© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

18. J. Grüss: Ueber Oxydasen und die Guajakreaction.

Eingegangen am 20. Mai 1898.

Die von verschiedenen Seiten gemachten Mittheilungen über die Guajakreaction veranlassen mich, schon jetzt einige Bemerkungen über die von mir ausgeführten Untersuchungen, welche diesen Gegenstand betreffen, beizubringen.

Schon in meiner ersten Abhandlung (diese Berichte 1895, Heft 1) erwähnte ich, dass man im Phloëm mit Guajak-Wasserstoffsuperoxyd eine intensive Blaufärbung beobachten kann: „Ein Ferment findet sich in den meisten Phloëmzellen, im Siebtheil, in den Holzparenchymzellen und in dem Saft der grossen Gefässe der jüngsten Jahresringe. Andererseits findet es sich in den Zellen der Markkrone.“

Häufig zeigt sich nun in einem Gewebe, welches sich nicht im Ruhezustand befindet, noch eine andere Erscheinung: es bläut sich nach Behandlung mit Guajaklösung ohne Wasserstoffsuperoxyd an der Luft. Ueber diese Reaction schrieb ich in den Berichten der Pharmaceutischen Gesellschaft, September 1895:

„Beispiel: Ein kleines Stück von einem diesjährigen Ast der Platane (Ende August) lässt man nach sorgfältigem Abspülen 15 Minuten in Guajaklösung liegen: sofort erscheint an der Luft ein intensiv blauer Ring um das Mark; allmählich verbreitet sich die Bläuung über den ganzen Schnitt. Lässt man nun aber das Object 24 Stunden in öfter gewechseltem Alkohol liegen und bringt es dann in Guajaklösung, so tritt an der Luft keine Veränderung ein. Nach dem Befeuchten mit Wasserstoffsuperoxyd erscheint ein intensiv blauer Ring da, wo sich das Cambium und das jüngste Holz befinden; etwas schwächer färbt sich die Markkrone; dagegen bleibt das Mark, das sich im ersteren Falle an der Luft verfärbte, in den meisten Fällen gänzlich farblos.

In einem grösseren Werke gedenke ich die Resultate zu veröffentlichen, welche ich mit dieser Methode bei der Untersuchung des Pflanzenkörpers erhalten habe.“

Die besagte Erscheinung, die intensive Bläuung durch Guajak-Wasserstoffsuperoxyd im leitenden Theil des Phloëms, also im Leptom, ist vor Kurzem auch von RACIBORSKI beobachtet worden. In Heft 3 des laufenden Jahrganges dieser Berichte führt er eine Liste von javanischen Pflanzen an, bei denen die Erscheinung eintritt. Dieselbe wird nach ihm durch den hypothetischen Körper „Leptomin“ bewirkt.

Von mir ist die Erscheinung in etwas anderer Weise weiter verfolgt worden. Meine Untersuchungen betreffen nur wenige unserer ein-

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

heimischen Gewächse; sie beschränken sich auf Platane, Birke, Eiche, Weide, *Sambucus*, *Armeria elongata*, *Zea Mays*, *Dracaena congesta*. *Pinus silvestris* und *Pinea* und *Picea excelsa*. Nebenbei wurde auch eine grosse Anzahl anderer untersucht.

Den Gang der Untersuchung richtete ich so ein, dass bei den erstgenannten Arten an einem bestimmten Ast ein und desselben Baumes die Reaction ein Jahr hindurch eingehend ausgeführt wurde. Gleichzeitig mit der katalytischen Wirkung wurde auch die hydrolytische Eigenschaft im Gewebe verfolgt. Eine zweite Reihe von Untersuchungen wurde in der Weise gemacht, dass ruhende Aeste im Winter zum Austreiben gebracht wurden. Diese wurden gleichzeitig unter denselben Bedingungen mit ähnlichen, die sich noch im Ruhezustand befanden, der Reaction unterworfen, wodurch die Unterschiede gut zu erkennen waren. Die gewonnenen Resultate wurden dann in der Frühjahrsperiode beim Austreiben im Freien controlirt.

Ich verzichte hier, die eingehenden Untersuchungen mitzutheilen und beschränke mich nur auf die allgemeinen Ergebnisse: In den ruhenden Hölzern tritt nach der Behandlung mit Alkohol die intensive Bläuung durch Guajak-Wasserstoffsuperoxyd fast durchgängig mehr oder weniger im Leptom ein, etwas weniger ausgiebig in den Zellen der Markkrone. Bei einzelnen Arten (Linde) ist die Färbung im leitenden Phloëm sehr schwach und fehlt fast ganz in der Markkrone.

