Weitere Untersuchungen über das gegenseitige Mengenverhältnis der Kohlehydrate im Laubblatt unter verschiedenen Außenbedingungen

Von Albrecht Ritschl (Hohenheim)

Einleitung

Die vorliegende Arbeit ist eine Fortsetzung der Studien über den Kohlehydratstoffwechsel der Laubblätter, die Herr Professor Schroeder mit einer Reihe von Mitarbeitern seit einigen Jahren unternommen hat. Sie gliedert sich in drei Abschnitte.

Im ersten wird über Versuche berichtet zur Aufhellung der alten Streitfrage über die bei der Assimilationstätigkeit auftretenden löslichen Kohlehydrate.

Da sich dabei (wie schon früher bei einigen Objekten[1])) zeigte, daß die übliche Berechnung der Zucker als Hexosen, Maltose und Saccharose bei Verwendung schwacher und starker Säure als Hydrolysierungsmittel für Maltose unmögliche Werte ergab, ging ich dazu über, an Stelle der Säuren Enzyme, d. h. also spezifische Reagentien zu verwenden, um festzustellen, ob das, was als die obigen Zucker, wenn auch unter Vorbehalt, angesprochen war, wirklich, oder doch mit noch größerer als der bisher erzielten Wahrscheinlichkeit, als diese angesehen werden dürfen.

Diesen Untersuchungen ist der zweite Teil meiner Arbeit gewidmet.

Im dritten Teil endlich wurde der Einfluß der Temperatur auf das Verhältnis der Kohlehydrate im Laubblatt untersucht, weil auch diese nicht leicht im belichteten und nicht belichteten Blatte gleichgehalten werden kann, und es darum notwendig erschien, zu wissen, in welcher Weise Temperaturschwankungen auf die Mengenverhältnisse der Kohlehydrate wirken.

---

[1]) Horn, Bruns und unveröffentlichte Versuche v. Prof. Schroeder.

I. Abschnitt

Während die früheren Autoren (Brown und Morris[1]), Davis und Daish[2]), Campbell[3]) und Gast[4]) — mit Ausnahme von Tollenaar[5]) — die Pflanzen unter dem natürlichen Belichtungswechsel hielten, schien es für einen tieferen Einblick notwendig, die Blätter so lange zu verdunkeln, bis die letzten Spuren Stärke geschwunden waren, unter Umständen sogar noch länger, damit die Abbauvorgänge ganz oder doch zum größten Teil abgelaufen waren, wenn mit Wiederbelichtung die Assimilationstätigkeit einsetzte. Da dafür mit einer länger ausgedehnten Dunkelperiode gerechnet werden mußte, war ich genötigt, nach Objekten zu suchen, die sich verhältnismäßig rasch entstärken ließen und die mehrere Tage andauerndes Verdunkeln ohne Schädigung der Blätter, die zuweilen erst nach der Wiederbelichtung in Erscheinung trat, ertrugen.

Bei diesen Vorversuchen bediente ich mich der Jodprobe. Es zeigte sich, daß *Hedera helix*, ebenso auch *Vinca minor* die Stärke Anfang Mai langsam auflösten. Selbst nach vierzehntägiger Verdunkelung konnte Stärke noch in reichlichen Mengen nachgewiesen werden. Etwas besser eignete sich *Ajuga reptans*. Hier waren die Blätter nach 8—10 Tagen stärkefrei, ohne daß bei darauffolgender Belichtung die Blätter, wie das bei anderen Pflanzen vorkam, zu welken begannen. Noch günstigere Resultate ergab *Pelargonium peltatum*. Die Blätter waren nach 2—3 Tagen entstärkt und vertrugen ohne Schädigung auch noch 2—3 weitere Tage Dunkelheit. Da mir in der betreffenden Jahreszeit Anfang Mai kein anderes geeigneteres Material in genügender Menge zur Verfügung stand, so wählte ich diese Pflanze für meine weiteren Versuche.

1. Pelargonium peltatum

Zunächst mußte herausgefunden werden, wie lange vom Augenblicke des Wiederbelichtens es bei konstanter Belichtung dauerte, bis Stärke in den Chloroplasten nachgewiesen werden

[1]) Brown und Morris, Journal of the Chem. Soc. 63, 1893.

[2]) Davis und Daish, Journ. of Agric. Soc. Vol. 5, 1913.

[3]) Campbell, Carbohydrates of Mangold leaf, the Journal of Agric. Sc., Vol. 4, 1912. 2 und 3 zitiert nach Schroeder, die Hypothesen über die chem. Vorgänge bei der Kohlensäureassimilation 1917.

[4]) Gast, Quantitative Unters. über den Kohlehydratstoffwechsel im Laubblatt. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 99, 1917, S. 1.

[5]) Tollenaar, Omzettingen van Koolhydraten in het Blad van Nicotiana tabacum. 1925.

konnte. Dazu wurde das abgeschnittene Blatt mit dem Stiel in ein Reagenzglas mit durchbohrtem Korkstopfen in Wasser gestellt, wobei das Glas so befestigt wurde, daß die Blattspreite vertikal stand. In einer Entfernung von 20 cm befand sich eine 50 Watt-Osramlampe in Höhe der Blattspreite. In regelmäßigen Intervallen wurden Blattproben abgeschnitten und Querschnitte mikroskopisch mit Jodchloralhydrat auf Stärke untersucht.

Den Gang eines solchen Versuches veranschaulichen folgende Daten:

20. 5. 1926 $10.^{05}$ h Beginn der Belichtung.
$13.^{10}$ h Beginn von Stärkebildung.
$15.^{10}$ h Stärkekörner noch klein.
$17.^{00}$ h merkliche Zunahme, Stärkekörner größer.

Ähnliche Resultate lieferten andere in gleicher Weise angesetzte Versuche. Da aber die gebildeten Stärkekörner meistens nur klein blieben, wurden die folgenden Versuche mit 75 Watt-Lampen ausgeführt, wodurch die Zeit bis zur Stärkebildung (kleine Körner) von fünf auf drei Stunden abgekürzt wurde.

Da zur chemischen Untersuchung eine größere Anzahl von Blättern nötig war, so wurden diese, wie bei den Vorversuchen, in Reagenzgläser mit Wasser gestellt und zu dem Zwecke möglichst gleichmäßiger Belichtung in einen kreisrunden Holzrahmen mit vorgebohrten Löchern gebracht, in dessen Mitte die Lichtquelle hineinragte. Die Entfernung der Blätter von der Lampe betrug 25 cm. Die ausstrahlende Wärme wurde durch einen Wassermantel gedämpft, der sich zwischen dem äußeren und inneren runden Glasgefäß befand, in das die Lampe hineinhing.

Hinter den Blättern befanden sich mit weißem Papier überzogene Rückwände, um den Rückseiten der Blätter Licht zuzuführen.

Da ich die Verarbeitung des Blattmaterials und ebenso die Zuckerbestimmungen nach der Methode von Bertrand in der gleichen Weise vorgenommen habe, wie sie in den Arbeiten von Horn[1]) und Ahrns[2]) beschrieben worden sind, so begnüge ich mich an dieser Stelle mit dem Hinweis auf diese beiden Arbeiten.

---

[1]) **Horn**, Abhängigkeit der Kohlehydrate im Laubblatt vom Wassergehalt. Mez. Archiv. III, 1923. S. 137.

[2]) **Ahrns**, Weitere Untersuchungen über die Abhängigkeit der gegenseitigen Mengeverhältnisse der Kohlehydrate im Laubblatt. Mez. Archiv V. 1924.

Vier Topfpflanzen wurden am 27. 5. 1926, 9.50 Uhr verdunkelt. Temperatur 16 Grad. Die Pflanzen hatten im Freien gestanden. Witterung warm, sonnig. Die Blätter enthielten viel Stärke. Am 31. 5. waren alle Blätter stärkefrei. Nach zwei weiteren Tagen wurden acht etwa gleich große Blätter abgeschnitten, halbiert, und die Hälften mit Stiel in der vorher beschriebenen Weise dem Licht ausgesetzt. Die Hälften ohne Stiel wurden sofort analysiert, die Hälften mit Stiel erst nach dreistündiger Belichtung, nachdem die Stiele vorher entfernt worden waren.

Das Verhalten bei Verlängerung der Belichtung wurde in der Weise untersucht, daß die Blätter erst drei Stunden belichtet, dann die Hälften ohne Stiel abgeschnitten und analysiert wurden, während ich die Hälften, die an den Pflanzen verblieben waren, noch weitere acht Stunden dem Lichte aussetzte. Die Resultate sind aus Tabelle I und II ersichtlich.

Tabelle I

Zucker in Milligramm pro 1 g Trockensubstanz

Vers. Nr.	Versuchs-anordnung	Frisch-gewicht g	Wasser-gehalt %	Gesamt-zucker	Maltose	Hexo-sen	Rohr-zucker	Stärke
1a	verdunkelt	18,5	94	21,09	6,82	8,09	5,82	0
1b	3 Std. hell	19,8	93,7	41,08	16,09	2,27	24,63	0
2a	3 Std. hell	20,0	93,8	33,25	18,92	0	18,03	0
2b	11 Std. hell	20,0	94,4	38,72	16,73	0	20,0	8,38

Tabelle II

Vers. Nr.	Versuchs-anordnung	Frisch-gewicht g	Wasser-gehalt %	Gesamt-zucker	Maltose	Hexo-sen	Rohr-zucker	Stärke
3a	verdunkelt	20,0	94,0	0	0	0	0	0
3b	2 Std. hell	18,2	94,0	15,32	9,45	0	9,51	6,73
4a	2 Std. hell	20,0	93,6	17,93	10,49	0	9,85	2,36
4b	11 Std. hell	20,0	93,6	26,66	9,45	0	15,44	3,04

Beide Versuche ergaben übereinstimmend eine mit der Zeit sich verlangsamende Zunahme des Rohrzuckers bei Belichtung. Für die Maltose und Hexosen berechnen sich Werte, welche auf die tatsächlichen Mengen keinen Schluß ziehen lassen. Es errech-

neten sich für die Hexosen negative Zahlen[1]) bei Versuch 2, die auch bei einer Wiederholung (in Tabelle II) gefunden wurden. Ein Analysenfehler liegt nicht vor. Ebenso sind die gefundenen Mengen Stärke zum Teil schwer zu deuten. Bei dem Versuch 2b war die nach 11 Std. Belichtung gefundene Stärkemenge gut meßbar. Versuch 3 und 4 haben ganz andere Zahlen ergeben. Welche Ursache die zuletzt etwas unglaubhaften Stärkewerte haben, ist nicht untersucht worden. Wegen der Zuckerarmut der Blätter wurde diese Pflanze nicht zu weiteren Versuchen benutzt.

II. Tropaeolum majus

Die fortgeschrittene Jahreszeit gestattete jetzt auch mit *Tropaeolum majus* Versuche zu machen. Zunächst stellte ich fest, daß die Blätter nach etwa 48stündiger Verdunkelung stets entstärkt waren, daß aber nach weiteren 2—3 Tagen die Blätter oft gelb wurden. Die Blätter begannen zuweilen zu welken, wenn sie von der Pflanze abgeschnitten auch gleich in Wasser gestellt wurden, so daß ich vorzog, sie sowohl bei Dunkel- wie bei Hellperiode mit der Pflanze in Verbindung zu lassen. Die Verdunkelungszeit beschränkte ich auf zwei Tage und zwei Nächte, die genügten, um die Blätter von Stärke und Zucker fast vollständig zu befreien.

