Zeitschrift

für

Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel

sowie der Gebrauchsgegenstände.

Heft 5/6.

15. März 1919.

Band 37.

Zur Zusammensetzung der Inklusen, gleichzeitig ein Beitrag zur Kenntnis der Vorgänge beim Teigigwerden der Früchte.

Von

C. Griebel und A. Schäfer in Berlin.

[Eingegangen am 4. Februar 1919.]

Unter Inklusen versteht man durch bestimmte Reaktionen ausgezeichnete gerbstoffhaltige Zellinhaltskörper¹⁾. Sie waren bisher hauptsächlich im Mesokarp verschiedener, vorwiegend zuckerreicher Früchte aufgefunden worden. In einigen Fällen wurden sie auch in der Testa und neuerdings bei einer ganzen Reihe von Arten in den Blättern, sowie in 4 Fällen in unterirdischen Organen nachgewiesen. Zuerst hat sie Flückiger²⁾ beobachtet und zwar im Fruchtfleisch des Johannisbrotes (*Ceratonia siliqua* L.). Die späteren Funde knüpfen sich hauptsächlich an die Namen Tichomirow³⁾ und T. F. Hanausek⁴⁾. In letzter Zeit haben sich außerdem Griebel⁵⁾ und Joachimowitz⁶⁾ mit dem Vorkommen dieser Gebilde beschäftigt.

Bei welchen Arten bisher Inklusen festgestellt wurden, ergibt sich aus der untenstehenden Übersicht⁷⁾, die auch die im Verlauf dieser Untersuchungen neu hinzugekommenen Befunde, sowie die Namen der betreffenden Beobachter enthält.

¹⁾ Die Bezeichnung Inklusen rührt von Tichomirow her, der sich eingehend mit diesen „Inclusions intracellulaires“ befaßt hat. Da die Zellen, die solche Einschlüsse führen, meist isoliert oder in bestimmten Verbänden auftreten, werden sie in der Literatur zuweilen auch Gerbstoff-Idioblasten genannt. Wenn aber ein bestimmtes Gewebe in seiner Gesamtheit aus solchen Zellen besteht, wie es sich z. B. für das Mesokarp verschiedener Früchte neuerdings ergeben hat, ist natürlich die Bezeichnung „Idioblasten“ nicht mehr zutreffend. Es empfiehlt sich deshalb, derartige Zellen einheitlich als Inkluzenzellen zu bezeichnen.

²⁾ Vergl. Flückiger, Pharmakognosie. 1. Aufl., 1867, 585.

³⁾ Bot. Zentralbl. 1885, 21, 222; ferner eine in Moskau 1907 erschienene umfangreiche Abhandlung (vergl. Hanausek, Pharm. Post 1910, 1041 Fußnote 10).

⁴⁾ Pharm. Post 1910, 1041; Ber. Deutsch. Botan. Gesellschaft 1914, 32, 117.

⁵⁾ Diese Zeitschrift 1917, 33, 226; 34, 233.

⁶⁾ Biochem. Zeitschr. 1917, 82, 324.

⁷⁾ Übersicht über die bisher festgestellten Inklusen:

a) In der Fruchtwand:

Palmae: *Phoenix dactylifera* (Tichomirow), *Hyphaene thebaica* (Hanausek), *Serenoa serrulata* (Griebel).

Anonaceae: *Anona reticulata*, *A. muricata* (Tichomirow).

Rosaceae: *Pirus* (*Sorbus*) *domestica*, *P. (S.) Aria*, *P. (S.) chamaemespilus*, *Mespilus germanica* (Hanausek), *P. (S.) torminalis*, *P. (S.) suecica*, *P. (S.) graeca*, *P. (S.) Mongeotii*, *P. (S.) hybrida*, *P. (S.) latifolia*, *Pirus communis*, *P. toringo*, *P. salicifolia*, *P. betulifolia*, *P. amygdaliformis*, *P. sinensis*, *P. pulcherrima*, *P. baccata*, *Prunus spinosa* (Griebel).

Die Farbe der bereits fest gewordenen Inkluden schwankt zwischen blaßgelblich und dunkelbraun; im Mesokarp der noch nicht ganz reifen, oder wenigstens nicht überreifen Früchte stellt der Inhalt der Inkludenzellen eine farblose durchsichtige Substanz dar, die noch keine starre Form angenommen hat.

Das mikrochemische Verhalten ist bei allen bisher beschriebenen Inkluden im wesentlichen dasselbe. Mit verdünntem Eisenchlorid färben sie sich dunkelgrün bis

Leguminosae: *Ceratonia siliqua* (Flückiger), *Tamarindus indica* (Vogl), *Glycyrrhiza glabra* (Stscherbatscheff).

Rhamnaceae: *Rhamnus cathartica* (Flückiger), *Rh. infectorius*, *Rh. saxatilis*, *Rh. graecus*, *Rh. oleoides* (Hanausek), *Zizyphus vulgaris* (Tichomirow).

Elaeagnaceae: *Elaeagnus angustifolius* (Tichomirow).

Cornaceae: *Cornus mas*, *Cornus officinalis* (Griebel).

Ebenaceae: *Diospyros*-Arten (Tichomirow).

b) In der Samenschale:

Leguminosae: *Tamarindus indica* (Vogl), Myrtaceae: *Pimenta officinalis* (Hanausek), Cycadeae: *Cycas revoluta* (Joachimowitz).

c) Im Blatt (bei einigen Arten auch im Sproß):

Polypodiaceae: *Scolopendrium vulgare*.

Cupressaceae: *Juniperus oxycedrus*.

Alismataceae: *Alisma plantago*.

Palmae: *Caryota urens*.

Orchidaceae: *Maxillaria densa*.

Betulaceae: *Betula alba*, *Alnus rotundifolia*.

Fagaceae: *Fagus silvatica*, *Quercus pedunculata*.

Myricaceae: *Myrica cerifera*.

Ulmaceae: *Ulmus campestris*.

Caryophyllaceae: *Illecebrum verticillatum*.

Hamamelidaceae: *Hamamelis virginiana*.

Platanaceae: *Platanus orientalis*.

Leguminosae: *Coronilla varia*, *Glycyrrhiza glabra*.

Anacardiaceae: *Pistacia lentiscus*.

Rhamnaceae: *Rhamnus cathartica*.

Violaceae: *Viola silvestris*.

Plumbaginaceae: *Armeria Statice*.

Ericaceae: *Arctostaphylos officinalis*.

Apocynaceae: *Apocynum venetum*.

d) In unterirdischen Organen.

Liliaceae: *Colchicum autumnale* } in der Zwiebel.

Iridaceae: *Gladiolus communis* }

Zingiberaceae: *Alpinia officinarum* } im Rhizom.

Euphorbiaceae: *Euphorbia cyparissias* }

Abgesehen von den Blattbefunden bei *Rhamnus cathartica* (Tichomirow) und *Pistacia lentiscus* (Hanausek) wurden alle Beobachtungen in den Blättern und unterirdischen Organen von M. Joachimowitz gemacht, die 464 Pflanzen aus allen Pflanzenstämmen systematisch nach dieser Richtung prüfte.

