

# Ueber das zellwandlösende Enzym der Gerste

Von

Friedrich Reinitzer.

(Der Redaction zugegangen am 23. März 1897.)

Unter denjenigen Zersetzungs Vorgängen, welche in der Pflanze durch ungeformte Fermente oder Enzyme hervorgerufen werden, spielen auch jene eine wichtige Rolle, durch welche Zellwände aufgelöst werden. Zahlreiche Erscheinungen im Leben der Pflanze sind von der Möglichkeit der Auflösung der Zellwände abhängig. Solche sind z. B. das Eindringen schmarotzender Pilze oder schmarotzender Samenpflanzen in die Wirtspflanze, die Verschmelzung von Zellen bei der Conjugation und bei der Gefäßbildung, das Eindringen des Pollenschlauches in die Narbe bei gewissen Pflanzen, wie z. B. bei *Agrostemma Githago* und den Malvaceen <sup>1)</sup>, das Eindringen des Befruchtungsschlauches in das Oogon bei manchen Oomyceten, sowie die Ernährung der jungen Keimpflanzen von den Zellwänden der Vorrathsbehälter oder deren Verdickungen.

Ogleich von den hierhergehörenden Erscheinungen nur wenige genauer daraufhin untersucht sind, wie der Vorgang der Zellwandlösung eigentlich stattfindet, ist man doch allgemein der Ansicht, dass er durch eine Enzymwirkung zustande kommt, die im Wesentlichen eine Hydrolyse, also eine Spaltung unter Aufnahme von Wasser, ist. Auf keinen Fall aber hat man es in allen diesen Fällen genau mit dem gleichen chemischen Vorgange zu thun, da die zu lösenden Zellwände bei den ver-

<sup>1)</sup> Strasburger, Neue Untersuchungen über den Befruchtungsvorgang. Jena 1884. S. 40 u. f.

schiedenen Pflanzen und Pflanzentheilen verschiedene Zusammensetzung haben, bei der Lösung verschiedene Produkte liefern und dieser Lösung einen verschieden grossen Widerstand entgegensetzen. So ist z. B. zweifellos der chemische Vorgang bei der Durchbohrung und theilweisen Lösung der Zellwände des Holzes von Bäumen durch Schmarotzerpilze wesentlich verschieden von dem Vorgange der Zellwandlösung bei der Conjugation oder der Gefässbildung oder von jenem der theilweisen Wandlösung bei der Keimung einer Dattel oder Lupine. Wenn also die Wandlösung in allen diesen Fällen durch Enzymwirkung zustande kommt, so müssen dabei jedenfalls verschiedene Enzyme betheiligt sein.

So wichtig eine genauere Kenntniss dieser Enzyme wäre, so sind doch die bis jetzt über sie ausgeführten Untersuchungen so spärlich und mangelhaft, dass man wohl behaupten kann, dass man fast nichts über sie weiss. Es liegt dies gewiss nur daran, dass es sehr schwierig ist, grössere Mengen solcher zellwandlösender Enzyme zu erhalten. Aus diesem Grunde ist eine jede Gelegenheit, welche diese Möglichkeit bietet, sehr werthvoll. Vor einiger Zeit haben nun Brown und Morris die Angabe gemacht,<sup>2)</sup> dass in der keimenden Gerste ein von der Diastase verschiedenes, „celluloselösendes“ Enzym vorkomme, dem sie den Namen Cytase oder cytohydrolytisches Enzym gegeben und dessen zellwandlösende Eigenschaft sie etwas näher untersucht haben. Hier liegt also eine solche Möglichkeit vor, grössere Mengen eines derartigen Enzyms zu erhalten, und ich beschloss daher, seine Eigenschaften genauer zu ermitteln und festzustellen.

Brown und Morris haben zunächst dargethan, dass bei der Keimung der Gerste die Zellwände des stärkeführenden

<sup>1)</sup> De Bary. Ueber einige Sclerotinien und Sclerotienkrankheiten, Bot. Ztg. 1886. Nr. 22—27.

Marsh. Ward, A lily disease. Ann. of Botany. 2. 1888.

J. R. Green. Phil. Trans. 178 (1887) 57 (behandelt das zellwandlösende Enzym der keimenden Dattel).

<sup>2)</sup> Researches on the Germination of some of the Gramineae. Journ. of the Chemical Society. 57 (1890). 497—504.

Theils des Endosperms völlig oder bis auf geringe Spuren gelöst werden, noch ehe die in den Zellen enthaltenen Stärkekörner von der Diastase angegriffen sind.<sup>1)</sup> Sie haben weiter gezeigt, dass sich die gleichen Erscheinungen künstlich mit einem wässrigen Auszug von Luftmalz hervorrufen lassen, dass aber dieser seine Eigenschaft, Zellwände zu lösen, verliert, wenn er eine halbe Stunde lang auf 60° C. erhitzt wird, ohne dabei seine Fähigkeit, Stärke zu verzuckern, einzubüssen.<sup>2)</sup> Eben hieraus schliessen sie, dass in dem Malzauszug zwei verschiedene Enzyme vorkommen, von denen das cytohydrolytische, die Cytase, bei 60° C. zerstört wird, während das diastatische erhalten bleibt. Doch gelang es ihnen nicht, diese beiden Enzyme zu trennen und die Cytase für sich allein zu erhalten. Die gleichen Erscheinungen, welche sie bei der Keimung der Gerste beobachtet haben, konnten sie auch bei der Keimung zahlreicher anderer Gräser feststellen, wodurch sie zu der Annahme kommen, dass die Cytase bei der Keimung aller Gräser auftritt. Um zu beweisen, dass die Cytase tatsächlich die Fähigkeit hat, Cellulose zu lösen, haben die beiden Forscher das Verhalten einer Reihe von Zellwänden anderer Abstammung gegen sie untersucht und in diesem Verhalten einen Beweis für diese Ansicht zu finden geglaubt. Indess sind gerade diese Untersuchungen geeignet, Zweifel zu erwecken, da sie zu dem Ergebniss geführt haben, dass sich verschiedene Zellwände gegen das Enzym sehr verschieden verhalten. Schon die Zellwände des stärkehaltigen Theils des Gerstenendosperms selbst werden an verschiedenen Stellen im Samen verschieden rasch gelöst und die verschiedenen Spielarten der Gerste lassen noch grössere Unterschiede in der Leichtigkeit der Lösung der Wände erkennen. Die Wände der Kleberschicht bleiben bei der Keimung der Getreidearten völlig ungelöst, lösen sich aber bei der Keimung der Trespes (*Bromus*) auf.<sup>3)</sup> Die übrigen Gewebe des Gerstenkorns, nämlich die der Fruchtsamenschale und der

1) a. a. O. S. 468 u. 469.

2) a. a. O. S. 502.

3) a. a. O. S. 470.

Spelzen, werden von der Enzymlösung gar nicht angegriffen. Noch bedeutungsvoller aber ist die Angabe, dass sich die Wirkung der Cytase innerhalb der Familie der Gräser nur auf die Zellwände (die Verf. sagen Cellulose) der Samen zu beschränken scheine, d. h. also, dass das Enzym die Wände aller übrigen Gewebe nicht zu lösen vermöge. Die Verfasser erklären sich das durch die Annahme, dass diese Zellwände auch dann, wenn sie nach ihrem mikrochemischen Verhalten als reine Cellulosewände angesehen werden sollten, doch ein wenig, wenn auch in sehr geringem Grade, verholzt seien, eine Annahme, deren Unhaltbarkeit in die Augen springt.

Auch die weiteren Angaben der Verfasser bestätigen, dass das Enzym nur gewisse Zellwände zu lösen oder anzugreifen vermag. So theilen sie mit, dass es die Zellwände des Parenchyms der Runkelrübe nur unbedeutend, jene des Apfels gar nicht angreife, dagegen die Zellwände des Kartoffelparenchyms bis auf eine dünne Schicht löse und in gleicher Weise auch die Zellwände des Parenchyms der „Jerusalem-Artischoke“ (*Helianthus tuberosus*), der Möhre und der Steckrübe angreife. Beim Kartoffelparenchym beobachteten sie indess wieder, wie bei der Gerste, beträchtliche Verschiedenheiten in der Widerstandsfähigkeit gegen das Enzym, welche „in hohem Maasse von der verwendeten Spielart und dem Alter der Kartoffel abhängig waren“.

Bei allen diesen Thatsachen gehen die beiden Forscher von der Annahme aus, dass die Zellwände, um die es sich dabei handelt, aus Cellulose bestehen. Wäre dies richtig, so stünde man vor der befremdlichen Erscheinung, dass ein und derselbe Körper, die Cellulose, einem zweiten gegenüber, dem Enzym, nicht immer das gleiche Verhalten zeigt. Da nun das Enzym stets in gleicher Weise gewonnen und angewendet wurde, das schwankende Verhalten also nicht ihm zugeschrieben werden kann, muss die Schuld daran in der verschiedenen Beschaffenheit der Zellwand gesucht werden. Es könnten da zur Erklärung dieses Verhaltens 3 Möglichkeiten erwogen werden, nämlich: 1. Die, dass die verschiedenen Zellwände eine verschiedene Dichte oder ein verschiedenes Gefüge haben, 2. die Möglichkeit, dass ihre Eigenschaften durch Einlagerung fremder

Stoffe, etwa wie bei der Verkieselung, oder durch Verbindung mit solchen, wie bei der Verholzung, beeinträchtigt sind, oder 3. die, dass sie überhaupt nicht alle aus Cellulose bestehen, sondern dass viele von ihnen aus anderen, der Cellulose nahe-  
 stehenden Kohlenhydraten aufgebaut sind. Die erste dieser Annahmen könnte höchstens kleine Unterschiede in der Geschwindigkeit der Auflösung verschiedener Zellwände erklären, nicht aber die vollständige Unlöslichkeit vieler. Zur Erklärung dieser bleiben nur die beiden anderen Annahmen übrig. Brown und Morris ziehen von ihnen nur erstere in Betracht, indem sie von einer „geringen Verholzung“ oder einer „leichten Veränderung nach der Richtung der Verholzung“ sprechen. Sie beziehen diese Ausdrucksweise aber auch auf Zellwände, für deren Verholzung nicht die geringsten Anhaltspunkte vorliegen, und machen dadurch diese Erklärung zu einer ganz willkürlichen. Es ist allerdings richtig, dass verholzte Zellwände von dem Enzym nicht angegriffen werden, aber ebensowenig ist auch daran zu zweifeln, dass die meisten jener Zellwände, die nach Angabe der Verfasser der Lösung durch das Enzym widerstehen, nicht im geringsten verholzt sind. Ganz besonders bemerkenswerth ist nach dieser Richtung die Angabe der Verfasser, dass die Cytase nicht im Stande sei, die verdickten Zellwände des Endosperms folgender Samen zu lösen: *Phoenix dactylifera*, *Asparagus officinalis*, *Coffea arabica*, *Allium cepa*, *Impatiens balsamea*, *Tropaeolum majus* und *Primula Webbii*. Diese Angabe ist deshalb von Bedeutung, weil für die meisten dieser Samen bekannt ist, dass die Wandverdickung ihres Endosperms nicht aus Cellulose allein, sondern zum weitaus grössten Theile aus Hemicellulosen bestehen, wie dies die Untersuchungen des letzten Jahrzehnts, namentlich jene von E. Schulze und R. Reis, gezeigt haben<sup>1)</sup>. Die Hemicellulosen zeichnen sich nun aber vor Allem dadurch aus, dass sie durch Säuren weit leichter hydrolysirbar sind als Cellulose, da sie schon durch

<sup>1)</sup> In den drei zuletzt genannten Samen kommt Amyloid vor, welches aber nach den Untersuchungen von E. Winterstein (Ztschr. für physiol. Chem. 17. (1893) 353) ebenfalls zu den Hemicellulosen gerechnet werden kann. Wenigstens steht es ihnen am allernächsten.

