder Bahn brechen, und wenn man auch bis in die ersten 30 Jahre unseres Jahrhunderts noch immer nicht über das Ferment selbst aufgeklärt war, so hielt man es im allgemeinen wenigstens für etwas Positives, für eine stickstoffhaltige, organische Substanz, die bei der Gährung die Spaltung des Zuckers auf unbekannte Weise bewirke.

In den 30er Jahren dieses Jahrhunderts begann die Ausbildung der genaueren mikroskopischen Beobachtung, welche bis dahin, schon wegen der mangelhaften Instrumente, mehr eine Spielerei als eine wissenschaftliche Methode gewesen war. Erst die Herstellung von Instrumenten durch AMICI, OBERHÄUSER, CHEVALIER u. a., welche den wissenschaftlichen Anforderungen entsprachen, ermöglichte die konsequente Entwicklung der Mikroskopie. Im Jahre 1835 hatte CAGNIARD-LATOUB in einem Briefe an die Académie des Sciences mitgetheilt, daß er die Hefe mikroskopisch untersucht habe. Die ganze Hefemasse bestehe aus kleinen Kügelehen, welche wahrscheinlich organisirt seien. 1837 überreichte derselbe Gelehrte eine ausführlichere Abhandlung, in welcher endgültig festgestellt war, daß die Hefe aus mikroskopischen Kügelehen bestehe, die sich durch Spaltung vermehren und seiner Ansicht nach Pflanzen seien.¹⁾

1) Mémoire sur la fermentation vineuse. Ann. d. chimie et physique. 2 ser. T. 68 (1838) p. 206. Es war dies die erste richtige mikroskopische Beobachtung der Hefe. LEUWENHOEK's schon 1680 mit den damaligen unvollkommenen Instrumenten angestellte Beobachtung kann für eine Prioritätsfrage nicht in Betracht kommen, da die unter andern zusammenhanglosen Merkwürdigkeiten mitgetheilte Beobachtung nicht ergab, um was es sich bei den Hefekügelehen handle. Aber auch andere Beobachtungen von DESMAZIERES (1826) und KÜTZING (ERDMANN'S Journal f. pr. Chemie 1837) können keinen Anspruch erheben, da der erstere die Hefe für »animalcula monadina« hielt. Die Angaben KÜTZING's betonen zwar die pflanzliche Natur der Hefe, seine Beobachtungen sind aber sehr mangelhaft, sodaß nur diejenigen von CAGNIARD-LATOUB maßgebend sind.

Kurze Zeit darauf publicirte SCHWANN in Deutschland gleiche, unabhängige von CAGNIARD-LATOUR gemachte Beobachtungen.¹⁾ Die Hefe sei ein Pilz, dessen Keime wahrscheinlich in der Luft verbreitet, in eine Zuckerlösung gelangt, sich dort entwickelten und die Gährung veranlaßten. »Die Weingährung« sagt SCHWANN, »wird man sich vorstellen müssen als diejenige Zersetzung, welche dadurch hervorgebracht wird, daß der Zuckerpilz dem Zucker und einem stickstoffhaltigen Körper die zu seiner Ernährung und zu seinem Wachstum nothwendigen Stoffe entzieht, wobei die nicht in die Pflanze übergehenden Elemente dieser Körper (wahrscheinlich unter mehreren anderen Stoffen) vorzugsweise sich zu Alkohol verbinden.«

Bei einem Rückblick auf die geschichtliche Entwicklung der Kenntnisse über Ferment und Gährung von unserem heute erlangten Standpunkt aus könnte es den Anschein haben, als ob durch diese beiden Beobachtungen eine klare Einsicht hätte Platz greifen müssen. Thatsächlich wurden aber CAGNIARD-LATOUR'S und SCHWANN'S Beobachtungen weder in Frankreich noch in Deutschland sonderlich beachtet, was aber nur auf den ersten Blick befremdend erscheint, bei näherer Betrachtung erklärlich wird.

Den Chemikern, welche sich fast allein bis dahin mit der Gährung beschäftigt hatten und dieselbe causal zu erklären sich bemühten, konnte die Entdeckung, daß das Ferment aus organisirten Kugeln bestehe, die wahrscheinlich Pflanzen seien, nichts nützen. Diese Entdeckung bezog sich ja nur auf die äußere Form des Fermentes. Für die Theorie der Gährung brachten die Beobachtungen CAGNIARD-LATOUR'S und SCHWANN'S gar keine neuen Gesichtspunkte. Es konnte den Chemikern ganz gleichgültig sein, ob die Hefe aus Pflanzenzellen bestand oder nicht, wenn nicht zugleich offenbar wurde, auf welche Weise die organischen Kugeln die Zersetzung des Zuckers bewerkstelligten, denn das war der brennende Punkt, auf den die Chemiker ihr Denken richteten. Durch die kurze Bemerkung SCHWANN'S, die Zerlegung des Zuckers werde durch das Wachstum des Zuckerpilzes veranlaßt, war die Einsicht in den chemischen Verlauf der Gährung nicht um einen Schritt gefördert. Man konnte auch über die causale Beziehung zwischen Hefezelle und Gährung damals noch keine bestimmte Vorstellung haben, denn man darf nicht vergessen, daß man mit dem Satz, die Hefe bestehe aus organisirten Kugeln, nicht etwa unseren modernen Zellenbegriff verband oder verbinden konnte. Die Zellenlehre war noch gar nicht geboren, sondern begann erst in den 40er Jahren sich in ihren ersten Anfängen zu entwickeln. Unter einer Zelle verstand man überhaupt nur die Gewebezellen höherer Pflanzen.²⁾ Von Protoplasma wußte man noch nichts, und wenn man heute sagt — was für uns sehr weittragend klingt — man

1) Vorläufige Mittheilung, betreffend Versuche über Weingährung und Fäulniß. POGGENDORFF'S Annalen, Bd. 44 (1837).

2) Weder SCHWANN noch CAGNIARD-LATOUR sprechen bei der Hefe von Zellen, sondern nur von Körnern und Kugeln.

habe damals entdeckt, die Hefe bestehe aus Pflanzenzellen, so ist dieser Satz eine Entstellung der Geschichte, durch welche man erst viel später gemachte Entdeckungen Personen zuschreibt, die sie gar nicht machen konnten. Nach dieser Methode ist man im stande, ohne alle Schwierigkeit dem ARISTOTELES die Entdeckung des Begriffes der chemischen Verbindung zuzuschreiben.

Ich glaube diese Sachlage betonen zu müssen, da in historischen Übersichten der Entwicklung der Gährungstheorie in der Regel CAGNIARD-LATOUR und SCHWANN als verkannte Genies hingestellt werden, deren epochemachende Entdeckung der Zellennatur der Hefe wegen des ablehnenden Verhaltens der Chemiker keine Früchte habe tragen können. Ein besonderes Bedauern trifft dabei gewöhnlich LIEBIG, daß er, trotz seiner sonstigen Genialität, die Bedeutung jener Beobachtungen nicht erkannt und durch seine kurz darauf veröffentlichte Gährungstheorie die Wissenschaft mehr aufgehhalten als gefördert habe. Man kann aber selbstverständlich die Bedeutung von CAGNIARD-LATOUR'S und SCHWANN'S Beobachtungen nur abschwächen, wenn man sie auf Kosten Anderer überschätzt. Den besten Beweis, daß man mit jenen beiden Beobachtungen auch bei besserem Willen nichts hätte anfangen können, erblicke ich darin, daß noch heute, wo wir uns doch wohl bewußt sind, was wir unter einer Zelle zu verstehen haben, die causale Beziehung zwischen der Hefezelle und der Spaltung des Zuckers bei der Gährung ebenso dunkel ist, wie 1837. Auf den eigentlichen Kernpunkt der Theorie der Gährung haben die mikroskopischen Beobachtungen nur einen mittelbaren Einfluß gehabt und die vollkommensten mikroskopischen Untersuchungen unserer Tage haben nur Thatsachen festgestellt, welche zur Erweiterung und nicht zur Widerlegung der Theorie LIEBIG'S geführt haben. Es ist trotzdem Mode geworden, LIEBIG'S in den Jahren 1837—1870 entwickelte Gährungstheorie als einen Irrweg zu bezeichnen, von dem man nur mit Mühe, besonders durch PASTEUR'S Untersuchungen auf den richtigen Pfad zurückgeführt worden sei. Die Lobeserhebungen, welche LIEBIG neben dieser Kritik gesendet werden, sprechen aber mehr für die Unsicherheit der Kritiker, als für ihre Überzeugungstreue. Kritiklose Köpfe, welche sich für Kritiker halten, weil sie einem Manne von Bedeutung einen Irrthum glauben nachweisen zu können, pflegen sich ja gewöhnlich auf diese Weise zu salviren. Bei der Gegenüberstellung von LIEBIG und PASTEUR als theoretischen Forschern läuft übrigens auch eine Begriffsverwechslung mit unter, denn die von dem letzteren begründete richtige Thatsache, daß die Gährung nur bei Gegenwart von Hefe stattfindet, ist keine Theorie, wie man dies mehrfach liest, und die später von PASTEUR aufgestellte Sauerstoffentziehungs-Theorie wurde widerlegt. Es hat also heute keinen rechten Sinn mehr, LIEBIG und PASTEUR gegenüberzustellen, und gar keinen, zu behaupten, LIEBIG'S Theorie sei durch PASTEUR'S Versuche widerlegt worden.

In der historischen Entwicklung der theoretischen Ansichten über die Gährung bildet LIEBIG's Theorie keinen Abweg, sondern den geraden Weg von den älteren Ansichten WILLIS' und STALL's¹⁾ zu den in allerneuester Zeit geltend gemachten theoretischen Anschauungen NÄGELI's. NÄGELI's Theorie der Gährung ist nur eine Umsetzung der LIEBIG'schen in's Physiologische und die Verwandtschaft beider so naheliegend, daß es nicht zweifelhaft sein kann, ob NÄGELI ohne LIEBIG's Vorgang zu seiner Theorie gelangt wäre, welche nur eine klarere und dem Standpunkt unserer Kenntnisse angemessene Form der LIEBIG'schen ist.²⁾

LIEBIG's Publikationen der Jahre 1837—1870 sind für unsere Betrachtung deshalb von Bedeutung, weil durch die Zusammenfassung der bis dahin fast ausschließlich diskutirten Alkoholgährung mit einer Anzahl ähnlicher Prozesse überhaupt zuerst der Begriff Ferment als ein allgemeinerer fixirt wurde. Die aufblühende organische Chemie führte zur Bekanntschaft mit mehreren chemischen Spaltungen, deren Analogie mit der Alkoholgährung ganz eklatant war und die man daher konsequent ebenfalls als Gährungen bezeichnete. Es waren dies die Zerlegungen des Amygdalins, der Myronsäure und die später gefundene Spaltung der Rubierythrin säure.

WÖHLER und LIEBIG stellten durch ihre Untersuchung über die Bildung des Bittermandelöls fest, daß dieses neben Blausäure und Zucker durch die Einwirkung des Emulsins auf das von ROBIQUET und BOUTRON-CHARLARD schon dargestellte Amygdalin der Mandeln entstehe.

»Die geringe Menge Emulsin, welche verhältnißmäßig erforderlich ist, um das Zerfallen des Amygdalins in die erwähnten Produkte hervorzubringen, sowie der ganze Vorgang dieser Zersetzung zeigen, daß man es mit keiner gewöhnlichen chemischen Wirkung zu thun habe; eine gewisse Ähnlichkeit besitzt sie mit der Wirkung der Hefe auf den Zucker.«³⁾

Solche Analogien stellten sich bald mehrere heraus. Alle derartigen Vorgänge wurden als Gährungen bezeichnet, und da auch bei diesen Gährungen besondere Substanzen als Gährungserreger wirkten, so übertrug

1) Die Äußerungen SCHÜTZENBERGER's (Gährungserscheinungen), LIEBIG habe diese älteren Ansichten nur »aufgefrischt« und »etwas anders zugestutzt«, sind nicht gerecht, wenn man nicht jede Weiterentwicklung der Theorie in einer Wissenschaft als ein »Zustutzen« bezeichnen will.

2) Der Unterschied zwischen LIEBIG's und NÄGELI's Anschauungen ist der, daß der erstere annahm, die Molekularbewegung des in Zersetzung begriffenen Fermentes übertrage dieselbe auf den Zucker, während nach NÄGELI Gährung entsteht durch Übertragung der Schwingungen »der Moleküle, Atomgruppen und Atome verschiedener, das lebende Plasma zusammensetzender Verbindungen (welche hierbei chemisch unverändert bleiben) auf das Gährmaterial, wodurch das Gleichgewicht in dessen Molekülen zerstört und dieselben zum Zerfallen gebracht werden.« (NÄGELI's Theorie der Gährung p. 29.)