Nachtrag: Eine bisher anscheinend ganz unbeachtet gebliebene Abhandlung von M. Winkel (Pharm. Zeitung 1905, 50, 453) läßt erkennen, daß der Verfasser die charakteristischen Zelleinschlüsse noch in verschiedenen anderen Früchten beobachtet hat. Er macht dabei einen Unterschied zwischen „Gerbstoffschläuchen“, die sich durch ihre Größe und Lichtbrechung unmittelbar von den umgebenden Zellen unterscheiden und „Gerbstoffzellen“, die nur durch Reagenzien erkannt werden können. Gerbstoffschläuche fand er noch bei folgenden Früchten: *Phoenix reclinata*, *Phoenix canariensis*, *Prunus cerasifera*, *Prunus domestica*, *Cydonia vulgaris*, *Cerbera Tanghin*, *Arillus* von *Ammodium angustifolium* und in den Rosinen. Gerbstoffzellen wies er nach bei *Pirus communis*, *Pirus malus*, *Prunus Armeniaca*, *Prunus padus*, *Mespilus germanica*, *Ribes grossularia*, *Fragaria vesca*, *Carcinia Mangostana*, *Sabal serrulata*, *Randia dumetorum*, *Nephelium spec.*, *Sorbus latifolia*, *Argania sideroxylon*, *Arctostaphylos glauca*. Eine Nachprüfung dieser Angaben hinsichtlich der Gerbstoffzellen erscheint namentlich bei unseren einheimischen Früchten erwünscht zwecks Feststellung, ob es sich hierbei in allen Fällen um typische Inkludenzellen handelt, wenngleich eine solche Verbreitung keineswegs unwahrscheinlich ist.

blauschwarz, je nachdem sie einen eisengrünenden oder eisenbläuenden Gerbstoff enthalten. Der erstere Fall scheint der bei weitem häufigere zu sein; Bläuung durch Eisensalze zeigen z. B. die Zelleinschlüsse bei *Ceratonia siliqua* und *Cornus mas*. Durch Kalilauge werden die Körper, falls sie nicht infolge von Oxydation bereits braun geworden sind, unter allmählicher Auflösung mehr oder weniger deutlich violett bis blau gefärbt. Diese Reaktion verläuft aber bei manchen Arten sehr ungleichmäßig, indem z. T. nur ein wenig beständiger blaß grau-violetter bis braun-violetter Ton auftritt (bei einigen *Pirus*-Arten). Bei anderen ist die Färbung wieder um so intensiver, z. B. bei *Cornus mas* blauschwarz. Ein Reagens, gegen das sich alle Inklusen gleich verhalten, ist die Vanillinsalzsäure (Lindt'sches Reagens). Sie färben sich damit schon nach kurzer Einwirkung himbeer- bis kirschrot. Ähnlich verhält sich eine Lösung von p-Dimethylaminobenzaldehyd in 50 %-iger Schwefelsäure, die nach Joachimowitz rascher und sicherer wirken soll¹⁾.

Da die Inklusen mit Vanillinsalzsäure genau so reagieren wie Phloroglucin, wird angenommen, daß sie Phloroglykotannide enthalten (Hartwich, Tschirch). M. Joachimowitz hat demgegenüber darauf hingewiesen, daß auch Catechinderivate in Frage kommen können. (Catechin ist durch die genannte Reaktion nicht von Phloroglucin zu unterscheiden. Es ist selbst ein Phloroglucinderivat, enthält aber außerdem noch einen Protocatechusäurerest.)

Über die Entwicklungsgeschichte der Inklusen haben Hartwig und Winkel²⁾, Haellström-Helsinski³⁾, Hanausek⁴⁾ und Tunmann⁵⁾ berichtet. Aus ihren Untersuchungen ergibt sich, daß die Bildung der Inklusen in der Zelle von der Zellwand aus nach innen zu vor sich geht. Je nach dem Entwicklungsstadium stellen sie daher hohle Gebilde (Säcke) oder massive Körper dar. Tunmann, der sich zuletzt eingehend mit dieser Frage befaßt hat, fand bei der Untersuchung der Früchte von *Glycyrrhiza glabra* und *Rhamnus cathartica* die betreffenden Zellen bereits in den jüngsten Entwicklungsstadien dicht mit den charakteristischen Gerbstoffsubstanzen erfüllt. Die später an der Membran auftretende zähe Substanz hat nach seiner Ansicht bassorinartige Beschaffenheit, und von dem Grad der Bassorinproduktion hängt es ab, ob hohle Gebilde oder feste Ballen als Einschlußkörper entstehen. Die Phloroglykotannide erwiesen sich aber in allen Fällen als sehr fest an die bassorinartige Grundsubstanz gebunden.

Nach Lloyd⁶⁾ enthalten die Gerbstoffidioblasten der von ihm untersuchten *Diospyros* Achras- und Phönix-Früchte ein aus Gerbstoff und einem Kolloid (vom Charakter eines Celluloseschleimes) bestehendes steifes farbloses „Gel“, das bei der Fruchtreife fast vollständig unlöslich wird.

Kurz zusammengefaßt nimmt man also nach den bisherigen Ergebnissen in den Inklusen eine Grundmasse bassorin- oder schleimartiger Natur an, in die Phloroglykotannide eingelagert sind.

¹⁾ Wir haben bei Verwendung des Reagens keinen Vorteil gegenüber der Vanillinsalzsäure feststellen können.

²⁾ Archiv Pharm. 1904, 242, 471.

³⁾ Ber. Deutsch. Pharm. Gesellsch. 1910, 20, 446.

⁴⁾ Pharmazeut. Post 1910, 1043.

⁵⁾ Verhandl. d. Ges. Deutsch. Naturf. u. Ärzte. 85. Vers., 1913, 2, 1. Hälfte, 501; Apoth.-Zeitg. 1913, 772.

⁶⁾ Vergl. Dekker, Die Gerbstoffe 1915, 269.

Im Verlauf der in dieser Zeitschrift veröffentlichten Untersuchungen über die Anatomie einiger einheimischen Früchte¹⁾ hat sich u. a. gezeigt, daß das Fruchtfleisch verschiedener *Pirus*-Arten besonders reich an solchen Inklusen ist. In besonderem Maße trifft dies z. B. zu für *Pirus domestica* und *Pirus torminalis*, bei denen das gesamte Mesokarp aus Inkluzenzellen besteht. Ähnlich verhält es sich mit *Mespilus germanica*. Es bot sich daher hier eine Gelegenheit, die bisher nur durch mikrochemische Reaktionen gekennzeichneten Zelleinschlüsse einer eingehenderen chemischen Prüfung zu unterziehen, um über ihre Zusammensetzung wenn möglich weiteren Aufschluß zu gewinnen, bezw. die bisherigen Befunde und Folgerungen zu ergänzen.

Die Fortsetzung dieser Versuche ist aus äußeren Gründen zur Zeit nicht möglich. Da die bisher erzielten Ergebnisse aber in mehrfacher Hinsicht interessant erscheinen und für weitere Arbeiten auf diesem Gebiet Anhaltspunkte liefern können, sollen sie nachstehend bekannt gegeben werden.

Zunächst sei hier noch eine weitere Beobachtung mitgeteilt, die sich im Anschluß an die obengenannten mikroskopischen Untersuchungen ergeben hatte. Es war nämlich aufgefallen, daß gerade die Früchte, deren gesamtes Mesokarp aus Inkluzenzellen besteht, nach der Reife bald teigig werden (z. B. *Pirus domestica*, *P. torminalis*, *P. toringo*, auch *Mespilus germanica*), während dies bei inklusenärmeren Früchten niemals der Fall ist, eine Erscheinung, die auf einen ursächlichen Zusammenhang zwischen dem Inklusenreichtum einerseits und dem Teigigwerden andererseits hindeutet.