In den meisten Fällen bleiben folgende, sich im Ruhezustand befindliche Gewebe farblos: die äussere Rinde, fast das ganze Xylem und in der Regel das mit Stärke angefüllte Mark, sowie die Markstrahlen. Die jüngsten ruhenden Holzzellen und Gefässe zeigen öfter noch mehr oder weniger die Bläuung.

Mitunter konnte an einzelnen ruhenden Hölzern im Stärke führenden Mark und in den Markstrahlen eine jedoch nur schwache und vereinzelt auftretende Färbung beobachtet werden, die dann aber an anderen Objecten derselben Art ausblieb.

In der Zeit, da der Pflanzenkörper aus seiner Winterruhe heraustritt, wächst die katalytische Wirkung zunächst im Leptom; doch ist diese Steigerung meist deswegen nicht so leicht zu erkennen, weil schon das ruhende Gewebe eine intensive Färbung ergiebt. Viel leichter ist die gesteigerte Wirkung in der Markkrone zu erkennen.

So wie nun in den Markstrahlen und im Mark die Stärkelösung beginnt, so wächst auch hier, und zwar meist in entsprechender Weise, die katalytische Wirkung; jedoch treten beide Erscheinungen in einzelnen Zellen früher, in anderen dagegen später ein. Bei einigen Arten (Buche) kann die Blaufärbung trotz der Stärkelösung unterbleiben. In diesen Fällen sind gewöhnlich Gerbstoffe, und zwar bei der Buche besonders eisengrünende, zahlreich zugegen.

Wenn die Stärkelösung eintritt, greift die Färbung häufig von den

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Orten intensiver Bläuung auf die einzelnen Elemente des Xylems über, wobei die jüngeren Theile desselben meist bevorzugt sind; die älteren Jahresringe werden weniger von der Färbung ergriffen.

In dem völlig entleerten Mark erhält man wieder wie im ruhenden gefüllten eine sehr schwache Färbung.

Hinsichtlich der Wanderungsfrage ist Folgendes zu erwähnen: Wenn man in den Zellen der Markkrone eines sich im Austreiben befindlichen Astes die Reaction hervorruft, so nimmt häufig die Färbung von diesem Gewebe aus in das Mark hinein allmählich ab. Es macht den Eindruck, als ob der die Bläuung bewirkende Körper von dort aus gewissermassen abgeleitet wird, besonders da die Bläuung auch in den Intercellularräumen auftritt. Eine Wanderung würde also wohl möglich sein.

Andererseits vermag das isolirte ruhende Mark, wenn dasselbe steril in Wasser gehalten wird, unter gleichzeitiger Stärkelösung den die katalytische Wirkung ergebenden Körper selbständig zu erzeugen.

Für eine Wanderung würde noch sprechen, dass die Membranen des Jungholzes (Platane im September) sich fast regelmässig bläuen, ferner oft auch die collenchymatisch verdickten Membranen im Rindengewebe (z. B. *Pellionia*).

Ausserdem kommt noch ein Umstand hinzu: In der Wandung gewisser Gefässe (*Pteris aquilina*) ist die Fortleitung eines ähnlichen Körpers, der Guajak ohne Wasserstoffsuperoxyd an der Luft zu bläuen vermag, anzunehmen. In den ruhenden Hemicellulosemembranen (*Acacia*, *Astragalus*, *Sarothamnus* etc.) unterbleibt die Blaufärbung, die aber in der Regel bei der Lösung, wenn die Gummosis eintritt, in der sich lösenden Zellhaut hervorgerufen werden kann.

Bei den Liliaceen mit secundärem Dickenwachsthum (z. B. *Dracaena congesta*) erscheint in der die neuen Gefässbündel erzeugenden Zone die Bläuung am intensivsten. In den Bündeln selbst ist meist das Leptom an der Färbung ausgiebiger betheiligt als die Mestomscheide. Das parenchymatische Grundgewebe färbt sich schwach oder auch gar nicht. Ein Maximum der Bläuung tritt ferner da ein, wo ein Gewebe stark durchlüftet ist. Beispiele hierfür bilden die Merenchymzellen der Markstrahlen, das Gewebe an den Markhöhlen der Knospen, an den Spaltgängen von Knospenschuppen etc. Zu dieser Gruppe von Erscheinungen kann man das Auftreten der intensiven Bläuung im Epithel von Harzgängen (*Pinus Pinea*, Holz im Ruhezustand) rechnen.