Kochen mit Salzsäure von 1 — 1  $\frac{1}{4}$  % in Lösung geht, während Cellulose von einer so verdünnten Säure fast gar nicht angegriffen wird, und es wäre hiernach zu erwarten, dass sie auch gegen ein cytohydrolytisches Enzym weniger widerstandsfähig wären als diese. Wenn nun diese Zellwände nach der Angabe der Verfasser von der Cytase nicht gelöst werden, während dieses Enzym andererseits die Zellwände des stärkeführenden Endosperms der Gerste sehr leicht zu lösen vermag, so müssen diese letzteren Zellwände offenbar noch leichter hydrolysirbar sein als die Hemicellulosen der früher genannten Samen. Es liegt daher die Vermuthung nahe, dass sie weder aus Cellulose noch aus einer der bis jetzt bekannten Hemicellulosen bestehen, sondern aus einer bis jetzt unbekanntem Substanz, die sich von jenen durch ihre leichtere Hydrolysirbarkeit unterscheidet. Es hat allerdings Grüss gefunden, dass die Wandverdickungen des Endosperms der Dattel (*Phoenix dactylifera*) von Diastase gelöst werden<sup>1)</sup>, es geschah dies aber erst nach mehrmonatlicher Einwirkung<sup>2)</sup>. Es ändert dies also an der Thatsache nichts, dass die Hemicellulosen dieses Samens gegen die Einwirkung hydrolysirender Enzyme sehr widerstandsfähig sind, wie dies auch E. Schulze gefunden hat.<sup>3)</sup>

Diese Betrachtung macht es somit sehr wahrscheinlich, dass das verschiedene Verhalten verschiedener Zellwände gegen die Cytase seinen Grund darin haben könnte, dass dieses Enzym nicht die Fähigkeit hätte, Cellulose zu lösen, sondern nur andere, leichter hydrolysirbare Bestandtheile von Zellwänden. Hieraus erwächst also vor Allem die Aufgabe, festzustellen, welche Kohlenhydrate der Cellulosegruppe die Cytase zu hydrolysiren vermag. Eine Klarstellung dieses Punktes erscheint

1) J. Grüss, Ueber die Einwirkung der Diastasefermente auf Reservecellulose. Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1894. **12**. S. (60). Derselbe, Ueber Lösung und Bildung der aus Hemicellulosen bestehenden Zellwände u. ihre Beziehung zur Gummosis. Bibliotheca Bot. Heft 39. 1896.

2) Die Möglichkeit, dass bei der langen Dauer der Versuche aus dem zugesetzten Chloroform freie Salzsäure entstanden sein könnte, beeinträchtigt die Zuverlässigkeit dieser Angabe.

3) Siehe später.

um so notwendiger, als Brown und Morris keinerlei Untersuchungen über die chemische Zusammensetzung der von ihnen geprüften Zellwände gemacht haben. Die einzige Stütze der Verfasser für ihre Annahme, dass das Kohlehydrat, welches die Cytase durch Hydrolyse zu lösen vermag, thatsächlich Cellulose sei, bildet ein Versuch, der beweisen soll, dass Baumwolle von diesem Enzym angegriffen werde. Gerade dieser Versuch hat aber ein so zweifelhaftes Ergebnis geliefert, dass man aus ihm weit eher den Schluss ziehen könnte, dass die Cytase nicht im Stande sei, Cellulose zu lösen. Da diese Frage wichtig ist, möge die Beschreibung dieses Versuchs in möglichst getreuer Uebersetzung hier wiedergegeben werden, wobei nur vorausgeschickt werden muss, dass nach den Untersuchungen der Verfasser das Absorptionsepithel des Schildchens des lebenden Keimlings der Gerste das cytohydrolytische Enzym erzeugt und abscheidet, was sie zu dem beabsichtigten Nachweise benützen. Die betreffende Stelle lautet folgendermassen: 1) „Obgleich, wie wir schon gezeigt haben, das celluloselösende Ferment solche Cellulose, die nur in geringstem Grade verholzt ist, nicht angreift, ist es doch auf Baumwollcellulose nicht ganz ohne Wirkung<sup>2)</sup>. Dies kann am besten durch Kultur abgetrennter Gerstenkeimlinge auf feuchtem Filtrirpapier gezeigt werden. Im Verlauf von etwa zwei Tagen zeigen die mit dem Scutellum in unmittelbarer Berührung stehenden Papierfasern unverkennbare Zeichen einer lösenden Wirkung. Sie werden viel stärker geschwollen und durchsichtiger als die in kleiner Entfernung vom Embryo befindlichen, die Streifung der Fasern ist minder deutlich und es besteht eine allgemeine Neigung zur Auflösung in die feineren Elemente und hier und da eine deutliche Annäherung (b) an die beginnende Lösung (a), besonders an

1) a. a. O. S. 503.

2) Dieser Satz zeigt wieder aufs deutlichste die seltsame Meinung der Verfasser, dass jene Zellwände, welche von dem cytohydrolytischen Enzym nicht oder nur sehr wenig angegriffen werden, in geringem Grade verholzt seien. Er enthält gleichzeitig die Vermuthung, dass die geringe Angreifbarkeit der Baumwollcellulose auf dieselbe Ursache zurückzuführen

ihren Enden. Ein unabhängiger Beweis des Angriffs der Baumwollfasern wird durch die Thatsache geliefert, dass der Embryo sich in höherem Maasse entwickelt, wenn er auf einem feuchten Filtrirpapier kultivirt wird, als wenn dies auf der feuchten Oberfläche eines indifferenten Mittels wie porösen Steinguts oder Glaswolle geschieht. Es kann somit kein Zweifel sein, dass Filtrirpapier unter dem Einfluss des abgeschiedenen Enzyms zur Ernährung des wachsenden Pflänzchens in geringem Grade beizutragen vermag."

Die äusserst vorsichtige Art, wie sich die Verfasser über dieses Versuchsergebnis ausdrücken, lässt am deutlichsten erkennen, wie unsicher es ist. Dazu kommt, dass Papier sicherlich nicht ganz frei von anderen, leichter angreifbaren Kohlenhydraten der Cellulosegruppe ist und die stärkere oder schwächere Entwicklung eines Keimlings sehr bedeutenden individuellen Schwankungen unterliegt.

Auf keinen Fall steht also, dieser einzige Beweis der Verfasser, dass ihre Cytase Cellulose löse, auf sehr festen Füßen und vermag die früher ausgesprochenen Zweifel nicht zu zerstreuen. Die Frage nach der chemischen Natur jener Kohlenhydrate, welche von der Cytase gelöst werden, ist daher noch offen und sie müsste vor Allem beantwortet werden, ehe an eine weitere Untersuchung des Enzyms geschritten werden könnte. Es geschah dies in der Weise, dass einerseits die chemische Natur jener Zellwände ermittelt wurde, die von dem Enzym zweifellos gelöst werden, andererseits das Verhalten reiner Cellulose zu ihm festgestellt wurde.

### 1. Chemische Natur der Zellwände, welche von dem cytohydrolytischen Enzym gelöst werden.

a) Mehlkörper der Gerste. Es ist ganz allgemein bekannt, dass das Endosperm der Gräser aus zwei Geweben besteht, von denen das äussere, stärkefreie, gewöhnlich Kleberschicht genannt wird, während für das innere, stärkehaltige, kein besonderer Name allgemein üblich ist. Der Kürze halber soll es im Folgenden Mehlkörper genannt werden. Die Zellwände dieses Gewebes sind bei der Gerste sehr dünn, lassen

aber doch ganz deutlich eine Mittellamelle und zwei ihr beiderseits anliegende Schichten erkennen, welche unmittelbar an die Zellhöhlungen der beiden Nachbarzellen angrenzen und daher als Innenschicht bezeichnet werden sollen.