Nun gibt es bei uns noch eine bekannte Frucht, die nach der Reife teigig und damit erst genießbar wird; und zwar ist es ein typischer Vertreter der Gattung *Pirus*, nämlich die Holz- oder Feldbirne (*Pirus communis* L.), die in zwei Formen vorkommt (var. *Achras* und var. *Piraster* Walloth). Bei ihr war daher ebenfalls mit einem Inklusenmesokarp zu rechnen. Durch die mikroskopische Untersuchung wurde denn auch diese Annahme vollauf bestätigt. Abgesehen von den großen Steinzellnestern enthielten fast alle Zellen des Fruchtfleisches typische Inklusen, die sich von denen der anderen *Pirus*-arten im Verhalten gegen Reagenzien nicht unterschieden. Ein gleiches wurde weiterhin bei *Pirus salicifolia* L. fil., *P. betulifolia* Bge., *P. amygdaliformis* Vill., *P. sinensis* Lindb., weniger ausgesprochen bei *P. pulcherrima* und *P. baccata* L. festgestellt. (Die beiden letzteren gehören zum Apfeltypus, alle anderen Arten zum Birnentypus.) Allen diesen ist das Inklusenmesokarp einerseits und das Teigigwerden andererseits gemeinsam. Wenn danach auch mit einem inneren Zusammenhang zwischen beiden Erscheinungen zu rechnen sein dürfte, so hat doch andererseits das Teigigwerden nicht unbedingt das Vorhandensein von Inklusen zur Voraussetzung. Wir sehen das an unseren Edelbirnen, bei denen keine Inklusen mehr gebildet werden, die aber doch noch dem Teigigwerden unterliegen. Dies ist allerdings auch die einzige Ausnahme, die bisher genannt werden kann, sofern man unter Teigigwerden eben nur das charakteristische rasche Erweichen unter Braunfärbung versteht, wie es auch im Sprachgebrauch üblich ist. Auch nach der anderen Seite ist bisher nur eine einzige Ausnahme aufgefunden worden, die Schlehe (*Prunus spinosa* L.). Bis auf wenige chlorophyllreiche Zellen unter der Oberhaut ist dort das gesamte Fruchtfleisch aus Inkluzenzellen zusammengesetzt. Trotzdem zeigt die genannte Art nicht die Erscheinung

¹⁾ Diese Zeitschrift 1917, 33, 225—239.

des Teigigwerdens, wenigstens nicht in der ausgesprochenen Form, wie die oben genannten Arten. Das Mesokarp erweicht allerdings nach einiger Zeit ebenfalls, wobei sich die zunächst farblosen Inklusen rosarot färben. Die Mesokarpzellen von *Prunus spinosa* sind übrigens noch deswegen bemerkenswert, weil sie namentlich im äußeren Teil der Frucht zwischen Zellwand und Inkluse oft noch eine ganze Anzahl Chlorophyllkörner enthalten¹⁾.

Wir kommen nunmehr zum Objekt der nachstehenden Versuche. Aus praktischen Gründen wurden hierfür die Früchte von *Pirus* (*Sorbus*) *domestica* Smith gewählt — bei uns Speierling, in Österreich Arschützen genannt — einerseits ihrer Größe wegen und andererseits, weil sie keine eigentlichen Steinzellen²⁾ wie die Birne, und kompaktere Inklusen als die Mispel enthalten.

Die beim Teigigwerden der Früchte von *Pirus domestica* auftretenden Veränderungen.

Bevor auf das Verhalten der Inklusen gegenüber Lösungsmitteln und Reagenzien eingegangen werden soll, seien zunächst einige Beobachtungen vorausgeschickt, die beim Teigigwerden der Früchte von *Pirus domestica* gemacht wurden, da sich gezeigt hat, daß gerade die hierbei in der Frucht vor sich gehenden Veränderungen die Eigenschaften der Inklusensubstanz in gewisser Beziehung beeinflussen.

Die reife Frucht von *Pirus domestica* ist zunächst noch hart und ungenießbar. Das Fruchtfleisch schmeckt außerordentlich herb und zusammenziehend. Nach einiger Zeit — je nach der Temperatur dauert es einige Tage bis Wochen — beginnt dann der Prozeß des Teigigwerdens. Das Fruchtfleisch geht hierbei ziemlich rasch von außen nach innen in eine teigige Masse über, wobei sich erst nur der unmittelbar unter der Schale gelegene Teil des Mesokarpes braun färbt, während der innere Teil trotz der teigigen Konsistenz zunächst die normale gelbliche Farbe beibehält. Allmählich schreitet dann die Braunfärbung nach innen fort³⁾. Mit dem Eintritt der teigigen Beschaffenheit ist der herbe Geschmack vollständig verschwunden und hat einem angenehmen süßsauerlichen Geschmack Platz gemacht, sodaß die Frucht nunmehr eßbar ist. Mikroskopisch ist dieser Zustand dadurch gekennzeichnet, daß das gesamte Mesokarp in seine einzelnen Zellen zerfällt, die sich dann als abgerundete oder längliche z. T. mehr oder weniger sackförmige Gebilde darstellen. Gleichzeitig tritt aber auch eine sichtbare Veränderung der Inklusensubstanz ein, indem sie nunmehr einen scharf abgegrenzten massiven Inhaltskörper bildet, der von der Zellwand etwas zurückgezogen ist. Im Mesokarp noch harter Früchte sind die Inklusen dagegen nicht unmittelbar erkennbar, sondern sie können nur durch Reagenzien sichtbar gemacht werden, weil die Substanz die Zellen zunächst fast vollständig ausfüllt und zwar in Form einer durchsichtigen homogenen Masse⁴⁾.

¹⁾ Von Einschlüssen nicht gerbstoffartiger Natur fanden sich neben den Inklusen bisher Stärke (bei verschiedenen *Pirus*arten vor der Fruchtreife), roter Zellsaft (bei *Cornus mas*), Chlorophyll (bei *Prunus spinosa*), gelbrote Chromoplasten (bei *Pirus suecica*).

²⁾ Die vorhandenen sklerotisierten Zellen sind verhältnismäßig wenig verdickt.

³⁾ Bei der Holzbirne (*Pirus communis* L.) beginnt das Teigigwerden unter Braunfärbung in der Nähe des Kerngehäuses und schreitet nach der Schale hin fort.

⁴⁾ Die als Inklusen bezeichneten Gebilde entstehen also streng genommen erst in einem bestimmten Reifestadium.

Die Inhaltskörper sind anfangs farblos bis gelblich, werden aber bei fortschreitender Braunfärbung des Mesokarpes allmählich ungleichmäßig bräunlich, schließlich braun. Durch den Eintritt des Teigigwerdens haben aber die Inklusen vor allen Dingen insofern eine wesentliche Veränderung erfahren, als sie fast vollständig unlöslich in Wasser und Alkohol geworden sind¹⁾. Dies ist nämlich nicht der Fall, so lange die Früchte noch hart sind; denn wenn man noch harte zerkleinerte Früchte mit Wasser oder Alkohol auskocht, geht die Inklusensubstanz in Lösung, wie später noch näher ausgeführt wird. Hierdurch erklärt sich auch ohne weiteres die Veränderung im Geschmack der Früchte beim Teigigwerden. Es erfolgt keineswegs dabei ein Rückgang des Gerbstoffgehaltes bis zum völligen Verschwinden, wie bisher meist angenommen wurde²⁾, sondern ein Unlöslichwerden der adstringierenden Stoffe, indem die Inkluse plötzlich zu einer festen Masse erstarrt³⁾. Der vorhandene Zucker nebst Fruchtsäuren kommt auf diese Weise dann allein im Geschmack zur Geltung. Eine gewisse Zunahme des Zuckergehaltes ist dabei natürlich denkbar, schon wenn man berücksichtigt, daß durch die Enzymwirkung — um eine solche handelt es sich beim Teigigwerden — die aus Pektin bestehende Zwischensubstanz der Zellen aufgelöst wird. Außerdem verschwinden die etwa noch vorhandenen Stärkemengen beim Teigigwerden vollständig und gehen sicherlich auch in Zucker über. Versuche nach dieser Richtung sind aber nicht angestellt worden.

Bringt man die reifen Früchte vor Eintritt des Teigigwerdens fünf Minuten in siedendes Wasser, so werden die Enzyme abgetötet und es erfolgt ein Teigigwerden überhaupt nicht mehr. Die Früchte bleiben dann fest und trocknen unter leichter Rötung des Fruchtfleisches allmählich ein. Die Inklusensubstanz behält in so behandelten Früchten ihre ursprüngliche Löslichkeit bei, bis sie durch das Eintrocknen schließlich ebenfalls unlöslich wird, jedoch ohne daß eine Braunfärbung erfolgt. Sie scheidet sich dann aber nicht in Form von kompakten Einschlüßkörpern, sondern in körnig-faserigen oder traubigen Massen und zwar vorwiegend an der Zellwand ab⁴⁾.