Schliesslich tritt die Reaction bedeutend verstärkt in austreibenden Knospen ein; in ruhenden kann sie ganz ausbleiben oder ist mehr oder weniger schwach zu erkennen. Ein interessantes Verhalten zeigt die ruhende Knospe von *Picea excelsa*: Mit Guajak und Wasserstoffsuperoxyd färben sich nur das Dermatogen und die embryonalen Nadeln; beim Austreiben wird dann ausserdem noch das Periblem stark gebläut und

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

die Färbung greift weit hinein in das junge Mark, von dem nur noch die Mitte frei bleibt; desgleichen erstreckt sich weiterhin die Bläuung von der Markhöhle aus nach oben und unten in den ganzen angrenzenden Theil des Markgewebes.

Gleichzeitig mit diesen Guajak bei Gegenwart von Wasserstoffsuperoxyd bläuenden Körpern entwickeln sich oder vermehren sich beträchtlich auch diejenigen katalytischen Enzyme, welche Guajak an der Luft zu färben vermögen. Wie sich diese im Holzkörper verhalten, habe ich schon erwähnt. Beide kommen nicht immer gleichzeitig vor, z. B. im austreibenden Rhizom von *Pteris aquilina*, wo sich durch Guajak allein das Gewebe der Rinde und das Xylem bläuen; das Leptom bleibt in diesem Falle farblos. Nach dem Erhitzen der Objecte in Alkohol auf 50—53° (10 Minuten) unterbleibt jene Färbung, und nun erfolgt die Bläuung mit Guajak und Wasserstoffsuperoxyd nur im Leptom. Diese Erscheinung lässt sich neben einander an zwei auf einander folgenden Schnitten hervorrufen.

Man kann hier kaum zu einer anderen Deutung greifen, als dass der Guajak allein bläuende Körper in der Wandung der Gefässe in Wanderung begriffen ist. Dafür spricht, dass im Ruhezustand die Gefässwandungen farblos bleiben. In anderen Fällen kann eine Wanderung fraglich erscheinen: So erscheint z. B. in dem jungen Bast des Schaftes von *Armeria elongata* das katalytische Enzym früher als im Leptom, welches zuerst durch Guajak-Wasserstoffsuperoxyd farblos bleibt, während sich die Wandungen der jungen Bastzellen lebhaft bläuen; es könnte in diesem Falle möglich sein, dass der die Bläuung bewirkende Körper zur Ausbildung dieser Zellen nöthig ist. Je älter der Schaft wird, um so weniger kann die Färbung im Bast hervorgerufen werden, wogegen nun das Leptom mehr und mehr die Blaufärbung annimmt. Wenn sich endlich die Fruchtreife ihrem Ende nähert, so schwinden in entsprechender Weise die die Erscheinung bewirkenden Körper, die dann schliesslich nur noch in Spuren nachweisbar sind.

Auch im Mark kann sich die Ausgiebigkeit der katalytischen Wirkung nach localen Verhältnissen richten: so ist dieselbe z. B. gesteigert, wenn die Zufuhr von Material nach gewissen Verbrauchsstellen eine erhöhte ist. Beispielweise findet man im Mark der Fruchtstiele (Platane) während der Fruchtreife eine starke Bläuung, während sonst das Mark fast farblos ist. Die Zellinhalte werden stark gebläut, und in den Intercellularräumen findet die Bläuung statt. Die Stärkekörner sind sehr klein und im Zustande der Lösung. Besonders stark ist die Färbung im Phloëm und in den Markkronen der markständigen Gefässbündel. Nähert sich die Fruchtreife ihrem Ende, so nimmt die Färbungsfähigkeit schnell ab.

Wie ich oben erwähnte, wurde in einzelnen Fällen auch gleichzeitig die hydrolytische Wirkung verfolgt. Es zeigte sich, dass in den

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

mit Stärke gefüllten Behältern, dem Mark und den Markstrahlen, gemäss der Stärkelösung die Menge des hydrolytischen Enzyms zunimmt. In entsprechender Weise steigert sich die katalytische Wirkung, die Bläuung durch Guajak und Wasserstoffsuperoxyd wird mehr und mehr intensiv, wofern nicht Gerbstoffe die Reaction verhindern. Andererseits hätten sich im ruhenden Phloëm, wo, wie erwähnt, eine intensive Bläuung eintritt, auch der Färbung entsprechend grössere Mengen von hydrolytischen Enzymen vorfinden müssen. Das war aber nicht zu beobachten, vielmehr wurde hier entweder keine oder aber eine schwache Wirkung erhalten.