Das Verdunkeln erfolgte durch Überstülpen einer mit schwarzem Papier ausgekleideten Holzkiste, nachdem die Pflanzen vorher ausgiebig begossen worden waren. Es wurden zu den Versuchen nur Blätter genommen, die nicht durch andere beschattet waren.

Am 20. 7. 1926 wurden eine Anzahl Pflanzen in dieser Weise verdunkelt. Beginn 11.30 Uhr. Entfernen der Kiste am 22. 7. 1926 nach 46stündiger Verdunkelung. Temperatur 18 Grad. Witterung: teilweise sonnig.

Die ersten Blatthälften wurden sofort analysiert nach Entfernen der Hauptnerven, nach 2½ Std. Belichtung die anderen, nachdem mit Jod Stärkebildung in den Palissadenzellen festgestellt worden war. Die Fortsetzung des Versuches erfolgte am 30. 7. 1926, wobei die ersten Hälften nach drei, die zweiten Hälften nach elf Stunden Belichtung analysiert wurden. Die Witterung an dem betr. Tage war außerordentlich heiß und trocken, wodurch der Wassergehalt der Blätter bedeutend sank. Die Zahlen sind aus Tabelle III ersichtlich.

---

[1]) Näheres S. 357.

Tabelle III

Vers. Nr.	Versuchs-anordnung	Frisch-gewicht g	Wasser-gehalt %	Gesamt-zucker	Maltose	Hexo-sen	Rohr-zucker	Stärke
5a	2 Tg. dunkel	7,3	85,2	0*)	0	0	0	0
5b	2½ Std. hell	7,0	83,5	77,92	15,28	39,19	23,50	0
6a	2½ Std. hell	7,7	84,2	74,86	8,62	41,02	24,87	0
6b	11 Std. Sonne	7,5	70,1	73,10	14,58	25,50	30,68	18,70

*) Die errechneten Werte waren praktisch gleich Null.

Der anfänglichen Zunahme der Hexosen folgte im Laufe des Tages wieder eine Abnahme, dagegen nahm der Rohrzucker weiter zu. Da diese Schwankungen mit dem niedrigen Wassergehalt zusammenhängen konnten (Horn 1923[1])), so war die Versuchsdeutung zweifelhaft. Ich stülpte deshalb im folgenden Versuche gewölbte Glasglocken über die Pflanzen, um durch Anreicherung der Atmosphäre mit Wasserdampf den Wassergehalt der Blätter konstant zu halten. Bei dieser Anordnung stieg jedoch die Temperatur während des Versuches weit über das normale Maß. Unter den Glasglocken betrug die Temperatur um 9 Uhr 33 Grad, 12 Uhr 44 Grad, 17 Uhr 28 Grad. In diesem Versuche (Tabelle IV) zeigte sich neben der Zunahme des Rohrzuckers auch weiteres Zunehmen der Hexosen nach längerer Belichtung.

Tabelle IV

Vers. Nr.	Versuchs-anordnung	Frisch-gewicht g	Wasser-gehalt %	Gesamt-zucker	Maltose	Hexo-sen	Rohr-zucker	Stärke
7a	verdunkelt	8,6	85,04	0	0	0	0	0
7b	3 Std. hell	8,6	83,51	69,16	0	46,11	21,17	11,92
8a	3 Std. hell	7,8	85,47	61,63	5,32	35,10	20,36	0
8b	12 Std. hell	8,4	83,38	87,78	4,65	44,80	36,53	19,32

Normale Außenbedingungen fand ich erst im nächsten Versuch, so daß dessen Resultaten besondere Beachtung geschenkt werden kann. Die Pflanzen befanden sich unter einem würfelförmigen Gestell von über einem Meter Kantenlänge, dessen Wände allseitig mit Glas bedeckt waren. Die Temperatur betrug 25 Grad; das Wetter war zum Teil sonnig. Im folgenden die Zahlen:

[1]) Horn, Abhängigkeit der Kohlehydrate im Laubblatt von Wassergehalt. Mez, Archiv III, 1923, S. 172.

Tabelle V

Vers. Nr.	Versuchs-anordnung	Frisch-gewicht g	Wasser-gehalt %	Gesamt-zucker	Maltose	Hexo-sen	Rohr-zucker	Stärke
9a	verdunkelt	9,5	83,05	0	0	0	0	0
9b	3 Std. hell	9,4	81,60	66,32	3,45	34,54	28,32	0
10a	3 Std. hell	8,3	82,42	65,85	8,05	26,16	30,98	0
10b	10 Std. hell	9,4	81,03	69,26	13,14	19,10	38,72	7,78

Die Bildung von Hexosen übertrifft bis zum Beginn des Auftretens von Stärke die des Rohrzuckers oder steht ihr gleich. Dann aber nehmen erstere ab, der Rohrzucker weiter zu. Die Gesamtzuckermenge ist nach zehnstündiger Belichtung nur um weniges größer als nach dreistündiger Belichtung. Doch fand ich nach zehnstündiger Belichtung eine gut meßbare Stärkemenge.

Einen Schluß zu ziehen, welcher Zucker bei beginnender Assimilation zuerst entsteht, ist aber auf Grund dieser Ergebnisse kaum möglich. Die angewandte Methode erlaubt keine genaue Bestimmung so kleiner Zuckermengen, wie sie nach sehr kurzer Assimilationszeit vorhanden sind.

Durch einen weiteren Versuch stellte ich fest (s. Tabelle VI), daß die Gesamtzuckermenge auch nach 14stündiger Belichtung nicht größer geworden war als nach achtstündiger Belichtung. Die Werte für die Hexosen waren nach 14 Stunden Belichtung kleiner als nach acht Stunden, der Wert für Rohzucker größer geworden. Die Resultate stimmen also mit denen von Versuch 8 überein. Die Versuchsanordnung bei Versuch 11 erfolgte in der Weise, daß, nachdem die Versuchspflanzen die übliche Zeit verdunkelt waren, die Kiste schon nach Einbruch der Dunkelheit entfernt wurde, so daß die Belichtung sofort mit Tagesanbruch erfolgte. Der Vormittag war ziemlich bewölkt, nachmittags mehr Sonne. Stärke war nach acht Stunden Belichtung vorhanden, doch

Tabelle VI

Vers. Nr.	Versuchs-anordnung	Frisch-gewicht g	Wasser-gehalt %	Gesamt-zucker	Maltose	Hexo-sen	Rohr-zucker	Stärke
11a	8 Std. hell	8,1	80,59	79,73	14,60	19,07	44,64	ver-unglückt
11b	14 Std. hell	7,9	81,06	77,78	14,68	8,53	52,28	35,2

verunglückte die quantitative Bestimmung. Es darf aber angenommen werden, daß die nach 8 Stunden Belichtung gebildete Stärkemenge kleiner war, als die nach 14 Stunden gebildete.

Auf welche Weise die Kohlehydrate bei Verdunkelung abnehmen, wurde durch zwei Versuche festgestellt.

Nachdem die Blätter den ganzen Tag unter Belichtung gestanden hatten, wurden sie 14 Stunden verdunkelt. Die vor der Verdunkelung analysierten Blatthälften enthielten wie in den früheren Versuchen wenig Hexosen aber viel Rohrzucker (Tab. IX). In einem Fall (Versuch 7a) stellte ich fest, daß überhaupt keine Hexosen vorhanden waren. In den verdunkelten Blättern hatte der Rohrzucker und die Maltose stark abgenommen, die Hexosen fehlten, und auch die Stärke war soweit verschwunden, daß eine quantitative Feststellung nicht möglich war. Dies Resultat ist um so auffallender, da ich die Beobachtung gemacht hatte, daß *Tropaeolum*blätter sonst erst nach 36—48 Stunden entstärkt waren. Auf die Umwandlung der Kohlehydrate hat aber die Temperatur, wie z. B. TOLLENAAR[1]) zeigt, weitgehenden Einfluß, so daß die Verschiedenheit der Ergebnisse hiermit zu erklären sein dürfte.

Tabelle IX

Vers. Nr.	Versuchsanordnung	Frischgewicht g	Wassergehalt %	Gesamtzucker	Maltose	Hexosen	Rohrzucker	Stärke
14a	12 Std. Sonne	8,0	79,05	70,09	22,20	0	45,52	32,30
14b	14 Std. dunk.	8,0	80,40	18,94	8,85	0	9,09	0
15a	12 Std. Sonne	7,6	78,28	72,40	21,47	2,60	46,22	50,73
15b	14 Std. dunk.	9,1	80,04	32,23	19,53	0	11,20	0

Aus der Tatsache, daß ich auch nach 14stündiger Verdunkelung keine Herosen feststellen konnte, ergibt sich, daß diese mit der Geschwindigkeit ihrer Entstehung (aus Stärke und Rohrzucker) umgesetzt wurden.

Phaseolus vulgaris

Die Versuchsanordnung war dieselbe wie bei *Tropaeolum majus*. Nach dreitägiger Verdunkelung im Freien waren die Blätter fast vollständig von Kohlehydraten befreit.

---

[1]) TOLLENAAR, Omzettingen van Koolhydraten in het Blad van Nicotiana Tabacum L. 1925, S. 129. (Dissertation.)

Versuchsbeginn am 28. 8. 1926. Die Belichtungszeit wurde von 2½ Stunden an bis 9 Stunden ausgedehnt (siehe Tabelle X).

Tabelle X

Zuckermengen in Milligramm pro 1 g Frischsubstanz

Vers. Nr.	Versuchs-anordnung	Frisch-gewicht g	Wasser-gehalt %	Gesamt-zucker	Maltose	Hexosen	Rohr-zucker	Stärke
16a	verdunkelt	13,2	83,34	0	0	0	0	0
16b	2½ Std. hell	13,0	82,67	2,39	(2,43)	(— 0,78)	0,67	0
17a	4½ Std. hell	13,4	80,37	5,99	(3,74)	(— 2,05)	3,99	0
17b	9 Std. hell	14,5	80,17	11,16	(5,46)	(— 2,65)	7,95	1,95
18a	7 Std. hell	12,1	80,17	10,66	(4,35)	(— 3,69)	6,63	2,07
18b	9 Std. hell	15,5	80,18	10,28	(4,25)	(— 3,32)	7,21	2,04

Wenn auch der mit zunehmender Dauer der Belichtung stattfindende Rohrzuckerzuwachs in Übereinstimmung mit den Versuchen mit *Tropaeolum majus* steht, so ist bei der Bestimmung der Hexosen und der Maltose die gleiche Erscheinung zu beobachten, wie bei *Pelargonium peltatum*. Die Maltosemenge, die sich errechnet aus der Differenz der Cu^{I}-Werte nach Salzsäurehydrolyse und Zitronensäurehydrolyse würde unhydrolysiert eine Cu^{I}-Menge ergeben, die größer ist, als die gesamte vom unhydrolysierten Extrakt gelieferte Cu^{I}-Menge.