3) WÖHLER und LIEBIG, Über die Bildung des Bittermandelöls. POGGENDORF'S Annalen 1837. Bd. 41.

man auf sie von der Hefe den Namen Ferment. In den chemischen Briefen von LIEBIG (3. Aufl. 1851) heißt es p. 231:

»Alle der Fäulniß¹⁾ unfähigen Materien heißen gährungsfähig, wenn sie die Eigenschaft besitzen, mit faulenden Stoffen eine Zersetzung zu erleiden; der Prozeß der Zersetzung heißt jetzt Gährung, der faulende Körper, durch welchen dieselbe bedingt ist, empfängt jetzt den Namen Ferment.«

Damit waren die Namen festgesetzt. Man sprach von Alkohol-, Milchsäure-, Buttersäure-, Bittermandelöl-, Senföl-Gährung und von deren Fermenten. Über die Natur dieser Fermente waren aber auch jetzt noch die Vorstellungen LIEBIG's und anderer Chemiker keine geklärten und von ganz eigenthümlicher Art. LIEBIG sagt über die Fermente: »Der Kleber, das Pflanzenalbumin, Pflanzencasein der Pflanzensäfte erregen Gährung, weil sie in Zersetzung übergehen, ihre Wirkung beruht auf dem Zustand des Wechsels in der Form und Beschaffenheit ihrer Elementartheilchen; indem sie sich verändern und abgetrennt werden, nehmen sie in der Folge der Mitwirkung anderer untergeordneter Bedingungen die Formen eines niedrigen Pflanzengebildes an, dessen vitale Eigenthümlichkeiten auf einem Übergangszustand beruhen und mit dessen Vollendung erlöschen.« (Chem. Briefe p. 298.)²⁾

Die merkwürdige Vorstellung, daß die Fermente eine Art Mittelding zwischen lebendem Wesen und chemischer Verbindung seien, findet man in den chemischen Lehrbüchern damaliger Zeit. In LÖWIG's Chemie der organischen Verbindungen z. B. sind alle Fermentwirkungen, sowohl die Alkohol- und Milchsäuregährung, als auch die Amygdalin- und Myronsäurespaltung, als »Zersetzungen organischer Verbindungen unter Mitwirkung lebender Wesen« abgehandelt. Es wird zwar nur von der Hefe ausdrücklich berichtet, daß durch die mikroskopische Untersuchung ihre Pflanzennatur festgestellt sei, allein die anderen Fermente hatte man eben noch nicht mikroskopisch untersucht. Sie konnten sich ja möglicher Weise auch als organisierte Kügelchen herausstellen. Die Beschäftigung mit der Hefe mußte aber gerade eine solche Vorstellung von einem Zwischending von lebendem Wesen und chemischer Verbindung unterstützen, denn einerseits erwies sie sich mikroskopisch als Pflanze, andererseits konnte man die Hefe, wie jede andere Substanz, analysiren und sie stimmte in Beziehung

1) Der Ausdruck Fäulniß ist nicht im hentigen Sinne zu verstehen, sondern hat bei LIEBIG die bestimmte Bedeutung der spontanen chemischen Zersetzung einer Substanz. Chem. Briefe p. 230.

2) Wenn man erwägt, daß in allernuester Zeit nicht ohne Ansehen von WIGAND analoge Vorstellungen veröffentlicht wurden, so erregt es keine Verwunderung, daß LIEBIG die citirten Sätze schrieb zu einer Zeit, wo die generatio spontanea noch allgemein bestand. Später hat bekanntlich LIEBIG, wie sich von selbst versteht, eine solche Entstehung der Hefepilze nicht mehr angenommen, was aber seine theoretischen Ansichten über die Gährung nicht beeinflusste. LIEBIG, Über Gährung und die Quelle der Muskelkraft. Ann. d. Chemie u. Pharm. 153. (1870.)

auf ihre elementare Zusammensetzung ziemlich mit den Proteïnsubstanzen, denen sie auch in ihrem sonstigen chemischen Verhalten am nächsten kam.

Daß man nicht wenigstens über einen Theil der Fermente schon damals aufgeklärt wurde, lag an dem Mangel der Betheiligung von Seiten der Botaniker, welche sich physiologischen Fragen fern hielten. Diesen, nicht LIEBIG und den Chemikern, wäre der Vorwurf zu machen, daß sie CAGNIANI-LATOUR'S und SCHWANN'S Beobachtungen gar nicht beachteten und verfolgten.

Es wurde daher auch gar nicht — weder durch die alten, noch durch neue mikroskopische Untersuchungen, sondern vorwiegend auf experimentellem Wege — von PASTEUR im Jahre 1860 festgestellt, daß ein Theil der Fermente, nämlich das der Alkoholgährung, das Milchsäure- und Buttersäureferment, Organismen seien.

Diese Thatsachen wurden nach der regeren Theilnahme der Botaniker an diesen Forschungen ebenso sicher begründet, als sich herausstellte, daß einem anderen Theil der Fermente, z. B. dem Emulsin, Myrosin, der Diastase u. a., eine Organisation nicht zukäme, Thatsachen, die sich weniger durch Entdeckungen Einzelner, sondern in der ruhigen Entwicklung der Wissenschaft ergaben.¹⁾

Es liegt auf der Hand, daß dies für eine Klassifikation der Erscheinungen erschwerend wurde. Man hatte ähnliche Wirkungen verschiedener Ursachen vor sich. Wollte man auf die ersteren Gewicht legen, so gehörten alle Fermente zusammen, sollte aber die Form des Gährungserregers maßgebend sein, so war eine Trennung der Fermente geboten. Man versuchte beides zu vereinigen, und indem man der analogen Wirkungen wegen die Gährungspilze mit den anderen Substanzen unter dem Namen »Fermente« vereinigte, gab man den ersteren zur Unterscheidung die Bezeichnung »organisirte oder geformte Fermente«, während die andere Gruppe als »unorganisirte oder ungeformte Fermente« aufgeführt wurde.

Dies war ein Mißgriff, der heute nicht nur unbefriedigend ist, sondern nachgerade hegennt, fühlbar unangenehm zu werden. Es giebt gar keine Definition des organisirten Fermentes, sondern man verbindet damit nur die allgemeine Vorstellung eines Organismus, welcher chemische Zersetzungen hervorruft. Wo ist aber da die Grenze für diese Bezeichnung? Soll man einen großen Schmarotzerpilz, der die Holzmasse eines Baumes zersetzt, oder eine Orobanche, oder jede Keimpflanze auch ein organisirtes Ferment nennen? Das würde geistlos sein, und doch ist das Gegenteil Inkonsequenz. — Die Hefe produziert bekanntlich das Invertin, welches vor der Gährung den Rohrzucker in gährungsfähigen Zucker umwandelt. Das Invertin ist also ein ungeformtes Ferment, welches von einem geformten Fer-

1) Es ist aber doch auffallend, wie spät dies geschah. REESS' ausführlichere Untersuchungen über die Hefe, in denen dieselbe ihren Platz im Pilzsystem erhielt, erschienen erst 1870.

ment erzeugt wird. Solchen Komplikationen des Ausdrucks gegenüber wäre es zweckmäßiger, wenigstens für die eine Gruppe das Wort Ferment ganz aufzugeben, es fragt sich nur für welche?

Das ältere Anrecht auf den Namen haben die Gährungspilze, denn ursprünglich hieß nur die Hefe allein Ferment. In neuerer Zeit ist dieser Ausdruck jedoch vorwiegend für die ungeformten Fermente, für das Pepsin, für die Diastase etc. in Gebrauch. Einem Botaniker fällt es gewiß nicht mehr ein, die Hefe und die Baeterien in seinen Vorträgen als Fermente zu bezeichnen, und wenn auch in chemischen Lehrbüchern dieser Gebrauch noch herrscht, so könnte er füglich aufgegeben werden, da von den sogen. organisirten Fermenten jedes seine systematische Stellung im Pflanzenreich besitzt oder doch über kurz oder lang bekommt und zur allgemeinen Bezeichnung das Wort Pilz vorhanden ist. Für die Gährungspilze das Wort Ferment beizubehalten empfiehlt sich besonders deshalb nicht, weil man heute im allgemeinen die Vorstellung von etwas Organisirtem viel weniger leicht damit verknüpft, als von unorganisirten Substanzen.

Will man also den Ausdruck Ferment beibehalten, so muß man ihn in Zukunft ausschließlich für die ungeformten Fermente anwenden. Viel besser aber wäre es, dies Wort überhaupt zu streichen und die von KÜNE vorgeschlagene Bezeichnung »Enzym« konsequent für die ungeformten Fermente zu brauchen, was noch einen anderen Vortheil hat. Es handelt sich bekanntlich auch darum, Gährung und enzymatische Wirkung zu unterscheiden. NÄGELI hat einen Unterschied beider so ähnlichen Prozesse hervorgehoben, der durchaus einleuchtet. NÄGELI sagt: 1)

»Die Fermente haben in den meisten Fällen die Aufgabe, Nährstoffe, die in unverwerthbarer Form vorhanden sind, in verwertbare umzuwandeln, unlösliche löslich, nicht diosmirende diosmifähig zu machen. Sie verwandeln die Albuminate in Peptone, Stärkemehl, Gummi, Cellulose in Glykoseformen, sie invertiren Rohr- und Milchzucker, sie zerlegen die Fette in keimenden Samen.«

»Die Hefe- oder Gährwirkung hat gerade den entgegengesetzten Charakter; ihre Produkte sind ausnahmslos schlechter nährende Verbindungen und sie zerstört vorzugsweise die am besten nährenden Stoffe.«

So vortrefflich diese von NÄGELI gemachte Unterscheidung ist, so sind die beiden von ihm gewählten Wortbezeichnungen »Gährung« und »Fermentwirkung« für die beiden Prozesse in Rücksicht auf fremde Sprachen nicht zweckmäßig. Die romanischen Sprachen und die englische haben für unser Wort »Gährung« den Ausdruck Fermentation, würden aber NÄGELI's zweiten Terminus »Fermentwirkung« nur mit demselben Wort übersetzen können, eine Schwierigkeit, die auch SACS schon bei der Übersetzung seiner »Vorlesungen« in's Englische erfahren hat.

1) Theorie der Gährung. p. 13 ff.

Es empfiehlt sich also in jedem Falle, das Wort Ferment in unserem Sinne weder allein noch in Zusammensetzungen zu benutzen, sondern durch »Enzym« zu ersetzen. Die Gährungen werden durch niedere Pilze bewirkt, die enzymatischen Spaltungen durch Enzyme.

Diese Betrachtungen mußten sich bei einer Beschäftigung mit pflanzlichen Enzymen aufdrängen und es schien als der passendste Ort, dieselben einigen thatsächlichen Mittheilungen voranzustellen, welche sich in den folgenden Blättern unter Hinzuziehung der wichtigsten schon bekannten einschlägigen Faeta finden.

Während zunächst die Enzyme ein vorwiegend chemisches Interesse beanspruchten, wurde ein Theil derselben beim fortsehreitenden Studium der Verdauungsvorgänge für die thierische Physiologie von außerordentlicher Wichtigkeit. Bei den Pflanzen dauerte es länger, ehe man erkannte, daß hier ebenfalls Enzyme eine Rolle bei der Ernährung mitspielten.

Die Umwandlung der Stärke in Zucker bei der Malzbereitung, welche nach den von KIRCHHOFF 1812 und SAUSSURE 1834 angestellten Untersuchungen durch eine in den Gerstensamen enthaltene eiweißartige Substanz bewirkt werden sollte, war lange bekannt, ehe dieselbe von der physiologischen Wissenschaft verwerthet wurde. Daß die Diastase oder allgemeiner diastatische Enzyme bei der Auflösung der Stärke in den Pflanzen eine Rolle spielten, würde sich besonders aus den ausführlicheren Beobachtungen von PAYEN und PERSOZ, welche zuerst die Diastase in reinerer Form darstellten, ergeben haben, wenn damals die Pflanzenphysiologie, speziell die Ernährungslehre nicht noch vollständig brach gelegen hätte. Die beiden genannten Chemiker stellten aus gekeimter Gerste, Weizen, Hafer die Diastase dar und ergänzten ihre Beobachtungen später durch den Nachweis derselben in Reis- und Maiskörnern, in treibenden Kartoffelknollen und Knospen von *Ailanthus glandulosa*. MULDER'S Äußerungen, daß sich wohl kaum ein Pflanzensaft finde, welcher der Fähigkeit, Stärkemehl in Dextrin und Zucker überzuführen, entbehre, waren zu allgemein gehalten, um Eindruck machen zu können, und obgleich man später schon lange an die Allgemeinheit diastatischer Enzyme glaubte, war selbst bis zum Jahre 1874 diese noch nicht bestimmt ausgesprochen. SACUS spricht sich in seinem Lehrbuch über die Lösung der Stärke aus wie folgt: »Innerhalb der lebenden Zelle kann die Stärke in sehr verschiedener Weise gelöst werden, wahrscheinlich geschieht es hier meist unter dem Einfluß des Protoplasma oder doch unter Mitwirkung stickstoffhaltiger Verbindungen des Zellsaftes.« —

Die Reserve, mit welcher hier die Ansicht über die Umwandlung der Stärke trotz der oben berichteten PAYEN-PERSOZ'schen Nachweise vorgetragen ist, ist auch heute noch aufrecht zu erhalten gegenüber der Thatsache, daß noch ein schlagender Nachweis diastatischer Enzyme in den assimilirenden Blättern fehlt. Gerade hier wäre dieser Nachweis um so nöthiger, als nach SACUS' neuesten Untersuchungen über die Ernährungsthätigkeit der Blätter,

Bildung und Wiederauflösung der Stärke nicht bloß auf winzige Mengen, sondern auf namhafte Quantitäten sich erstreckt. Die Berechtigung, wenigstens einen Analogieschluß auf die Blätter zu machen, ergab sich später besonders aus den Untersuchungen »über die stärkeumbildenden Fermente« von BARANETZKY (1878), der aus verschiedenen Theilen zahlreicherer Pflanzen diastatische Enzyme darstellte und zugleich die Auflösung der Stärkekörner dem genaueren Studium unterwarf. Heute ist daher die Anschauung, daß die unumgängliche Auflösung der Stärke bei den Ernährungsprozessen überall durch diastatische Enzyme bewerkstelligt werde, allgemein acceptirt und mit einem gewissen Recht, weil kein Grund gegen diesen Schluß der Analogie spricht. Bekanntermaßen sind außer den Enzymen nur verdünnte Säuren bei höherer Temperatur im Stande, Stärke in Glukose umzuwandeln, und diese Verhältnisse können für die Pflanze nicht in Betracht kommen.