Zur Prüfung der hydrolytischen Wirkung hatte ich zuerst die Methode von BROWN und MORRIS, sodann auch die von mir angeführte, das zerkleinerte Material mit Glycerin zu extrahiren, in Anwendung gebracht. Nun könnte man ja allerdings sagen, dass diese Methoden zum Nachweis der hydrolytischen Enzyme im ruhenden Phloëm nicht ausreichen, — das wäre ein Einwand, der weiteren Forschungen zu überlassen ist.

Ich kann also sagen, dass mit den jetzt gebräuchlichen Methoden im ruhenden Phloëm nur eine sehr geringe hydrolytische Enzymwirkung nachgewiesen werden kann, während sich andererseits die Blaufärbung mit Guajak und Wasserstoffsuperoxyd intensiv hervorrufen lässt.

Im ruhenden Marke konnte keine hydrolytische Wirkung erhalten werden; die katalytische Wirkung ist allerdings entweder sehr schwach oder auch gar nicht vorhanden.

Wenn wir nun die Blaufärbung im ruhenden Phloëm mit derjenigen im Marke, dessen Stärke in Lösung begriffen ist, vergleichen, so ergiebt sich unter der Voraussetzung, dass die Diastasen auch katalytisch wirksam sind, die Folgerung, dass im ruhenden Phloëm Körper vorhanden sind, welchen eine hohe katalytische, aber keine hydrolytische Wirkung zukommt, oder dass andererseits Stoffe zugegen sind, welche zwar die hydrolytische, nicht aber die katalytische Wirkung hemmen resp. aufheben.

Von einer Darstellung jener katalytischen Enzyme habe ich nach einigen Versuchen Abstand genommen, um so mehr, da die Reindarstellung der hydrolytischen Enzyme, besonders der Diastase, bis jetzt allen Anstrengungen gegenüber nicht durchgeführt werden konnte, so dass z. B. ARTHUS zu dem Schlusse gelangt, dass Enzyme unfassbar sind, dass sie kein Stoff, sondern nur Eigenschaften der Stoffe sind. Diese Ansicht kann auch für die katalytisch wirkenden Enzyme gelten.

Wie bei der Keimung beide Wirkungen parallel mit einander verlaufen, habe ich in meiner Schrift: „Beiträge zur Physiologie der Keimung“ (Landw. Jahrb. 1896) eingehend dargethan.

Es drängt sich darnach die Frage auf, ob man die Bläuung den

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

hydrolytischen Enzymen, den Diastasen, zuschreiben kann. RACIBORSKI meint diese Frage leicht gelöst zu haben: da ein Handelsproduct die Blaufärbung nicht giebt, und da ferner der sich bläuende Saft des Zuckerrohrs keine Stärke lösende Wirkung besitzt, „so ist es ohne Weiteres klar, dass die beiden Körper verschieden sind".

Die besagte Diastase, welche man zur Wiederholung des Versuchs nur von der betreffenden Firma zu beziehen genöthigt ist, giebt in der That in wässeriger Lösung mit Guajak-Wasserstoffsuperoxyd keine Färbung. Als aber die trockenen Diastasetheilchen mit einer frisch bereiteten Guajaklösung befeuchtet wurden, trat nach Zusatz eines Tropfens Wasserstoffsuperoxyd eine leichte, aber deutliche Bläuung ein.

Darnach kann ich also die Thatsache bestätigen, dass die betreffende Handelsfirma eine in wässeriger Lösung sich mit Guajak-Wasserstoffsuperoxyd nicht bläuende Diastase herstellt.

Was den zweiten Theil der Beweisführung anbetrifft, dass ein im Gewebe des Zuckerrohrs vorkommender Körper sich mit Guajak-Wasserstoffsuperoxyd stark bläut und dennoch keine Stärke lösende Wirkung besitzt, so habe ich auf eine solche Erscheinung in meiner Abhandlung bereits hingewiesen: in ruhenden Kartoffelknollen tritt (nach voraufgehender Behandlung mit Alkohol) stets eine starke Bläuung mit Guajak-Wasserstoffsuperoxyd ein. Der Saft bringt entweder eine geringe oder auch keine stärkeumsetzende Wirkung hervor.