Über die Art des Enzyms, das unter Auflösung der die Mesokarpzellen verbindenden Mittellamelle das Teigigwerden der Früchte bewirkt, sind weitere Untersuchungen nicht angestellt worden. Es sei nur noch eine Beobachtung mitgeteilt, die mit der Wirkung dieses Enzymes möglicherweise im Zusammenhang steht.

¹⁾ Diese Erscheinung hat eine gewisse Ähnlichkeit mit der Koagulation des Eiweißes.

²⁾ Monaresi und Tnegutti; vergl. Dekker, Die Gerbstoffe 1913, 289.

³⁾ Hierbei findet offensichtlich eine Kontraktion der Substanz statt, da sich die Inkluse von der Zellwand ablöst, ein Umstand, der auf einen Wasseraustritt, also eine Art Kondensation schließen läßt. Daß der Gerbstoff bei der Fruchtreife unlöslich und dadurch geschmacklos wird, ist übrigens bereits bei einigen Früchten beobachtet worden, so z. B. von Lloyd bei der Dattel (vergl. Dekker, Die Gerbstoffe 1913, 273) und von Prinsen Geerlings bei der Frucht von *Achras Sapota* L. (Dekker 236). Otto und Kooper (Diese Zeitschrift 1910, 19, 10—13) kommen zu der Ansicht, daß das Zurückgehen des Gerbstoffgehaltes beim Nachreifen der Früchte wahrscheinlich auf einer Oxydation dieser Stoffe zu Phlobaphen beruht.

⁴⁾ In Früchten, die nach dem Abkochen etwa 1 Jahr in 10 %-igem Alkohol aufbewahrt wurden, war eine Ausscheidung in sehr kleinen kugeligen bis traubigen Gebilden — ähnlich wie sie in den sklerotisierten Zellen von *Pirus domestica* vorkommen — auf der Zellwand erfolgt. Auch die Außenseite der Früchte, also die Schale, trug eine dünne zusammenhängende Auflagerung aus Inklusensubstanz, deren Oberfläche kugelige bis traubige Anordnung des Stoffes erkennen ließ.

Beim Aufbrechen einer eben teigig gewordenen Frucht von *Pirus domestica* bemerkt man nämlich einen auffallenden, etwas stechenden Geruch. Besonders deutlich trat das Stechende des Geruches hervor, wenn die Mesokarpzellen nach dem Durchkneten und Schlämmen mit Wasser zum Trocknen auf poröse Tonplatten aufgestrichen wurden.

Die Prüfung auf Formaldehyd lieferte ein negatives Ergebnis. Andererseits ließ aber die positiv verlaufene Reaktion mit fuchsinschwefliger Säure erkennen, daß trotzdem ein Aldehyd vorlag. Es war danach in erster Linie an Acetaldehyd zu denken. Zur Entscheidung der Frage wurden einerseits Preßsaft und andererseits die ersten Anteile eines mit Hilfe von Wasserdampf hergestellten Destillates aus teigigen Früchten nach Auld¹⁾ geprüft, indem einige Tropfen $\frac{1}{10}$ N.-Sublimatlösung mit Kalilauge versetzt und einige Kubikzentimeter der zu untersuchenden Flüssigkeit hinzugegeben wurden. Das gebildete Quecksilberoxyd wurde dabei nach kurzer Zeit weiß, ein Zeichen, daß Acetaldehyd zugegen war. Eine 1 0/0-ige mit etwas Piperidin versetzte Nitroprussidnatriumlösung²⁾ wurde auf Zusatz der zu prüfenden Flüssigkeit sofort blau. Durch den positiven Ausfall dieser Reaktionen ist erwiesen, daß teigige Früchte von *Pirus domestica* geringe Mengen Acetaldehyd enthalten, das in noch harten Früchten nicht nachweisbar ist. Beim Fortschreiten der Braunfärbung des Fruchtfleisches macht der Aldehydgeruch mehr und mehr einem Essigsäure- und Estergeruch Platz.

Im allgemeinen verläuft das Teigigwerden bei anderen inklusenreichen Früchten in derselben Weise, nur Acetaldehyd u. dergl. wurde bisher bei anderen Arten nicht beobachtet. Besondere Versuche nach dieser Richtung haben allerdings nicht stattgefunden.

Verhalten der Inklusen von *Pirus domestica* gegen Lösungsmittel und Reagenzien.

Es war oben bereits erwähnt worden, daß die Inklusen beim Teigigwerden eine Veränderung hinsichtlich ihrer Löslichkeit erfahren. Hierzu ist folgendes zu bemerken:

Wenn man das Mesokarp teigiger Früchte von *Pirus domestica* mit Wasser kocht, so gehen nur sehr geringe Gerbstoffmengen in Lösung. Mit Eisenchlorid entsteht in der Flüssigkeit lediglich eine geringe grünliche Färbung. Untersucht man die ausgekochten Mesokarpzellen mikroskopisch, so zeigt sich, daß eine wahrnehmbare Veränderung der Inklusen nicht eingetreten ist. Auch ihr Verhalten gegen Reagenzien ist unverändert. Die Inklusen aus teigigen Früchten sind demnach in kochendem Wasser praktisch unlöslich. Auch von heißem Alkohol werden sie nicht angegriffen³⁾. Anders verhält es sich mit den noch harten Früchten. Kocht man diese nach Entfernung der Schale und entsprechender Zerkleinerung nur kurze Zeit (etwa 5 Minuten) mit Wasser, so entsteht eine kaum gefärbte Flüssigkeit, die beim Erkalten je nach der Konzentration opalisierend oder fast milchartig wird und zuweilen nach einigen Tagen einen weißen oder schwach rötlichen Niederschlag abscheidet. Erfolgt die Abscheidung nicht von selbst, so läßt sie sich sofort durch Zusatz von Kochsalz herbeiführen. Die Flüssigkeit wird zunächst milchig, worauf dann bei weiterem Koch-

¹⁾ Chem. Zentralbl. 1905, II, 1084.

²⁾ Vergl. Heyl, Apoth.-Ztg. 1913, 165.

³⁾ Dagegen lassen sie sich durch Kochen mit Glycerin in Lösung überführen.

salzzusatz Ausflockung erfolgt. Setzt man zu der ursprünglichen Abkochung sehr wenig verdünnte Eisenchloridlösung (1:20), so tritt zunächst eine bläuliche Färbung auf. Bei vorsichtigem Zusatz von mehr Eisenchlorid entsteht eine dunkelgrüne Färbung¹⁾ die auf Zusatz von Sodalösung über Blau in Rotviolett umschlägt²⁾. Der reagierende Körper liefert also die typische Reaktion der Orthodioxy-Verbindungen, was auf ein Brenzkatechinderivat schließen läßt. Der ausgeflockte Stoff verhält sich gegen Eisenchlorid und Sodalösung genau so wie die ursprüngliche Abkochung.

Daß der durch das Aussalzen erhaltene Körper mit der reagierenden Inklusionssubstanz im wesentlichen identisch ist, ergibt sich aus seinem Verhalten gegen Vanillinsalzsäure, mit der er dieselbe Rotfärbung liefert, wie die Inklusen selbst³⁾. Wiederholt man das Auskochen der zerkleinerten Früchte noch mehrmals, so geht eine weitere, wenn auch immer geringer werdende Menge von Inklusionssubstanz in Lösung.