Die Eiweißverdauung, welche beim Thiere eine so große Rolle spielt, liegt bei den Pflanzen als allgemeiner Ernährungsprozeß nicht so auf der Hand, und so hat man an das Vorkommen peptonisirender Enzyme bei den Pflanzen gar nicht gedacht, bis deren Vorkommen bei den Insectivoren durch HOOKER 1874 nachgewiesen wurde, was begreiflicher Weise anfangs ebensoviel Zweifel als Aufsehen erregte. Doch wurde die Thatsache bald durch mehrere Beobachter bestätigt.¹⁾ Obgleich das wichtigere Problem bei den Insectivoren in den Reizerscheinungen liegt, richtete sich damals die Aufmerksamkeit vorwiegend auf den Auflösungs Vorgang der eingefangenen Insekten und es wurde entschieden, daß es sich in der That um einen eigentlichen Verdauungsprozeß handle, verursacht von einem peptonisirenden Enzym, welches durch Hinzutritt einer nach der Reizung von den Secretionsorganen mit ausgeschiedenen Säure in ähnlicher Weise wirkt, wie das Pepsin des thierischen Magens. Nachdem diese Ansicht mehrfach bestritten, ergab sich die Richtigkeit derselben durch Isolirung des Enzyms und Anstellung von Verdauungsversuchen unabhängig von der Pflanze.

REESS und WILL extrahirten nach dem bekannten HÜBNER'schen Verfahren Blätter von *Drosera rotundifolia* mit Glycerin. Das Glycerinextrakt verdaute bei Zimmertemperatur zwischen 49—25° C. kleine Flocken gequollenen Fibrins vollständig. Die Darstellung des Enzyms in fester Form wurde nicht unternommen und stößt überhaupt, weil es schwer hält, größere Mengen Sekretes zu erhalten, auf Schwierigkeiten.

Mit Nephthessekret wurden von GORUP und VINES Versuche angestellt, welche ergaben, daß das neutrale Nephthessekret keine Wirkung, dagegen nach dem Ansäuern seine stark verdauende Wirkung auf Fibrin äußere.

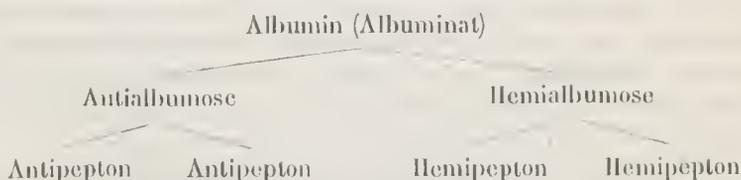
1) Einige Bemerkungen über »fleischfressende Pflanzen« v. M. REESS u. H. WILL, Sitzungsber. d. phys. med. Societät zu Erlangen 1875, abgedruckt Bot. Ztg. 1876. N. 44. VINES, On the digestive Ferment of Nephthes. Linnean Soc. Journal. vol. XV. E. v. GORUP u. H. WILL, Berichte d. deutsch. chem. Gesellsch. 1876. IX. Jahrg. 673. DARWIN, Insectivorous Plants.

Derartige Versuche sind seitdem genügend wiederholt worden, unter andern auch von SACS¹⁾, sodaß die Thatsache des Vorkommens von peptonisirenden Enzymen und einer dadurch bewirkten Verdauung bei den Insectivoren nicht mehr bezweifelt wird.

Wenn ich noch einige Versuche mittheile, welche ich im Anschluß an andere mit Nepenthessekret angestellt habe, so geschieht dies auch nicht, um die eben besprochenen Thatsachen noch zu bekräftigen, sondern um über die Verdauungsprodukte, mit denen sich die genannten Beobachter nicht beschäftigt haben, einige Angaben zu machen.

Das Enzym des Nepenthessekrets ist schon mehrfach als »Pflanzenpepsin« bezeichnet worden, doch nur wegen der allgemeinen Ähnlichkeit der durch beide Enzyme veranlaßten Verdauungsvorgänge.

Nach den Untersuchungen von KÜNXE verläuft die peptische Verdauung nach folgendem Schema:



Aus der Verdauungsflüssigkeit können die Anti- und Hemialbumose durch Natronlauge gefällt werden. Die Hemialbumose kann aus dem Gemenge durch 5% ige Kochsalzlösung extrahirt werden und giebt dann die bekannte Reaktion mit Salpetersäure.

Um das Enzym des Nepenthessekrets mit dem thierischen Pepsin zu vergleichen, ist es jedenfalls nöthig, sich von der Übereinstimmung oder Nichtübereinstimmung der Verdauungsprodukte Rechenschaft zu geben. Ich leitete daher zu diesem Zwecke zunächst einen Verdauungsversuch mit Nepenthessekret ein.

40,0 ausgewaschenes Fibrin, welches durch Pressen vom Wasser soweit befreit wurde, daß es nur noch feucht war, ließ ich in bekannter Weise in 1 Liter 0,2% iger Salzsäure zur Gallerte aufquellen. Nachdem das Gemisch auf die Temperatur von 40° gebracht war, wurden 7 cem frischen, wasserklaren Nepenthessekrets zugesetzt. Nach 2 Stunden war eine energische Einwirkung des Fermentes bemerkbar und über Nacht (von Abends 8 bis Morgens 8 Uhr) die Verdauung bei 40° vollendet.²⁾ Es war eine vollständig wasserdtünne Flüssigkeit, wie bei der Pepsinverdauung, erhalten worden.

Die Verdauungsflüssigkeit wurde mit Natronlauge neutralisirt, der Niederschlag abfiltrirt und nach dem Auswaschen mit 3% iger Kochsalzlösung

1) Vorlesungen p. 439.

2) Die Verdauung war natürlich schon früher beendet, doch lag in diesem Falle nicht die Absicht vor, die Zeit genau zu bestimmen.

ausgekocht. Die Lösung gab die Hämialbumosereaktion: mit NO_2H in der Kälte einen Niederschlag, welcher sich beim Erwärmen löst, beim Abkühlen zurückkehrt. Das von den Albumosen getrennte Filtrat enthielt die Peptone. Nach dem Eindampfen wurden dieselben dialysirt. Das Dialysat gab mit Kali und Kupfer die purpurrothe Peptonreaktion.

Nach diesen Resultaten könnte man in der That das Ferment des Ne-penthessekretes als Pflanzenpepsin bezeichnen, doch dürfte zur definitiven Identificirung noch ein genauerer Vergleich der Eigenschaften bezüglich der Resistenz gegen Säuren und Temperaturen nöthig sein.

In alkalischer Lösung wirkt das Sekret nicht verdauend und stimmt auch darin mit dem Pepsin überein, während es sich in dieser Beziehung von einigen anderen pflanzlichen peptonisirenden Enzymen, welche sowohl in saurer als alkalischer Lösung wirksam sind, unterscheidet.

Das Auffinden der peptonisirenden Enzyme bei den Insektivoren ging mit der Begreiflichkeit ihrer physiologischen Bedeutung Hand in Hand. Momentan hat aber ein anderes Vorkommen von eiweißverdauenden Enzymen die Aufmerksamkeit auf sich gezogen, ohne daß auch in diesem Falle ihr Vorkommen völlig erklärlich erscheint. Es sind die peptonisirenden Enzyme, welche in einigen Milchsäften entdeckt worden sind.

Die Bedeutung der Milchsäfte für die Pflanzen ist noch unbekannt. Die Milchsäfte stellen Emulsionen dar, welche die verschiedensten Stoffe enthalten, kleine Mengen von Kohlehydraten und Proteinsubstanzen neben größeren Mengen Harz, Kautschuk, organ. Säuren, Alkaloiden etc. Aus der chemischen Zusammensetzung der Milchsäfte ist aber kein Schluß auf deren Bedeutung zu ziehen, da sie ebensogut Exkrete, wie Bildungssäfte für Organe sein können. Begreiflicher Weise erregte es Interesse, daß man gerade in den noch räthselhaften Milchröhren bei einzelnen Pflanzen Enzyme von sehr stark verdauender Wirkung nachweisen konnte.

Die Andeutungen, welche sich in der älteren Literatur fanden, hatten nicht genügt, die Aufmerksamkeit auf dies Faktum zu lenken. Diese Andeutungen bezogen sich auf die Wirkung des Milchsafes von *Carica Papaya*, der nach den Berichten mehrerer Reisenden die Fleischfaser weich machen und in den Tropen zum Mürbekochen des Fleisches praktische Verwendung finden sollte. Es war deshalb verdienstvoll, daß WITTMACK diese in der Literatur mehr als unverbürgtes Curiosum wie als Thatsache von wissenschaftlichem Interesse mitgetheilte Angabe einer Prüfung unterzog.¹⁾ WITTMACK konnte in mehrfachen Versuchen mit frischem aus einer Frucht von *Carica Papaya* gewonnenem Milchsafte die erweichende Wirkung an frischem Fleisch bestätigen. Beim Kochen von frischem Rindfleisch mit einem Zusatz von verdünntem Milchsafte zerfiel das Fleisch leicht im Gegensatz zu in

1) WITTMACK, Sitzungsberichte der Gesellschaft naturforschender Freunde zu Berlin 49. Febr. 1878, wo die ältere Literatur mitgetheilt ist (abgedruckt Bot. Zeitg. 1878). Bot. Zeitung 1880 p. 443, 475, 236.

reinem Wasser gekochtem, welches zäh blieb. Außerdem wurde die verdauende Wirkung des Milchsafte auf gekochtes Hühnerweiß, wie die Caseinfällende beim Erwärmen von Milch mit Milehsaft auf 35° und endlich eine verflüssigende Einwirkung auf Gelatine festgestellt. (l. c.) Durch die Angaben des AMISTOTELES und DIOSCORIDES veranlaßt, daß die Alten den Milehsaft des Feigenbaumes wie Lab zur Herstellung von Käse benutzt hätten, machte WITTMACK erst einige Versuche mit Milehsaft von *Ficus Carica* und konnte einerseits die Gerinnung der Milch durch denselben bestätigen, fand andererseits aber auch ganz wie bei *Carica Papaya* peptonisirende Eigenschaften beim Feigenmilehsaft und auch noch bei einer anderen Ficusart, *Ficus macrocarpa*.¹⁾ Mit einiger Ausführlichkeit sind nur die Versuche mit dem Milehsaft von *Carica Papaya* angestellt worden, welche, wie bekannt, später von WERTZ wiederholt und ausgedehnt wurden.²⁾

Es war, trotzdem das Vorhandensein peptonisirender Enzyme in den Milehsäften der genannten Pflanzen nicht zweifelhaft war, doch noch so Vieles bei Anstellung der Versuche unberücksichtigt geblieben, daß es mir nicht überflüssig schien, dieselben wieder aufzunehmen und strengeren Ansprüchen entsprechend auszudehnen. Es sind z. B. die Angaben über den Unterschied des *Carica Papaya*-Enzyms vom Pepsin, welche WITTMACK Bot. Ztg., 1879, p. 556 gemacht hat, nicht genau. In dem Ergebniß, daß der *Papaya*-Milehsaft ohne Säurezusatz verdauend wirke, erblickt WITTMACK einen Gegensatz zum Pepsin, allein die natürliche Reaction des Milchsafte wurde nicht geprüft, und da dieser wie auch der von *Ficus* sauer reagirt, so war thatsächlich die Verdauung doch in saurer Lösung verlaufen. Um mit den Enzymen des thierischen Organismus einen Vergleich ziehen zu können, waren also exaktere Verdauungsversuche in saurer und alkalischer Lösung nöthig. Außerdem waren bei jenen ersten Versuchen immer nur kleine Quantitäten Albumin benutzt worden und die Experimente gehen keine rechte Vorstellung von der Energie der Fermentwirkung, welche in der That beim Milehsaft des Feigenbaumes einige Ueberraschung hervorruft. Endlich fehlen auch Angaben über die Verdauungsprodukte, ohne welche natürlich ebenfalls kein Vergleich mit anderen Enzymen möglich ist, und auch sonst sind noch zahlreiche Fragen unbeantwortet geblieben, welche sich aufdrängen.

Ich habe ganz besonders dem Milehsaft von *Ficus Carica* meine Aufmerksamkeit geschenkt, weil derselbe leichter in größerer Menge in frischem Zustande zu haben ist, als derjenige von *Carica Papaya*. Der aus den Tropen bezogene eingetrocknete oder mit Alkohol gefällte Milehsaft dieser letzteren Pflanze hat jedenfalls von seiner Wirkung beträchtlich eingehüßt.