Über die Größe dieser Differenz unterrichten die in der Tabelle unter Hexosen aufgeführten negativen Zahlen. Sie besagen, um wie viel, ausgedrückt in Milligramm Hexosen, das Kupferreduktionsvermögen des nicht der Hydrolyse unterworfenen Extraktes hätte größer sein müssen, wenn der Unterschied im Kupferreduktionsvermögen nach Zitronensäurebehandlung einerseits und nach Salzsäurebehandlung andererseits allein auf die Hydrolyse von Maltose zurückzuführen wäre. Der Maltosewert der Tabelle ist also um einen entsprechenden Betrag zu hoch. Es handelt sich dabei um einen Mindestwert. Denn der Fehler der mitgeteilten Maltosewerte wird größer sein, sowie Hexosen oder sonstige Stoffe im unhydrolysierten Extrakt vorhanden sind, deren Kupferreduktionsvermögen weder durch die Behandlung mit Zitronensäure, noch durch die mit Salzsäure eine Änderung erfährt. Es müssen demnach in dem Extrakt ein oder mehrere unbekannte Substanzen vorhanden sein, bei welchen das Verhältnis der von gleichen Mengen umgesetzten Cu^{II}-Mengen vor der Hydrolyse (a)

zu dem nach erfolgter Salzsäurehydrolyse (b) einen kleineren Wert besitzt, als der entsprechende für Maltose. Beides jeweils unter den Reaktionsbedingungen der betreffenden Portion. Also $a/b < c/d$, wobei c und d die a und b entsprechenden Werte für Maltose bedeuten.

In den Analysen von *Tropaeolum* ergab sich die eben besprochene Unstimmigkeit zwischen errechnetem Maltosewert und dem Reduktionsvermögen des nicht der Hydrolyse unterworfenen Extraktes nicht. Trotzdem besteht doch hier die Möglichkeit, daß unbekannte Substanzen von dem oben angedeuteten Charakter anwesend waren und infolgedessen der berechnete Maltosewert zu hoch ist. Gegenwart größerer Quantitäten von Hexosen oder sonstigen ohne Hydrolyse reduzierenden Stoffen, deren Menge alsdann wahrscheinlich zu klein gefunden wurde, bewirkten, daß der Fehler hier nicht als offenbare Unmöglichkeit sich selbst manifestierte.

Um zu sehen, ob diese störenden Stoffe in Alkohol unlöslich wären und dadurch bei den Analysen ausgeschaltet werden könnten, extrahierte ich *Phaseolus*blätter sowohl mit Wasser wie mit Alkohol (Tabelle XI). Wie die Resultate zeigen, sind diese unbekannten Stoffe in Alkohol löslich.

Tabelle XI

Zucker in Milligramm auf 1 g Frischsubstanz

Vers. Nr.	Versuchsanordnung	Frischgewicht g	Gesamtzucker	Maltose	Hexosen	Rohrzucker
19	Alkoholextrakt	38,5	9,31	(2,95)	(— 0,57)	5,90
20a	Wasserextrakt	10,77	15,42	(7,03)	(— 3,18)	8,04
20b	Alkoholextrakt	10,74	17,58	(10,52)	(— 5,66)	6,52
21	Alkoholextrakt	100,0	18,18	(8,26)	(— 10,56)	9,92
22	Alkoholextrakt	100,0	10,70	(2,65)	(— 0,97)	8,06
23	Wasserextrakt	350,0	8,91	(5,77)	(— 0,98)	3,12

Über gleiche und ähnliche Erscheinungen, wie ich sie bei *Pelargonium* und *Phaseolus* gefunden habe, berichtet Horn[1]) bei *Convallaria majalis*. Kylin[2])[3]), welcher an verschiedenen Pflanzen-

[1]) Horn, Tr. Abhängigkeit der Kohlehydrate im Laubblatt vom Wassergehalt. Mez, Archiv III, 1923 S. 160.

[2]) Kylin, Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. 101, 1918, S. 83.

[3]) Bruns, Untersuchungen zur Auffindung der Ursache der Amylumverminderungs-beschleunigung. Mez, Archiv XI, 1925, S. 40.

arten Versuche unternommen hat bezüglich wasserlöslicher und -unlöslicher Kohlehydrate, schreibt, daß z. B. in *Gentiana brevidens* neben einer nicht unbedeutenden Menge reduzierender Zuckerarten ein noch nicht bekanntes Saccharid enthalten sei, welches linksdrehend ist und bei Hydrolyse nur Dextrose gibt.

II. Abschnitt

Zur sicheren Identifizierung von Maltose und Rohrzucker ließ ich in den folgenden Versuchen auf die Blattextrakte spezifische Reagentien — Enzyme — einwirken. Zunächst behielt ich die Zuckerbestimmungsmethode von BERTRAND bei. Doch erwies sich diese bald in Gegenwart von Maltase als unbrauchbar. Ich ersetzte sie daher durch die Jodmethode von AUERBACH und BODLÄNDER[1]).

Herstellung der Enzymlösungen

Für die Invertierung des Rohrzuckers mit Saccharase wurde eine Enzymlösung nach Angaben von WILLSTÄTTER[2]) aus Hefe hergestellt, deren Konzentration groß genug war, um mittels 5 ccm die in Betracht kommenden Rohrzuckermengen in Jnvertzucker umzuwandeln. 5 ccm der Saccharaselösung genügten, um 0,1 g Rohrzucker in einem Gesamtvolumen von 25 ccm in drei Stunden bei 30 Grad zu 98% zu spalten. Die Saccharaselösung hielt sich über sechs Monate unverändert wirksam.

Die Maltase wurde ebenfalls nach Angabe von WILLSTÄTTER[3]) hergestellt. Die Empfindlichkeit dieses Enzyms erforderte es, die Lösung bei 0 Grad aufzubewahren. Trotzdem mußte diese nach 5—6 Tagen erneuert werden, da das Enzym teilweise zerstört war. Zur Hydrolysierung der Maltose kamen auf 20 ccm Blattextrakt 10 ccm der Maltaselösung zur Anwendung. Diese Menge genügte, um die in Betracht kommende maximale Maltosemenge innerhalb drei Stunden bei 30 Grad zu 91—98% zu hydrolysieren in einem Gesamtvolumen von 30 ccm.

Da die Maltase sehr empfindlich ist und nur bei einer bestimmten Wasserstoff-Ionen-Konzentration voll wirkt, wurde der

[1]) AUERBACH und BODLÄNDER, In ROSA, Praktikum für physiol. Chemie. 1926. S. 156.

[2]) WILLSTÄTTER und SCHNEIDER, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 151, 1926, S. 267.

[3]) WILLSTÄTTER und BAMANN, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 151, 1926, S. 256 u. 268.

Blattextrakt durch Zusatz von Phosphatpuffer auf die für Maltase günstige Wasserstoff-Ionen-Konzentration (p_h 6,8) eingestellt.

Während es leicht gelang, die Saccharaselösung von Maltase zu befreien — letztere ist nach wenigen Tagen bei Zimmertemperatur schon unwirksam oder durch Zugeben von etwas Essigsäure zur Saccharaselösung zur Ausfällung von Eiweiß zerstört — konnte aus Mangel an entsprechenden Einrichtungen eine saccharasefreie Maltaselösung nicht hergestellt werden. Durch geringen Zusatz von Saccharase zu der Maltaselösung ließen sich aber beide Zucker nebeneinander durch Enzymhydrolyse quantitativ erfassen. Der Wert für Maltose wurde dann durch die Differenz der Bestimmung mit Maltase und Saccharase minus Bestimmung mit Saccharase allein gefunden. Die Wirksamkeit der Maltase wurde vor jeder Analyse geprüft.

Versuche

Die ersten Versuche wurden mit Blättern von *Hedera helix* im Januar 1927 angestellt. Die Analysen ergaben (s. Tabelle XII) nach Zitronensäurehydrolyse und Saccharasehydrolyse übereinstimmende Rohrzuckerwerte. Dagegen bestätigen die nach Enzymhydrolyse gefundenen kleineren Werte für Maltose, daß nicht alles Maltose sein kann, was nach Säurehydrolyse als solche errechnet wurde. Entsprechend diesem Befund berechnet sich nach Enzymhydrolyse ein höherer Hexosenwert als nach Säurehydrolyse.

Tabelle XII

Milligramm Zucker pro 1 g Frischsubstanz

Vers. Nr.	Datum	Hydrolysierungsmittel	Gesamtzucker	Maltose	Hexosen	Rohrzucker
24a	29. 1. 27	Säure	21,84	5,79	2,75	12,64
24b	29. 1. 27	Enzym	18,96	0,94	5,47	11,92
25a	3. 2. 27	Säure	20,31	5,51	3,03	11,18
25b	3. 2. 27	Enzym	16,48	0,59	5,20	10,23

Versuche mit *Brassica napus* (Tabelle XIII) ergaben kein Resultat, weil beim Abfiltrieren des Cu_2O-Niederschlages bei der Bestimmung mit Maltase und Saccharase ein gelber Niederschlag entstand, welcher zum Teil durch das Asbestfilter lief und vielleicht etwas von dem Cu_2O-Niederschlag mitriß. Jedenfalls fiel der Cu-Wert der Bestimmung nach Maltase- und Saccharasewirkung kleiner aus als nach Saccharasehydrolyse allein, wobei die Cu-

Werte nach Zitronensäurehydrolyse und Saccharasehydrolyse, aus denen und aus dem Cu-Wert unhydrolysiert sich der Rohrzucker errechnet, gut übereinstimmen.

Tabelle XIII

Werte in Milligramm Cu

Vers. Nr.	Datum	nach HCL Hydrolyse	nach Maltase + Saccharase	nach Zitronensäure	nach Saccharase	unhydrolysiert
26	4. 2. 27	57,643	50,804	57,643	54,710	30,287

Bei *Pelargonium peltatum* waren die gefundenen Zuckermengen so klein, daß etwas Bestimmtes daraus nicht entnommen werden konnte. Aus einem Kontrollversuch mit diesem Extrakt in der Weise, daß eine genau abgewogene Menge reine Maltose und Saccharose zugesetzt wurde, ergab sich, daß der zugegebene Zucker nach Enzymhydrolyse voll wiedergefunden wurde. Von den zum Blattextrakt zugesetzten Zuckermengen von 40 mg Maltose und 50 mg Rohrzucker fand ich wieder:

Gesamtzucker . . . . . 92,22 mg
Maltose . . . . . 41,90 mg
Rohrzucker . . . . . 49,47 mg

Auch bei *Allium vineale* waren die gefundenen Werte nach der Bestimmung mit Maltase und Saccharase niedriger als nach Saccharase allein (Tabelle XIV).

Tabelle XIV

Werte in Milligramm Cu

Vers. Nr.	Datum	Frischgewicht g	nach HCL Hydrolyse	nach Maltase + Saccharase	nach Zitronensäure	nach Saccharase	direkte Bestimmung
28	16.2.27	45	113,33	97,7	106,49	104,54	28,33
29	18.2.27	51	134	112	121	119	52

Die Ursache dieses zu kleinen Gesamtwertes nach Enzymhydrolyse konnte sein, daß die zur Maltase zugegebene Menge Saccharase (3 ccm) zur Spaltung des gesamten Rohrzuckers bei der für die Maltase günstigen Wasserstoffionenkonzentration (p_h 6,8) nicht ausreichte. Obgleich der Versuch mit *Pelargonium* (siehe gleiche Seite oben) gegen diese Annahmen sprach, stellte ich mit einem Blattextrakt von *Allium vineale* einen Kontrollversuch an, bei welchem 1. das Reduktionsvermögen ohne Hydrolyse be-

[1]) EULER, Chemie der Enzyme, 1922, 2. Teil, S. 167.

stimmt wurde, 2. nach Hydrolyse mit 4% Zitronensäure, 3. nach dreistündiger Einwirkung von 5 ccm Saccharaselösung ohne Maltasepuffer und schließlich nach dreistündiger Wirkung mit nur 3 ccm Saccharase, aber mit Maltasepuffer. Das Resultat zeigt Tabelle XV.

