

### 43. Hugo Miehe: Über die Lebensdauer der Diastase.

(Eingegangen am 27. April 1923. Vorgetragen in der Aprilsitzung.)

Die durch Enzyme vermittelten Vorgänge nehmen innerhalb des Chemismus der lebenden Zelle eine Sonderstellung ein, da sie sich aus ihm herauslösen lassen und in ihren wesentlichen Zügen auch *in vitro* verlaufen können. Die Reaktionen ähneln dadurch solchen mit toten Stoffen, doch bewahrt das hypothetische Agens, das Enzym, insofern eine Erinnerung an seine Herkunft, als es in mancher Hinsicht sich äußeren Einflüssen gegenüber wie das lebende Plasma selber verhält, ganz abgesehen davon, daß Stoffe, die *in vitro* den lebenden Chemismen ähnliche Umsetzungen bewirken, bisher nur aus Organismen isoliert wurden und sich sonst in der Natur nicht zu bilden scheinen.

Die gewöhnliche Gewinnungsweise der Enzyme aus gewaltsam abgetöteten Geweben zeigt ohne weiteres, daß sie postmortale Wirksamkeit besitzen. Man könnte aber fragen, ob sie auch den physiologischen Tod oder jenes allmähliche Absterben überdauern, das z. B. die ruhenden Samen zeigen, und das sich in dem schließlichen Verlust der Keimfähigkeit äußert.

Ich habe versucht, zu der Lösung dieser Frage beizutragen, indem ich die Lebensdauer des diastatischen Enzyms an einem extremen Beispiel untersuchte. Den erwünschten Anlaß dazu gab eine hinlängliche Menge alten Roggens, den der Reichsschatzminister aus den Beständen des kürzlich aufgelösten Proviantamtes zu Neißer zur Verfügung gestellt hatte. Dieser bis dahin dort abgesondert aufbewahrte, als Schwedenkorn bezeichnete Roggen war bereits im Jahre 1833 der Gegenstand einer amtlichen Erhebung der Preußischen Regierung. Er ist später von WITTMACK<sup>1)</sup> in anatomischer und morphologischer Hinsicht untersucht worden. Indem ich hier auf jene in seiner Mitteilung abgedruckte Denkschrift von 1833 verweise, hebe ich nur das Folgende aus ihr hervor. Der in einem besonderen Raume jenes Proviantamtes aufbewahrte, amtlich versiegelte Sack befand sich bereits im Jahre 1811 an derselben Stelle. Nach sehr glaubwürdiger mündlicher Überlieferung wurde der „Schwedenroggen“ schon in den anno 1742/43 aufgeführten Neubau aus dem vormaligen Magazin als Seltenheit übergeführt. Dadurch gewinnt die Sage an Wahrscheinlichkeit, daß er aus jenen Lieferungen stammte, die der

1) Jahrbuch der Deutschen Landwirtschafts Gesellschaft, Bd. 3, S. 69. 1889.

schwedische General V. TORSTENSON nach der Übergabe der Festung im Jahre 1642 der ausgehungerten Bevölkerung überwies. Sei dem, wie ihm wolle, so ist dieser Roggen mindestens 112 Jahre alt, ja sehr wahrscheinlich ganz beträchtlich älter. Auch WITTMACK hält ihn unter Hinweis auf seine eigentümliche gelbrötliche Färbung für sehr alt.

Die Keimfähigkeit ist erloschen, wie schon WITTMACK feststellte, die anatomische Struktur des Endosperms gut erhalten. Die Stärke, obwohl leicht gelblich verfärbt, zeigt typische Jodreaktion. Nur der Embryo ist stark desorganisiert, in vielen Körnern sogar ganz oder z. T. herausgefallen. Daß die aufgeweichten Körner noch ein gutes Substrat für Bakterien und Pilze darstellen, sei nebenher erwähnt. 1833 hat man auch noch ein genießbares Prodebrot aus dem Mehl gebacken.

Mich beschäftigte nun die Frage, ob diesem alten Roggen noch die Fähigkeit des Stärkeabbaus innewohnt. Es wurden Auszüge mit Stärkekleister versetzt und der Digestion überlassen, immer in genauer Parallele mit einem Roggen der letzten Ernte.

Um das Ergebnis vorweg zu nehmen, so waren in diesem alten Roggen noch die Stoffe vorhanden, welche die Stärke abbauen, und der einzige mit den angewandten Methoden feststellbare Unterschied gegenüber frischem Roggen bestand nur darin, daß der Abbau langsamer verläuft und nicht immer bis zum völligen Verschwinden der Jodreaktion fortschreitet.