Nachstehend theile ich die von mir angestellten Versuche mit:

1) WITTMACK, Tageblatt der 52. Versammlung deutscher Naturforscher und Ärzte. 1879, p. 222. Über WITTMACK'S Priorität gegenüber WERTZ und BOEHMERT vgl. Sitzungsberichte naturf. Freunde zu Berlin, 21. März 1882.

2) WERTZ, vgl. weiter unten.

Milchsaft von *Ficus Carica*.

Der Milchsaft ist wie andere Milehsäfte eine Emulsion von saurer Reaktion (die jedoch durch den Geschmaek nicht wahrnehmbar ist). Der Milchsaft besitzt ein eigenthümliches Arom, wie dieses allen Theilen des Feigenbaumes eigen ist. Es scheint, daß diese aromatische Substanz antiseptisch wirkt und den Milchsaft lange haltbar macht, was mir in der That auffiel. Mit Wasser ist der Milehsaft mischbar, die milchige Flüssigkeit geht milchig durch das Filter.

Die enzymatische Wirkung des Feigenmilchsaftes ist eine vierfache:

- 1) Peptonisirende in saurer Lösung,
- 2) Peptonisirende in alkalischer Lösung,
- 3) Diastatische,
- 4) Caseinfällende.

1. Verdauungsversuche.

Die Versuche werden am besten mit Fibrin angestellt, welches nach der bekannten Weise in 0,2% iger Salzsäure zu einer glashellen Gallerte aufgequollen ist. Das Verdauungsgefäß stellt man in einen Wasserkessel und bringt die Temperatur auf 39—40°, auf welcher Höhe dieselbe nach dem Zufügen des Enzyms bis zur Beendigung des Versuches constant gehalten wird.

Versuche mit kleinen Flöckchen Fibrin im Reagensglas sind in solchen Fällen, wo man nicht nur minimale Mengen von Enzymen besitzt, sondern wie bei Milehsäften sich größere Mengen des Sekretes verschaffen kann, nicht zu empfehlen. Erstens hat man bei der Verwendung so kleiner Fibrinmengen keinen richtigen Eindruck von der Energie der Enzymwirkung. Zweitens hat man auch keine Garantie, daß das Flöckchen Fibrin während der von einigen Beobachtern oft tagelang ausgedehnten Versuche nicht durch Bakterienwirkung gelöst worden sei. Wenn dagegen gleich 20—100 g Fibrin und mehr in einigen Minuten verdaut werden, so ist jede Bakterienwirkung ausgeschlossen. Die Verdauungsversuche in saurer Lösung dürfen eigentlich nicht über 6—7 Stunden ausgedehnt werden, weil der Schluß auf das Vorhandensein eines Enzyms sonst wegen möglicher anderer Einwirkungen unsicher wird.¹⁾ Jedenfalls ist, falls nach 6—7stündiger Digestion mit einem vermuthlichen Enzym keine Verflüssigung des Fibrins eingetreten ist, das Resultat als negatives zu betrachten. Ein scheinbares oder thatsächliches Erweichen oder Durchsichtigerwerden des Fibrins beweist gar nichts. Aus derartigen zweifelhaften Resultaten Schlüsse zu ziehen, kann nur zu Irrthümern führen.

1) Aus diesem Grunde ist auch der von Boremer (Comptes rendus XCI p. 67) mitgetheilte Verdauungsversuch mit dem Milchsaft von *Ficus Carica* nicht zu verwerthen, da zwar 90 g Fibrin verdaut, aber der Versuch auf die unglaubliche Zeit von 4 Wochen ausgedehnt wurde.

Die in den folgenden Versuchen angegebenen Gewichtsmengen beziehen sich auf das ausgewaschene und durch Auspressen vom Wasser befreite (noch nicht gequollene) Fibrin.

63,0 feuchtes Fibrin,

1½ Liter 0,2%ige Salzsäure.

Nach der vollendeten Quellung des Fibrins wurden 2 cem Milchsaff von *Ficus Carica* zugesetzt. Temp. 40° C.

Die Fibringallerte war beim Beginn des Versuches so steif, daß ein Holzspatel darin aufrecht stehen blieb. Beim Durchrühren des Milchsaffes wurde die Masse fühlbar weicher und nach 40 Minuten war aus der steifen Fibringallerte eine vollständig dünnflüssige, wässerige Lösung entstanden. Die schnelle Wirkung ist außerordentlich überraschend, der Übergang des Fibrins in den gelösten Zustand ziemlich plötzlich. Die ersten Minuten scheinen ohne merkbare Wirkung deshalb zu verfließen, weil der Milchsaff von der Fibringallerte imbibirt werden muß. Hat erst einmal eine sichtbare Einwirkung des Enzyms begonnen, so geht die vollständige Verflüssigung rapide weiter, sodaß die Enzymwirkung in der That fast momentan zu sein scheint. Ich habe die Versuche mehrfach wiederholt und auch noch größere Mengen, z. B. 130,0 Fibrin durch 3 cem Milchsaff (in 3 Litern 0,2%igem HCl) in 20—30 Minuten verflüssigt.

Zum Vergleich mit der Pepsinwirkung habe ich einige Versuche mit einer Pepsinglycerinlösung aus Schweinemagen angestellt.

125,0 feuchtes Fibrin,

3 Liter 0,2%ige Salzsäure.

Nach vollendeter Quellung und Erwärmung auf 40° Zusatz von 10 cem Pepsinlösung. Vollständige Verflüssigung trat nach einer Minute ein.

Ein zweiter Versuch wurde in folgenden Mengenverhältnissen angestellt.

140,0 feuchtes Fibrin,

3 Liter 0,2%ige Salzsäure,

2,5 cem Pepsinlösung.

In zwei Minuten war vollständige Verflüssigung eingetreten.

Die Wirkung des Feigen-Enzyms steht also der des Pepsins wenig nach. Es läßt sich übrigens in dieser Beziehung kein strenger wissenschaftlicher Vergleich ziehen, da man in keinem der beiden Fälle die Menge des reinen Enzyms kennt, und auch nicht weiß, ob die verdauende Kraft proportional der Menge des Enzyms zunimmt. Allein im großen Ganzen kann man wohl sagen, daß im Feigensaft ein Enzym von gleicher energischer Wirkung wie das Pepsin vorhanden sei.

Zur Untersuchung der Verdauungsprodukte wurde die mittels Feigenmilchsaff erhaltene Verdauungsflüssigkeit genau mit Natronlauge neutralisirt. Es entstand ein reichlicher Niederschlag, ein Gemenge von Anti- und Hennialbumose. Die von demselben abfiltrirte klare Flüssigkeit enthielt die Peptone, welche nach dem Eindampfen und Dialysiren mit Kali und Kupfer-

sulfat nachgewiesen wurden. Den etwas schwankenden Angaben über diese Reaction gegenüber möchte ich für die botanischen Leser darauf hinweisen, daß die charakteristische Peptonfärbung ein reines Purpurroth, nicht Violet ist.

Der durch Natronlauge erhaltene Niederschlag wurde mit 5% iger Kochsalzlösung ausgekocht und durch die Reaction mit Salpetersäure die Hemi-
albumose nachgewiesen.

Die Antialbumose wurde ausgewaschen und nochmals mit 1 l 0,2% iger Salzsäure und 2 cem Feigenmilchsaff bei 40° digerirt.

47,0 feuchte Antialbumose,
4 Liter 0,2% ige Salzsäure,
2 cem Milchsaff.

Nach 36 Stunden waren 13,0 g Antialbumose verdaut, das Dialysat gab die Peptonreaction.

Durch die Ausführung dieser Versuche stellte sich somit die große Übereinstimmung des Feigenenzymes mit dem Pepsin heraus. Die Verdauung in saurer Lösung, die gleichen Verdauungsprodukte deuten auf große Ähnlichkeit beider Enzyme. Dagegen besitzt das Feigenenzym zugleich das dem Pepsin fehlende Vermögen, auch in alkalischer Lösung Fibrin zu peptonisiren, und ist insofern mit dem Trypsin zu vergleichen.

Verdauungsversuch in alkalischer Lösung.

60,0 Fibrin,
1 Liter 2% ige Natriumkarbonatlösung,
2,5 cem Feigenmilchsaff.

Temp. 40°.

Nach Verlauf von 3½ Stunden war völlige Verflüssigung eingetreten. Wie bekannt, verläuft auch die künstliche Verdauung mit Trypsin langsamer als die mit Pepsin; beim Feigenenzym macht sich ebenfalls die langsamere Wirkung in alkalischer Lösung hemerkbar.

Nach Künze's grundlegenden Untersuchungen spaltet das Trypsin die Eiweißsubstanzen weiter als das Pepsin und es treten bei der Wirkung des ersteren schließlich u. a. Leucin und Tyrosin auf. Es war daher von Interesse, sich vom Vorhandensein oder Fehlen dieser Endprodukte nach vollendeter Reaction mit dem Feigenenzym zu überzeugen. Die Verdauungsflüssigkeit wurde daher 72 Stunden bei 40° digerirt, dann eingedampft und nach der von Künze angegebenen Methode¹⁾ Tyrosin darzustellen versucht. Es wurde jedoch weder Tyrosin in fester Form erhalten, noch konnte dasselbe durch die Piria'sche Reaction nachgewiesen werden. Es ist noch hinzuzufügen, daß auch die schon vorher mit Bromwasser geprüfte Verdauungsflüssigkeit keine Reaction gab, und scheint somit auch in alkalischer Lösung das Feigenenzym die Eiweißstoffe nicht weiter zu spalten, als in saurer.

1) Virchow's Archiv für patholog. Anatomie und Physiologie etc. Bd. 39 (1867) p. 447.

2. Milchgerinnung.

Wenn man 5—10 cem Milch mit einigen Tropfen Feigenmilchsaff über der Gasflamme zum Kochen erhitzt, so gerinnt die Milch plötzlich und der Käse scheidet sich als fester zusammenhängender Klumpen ab. Die darüber stehende Flüssigkeit reagirt neutral. Das Auffallende bei diesem einfachen Versuche ist, daß trotz der in einem Reagenzglas mit wenigen cem Flüssigkeit sehr schnell zum Siedepunkt steigenden Temperatur das Enzym nicht unwirksam wird. Dies geschieht sogar nicht, wenn man den Milchsaff vor dem Vermischen mit Milch allein eine Minute kocht. Bei längerem Kochen wird das Enzym jedoch unwirksam.

Eine constante Gerinnungstemperatur läßt sich nicht angeben. Milchsaff verschiedener Jahre und von verschiedenen Pflanzen verhielt sich ungleich. Die Gerinnungstemperatur schwankte zwischen 40 und 50° C., Gerinnung trat aber bei einem Milchsaff auch stets bei gewöhnlicher Temperatur von 18° ein. Bei einem anderen verlief dagegen der Versuch bei 18° wie folgt. $\frac{1}{2}$ l Milch mit 8 Tropfen Feigenmilchsaff versetzt war nach 16 Stunden unverändert, nach weiteren 40 Stunden war eine beginnende schwache Coagulation bemerkbar, allein die Milch war im Übrigen flüssig. Beim Aufkochen einer Probe trat sofort Gerinnung ein. Der Säuregehalt des Feigenmilchsaffes ist so gering, daß dessen Mitwirkung bei der Gerinnung ganz ausgeschlossen ist. Doch wurden auch Versuche mit neutralem und schwach alkalischem Milchsaff mit vollständigem Erfolge angestellt. Ein größerer Überschuß von Alkali verhindert die Gerinnung, wie dies übrigens beim Labenzym von HAMMERSTEN auch beobachtet wurde. Der nach der Fällung des Käses durch Feigenmilchsaff in der darüber stehenden Flüssigkeit gelöste bleibende Eiweißkörper giebt mit Alkali und Kupfer eine rosa Färbung wie die Peptone.

3. Diastatische Wirkung.

Als letzte Enzymwirkung des Feigenmilchsaffes ist die diastatische anzuführen, welche durch Einwirkung desselben auf gekochte Stärke und auf Glycogen nachgewiesen wurde.

Zunächst wurde das Verhalten des reinen Milchsaffes zu alkalischer Kupferlösung geprüft. Es findet bei der Behandlung mit dem genannten Reagenz keine Reduktion statt. Der Milchsaff coagulirt, wobei eine starke Gelbfärbung des Coagulums eintritt, es ist also im Milchsaff selbst keine reduzierende Zuckerart vorhanden.

Versuche.

- I. 25 cem. 4 %ige Stärkelösung,
15 Tropfen Milchsaff.
- II. 25 cem 2 %ige Glycogenlösung,
15 Tropfen Milchsaff.

Nach einer 4stündigen Digestion bei 40° waren sowohl Stärke als

Glycogen zum Theil in Zucker umgewandelt. Beide Lösungen gaben beim Kochen mit alkalischer Kupferlösung auch in der Kälte eine starke Reduktion.

Ein dritter Versuch wurde in saurer Lösung angestellt.

- III. 20 cem 4%ige Stärkelösung,
40 cem 0,1%ige Salzsäure,
45 Tropfen Milchsaff.