Es wurde zunächst durch mehrere Versuche die Richtigkeit der Thatsache festgestellt, dass die Zellwände dieses Mehlkörpers der Gerste durch einen Luftmalzauszug gelöst werden<sup>1)</sup>. Durch Erwärmen auf etwa 28–38° C. wird die Lösung sehr befördert. Da sehr leicht Spaltpilze auftreten und die Beobachtung erschweren, sowie das Ergebniss unsicher machen, empfehlen Brown und Morris Zusatz von Thymol oder Chloroform zur Flüssigkeit. Weit besser ist es aber, die Versuche im Chloroformdampf auszuführen. Immer muss man aber darauf achten, dass das Chloroform frei von Salzsäure und von Carbonylchlorid sei, da erstere selbst lösend wirkt und letzteres die Wirkung des Enzyms aufhebt, was reines Chloroform nicht thut. Es wurden meist die offenen Schalen, die mit der Enzymlösung und den Schnitten beschickt waren, in eine Glasdose gebracht, auf deren Boden Chloroform gegossen und nöthigenfalls ab und zu erneuert wurde, oder in welcher ein offenes Gefäss mit Chloroform stand. Will man die Lösung der Zellwände deutlich wahrnehmen, so ist es gut, die Stärke in den gut ausgepinselten Schnitten durch Aufkochen in Wasser zu verkleistern, oder noch besser, sie durch Speichel zu lösen, wie es Brown und Morris thaten. Bei diesen Versuchen wurde nun stets beobachtet, dass die zu beiden Seiten der Mittellamelle liegenden beiden Innenschichten der Zellwand schon nach 24 Stunden gelöst sind, dass aber die zarte Mittellamelle bedeutend länger Widerstand leistet und erst nach zwei- bis dreimal 24 Stunden zum grössten Theil verschwindet. Kleine Ueberbleibsel sind indess um diese Zeit immer noch von ihr zu finden. Sie scheinen bei längerer Dauer des Versuches schliesslich völlig

<sup>1)</sup> Diese Thatsache ist auch von Grüss bestätigt worden. Siehe mikroskopische Untersuchung d. gekeimten Gerstenkorns, Wochenschr. Brauerei, 1896, Nr. 28, u. d. früher angeführte Arbeit in der Biblioth. Bot. Heft 39.

gelöst zu werden. Auch Brown und Morris fanden die Mittellamelle widerstandsfähiger als die übrige Wand.

Um nun festzustellen, ob diese Zellwände aus einer sehr leicht hydrolysierbaren Hemicellulose bestehen, wurde ihr Verhalten gegen kochende verdünnte Salzsäure geprüft. Die Hemicellulosen, welche von E. Schulze und seinen Schülern in zahlreichen Samen<sup>1)</sup> aufgefunden worden sind, gehen bei ein- bis zweistündigem Kochen mit 1 bis 1<sup>1</sup> procentiger Salzsäure oder Schwefelsäure vollständig in Lösung, während Cellulose bei dieser Behandlung nur sehr unbedeutend angegriffen wird<sup>2)</sup>. Dieses Verhalten ist ganz besonders bezeichnend für die Hemicellulosen und bietet somit das beste Mittel, sie zu erkennen und von Cellulose zu unterscheiden. Das Kochen mit verdünnter Salzsäure wurde stets am Rückflusskühler ausgeführt, um eine Zunahme des Gehaltes der Flüssigkeit an Säure durch Wasserverlust zu verhindern. Da Vorversuche gezeigt hatten, dass beim ganzen Korn die Säurewirkung nur langsam ins Innere vordringt, da die Hüllen und die Dicke des Korns dabei hinderlich sind, so dass das Korn in seinen verschiedenen Tiefen sehr ungleich angegriffen wird, so wurden die Körner entweder in mehrere Stücke zerquetscht, oder in 1–2 mm dicke Scheibchen zerschnitten. Ueberdies wurden diese Stücke vor der Kochung meist 12–18 Stunden in der verdünnten Salzsäure liegen gelassen, um von der Flüssigkeit durchtränkt zu werden, was die Gleichmässigkeit der Säurewirkung sehr förderte, ohne auf die Zellwände eine quellende oder sonst wie merkbare Wirkung auszuüben. Die Versuche wurden mit einprocentiger Salzsäure und einstündigem Kochen begonnen und mit immer verdünnterer Säure und immer kürzerer Kochdauer fortgesetzt. Jede Kochung wurde sorgfältig unter dem Mikroskope untersucht. Bei allen diesen Kochungen nun wurden die Zellwände des Mehlkörpers stets vollständig gelöst und es

<sup>1)</sup> Gelbe und blaue Lupine, Erbse, Wicke, Ackerbohne, Sojabohne, Kaffee, Dattel, Kokosnuss, Oelpalme, Sesam, Kapuzinerkresse, Pfingstros, Weizen-, Roggen- und Maiskleie.

<sup>2)</sup> Belege für letztere Angabe siehe bei E. Schulze, *Zschr. f. physiol. Chem.* **14**, 227 u. **16**, 387 u. E. Winterstein, ebendas. **17**, 391.

musste die Verdünnung ziemlich weit getrieben werden, um die Grenze zu erreichen, bei welcher diese Zellwände noch in lösliche Verbindungen überführt werden. Es ergab sich, dass die verdünnteste Salzsäure, welche nach bloß 15 Minuten währendem Kochen diese Lösung vollständig zu bewirken vermag, nur 0,1% Chlorwasserstoff enthält. Verdünnt man diese Salzsäure auf die Hälfte, so dass sie also nur noch 0,05% Chlorwasserstoff enthält, dann genügt auch ein 1 1/2 stündiges Kochen nicht, um die Wände zu lösen. Das Gewebe zerfällt zwar in einzelne Brocken, die einzelnen Zellen lassen sich leicht von einander trennen, ihre Wand ist schlaff und faltig und stellenweise sogar in kleine Stücke zerfallen, aber eine eigentliche Lösung findet nicht statt.

Wenn man dieses Ergebniss mit den Angaben E. Schulze's vergleicht, so sieht man, dass die Zellwände des Mehlkörpers der Gerste aus einer ganz besonders leicht hydrolysirbaren Hemicellulose bestehen, da Schulze zur Auflösung seiner Hemicellulosen eine Säure von 10 bis 12 mal so grossem Gehalt verwendet hat. Wie ungemein leicht die Zellwände gelöst werden, erkennt man am besten an dem Verhalten der vorhandenen Stärkekörner. Diese sind zwar an einzelnen Stellen bereits woggelöst, aber zum allergrössten Theile noch im stark verquollenen Zustande, meist in kleinere Krümel zerfallen, vorhanden und durch Jod leicht nachweisbar. Diese bedeutend leichtere Löslichkeit der Zellwände gegenüber jener der Stärkekörner beruht zwar jedenfalls zum Theil auch darauf, dass erstere sehr dünn und zart sind und eine verhältnissmässig grosse Oberfläche haben. Trotzdem aber muss man zugeben, dass die Substanz der Zellwände durch die verdünnte Säure mindestens ebenso leicht, wenn nicht leichter, gelöst wird, wie die Stärke. Dies stimmt mit dem Verhalten bei der Keimung der Gerste und bei Behandlung des Endosperms mit einem Luftmalzauszug völlig überein. Auch in diesen beiden Fällen werden die Wände rascher gelöst als die Stärkekörner. Diese raschere Lösung beruht also nur darauf, dass die Zellwände des Mehlkörpers aus einer Substanz bestehen, welche mindestens ebenso

leicht hydrolysirbar ist wie Stärke, und dass sie bei geringer Dicke eine grosse Oberfläche haben. Die Ursache der Auflösung der Zellwände durch die Enzymwirkung liegt also in erster Reihe in ihrer chemischen Zusammensetzung, was die früher ausgesprochene Vermuthung vollständig bestätigt. Es ist klar, dass dadurch auch die Annahme von dem Bestehen eines besonderen zellwandlösenden Enzyms stark erschüttert wird. Dieser Punkt soll indess erst später erörtert werden.

Die Thatsache, dass die Zellwände des Mehlkörpers der Gerste aus einer ungewöhnlich leicht hydrolysirbaren Hemicellulose bestehen, ist besonders beachtenswerth. Alle bisherigen Untersuchungen über das Vorkommen der Hemicellulosen im Pflanzenreich haben nämlich immer nur solche Zellwände kennen gelehrt, welche aus einem Gemenge von Hemicellulosen mit Cellulose bestehen, und da die Abscheidung der Hemicellulosen im unveränderten Zustande aus diesem Gemenge bis jetzt nicht möglich war, so hat man auch viele ihrer Eigenschaften bisher nicht festzustellen vermocht.<sup>1)</sup> Wenn nun auch die Zellwände des Mehlkörpers der Gerste kaum völlig einheitlicher Natur sein dürften, wie aus ihrem Verhalten gegen Malzauszug hervorgeht, so bestehen sie doch jedenfalls nur aus Hemicellulosen, da sie in 0,1 procentiger Salzsäure vollständig löslich sind, und enthalten somit sicherlich keine Cellulose. Es dürfte daher die Mittheilung einiger ihrer Eigenschaften lehrreich sein. Es wurde festgestellt, dass sie sich durch Jod und Schwefelsäure bläuen, wodurch entschieden ist, dass es thatsächlich Hemicellulosen gibt, die sich in diesem Punkte wie Cellulose verhalten, wie schon E. Schulze, entgegen der Meinung Gilson's, sehr wahrscheinlich gemacht hat.<sup>2)</sup> Mit Jod allein werden die Zellwände nicht blau gefärbt. Kocht man sie aber durch 15 Minuten mit einer Salzsäure von 0,05% Gehalt, welche sie, wie früher mitgetheilt wurde, noch nicht löst, so färben sie sich schon durch Jod allein blau. Sie sind also hierdurch in jene Substanz umgewandelt worden, welcher die

1) Siehe E. Schulze, Ztschr. f. physiolog. Chem. **16** (1892), 309 bis 411 und **19** (1894), 56 Anmerkung und 61—65.

2) Siehe Ztschr. f. physiolog. Chem. **19** (1894), 62—65.

Bläunung durch Jod zukommt. Sehr bemerkenswerth ist auch das Verhalten dieser Zellwände zu Kupferoxydammoniak. Durch dieses Reagenz werden nämlich nur die beiderseitigen, an die Zellhöhlungen angrenzenden Innenschichten der Wand nach voraufgegangener Quellung ziemlich rasch gelöst, während die Mittellamelle ungelöst bleibt. Es muss also die Mittellamelle aus einer anderen Hemicellulose bestehen, als die ihr beiderseits anliegenden Innenschichten und es ist gewiss sehr eigenthümlich, dass trotz der geringen Dicke der Wand ihre Zusammensetzung nicht völlig einheitlich ist. Es geht ferner aus dieser Beobachtung die sehr bemerkenswerthe Thatsache hervor, dass es sowohl solche Hemicellulosen gibt, die sich in Kupferoxydammoniak auflösen, als auch solche, die darin unlöslich sind. E. Schulze hat nur letztere beobachtet, könnte sie aber durch kurzes Kochen mit sehr verdünnter Salzsäure, also offenbar durch schwache Hydrolyse, in Kupferoxydammoniak löslich machen.<sup>1)</sup>

J. Grüss hat vor einiger Zeit die Annahme gemacht, dass die Zellwände des Mehlkörpers der Gerste aus Araban und Xylan beständen,<sup>2)</sup> und sich dabei auf die Arbeiten E. Schulze's gestützt. Diese Annahme ist jedoch durchaus ungerechtfertigt. Schulze hat allerdings eine Hemicellulose aufgefunden, welche aus Araban und Xylan besteht, aber nicht in der Gerste, sondern im Weizen und Roggen und auch nicht im Mehlkörper dieser, sondern in der Kleie des Weizens und Roggens.<sup>3)</sup> Die in der Kleie vorkommenden Hemicellulosen sind aber jedenfalls verschieden von denen des Mehlkörpers, wie aus dem Folgenden hervorgeht. Untersucht man nämlich eine Weizenkleie, welche durch eine Stunde mit 1,2procentiger Salzsäure gekocht worden ist, unter dem Mikroskop, so zeigt sich, dass von den Zellwänden der Kleberschicht der weitaus grösste Theil in Lösung gegangen ist, da der ungelöste Rückstand dieser Zellwände sehr substanzarm und ohne Färbung nur schwer wahrnehmbar ist. Die übrigen

1) Zeitschr. f. physiolog. Chemie, **16** (1892), 410.