Der Beschreibung der Hauptversuche sei zunächst folgendes vorausgeschickt. Ein entscheidendes Moment ist die Fernhaltung von Mikroorganismen. Sowohl die Auszüge als die Digestionsgemische wurden mit Chloroform oder Toluol versetzt; auch wurde darauf geachtet, daß immer ein Überschuß dieser Antiseptika gegenwärtig war. Außerdem wurden hängende Tropfen unter Ölimmersion sorgfältig geprüft. Plattenguß entscheidet nichts, da ja die Gifte nur hemmen. Wider die allgemeine Ansicht erwies sich das Thymol als völlig unzuverlässiges Antiseptikum. Trotz Zusatzes eines großen Kristalls entwickelten sich bei 40 Grad so große Mengen von Bakterien, daß die Flüssigkeiten stark getrübt waren, ja Schaumbläschen zeigten. Chloroform und Toluol waren einwandfrei. Ferner war es wichtig, jede Infektion des Schwedenroggens mit dem frischen Roggen auszuschließen. Demgemäß wurden beide Substanzen bei allen Handgriffen streng auseinandergehalten und alle Geräte peinlich gereinigt. Bei der Prüfung mit Jod ist es notwendig, die Jodlösung im Überschuß zuzusetzen. Denn in Getreideauszügen (wie in solchen von anderen Pflanzen)

finden sich Stoffe, die das Jod gierig an sich reißen. Erst nach deren Sättigung wird der Überschuß für die Färbung der Stärke bzw. des Erythroextrins frei. So entzieht z. B. ein Getreideauszug, wenn er tiefblau gefärbten Stärkekörnern zugesetzt wird, diesen rasch das Jod vollständig, wie man leicht unter dem Mikroskop beobachten kann. Daß sich bei den laufenden Jodproben der Abbau der Stärke durch einen leichten rötlichen Stich der blauen Farbe ankündigt, daß dieser dann stärker wird und die Farbe über weinrot, kirschrot in braunrot übergeht und allmählich verblaßt, bis sie schließlich über hellgelb verschwindet, darf als bekannt vorausgesetzt werden. Die Dextrine wurden nicht bestimmt, ich begnügte mich mit der Bestimmung der reduzierenden Zuckersorten, ohne diese ihrerseits getrennt zu ermitteln. Die Analyse wurde nach einer titrimetrischen Methode von SOXHLET ausgeführt, die sich z. B. bei KOCH<sup>1)</sup> beschrieben findet. Es wurde ermittelt, wieviel ccm des Digestionsgemisches das in 20 ccm FEHLINGScher Lösung enthaltene Kupferoxyd vollständig reduzieren. Die feinere Einstellung wurde durch Prüfung weniger, gut filtrierter Tropfen mit Ferrozyankali und Essigsäure bewirkt; gekocht wurde immer 5 Minuten. Der Auszug des jungen Roggens wurde nach der Digestion auf die Hälfte mit Wasser verdünnt. Da immer mit denselben Reagentien und in derselben Weise gearbeitet wurde und es überall nur auf relative Werte ankommt, ist die an sich nicht besonders ideale Methode ausreichend. Die sogenannte „lösliche Stärke“ wurde nach Anquellen gekocht und löste sich gut. Sie enthält eine sehr geringe Menge reduzierender Substanzen, die nicht bestimmt wurde, die aber, da in allen Versuchen gleich, die Ergebnisse nicht gefährdet. Stärkekleister mit Chloroform im Brütschrank gehalten, zeigt keine Änderung der ursprünglichen Jodreaktion. Die Versuche wurden bei etwa 35—39 Grad ausgeführt.

Nach einer Anzahl orientierender Vorversuche, die aber alle gleichsinnig verliefen, wurden mit möglichster Sorgfalt zwei Hauptversuche durchgeführt, von denen ich den einen in extenso wiedergebe. J. R. bedeutet jungen, S. R. Schwedenroggen bzw. deren Auszüge.

Je 40 g J. R. und S. R. wurden trocken in getrennten Mörsern fein zerrieben, die Mehle mit je 400 ccm Wasser in zwei größere Kolben übergespült, diese nach Zusatz von reichlich Chloroform mit Korkstopfen verschlossen und 24 Stunden im Brütschrank

---

1) Mikrobiologisches Praktikum. Berlin 1922. S. 102.

belassen. Dann wurden je 300 ccm abgehebert und mehrfach filtriert. Der S. R.-Auszug war fast blank, aber hellbraun gefärbt, der des J. R. farblos, aber opak. Nun wurden 100 ccm einer frisch bereiteten 3 prozentigen Stärkelösung hinzugefügt, je 100 ccm für die erste Zuckerbestimmung abgezweigt und dann die abermals mit Chloroform versehenen und verschlossenen Flaschen in den Thermostaten gestellt. Der Rest der Auszüge wurde nach Filtration ebenfalls mit Stärke versehen und dann kräftig aufgeköcht, worauf er gleichfalls nach Zusatz von Chloroform dem Brutschrank übergeben wurde.