Nach der Digestion trat auch in diesem Falle eine starke Reduktion des Kupfers ein, die diastatische Wirkung erfolgt also auch in saurer Lösung, was für andere diastatische Enzyme von DERMER nachgewiesen wurde.

Angesichts der Resultate, daß einerseits beim einfachen Aufkochen des Milchsaffes mit Milch das Enzym trotz der schnell steigenden Temperatur nicht zerstört wird, andererseits nach längerem Kochen des Milchsaffes allein das Enzym unwirksam wird, habe ich wenigstens noch einen constanten Temperaturgrad bestimmt, bei welchem die Enzyme unwirksam werden. Bei 65° findet eine Zerstörung der Enzyme statt. Die Dauer der Digestion des Milchsaffes bei 65° dauerte zwei Stunden und waren die Resultate der mit dem digerirten Milchsaff angestellten Versuche folgende:

- I. Auf Milch wirkt der Milchsaff nicht mehr gerinnend.
- II. Peptonisirende Wirkung in saurer Lösung trat nicht mehr ein. (30,0 Fibrin, 4 1/2 l HCl, 3 cem digerirter Milchsaff; nach 20 Minuten keine Einwirkung.)
- III. Peptonisirende Wirkung in alkalischer Lösung trat nicht mehr ein. (30,0 Fibrin, 4 l 2%ige Sodalösung, 2 cem Milchsaff; nach 4 Stunden keine Einwirkung.)
- IV. Diastatische Wirkung war noch erhalten. (20 cem 1%ige Stärkelösung mit 4 cem digerirtem Milchsaff. Beim Kochen mit alkalischer Kupferlösung starke Reduktion.)

Eine genaue Bestimmung der Grenztemperatur, bei welcher die verschiedenen Enzyme zerstört werden, unterblieb, da die Milchsaffmenge noch für andere Versuche ausreichen sollte.

Versuche mit gefälltem Milchsaff.

Fällt man Feigenmilchsaff mit absolutem Alkohol, so erhält man ein weißes Präcipitat, welches erst nach längerer Zeit, unter dem Exsiccator gehalten, eine bräunliche Farbe annimmt und eine weiche, harzartige Consistenz besitzt. Mit Wasser angerieben erhält man wieder eine dem Milchsaff ähnliche Flüssigkeit, die nur nicht so gut emulgirt ist, wie der natürliche Milchsaff.

Dieser künstliche Milchsaff bewirkt, wie der frische, Milchgerinnung, doch ist eine merklich längere Zeit bis zum Eintreten der Wirkung erforderlich. Ebenso wirkt auch der gefällte Milchsaff noch stark diastatisch. Dagegen konnte weder in alkalischer, noch in saurer Lösung mit dem gefällten Milchsaff eine Verdauung des Fibrins erzielt werden.

Diese Versuche, sowie die vorigen, erschienen mir als Beitrag zur Lösung der Frage nach der Anzahl der Enzyme im Feigenuilchsaft brauchbar zu sein.

Es ist wohl kaum anzunehmen, daß in dem frischen Milchsaft nur ein einziges Enzym von vierfacher Wirkungsweise vorhanden sei. Jedenfalls durfte man a priori das Vorhandensein wenigstens zweier, eines diastatischen und eines, welches milchgerinnend und eiweißverdauend wirkt, annehmen. Diese Annahme bestätigen die Digestionsversuche des Milchsaftes. Nach der Digestion findet weder Milchgerinnung noch Verdauung des Fibrins statt, dagegen noch Zuckerbildung aus Stärke, was für zwei Enzyme von verschiedener Empfindlichkeit gegen eine Temperatur von 65° C. spricht.

Durch Fällen mit absolutem Alkohol dagegen wurde nur die verdauende Wirkung des Milchsaftes vernichtet, die diastatische und Milchgerinnung bewirkende dagegen nicht.

Aus diesen beiden Versuchsreihen ergäben sich also drei Enzyme:

- 1) ein peptonisirendes,
- 2) ein labähnliches,
- 3) ein diastatisches.

Immerhin wäre es möglich, daß wegen der verdauenden Wirkung des Milchsaftes in saurer und alkalischer Lösung doch 2 peptonisirende Enzyme, ein peptisches und ein tryptisches, vorhanden wären.

Wie bekannt, wird das thierische Pepsin durch Alkali zerstört, das Trypsin durch Säure, und dies Verhalten ist benutzt worden, diese beiden Enzyme nebeneinander nachzuweisen. Es ist aber auch im Allgemeinen diese Methode zur Erkennung peptischer und tryptischer Enzyme nebeneinander zu verwerthen. Ich schlug daher auch diesen Weg ein, um zu entscheiden, ob zwei verschiedene peptonisirende Enzyme, oder nur ein einziges, welches sowohl in alkalischer als saurer Lösung wirkt, vorhanden seien.

Es wurden daher zwei Portionen Milchsaft einmal mit 0,4%iger Salzsäure (I) und einmal mit 2%iger Natriumkarbonatlösung (II) 2 Tage lang bei 40° digerirt.

Waren zwei Enzyme, ein peptisches und ein tryptisches, im Milchsaft vorhanden, so mußten nach der Digestion in I das tryptische, in II das peptische zerstört sein. I mußte in saurer Lösung noch wirksam sein, in alkalischer unwirksam, II dagegen umgekehrt in alkalischer wirksam, in saurer (nach der Überneutralisation des Gemisches) unwirksam.

Versuche.

I. Mit Milchsaft, welcher mit HCl digerirt war.

- 40,0 Fibrin,
 1 Liter 0,2%ige HCl,
 5 cem Milchsaftgemisch.

Temp. 40°.

Nach 10 Minuten keine Einwirkung, nach 9 Stunden noch keine Einwirkung.

40,0 Fibrin,
 1 Liter 2%ige Na₂CO₃-Lösung,
 5 cem neutralisirtes Milchsaftegemisch.

Nach 8 Stunden keine Einwirkung, nach weiteren 12 Stunden keine Veränderung.

Durch Digestion mit HCl ist jede verdauende Wirkung des Milchsafte zerstört.

II. Mit Milchsafte, welcher mit Na₂CO₃ digerirt war.

40,0 Fibrin,
 4 1/2 Liter 0,2%ige HCl,
 6 cem neutralisirtes Milchsaftegemisch.

Nach 20 Minuten starke Einwirkung, nach 4 1/2 Stunden vollständige Verflüssigung eingetreten.

30,0 Fibrin,
 1 Liter 2%ige Na₂CO₃-Lösung,
 7 cem Milchsaftegemisch.

Nach 4 Stunden zwar eine merkliche Einwirkung, aber keine vollständige Verdauung.

Durch Digestion mit Alkali ist die verdauende Wirkung des Milchsafte nicht zerstört worden, wenn auch etwas geschwächt.

Diese Versuche sprechen also für das Vorhandensein nur eines Enzyms, welches sowohl in saurer als alkalischer Lösung verdauend wirkt. Wären zwei verschiedene Enzyme vorhanden, von denen eines die Verdauung in saurer Lösung, das andere die in alkalischer bewirkt, so wäre nicht einzusehen, weshalb der mit 0,4%iger HCl digerirte Milchsafte unwirksam geworden sei, da die Temperatur von 40° allein nicht die Ursache ist.

So hätte man sich für drei Enzyme im Feigenmilchsafte zu entscheiden.¹⁾

1) Bekanntlich sind alle Organe des Feigenbaumes mit Milchsafte versehen, also auch die Früchte. Wenn auch bei vollständiger Reife der Milchsafte verschwindet oder sich verändert, so scheint es doch möglich, daß in getrockneten Feigen noch Enzym vorhanden sei. Das ist in der That häufig der Fall, und wenn dies auch kein physiologisches Interesse hat, möge eine Anmerkung darüber hier Platz finden.

160,0 Kranzfeigen wurden mit 160,0 Wasser kalt extrahirt. Mit dem nach 24 Stunden abfiltrirten Extrakt wurden einige Versuche angestellt. Auf Milch äußerte derselbe nur schwache Wirkung, dagegen wurden 30,0 Fibrin in saurer Lösung von 30,0 des Feigenextraktes in 4 Stunden vollständig verdaut. In alkalischer Lösung war das Feigenextrakt unwirksam.

Die Resultate mit getrockneten Feigen sind freilich ungleich. Selbstverständlich ist der Gehalt an wirksamem Enzym abhängig von der Behandlung der Feigen beim Trocknen, welche wohl sehr verschieden sein mag. Bei einem zweiten Versuche mit

Milchsaft von *Carica Papaya*.

Über die enzymatischen Wirkungen dieses Milchsaftes liegen zahlreichere Versuche vor, welche, nachdem die Publikationen Wurtz's erschienen waren, von verschiedenen Beobachtern, namentlich von Wurtz und Boucaut wiederholt und ausgedehnt wurden.¹⁾ Wurtz suchte das Enzym durch Fällen mit Alkohol zu isoliren und nannte das erhaltene Präparat Papaïn, welches natürlich nur insoweit als reines Enzym bezeichnet werden kann, als es die Hauptmenge des Enzyms mit enthält. Bald erschienen derartige Papaïn- oder Papayotinpräparate im Handel und wurden in medizinischen Kreisen zu therapeutischen Zwecken benutzt und geprüft.²⁾

Über die Wirkungen des frischen Milchsaftes erlauben die Versuche mit Papaïnpräparaten nur ein bedingtes Urtheil, denn ohne Zweifel wird das Enzym durch die Fällung mit Alkohol in seiner Wirksamkeit geschwächt, was man aus dem gleichen Verhalten des Pepsins und des Feigenenzym schließen darf. Leider ist der frische Milchsaft der *Carica Papaya* nur sehr selten zu bekommen und ich habe mich auch damit begnügen müssen, außer mit käuflichem Papayotin mit getrocknetem Milchsaft einige Versuche anzustellen, welchen letzteren Herr Dr. Schimper die Freundlichkeit hatte, von seiner Tropenreise mitzubringen.

Von käuflichen Papayotinpräparaten verwendete ich ein von Gené bezogenes. Dasselbe wirkte auf Milch gerinnend beim Aufkochen. Die Gerinnungstemperatur liegt bei 45°. Diastatische Wirkung war sehr schwach und auch das peptonisirende Vermögen nicht sehr stark.

Ein Verdauungsversuch verlief folgendermaßen:

70,0 Fibrin,
2 Liter 0,2%ige HCl,
0,05 in 15 cem Wasser gelöstes Papayotin.

Nach 5 Minuten war keine Einwirkung bemerkbar, weshalb noch 0,5 g Papayotin zugesetzt wurden. Die Einwirkung war jedoch auch jetzt noch langsam und erst über Nacht (also in höchstens 12 Stunden) bei 40° alles Fibrin verdaut. In alkalischer Lösung war die Wirkung noch schwächer. Diese Resultate stehen ebenso wie die von Wurtz und Anderen erhaltenen weit hinter der Wirkung des frischen Feigenmilchsaftes zurück, und es läßt

anderen Kranzfeigen wurden 30,0 Fibrin erst in 7 Stunden verdaut, bei einer dritten Sorte war die Wirkung noch schwächer. In allen Fällen war aber das Vorhandensein von Enzym konstatiert.

1) Wurtz et Boucaut, Sur le ferment digestif du *Carica papaya*. Comptes rendus Bd. 89 (1879).

Wurtz, Sur la Papaïn. Comptes rendus Bd 90 (1880).

2) Rossbach, Physiologische Wirkungen des Papayotin und Papaïn. Zeitschrift für klin. Medizin Bd. VI.

sich wohl erwarten, daß auch die enzymatische Wirkung des frischen Carica Papaya-Saftes eine ganz andere sein wird, als die der Papainpräparate.

ROSSBACH hat schon darauf aufmerksam gemacht, daß die Papayotinpräparate des Handels von verschiedener, oft von gar keiner Wirkung seien, was wie gesagt sicherlich der Darstellungsmethode zuzuschreiben ist.

Der eingetrocknete Milchsaff, welchen ich von Herrn Dr. SCHUMPER erhalten hatte, bestand aus trockenen, brüchigen Stücken von schwach gelblicher Farbe, die sich zu einem feinen Pulver verreiben ließen. Durch Anreiben desselben mit destillirtem Wasser erhält man eine milchsaffähnliche Emulsion von saurer Reaktion.

Verdauungsversuche.

50,0 feuchtes Fibrin,
2 Liter 0,2%ige HCl,
1,0 trockener, mit Wasser angeriebener Milchsaff.

Nach 4 Stunde 10 Minuten war die Mischung dünnflüssig.

50,0 g Fibrin,
2 Liter 2%ige Na_2CO_3 -Lösung,
4,0 g trockener, mit Wasser verriebener Milchsaff.

Nach 6 Stunden war bis auf einen kleinen Rest das Fibrin gelöst. Dieser Rest war nach 12 Stunden ebenfalls gelöst.

Milchgerinnung.

0,5 g trockener Milchsaff wurde mit 6 cem Wasser angerieben. Davon wurden 4—5 Tropfen zu 40 cem Milch gesetzt und im Reagenzglas zum Koehen erhitzt, es trat sofort Gerinnung ein.