Tabelle XV

Vers. Nr.	Blatt-extrakt ccm	H_2O ccm	Saccha-rase ccm	Maltase-puffer	Zitronen-säure	Summe der ccm	mg Cu	als Invert-zucker berechnet
30	20	10	—	—	—	30	40	19,8
31	20	5	—	—	5	30	96	50,3
32	20	5	5	—	—	30	93	48,6
33	20	—	5	5	—	30	96	50,3
34	20	2	3	5	—	30	95	49,7

Vergleicht man den Zuwachs nach Zitronensäurehydrolyse und nach Saccharasehydrolyse mit dem Ergebnis der direkten Bestimmung, so ist der Zuwachs bei Versuch 31 und 33 gleich groß, bei Versuch 32 und 34 unbedeutend geringer. Jedenfalls ist klar ersichtlich, daß der Maltasepuffer die Wirkungsweise der Saccharase nicht mehr als hier statthaft beeinträchtigt und daß ferner eine Zugabe von nur 3 ccm statt 5 ccm Saccharaselösung den gefundenen Zuckerwert nicht herabsetzt.

Eine darauf zu dem Extrakt zugesetzte Maltaselösung mit Saccharase ergab nach dreistündiger Einwirkung jedoch wieder einen niedrigeren Wert als Saccharase allein (Tabelle XVI).

Tabelle XVI

Datum: 23. 2. 1927

Vers. Nr.	Blatt-extrakt ccm	H_2O ccm	Saccha-rase ccm	Maltase ccm	Puffer ccm	Salz-säure ccm	mg Cu	als Invert-zucker berechnet
35	20	15	—	—	—	5	106	56,1
36	20	—	5	10	5	—	92	47,9
37	20	2	3	10	5	—	87	45,2
38	20	—	5	10	5	—	89	46,4
39	20	10	5	—	5	—	97	50,9

Noch deutlicher zeigt der folgende Versuch, daß der Zusatz der Maltaselösung die Ursache ist, daß die Cu-Menge kleiner gefunden wird als nach Zusatz von Saccharaselösung allein. Die

Saccharase ließ ich zuerst allein auf den Extrakt drei Stunden wirken. Dann wurde die Hälfte herauspipettiert und analysiert. Zu der zweiten Hälfte wurde Maltaselösung zugesetzt und erst nach weiteren drei Stunden analysiert. Außerdem wurde der Gesamtzucker mit einer gleich großen Extraktmenge nach HCl-Hydrolyse bestimmt.

Im folgenden die gefundenen Werte in mg Cu auf 20 ccm des Extraktes.

Tabelle XVII

Vers. Nr.	Datum	nach HCL Hydrolyse	Zuerst Saccharasehydr. dann Maltasehydr.	nach Zitronensäurehydr.	nach Saccharasehydr.	unhydrolysiert
40	1. 3. 27	141	114	133	132	49

Der zuerst gefundene Wert mit Saccharase allein (132 mg Cu) wurde also nach Zusatz von Maltase auf 114 mg herabgedrückt. Dadurch ist genügend bewiesen, daß in der Maltaselösung Stoffe vorhanden sind, welche die Analyse stören. Etwa um diese Zeit war eine Arbeit von K. Neuberg und E. Simon[1]) erschienen, ferner wurde ich auf eine Arbeit von H. Pringsheim und M. Winter[2]) aufmerksam, in welchen die Frage einer Zucker-Eiweißkondensation erörtert wurde. Darnach dürften die zu niedrig gefundenen Cu-Werte auf Eiweißstoffe in der Maltaselösung zurückzuführen sein, die Cu_2O kolloidal in Lösung gehalten und dadurch der Bestimmung entzogen haben.

Zur Beseitigung dieser Störung versuchte ich folgendes:

1. Ich wollte die Maltase weiter reinigen. Willstätter[3]) gibt eine Methode zur Gewinnung eines größeren Reinheitsgrades an. Sie beruht auf Adsorption des Enzyms an $Al(OH)_3$ und darauffolgende Elution. Ich verlor jedoch dabei soviel an Enzymen, daß mit dem üblichen Volumen nur ein kleiner Teil, 15—20% Maltose,

[1]) Neuberg und Simon, Über Nachweis von Zucker neben Proteinen und die vermeintliche Kondensation von Kohlehydraten mit Eiweiß. Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. 60. 817 (1927).

[2]) Pringsheim und Winter, Die Zucker-Eiweißkondensation, ebenda 60 (1927). 278.

[3]) Willstätter und Bamann, Trennung von Maltase und Saccharase, Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 151, 26, S. 173.

[4]) Willstätter, 8. Mitteilung über Hydrate und Hydrogele, Ber. d. D. Chem. Gesellsch. 58. 2458. (1925.)

hydrolysiert wurde. Ein besonders zur Adsorption für Maltase geeignetes Gel von der Formel $AlOOH$[4], welches durch Erhitzen von $Al(OH)_3$ mit NH_3 auf 250 Grad gewonnen wird, konnte wegen Mangel an entsprechenden Einrichtungen nicht hergestellt werden.

2. Ich versuchte daher festzustellen, ob die Größe des nach Zusatz von Maltase erhaltenen Defizits an Cu nicht zu sehr variierte, oder ob eine Gesetzmäßigkeit vorhanden wäre, welche es ermöglichte, die fehlenden Cu-Mengen bei den Analysenergebnissen in Rechnung zu stellen.

Ich probierte das mit einer Glukoselösung bekannten Gehaltes aus. Es wurde die Glukose zunächst ohne Maltasezusatz dann mit Maltase sofort und nach dreistündiger Einwirkung bestimmt. Das Defizit an Zucker betrug nach drei Stunden etwa soviel wie nach sofortiger Bestimmung mit Maltase (Tabelle XVIII).

Tabelle XVIII

Datum: 2. 3. 1927

Vers. Nr.	Versuchs-dauer	Glukose ccm	H_2O ccm	Maltase ccm	Cu mg	gefundene Glukose mg	Defizit an Zucker mg
41	—	10	10	—	97	50,9	—
42	nach 3 Std.	10	—	10	88	45,9	5,0
43	sofort	10	—	10	87	45,3	5,6

In einem weiteren Versuch mit neu hergestellter Maltaselösung setzte ich die doppelte Menge Maltase zur Glukose, wobei bis auf geringe Abweichung auch das Defizit an errechnetem Zucker das Doppelte betrug. Bei Anwendung der doppelten Glukosemenge ist das Defizit an Zucker nicht größer als bei einfacher Glukosemenge, wenn Maltase zugegen ist.

Tabelle XIX

Datum: 5. 3. 1927

Vers. Nr.	Glukose ccm	H_2O ccm	Maltase ccm	Zitronen-säure ccm	Cu mg	gefundener Zucker mg	Defizit an Zucker mg
44	10	20	—	—	104	55	—
45	10	—	10	—	90	47	8
46	10	—	20	—	76	38,5	16,5
47	10	20	—	—	105	54,6	—
48	10	—	20	—	75	37,8	17,2
49	10	—	10	5	98	51,5	3,5
50	20	—	10	—	181	97,9	7,1

Nimmt man absteigende Glukosemengen bei stets gleich viel zugesetzter Maltase, so ist das Defizit an Zucker stets etwa gleich groß (siehe Tabelle XX).

Tabelle XX

Datum: 6. 3. 1927

Vers. Nr.	Glukose mg	Glukose ccm	H_2O ccm	Maltase ccm	Cu mg	gefundener Zucker mg	Defizit an Zucker mg
51	100	10	10	—	175	98,5	—
52	100	10	—	10	164	91	7,5
53	50	5	5	10	79	41	8,2
54	10	1	10	10	3	1,5	8,3

Während demnach bei Glukose eine gewisse Regel für die in der Maltaselösung festgehaltenen Zuckermengen zu bestehen schien, stellten sich bei Versuchen mit Maltose, wobei diese mit Maltase hydrolysiert wurde, jedoch verschiedene Unregelmäßigkeiten heraus, welche zum Teil so erheblich waren, daß ich ein Weiterarbeiten in dieser Richtung für aussichtslos hielt (siehe Tabelle XXI, XXII und XXIII).

Tabelle XXI

Vers. Nr.	Maltose ccm	H_2O ccm	Maltase ccm	HCl ccm	Puffer ccm	Zeit in Std.	Cu mg	gef. Maltose	Anmerkung
55	10	10	—	—	—	sofort	80	73,3	—
56	10	—	10	—	—	sofort	77	69,3	—
57	10	—	10	—	—	sofort	83	75	Maltase vorh. gekocht, Eiweiß abfilt.
58	10	—	10	—	5	sofort	82	74,2	—
59	10	10	—	5	—	$^1/_2$	146	74	$^1/_2$ Std. Hydrolyse
60	10	—	10	—	5	3	137	68,4	—
61	10	—	10	—	5	6	141	72,9	—
62	5	—	10	—	5	3	75	36,6	verdoppelt gibt 73,2
63	5	—	10	—	5	6	73	35,6	verdoppelt gibt 71,2

Tabelle XXII

Datum: 12. 3. 1927

Vers. Nr.	Maltose ccm	H_2O ccm	Maltase ccm	HCl ccm	Puffer ccm	Zeit in Std.	Cu mg	Zucker als Maltose	Bemerkungen
64	10	30	—	—	—	—	82	75,1	—
65	10	15	10	—	5	3	140	72,4	—
66	10	—	10	5	—	1/2	144	74,8	—
67	10	10	10	5	—	1/2	142	73,6	Maltase nach Hydrolyse zugegeben

Tabelle XXIII

Vers. Nr.	Maltose ccm	H_2O ccm	Maltose ccm	HCl ccm	Puffer ccm	Zeit in Std.	Cu mg	Zucker als Maltose	Bemerkungen
68	10	10	—	—	—	—	83	76,1	Verlust an Zucker
69	10	10	10	—	5	3	132,1	67,8	8,3
70	10	—	20	—	5	3	122,7	62,5	13,6
71	10	10	—	5		3/4	148,5	77,3	—
72	10	10	—	5	—	3/4	147	76,6	—
73	10	—	10	—	5	6	139	70,9	5,2
74	10	—	10	—	5	6	143	73,1	3,0

3. Ich versuchte daher durch Änderung der Zuckerbestimmungsmethode die Schwierigkeit zu umgehen. Nach der Jodmethode von AUERBACH und BODLÄNDER[1]) ist eine genaue Bestimmung von Aldehydzucker neben Fruktose und Rohrzucker möglich. Die Reaktion wird durch folgende Formel ausgedrückt:

$$CH_2(OH) \cdot (CHOH)_4 \cdot CHO + J_2 + 3\,NaOH = CH_2(OH) \cdot (CHOH)_4 \cdot COONa + 2\,NaJ + 2\,H_2O.$$

Das Volumen bei der Oxydierung des Zuckers betrug gemäß AUERBACH und BODLÄNDERS Rat für 0—100 mg Zucker 150 ccm, die Jodmenge mindestens die zweifache der erforderlichen. Für 0—100 mg Zucker war je $2{,}5 \cdot 10^{-2}$ Mol $'HCO_3$ und $''CO_3$ zugegeben, ferner war eine Laugenmenge zugefügt, die stöchiometrisch erforderlich ist, um die von der Saccharasebehandlung

[1]) AUERBACH und BODLÄNDER, Zeitschrift für angewandte Chemie, Bd. 36, 1923, S. 602.

her evtl. gegenwärtige Essigsäure in Azetat überzuführen und das von der Maltasebehandlung her evtl. vorhandene $'H_2PO_4$ in $''PHO_4$ und das von der Maltase und Saccharasebehandlung her gegenwärtige NH_4 in NH_4OH überzuführen.