Trotzdem hielt ich mich noch nicht für berechtigt, in gewissen Fällen für die katalytische Wirkung einen besonderen Körper annehmen zu müssen, also der Diastase die Eigenschaft abzusprechen, sich mit Guajak-Wasserstoffsuperoxyd zu bläuen. Ich möchte hier gleich festgestellt wissen, dass ich nur dann eine durch Diastase bewirkte Färbung annahm, wenn sich auch auf anderen Wegen ein gleiches Resultat herausstellte, wenn sich also in dem betreffenden Gewebe neben der Sauerstoff abspaltenden eine den Verhältnissen entsprechende, gewissermassen parallel verlaufende hydrolytische Wirkung beobachten liess.

Nach SCHÖNBEIN kommt den Enzymen ganz allgemein die Eigenschaft zu, Guajak in Gegenwart von Wasserstoffsuperoxyd zu bläuen. Die Diastase, welche nach LINTNER's Methode hergestellt wird, besitzt die katalytische Wirkung in hohem Masse. LINTNER sagt darüber: „Eine Reaction aber giebt die Diastase, die sonst kein Proteïnkörper zeigt, in ausgezeichneter Weise, das ist die Reaction gegen Guajaktinctur und Wasserstoffsuperoxyd; ja es will mir scheinen, als ob diese Reaction in der Form, wie sie von mir angestellt wird, für die Diastase charakteristisch wäre."

Wie nun JAKOBSON gezeigt hat, kann man die katalytische Kraft der Fermente zerstören, ohne zugleich die specifische Wirkung zu schädigen, nämlich:

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

1. durch vorsichtiges Erhitzen auf bestimmte Temperaturen,
2. durch Erschöpfen der katalytischen Kraft,
3. durch Aussalzen mittelst Na_2SO_4.

„Man ist sonach berechtigt, den Schluss zu ziehen, dass der Verlust des Vermögens, Wasserstoffsuperoxyd zu katalysiren, durchaus nicht den Verlust der specifischen Fermentwirkung bedingt. Aus diesem Grunde bedarf der Eingangs citirte Satz von SCHÖNBEIN einer starken Einschränkung.“ Ferner sagt er: „— so erscheint doch in Vorstehendem der Beweis erbracht, dass es sehr wohl möglich ist, auf verschiedene Weise die Eigenschaft der Fermente, Wasserstoffsuperoxyd zu zerlegen, zu vernichten, ohne das Vermögen, specifische Fermentwirkung zu äussern, irgendwie zu alteriren.“

Diese Auseinandersetzung führt RACIBORSKI mit den Worten an: „J. JACOBSON hat gezeigt, dass man die Diastase so weit reinigen kann, dass die GW.-Reaction nicht mehr auftritt.“ Nach der von JACOBSON unter No. 1 angegebenen Methode habe ich es versucht, eine sich nicht bläuende Diastase darzustellen.

Eine nach LINTNER's Methode hergestellte Diastase, welche also Bläuung ergiebt, wurde in absolutem Alkohol bei Siedetemperatur gehalten, wobei von Zeit zu Zeit kleine Proben zur Untersuchung der katalytischen Wirkung herausgenommen wurden. Nach mehreren Stunden war dieselbe verschwunden. Nun zeigte sich, dass aber auch das Fermentativvermögen merklich heruntergegangen war.

Wie auch aus anderen Untersuchungen bekannt ist, wird durch Erhitzen in jeder Weise die diastatische Kraft alterirt. JACOBSON giebt überdies keine Messungen des Fermentativvermögens seiner Präparate an. Die Unveränderlichkeit der hydrolytischen Wirksamkeit wird sich also wohl nur auf die Methoden 2 und 3 beziehen, welche ich nicht wiederholt habe.

Selbst wenn man annimmt, dass die Angaben hierüber richtig sind, so ist doch noch sehr zu bezweifeln, ob die ursprüngliche Diastase durch das Wasserstoffsuperoxyd oder durch das Na_2SO_4 in ihrer Zusammensetzung nicht verändert worden ist. Auch für diese letzteren beiden Methoden giebt JACOBSON keine Messung des Fermentativvermögens an.