150 cem Milch wurden mit 4 cem Milchsaff (aus 0,5 g trockenem Milchsaff und 6 cem Wasser dargestellt) versetzt und bei gewöhnlicher Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach 6 Stunden war keine Coagulation eingetreten, auch nach weiteren 12 Stunden nicht. Beim Kochen einer Probe trat sofort Gerinnung ein.

Zur Bestimmung der Gerinnungstemperatur wurden zu 30 cem Milch 6 Tropfen künstlichen Milchsaffes (aus 0,5 + 6 cem Wasser) gefügt. Bei 32° schieden sich wenige Flocken Gerinnsels ab, doch trat erst zwischen 60 und 62° vollständige Käsebildung ein.

Der aus einer wässerigen Lösung mit 96%igem Alkohol gefällte Milchsaff wirkte nicht ganz so energisch wie der ursprüngliche, getrocknete.

30,0 g Fibrin wurden in saurer Lösung von 0,5 g gefälltem Milchsaff in 6 Stunden verdaut.

Auf Milch wirkten Spuren des gefällten Saftes anscheinend nicht schwächer als die ursprüngliche Substanz.

Die Auffindung dieser Enzyme, namentlich der peptonisirenden, war deshalb von ganz besonderem Interesse, weil sie sich gerade in den Milchröhren fanden, in Organen, deren Bedeutung für den pflanzlichen Stoffwechsel noch immer eine räthselhafte ist.

WITTMACK glaubte, daß die enzymatischen Wirkungen der Milchsäfte von *Carica* und *Ficus* die Lösung der Frage andeuteten, und äußerte im Anschluß an seine Mittheilungen (Tageblatt d. Naturf. Versamml. 1879):

»Es liegt nahe zu vermuthen, daß mehr oder weniger allen Milchsäften diese pepsinartige Wirkung zukomme, und daß sie vielleicht somit eine große Rolle bei der Ernährung der Pflanzen spielen, indem sie die Eiweißstoffe löslich und transportirbar machen.«

Dieser weitgehenden Schlußfolgerung stand von vornherein das Bedenken entgegen, daß mit Milchsaftegefäßen nur eine relativ kleine Anzahl aller Pflanzen ausgerüstet ist, und zwar nicht blos diejenigen, welche auf der höchsten Stufe phylogenetischer Entwicklung stehen. Es war ja aber immerhin möglich, daß die mit Milchsaftröhren ausgerüsteten Pflanzen in ähnlicher Weise wie auch die Insektivoren sich eines besonderen Vortheiles durch ihre Organisation den anderen Pflanzen gegenüber zu erfreuen hätten.

Um zur Lösung dieser Frage beizutragen, habe ich noch eine Anzahl anderer Milchsäfte auf Enzyme untersucht, kann aber die beiden Vermuthungen WITTMACK's nicht bestätigen. Es finden sich, wie es scheint, nur in einigen Milchsäften peptonisirende Enzyme, und gerade bei manchen exquisiten Milchsaftpflanzen, z. B. bei Euphorbiaceen, konnte ich dieselben nicht entdecken.

Euphorbia Myrsinites und tropische Euphorbiaceen lieferten einen Milchsafte, der in keiner Weise eine peptonisirende Wirkung auf Fibrin äußerte, auch die diastatische Wirkung war so gering, daß ich darauf kein Gewicht legen möchte. Milch gerann nicht beim Kochen mit den Milchsäften verschiedener Euphorbiaceen.

Außerdem untersuchte ich die Milchsäfte von *Chelidonium majus*, von *Scorzonera* und *Taraxacum*, ohne auch nur die Andeutung einer Enzymwirkung zu finden. Der Milchsafte von *Papaver somniferum* zeigte dieselbe so wenig, wie ein wässriges oder mit Glycerin bereitetes Extrakt von Opium. Es scheinen sogar bei Repräsentanten derselben Familie die Milchsäfte in sehr verschiedener Weise mit Enzymen versehen zu sein, da ich schon früher mit *Ficus elastica* ein negatives Resultat erhielt.¹⁾

Ein allgemeines Vorkommen peptonisirender Enzyme in den Milchsäften ist also nicht nachzuweisen, und die Annahme WITTMACK's über die Bedeutung der Milchsaftegefäße nicht annehmbar. Aber auch dort, wo sich die Enzyme in den Milchsäften finden, glaube ich nicht, ihnen eine Bedeutung im WITTMACK'schen Sinne zuschreiben zu dürfen. Wenn die Milchröh-

¹⁾ HANSEN, Sitzungsberichte d. physikal. medicin. Soc. z. Erlangen 1880.

ren Leitungssysteme für peptonisirte Eiweißstoffe wären, so müßte man in ihnen vor Allem Peptone in nachweisbarer Menge finden. Der Milchsafft von *Ficus* aber z. B. giebt gar keine Peptonreaktion, trotzdem er ein so energisch wirkendes peptonisirendes Enzym enthält.

Demnach läßt sich über eine physiologische Bedeutung der Enzyme in den Milchsäften heute nichts Endgültiges sagen. Es sprechen sogar manche Überlegungen vielmehr gegen eine solche Bedeutung für die Ernährung. Bei den Thieren, wo die Eiweißverdauung bedeutende Quantitäten zu bewältigen hat, ist die Secretion von Pepsin im Magen begreiflich, bei den Pflanzen, deren ganzer Eiweißgehalt dagegen nicht einmal sehr groß ist, wäre das Vorkommen von Enzymen, welche ganze Kilogramme Eiweiß verdauen, doch etwas sehr auffallendes. Wenn man überhaupt das bloße Vorhandensein von peptonisirenden Enzymen zur Erklärung benutzt, wie will man da das labähnliche Enzym erklären. Wozu sollte das der Pflanze wohl nützen?

Ich glaube daher, daß das Vorkommen der Enzyme in den Milchsäften nur ein zufälliges ist und in keiner anderen Beziehung zu den Ernährungsvorgängen der Pflanze steht, als daß sie Endprodukte des Stoffwechsels sind. Diese Annahme erscheint berechtigt, da auch bei den Thieren ein Vorkommen von Enzymen mehrfach nachgewiesen ist, die notorisch für das Thier nutzlos sind.¹⁾

Wenn man die festgestellten Thatsachen für die Lösung der Frage benutzen will, ob die Milchröhren Transportwege oder Excretbehälter sind, denn darum kann es sich ja nur handeln, so sprechen die chemischen Verhältnisse für die Entscheidung in letzterem Sinne. Die Menge der Nährsubstanzen, der Eiweißstoffe und Kohlehydrate tritt zurück gegen die Menge der Substanzen, welche zweifellos als Endprodukte des Stoffwechsels anzusprechen sind. Auch die Enzyme in den Milchsäften betrachte ich als solche. Ihre Wirkungen außerhalb des Pflanzenkörpers beweisen nichts für ihre Verwendung im Stoffwechsel. Man könnte sonst auch den Alkaloiden, welche auf andere Organismen die weitgehendsten physiologischen Wirkungen ausüben, eine besondere Funktion in der Pflanze zuschreiben. Die anatomischen Verhältnisse können über die Bedeutung der Milchröhren wenig aussagen, und wenn von Einigen als beweisend für ihre Funktion als Leitungen für plastische Stoffe angesehen wird, daß sie sich bis an die Orte der Organbildung erstrecken, so ist dem zu entgegen, daß man aus dem Verlauf eines Röhrensystems nicht schließen kann, ob Stoffe zu- oder abgeleitet werden. Sie können ebensogut dazu dienen, bei der Organbildung entstehende Nebenprodukte abzuleiten. Eine wunderliche von DE VRIES ausgesprochene Ansicht über die Bedeutung der Milchröhren kann

1) KRUKENBERG, Versuche zur vergl. Physiologie der Verdauung. Unters. a. d. phys. Institut zu Heidelberg Bd. I.

man kaum in die Discussion hineinziehen. Die Meinung DE VRIES' geht dahin, daß der Milchsaff, weil er an der Luft erhärtet, dazu vorhanden sei, Wunden, welche an den Pflanzen durch äußere Ursachen entstehen, zu verkleben, aber ebensogut könnte man behaupten, das Blut der Thiere sei eigentlich dazu da, Wunden zu verkleben, da es beim Austritt aus den Gefäßen auch gerinnt. Außerdem weiß Jeder, der sich mit Cultur von Euphorbien beschäftigt, daß die Cultur gerade wegen der Empfindlichkeit dieser Pflanzen gegen Verletzung Vorsicht erfordert. Bekanntlich vertragen Euphorbien schwer das Versetzen wegen der dabei nicht zu umgehenden Verwundungen, was ganz gegen DE VRIES' Ansicht spricht.

Es liegen nun noch mehrere Angaben über das Vorkommen von peptonisirenden Enzymen vor. Einmal die Untersuchung von KRUKENBERG¹⁾ über *Aethalium septicum* und ferner die Angaben von GORUP-BESANEZ und WILL über peptonisirende Enzyme in verschiedenen Pflanzensamen, welche letztere schon vor der Entdeckung der Enzyme bei den Insektivoren publicirt wurden. Nach den ausführlichen Angaben KRUKENBERG's ist es unnöthig, einige bestätigende Versuche, welche ich mit *Aethalium* ausführte, hier mitzutheilen. Ein vollständig negatives Resultat erhielt ich jedoch bei Wiederholung der Versuche von GORUP und WILL und bin nach mehrfacher Wiederholung derselben zu der Überzeugung gelangt, daß es sich um einen Irrthum handelt.

Das erste von GORUP und WILL nach deren Angaben dargestellte peptonisirende Enzym war das aus den Wickensamen.²⁾

Bei den ganz entgegengesetzten Resultaten, welche ich erhalten habe, citire ich die Angaben GORUP's über die Darstellungsmethode und die Versuche mit dem erhaltenen Produkt wörtlich, da ich mich häufig auf dieselben beziehen muß.

GORUP giebt an:

»Die fein gestoßenen Wickensamen wurden mit Alkohol von 96% übergossen, 48 Stunden lang stehen gelassen, sodann vom Alkohol abfiltrirt und bei gelinder Wärme getrocknet. Nachdem sie trocken geworden, wurden sie mit syrupdickem Glycerin tüchtig durchgearbeitet und das Glycerin 36 bis 48 Stunden lang einwirken gelassen. Nach Verlauf dieser Zeit wurde der Glycerinanzug colirt, was sehr gut und rasch von statten ging, der Rückstand gelinde ausgepreßt, die erhaltenen Flüssigkeiten vereinigt, abermals colirt und nun die Lösung tropfenweise in ein in hohem Cylinder befindliches Gemisch von 8 Theilen Alkohol und 4 Theil Äther eingetragen. Jeder einfallende Tropfen bildete sofort einen Ring, welcher sich beim Passiren der Alkoholätherschicht allmählich trübte und in Gestalt eines flockigen Niederschlages zu Boden setzte. Der Niederschlag wurde 2 bis

1) KRUKENBERG, Über ein peptisches Enzym im Plasmodium der Myxomyceten. Unters. a. d. physiol. Institut zu Heidelberg Bd. II.

2) V. GORUP-BESANEZ, Über das Vorkommen eines diastatischen und peptonisirenden Fermentes in den Wickensamen. Berichte d. deutschen chem. Ges. VII. 1874, p. 1478.

3 Tage unter Alkohol liegen gelassen, wobei er immer dichter und harziger wurde, sodann abfiltrirt und zur weiteren Reinigung, nachdem er mit Alkohol ausgewaschen war, abermals mit Glycerin behandelt. Der größte Theil desselben löste sich; das in Glycerin Unlösliche zeigte alle Reaktionen der Eiweißkörper. Aus der Glycerinlösung wurde das Ferment nun abermals nach dem oben beschriebenen Verfahren, wobei sich dieselben Erscheinungen zeigten, gefällt und in Gestalt eines schönen weißen, körnigen Niederschlages erhalten, welcher sich auf dem Filter bald grau färbte und beim Trocknen sich in eine hornartige, durchscheinende Masse verwandelte. Das so erhaltene Ferment war stickstoff- und schwefelhaltig und hinterließ beim Verbrennen ziemlich viel Asche. Es löst sich in Glycerin und Wasser.«

Die Methode zu wiederholen, bietet, wie man sieht, keine Schwierigkeiten, ich habe mich genau an den Wortlaut von Gorrur's Angabe gehalten. Derselbe stimmt jedoch nicht genau mit den Erfahrungen überein, welche eine Wiederholung ergaben.

Die Glycerinauszüge lassen sich nicht so rasch und leicht coliren, wie Gorrur angiebt, wenn man nicht unverhältnißmäßig große Mengen Glycerin nehmen will. ¹⁾ Die gepulverten Wickensamen saugen bei 36—48stündigem Stehen das Glycerin auf und bilden damit einen steifen Brei, von dem das Glycerin nicht ohne Weiteres schnell abläuft. Beim »gelinden Auspressen« gehen, wie ganz selbstverständlich ist, beträchtliche Mengen Stärke durch das Colatorium hindurch. Es ist daher gar nicht möglich, durch ein Coliren unter Auspressen eine klare Glycerinlösung, welche man sofort fällen kann, zu erhalten. Zum Absetzenlassen der Stärke ist ein längeres Stehenlassen in einem hohen Cylinder nöthig. Die Mittheilung Gorrur's über die Methode ist also keineswegs sehr genau. Im Übrigen verliefen die Fällungen so, wie er angegeben hat, und das von mir erhaltene Produkt stimmte in den Eigenschaften mit dem seinigen überein, nur hatte es keine peptische Wirkung.