2) Siehe die beiden auf Seite 309 angeführten Arbeiten.

3) Zeitschr. f. physiolog. Chemie, **16** (1892), 397 u. f.

Zellwände scheinen hauptsächlich nur die Mittellamelle verloren zu haben. Es dürfte somit wahrscheinlich die Hauptmasse dieser von E. Schulze dargestellten Hemicellulose den Zellwänden der Kleberschicht entstammen. Dies stimmt auch mit der Menge der Hemicellulose, welche sich der Weizenkleie durch einstündiges Kochen mit 1 1/4procentiger Schwefelsäure entziehen lässt. Nach Schulze verliert die von Fett, Farbstoff und Eiweissstoffen befreite Kleie bei dieser Behandlung 56% ihres Gewichtes,<sup>1)</sup> was also annähernd der Menge der in ihr enthaltenen Hemicellulosen entspricht und mit der Ausdehnung der Kleberschicht in Einklang steht. Nun werden aber während der Keimung die Wände der Kleberzellen nach den Untersuchungen von Brown und Morris nur bei den Trespen (*Bromus*) angegriffen<sup>2)</sup>, sind aber bei den übrigen Gräsern sehr widerstandsfähig gegen das zellwandlösende Enzym, sie müssen also aus einer anderen Substanz bestehen als die Zellwände des Mehlkörpers, die ja hierbei gelöst werden. Dies stimmt auch mit ihrem Verhalten gegen verdünnte Salzsäure. Die Kleberzellwände der Gerste werden durch 1 stündiges Kochen mit 0,1procentiger Salzsäure weder gelöst, noch irgend erheblich gequellt und erst eine 0,4procentige Salzsäure bewirkt bei viertelstündigem Kochen eine starke Quellung, wobei sich die Zellen gegeneinander abrunden und bei leichtem Druck auf das Deckglas trennen. Ein wesentlicher Substanzverlust tritt aber erst durch einstündiges Kochen mit 1,2procentiger Salzsäure ein, die aus den Zellwänden so viel herauslöst, dass sie ohne Zuhilfenahme einer Färbung nur noch schwierig als ganz zarte Schichte erkennbar sind. Eine vollständige Lösung ist indess auch durch einstündiges Kochen mit 2procentiger Salzsäure nicht zu erreichen, woraus folgt, dass die Zellwände neben den Hemicellulosen auch Cellulose enthalten. Die Hemicellulosen der Kleberzellen unterscheiden sich also von denen der übrigen Endospermzellen sehr wesentlich durch ihr Verhalten sowohl gegen das zellwandlösende Enzym als auch gegen verdünnte

1) a. a. O. S. 406.

2) a. a. O. S. 470.

Salzsäure und müssen somit von letzteren verschieden sein. Es kann also vorläufig nicht behauptet werden, dass die Zellwände des Mehlkörpers der Gerste aus Arabin und Xylan bestehen, ihre Zusammensetzung muss vielmehr erst durch eine besondere Untersuchung festgestellt werden. Allerdings dürfte ihre Reindarstellung infolge ihrer leichten Angreifbarkeit einige Schwierigkeiten bereiten.

Es ist übrigens sehr bemerkenswerth, dass die Wände der Kleberzellen in ihrem Verhalten gegen Jod eine auffallende Aehnlichkeit mit den übrigen Endospermzellen zeigen. Sie können nämlich, wie diese, durch Kochen mit einer entsprechend verdünnten Salzsäure in einen Körper überführt werden, der schon durch Jod allein gebläut wird, was bei ihnen ein viertelstündiges Kochen mit 0,1 procentiger Salzsäure bewirkt. Werden sie aber mit einer 0,4 procentigen Salzsäure durch eine Viertelstunde gekocht, so färben sie sich nun nicht mehr durch Jod blau: sie haben diese Eigenschaft wieder verloren. Offenbar wird durch die stärkere Säure die Hydrolyse weitergeführt und dadurch das veränderte Verhalten in derselben Weise hervorgerufen, wie etwa bei der Stärke, welche ebenfalls durch Hydrolyse in Körper verwandelt wird, die sich durch Jod nicht mehr bläuen. So auffallend dieses Verhalten dieser Hemicellulosen im ersten Augenblick erscheinen mag, so ist es doch vollkommen ähnlich dem Verhalten der Cellulose gegen Jod, denn diese wird ebenfalls durch hydrolysirende Körper, wie Schwefelsäure, Zinkchlorid u. s. w., in eine Verbindung überführt, die sich durch Jod bläut, die aber bei weiterer Hydrolyse in Substanzen übergeht, die sich durch Jod nicht mehr bläuen.

Aus den vorstehenden Untersuchungen geht somit hervor, dass die Zellwände der beiden Theile des Gerstenendosperms eine verschiedene chemische Zusammensetzung haben. Die Zellwände des Mehlkörpers bestehen aus mindestens 2 Hemicellulosen, die sich von den bis jetzt bekannten dadurch unterscheiden, dass sie nicht nur durch weit verdünntere Säuren hydrolysiert und gelöst werden als diese, sondern dieselbe Veränderung auch durch einen Luftmalzauszug erfahren. Die Zell-

wände der Kleberschichte enthalten dagegen neben etwas Cellulose weit schwieriger hydrolysirbare Hemicellulosen, die von einem Luftmalzauszug gar nicht angegriffen werden und gegen verdünnte Säuren beträchtlich widerstandsfähiger sind als jene des Mehlkörpers. Sie gleichen in dieser Hinsicht den bis jetzt näher untersuchten Hemicellulosen, insbesondere jenen, welche E. Schulze aus Roggen und Weizenkleie dargestellt hat. Hiermit ist aber die Mannigfaltigkeit in der chemischen Zusammensetzung dieser Zellwände noch nicht erschöpft, denn nach den Untersuchungen von Brown und Morris zeigen sie bei den verschiedenen Spielarten der Gerste, in Bezug auf die Leichtigkeit, mit der sie beim Keimen gelöst werden, beträchtliche Verschiedenheiten, die, zum mindesten theilweise, ebenfalls auf Unterschieden in ihrer chemischen Zusammensetzung beruhen könnten. Allerdings könnten auch Verschiedenheiten des lösenden Enzyms oder der physikalischen Beschaffenheit der Wände dabei eine Rolle spielen.

Die vorstehenden Untersuchungen bestätigen also die früher geäußerte Vermuthung, dass die bei der Keimung der Gerste sich lösenden Zellwände aus leicht hydrolysirbaren Hemicellulosen bestehen, und es handelt sich nun noch darum, zu untersuchen, ob auch die übrigen Zellwände, welche nach Brown und Morris von einem Luftmalzauszug gelöst werden, aus Hemicellulosen bestehen. Es wurden nach dieser Hinsicht die Zellwände des Parenchyms der Kartoffelknollen und der Möhre untersucht.

b) Parenchym der Kartoffelknollen und der Möhre. Die Wirkung eines Luftmalzauszuges auf das Parenchym der Kartoffelknollen schildern Brown und Morris folgendermassen: „Wenn Schnitte durch Kartoffeln in eine verdünnte Lösung des Enzyms gebracht werden, die mit ein wenig Chloroform oder Thymol versetzt wurde, verlieren sie ihren Zusammenhang in wenigen Stunden und zerfallen mit grosser Schnelligkeit in Stücke. Dieser Verrottungs-Zustand wird durch eine Veränderung der Zellwände, welche unter Ausbildung zahlreicher

schr dünner Lamellen zum Mehrfachen ihrer ursprünglichen Dicke anschwellen, hervorgerufen. Diese Lamellen zerfallen nach einiger Zeit theilweise und werden in kleine spindelförmige Bruchstücke aufgelöst, ähnlich jenen, die in der keimenden Gerste gefunden worden sind. Bei den Kartoffelschnitten scheint die Lösung nie vollständig zu sein infolge des Widerstandes einer dünnen Schicht der Zellwand (Mittelanelle?).“

An einer anderen Stelle<sup>1)</sup> sagen die Verfasser in einer Anmerkung, dass das Kartoffelparenchym je nach der Spielart und dem Alter der Kartoffel beträchtliche Unterschiede in der Widerstandsfähigkeit gegen das Enzym zeige.