Bei der Zugabe von Phosphatpuffer zur Maltase wurde berücksichtigt, daß die Maltase $''HPO_4$ enthielt.

Die Blindwerte der Maltase- und Saccharaselösungen waren ziemlich groß und mußten vor jeder Analyse neu bestimmt werden. Kontrollversuche mit genau abgewogenen Mengen reinen Zuckers ergaben Resultate, die um ± 4% der abgewogenen Mengen schwankten.

Die Zucker in den Blattextrakten wurden auf drei Arten zugleich bestimmt.

1. Mit der BERTRAND-Methode nach Säurehydrolyse.
2. Mit der Jodmethode nach Säurehydrolyse.
3. Mit der Jodmethode nach Saccharase- und Maltasehydrolyse.

Für sämtliche Bestimmungen wurden 20 ccm des gereinigten Extraktes genommen.

I. Phaseolus vulgaris

Die Blätter ließ ich vor dem Analysieren welken, da besonders bei solchen die Maltosewerte zu hoch gefunden worden waren. Zu den Tabellenwerten sei folgendes bemerkt: Um den tatsächlichen Wert für Rohrzucker, wie er in den Tabellen verzeichnet ist, zu erhalten, mußte nach der Jodmethode der gefundene Wert des durch Saccharase- oder Zitronensäurehydrolyse entstandenen Glukosewertes verdoppelt und mit 0,95 multipliziert werden. Für die richtige Darstellung des Gesamtzuckers mußte ebenfalls die aus Rohrzucker entstandene Fruktose hinzugeschlagen werden.

Tabelle XXIV

Zucker in Milligramm pro 1 g Frischsubstanz

Datum: 1. 6. 1927

Vers. Nr.	Methode	Hydrolisierungsmittel	Gesamtzucker	Maltose	Hexosen	Rohrzucker
75	Bertrand	Säure	11,53	(5,69)	(— 1,51)	6,70
75a	Jod	Säure	13,03	(5,36)	(— 0,64)	8,47
75b	Jod	Enzym	11,21	(3,82)	(+ 0,11)	7,45

Tabelle XXV

Zucker in Milligramm pro 1 g Frischsubstanz

Datum: 15. 6. 1927

Vers. Nr.	Methode	Hydrolysierungs-mittel	Gesamt-zucker	Maltose	Hexosen	Rohr-zucker
76	Bertrand	Säure	16,06	(9,53)	(— 1,56)	7,2
76a	Jod	Säure	13,63	(6,85)	(0,62)	5,8
76b	Jod	Enzym	11,37	(3,41)	(2,43)	5,3

Tabelle XXVI

Datum: 22. 6. 1927

Vers. Nr.	Methode	Hydrolysierungs-mittel	Gesamt-zucker	Maltose	Hexosen	Rohr-zucker
77	Bertrand	Säure	16,68	(8,07)	(— 2,88)	8,95
77a	Jod	Säure	18,72	(8,37)	(— 1,76)	11,42
77b	Jod	Enzym	13,01	(3,08)	(0,95)	8,63

Tabelle XXIVa

Cu- bzw. J-Werte in 20 ccm des Extraktes umgerechnet in Glukose

Anmerkung: Die in Klammern angeführten Zahlen sind die gefundenen Aldehydzucker, bei den Zahlen ohne Klammern ist die Fruktose hinzuaddiert

Methode	Hydrolysierungs-mittel	nach HCL Hydrolyse	nach Zitronensäure-hydrolyse	nach Maltase + Saccharase	nach Saccharase	unhydrolysiert
Bertrand	Säure	41,63	31,17			6,62
Jod	Säure	47,86	38,20			7,44
		(32,48)	(22,82)			
Jod	Enzym			40,41	34,22	7,44
				(27,02)	(20,83)	

Tabelle XXVa

Methode	Hydrolysierungs-mittel	nach HCL Hydrolyse	nach Zitronensäure-hydrolyse	nach Maltase u. Saccharase	nach Saccharase	unhydrolysiert
Bertrand	Säure	110,25	80,89			26,15
Jod	Säure	92,75	68,25			28,75
		(73,0)	(48,5)			
Jod	Enzym			77,5	65,25	28,75
				(59,25)	(47,0)	

Tabelle XXVIa

Methode	Hydrolysierungsmittel	nach HCL Hydrolyse	nach Zitronensäurehydrolyse	nach Maltase u. Saccharase	nach Saccharase	unhydrolysiert
Bertrand	Säure	112,6	88,77			10
Jod	Säure	125,98	97,71			16,37
		(85,31)	(57,04)			
Jod	Enzym			87,79	77,87	16,37
				(57,04)	(47,12)	

Werden die Werte der bei der Analyse des unhydrolysierten Extraktes umgesetzten J- bzw. Cu^{II}-Mengen, unter der Annahme, daß dieser Umsatz nur von Hexose herrühre, auf Hexose umgerechnet, so ergibt sich bei der Jod-Methode ein größerer Hexosenwert als bei der Cu^{II}-Methode. In reiner Aldosenlösung würden sich mit den beiden Methoden gleiche Werte ergeben; sind auch Ketosen in der Lösung, mit der Jod-Methode sogar ein kleinerer Wert als mit der Cu^{II}-Methode. Jene Erscheinung beim Blattextrakt kann auf folgende zwei Weisen erklärt werden:

1. Es ist eine unbekannte Substanz zugegen, die wie Aldosen ebenfalls Jod und vielleicht auch Cu^{II} umsetzt. Wäre der Wert des Verhältnisses (Menge des J bzw. Cu, das von dem vorliegenden Zucker umgesetzt wird zu Menge des vorliegenden Zuckers) unabhängig von der Konzentration des vorliegenden Zuckers und der vorliegenden unbekannten Substanz, so könnte man für die unbekannte Substanz folgende Eigenschaft behaupten: $a > b$.

a = Hexosemenge äquivalent der Menge Jod, die von der unbekannten Substanz unter den betreffenden Bedingungen umgesetzt ist.

b = Hexosemenge äquivalent der Menge Cu^{II}, die von der unbekannten Substanz (gleiche Menge wie bei a) umgesetzt ist unter den betreffenden Bedingungen.

2. Die in der von Bertrand bzw. Auerbach und Bodländer vorgeschriebenen Zeit umgesetzte Menge Cu^{II} bzw. J variiert mit den Reaktionsbedingungen, z. B. mit der Konzentration der Hydroxylionen bzw. Wasserstoffionen; in dem Blattextrakt können unbekannte Substanzen zugegen sein oder bei der Zuckerbestimmung entstehen, die gerade wie das Hydroxylion bzw. die Wasserstoffionen die Eigenschaft haben, daß mit ihrer Konzentration die Menge des nach der vorgeschriebenen Zeit umgesetzten Cu^{II} bzw. J variiert.

Der Jod-Umsatz durch die unbekannte Substanz, der bei dem zwecks Titrationen vorgenommenen Ansäuern wieder rückgängig wird, hat natürlich auf das Resultat keinen Einfluß. Der nach dem Ansäuern stattfindende Jod-Umsatz vernichtet die Richtigkeit des Resultats natürlich gerade so, wie der vor dem Ansäuern durch die unbekannte Substanz stattfindende Jod-Umsatz. Ich fand, daß in 20 ccm vom angesäuerten Extrakt innerhalb von 20 Minuten ein Umsatz stattfand, äquivalent höchstens 0,5 mg Glukose. Durch diese Feststellung ist immerhin recht glaubhaft geworden, daß bei den Bestimmungen nach dem Ansäuern kein Jod-Umsatz mehr stattfindet, jedoch nicht gesichert, denn ein Extrakt, wie er bei jener Feststellung verwendet wurde, der noch nicht mit Jod versetzt bei alkalischer Reaktion gestanden hat, ist nicht identisch mit einem Extrakt, der schon mit Jod versetzt bei alkalischer Reaktion gestanden hat.

Wenn man versucht, aus den Kupferumsatzwerten die Hexosemenge zu errechnen, gelangt man in allen drei Fällen (Tabelle 24, 25, 26) zu einem negativen Wert.

Aber auch wenn man versucht, aus den Jodumsatzwerten bei Säurehydrolyse die Hexosemenge zu errechnen, gelangt man in zwei Fällen (Tabelle 24a und 26a) zu einem negativen Wert. Letztere Tatsache bestärkt die Ansicht, daß die Erscheinung verursacht ist nicht durch abnorme Reaktionsweise der Glukose, Fruktose und Maltose beim Analysengang, sondern durch Gegenwart einer unbekannten Substanz von der früher beschriebenen Eigenschaft.

Verwendet man jedoch statt der nach Hydrolysierung mit Säure erhaltenen Jodumsatzwerte die nach Hydrolysierung mit Enzymen erhaltenen Jodumsatzwerte zur Berechnung, so errechnen sich in allen drei Fällen die Maltosewerte niedriger, die Hexosenwerte positiv.

Nach Behandlung mit Zitronensäure wird meistens etwa ebensoviel Jod umgesetzt, als nach Behandlung mit Saccharase, nach Behandlung mit HCl jedoch stets bedeutend mehr als nach Behandlung mit Maltase + Saccharase. Es muß also vielleicht neben Maltose eine unbekannte Substanz zugegen sein von folgender Eigenschaft: $a > b$.

a = Jod-Menge, die von der unbekannten Substanz unter den eingehaltenen Bedingungen umgesetzt wird nach Behandlung mit HCl.

b = Jod-Menge, die von der gleichen Menge unbekannter Substanz wie bei a unter den eingehaltenen Bedingungen umgesetzt wird nach Behandlung mit Maltase + Saccharase.

Während früher dargetan wurde, daß eine Substanz gegenwärtig ist, die sich von Maltose unterscheidet durch einen niederen Wert (nämlich „nach HCl-Hydrolyse : vor Hydrolyse"), wissen wir jetzt auch noch, daß eine Substanz gegenwärtig ist (vielleicht dieselbe), die sich von Maltose dadurch unterscheidet, daß der Wert („nach HCl-Hydrolyse" : „vor Hydrolyse") anders ist, als („nach Maltasehydrolyse" : „vor Hydrolyse").

Der Einwand, daß evtl. die Enzyme den Zucker nicht vollständig gespalten hätten, ist widerlegt durch den Kontrollversuch mit *Pelargonium* (S. 361), wobei der zugesetzte Zucker ganz wiedergefunden wurde.

Auch die Möglichkeit, daß die dem Extrakt zugesetzte Enzymmenge nicht ausgereicht habe, um noch vorhandene unbekannte Stoffe umzusetzen, fällt weg durch das Resultat eines Kontrollversuches mit demselben Extrakt von Versuch 77 unter Zusatz einer um ein Drittel größeren Enzymmenge, wodurch das erste Resultat nicht geändert wurde.

Tropaeolum majus

Die Blätter wurden nicht angewelkt analysiert. Die Ergebnisse finden sich in der Tabelle XXVII.