Gorrur hat die Verdauungsversuche mit kleinen Fibrinflöckchen und Würfelchen von gekochtem Hühnereiweiß bei gewöhnlicher Temperatur angestellt ²⁾ und ich habe daher bei der Nachuntersuchung zunächst dieselben Bedingungen eingehalten.

Ich habe die Versuche sowohl mit dem einmal gefällten angeblichen Enzyme als auch mit der nach Gorrur's Angaben gereinigten Substanz angestellt, aber ohne jeden Erfolg.

Fibrinflöckchen in saurer Lösung (0,2% HCl) mit einer Lösung des Produktes aus Wicken versetzt, blieben nach 16—48 Stunden ungelöst.

1) Ein Mengenverhältniß von Wicken und Glycerin ist von Gorrur gar nicht angegeben.

2) Nur ein Versuch wurde mit etwa 300 Gramm gequollenem Fibrin angestellt, was aber gar keinen Anhalt für die Menge von Fibrin giebt. Außerdem ist bei diesem Versuch gar nicht angegeben, ob sich alles oder wieviel sich gelöst habe. Berichte der deutsch. chem. Ges. VIII. 1875. p. 4543.

Zur Controlle wurden gleiche Portionen Fibrin (I) mit dem angebliehen Enzym und (II) mit 45 Tropfen Pepsinglycerin bei gewöhnlicher Temperatur hingestellt. Nach 3 Stunden war das Fibrin durch Pepsin völlig gelöst. I war dagegen unverändert und blieb es auch.

Auch ein Verdauungsversuch bei 40° mit 30,0 Fibrin und dem direkten Glycerinextrakt aus Wicken, sowie gleiche Versuche mit neu dargestellter Substanz verliefen negativ. Ein drittes Mal wurde versucht, das Enzym aus gekeimten Wicken herzustellen, ebenfalls ohne Resultat. Es wurden jedesmal $\frac{1}{2}$ kg Wickensamen verarbeitet, so daß also die Mengen hinreichend sein mußten, wenn überhaupt an der Sache etwas war.

Eine diastatische Wirkung auf Stärkekleister konnte ich mit dem nach GORUP'S Angaben gefällten Körper dagegen nachweisen; es ist dies wenigstens ein Beweis, daß die Methode richtig ausgeführt ist, was mir persönlich natürlich nicht zweifelhaft war.

Nach diesen Mißerfolgen mußten nun allerdings die späteren Angaben von WILL über ein peptonisirendes Enzym in Hanf- und Leinsamen, Untersuchungen, welche ebenfalls unter GORUP'S Leitung angestellt sind, sehr problematisch erscheinen.¹⁾

In den citirten Arbeiten ist über die Darstellungsweise nur sehr oberflächlich berichtet. Es ist nur angegeben, daß ebenso wie bei der Herstellung des Wickenferments verfahren wurde. Das liest sich nun freilich sehr leicht. Aber die Methode ist wenigstens auf Leinsamen gar nicht anwendbar, und es ist nach WILL'S Angaben ganz unmöglich, einen Glycerinauszug aus Leinsamen herzustellen. Gepulverter und 36 Stunden mit Alkohol behandelte Leinsamen giebt mit Glycerin einen Schleim, welcher ein Coliren absolut unmöglich macht.

Die Angaben über ein peptonisirendes Enzym in der Gerste sind so zweifelhaft und unsicher, daß man sich wundern muß, dieselben als sichere Thatsachen in physiologischen Hand- und Lehrbüchern aufgeführt zu finden. Der ganze Bericht über die Versuche WILL'S beschränkt sich auf Folgendes:

»Zu den Versuchen mit gekeimter Gerste wurde gelbes Darmmalz und Luftmalz verwendet. Die Glycerinauszüge beider gaben mit ätherhaltigem Alkohol flockige Niederschläge, deren Lösungen kräftige diastatische Wirkungen äußerten, unzweifelhaft peptonisirend wirkte aber sonderbarer Weise nur die von dem Darmmalz stammende Lösung, während jene aus Luftmalz auf gequollenes Fibrin so ungemein schwache Wirkung äußert, daß ich die erlangten Resultate als positiv zu bezeichnen Anstand nehme.«

Ich habe weder aus käuflichem Darmmalz noch aus gekeimter Gerste, welche auch WILL bei dieser Frage von einiger Wichtigkeit hätte selbst herstellen müssen, kein peptonisirendes Enzym darstellen können.

Aus Samen von *Cannabis sativa* soll man ebenfalls nach der GORUP'Schen

1) V. GORUP-BESANEZ, Berichte d. deutsch. chem. Ges. VIII. 4875. p. 4513.

Methode ein peptonisirendes Enzym herstellen können, was ich ebenfalls bestimmt in Abrede stellen muß.

Das Vorhandensein von peptonisirenden Enzymen, die merkwürdiger Weise von den genannten Autoren gerade in stärke- und fetthaltigen und noch dazu in ruhenden Samen gefunden sein sollen, erscheint mir nach alledem als Irrthum, der einem Mangel an hinreichend fortgesetzter Beschäftigung mit dem Gegenstande entsprungen ist

Es ist nicht zu leugnen, daß der von GORR berichtete Verdauungsversuch, den er mit seinem Wickenferment angestellt hat (l. c. p. 4479), durchaus nicht vertrauenerweckend ist. Er sagt: »Nach 1—2 Stunden war der größte Theil gelöst«, und fügt hinzu: »daß bei derartigen Peptonisierungsversuchen ein Theil der Eiweißkörper größere Resistenz zeigt, ist bekannt.«

Das ist unrichtig, es wird beim Vorhandensein eines wirksamen Enzyms alles Fibrin bei derartigen Versuchen gelöst (nur anhaltendes Fett bleibt ungelöst) und es kann nur Mißtrauen erwecken, daß von der anscheinend nur geringen Menge Fibrin nur ein Theil gelöst wurde (wie viel GORR verwendet, ist nicht angegeben, doch scheint die Menge nur klein gewesen zu sein, da nur ein Paar Tropfen Fermentlösung zugesetzt wurden). Über aus Hanf- und Leinsamen von WILL dargestellte Enzyme wird berichtet: »Nach 2—3 stündiger Einwirkung einer wässrigen Fermentlösung auf durch Salzsäure von 0,2% zu Gallerte gequollenes Fibrin war ein Theil des letzteren verflüssigt.«

Das Resultat, welches GORR bei der Einwirkung seines Wickenfermentes auf Hühnereiß erhielt, kann ebenfalls nur bei gänzlichem Mangel an Sachkenntniß für positiv gehalten werden. Es heißt (Ber. VIII, p. 4544): »Nach 24 stündiger, noch deutlicher aber nach 48 stündiger Einwirkung zeigten sich die Kanten der Eiweißwürfelchen durchscheinend und angegriffen, und gab das Filtrat sämtliche Peptonreactionen mit großer Schärfe.« Das Durchscheinendwerden beweist gar nichts, ebensowenig das Durchsichtigerwerden von Fibrin, welches GORR immer als Beginn der Enzymwirkung deutet. Wenn man in 0,2% HCl gequollenes Fibrin in reines destillirtes Wasser legt, so erscheint es auch durchsichtiger als vorher. Ob auf die Peptonreaktionen, welche GORR notirt, Gewicht zu legen ist, ist deshalb fraglich, weil ihm die Biuretreaktion anscheinend doch ganz neu war. (Vgl. l. c. VIII, p. 4544.)

Es ist immer unangenehm, negative Resultate berichten zu müssen, und in diesem Falle ist es das noch besonders, da GORR leider nicht mehr unter den Lebenden weilt, aber ich glaube, die technischen Anforderungen zur Wiederholung der Versuche sind so gering, daß ich den Besitz der Vorbedingungen nicht erst zu versichern brauche.

Das Vorkommen peptonisirender Enzyme ist, wie aus einem Theil des Mitgetheilten hervorgeht, bei einer Anzahl von Pflanzen vollkommen sicher gestellt. Dennoch steht der mehrfach in neuerer Zeit geäußerten

Ansicht ihrer allgemeinen Verbreitung auch bei den höheren Pflanzen zum Zweck des Eiweißtransportes bis jetzt keine besonders günstige thatsächliche Basis zu Gebote. Es scheint auch gar nicht solcher Enzyme zur Löslichmachung der pflanzlichen Eiweißstoffe zu bedürfen, wie aus einigen nachher mitzutheilenden Versuchen hervorgehen wird, und wie schon einmal erwähnt, spielt die Eiweißverdauung bei den Pflanzen nicht die Rolle, wie bei den Thieren, wo das Vorwiegen peptonisirender Enzyme a priori erklärlich ist. Außerdem ist die Asparaginbildung zum Zweck des Eiweißtransportes doch bis jetzt noch allgemein angenommen, sodaß man sich erst einmal mit dieser Thatsache aneinander zu setzen hätte.

Das Produkt, welches im pflanzlichen Stoffwechsel der Verdauung vorzugsweise unterliegen muß, ist die Stärke, aber dementsprechend sind diastatische Enzyme auch überall nachweisbar, wo Stärke gelöst und transportirt wird.

Es ist in dem vorstehenden Satze mit Absicht der Ausdruck Verdauung gewählt worden, obgleich derselbe in der Pflanzenphysiologie noch nicht gebräuchlich ist. Es ist aber gewiß zweckmäßig, der Thierphysiologie entsprechend die Umwandlung unlöslicher oder ohne Weiteres für die Organbildung nicht verwendbarer Substanzen wie der Stärke, des Fettes und der in Wasser unlöslichen Proteinsubstanzen, welche entweder durch das Protoplasma oder durch enzymatische Wirkungen zu Stande kommt, als Verdauung zu bezeichnen. Denn diese ist ohne Zweifel, von solchen Fällen wie bei den Milchsäften abgesehen, die eigentliche Aufgabe der Enzyme auch in der Pflanze. Sachs hat in seinen Vorlesungen zuerst eine Ansicht ausgesprochen, durch welche die Enzymwirkungen einen physiologischen Sinn erhalten, während sie bisher selbst von Nägeli mehr physikalisch aufgefaßt wurden. Bei den im Pflanzenleben am längsten bekannten diastatischen Prozessen handelt es sich um die Löslichmachung einer unlöslichen Substanz, der Stärke, und diese Auflösung schien insofern die Hauptsache zu sein, als ein unmittelbarer Transport der Stärke durch die Zellwände unnützlich ist. Als Ziel der Enzymwirkung sah man die Umwandlung der Stärke in eine diffusible Substanz an. Nun ist durch die neueren Untersuchungen über den Zusammenhang der Protoplasmakörper der Zellen die Diffusion zur Erklärung des Stofftransportes in der Pflanze immer überflüssiger geworden. Aber ganz abgesehen von der Passirbarkeit der Zellhäute ist es die Thatsache, daß auch schon gelöste Substanzen vor ihrer Verwendung zur Ernährung einer Enzymwirkung unterliegen, welche als Zweck nicht die bloße Auflösung annehmen läßt.

Der in der Zuckerrübe als Reservestoff vorhandene Rohrzucker wird beim Austreiben der Sprosse in Traubenzucker umgewandelt, wahrscheinlich durch ein invertirendes Enzym (obgleich dies bei der Zuckerrübe noch nicht nachgewiesen ist). Es ist augenscheinlich, daß der Rohrzucker in der Zuckerrübe, obgleich in Wasser gelöst und diffusibel, trotzdem nicht für die

Ernährung der Organe geeignet ist. Man kann sich daher nur der Erklärung von SACUS anschließen, daß der eigentliche Zweck der Enzymwirkungen nicht bloße Lösung, sondern (wenigstens in der Regel) die Überführung der Nährstoffe in einen für die Ernährung geeigneten aktiven Zustand ist. Mit dieser Auffassung erhalten die Enzymwirkungen erst einen physiologischen Sinn und ich glaube, es wäre zweckmäßig, dieses physiologische Moment auch sprachlich hervorzuheben, indem man die erwähnten Vorgänge ganz allgemein als Verdauung bezeichnet. Die Übereinstimmung der enzymatischen Umwandlungen der Stärke und anderer Substanzen in der Pflanze zum Zweck der Ernährung mit analogen Prozessen im Thierkörper ist so groß, daß man mit demselben Rechte auch ohne das Vorhandensein eines Verdauungsapparates bei den Pflanzen von Verdauung sprechen kann, wie man trotz des Fehlens eines Athmungsapparates von Athmung redet.

Es wird erst durch diese Bezeichnung eine klare Unterscheidung physiologisch-chemischer Vorgänge von rein chemischen oder physikalischen, wie z. B. einfachen Lösungsprozessen herbeigeführt. Was in jedem einzelnen Fall unter Verdauung zu verstehen ist, kann nie zweifelhaft sein. Verdauung ist jede Umwandlung der aus der Kohlensäurezersetzung direkt oder indirekt hervorgegangenen Produkte zum Zwecke der Ernährung.