Untersucht man die ausgekochten Fruchtrückstände mikroskopisch, so zeigt sich, daß der Inhalt der freiliegenden Zellen fast vollständig in Lösung gegangen ist. Lediglich ein geringer körniger bis faseriger Rückstand ohne charakteristische Form ist noch in der Zelle vorhanden⁴⁾. Die innerhalb größerer Zellverbände befindlichen Inklusionszellen sind dagegen nur unvollständig oder noch gar nicht ausgelaugt. Über das Verhalten des körnigen Rückstandes selbst zu Gerbstoffreagenzien läßt sich nichts aussagen, da nach dem Auskochen sowohl dieser Rückstand, als auch alle Zellwände infolge Durchtränkung mit Inklusionssubstanz deutliche Gerbstoffreaktion liefern. Auch durch Ausziehen mit Alkohol lassen sich diese geringen Gerbstoffmengen nicht aus den Zellwänden entfernen. Beim Auskochen noch harter Früchte mit Alkohol geht die Inklusionssubstanz gleichfalls fast vollständig in Lösung.

Chemische Untersuchung der Inklusen.

Da sich die Inklusen nach dem Teigigwerden der Früchte in indifferenten Lösungsmitteln — Glycerin ausgenommen — als praktisch unlöslich erwiesen, bot sich in diesem Zustand die Möglichkeit, sie von Fruchtsäuren, Zucker und anderen löslichen Zellinhaltsstoffen auf einfache Weise zu trennen. Unter Berücksichtigung der in den beiden vorhergehenden Abschnitten geschilderten Beobachtungen wurde daher das für die chemischen Untersuchungen bestimmte Material in folgender Weise vorbereitet bezw. gewonnen:

Teigige Früchte von *Pirus domestica* wurden in einer Reibschale zerquetscht und das in seine Zellelemente zerfallende Mesokarp mit Wasser zu einem dünnen Brei verrührt. Durch weiteren Wasserzusatz lassen sich dann die Inklusionszellen leicht von den Bestandteilen der Schale und des Kerngehäuses abschlämmen. Aus dieser Suspension setzen sich die Mesokarpzellen sehr bald ab. Die überstehende Flüssigkeit läßt sich daher leicht abgießen und wird so oft durch frisches Wasser ersetzt, bis sie

¹⁾ Oder ein dunkelgrüner Niederschlag, je nach der Konzentration.

²⁾ Besonders rein und leuchtend sind die Farbenercheinungen — smaragdgrün, dunkelblau, rotviolett — wenn man zur Reaktion einen durch Kochen mit Glycerin hergestellten Auszug verwendet.

³⁾ Über die Violettfärbung mit Kalilauge siehe später.

⁴⁾ Während sich die Wand der extrahierten Zellen mit Chlorzinkjod blaviolett färbt, wird der Rückstand des Zellinhaltes gelbbraun, ein Zeichen, daß er nicht aus celluloseartigen Stoffen besteht. Bei bereits erstarrten und mit Glycerin ausgekochten Inklusen ist der Rückstand oft knäuel- oder gerüstartig, und man gewinnt nach der Struktur den Eindruck, daß es sich um die Reste des ehemaligen Protoplasten handelt.

nach dem Durchrühren und Absetzen klar erscheint. Die Inklusenzellen bringt man hierauf auf ein Sammelfilter, wäscht bis zum Verschwinden der Zuckerreaktion aus und trocknet den Rückstand zwischen Filtrierpapier oder auf Tonplatten. Man erhält auf diese Weise beim Zerreiben ein braunes Pulver, auch wenn das Fruchtfleisch der zur Verarbeitung gelangenden Früchte vorher noch weiß war. Die Beobachtung, daß sich die Inklusenzellen an der Luft ziemlich rasch braun färben, ließ vermuten, daß hierbei Oxydasen oder ähnliche Enzyme eine Rolle spielen. Ein Teil der eben teigig gewordenen Früchte mit noch weißem Fruchtfleisch wurde daher zunächst 5 Minuten in siedendes Wasser gebracht und dann in derselben Weise verarbeitet. In der Tat blieben die Inklusen bis zum Trocknen vollständig hell. Beim Trocknen trat dann allerdings eine leichte Braunfärbung ein, die sich vermutlich beim Arbeiten mit Vakuum noch weiter würde vermindern lassen. Immerhin war das so erzielte Produkt nur hellbraun gefärbt und jedenfalls viel heller, als das aus nicht erhitzten Früchten erhaltene Pulver. Es scheint demnach die Braunfärbung (Phlobaphenbildung) offensichtlich die Folge einer Oxydationswirkung zu sein. Übrigens sehen solche Inklusen unter dem Mikroskop keineswegs durchweg braun aus, sondern vorwiegend gelblich (zum Teil sogar farblos). Die meisten sind an mehreren Stellen ungleichmäßig angebräunt und nur einige erscheinen im ganzen braun.

Für die Beurteilung der Untersuchungsergebnisse war zu berücksichtigen, daß das auf dem geschilderten Wege erzielte Produkt nicht aus freien Inklusen besteht, sondern aus den ganzen Mesokarpzellen. Ein gewisser Prozentsatz der Substanz — nach unseren Versuchen schätzungsweise 10 bis höchstens 20%¹⁾ — entfällt daher auf die Zellwand, die bei den dünnwandigen Zellen vorwiegend aus Cellulose besteht, bei den sklerosierten aber außerdem Lignin u. dergl. enthält.

Aus diesen Gründen war es erwünscht, für einige Versuche die Inklusensubstanz auch frei von der Zellwand zu gewinnen. Zu dem Zweck erfolgte die Auskochung noch harter zerkleinerter Früchte²⁾, wie oben beschrieben und die Aussalzung der gerbstoffhaltigen Substanz, sofern nicht beim Erkalten der Flüssigkeit von selbst eine hinreichende Abscheidung eintrat. Der abfiltrierte unter dem Mikroskop aus feinsten Körnchen bestehende Niederschlag, der im feuchten Zustand eine gewisse Kohärenz und gummös-elastische, etwas an Kleber erinnernde Beschaffenheit besaß, wurde auf Tonplatten gestrichen und im Vakuumexsikkator getrocknet. Beim Trocknen tritt aber sehr rasch eine braunrote Färbung (Phlobaphenbildung) ein, wobei die Substanz unlöslich wird. Zu den Hydrolysierungsversuchen diente zum Teil auch der noch feuchte und nicht durch Oxydation veränderte feste farblose Körper.

Es wurde schon erwähnt, daß sich die Substanz in dieser Form gegen Vanillinsalzsäure und Eisenchlorid genau wie der Inhalt unverletzter Inklusenzellen verhält. Bemerkt sei außerdem, daß der infolge des Teigigwerdens der Frucht bereits coagulierte, aber noch helle Inhalt der Inklusenzellen unverändert die Reaktion der Orthodioxy-Verbindungen³⁾ liefert, nur ist bei der mikrochemischen Reaktion sehr vorsichtige Anwendung der Reagenzien erforderlich, so daß jeder Überschuß vermieden wird.

¹⁾ Bei den dünnwandigen Zellen fällt die Zellwand gegenüber der Inkluse kaum ins Gewicht, aber durch die relativ zahlreichen sklerosierten Zellen verschiebt sich das Verhältnis, da diese meist nur sehr wenig Inklusensubstanz, hingegen ziemlich dicke Zellwände besitzen.

²⁾ Hierfür stand allerdings nur noch wenig Material zur Verfügung.

³⁾ Mit Eisenchlorid Grünfärbung, die auf Sodazusatz über Blau in Violett umschlägt.

Eine Isolierung des die Zelleinschlüsse bildenden Stoffes läßt sich schließlich auch erzielen durch Auskochen noch harter oder bereits teigiger, aber im Innern noch hell gefärbter Früchte mit Glycerin und Dialysieren des Filtrates. Während der Dialyse erfolgt jedoch unter teilweiser Ausflockung der Substanz eine rotbraune Färbung des gesamten Dialysatorinhaltes infolge Phlobaphenbildung.