Tabelle XXVII

Zucker in Milligramm pro 1 g Frischsubstanz

Datum: 29. 6. 1927

Vers. Nr.	Art der Methode	Hydrolysierungsmittel	Gesamtzucker	Maltose	Hexosen	Rohrzucker
78	Bertrand	Säure	13,50	0,67	6,76	5,77
78a	Jod	Säure	15,36	1,09	6,76	7,17

Die Enzymmethode hat hier völlig versagt. Es wurden nach Enzymhydrolyse die gleichen Werte gefunden wie bei Bestimmung ohne Hydrolyse. Zunächst lag der Gedanke nahe, daß irgendwelche im Extrakt vorhandene Stoffe die Enzymtätigkeit hemmen. Maltase ist besonders empfindlich, Saccharase weniger. Die Saccharase wirkte in reiner Rohrzuckerlösung vollauf befriedigend. Dagegen zeigte ein neuer Versuch mit *Tropaeolum*extrakt, wobei nur der Rohrzucker bestimmt wurde, daß zwar nach der Methode

Bertrand und der Jodmethode nach Zitronensäurehydrolyse fast übereinstimmende Werte gefunden wurden, dagegen nach Saccharasehydrolyse nur ca. 7% der nach Säurehydrolyse gefundenen Menge. Die Rohrzuckermengen in 20 ccm Extrakt waren

nach Bertrand	43,8 mg Rohrzucker		Säurehydrolyse
„ Jod	44,7 mg	„	„
„ Jod Saccharase	2,97 mg	„	Enzym

Jetzt setzte ich zum Extrakt eine abgewogene Menge Rohrzucker (50 mg) und bestimmte wieder. Nach Zitronensäurehydrolyse — mit Jod bestimmt — erhielt ich von dem zugesetzten Zucker 47,3 mg oder 94,6% zurück, nach Saccharase 25,3 mg, also nur etwas über die Hälfte. Dann bestimmte ich jedoch die gleiche Menge Rohrzucker nach Saccharasewirkung mit der Methode Bertand und fand 46,5 mg oder 93%. Folglich ist die Tätigkeit des Enzyms im Extrakt nicht beeinträchtigt gewesen, sondern irgendwelche Einwirkungen bei der Jodmethode müssen das Resultat entstellt haben.

III. Abschnitt

Systematische Versuche über den Kohlehydratstoffwechsel im Laubblatt, mit besonderer Berücksichtigung der Temperatureinwirkung, sind bis jetzt nur vereinzelt angestellt worden.

Müller-Thurgau[1]) z. B. hat die Ursachen des Süßwerdens von Kartoffeln bei niederer Temperatur näher untersucht. Auch berichtet er über einen Versuch mit Rebenblättern bei 0 Grad, wobei eine Zunahme des Gesamtzuckers festgestellt wurde, die sich ausschließlich auf Disaccharide erstreckte. Czapek[2]) und Lidfors[3]) untersuchten den Kohlehydratstoffwechsel der Blätter im Winter. Letzterer studierte besonders den Zusammenhang zwischen Spaltöffnungsschluß, Temperatur und Stärkebildung. Genaue Versuche hat in neuester Zeit Tollenaar[4]) in dieser Richtung mit Blättern von *Nicotiana tabacum* unternommen.

---

[1]) Müller-Thurgau, Über Zuckeranhäufung in Pflanzenteilen infolge niederer Temperatur. Ldw. Jahrb. Bd. 11. 1882. S. 787.

[2]) Czapek, Der Kohlenhydratstoffwechsel der Laubblätter im Winter. Ber. d. Dt. Bot. Ges. Bd. 19. 1901. S. 120.

[3]) Lidfors, Zur Physiologie u. Biologie der wintergrünen Flora. Bot. Centralblatt 68. 1896. S. 33.

[4]) Tollenaar, Omzettingen van Koolhydraten in het blad van Nicotiana tabacum. L. 1925. S. 129.

Meine Untersuchungen erstreckten sich ausschließlich auf abgeschnittene Blätter von *Tropaeolum*, die sowohl feucht als auch trocken gehalten nach verschieden langer Verdunkelung und bei Temperaturen von 20, 10 und 0 Grad analysiert wurden.

Methodisches

Die Verarbeitung des Blattmateriales und die Zuckerbestimmungen wurden bis auf eine kleine Änderung nach der im ersten Abschnitt angegebenen Methode ausgeführt. Die Änderung bestand darin, daß zur Berücksichtigung der bei der Reinigung des Extraktes mit Bleiessig verbliebenen Azetationen der Extrakt bis zum Umschlag von Methylorange mit HCl versetzt und dann erst Zitronensäure zugegeben wurde. Versuche mit einer Phosphorsäuremischung von entsprechender Wasserstoffionen-Konzentration ergab das gleiche Resultat wie nach Zitronensäurehydrolyse. Letztere ist jedoch bei der Bertrand-Methode vorzuziehen, da nach der Hydrolyse mit Phosphorsäure ein Niederschlag entsteht, welcher das Abfiltrieren des Cu_2O-Niederschlages erschwert.

I. Blätter dunkel und feucht gehalten

Versuch 1

Die Blätter waren am 7. 7. 1927 bis 19.30 Uhr geerntet und wurden in zwei gleiche Portionen geteilt. Dann wurden die Blätter halbiert. Jede der so entstandenen vier Portionen wurde frisch gewogen. Dann wurde

Portion 1	gleiche Blatthälften	sofort analysiert
Portion 2		nach 12 Stunden bei 22 Grad dunkel feucht
Portion 3	gleiche Blatthälften	nach 12 Stunden bei 22 Grad dunkel feucht
Portion 4		nach 10 Stunden bei 10 Grad dunkel feucht

Die bei 22 Grad gehaltenen Blatthälften befanden sich in Tonschalen, die mit feuchtem Filtrierpapier ausgelegt und mit einer Glasplatte überdeckt waren. Die bei 10 Grad gehaltenen Hälften dagegen befanden sich im elektrischen Kühlschrank. Stärkebestimmungen unterließ ich vorläufig. Die Resultate zeigt die Tabelle XXVIII.

Der Gesamtzucker hat nach 12 Stunden Verdunkelung bei allen Portionen zugenommen. Diese Zunahme beschränkt sich auf die Hexosen. Die Rohrzuckerwerte dagegen haben sich kaum geändert. Die geringe Rohrzuckerzunahme bei Portion 4 ist evtl. auf die niedere Temperatur zurückzuführen.

Tabelle XXVIII

Zucker in Milligramm pro 1 g Frischsubstanz

Datum: 7. 7. 1927

Portion	Gesamtzucker	Maltose	Hexosen	Rohrzucker	H_2O-Verlust %	Versuchsdauer Std.	Temperatur
1	16,60	1,19	5,62	9,30	sofort analysiert		
2	24,98	0,99	15,00	8,54	0	12	22
3	26,36	1,70	14,51	9,88	0	12	22
4	23,64	1,46	11,47	10,17	0	12	10

Versuch 2

In diesem Versuch wurde die Temperatur weiter herabgesetzt.

Portion 1[1]) wurde sofort analysiert
Portion 2 } gleiche Blatthälften bei 7—10 Grad 14 Stunden feucht dunkel
Portion 3 } bei 2— 4 Grad 14 Stunden feucht dunkel

Die Ergebnisse gehen aus Tabelle XXIX hervor.

Tabelle XXIX

Zucker in Milligramm pro 1 g Frischsubstanz

Datum: 26. 7. 1927

Portion	Gesamtzucker	Maltose	Hexosen	Rohrzucker	H_2O-Verlust %	Versuchsdauer Std.	Temperatur
1	19,09	1,66	6,00	10,86	sofort analysiert		
2	25,34	1,73	10,59	12,37	0	14	7—10
3	22,22	0,78	10,23	10,64	0	14	2—4

Die Unterschiede zwischen den Zuckerwerten bei 7—10 Grad und 2—4 Grad waren geringfügig. Im allgemeinen stimmen die Resultate mit denen des Versuchs 1 überein.

Bei sämtlichen Versuchen, auch den folgenden, wurden für die Maltose stets nur sehr kleine Werte gefunden, die keine Gesetzmäßigkeit erkennen ließen.

Versuch 3

Die Temperatur wurde noch weiter gesenkt, nämlich auf 0 Grad. Wegen der Schwierigkeit, eine größere Zahl Blätter in Schalen

[1]) Bei Portion 1 wurden ganze Blätter analysiert.

ausgebreitet auf 0 Grad zu halten, habe ich die Blatthälften in eine Stöpselflasche locker geschichtet eingeschlossen und diese über 46 Stunden in Eis gepackt.

Die Kontrollhälften wurden ebenfalls in eine solche Flasche eingeschlossen und bei 22 Grad 46 Stunden lang gehalten.

Dieser Versuch brachte etwas ganz Neues (Tabelle XXX). Bei 0 Grad ist nämlich die Zunahme des Gesamtzuckerwertes fast nur auf Rohrzucker zurückzuführen, während bei 22 Grad diese Zunahme durch die Hexosen bedingt war. In diesem Versuch haben die Hexosen aber kaum zugenommen. Der bei 0 Grad entstandene Zucker ist demnach fast nur Rohrzucker.

Die Stärkebestimmung ergab, daß der Stärkeabbau bei 0 Grad langsamer vor sich geht als bei 22 Grad.

Tabelle XXX

Zucker in Milligramm pro 1 g Frischsubstanz

Datum: 9. 8. 1927

Portion	Gesamtzucker	Maltose	Hexosen	Rohrzucker	Stärke	H_2O-Verlust %	Versuchsdauer Std.	Temperatur
1	22,27	1,27	6,31	14,07	14,84	sofort analysiert		
2	30,15	1,27	19,56	8,76	0	0	46	22
3	32,93	1,00	9,54	21,27	6,68	Zuwachs + 0,2	46	0

Versuch 4

Eine Bestätigung dieser Ergebnisse brachte ein weiterer Versuch, in welchem ich die Anordnung in umgekehrter Reihenfolge wählte. Die Blatthälften gleicher Blätter wurden wieder in Gläser mit Glasstöpsel gebracht und zunächst 24 Stunden in Eis gepackt. Nach dieser Zeit wurde die erste Portion gleich analysiert, die zweite Portion dagegen bei 21 Grad weitere 20 Stunden stehen gelassen. Die gefundenen Werte von Portion 1 (0 Grad) brachte eine fast völlige Übereinstimmung der Resultate mit den im vorigen Versuch entsprechend behandelten Blatthälften. Ebenso hat die nachträgliche Temperaturerhöhung bewirkt, daß wie bei den im vorigen Versuch bei 22 Grad analysierten Blatthälften die Hexosen zugenommen und der Rohrzucker abgenommen hatte. Daraus ergibt sich, daß die bei 0 Grad hervorgerufene Umwand-

lung von Hexosen in Rohrzucker nach Wiedererhöhung der Temperatur reversibel ist (siehe Tabelle XXXI).