Diese Versuche mit Kartoffeln wurden nun zunächst mit möglichst dünnen, gut ausgepinselten Schnitten wiederholt, wobei die Versuchsanordnung genau die gleiche war wie bei der Gerste. Die dabei gewonnenen Ergebnisse stimmen jedoch nur zum Theil mit den Angaben von Brown und Morris überein. Eine geringe Quellung konnte zwar öfter, namentlich bei grosszelligen Sorten mit derber Zellwand, beobachtet werden, doch erreichte sie kaum das Doppelte der ursprünglichen Dicke. Ein Zerfallen in kleine spindelförmige Bruchstücke konnte aber nie und nirgends beobachtet werden, obwohl die Versuche mit etwa 6–7 Sorten ausgeführt und vielfach wiederholt und abgeändert wurden. Bei 4 Sorten, unter denen sich 2 sehr zartzellige befanden, wurde der Versuch durch 110 Stunden bei 29° C. ausgedehnt und der verwendete Grünmalzauszug überdies noch einmal erneuert. Dennoch trat nie der beschriebene Zerfall ein. Bei der Beobachtung unter dem Mikroskope wurde die Zellwand stets mit Kongoroth gefärbt, wodurch ihr Gefüge sehr deutlich sichtbar wird, so dass ein Uebersehen einer solchen Erscheinung ganz unmöglich wäre. Die Einwirkung des Malzauszuges verläuft bei allen untersuchten Sorten immer so, dass die Mittelanelle vollständig gelöst wird, so dass sich die einzelnen Zellen schon durch leichtes Tupfen auf das Deckglas trennen. Jede Zelle behält dabei ihre geschlossene Zellhaut, die nie in Theilchen zerfällt. Die Haut ist weich und schlaff und bildet

1) Seite 502.

leicht Falten. Hat das Enzym längere Zeit eingewirkt, so zer-  
reißt sie durch stärkeres Tupfen ziemlich leicht. Es rührt  
dies jedenfalls davon her, dass infolge der Lösung der Mittel-  
lamelle und der Trennung der Zellen die ursprüngliche Wand-  
dicke wesentlich verringert wurde. Zum Theil mag auch die  
schwache Quellung der Wand und vielleicht auch ein gewisser  
Substanzverlust mit an der Verminderung der Festigkeit be-  
theiligt sein. Sie ist namentlich bei jenen Kartoffelsorten sehr  
deutlich, deren Zellen klein und zartwandig sind, während die  
Zellwände der aus grossen und derbwandigen Zellen aufgebauten  
Sorten, selbst bei lange währendender Einwirkung des Malzaus-  
zuges, ziemlich fest bleiben. Die durch leichtes Tupfen auf das  
Deckglas erhaltenen getrennten Zellen zeigen, undeutlich im  
ungefärbten, sehr deutlich im gefärbten Zustande, jene zier-  
lichen, aus Verdickungsleisten gebildeten Rahmen, welche zuerst  
von L. Mangin<sup>1)</sup> an getrennten Parenchymzellen beschrieben  
worden sind und nach ihm aus pektinsaurem Kalk bestehen  
sollen. Innerhalb dieser Rahmen treten infolge der Färbung  
zahlreiche Tüpfel hervor, von denen die grösseren häufig zierlich  
und regelmässig angeordnete Maschen zeigen, die durch ent-  
sprechende Leisten getrennt sind<sup>2)</sup>. Diese Tüpfel sind nicht  
etwa erst durch die Wirkung des Malzauszuges entstanden,  
sondern können auch im ursprünglichen Gewebe durch Färbung  
leicht sichtbar gemacht werden. L. Mangin hat in einer Reihe  
von Arbeiten<sup>3)</sup> gezeigt, dass die Mittellamelle unverholzter und  
unverkorkter parenchymatischer Dauergewebe aus einer von der  
Cellulose wesentlich verschiedenen Substanz bestehe, welche er

<sup>1)</sup> L. Mangin. Sur la substance intercellulaire. *Compt. rend.* **110**  
1890. 225.

<sup>2)</sup> Sie haben einige Aehnlichkeit mit den von Baranetzki be-  
schriebenen Netztüpfeln. *Annal. des Sciences Naturelles.* 7. Sér., Bot. **4**  
1886. 135. Eine nähere Beschreibung dieser Verhältnisse wird an einem  
anderen Orte veröffentlicht werden.

<sup>3)</sup> Sur la constitution de la membrane des végétaux, *Compt. rend.*  
**107** (1888) 144. — Sur la présence des composés pectique dans les vé-  
gétaux, a. a. O. **109** (1889) 579. — Sur la substance intercellulaire a. a.  
O. **110** (1890) 295.

anfangs Pektose<sup>1)</sup> nannte, später aber als pektinsauren Kalk bezeichnet. Zwar sind die Beweise Mangin's für die chemische Natur dieser Substanz etwas mangelhaft, aber es geht doch aus seinen Untersuchungen zweifellos hervor, dass sie sich von der Cellulose, abgesehen von ihrem sonstigen Verhalten, auch durch die Leichtigkeit unterscheidet, mit der sie sich hydrolysiren und in lösliche Verbindungen überführen lässt. Das beschriebene Verhalten des Kartoffelparenchym's zu einem Malzauszug berechtigt daher im Zusammenhalt mit den Mangin'schen Angaben zu der Vermuthung, dass seine Mittellamelle aus einer leicht hydrolysirbaren Hemicellulose, die übrige Wand dagegen ganz oder zum grössten Theil aus Cellulose bestehen dürfte. In der That bestätigt sich dies durch das Verhalten gegen verdünnte Salzsäure. Es genügt, Schnitte durch Kartoffeln durch 15 Minuten mit einer Salzsäure von 0,1% zu kochen, um sie genau in den gleichen Zustand zu versetzen, wie er durch Behandlung mit Malzauszug hervorgebracht wird. Auch in diesem Falle ist die Mittellamelle gelöst, die Zellen trennen sich durch leichten Druck, ihre Wand ist weich, schlaff und wird leicht faltig. Es wurden dieselben Sorten, deren Verhalten gegen Malzauszug geprüft worden war, auch auf ihr Verhalten gegen Salzsäure geprüft. Sie wurden mit der 0,1 procentigen Salzsäure sowohl durch 15 Minuten als auch durch eine Stunde gekocht und um eine noch kräftigere Wirkung zu erzielen, wurden sie auch mit einer 0,4 procentigen Säure durch eine Stunde behandelt. Das Ergebniss war jedoch bei allen diesen Versuchen im Wesentlichen gleich. Niemals konnte ein Zerfallen der Wände in kleinere Theilchen beobachtet werden, vielmehr beschränkte sich die Wirkung auf die schon geschilderten Erscheinungen. Die kleinen Unterschiede im Verhalten der verschiedenen Sorten, welche bei der Behandlung mit Malz zu Tage getreten waren, kamen auch hier in gleichem Sinne zum Ausdruck.

<sup>1)</sup> Mangin sagt ausdrücklich, dass diese Substanz nicht alle Eigenschaften besitze, welche ihr nach Fremy, ihrem Entdecker, zukommen (a. a. O. 107).

Infolge dieser leichten Hydrolysirbarkeit der Mittellamelle muss man also die Substanz, aus welcher sie besteht, zu den Hemicellulosen im Sinne E. Schulze's rechnen. Es widerspricht dies nicht der von Mangin gemachten Angabe, dass sie aus einer Pektinverbindung bestehe: denn die in Wasser unlöslichen Pektinstoffe fallen vermöge ihrer Eigenschaften ebenfalls unter den Begriff der Hemicellulosen. Sie werden, wie diese, von verdünnten Säuren leicht hydrolysiert und geben, gleich ihnen, beim Verzuckern Galaktose und Arabinose<sup>1)</sup>. Mit dieser Erkenntniss ist selbstverständlich noch kein Einblick in die nähere chemische Natur der Mittellamelle des Kartoffelparenchyms gewonnen, denn einerseits zeigen die bis jetzt untersuchten Hemicellulosen so wesentliche Verschiedenheiten in ihren Eigenschaften, dass E. Schulze die Aufstellung von Unterabtheilungen in dieser Gruppe für nothwendig hält<sup>2)</sup>, andererseits ist die von Mangin behauptete Zusammensetzung aus Pektinverbindungen nicht mit genügender Sicherheit erwiesen. Für die Zwecke dieser Arbeit ist indess ein solcher Einblick nicht erforderlich, denn es genügt völlig, nachgewiesen zu haben, dass die untersuchte Mittellamelle nicht aus Cellulose, sondern aus einer ungewöhnlich leicht hydrolysirbaren Hemicellulose besteht.

Die gleichen Versuche, welche hier mit Kartoffelknollen beschrieben sind, wurden auch mit der Wurzel einer Möhre ausgeführt. Sie führten in allen wesentlichen Punkten zu dem gleichen Ergebniss.

Brown und Morris haben noch parenchymatische Gewebe anderer Pflanzen auf ihr Verhalten zu der angenommenen Cytase untersucht. Diese Versuche wurden indess nicht wiederholt, da die vorliegenden Thatsachen völlig genügen, um zu beweisen, dass es sich bei allen Lösungen durch dieses Enzym nicht um Cellulose, sondern um wesentlich leichter hydrolysirbare Kohlenhydrate handelt. Dass thatsächlich solche Kohlenhydrate in

1) S. Lippmann, d. Chemie d. Zuckerarten, 2. Aufl., S. 926 u. 927.

2) Zeitschrift für physiolog. Chemie, 19. (1894) 68.

pflanzlichen Zellwänden allgemein verbreitet sind, hat Mangin in seinen früher angeführten Arbeiten nachgewiesen<sup>1)</sup>.

Durch die hier beschriebenen Untersuchungen über die Zellwände des Mehlkörpers der Gerste und des Parenchyms der Kartoffelknollen und der Möhre ist somit zunächst die Frage beantwortet, welcher Natur jene Zellwände sind, die von einem Malzauszuge durch Hydrolyse gelöst werden. Die Antwort geht dahin, dass die Lösung immer nur solche Zellwände oder Wandanteile betrifft, welche aus leicht hydrolysirbaren Hemicellulosen bestehen.

## 2. Verhalten reiner Cellulose zu einem Luftmalzauszug.

Die vorstehenden Untersuchungen über die Lösung gewisser Zellwände durch einen Luftmalzauszug haben gleichzeitig ergeben, dass solche Zellwände, welche der Hydrolyse durch verdünnte Säuren widerstehen, also offenbar aus Cellulose bestehen, von der im Malzauszug angenommenen Cytase, soweit sich dies durch Beobachtung unter dem Mikroskop feststellen lässt, nicht angegriffen werden. Da aber auf diesem Wege nicht der sichere Beweis erbracht werden kann, ob durch die Enzymwirkung nicht wenigstens ein Theil der Wandsubstanz gelöst worden ist, wie am besten der äusserst zweifelhafte Versuch von Brown und Morris mit Papier beweist, so müsste, um hierüber volle Klarheit zu schaffen, zur gewichtsanalytischen Untersuchung gegriffen werden. Es musste eine rein dargestellte Cellulose mit dem Malzauszug behandelt und ihre dadurch etwa herbeigeführte Gewichtsveränderung festgestellt werden. Die Ausführung der für diesen Zweck erforderlichen Versuche verdanke ich zum grossen Theil der Güte des Herrn Felix

<sup>1)</sup> Dass es sich bei diesen Kohlenhydraten nicht immer um pektinsäuren Kalk handelt, wie Mangin glaubt, folgt u. A. auch aus dem ungleichen Verhalten der Mittellamelle der Zuckerrüben einerseits und der Kartoffeln und Möhren andererseits gegen die Cytase. Die Mittellamelle der letzteren wird gelöst, die der ersteren, nach Brown und Morris, nicht. Es können daher nicht beide aus derselben Substanz bestehen, sondern müssen mindestens aus verschiedenen Pektinverbindungen aufgebaut sein, wenn ihre Verschiedenheit nicht noch grösser ist.