Auch bereits braun gefärbte Inklusen lassen sich durch Kochen mit Glycerin in Lösung überführen.

Die Untersuchung der in der oben geschilderten Weise gewonnenen Inklusionszellen lieferte folgendes Ergebnis:

Feuchtigkeit		3,51 %
Trockensubstanz		96,49 %
In der Trockensubstanz	{ Mineralstoffe	 1,15 %
	{ Pentosane	 3,82 %
	{ Galaktane	 2,34 %
	{ Methoxyl	 1,30 %
	{ Stickstoff (nach Kjeldahl)	nicht nachweisbar.

Hierzu ist folgendes zu bemerken: Die Veraschung geht auffallend leicht und rasch von statten. Die Asche besteht vorwiegend aus Calcium-, Magnesium- und Alkalicarbonat und -phosphat. Die Methoxylbestimmung erfolgte nach Stritar¹⁾. Die Pentosane wurden in der üblichen Weise nach Tollens bestimmt, die Galaktane als Schleimsäure²⁾. Bei der Galaktanbestimmung, die im wesentlichen in einer Oxydation mit Salpetersäure vom spez. Gew. 1,15 besteht, entstand hauptsächlich Oxalsäure und nur sehr wenig Schleimsäure. Nach dem sehr geringen Gehalt an Galaktanen und Pentosanen zu urteilen, sind diese Polysaccharid-Gruppen in den Inklusen in beachtlichen Mengen überhaupt nicht vorhanden, sondern lediglich als Bestandteile der mitverarbeiteten Zellwand anzusehen. Man geht wohl nicht fehl, wenn man insbesondere die Pentosane auf die sklerosierten Zellen zurückführt, die ja verhältnismäßig zahlreich im Mesokarp von *Pirus domestica* vorkommen. Hieraus geht aber hervor, daß die Grundmasse der untersuchten Inklusen in chemischer Hinsicht mit dem als Bassorin bezeichneten Stoff nicht übereinstimmt, wie es Tunmann für die Inklusen von *Glycyrrhiza glabra* und *Rhamnus cathartica* annimmt; denn Bassorin besteht der Hauptsache nach aus Galaktanen und Pentosanen (Araban).

Spaltungsversuche, die unternommen wurden, um womöglich einen Einblick in die Konstitution der Substanz zu erlangen, verliefen im wesentlichen ergebnislos, wie dies bisher bei allen Rot (Phlobaphen) bildenden Gerbstoffen der Fall war.

Beim Kochen mit starker Kalilauge geht die Inklusensubstanz in Lösung, indem sich die Flüssigkeit von der Oberfläche her rot und schließlich gleichmäßig rotbraun färbt. Beim Erhitzen mit verdünnter Schwefelsäure am Rückflußkühler werden die Inklusen ebenfalls rotbraun, ohne aber merklich in Lösung zu gehen. Es erfolgt nur eine unbedeutende Rötung der Flüssigkeit. Charakteristische Körper konnten hierbei nicht abgeschieden werden. Alle derartigen Versuche liefern vielmehr als Produkt immer wieder einen gegen Säuren und Alkalien sehr widerstandsfähigen, in Alkali löslichen rotbraunen Stoff (Phlobaphen). Eine mit ausgeflockter Inklusensubstanz

¹⁾ Zeitschr. analyt. Chemie 1903, 42, 579.

²⁾ Chem. Zentralbl. 1913, I, 466.

versuchte Säurespaltung ließ erkennen, daß hierbei reduzierende Stoffe nur in ganz untergeordneter Menge (Spuren) entstehen. Bei der Oxydation der Inklusensubstanz mit Permanganat einerseits und mit Wasserstoffsuperoxyd andererseits war es ebenfalls nicht möglich, charakteristische Abbauprodukte zu erzielen. Auch durch Schimmelbildung wurde keine Spaltung erreicht. Eine weitere Aufschließung der ursprünglichen Inklusensubstanz wie des daraus entstehenden Rotes gelingt nur durch schmelzendes Alkali, das aber eine weitgehende Zerstörung des Moleküls herbeiführt. Als Reaktionsprodukt der Kalischmelze konnten lediglich geringe Mengen Protokatechusäure abgeschieden werden, während es nicht möglich war, Phloroglucin nachzuweisen. Bei der trockenen Destillation wurden unter anderem geringe Mengen Brenzkatechin gebildet.

Gegenüber den speziellen Gerbstoffreagenzien verhielt sich eine aus noch harten Früchten durch Auskochung gewonnene Lösung der Inklusensubstanz, wie folgt: Mit 1 %iger Chinin-, Coffein- und Antipyrinlösung, sowie mit Gelatinelösung entstanden auch in starker Verdünnung farblose Niederschläge. Bleiacetat lieferte eine gelblichweiße, Bromwasser eine gelbliche Fällung. Durch Hautpulver wurde der reagierende Stoff vollständig aus der Lösung ausgeschieden. Wie zu erwarten, zeigten sich also auch hierbei die Charaktereigenschaften der als Gerbstoffe bezeichneten Körperklasse.

Hinsichtlich der chemischen Zusammensetzung der Inklusen lassen sich aus den bisherigen Ergebnissen folgende Schlüsse ziehen:

Die Frage ob die Inklusen lediglich Gerbstoff enthalten, oder ob dieser der geltenden Anschauung entsprechend in eine Grundmasse eingelagert ist, hat sich ziemlich sicher zugunsten der letzteren Annahme entscheiden lassen; näheres hierüber weiter unten. Die geringe Menge der bei der Kalischmelze auftretenden Spaltprodukte läßt außerdem auf das Vorhandensein nur relativ geringer Gerbstoffmengen in der Inklusensubstanz schließen. Es ist aber bisher nicht gelungen, die Grundsubstanz chemisch näher zu charakterisieren. Falls ein Pflanzenschleim im Sinne Lloyd's als Träger des Gerbstoffes in Betracht käme, so dürfte er beim Extrahieren der noch nicht erstarrten Inklusen mit Alkohol nicht in Lösung gehen, denn die Pflanzenschleime sind in Alkohol sämtlich unlöslich. Das gleiche würde für eine bassorinartige Substanz gelten, wie sie Tunmann annimmt. Beim Auskochen der Inklusenzellen mit 90 %igem Alkohol bis zur Erschöpfung hinterblieb zwar, wie schon erwähnt, innerhalb der Zellwände ein Rückstand von körnigfaseriger Beschaffenheit, die Menge war jedoch nur gering.

Nach einer Richtung lassen unsere Befunde ein ziemlich sicheres Urteil zu. Es kann nämlich als festgestellt gelten, daß die Grundsubstanz — soweit die Pirus-Inklusen in Frage kommen — mit Bassorin nicht übereinstimmt, oder verwandt ist, denn dieses besteht, wie schon oben erwähnt, vorwiegend aus Galaktanen und Pentosanen (Araban), während wir beides in den Inklusenzellen nur in ganz unbedeutenden Mengen auffanden, die zudem höchstwahrscheinlich von der Zellwand allein herrührten. Die Tatsache, daß alle Hydrolysierungsversuche nur ganz unwesentliche Mengen reduzierender Substanzen lieferten, macht außerdem das Vorhandensein kohlenhydratartiger Gruppen im Gerbstoff wie in der Grundmasse sehr unwahrscheinlich. Da Stickstoff nach Kjeldahl in den Inklusen nicht nachgewiesen werden konnte, kommen auch Eiweißstoffe in nennenswerter Menge nicht in Betracht. Geringe Eiweißmengen dürften als Protoplasmae Reste aber immer noch zugegen sein.