Die erste Zuckerbestimmung, unmittelbar nach der Mischung, ergab für den J. R. 24 ccm, für den S. R. 45 ccm. Letzterer enthielt also nur etwa halb soviel der reduzierenden Substanzen wie jener.

Die anfängliche Prüfung mit Jod ergab tiefblaue Färbung. Der Auszug allein wird nicht gefärbt. Die in Abständen von einigen Stunden immer wiederholte (leider aber durch die Nacht unterbrochene) Jodprobe ergab bei J. R. nach 20 Stunden weinrote, nach 28 kirschrote, nach 47 Stunden hellrötliche, nach 52 keine Färbung mehr. Im S. R.-Stärkegemisch hinkten die Farbänderungen immer nach, so daß nach Ablauf von 52 Stunden noch eine kräftige, rein braunrote Färbung auftrat und erst nach 5 Tagen die Reaktion fast (aber nicht ganz!) negativ wurde.

Nach Ablauf von 52 Stunden wurde festgestellt, daß von J. R. 13,75 ccm, von S. R. 21 ccm zur völligen Reduktion des Kupferoxyds verbraucht wurden. Der junge Roggen hatte also nicht nur während des Ausziehens mehr reduzierenden Zucker gebildet als der S. R., sondern dieser blieb auch beim Digestionsversuch selber etwas hinter jenem zurück. Abgesehen von einem leichten Bodensatze war das Aussehen der Flüssigkeiten unverändert. Jener bestand, mikroskopisch geprüft, nicht aus Bakterien.

Die aufgeköchten Gemische zeigten keine Abnahme oder Veränderung der ursprünglichen tiefblauen Farbe. Durch das Abkochen war also in beiden Fällen die Stärke vor dem Angriff geschützt.

Der zweite Hauptversuch wurde genau so wie der obige angesetzt, mit dem einzigen Unterschiede, daß Toluol als Antiseptikum verwandt wurde. Sein Verlauf unterschied sich von dem des ersten nur dadurch, daß der Stärkeabbau beim S. R. wesentlich langsamer verlief, beim J. R. jedoch rascher. Das J. R.-Gemisch ergab bereits nach 8 Stunden rein rötliche Färbung und ließ nach 24 Stunden (wahrscheinlich aber schon früher) jede Färbbarkeit vermissen. Das S. R.-Gemisch zeigte dagegen erst nach 10 Stunden die ersten rötlichen Spuren, nach 32 Rotweinfärbung und nach 5½ Tagen

rein braunrote, die aber auch nach weiteren 2 Tagen, wenn auch wesentlich heller, noch aufgefunden wurde. Inwieweit dies Verhalten typisch für das Toluol ist, wurde nicht verfolgt.

Die Zuckerbestimmungen ergaben: J. R. anfangs 18,5 ccm, nach 24 Stunden 14,25 ccm, nach  $5\frac{1}{2}$  Tagen 12 ccm. Für S. R. anfangs 39,5 ccm, nach 32 Stunden 23 ccm, nach  $5\frac{1}{2}$  Tagen 18 ccm.

Die mikroskopische Prüfung ergab das gleiche wie oben.

Aus den Vorversuchen sei noch folgendes hervorgehoben: Sie beschränkten sich nach Ausscheidung der zweifelhaften Thymolversuche auf drei mit Chloroform. Sie zeigten alle auch beim Schwedenroggen ein völliges, wenn auch etwas später vollendetes Verschwinden der Jodreaktion. Bei Zimmertemperatur wird der Stärkeabbau stark verzögert bei beiden Roggenarten. Das gleiche findet statt, wenn nur 2 statt 24 Stunden ausgezogen wird. Halbstündige Sterilisierung der Gemische ergab ohne späteren Chloroformzusatz keine Veränderung der ursprünglichen Jodreaktion.