Bassler, dem ich hiermit für diese Unterstützung meinen besten Dank sage.

Die Darstellung der Cellulose wurde nach dem sogenannten Weender Verfahren ausgeführt. Die durch Zerreiben des betreffenden Pflanzentheils, sowie durch Kochen und Auswaschen mit Wasser erhaltene Rohcellulose wurde eine halbe Stunde lang mit 1¼ procentiger Schwefelsäure und dann zweimal ebenso lange mit Wasser gekocht, hierauf in der gleichen Weise mit 1¼ procentiger Kalilauge und abermals mit Wasser behandelt, durch aufeinanderfolgendes Kochen und Waschen mit Wasser und dann mit Alkohol völlig erschöpft und nach dem Waschen mit Aether schliesslich bei 100° C. getrocknet. Man erhält so eine Cellulose, die in den meisten Fällen frei von Hemicellulosen ist. Es sind aber die verschiedenen Hemicellulosen nicht in gleichem Grade leicht löslich in verdünnten Säuren und Alkalien <sup>1)</sup> und daher die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, dass manche der dargestellten Substanzen noch kleine Mengen von Hemicellulosen enthielten. Es ist um so wahrscheinlicher, dass einzelne solche Fälle vorgekommen sind, als manche der erhaltenen Präparate harte, zusammengebackene Massen darstellten, während die meisten weisse lockere Pulver bildeten. Es mag hier noch bemerkt werden, dass bei der Darstellung auf die von E. Schulze entdeckten Cellulosen, die bei der Hydrolyse nicht Dextrose, sondern Mannose oder Xylose geben <sup>2)</sup>, keine Rücksicht genommen wurde, da sie gegen die Hydrolyse durch Säuren fast ebenso widerstandsfähig sind wie die gewöhnliche Cellulose und deshalb zu erwarten ist, dass sie in ihrem Verhalten gegen einen Malzauszug von dieser nicht abweichen werden.

Bei der Auswahl der Rohstoffe für die Darstellung der Cellulose wurde derart vorgegangen, dass die verschiedenen Grade der Widerstandsfähigkeit der Zellwände gegen die Cytase entsprechend den Angaben von Brown und Morris vertreten waren. Es wurde gewählt: Apfelellulose, die von der Cytase

<sup>1)</sup> E. Schulze, Ueber die Cellulose, Chemiker-Ztg. 1895, 1467.

<sup>2)</sup> Ztschr. f. physiol. Chemie 16, 1892, 428—436.

gar nicht angegriffen werden soll; Papier- und Baumwollcellulose, die nur schwach angegriffen werden soll, und endlich Cellulose aus Kartoffeln und Steckrüben, die durch Cytase zum grössten Theil in Lösung gehen soll. Für einige Versuche wurden zur Darstellung der Cellulose echte Leinwand und chinesisches Markpapier als Rohstoff verwendet. Der erforderliche Luftmalzauszug wurde in der Weise bereitet, dass ein bei 15–20° C. an freier Luft möglichst rasch getrocknetes Luftmalz gut zerrieben und durch eine halbe Stunde mit dem vierfachen Gewichte Wasser ausgelaugt wurde. Die bei 100° C. bis zu ständigem Gewicht getrockneten Cellulosen wurden in den geräumigen Wägegläsern mit dem völlig klaren Malzauszug übergossen, unter eine Glocke gebracht, in welcher ein offenes, mit Chloroform gefülltes Gefäss stand, und das Ganze in einem geräumigen Trockenkasten bei 30–35° C. längere Zeit stehen gelassen. Bei den ersten so ausgeführten Versuchen zeigte es sich, dass der Malzauszug infolge der Erwärmung einen Niederschlag fallen liess, der durch Behandeln mit einprocentiger Kalilauge nicht ganz sicher entfernt werden konnte. Da dieser Niederschlag die behandelte Cellulose verunreinigte, war eine volle Sicherheit über die Art ihrer Gewichtsänderung nicht zu erreichen. Es wurde daher für die folgenden Versuche der Malzauszug vorher erst bei 35–38° C. durch 24 Stunden im Chloroformdampf stehen gelassen und dann von dem entstandenen Niederschlag befreit. Die mit dieser Lösung in der geschilderten Weise behandelten Cellulosen wurden zuerst mit kaltem Wasser völlig ausgewaschen, dann mit heissem Wasser, kaltem Alkohol und Aether behandelt und bei 100° bis zu ständigem Gewicht getrocknet. Bei zwei Versuchsreihen wurden auf diese Weise folgende Zahlen erhalten:

Rohstoff, aus dem die Cellulose gewonnen ist.	Nummer des Versuchs.	Menge der Substanz.	Gewichtsabnahme von 100	Gewichtszunahme von 100
Baumwolle.	1	1.2847 gr.	—	0.01
Apfel.	* 1	0.0583 gr.	1.37	—
Apfel.	2	0.0575 gr.	5.91	—

Rohstoff, aus dem die Cellulose gewonnen ist.	Nummer des Versuchs.	Menge der Substanz.	Gewichtsabnahme von 100	Gewichtszunahme von 100
Steckrübe.	1	0.2012 gr.	1.54	—
Steckrübe.	2	0.1981 gr.	—	0.05
Filterpapier.	1	0.3781 gr.	2.11	—
Filterpapier.	2	0.3711 gr.	1.64	—
Kartoffel.	1	0.0832 gr.	8.53	—
Kartoffel.	2	0.4991 gr.	0.28	—

Aus diesen Zahlen ersieht man zunächst, dass die Gewichtsabnahmen überhaupt nur sehr geringfügig sind, ja in zwei Fällen sogar eine geringe Zunahme stattgefunden hat. Die kleineren Gewichtsschwankungen sind offenbar nur Versuchsfehler, wie schon daraus folgt, dass die Gewichtsabnahme dort am grössten ist, wo für den Versuch die geringste Gewichtsmenge Cellulose in Verwendung kam, wie bei den Versuchen mit der Apfelellulose und dem ersten Versuch mit der Kartoffellellulose, und dass sie umgekehrt dort am kleinsten ist, wo die grösste Menge Cellulose verwendet worden war, wie bei dem Versuch mit Baumwolle und dem zweiten Versuch mit der Kartoffel. Offenbar handelt es sich hier um kleine Substanzverluste, die durch das oft wiederholte Auskochen und Auswaschen und das damit verbundene Uebertragen in verschiedene Gefässe hervorgerufen worden sind und die bei der geringen Menge der verwendeten Cellulose sehr ins Gewicht fallen. So entspricht z. B. die Gewichtsabnahme von 5,91% im zweiten Versuch mit der Apfelellulose einem Gewichtsverlust von nur 3,4 mgr. Dazu kommt noch, dass die völlig getrocknete Cellulose, wie auch das bei 100° getrocknete Filter, auf dem sie aufgefangen und gewogen wurde, ziemlich hygroskopisch sind, so dass die Ermittlung ihres Gewichts immer etwas unsicher ist. Um die Grösse dieser Versuchsfehler ungefähr zu bestimmen, wurden 0.0544 gr. Apfelellulose genau so wie bei den Lösungsversuchen behandelt, aber die Einwirkung des Malzauszuges weggelassen. Es ergab sich dabei ein Gewichtsverlust von 2.5 mgr. d. i. 4.34%. Die meisten der erhaltenen

Zahlenwerthe liegen innerhalb dieser Fehlergrenze, sind also jedenfalls Versuchsfehler.

Es fällt ferner bei Betrachtung dieser Zahlen auf, dass sie mit den Angaben von Brown und Morris über den verschiedenen Grad der Angreifbarkeit der aus verschiedenen Rohstoffen stammenden Cellulosen nicht im geringsten übereinstimmen, denn es müsste, wenn dies der Fall sein sollte, die Apfelcellulose am wenigsten, die Papier- und Baumwollcellulose mehr und die Cellulose aus der Kartoffel und Steckrübe am meisten verloren haben, was durchaus nicht zutrifft.

Die Gewichtsverluste sind aber jedenfalls zum Theil auch darauf zurückzuführen, dass die angewandten Cellulosen nicht in allen Fällen ganz frei von Hemicellulosen waren, da diese durch das Weender Verfahren, wie schon oben erwähnt wurde, nicht immer völlig entfernt werden. Ganz besonders hat dabei auch noch der Umstand mitgewirkt, dass nicht nur Hemicellulosen, sondern auch Cellulose selbst durch die Behandlung mit Kalilauge etwas hydrolysiert und dadurch der lösenden Wirkung des Enzyms zugänglicher wird. Dass dies wirklich der Fall ist, folgt aus Beobachtungen, die von E. Kern<sup>1)</sup> und von E. Winterstein<sup>2)</sup> gemacht worden sind. Ersterer hat gefunden, dass Cellulose aus Papier durch Kochen mit 1 1/4 procentiger Schwefelsäure fast gar nicht angegriffen wird, wohl aber in sehr erheblichem Grade, wenn man sie zuvor mit 1 1/4 procentiger Kalilauge gekocht hat. Letzterer hat dasselbe bei Cellulose aus Tannenholz beobachtet, die nach dem Stehen mit 5procentiger Natronlauge durch Behandeln mit kochender 1 1/4 procentiger Schwefelsäure weit mehr verlor, als vor diesem. Da nun bei den vorliegenden Versuchen die Cellulosen stets zuerst mit Schwefelsäure, dann mit Kalilauge und schliesslich mit Malzauszug behandelt worden sind, so ist es zweifellos, dass sie nach der Behandlung mit Kalilauge geringe Mengen solcher Substanzen enthalten haben, die von dem Malzauszug gelöst werden konnten, die aber jedenfalls nicht als

1) Journ. f. Landwirtschaft. 1876 S. 19.

2) Ztschr. f. physiol. Chem. 17 (1893) 393.