Ist das Ziel bei den Verdauungsvorgängen auch immer dasselbe, so sind doch die Mittel, welche zur Erreichung desselben zur Anwendung kommen, nicht immer dieselben. In der Regel bewirken Enzyme die Umwandlung der Substanzen in den aktiven Zustand, aber zweifellos ist in zahlreichen Fällen das Protoplasma im Stande, auch ohne die Sekretion von Enzymen Verdauung zu bewirken. Wir sind daher genöthigt, zwischen protoplasmatischer und enzymatischer Verdauung zu unterscheiden.¹⁾

Die Vorgänge bei den Insektivoren, die Reaktivirung der Reservestoffe bei der Keimung vieler Samen, und wohl auch die Auflösung der Stärke in den Blättern sind Beispiele enzymatischer Verdauung, während die Ernährungsvorgänge bei vielen niederen Pflanzen, namentlich auch bei den Parasiten sicher häufig nur durch protoplasmatische Verdauung eingeleitet werden. Eine dem Sinne nach ähnliche Unterscheidung ist schon von NÄGELI getroffen worden, dessen Bezeichnungsweise durch die vorstehende übrigens nicht geändert wird, wie aus nachstehendem Schema hervorgeht.

	Protoplasmawirkungen:	Enzymwirkungen:
Verbesserung der Nährstoffe:	protoplasmatische Verdauung.	enzymatische Verdauung.
Verschlechterung der Nährstoffe:	Gährnug.	enzymatische , altung, (des Amygdalins etc.)

1) In der Thierphysiologie existirt diese Unterscheidung, welche KREKENBERG auf Grund seiner vergleichenden Studien der Verdauungsvorgänge aufstellte, schon länger.

Es läßt sich nicht in allen Fällen mit Leichtigkeit feststellen, ob man einen enzymatischen oder protoplasmatischen Verdauungsvorgang vor sich hat, und in derartigen Schlußfolgerungen ist natürlich die größte Vorsicht geboten.¹⁾ Der mangelnde Nachweis von Enzymen kann nicht in allen Fällen als Beweis einer rein protoplasmatischen Verdauung gelten, denn es scheint, daß die Enzyme in vielen Fällen erst langsam entstehen und also in gewissen Momenten noch nicht nachweisbar oder darstellbar sein können. Leider ist unsere Kenntniß über die Bildung der Enzyme noch ganz mangelhaft und es können eigentlich nur Vermuthungen ausgesprochen werden. Es scheint aber, daß dort, wo die Enzyme eine nachweisbar physiologische Bedeutung haben, deren Bildung mit dem Eintritt des physiologischen Vorganges beginnt und mit seinem Fortschreiten Schritt hält. Z. B. ist es wohl nicht zweifelhaft, daß die Diastase erst beim Keimen der Getreidesamen entsteht, und auch bei anderen Keimprozessen, z. B. beim Austreiben von Kartoffeln, scheinen während des Ruhezustandes keine oder nur Spuren diastatischer Enzyme vorhanden zu sein und erst beim Austreiben der Keimsprosse zu entstehen. Es müßte auch sonst, wie MÜLLER betont, die ganze Stärke der Kartoffel sich sehr schnell auflösen, was nicht geschieht; die Auflösung der Stärke geht mit dem allmählichen Austreiben der Keimsprosse in gleichem Schritt, was dafür spricht, daß auch die Enzyme erst allmählich entstehen. Es wäre möglich, daß diese Entstehung auch gar nicht in der Kartoffelknolle selbst stattfände, sondern daß die Enzyme in den Sprossen sich bilden und in die Knolle secernirt werden, um die Stärke umzuwandeln. Wie gesagt, sind positive Grundlagen für eine feste Ansicht hier noch sehr wenige vorhanden und ich möchte deshalb um so weniger unterlassen, auf eine Arbeit, welche zur Lösung dieser Fragen beiträgt, hinzuweisen, da diese Untersuchung zu dem Besten gehört, was in neuerer Zeit auf botanisch-physiologischem Gebiet publizirt wurde. Es ist die Arbeit von H. MÜLLER-Thurgau »Über Zuckerrückbildung in Pflanzentheilen in Folge niederer Temperatur.« (Landw. Jahrbücher, Bd. XI.)

Die Verdauung nimmt, wenn man diesen Begriff in die Pflanzenphysiologie einführt, ihren Platz im gesammten pflanzlichen Stoffwechsel ein und bildet einen bestimmten Abschnitt desselben, analog wie im thierischen.

Die ganze Pflanzenernährung, welche man nach SACUS bisher in die Assimilation und den Stoffwechsel zerfallen ließ, würde sich wohl zweckmäßiger in drei Abschnitte gliedern lassen, nämlich wie folgt:

I. Assimilation (Kohlensäurezersetzung),

¹⁾ Ich bin mit einigen einschlägigen Beobachtungen beschäftigt. Zunächst über *Penicillium glaucum*, welches Gelatine bei seiner Vegetation verflüssigt und anscheinend in eine peptonähnliche Substanz überführt. Näheres kann ich erst nach weiteren Studien dieser Erscheinungen mittheilen.

- | | | |
|------------------------|---|--|
| II. Stoffwechsel | } | Digestion (Verdaunung),
Resorption,
Transport,
Secretion, |
| III. Plastik (Ansatz). | | |

Mit diesem letzteren Ausdruck wird das eigentliche Ziel der ganzen Ernährung, die Ausbildung, der Ansatz lebender Substanz bezeichnet.

Der Assimilation, demjenigen Prozeß, durch welchen das Material für die Ernährung aller lebenden Wesen erzeugt wird und welcher allein bei chlorophyllhaltigen Pflanzen vorhanden ist, folgt die Umarbeitung dieses Materials durch die verschiedenen Funktionen des Stoffwechsels, damit es endlich durch die Plastik zum Aufbau der Organe verwendet werde.

Die Thierphysiologen brauchen den Ausdruck Assimilation bekanntlich für den Ansatz, für die Plastik. Ich fand aber nach sorgfältiger Überlegung keinen Grund, den in der Botanik feststehenden Begriff der Assimilation zu ändern, und finde auch, daß durch dieses Wort »Veräuhnlichung« viel besser der Übergang der sogenannten anorganischen Verbindungen in organische bezeichnet wird, als die Ausbildung neuer Substanz, denn bei dieser ist das Hauptmoment nicht die Veräuhnlichung des Stoffes, sondern die Formung desselben, weshalb mir der Ausdruck Plastik angemessener erscheint.

Ich verlasse damit die Enzyme selbst, um noch einige Beobachtungen mitzuthellen, welche sich auf die Umwandlung beziehen, welche verdünnte Säuren an denselben Substanzen hervorrufen, die durch Enzyme verändert werden. Die Zahl der Beobachtungen, welche ich in diesem Sinne angestellt habe, ist nicht groß und konnte wegen der Publikation dieses Heftes vorläufig nicht weiter ausgedehnt werden. Doch ist im Hinblick darauf, daß auch NÄGELI in seiner Theorie der Gährung die große Ähnlichkeit der Wirkung verdünnter Säuren und Enzyme wieder hervorgehoben hat, die Anführung der wenigen Thatsachen motivirt.

Es ist allgemein bekannt, daß das Amygdalin und Salicin nicht nur durch Emulsin, sondern durch verdünnte Säuren in dieselben Spaltungsprodukte zerlegt werden können, und daß wie durch Diastase auch durch verdünnte Säuren die Spaltung des Rohrzuckers bewirkt wird. Bei der Beschäftigung mit solchen Säurewirkungen fiel es mir auf, daß in vielen Fällen die Ähnlichkeit der Säurewirkung mit der enzymatischen sich besonders darin zeigt, daß äußerst geringe Mengen von Säure nicht nur hinreichen, um gewisse Wirkungen hervorzubringen, sondern daß diese Wirkungen nur bei starker Verdünnung der Säuren hervorgerufen werden, während bei größerer Säuremenge eine Veränderung nicht wahrgenommen wird. So z. B. läßt eine 2%ige Salzsäure frischen Kleber ganz unverändert, es findet keine Lösung statt, ganz wie wenn derselbe in destillirtem Wasser liegt. Eine Salzsäure von 0,2% dagegen ruft sehr schnell zunächst eine starke Quellung

des Klebers hervor, derselbe quillt ähnlich wie Fibrin auf. Der Zusammenhang lockert sich immer mehr, der Kleber zerfällt und löst sich endlich völlig auf.¹⁾ 20 g feuchter Kleber (entsprechend ca. 8,5 g trockenem) werden von einem Liter 0,2% iger Salzsäure innerhalb 36 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur (15°) gelöst. Bei 40° findet die Auflösung schon in 6 Stunden statt. Die Lösung ist durch Stärke und Fett getrübt, welche durch das Auswaschen des Klebers nicht vollständig entfernt werden. Durch Filtriren erhält man eine völlig klare Lösung.²⁾ Eine Quellung und Lösung des Klebers wird sogar noch bei einem Verhältniß von 1—2 Salzsäure auf 10 000 Wasser erzielt.

In einer 1—2% igen Salzsäure dagegen bleibt der Kleber ebenso ungelöst, wie in destillirtem Wasser, und quillt nicht einmal auf.

Andere Säuren, z. B. Phosphorsäure, Oxalsäure, Äpfel-, Wein- und Citronensäure, verhalten sich wie Salzsäure. Es findet aber ein Unterschied insofern statt, als einige von ihnen in einer Concentration noch wirksam sind, bei welcher Salzsäure keine Veränderung hervorruft. Phosphorsäure von 2—5 % löst den Kleber auf, dagegen ist die concentrirte Säure wirkungslos.

Es geht aus diesen wenigen Versuchen hervor, daß eine ganz verdünnte Säure molekulare Bewegungen hervorruft, welche bei Anwesenheit einer größeren Säuremenge nicht mehr eintreten. Diese molekularen Bewegungen scheinen in einer Wasserübertragung durch die Säure auf den Kleber zu bestehen, die mit dessen Auflösung endet. Dies scheint mir annehmbarer, als daß eine in Wasser lösliche Salzsäureverbindung entstehe, deshalb, weil bei anderen Substanzen bloß eine starke Imbibition, keine Lösung durch verdünnte Salzsäure bewirkt wird. Gewaschenes Fibrin quillt, wie bekannt, in 0,2% iger Salzsäure zu einer Gallerte auf, imbibirt also große Quantitäten Wasser. Legt man dagegen Fibrin in eine 5% ige Salzsäurelösung, so findet keine Quellung statt, sondern das Fibrin bleibt unverändert, wie wenn es in Wasser läge. Durch einen Überschuß von Säure wird also die Quellung verhindert, und sie wird auch, wenn schon eingetreten, rückgängig gemacht, denn gequollenes Fibrin schrumpft in 5% iger Salzsäure wieder zusammen und wird fest und weiß, wie es nach dem Auswaschen war.

Wenn man bei diesen Erscheinungen auf die geringe Menge der wirkenden Säure Gewicht legt, so ist ein Vergleichspunkt mit den Enzymen gegeben, da diese bekanntlich ein auffallendes Merkmal in ihrer scheinbar unbegrenzten Wirkung haben. Man könnte daher auch für die Enzyme folgern, daß ihre Wirkung wesentlich in einer Wasserübertragung

1) Die Thatsache, daß sich Kleber in ganz verdünnten Säuren löse, ist schon von RRRHAUSEN mitgetheilt. Die Eiweißkörper. 1872.

2) Beim Kochen bleibt die Lösung klar. Kali und Kupfer geben blaue Färbung. Fällung durch conc. HCl und Na₂CO₃. Ebenso durch Essigsäure und Ferrocyankalium.

bestehe, denn die Gegenwart von Wasser scheint doch eine ganz allgemeine Forderung bei der enzymatischen Spaltung zu sein, was sowohl die Erfahrung, als auch die Zersetzungsgleichungen der Glykosidspaltungen lehren. Es wäre aber wohl noch verfrüht, in diesem Sinne eine Theorie der Enzymwirkung aufzustellen, was hier auch nicht beabsichtigt wird, obwohl sich die geäußerten Gedanken unmittelbar aufdrängen. Ohne weiteres darf man aber deshalb noch nicht von der Wirkung der Säuren auf diejenige der Enzyme schließen, weil einige der Letzteren, wie festgestellt ist, gar nicht ohne gleichzeitige Gegenwart von Säure wirken, z. B. das Pepsin. Daß auch bei der Diastase deren Wirkung durch Säure wenigstens erhöht wird, ist von DETMER ¹⁾ festgestellt worden.

Wenn also diese Beobachtungen auch nicht ausreichen, um die Enzymwirkung theoretisch zu erklären, so sei wenigstens die Aufmerksamkeit auf die genannten Erscheinungen gelenkt. Es ergibt sich aus ihnen wenigstens das, daß die eigenthümliche Wirkung ganz verdünnter Säuren auch bei gewöhnlicher Temperatur auf in Wasser unlösliche Substanzen eine Berücksichtigung bei der Beurtheilung von Stoffwechselvorgängen in der Pflanze verlangt, da bekanntlich mit wenigen Ausnahmen die Gewebefäfte sauer reagiren und ganz verdünnte Säurelösungen darstellen.

¹⁾ DETMER, Über Fermentbildung und fermentative Prozesse. Jena 1884.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Arbeiten des Botanischen Instituts in Würzburg](#)

Jahr/Year: 1888

Band/Volume: [3](#)

Autor(en)/Author(s): Hansen Adolf [Adolph]

Artikel/Article: [Über Fermente und Enzyme 253-288](#)