Tabelle XXXI

Zucker in Milligramm pro 1 g Frischsubstanz

Datum: 15. 8. 1927

Portion	Gesamtzucker	Maltose	Hexosen	Rohrzucker	Stärke	H_2O-Verlust %	Versuchsdauer Std.	Temperatur
1	25,06	0,65	8,24	15,36	11,61	sofort analysiert		
2	32,88	0	8,57	23,09	6,81	Zuwachs + 1,8	24	0
3	32,85	1,18	20,99	10,15	2,72	Zuwachs + 3,3	44 (24 + 20)	0 21

Meine Versuche stimmen mit denen von Müller-Thurgau und Tollenaar darin überein, daß bei niederer Temperatur die Stärke nicht so energisch abgebaut wird, wie bei höherer Temperatur. Die Zunahme des Gesamtzuckers bei 0 Grad ist auf Rohrzucker zurückzuführen, wie Müller-Thurgau für die Kartoffel bei niederer Temperatur bewiesen hat. Die Versuche von Tollenaar mit Tabakblättern bei 1,5 Grad erstrecken sich zwar auf eine längere Versuchsdauer (vier Tage und mehr), doch war bei dieser Temperatur noch eine größere Zunahme der Hexosen als des Rohrzuckers festgestellt worden. Leider wurden diese Versuche nicht bei 0 Grad wiederholt.

II. Blätter trocken und dunkel gehalten

Versuch 5 und 6

Die Versuchsanordnung war dieselbe wie bei den feuchtgehaltenen Blättern. Nur wurden in die mit trockenem Filtrierpapier ausgelegten Schalen noch Gefäße mit Chlorkalzium aufgestellt, um den aus den Blättern entweichenden Wasserdampf zu absorbieren. Ich ließ zunächst die bei 21 Grad ausgelegten Blätter zwölf Stunden bis zur Analysierung in den Schalen. Dann wurde der H_2O-Verlust festgestellt, ausgedrückt in Prozenten des Frischgewichts. Die im Kühlschrank bei 8—10 Grad befindlichen Blatthälften ließ ich so lange darin, bis der Wasserverlust mit denen bei 21 Grad gehaltenen etwa übereinstimmte, was stets einige Stunden länger dauerte.

Beide Versuche stimmen darin überein (Tabelle XXXII und XXXIII), daß nach 12 bzw. 17 Stunden der Gesamtzuckerwert gestiegen war. Die Zunahme erstreckte sich sowohl auf Hexosen wie Rohrzucker, doch betrug diese bei beiden Zuckerarten in niederer Temperatur nicht so viel wie in höherer.

Tabelle XXXII

Zucker in Milligramm pro 1 g Frischsubstanz

Datum: 11. 7. 1927

Portion	Gesamtzucker	Maltose	Hexosen	Rohrzucker	H_2O-Verlust %	Versuchsdauer Std.	Temperatur
1	19,41	1,71	5,99	11,15	sofort analysiert		
2	38,89	1,86	18,26	18,30	20,5	12	21
3	42,22	1,63	20,36	19,22	19,0	12	21
4	31,13	0,27	15,35	14,73	19,8	17	8—10

Tabelle XXXIII

Zucker in Milligramm pro 1 g Frischsubstanz

Datum: 18. 7. 1927

Portion	Gesamtzucker	Maltose	Hexosen	Rohrzucker	H_2O-Verlust %	Versuchsdauer Std.	Temperatur
1	24,19	0,89	9,16	14,28	sofort analysiert		
2	43,95	0,69	21,57	20,62	22,6	12	20
3	45,16	0,60	22,01	24,47	22,9	12	20
4	35,95	0,47	16,70	17,36	20,5	$18^1/_2$	7—10

Versuch 7

In diesem Versuch wurde die Zeitdauer auf 48 Stunden ausgedehnt. Bei den bei 10 Grad gehaltenen Blatthälften dauerte es 96 Stunden, bis ein Wasserverlust von 67% erreicht war (Tabelle XXXIV).

Ergebnis: Nach längerer Versuchsdauer bzw. größerem Wasserverlust steigt der Rohrzucker weiter, während die Werte für Hexosen abnehmen. Dasselbe ergibt sich auch bei niederer Temperatur. Doch ist auch hier wie im letzten Versuch die Zunahme nicht so groß.

Tabelle XXXIV
Zucker in Milligramm pro 1 g Frischsubstanz
Datum: 21. 7. 1927

Portion	Gesamtzucker	Maltose	Hexosen	Rohrzucker	H_2O-Verlust %	Versuchsdauer Std.	Temperatur
1	22,17	1,52	7,28	12,70	sofort analysiert		
2	44,27	1,88	6,11	34,47	67,5	48	20
3	36,00	1,68	6,11	26,80	66,2	96	10

Versuch 8

Jetzt ließ ich die Blätter so lange bei 20 Grad trocknen, bis die Lamina ganz dürr waren. Ich wollte dadurch feststellen, ob die im letzten Versuch gefundene Abnahme der Hexosen nach 67% Wasserverlust jetzt noch größer würde. Das war auch tatsächlich der Fall, wie aus Tabelle 35 zu ersehen ist. Stärke wurde nach 70 Stunden nicht mehr gefunden.

Tabelle XXXV
Zucker in Milligramm pro 1 g Frischsubstanz
Datum: 27. 7. 1927

Portion	Gesamtzucker	Maltose	Hexosen	Rohrzucker	Stärke	H_2O-Verlust %	Versuchsdauer Std.	Temperatur
1	21,11	3,24	6,84	9,89	8,32	sofort analysiert		
2	33,73	0,66	2,01	29,51	0	77,9	70	22

Versuch 9

In welchem Zusammenhang die anfängliche Zunahme und spätere Abnahme der Hexosen im welkenden Blatt mit der vorhandenen Stärkemenge steht, stellte ich in diesem Versuche fest. Zu diesem Zweck habe ich zu gleicher Zeit geerntete Blätter verschieden lang dunkel und trocken lagernd bei 21 Grad aufbewahrt. Die Stärkemengen stellte ich dieses Mal qualitativ durch die Jodprobe fest. Das Resultat zeigt Tabelle XXXVI.

Nach den ersten zwölf Stunden nimmt der Wert sowohl für Hexosen als auch für Rohrzucker zu. Stärke ist noch ziemlich viel vorhanden. Diese Zunahme geht weiter und findet sich auch

nach 19 Stunden bei einem Wasserverlust von 27,4%. Eine erhebliche Abnahme der Hexosenmengen fand ich nach 25 Stunden, während der Rohrzucker weiter zunahm. Stärke war hier kaum noch vorhanden. Die Abnahme der Hexosen ging weiter. Nach 37 Stunden Versuchsdauer fand ich keine Stärke mehr. Der Rohrzucker hatte nach 37 Stunden auch abgenommen. Demnach scheint die Hexosemenge abzunehmen, wenn etwa die im Blatt vorhandene Stärke verschwunden ist.

Tabelle XXXVI

Zucker in Milligramm pro 1 g Frischsubstanz

Datum: 6. 8. 1927

Portion	Gesamtzucker	Maltose	Hexosen	Rohrzucker	Stärke	H_2O-Verlust %	Versuchsdauer Std.	Temperatur
1	23,05	1,67	8,15	12,57	zieml. viel	sofort analysiert		
2	32,98	0	18,17	14,07	weniger	16,8	12	21
3	37,14	1,27	19,16	15,97	noch weniger	27,4	19	21
4	31,36	0,94	9,71	19,67	kaum	49,6	25	21
5	25,19	2,10	5,68	16,54	keine	59,1	37	21

Versuch 10

Es soll hier noch über einen Versuch berichtet werden, in dem die Blätter bei 35 Grad getrocknet wurden. Ein Wasserverlust von 70,2% war hier schon nach 14 Stunden erreicht. Das Ergebnis ist ähnlich wie in Versuch 9 nach 37 Stunden bei 21 Grad. Die Stärke ist schon abgebaut, die Hexosen zeigen Abnahme, der Rohrzucker hat stark zugenommen. Nach 26 Stunden nahmen Rohrzucker und Hexosen ab (siehe Tabelle XXXVII).

Tabelle XXXVII

Zucker in Milligramm pro 1 g Frischsubstanz

Datum: 1. 8. 1927

Portion	Gesamtzucker	Maltose	Hexosen	Rohrzucker	Stärke	H_2O-Verlust %	Versuchsdauer Std.	Temperatur
1	25,28	0,61	9,22	14,68	9,65	sofort analysiert		
2	45,06	1,16	7,15	34,91	0	70,2	14	35
3	38,06	0	6,57	29,92	0	79,5	26	35

Versuch 11

In einem letzten Versuch wollte ich noch feststellen, was geschieht, wenn angewelkte Blatthälften nach Verhinderung weiteren Wasserverlustes noch einige Zeit liegen bleiben. Dazu ließ ich halbierte Blätter in Schalen welken, bis ein Wasserverlust von 35% erreicht war. Dies war nach 14 Stunden bei 21 Grad der Fall. Dann wurden die ersten Hälften analysiert, die zweiten dagegen in eine Stöpselflasche gebracht und weitere 24 Stunden darin gelassen. Der Wasserverlust hatte nach dieser Zeit nur um 3,5% zugenommen. Dann wurden auch die zweiten Hälften analysiert (siehe Tabelle XXXVIII).

Tabelle XXXVIII

Zucker in Milligramm pro 1 g Frischsubstanz

Datum: 2. 8. 1927

Portion	Gesamtzucker	Maltose	Hexosen	Rohrzucker	Stärke	H_2O-Verlust %	Versuchsdauer Std.	Temperatur
1	20,32	0,72	7,44	11,55	10,18	sofort analysiert		
2	35,30	0,34	17,04	17,02	0	35	14	21
3	30,02	0,74	14,35	14,18	0	38,4	38	21

Aus den Zahlen geht hervor, daß Hexosen und Rohrzucker gleichmäßig abgenommen haben, was auf Veratmung zurückzuführen ist. Stärke war schon nach 14 Stunden nicht mehr vorhanden.

Die mit welkenden Blättern ausgeführten Versuche stimmen mit ähnlichen von Schroeder und Horn[1]), Ahrns[2]), Tollenaar[3]) darin überein, daß ein großer Teil der abgebauten Stärke als Rohrzucker in Erscheinung tritt.

Dasselbe hat Watermann[4]) bei Kartoffeln beobachtet.

---

[1]) Schroeder u. Horn, Das gegenseitige Mengenverhältnis der Kohlenhydrate im Laubblatt in seiner Abhängigkeit vom Wassergehalt. Biochem. Zeitschrift, Bd. 130, 1922.

[2]) Ahrns, Weitere Untersuchungen über die Abhängigkeit des gegenseitigen Mengenverhältnisses der Kohlenhydrate im Laubblatt vom Wassergehalt. Mez, Arch. Bd. 5, 1924.

[3]) Tollenaar, Omzettingen van Koolhydraten in het Blad Nicotiana Tabacum L. 1925.

[4]) Waterman, Omzettingen in Aardappelen tijdens het drogen III. Chem. Weekblad, 1915.

Der Vergleich dieser Versuche mit den bei 0 Grad ausgeführten zeigt — sowohl bei Blättern als auch bei Kartoffeln —, daß Trockenheit eine ähnliche Wirkung auf den Kohlehydratstoffwechsel ausübt wie niedere Temperatur.

Über die Umwandlung von Stärke in Zucker beim Trocknen von Kartoffeln in verschiedenen Temperaturen hat C. DE WOLF[1]) ausführlich berichtet. Demnach entsteht beim Abbau von Stärke vorwiegend Rohrzucker.

Auf welchem Wege der Abbau der Stärke zu Rohrzucker erfolgt, ob der Rohrzucker direkt aus Stärke entsteht, oder ob diese zuerst zu Glukose abgebaut und sekundär zu Rohrzucker synthetisiert wird, darüber lassen sich heute nur Vermutungen anstellen. Vom chemischen Standpunkt aus dürfte die zweite Annahme die wahrscheinlichere sein.