Dass Na_2SO_4 ohne Einfluss auf die diastatische Wirkung sein soll, ist vor der Hand schon deshalb zweifelhaft, weil NaCl in höherer Concentration eine günstige Einwirkung auf das Fermentativvermögen ausübt; es müsste dies erst noch in genauerer Weise für Na_2SO_4 festgestellt werden. Dann ist die Frage: „Ist die nach einer der drei Methoden hergestellte Diastase, die sich nicht mehr mit Guajak-Wasserstoffsuperoxyd bläut, ein Derivat der nach LINTNER's Methode bereiteten Diastase oder sind in dieser zwei Enzyme, ein hydrolytisches und ein katalytisches anzunehmen? Eine sichere Antwort ist bis jetzt ausgeschlossen.

Ein ähnlicher Fall wäre folgender: Der Saft der unreifen Früchte,

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

aus welchem bei geeigneter Behandlung die Weinsäure herauskrystallisiren würde, liefert beim Erhitzen auf 135° die Metaweinsäure; beide Säuren haben gewisse Eigenschaften gemeinssm, andere aber nicht. Ohne Weiteres lässt sich nun nicht behaupten, dass die letztere in der Zelle vorkommt. —

Es giebt in der Natur eine Diastase, welche mit Wasserstoffsuperoxyd das Guajak nicht bläut: dies ist das Enzym von *Penicillium glaucum*. Werden die Sporen auf angefeuchtete Stärke ausgesäet, so tritt bei Untersuchung mit FEHLING'scher Lösung in dem Pilzrasen eine starke Reduction ein, und gleichzeitig lässt sich die Einwirkung des Enzyms an den Stärkekörnern erkennen; eine Bläuung des Guajaks mit Wasserstoffsuperoxyd findet dabei nicht statt.

Sind die Atomgruppen, welche die Träger der hydrolytischen und der katalytischen Wirkung sind, nicht mit einander in demselben Molecül vereinigt, so ist anzunehmen, dass sie ein verschiedenes Diffusionsvermögen haben. Als einziger Weg, die beiden Enzyme zu trennen, erschien mir derjenige der Diffusion.

Auf eine grosse Glimmerplatte wurde Stärkegelatine ausgegossen und nach der Erstarrung derselben in die Mitte ein wenig mit Wasser angefeuchtete LINTNER'sche Diastase gebracht. Die Platte wurde in Chloroformdampf 60 Stunden aufbewahrt. Danach wurde sie in der Weise halbirt, dass der Schnitt gerade durch das Diastasecentrum ging. Die eine Hälfte wurde mit Jodlösung behandelt, durch welche sich die helle und farblose Diffusionszone um das Diastasecentrum gut abhob. Die andere Hälfte der Glimmerplatte wurde erst in eine frisch bereitete Guajaklösung gebracht, worin sie einige Zeit verblieb, und darauf nach Abdunstung des Alkohols mit verdünntem Wasserstoffsuperoxyd befeuchtet. Bei dieser Behandlung wurde das Centrum mit seiner Diffusionszone stark gebläut. Beide Zonen hatten einen Durchmesser von 21 *mm* und passten, soviel ich beobachten konnte, genau an einander.

Nach der Methode, die sich verwenden lässt, um Farbstoffe von einander zu trennen, wurde LINTNER'sche Diastase in Glycerin gelöst; in die Lösung, welche sich in einem geschlossenen Cylinder befand, kam ein Streifen von schwedischem Filtrirpapier zu hängen. Nach vier Tagen betrug die Steighöhe 6,5 *cm*. Der eine Längsrand des Streifens wurde in der Breite von 2 *mm* abgenommen und daran constatirt, dass die intensive Blaufärbung überall da eintrat, wo das Papier durchfeuchtet war. Nun wurde der obere Rand des durchtränkten Streifens (2 *mm* breit und 28 *mm* lang) abgeschnitten und in 5 *ccm* Stärkekleister gelegt. Zur Controle wurde noch das folgende Stück von denselben Dimensionen zusammen mit 5 *ccm* Stärkekleister aufgekocht. Nach einigen Stunden, wobei für Sterilhaltung gesorgt wurde, war die Verzuckerung prompt eingetreten.