Cellulose bezeichnet werden können, sondern eher den Namen von Hemicellulosen verdienen. Dass thatsächlich diese Substanzen von dem Malzauszug herausgelöst werden, folgt aus der Beobachtung, dass bei zwei aufeinanderfolgenden Behandlungen derselben Substanz mit Malzauszug der Gewichtsverlust bei der zweiten Behandlung stets geringer war, als bei der ersten, wie die folgenden Beispiele zeigen:

Rohstoff, der zur Darstellung der Cellulose gedient hat.	Nummer des Versuchs.	Menge der Sub- stanz.	Gewichts- abnahme von 100	Gewichts- zunahme von 100
Steckrübe.	1	0,2012	1,54	—
Steckrübe.	2	0,1981	—	0,05
Steckrübe.	1a	1,1890	1,84	—
Steckrübe.	2a	1,1670	1,11	—
Apfel.	1	0,7490	5,08	—
Apfel.	2	0,7111	0,82	—
Chines. Markpapier.	1	0,3593	1,92	—
Chines. Markpapier.	2	0,3524	0,53	—
Leinenfaser.	1	3,0325	0,37	—
Leinenfaser.	2	2,9671	0,16	—
Filtrirpapier.	1	0,3781	2,11	—
Filtrirpapier.	2	0,3711	1,64	—

Bei diesen Versuchen wurde offenbar durch die erste Behandlung mit dem Enzym der grössere Theil der noch vorhandenen Hemicellulose herausgelöst, so dass bei der zweiten Behandlung nur noch geringe Mengen löslicher Substanzen vorhanden waren.

Es kann also wohl als zweifelloses Ergebniss dieser Versuche der Satz aufgestellt werden, dass Cellulose von einem Luftmalzauszug nicht gelöst wird, woraus weiter mit grosser Wahrscheinlichkeit folgt, dass auch die darin angenommene Cytase nicht die Fähigkeit hat, Cellulose zu lösen. Gegen diesen Schluss könnte indessen noch der Einwand erhoben werden, dass die im Malzauszug vorhandenen löslichen Kohlenhydrate die Enzymwirkung geschwächt oder aufgehoben haben, wie dies nach Brown und Morris Rohrzucker thatsächlich thut.

der dass der Enzymgehalt der Lösung nicht gross genug war, um eine stärkere Wirkung hervorzurufen. Um diesem Einwande zu begegnen, wurden daher die Versuche noch mit einer reinen Fermentlösung wiederholt, wodurch gleichzeitig die Möglichkeit gegeben war, eine gehaltreichere Lösung zu verwenden. Nach Brown und Morris kann man die Cytase aus Luftmalz in derselben Weise darstellen wie Diastase und erhält dann ein Gemenge beider Enzyme<sup>1)</sup>.

Es wurde daher nach dem von Lintner<sup>2)</sup> zur Darstellung von Rohdiastase angegebenen Verfahren ein Enzym aus Luftmalz hergestellt und als weisses Pulver erhalten, das von der Hauptmasse der Kohlenhydrate befreit ist. Eine weitere Reinigung wurde unterlassen, um dem Einwurfe zu begegnen, dass hierdurch etwa die Cytase entfernt worden sein konnte. Es wurde nun eine Lösung dieses Präparates von bekanntem Gehalt bei 35–38° C. im Chloroformdampf stehen gelassen und aus der Menge des entstandenen Niederschlages der Enzymgehalt der klaren Lösung auf 2,7% berechnet. Da die früher verwendeten Malzauszüge höchstens 0,9% Enzym enthalten hatten, so war also diese Lösung nicht nur von der Hauptmasse der Kohlenhydrate befreit, sondern auch etwa dreimal so stark als die früher verwendeten Malzauszüge. Mit ihr wurden nun wieder vier reine Cellulosen bei 35° C. im Chloroformdampf durch 30 Stunden behandelt und dabei folgende Werthe erhalten:

Art des Rohstoffs	Menge der reinen Cellulose	Verlust von 100
Brennwand . . . . .	2,9671	0,16
Markpapier . . . . .	0,3524	0,35
Steckrübe . . . . .	1,1670	0,11
Mittel . . . . .	0,7141	0,82

<sup>1)</sup> a. a. O. S. 500.

<sup>2)</sup> Lintner, Studien über Diastase, Journ. f. prakt. Chemie **142**, 386.

Aus diesen Zahlen folgt mit voller Sicherheit, dass die im Luftmalze angenommene Cytase nicht die Fähigkeit hat, Cellulose zu lösen.

### 3. Das angebliche Vorkommen von Cytase in der keimenden Gerste.

Brown und Morris führen für ihre Annahme, dass in der keimenden Gerste neben der Diastase noch ein zweites, und zwar ein cellulöselösendes Enzym, die Cytase, vorkomme, zwei Gründe an, nämlich: einerseits die Erscheinung, dass in der keimenden Gerste die Lösung der Zellwände jener der Stärkekörner voraussetzt, und andererseits den Umstand, dass ein Luftmalzauszug bei halbstündigem Erhitzen auf 60° C. seine Fähigkeit, Zellwände zu lösen, völlig verliert<sup>1)</sup>. Es wurde bereits gezeigt, dass der erste dieser Gründe nicht stichhaltig ist, da die raschere Lösung der Zellwände durch ihre besondere chemische Zusammensetzung und ihre grosse Zartheit verursacht wird, somit der Grund für ihr Verhalten in ihnen selbst liegt und nicht in dem auf sie einwirkenden Enzym. Es wurde ferner dargethan, dass ein **cellulöselösendes** Enzym im Luftmalzauszug überhaupt nicht vorkommt, da dieser nur die Eigenschaft hat, gewisse Hemicellulosen, nicht aber Cellulose zu lösen. Da es sich bei dieser Lösung um ungewöhnlich leicht hydrolysirbare Hemicellulosen handelt, die in dieser Hinsicht der Stärke sehr nahe stehen, so liegt die Vermuthung nahe, dass ihre Lösung nicht erst durch ein besonderes Enzym bewirkt werde, sondern dass sie, wie bei der Stärke, durch Diastase erfolge. Dieser Vermuthung steht aber das eigenthümliche Verhalten der Enzymlösung beim Erwärmen auf 60° C. im Wege. Da dieses Verhalten die einzige Stütze für die Annahme eines zweiten Enzyms im Luftmalzauszuge ist, musste es noch einmal genauer untersucht werden.

Zu diesem Behufe wurde ein Theil eines Luftmalzauszuges im Wasserbade durch 45 Minuten genau auf 60° C. erwärmt. Erwärmt man so lange, und nicht bloss 30 Minuten, wie Brown und Morris angeben, so zieht sich die entstandene

<sup>1)</sup> a. a. O. S. 502

Trübung in grosse Flocken zusammen und die Flüssigkeit geht völlig klar durchs Filter, während bei bloss halbstündigem Erhitzen die Flüssigkeit auch bei noch so oftmaligem Filtriren stets trüb bleibt. Dies sei die Lösung I. Ein anderer Theil des Luftmalzauszuges blieb unerwärmt: er heisse Lösung II. In beide Lösungen wurden dünne Schnitte aus dem Mehlkörper der Gerste gebracht, die gut ausgepinselt und einmal aufgeköcht worden waren, um die Stärke zu verkleistern. Hierauf wurden sie im Chloroformdampf bei 28–29°C. stehen gelassen und nach je 24 Stunden untersucht. Nach den ersten 24 Stunden waren die Zellwände in der Lösung II schon sehr stark angegriffen, in der Lösung I aber nicht wahrnehmbar verändert. Nach 48 Stunden war der grösste Theil der Wände in II gelöst und in Lösung I zeigten sich die Zellwände nunmehr ebenfalls stark angegriffen und zwar nahezu ebenso stark, als in der Lösung II vor 24 Stunden. Das erhitzte Enzym bleibt also in seiner Wirkung um ungefähr 24 Stunden gegenüber dem frischen zurück. Dieses Verhältniss bleibt auch in der Folge bestehen, denn während nach 72 Stunden in der Lösung II Alles gelöst ist, sind in der Lösung I noch ungelöste Theile zu finden, die erst nach weiteren 24 Stunden völlig verschwinden. Durch das Erhitzen auf 60°C. verliert also der Malzauszug die Fähigkeit nicht gänzlich, die Zellwände des Gerstenmehlkörpers zu lösen, sondern sie wird dadurch nur geschwächt. Diese Abschwächung ist aber, für sich allein, noch kein ausreichender Grund, im Malzauszug neben der Diastase noch eine besondere Cytase anzunehmen, denn auch von jener ist es bekannt, dass ihr Fermentativ-Vermögen für Stärke durch Erhitzen beträchtlich geschwächt wird. So fand Lintner, dass eine Diastaselösung, welche 40 Minuten auf 55°C. erhitzt worden war, nur noch ein Drittel des ursprünglichen Fermentativ-Vermögens hatte und, wenn das Erwärmen 60 Minuten dauerte, nur noch ein Viertel davon zurückbehielt<sup>1)</sup>. Es ist also nichts Auffallendes, wenn auch die

<sup>1)</sup> Lintner, Studien über Diastase, Journ. f. prakt. Chemie, **144**, 490. Siehe auch Lippmann, Chemie der Zuckerarten, 2. Aufl. S. 879.

Fähigkeit eines Malzauszuges, Hemicellulosen zu lösen, durch Erhitzen beträchtlich abnimmt. Hieraus folgt somit, dass die Gründe, welche Brown und Morris zu der Annahme des Bestehens der Cytase führten, nicht stichhaltig sind, und es kann nur noch die Frage aufgeworfen werden, ob es noch andere Gründe gibt, die eine solche Annahme wahrscheinlich machen. Hierauf lässt sich erwidern, dass nur ein Grund hierfür geltend gemacht werden könnte, nämlich die chemische Verschiedenheit der hier in Betracht kommenden Hemicellulosen einerseits und der Stärke andererseits. Da jedoch diese Verschiedenheit sicherlich nur gering ist und bei beiden Substanzen die Lösung durch Hydrolyse erfolgt, und da es ferner weder Brown und Morris noch jemandem Anderen gelungen ist, die vermuthete Cytase von der Diastase zu trennen und für sich darzustellen, so erscheint es nach unseren gegenwärtigen Kenntnissen nicht berechtigt, im Malzauszug das Bestehen eines von der Diastase verschiedenen Enzyms anzunehmen, welches die Fähigkeit hat, leicht hydrolysirbare Hemicellulosen zu lösen. Diese Fähigkeit muss vielmehr der Diastase selbst zugeschrieben werden.