Was den Charakter des Gerbstoffes selbst betrifft, so läßt sich bis jetzt folgendes sagen: Die Grünfärbung der Gerbstofflösung und der bereits erstarrten aber noch nicht durch Phlobaphenbildung veränderten Inklusensubstanz mit Eisenchlorid und der Umschlag der Farbe über Blau in Violett bei Sodazusatz (Reaktion der Orthodioxyverbindungen) beweist das Vorhandensein eines Protokatechusäurerestes im Molekül, oder vielmehr eines Brenzkatechinderivates im allgemeinen. Bestätigt wird diese Annahme weiter durch die Auffindung der Protokatechusäure als Produkt der Kalischmelze. Dagegen ist der Nachweis von Phloroglucin hierbei nicht gelungen. Die Anwesenheit von Phloroglykotanninen in den Inklusen erscheint daher trotz der charakteristischen Reaktion mit Vanillinsalzsäure und mit p-Dimethylaminobenzaldehyd keineswegs erwiesen, wenngleich hierbei zu berücksichtigen sein dürfte, daß durch die Kalischmelze unter Umständen vielleicht eine völlige Zerstörung solcher Phenolreste herbeigeführt werden könnte.

Infolge der Beobachtung, daß Katechin mit Vanillinsalzsäure und p-Dimethylaminobenzaldehyd ebenso reagiert, wie Phloroglucin, nimmt Joachimowitz an, daß die Inklusenreaktion nicht immer auf Phloroglykotannide, sondern wenigstens in einem Teil der Fälle auf Katechin zurückzuführen sein wird. Dies trifft aber für die von uns untersuchten Inklusen nicht zu, denn Katechin liefert bei der Kalischmelze neben Protokatechusäure auch Phloroglucin, während uns bei den Inklusen der Nachweis von Phloroglucin trotz aller Bemühungen niemals gelang.

Bei allen Versuchen, den Gerbstoff mit Hilfe von Säure oder Lauge zu spalten, treten immer wieder rot bis rotbraun gefärbte, in Wasser unlösliche Produkte auf (Phlobaphene), eine Eigentümlichkeit, die sich bei allen zur sogenannten Eichenrindengruppe gehörenden Gerbstoffen findet¹⁾. Alle dahin gehörenden Vertreter liefern auch bei der Kalischmelze Protokatechusäure zum Teil neben etwas Phloroglucin.

Ob diese Rotbildung die Folge einer Oxydation ist, oder die einer Wasserabspaltung (Lactonbildung), wie man neuerdings annimmt, ist von uns nicht näher untersucht worden. Unsere Beobachtungen während dieser Arbeiten sprechen aber dafür, daß es sich um einen Oxydationsvorgang handelt. Die Braunfärbung der durch Schlämmen gewonnenen bis dahin hellen Inkluzenzellen ist offensichtlich eine Oxydationserscheinung, denn sie erfolgt erst beim Trocknen der Mesokarpzellen an der Luft und läßt sich zudem wesentlich verringern, wenn vorher durch Erhitzen der Früchte eine Abtötung der Enzyme erfolgte. Auch die rotbraune Färbung bei der Lösung der Inklusensubstanz in Lauge erfolgt unter Mitwirkung des Luftsauerstoffes. Man erkennt dies deutlich am mikroskopischen Präparat, indem die Färbung stets von den Stellen ausgeht, wo die Luft Zutritt hat, also vom Rand des Deckgläschens und von etwa vorhandenen Luftblasen aus, während die inneren, von der Luft abgeschlossenen Teile des Präparates lange Zeit völlig ungefärbt bleiben. Analog beginnt die Rotfärbung in einem mit Inkluzenzellen und Lauge beschickten Glaskolben beim Erhitzen von der Oberfläche der Flüssigkeit her und schreitet nach der Tiefe fort. Erfolgt gleichzeitig ein Zusatz von Zinkstaub, also eines Reduktionsmittels, so tritt eine Rotbildung überhaupt nicht auf, ein Zeichen, daß die Reaktion tatsächlich die Folge einer Oxydation ist. Gegen die Annahme einer Wasserabspaltung im Molekül als Ursache der Rotbildung dürfte ferner das Verhalten der Inklusen beim Kochen mit Glycerin sprechen. Da konzentriertes Glycerin wasserentziehend

¹⁾ Vergl. Dekker, Die Gerbstoffe 1913.

wirkt, müßte man hierbei eine Rotbildung erwarten. In Wirklichkeit werden jedoch bereits koagulierte aber noch ungefärbte Inklusen auch fast farblos gelöst und auch bei längerem Erwärmen dieser Lösung tritt nur eine rötliche Färbung ein.

Früher glaubte man, daß bei der Rotbildung gleichzeitig eine Abspaltung einer Zuckergruppe erfolgte, und schloß hieraus auf den Glykosidcharakter der Vertreter dieser Gerbstoffgruppe. Die neueren Untersuchungen haben diese Anschauung aber nicht bestätigt, da sich herausstellte, daß nur sehr geringe Mengen reduzierender Stoffe bei der Hydrolyse entstehen, deren Zugehörigkeit zum Gerbstoffmolekül sich zudem nicht sicher nachweisen läßt. Auch unsere bisherigen Beobachtungen lassen erkennen, daß bei den Hydrolyisierungsversuchen nur ganz unerhebliche Mengen reduzierender Stoffe auftreten. Der Inklusengerbstoff besitzt mithin keinen Glykosidcharakter.

Geprüft wurde schließlich noch die Frage, auf welchen Stoff die meist wenig beständige und ungleichmäßig auftretende Violett färbung der Inklusen bei Einwirkung von Lauge zurückzuführen ist. Die Versuche ließen erkennen, daß der durch Alkohol ausgezogene Gerbstoff die Reaktion nicht gab. Die Prüfung einer wässrigen Lösung, die durch Auskochen von harten Früchten gewonnen war, lieferte dagegen folgendes Ergebnis:

Aus der nach dem Erkalten zunächst milchig trüben Flüssigkeit hatte sich nach einigen Tagen ein nur ganz blaß rötlich gefärbter Niederschlag abgeschieden. Die fast klare, überstehende Lösung enthielt reichlich Inklusengerbstoff, der sofort mit Vanillinsalzsäure und Eisenchlorid in der bekannten Weise reagierte, aber mit Lauge keine Violett färbung lieferte. Der Bodensatz, der sich unter dem Mikroskop aus feinsten Körnchen bestehend erwies und eine gewisse gummös-elastische Zähigkeit besaß, gab ebenfalls die typische Eisenchlorid- und Vanillinsalzsäurereaktion, gleichzeitig aber auch die Violett färbung mit Lauge. Diese Beobachtung läßt einmal darauf schließen, daß der Inklusengerbstoff als solcher leicht in Wasser löslich ist, daß er aber nur zum Teil frei in den noch nicht erstarrten Inklusen vorkommt, zum Teil jedoch an einen anderen Stoff gebunden ist, mit dem er einen in Wasser schwer löslichen Körper bildet.

Diese Verbindung ist es, die die Violett färbung mit Lauge bewirkt und in den wässrigen Auskochenungen der Früchte nach dem Erkalten die milchige Trübung bezw. Abscheidung hervorruft. Offenbar haben wir in der zweiten Komponente des Körpers die wiederholt erwähnte „Grundmasse“ der Inklusen vor uns, in die die Gerbstoffe nach der bisherigen Annahme eingelagert sein sollten. Der kolloide Charakter dieses Stoffes konnte durch Dialyse einer mit Glycerin hergestellten Lösung erwiesen werden, dagegen ließ sich bisher über seine chemische Natur nichts ermitteln. Daß es sich weder um eine bassorinartige Substanz, noch um einen Celluloseschleim handelt, war oben bereits ausgeführt worden.

Zum Schluß noch einige Worte über die ökologische Bedeutung der Inklusen bei zuckerreichen Früchten, in denen sie besonders häufig angetroffen werden.