Auf diesen Wegen ist es mir bis jetzt noch nicht gelungen, das

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

hydrolytische von dem katalytischen Enzym zu trennen, und ich muss also noch daran festhalten, dass eine Blaufärbung dann von Diastase herrührt, wenn auf einem anderen Wege ihr Vorkommen unter entsprechenden Verhältnissen nachgewiesen ist. Doch kann die Blaufärbung, wie z. B. im ruhenden Phloëm, noch durch Körper erhöht werden, welche nur katalytisch wirksam sind, wie ja auch andererseits die Wirkung durch Gerbstoffe aufgehoben werden kann.

Im Folgenden soll gezeigt werden, dass sich nach ihrem Verhalten der Wärme gegenüber drei katalytische Enzyme unterscheiden lassen. In ähnlicher Weise lassen sich auch drei Diastasen nachweisen, welche von BROWN und MORRIS Secretions-, Translocations-Diastase und Cytase genannt wurden.

In der ruhenden Kartoffel, besonders unter der Rinde, sind zunächst Enzyme vorhanden, welche den Sauerstoff der Luft auf Guajak (und Chromogene) zu übertragen vermögen. Diese Körper sind in Glycerin löslich, aus welchem sie mit Bleiacetat theilweise niedergeschlagen werden können, ohne ihre Eigenschaft einzubüssen. Durch Alkohol werden sie zerstört; man kann den Alkohol längere Zeit bei gewöhnlicher Temperatur oder 10 Minuten bei 50—53° einwirken lassen. Nach ihrem Verhalten gegen Bleiacetat scheinen es mehrere Körper dieser Art zu sein; sie mögen mit dem Namen α-Oxydasen bezeichnet werden. In den ruhenden stärkeführenden Parenchymzellen der Kartoffelknolle besitzen dieselben keine hydrolytische Wirkung, wie man dies dadurch nachweisen kann, dass man die betreffenden Schnitte mehrere Tage steril auf Stärkegelatine liegen lässt.

Nun zeigt aber der Saft der ruhenden Kartoffelknollen mitunter eine schwache diastatische Wirkung; dieselbe stammt von den Enzymen her, welche sich unter der Rinde und in den Gefässbündeln finden, was man gleichfalls durch die angegebene Methode erkennen kann.

Um das zweite katalytische Enzym in der ruhenden Kartoffelknolle nachzuweisen, muss man Schnitte durch dieselbe mehrere Tage in Alkohol liegen lassen oder sie 10 Minuten auf 50—53° in Alkohol erwärmen. Nach Abdunstung des letzteren bringt man die Objecte in Guajaklösung, lässt den Alkohol abermals abdunsten und befeuchtet sie mit Wasserstoffsuperoxyd. Dadurch tritt eine lebhafte Bläuung ein. Diese Enzyme, welche ebenfalls nicht hydrolytisch wirksam sind, seien β Oxydasen genannt; sie sind in Glycerin löslich, aus welchem sie mittelst Alkohol-Aether gefällt werden können, ohne ihre Eigenschaft zu verlieren.

Das dritte katalytische Enzym lässt sich am besten folgendermassen nachweisen: Eine ruhende Kartoffelknolle wird mittelst eines Korkbohrers durchbohrt, worauf man sie etwa 1—2 Wochen liegen lässt, damit der Bohrungscanal mit Kork ausgekleidet wird.

In den Parenchymzellen, in denen der Kork entsteht, wird be-

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

kanntlich die Stärke gelöst; doch erhält man in den Phellogenzellen selbst mit FEHLING'scher Lösung eine schwächere Reduction als wie in dem angrenzenden Gewebe, wo dieselbe meist lebhaft eintritt, offenbar deshalb, weil der Zucker zur Bildung der Korkhäute verbraucht wird.

Querschnitte durch derartig vorbereitete Knollen werden $^1/_4$ bis 1 Stunde in absolutem Alkohol bei Siedetemperatur gehalten. Werden dieselben nun nach Abdunstung des Alkohols mit Guajaklösung und Wasserstoffsuperoxyd behandelt, so erhält man die Bläuung nur in den Wundperidermzellen am Bohrungscanal. Das stärkeführende Parenchym bleibt farblos.

Unter der Knollenrinde, an austreibenden Knospen und in einzelnen Gefässbündeln, an denen sich die Stärkekörner im Lösungszustande befinden, ist die Bläuung meist auch vorhanden. Wenn man das Wundperiderm ausschneidet und auf Stärkegelatine steril (in Chloroformdampf) mehrere Tage liegen lässt, so kann man um die ausgeschnittenen Stücke eine kleine Stärkelösungszone nach Jodzusatz erkennen.