Zusammenfassung

I. Abschnitt. Bei Belichtung von Blättern von *Pelargonium peltatum*, *Tropaeolum majus* und *Phaseolus vulgaris* nimmt der Rohrzuckergehalt zu, auch bei konstantem Wassergehalt und normaler Temperatur. Bestimmte Schlüsse auf den bei beginnender Assimilation zuerst gebildeten Zucker konnten aus den Resultaten nicht gezogen werden.

II. Abschnitt. Die nach Saccharasehydrolyse erhaltenen Rohrzuckerwerte stimmten in den meisten Fällen mit den nach Säurehydrolyse erhaltenen überein.

In den Blättern von *Phaseolus* scheint sich jedoch ein unbekanntes Saccharid zu befinden, das nach Säurehydrolyse reduzierend wirkt, oder dessen Reduktionsvermögen bei Hydrolyse stärker zunimmt als das der Maltose.

III. Abschnitt. Werden *Tropaeolum*blätter feucht und dunkel gehalten, so erfolgt sowohl bei 21 Grad wie bei 0 Grad eine Zunahme des Gesamtzuckers. Bei 21 Grad ist diese Zunahme auf Hexosen zurückzuführen, dagegen wird bei 0 Grad Rohrzucker gebildet. Läßt man die Blätter welken, so nehmen anfangs Rohrzucker und Hexosen zu, bei größerem Wasserverlust nimmt der Rohrzucker weiter zu, die Hexosen jedoch ab. Diese Abnahme der Hexosen beginnt anscheinend, wenn die im Blatt vorhandene Stärke abgebaut ist.

[1]) C. DE WOLF, Über Saccharosebildung in Kartoffeln, Biochem. Zeitschr. 176 (1926) und 178 (1926).

Anhang

Versuche mit Plantago major

Schimper[1]) berichtet in einer Arbeit über Bildung und Wanderung von Kohlehydraten in Laubblättern auch über einen Versuch mit *Plantago media*. Danach sollen sich in den Leitbündeln der Blätter von *Plantago* so gut wie gar keine Kohlehydrate finden. Der Hauptweg für die Wanderung der Kohlehydrate sei die Leitscheide. Nun waren die Versuche von Schimper rein qualitativer Art. Er untersuchte unter dem Mikroskop Leitbündel, die vorher mit Fehlingscher Lösung behandelt worden waren, wobei eine Hydrolysierung der Zucker nicht stattgefunden hatte.

Ich zog aus einer größeren Zahl frischgepflückter Blätter von *Plantago major*, die am 15. 8. 1927 um 12 Uhr geerntet worden waren, die Leitbündel heraus und warf dieselben, um sie sofort zu töten, in heißes Wasser. Die Behandlung des Extraktes sowie die Bestimmungen der Kohlehydrate geschah nach der im ersten Teil angegebenen Methode. Die Zahlen der gefundenen Zuckermengen wurden auf 1 g Trockensubstanz der nachher getrockneten Leitbündel in mg ausgedrückt. Ich fand folgende Zuckermengen:

		Verhältnis der Zucker, wenn Gesamtzucker = 1 gesetzt
Gesamtzucker	136,23 mg	1
Maltose	0 „	0
Hexosen	13,00 „	0,095
Rohrzucker	117,07 „	0,905

Den größten Teil nimmt hier der Rohrzucker ein, die Hexosen sind nur in ganz geringer Menge vorhanden, die Maltose fehlt gänzlich. Auf dieses Resultat hin analysierte ich ganze Blätter samt den Leitbündeln. Ich verwendete 38 Blätter mit einem Frischgewicht von 34,04 g. Die Ernte erfolgte 13 Uhr am 17. 8. 1927. Das Wetter war trübe. Es kamen auf 1 g Frischsubstanz in mg:

		Verhältnis der Zucker, wenn Gesamtzucker = 1 gesetzt
Gesamtzucker	3,57 mg	1
Maltose	1,17 „	0,327
Hexosen	0,14 „	0,039
Rohrzucker	2,15 „	0,634
Stärke	0,25 „	

Die Blätter an sich sind nicht sehr zuckerreich.

[1]) Schimper, Über Bildung und Wanderung der Kohlehydrate in Laubblättern. Bot. Zeitung 43, 1885, S. 757.

Die Ergebnisse stimmen demnach insofern mit denen von SCHIMPER überein, als in den Leitbündeln fast keine Hexosen vorhanden sind — die kleinen Mengen Cu_2O konnten wahrscheinlich unter dem Mikroskop gar nicht wahrgenommen werden —. Nach Hydrolyse mit Zitronensäure fand ich jedoch beträchtliche Mengen Rohrzucker. Maltose war nicht vorhanden. Die Resultate machen also ganz den Eindruck, als ob in den Leitbündeln von *Plantago* Rohrzucker als Wanderzucker in Betracht käme. In den Blattnerven und -Stielen von *Tropaeolum* wurden dagegen von HORN und AHRNS vorwiegend Hexosen gefunden, wie in einigen Versuchen von mir bestätigt wurde (siehe Tabelle VII und VIII).

Vorliegende Arbeit wurde im Bot. Institut der Landw. Hochschule Hohenheim unter Leitung des Herrn Prof. Dr. SCHROEDER angefertigt. Auch an dieser Stelle sei Herrn Prof. Dr. SCHROEDER und seinem Mitarbeiter, Herrn Dr. BRUNS, für die in freundlicher Weise geleistete Anregung und Unterstützung herzlichst gedankt.

Abstract

1. The exposure to light of leaves of *Pelargonium peltatum, Tropaeolum majus* and *Phaseolus vulgaris* increases the contents of cane sugar also in a constant amount of water and in normal temperature. From the results it was not possible to draw certain conclusions as to the sugar formed at first in the beginning assimilation.

2. The cane sugar values obtained by the saccharase hydrolysis were in most cases in accordance with those got by the acidity hydrolysis. In the leaves of *Phaseolus*, however, seems to exist an unknown saccharid, which acts reducing after the acidity hydrolysis, or the ability of reduction of which increases more in the hydrolysis than that of the maltose.

3. When the *Tropaeolum* leaves are kept damp and dark, there results in 21° C as well as in 0° an increase of the total sugar. In 21° this increase is caused by hexoses, in 0°, however, cane sugar is produced. When the leaves are wilting, the cane sugar and hexoses increase at first. In a greater loss of water the cane sugar increases further, whereas the hexoses decrease. The decrease of the hexoses probably begins when the starch existant in the leaf has become exhausted.

Literaturverzeichnis

1. AHRNS, Weitere Untersuchungen über die Abhängigkeit der gegenseitigen Mengenverhältnisse der Kohlehydrate im Laubblat. Mez, Archiv 1924, Bd. 2. — 2. AUERBACH u. BODLÄNDER, Zur Bestimmung von Glukose durch Oxydation mit Jod. Zeitschrift für angewandte Chemie Bd. 36, 1923, S. 602. — 3. BROWN and MORRIS, Journal of the Chem. Soc. 63. 1893. — 4. BRUNS, Untersuchungen zur Auffindung der Ursache der Amylumverminderungsbeschleunigung. Mez, Archiv 1925, S. 40. — 5. CAMPBELL, Carbohydrates of the Mangold

leaf, the Journal of Agric. Sc. Vol. 4, 1912. — 6. CZAPEK, Der Kohlehydratstoffwechsel der Laubblätter im Winter. Ber. d. D. Botan. Gesellschaft Bd. 13, 1901, S. 120. — 7. DAVIS u. DAISH, Journ. of Agric. Soc. Vol. 5, 1913. — 8. EULER, Chemie der Enzyme. 1922. 2. Teil, S. 167. — 9. GAST, Quantitative Untersuchungen über den Kohlehydratstoffwechsel im Laubblatt. Zeitschrift für physiolog. Chemie Bd. 99, 1917, S. 1. — 10. HORN, Abhängigkeit der Kohlehydrate im Laubblatt vom Wassergehalt. Mez, Archiv 1923, S. 137. — 11. HORN, Abhängigkeit der Kohlehydrate im Laubblatt vom Wassergehalt. Mez, Archiv 1923, S. 172. — 12. HORN, Abhängigkeit der Kohlehydrate im Laubblatt vom Wassergehalt. Mez, Archiv 1923, S. 160. — 13. KYLIN, Zur Kenntnis der wasserlöslichen Kohlehydrate der Laubblätter. Zeitschrift für physiolog. Chemie Bd. 101, S. 83. — 14. LIDFORS, Zur Physiologie und Biologie der wintergrünen Flora. Botan. Centralblatt 68, 1896, S. 33. — 15. MÜLLER-THURGAU, Über Zuckeranhäufungen in Pflanzenteilen infolge niederer Temperatur. Landw. Jahrbücher Bd. 11, 1882, S. 787. — 16. NEUBERG und SIMON, Über Nachweis von Zucker neben Proteïnen und die vermeintliche Kondensation von Kohlehydraten mit Eiweiß. Berichte der Deutschen Chem. Gesellschaft Bd. 60, 1927, S. 817. — 17. PRINGSHEIM und WINTER, Die Zucker-Eiweißkondensation. Berichte der Deutschen Chem. Gesellschaft Bd. 60, 1927, S. 278. — 18. RONA, Praktikum der physiologischen Chemie 1926, S. 156. — 19. SCHIMPER, Über Bildung und Wanderung der Kohlehydrate in Laubblättern. Botan. Zeitung 43, 1885, S. 757. — 20. SCHROEDER, H., Die Hypothesen über die chemischen Vorgänge bei der Kohlensäureassimilation. 1917. — 21. SCHROEDER und HORN, Das gegenseitige Mengenverhältnis der Kohlehydrate im Laubblatt in seiner Abhängigkeit vom Wassergehalt. Biochem. Zeitschrift Bd. 130, 1922. — 22. TOLLENAAR, Omzettingen van Kohlehydrate in het Blad van Nicatiana tabacum. 1925. (Dissertation.) — 23. WATERMANN, Omzettingen in Aardappelen tijdens het drogen III. Chem. Weekblad. 1915. — 24. WILLSTÄTTER und BAMANN, Zur Kenntnis der Hefemaltase. Zeitschrift für physiolog. Chemie Bd. 151, 1926, S. 256—528. — 25. WILLSTÄTTER und SCHNEIDER, Zur Kenntnis des Invertins. Zeitschrift für physiolog. Chemie Bd. 151, 1926, S. 267. — 26. WILLSTÄTTER und BAMANN, Trennung von Maltase und Saccharase. Zeitschrift für physiolog. Chemie Bd. 151, 1926, S. 173. — 27. WILLSTÄTTER, 8. Mitteilung über Hydrate und Hydrogele. Berichte der Deutsch. Chem. Gesellschaft Bd. 58, 1925, S. 2458. — 28. WOLF, C. DE, Über Saccharosebildung in Kartoffeln. Biochem. Zeitschrift 176, 1926 u. 178, 1926.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Botanisches Archiv. Zeitschrift für die gesamte Botanik

Jahr/Year: 1929

Band/Volume: 26

Autor(en)/Author(s): Ritschl Albrecht

Artikel/Article: Weitere Untersuchungen über das gegenseitige Mengenverhältnis der Kohlehydrate im Laubblatt unter verschiedenen Außenbedingungen 349-384