Der in den Inklusen abgelagerte Gerbstoff bleibt dort lokalisiert und kann nicht in benachbarte Elemente übergeführt werden, wie sich an Früchten mit einzelstehenden Inklusenzellen leicht nachweisen läßt. Er kann deshalb innerhalb des Pflanzenorganismus kaum eine Rolle mehr spielen und lediglich für die Frucht als solche noch eine Bedeutung besitzen. Tunmann¹⁾, der die Inklusenbildung mit der des

¹⁾ Apoth.-Ztg. 1913, 28, 772.

Kerngummis in den Gefäßen und Tracheiden vergleicht, führt zu dieser Frage folgendes aus: „Die betreffenden Elemente werden aus dem Saftverkehr ausgeschlossen, gleichzeitig aber fester, widerstandsfähiger gegen Fäulnis. Den Früchten gewähren somit die Inklusen einen Schutz, hindern wohl auch ein zu frühzeitiges Zerfallen der Früchte.“ Dem widersprechen aber jedenfalls unsere Erfahrungen bei den inklusenreichen Früchten, bei denen wir rasches Teigigwerden feststellten, das im allgemeinen auch baldigen Zerfall nach sich zieht. Liegt es nicht vielmehr näher anzunehmen, daß der Gerbstoffgehalt hauptsächlich das vorzeitige Gefressenwerden der Früchte verhüten und so das Ausreifen der Samen gewährleisten soll? Mit dieser Anschauung würde wenigstens die Beobachtung übereinstimmen, daß einerseits zahlreiche Früchte im unreifen Zustand ziemlich viel Gerbstoff enthalten, der dann beim Reifen, oder bei der Nachreife scheinbar verschwindet, indem er unlöslich und dadurch geschmacklos wird, und daß andererseits unreife Früchte vom Tierfraß so gut wie vollständig verschont bleiben.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Das Mesokarp einer Reihe von Früchten (hauptsächlich Pirusarten) besteht vollständig aus Inkluzenzellen. Solche Früchte unterliegen nach der Reife ziemlich rasch dem Teigigwerden. Die einzige bisher gefundene Ausnahme ist *Prunus spinosa* L. Das hierbei zu beobachtende Verschwinden des herben Geschmackes ist nicht auf die Abnahme, oder das völlige Verschwinden des Gerbstoffes, sondern auf dessen Unlöslichwerden infolge einer Art Koagulation der Inklusen zurückzuführen. Hierdurch wird die Genießbarkeit der betreffenden Früchte erst bedingt.

2. Die Inklusen der Früchte von *Pirus domestica* enthalten zunächst einen in Wasser und Alkohol löslichen Gerbstoff, zum Teil gebunden an eine schwer lösliche kolloide Substanz unbekannter Zusammensetzung, die die Grundmasse der Inklusen darstellt. Erst beim Teigigwerden oder auch beim Trocknen der Früchte geht die Inklusensubstanz in eine in indifferenten Flüssigkeiten fast unlösliche Form über. Beim Teigigwerden tritt allmählich die Bildung von braun gefärbten Produkten auf (Phlobaphen). Dieselben Erscheinungen finden sich bei anderen inklusenreichen Früchten.

3. Beim Teigigwerden der Früchte von *Pirus domestica* wird u. a. Acetaldehyd gebildet.

4. Der Pentosan- und Galaktangehalt der Inkluzenzellen von *Pirus domestica* ist nur sehr gering und rührt vermutlich ausschließlich von der Zellwand her. Die Annahme einer bassorinartigen Grundmasse als Träger des Gerbstoffes erscheint daher nicht gerechtfertigt. Ebenso wenig kommt ein schleimartiger Körper in Betracht, da trotz verschiedenartiger Hydrolyisierungsversuche niemals Zuckergruppen nachgewiesen werden konnten.

5. Der unveränderte Inklusengerbstoff von *Pirus domestica* gibt mit Eisenchlorid und Sodalösung die Reaktion der Orthodioxxyverbindungen, ein Zeichen daß ihm ein Brenzkatechin-Derivat zugrunde liegt. Bei der Kalischmelze wurden lediglich geringe Mengen Protokatechusäure erhalten, dagegen kein Phloroglucin. Das Vorhandensein eines Phloroglykotannids in der Inklusensubstanz ist daher trotz der Vanillinsalzsäurereaktion nicht erwiesen. Der in Frage kommende Gerbstoff gehört nach seinen Eigenschaften zur Eichenrindengruppe und besitzt keinen Glykosidcharakter.

6. Die mit Kalilauge auftretende Violettfärbung der Inklusen kommt der Verbindung des Gerbstoffes mit der kolloiden Grundmasse zu.

7. Inklusen wurden neuerdings in den Früchten folgender Arten festgestellt und zwar in fast allen Zellen des Mesokarps: *Pirus communis* L., *P. salicifolia* L. fil., *P. betulifolia* Bge., *P. amygdaliformis* Vill., *P. sinensis* Lindb., *P. pulcherrima* A. et G., *P. baccata* L. und *Prunus spinosa* L.

Die Weinernte 1918 in der Pfalz.

Von

Otto Krug und Hans Filchner.

Mitteilung der Landwirtschaftlichen Kreisversuchsstation Speyer.

[Eingegangen am 10. Dezember 1918.]

Der Herbst 1918, bereits der fünfte während des großen Völkerkrieges, ist in eine sehr ernste und folgenschwere Zeit gefallen. Wir stehen am Ende des schrecklichen Weltkrieges, aber auch am Ende der Herrlichkeit des alten deutschen Reiches. Bald wird der größte Teil unseres herrlichen deutschen Rebengeländes vom Feinde besetzt sein und es ist daher begreiflich, daß auch der Winzer besondere Ursache hat, mit Sorgen und Bangen in die Zukunft zu blicken. Möge er sich hierbei der ruhmvollen Vergangenheit des Pfälzer Weinbaues erinnern und insbesondere eingedenk sein, daß trotz aller schweren Prüfungen, die gerade der Pfälzer Weinbau im Laufe der Jahrhunderte hat über sich ergehen lassen müssen, er immer wieder aus eigener Kraft sich siegreich behauptet und emporgearbeitet hat.

Die Weinernte des Jahres 1918 kann in der Pfalz der Menge nach als eine völlig befriedigende angesehen werden; in bezug auf Güte blieb sie dagegen weit hinter dem viel besseren 1917-er zurück und lieferte nur einen mittelmäßigen, aber immerhin brauchbaren Wein. Man wird daher von ihm im allgemeinen sagen können: hart aber gesund. Das Mengenergebnis schwankte in den verschiedenen Weinbaugebieten erheblich, was wohl in erster Linie auf den günstigeren oder ungünstigeren Blüteverlauf zurückzuführen ist. Das Rebholz war im allgemeinen infolge des günstigen Sommer- und Herbstwetters im Vorjahre gut ausgereift in den Winter gelangt, sodaß auch die im Dezember und Januar herrschende Kälte nennenswerten Schaden nicht verursachte. Nur vereinzelt ergab sich beim Schneiden, daß manche, vorwiegend schlecht behandelte und im Spritzen vernachlässigte Weinberge viel taubes Holz zeigten, sodaß hier zur Erzielung von gesundem und tragfähigem Holz besondere Vorsicht geboten war. Durch die Länge des Krieges machte sich der Mangel an Arbeitskräften in immer stärkerem Maße bemerkbar, sodaß bei vielen Winzern die Besorgnis herrschte, ob es überhaupt gelingen würde, die notwendigen Weinbergsarbeiten (Schneiden, Binden, Biegen und Düngen) bis zum Eintritt der Vegetation zu beenden. Hierzu kam, daß die Beschaffung von Bindeweiden durch die Beschlagnahme sehr erschwert wurde bezw. diese nur zu ganz abnorm hohen Preisen erhältlich waren. Es sahen sich daher viele Winzer, wenn auch nur ungern genötigt, auch hier zu einem „Ersatz“ zu greifen, nämlich dem Papierbindegarn mit Drahteinlage. Bei dem Mangel an gutem Stalldünger und bei der großen Knappheit