Die Träger dieser nach der eben beschriebenen Methode zu erhaltenden katalytischen Wirkung seien als γ-Oxydasen bezeichnet. Zu ihnen gehört die LINTNER'sche Diastase, welcher, wie oben gezeigt, sowohl eine starke hydrolytische als auch eine γ-oxydasische Wirkung zukommt.

Wenn man der Länge nach durchschnittene Gerstenkörner, die sich in verschiedenen Keimungszuständen befinden, eine Viertelstunde mit absolutem Alkohol kocht und an ihnen die katalytische Reaction mit Guajak und Wasserstoffsuperoxyd hervorruft, so wird das Gewebe des Embryos noch sehr schwach gefärbt; kocht man eine Stunde, so bleibt dasselbe farblos. In diesem Falle bläut sich aber das Endosperm und zwar gemäss seiner Veränderung bei der Keimung; besonders ausgiebig ist die Färbung da, wo Schildchen und Aleuronschicht auf der gefurchten Seite des Korns zusammenstossen.

Die Translocations-Diastase, deren katalytische Wirkung im ruhenden Gerstenkorn nach einer Erhitzung von 15 Minuten in siedendem Alkohol aufgehoben ist, würde also zu den β-Oxydasen gehören. Zu diesen wäre auch der in den ruhenden Parenchymzellen der Kartoffel vorkommende, nur katalytisch wirkende Körper zu rechnen, für den man ja, da die Benennung schon erfolgt ist, den Namen „Leptomin" beibehalten kann.

Im Mark und den Markstrahlen der austreibenden Platane kommt nur eine β-Oxydase vor, welche möglicher Weise mit der Translocations-Diastase identisch sein dürfte.

Ueber das Vorkommen der drei Oxydasen sei vorläufig Folgendes erwähnt:

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

α-Oxydasen: Das stärkeführende Parenchym der ruhenden Kartoffel, austreibende Knospen der meisten dicotyledonischen Gewächse, die Markkrone in den jungen Aesten der Bäume, wenn diese sich nicht im Ruhezustand befinden, die Rinde des ruhenden, sowie die Rinde und das Xylem des austreibenden Rhizoms von *Pteris aquilina*, die Rinde vom Stamm der *Dracaena* etc.

β-Oxydasen: Das stärkeführende Parenchym der ruhenden Kartoffel, das ruhende Leptom (Leptomin RACIBORSKI's?). Mit hydrolytischer Wirkung: Translocations-Diastase im ruhenden Gerstenkorn; die Cytase im Endosperm der keimenden Dattel, die Enzyme im Mark und den Markstrahlen beim Austreiben der Gewächse, im Grundgewebe austreibender Rhizome (*Pteris aquilina*).

γ-Oxydasen: Secretions-Diastase in der keimenden Gerste. Die LINTNER'sche Diastase. Die Enzyme in Mark, Rinde und theilweise im Leptom der austreibenden Wurzel von *Astragalus glyciphylloides*. Hautgewebe der Cotyledonen, die Rinde des hypocotylen Gliedes, sowie das meristematische Gewebe am Ende des Stengels bei den jungen Keimpflanzen von *Phaseolus*. Wundperiderm an der Kartoffelknolle; auch in deren austreibenden Knospen; im Phloëm der Gefässbündel und zum Theil im parenchymatischen Gewebe des Scutellums der keimenden Dattel; im Cotyledonarblatt derselben.

Es ist bis jetzt noch nicht gelungen, eine γ-Oxydase ohne hydrolytische Wirkung aus LINTNER'scher Diastase herzustellen.

Keine Oxydasen sind: Das Enzym von *Penicillium* und die nach den JACOBSON'schen Methoden hergestellten Diastasen. Diese letzteren halte ich bis auf Weiteres für Derivate der Secretions-Diastase. Was die Namen α-, β-, γ-Oxydasen anbetrifft, so sollen damit nur drei Gruppen von katalytisch wirkenden Enzymen bezeichnet werden, deren hauptsächlichste Eigenschaft darin besteht, freien oder leicht gebundenen Sauerstoff auf andere Körper zu übertragen.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft

Jahr/Year: 1898

Band/Volume: 16

Autor(en)/Author(s): Grüss(Grüß) J.

Artikel/Article: Ueber Oxydasen und die Guajakreaction 129-139