Schließlich erwähne ich noch folgende ergänzende Feststellungen. Der S. R. ist mit Trespen-, Rade- und Wickenkörnern verunreinigt. Obwohl ja diese Unsaat ebenso alt wie der Roggen ist, also grundsätzlich unser Ergebnis nicht berührt, wurde sie doch in einem besonderen Versuch ausgelesen. Dabei wurde auch darauf geachtet, nur völlig unversehrte Körner auszulesen, damit etwa später oder gar neuerdings hineingeratene Getreideschädlinge ausgeschlossen würden. Das Ergebnis dieses Versuches war den anderen analog. Somit gelten unsere Befunde wirklich für den Roggen.

Aus den mitgeteilten Beobachtungen läßt sich folgern, daß aus einem 112, ja, sehr wahrscheinlich sogar 280 Jahre alten Roggenkorn sich durch Wasser hitzeempfindliche Stoffe ausziehen lassen, die die Stärke bis zu reduzierenden Zuckerarten abbauen können, und daß sich diese Auszüge von frischen Roggenextrakten nur durch ihre etwas verminderte Wirksamkeit unterscheiden. Daß die Zähigkeit von Enzymen wirklich so bedeutend die Erhaltung der Keimfähigkeit übertrifft, darf allerdings nicht ohne weiteres behauptet werden, da wir über die Lebensdauer solcher Samen, die unter den günstigsten Bedingungen aufbewahrt wurden, nicht viel wissen. Möglicherweise leben viele, überhaupt dürre-resistente Samen nach sehr sorgfältiger Trocknung und vielleicht unter Sauerstoffabschluß doch viel länger, als man bisher annahm. In unserem Falle freilich ergibt sich ohne weiteres, daß das Enzym unter den Bedingungen der Aufbewahrung des Kornes dieses ganz bedeutend an Lebenszähigkeit übertrifft. Denn das Korn hat wohl sicher schon nach wenigen Jahren seine Keimkraft eingeblüßt.

Dabei bleibt aber noch die Frage offen, welche Faktoren eigentlich dies Erlöschen der Keimfähigkeit bedingen. Man kann sich vorstellen, daß es sogar nur mittelbar wirkende sein können, wie z. B. mechanische Zerreibungen beim Austrocknen. Außerdem wäre noch festzustellen, ob etwa die Endospermzellen wesentlich länger leben als der Keim.

Nehmen wir an, daß Enzyme wirklich viel länger leben als das Ganze, so brauchte dies nicht in dem Sinne der üblichen Vorstellung von dem subbiologischen Charakter der Enzyme als besondere „Lebensähigkeit“ gedeutet zu werden. Vielmehr könnte man ebensogut daraus einen Zweifel an der Richtigkeit jener Auffassung ableiten. Wir müssen aber noch weitere Erfahrungen abwarten, um diese Frage allgemeiner erörtern zu können. Vor allem wären weitere Untersuchungen an Samen genau bestimmbarer Alters sowie an abgestorbenen Pflanzen und Pflanzenteilen im Hinblick auf die postmortale Erhaltung enzymatischer Befähigungen sehr erwünscht.

Zusatz bei der Korrektur: Inzwischen habe ich einen altägyptischen Emmer auf die oben beschriebene Weise untersucht. Er stammt aus einem Grabe der XVIII. Dynastie und ist ausgezeichnet erhalten. Das mikroskopische Bild unterscheidet sich wenig von demjenigen jungen Weizens, die Stärke wird von Jod gebläut, ja ein mit Wasser angemachter Brei stellt ein vorzügliches Nährsubstrat für Schimmelpilze dar. Von einer diastatischen Wirkung war aber selbst nach vier Wochen keine Spur zu bemerken.

#### 44. P. Metzner: Über induzierten Phototropismus.

(Vorläufige Mitteilung.)

(Mit 1 Abbildung im Text.)

(Eingegangen am 22. Mai 1923. Vorgetragen in der Maisitzung.)

Im Verlauf meiner Untersuchungen über die photodynamische Erscheinung war es mir gelungen, das Auftreten phototaktischer Reaktionen bei sonst nicht lichtempfindlichen Mikroorganismen (Infusorien, Bakterien) unter dem Einfluß fluoreszierender Farbstoffe zu beobachten (3, 4). Die wirksamen Farbstoffe werden in Spuren in die Zellen aufgenommen (nach neueren demnächst zu veröffentlichenden Erfahrungen in der Plasmahaut adsorbiert) und bewirken hier bei Sauerstoffgegenwart im Licht Oxydationen, die

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft](#)

Jahr/Year: 1923

Band/Volume: [41](#)

Autor(en)/Author(s): Mische Hugo

Artikel/Article: [Über die Lebensdauer der Diastase 263-268](#)