Doch muss hier ausdrücklich hervorgehoben werden, dass Diastase jedenfalls nicht die Fähigkeit hat, jede Hemicellulose zu lösen, sondern dass es zahlreiche Hemicellulosen gibt, die von Diastase entweder gar nicht oder nur sehr langsam angegriffen werden. Alle von E. Schulze und seinen Schülern untersuchten Hemicellulosen gehören wahrscheinlich hierher. Ebenso das von E. Winterstein untersuchte Amyloid. Für sie wurde ihre Widerstandsfähigkeit gegen Diastase entweder durch besondere Versuche festgestellt, wie für die Hemicellulose der Lupine<sup>1)</sup> und für das Amyloid<sup>2)</sup>, oder sie folgt von selbst aus ihrer Darstellung, da jene unter ihnen, welche aus stärkehaltigen Rohstoffen gewonnen wurden, stets zur Entfernung der Stärke mit einem Malzauszug behandelt worden waren. Für die übrigen

<sup>1)</sup> Schulze, Steiger und Maxwell, zur Chemie der Pflanzenmembranen. Ztschr. f. physiol. Chem. **14**, 239.

<sup>2)</sup> E. Winterstein, Ueber das pflanzliche Amyloid. Ztschr. f. physiol. Chemie. **17** (1893) 361.

ist ein gleiches Verhalten zwar nicht ausdrücklich festgestellt worden, doch nach ihren sonstigen Eigenschaften sehr wahrscheinlich. Da diese Hemicellulosen, soweit sie in Samen vorkommen, bei deren Keimung gelöst werden, so ist es nicht nur möglich, sondern auch sehr wahrscheinlich, dass diese Samen hierbei ein besonderes Enzym erzeugen, das ihre Hemicellulosen kräftig zu hydrolysiren vermag und das verschieden von der Diastase der Gerste ist. Die Wahrscheinlichkeit einer solchen Annahme wird dadurch noch grösser, dass es sich in diesen Fällen um Hemicellulosen handelt, die der Cellulose weit näher stehen als dies bei jener Hemicellulose der Fall ist, welche die Zellwände des Mehlkörpers der Gerste zusammensetzt oder die Mittellamelle der Kartoffeln und Möhren bildet. Dieses Enzym hätte dann annähernd die Eigenschaften der von Brown und Morris in der Gerste angenommenen Cytase und könnte somit auch deren Namen erhalten, falls es in diesen Samen wirklich gefunden wird. Von Grüss ist allerdings, wie schon einmal erwähnt wurde<sup>1)</sup>, beobachtet worden, dass die Hemicellulose der Dattel auch von der Gerstendiastase angegriffen werde, doch geschah dies erst nach mehrmonatlicher Einwirkung. Es schliesst dies also die Möglichkeit nicht aus, dass auch in diesem Falle der keimende Same ein eigenes, kräftiger wirkendes Enzym erzeugt.

Ferner mag hier noch einmal darauf hingewiesen werden, dass auch in der Gerste selbst Hemicellulosen vorkommen, welche von der Diastase nicht angegriffen werden<sup>2)</sup>, nämlich in der Kleberschicht.

Aus diesen Thatsachen ist ersichtlich, dass die Hemicellulosen nach ihrem Verhalten gegen Diastase in 2 Gruppen zerfallen, nämlich: 1. in solche, die von Diastase nicht angegriffen werden, und 2. in solche, die durch Diastase ziemlich rasch in lösliche Verbindungen überführt werden. Ueber die Vertreter der ersten Gruppe sind bereits ausführliche und eingehende Arbeiten geliefert worden, welche ihre grosse Verbreitung im Pflanzenreiche wahrscheinlich machen und auch

1) Siehe früher Seite 306.

2) Siehe früher Seite 314—316.

über ihre Zusammensetzung und ihre Eigenschaften sehr werthvolle Aufschlüsse gegeben haben. Dagegen sind die Glieder der zweiten Gruppe bis jetzt noch sehr unvollkommen und unvollständig bekannt, es ist aber sehr wahrscheinlich, dass auch sie im Pflanzenreiche sehr verbreitet sind und sich sehr oft am Aufbau der Zellwände betheiligen. Wahrscheinlich dürften die meisten jener Substanzen, die Mangin in seinen früher angeführten Arbeiten als Pektinstoffe bezeichnet hat, hierher gehören, wie sich einerseits aus ihrem Verhalten gegen verdünnte Säuren vermuthen lässt, andererseits daraus, dass die Zellwände der Kartoffeln und Möhren, deren Mittellamelle nach der vorliegenden Arbeit aus diesen Hemicellulosen besteht, nach Mangin ebenfalls jene Pektinstoffe enthalten sollen. Es können jedoch durchaus nicht alle in Wasser unlöslichen Pektinstoffe mit den Gliedern dieser zweiten Gruppe der Hemicellulosen übereinstimmend erklärt werden, da z. B. die Zellwände der Zuckerrüben nach Brown und Morris von Diastase gar nicht angegriffen werden, während gerade diese sehr oft zur Darstellung von Pektinverbindungen verwendet worden sind.

Für die weite Verbreitung der durch Diastase hydrolyisierbaren Hemicellulosen spricht auch noch eine Beobachtung, die im Laufe dieser Arbeit gelegentlich gemacht worden ist. Es wurde nämlich der Versuch gemacht, aus dem obersten, etwa 10 cm langen Stücke jugendlicher Maispflanzen, die bei ungenügendem Lichtzutritt erwachsen waren, nach dem Weender Verfahren Cellulose darzustellen, wobei sich herausstellte, dass bei dem Kochen mit 1¼procentiger Schwefelsäure die Wände fast sämtlicher jugendlicher Parenchymzellen gelöst wurden und der Rückstand nur noch aus Gefässen, Schraubenbändern und dünnen Bastzellen, sowie den Wänden der älteren Parenchymzellen bestand. Es bestehen also nur diese aus Cellulose, während die Wände der jüngeren Parenchymzellen aus Hemicellulosen aufgebaut sind. Es wurde nun das Weender Verfahren in der Weise abgeändert, dass die Behandlung mit 1¼procentiger Schwefelsäure in der Kälte statt in der Wärme vorgenommen wurde, wodurch es gelang, auch diese leicht

angreifbaren Zellwände zu erhalten, so dass das gewonnene Präparat neben Cellulose nun auch Hemicellulosen enthielt<sup>1)</sup>. Diese so gereinigten Zellwände wurden nun mit einer aus Darrmalz nach dem Lintner'schen Verfahren dargestellten Diastase behandelt. Die Diastaselösung enthielt nach 24-stündigem Erwärmen auf 38—40° C. ungefähr 2,5% Enzym. Nach 24-stündiger Behandlung mit dieser Lösung bei 30—35° C. verloren die Zellwände 14,24% und als der Rückstand in gleicher Weise noch mit einer Grünmalzdiastase behandelt wurde, verlor er noch weitere 3,69%, somit im Ganzen fast 18%.<sup>2)</sup> Die Wände der Parenchymzellen waren aus ihm zum grössten Theil verschwunden. Es bestehen somit die jüngsten Zellwände des Maises aus Hemicellulosen der zweiten Gruppe und es ist leicht möglich, dass bei vielen anderen Pflanzen gleiche oder ähnliche Verhältnisse herrschen.

Das Vorkommen von Hemicellulosen, die von Diastase gelöst werden, vermag vielleicht auf manche bisher nicht erklärte Erscheinung ein neues Licht zu werfen. Hier mag z. B. darauf hingewiesen werden, dass Brandpilze nur in keimende Gräser einzudringen vermögen, während ältere Pflanzen von ihnen nicht mehr angegriffen werden. Wahrscheinlich sind die Zellwände der Keimpflanze aus diesen Hemicellulosen aufgebaut und das diastatische Enzym des keimenden Brandpilzes vermag sie daher zu lösen, so dass der Pilz die Zellhaut durchbohren kann. Die aus Cellulose bestehende Wand der älteren Pflanze dagegen kann von dem Enzym nicht mehr gelöst werden und leistet daher dem Eindringen des Pilzes erfolgreichen Widerstand.

Der Zweck der vorliegenden Arbeit, die Eigenschaften eines celluloselösenden Enzyms kennen zu lernen, ist leider nicht erreicht worden, da es sich herausgestellt hat, dass die keimende Gerste kein solches enthält, und es müssen daher andere Quellen für die Gewinnung grösserer Mengen eines

1) Die Abwesenheit von Stärke wurde durch Jod besonders festgestellt.

2) Auch diese zwei Bestimmungen verdanke ich der Güte des Herrn Felix Bassler.

solchen Enzymes aufgesucht werden<sup>1)</sup>. Trotzdem dürften die Ergebnisse zur Klärung in der Frage der Zellwandlösungen beitragen und zu weiteren Untersuchungen anregen. Sie lassen sich in folgende Sätze zusammenfassen:

1. Die von Brown und Morris in der keimenden Gerste angenommene Cytase kommt in ihr nicht vor. Die Gerste erzeugt kein von der Diastase verschiedenes Enzym, das Cellulose oder Hemicellulosen zu lösen vermöchte.
2. Die Diastase der keimenden Gerste hat die Fähigkeit, gewisse, sehr leicht hydrolysirbare Hemicellulosen zu lösen. Durch Erwärmen auf 60° C. wird diese Fähigkeit abgeschwächt, aber nicht völlig vernichtet.
3. Diese leicht hydrolysirbaren Hemicellulosen sind im Pflanzenreiche wahrscheinlich sehr verbreitet. Sie setzen die Zellwände des Mehlkörpers der Gerste zusammen, bilden die Mittellamelle im Parenchym der Kartoffelknollen und Möhren und die Zellwände der jugendlichen Parenchymzellen des keimenden Maises.
4. Es gibt jedoch auch zahlreiche Hemicellulosen, die von der Diastase der keimenden Gerste nicht angegriffen werden. Die Wände der Kleberschicht der Gerste enthalten neben kleinen Mengen von Cellulose grösstentheils eine derartige Hemicellulose.
5. Diejenigen Samen, in denen die zuletzt genannten Hemicellulosen in Form von Wandverdickungen als Vorrathsstoffe abgelagert sind, erzeugen bei der Keimung zu deren Auflösung wahrscheinlich ein besonderes, von der Malzdiastase verschiedenes Enzym, welches als Cytase bezeichnet werden könnte.

Graz, botanische Lehrkanzel der technischen Hochschule.

1) Vielleicht erweist sich der von V. Omeliansky aufgefundene Spaltpilz hierzu geeignet, der durch seine Gährthätigkeit Filtrirpapier völlig zu lösen vermag. (Compt. rend. **121**, 653, 1895.)