Zeitschrift: Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft = Bulletin de la Société Botanique Suisse

Herausgeber: Schweizerische Botanische Gesellschaft

Band: 65 (1955)

Artikel: Natur und Verteilung der löslichen Kohlenhydrate im ruhenden und keimenden Gerstenkorn

Autor: Schmidhauser, Thomas

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-45986

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 02.10.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Natur und Verteilung der löslichen Kohlenhydrate im ruhenden und keimenden Gerstenkorn

Von *Thomas Schmidhauser*

(Aus dem Botanischen Institut der Universität Zürich)

Eingegangen am 15. Dezember 1954

Inhaltsverzeichnis

		Seite
I.	Einleitung und Problemstellung	303
II.	Kurzer Überblick über bisherige Arbeiten	304
III.	Die freien Zucker im Gerstenkorn	305
	1. Saccharose	305
	2. Raffinose	306
	3. Maltose	307
	4. Hexosen	307
	5. Oligosaccharide (außer Saccharose und Raffinose)	308
	6. Andere Zucker	310
IV.	Untersuchungsmaterial	310
V.	Untersuchungsmethoden	311
	1. Die Keimung	311
	2. Die Extraktherstellung	312
	3. Die papierchromatographische Analyse	315
VI.	Analysenresultate	319
	1. Das ungekeimte Korn	319
	2. Das keimende Korn	319
VII.	Diskussion	326
	1. Die Produktion löslicher Kohlenhydrate	327
	a) Der Stärkeabbau durch Amylasen	327
	b) Der Stärkeabbau durch Phosphorylase	328
	c) Folgerungen	329
	2. Transport und Konzentrationsverhältnisse der löslichen Kohlenhydrate im Getreidekorn	332
	3. Der Verbrauch der mobilisierten Kohlenhydrate	335
VIII.	Zusammenfassung	338
IX.	Literaturverzeichnis	339

Die vorliegende Untersuchung wurde im Herbst 1950 am Institut für allgemeine Botanik der Universität Zürich begonnen, auf Anregung von Herrn Prof. Dr. H. Wanner, dem ich hiermit meinen herzlichsten Dank aussprechen möchte für die Anteilnahme, mit der er meine Arbeit verfolgte. Mein Dank gebührt auch Herrn Prof. Dr. P. Caspari, der mir vom Frühling 1951 bis Herbst 1953 erlaubte, im Pharmazeutischen Institut der Universität Bern einen Laborplatz zu benützen.

Schließlich danke ich auch Herrn Dr. G. Wander, der mir durch Vermittlung dieses Laborplatzes ermöglichte, diese Arbeit überhaupt fortzusetzen.

I. Einleitung und Problemstellung

Die reife Frucht ist das Ende und der Höhepunkt einer Entwicklung und zugleich der Beginn neuen Wachstums bei der Keimung. Diese ist ein sehr komplexer Vorgang, determiniert durch genetische, physiologische und ökologische Faktoren. Zu letzteren gehören im weiteren Sinne auch die Klima- und Bodenverhältnisse während des Wachstums der Mutterpflanze, die äußeren Bedingungen während und nach der Reifung sowie die Art der Aufbewahrung der reifen Frucht.

Nachdem der synthetische Aufbau des Kornes in der Ähre zum Stillstand gekommen ist, befindet sich das reife Korn im Zustand der Samenruhe. Die Enzymaktivität hat den Tiefststand erreicht, und die Atmung ist minimal.

Werden die äußeren Bedingungen zur Keimung günstig — Versorgung des Korns mit genügend Wasser und Sauerstoff bei geeigneter Temperatur —, setzt ein intensives Leben ein.

Jeder Aufbau erfordert Zufuhr von Energie. Diese Energie stammt vor allem aus der Dissimilation, wobei Reservekohlenhydrate und Fette des Korns veratmet werden.

Der Ort des neuen Wachstums ist der Embryo. Es ist anzunehmen, daß dieser zuerst die löslichen, niedermolekularen Verbindungen, die im Keimling selbst lokalisiert sind, aufbraucht; einerseits zum Aufbau des neuen Zellmaterials, anderseits als Energiespender für diese Vorgänge.

Nach kurzem entsteht aber eine Verarmung an weiteren löslichen Verbindungen, und es muß ein Nachschub aus dem Endosperm einsetzen. Dieser wird durch Fermente reguliert, die eine Reaktivierung erfahren, zum Teil aber auch neu gebildet werden. Unlösliche Stoffe werden in niedermolekulare Teile gespalten und können nun in löslicher Form ihre Wanderung von Zelle zu Zelle, vom Endosperm zum Embryo aufnehmen.

Prinzipiell bestehen zwei Wege zur analytischen Erfassung der stofflichen Vorgänge bei der Keimung:

1. die direkte Untersuchung der Wirkung der aus den Samen gewonnenen Fermente auf die darin vorkommenden Substrate und
2. die Untersuchung der (fermentbedingten) chemischen Veränderungen am Objekt selbst während der Keimung.

Eine kritische Auseinandersetzung mit diesen beiden Möglichkeiten gibt Hesse (1940). Da die vorliegende Arbeit der zweiten Methode folgt, muß mit Hesse betont werden: Eine solche Untersuchung vermag nur den jeweils herrschenden statischen Zustand zu erfassen; den dynamischen Fließzustand zwischen Abbau im Endosperm und Aufbau

in der Keimanlage vermögen nur komplizierte Bilanzanalysen theoretisch zu erklären, für die aber das Korn weitgehender, als es diese Untersuchung tut, in die verschiedensten Teile zerlegt werden sollte; auch müßten sämtliche im keimenden Korn vorkommenden Kohlenhydrate analytisch erfaßt werden. Zudem sollte eine solche Untersuchung, um Anspruch auf Allgemeingültigkeit erheben zu können, mehr als nur eine einzelne Sorte Gerste, aus nur einem Erntejahr, umfassen und auch in Zusammenhang gesetzt sein zu allen biochemischen Verhältnissen in der reifen und keimenden Frucht und der ganzen Pflanze.

Dies alles hätte aber zu weit geführt. Daher beschränkte ich mich darauf, zu untersuchen, welche qualitativen und quantitativen Veränderungen der freien Zucker im keimenden Gerstenkorn festzustellen sind, wobei ich das Korn unterteilte in Embryo und Endosperm.

Zum Embryo gehörend rechnete ich das Scutellum, die Sproßanlage und in höheren Keimstadien die Coleoptile und die Wurzelanlage resp. die gebildeten Würzelchen,

zum Endosperm das eigentliche Nährgewebe, die Frucht- und Samenschale mit dem Nucellus und die Spelzen.

II. Kurzer Überblick über bisherige Arbeiten

Eine tabellarische «Zusammenstellung der Ansichten und Behauptungen verschiedener Chemiker über das Vorhandensein und Nichtvorhandensein von Zucker und Dextrin in den ungekeimten Cerealien» gibt Kühnemann (1875), dem auch als erstem der sichere Nachweis von Saccharose im ungekeimten Gerstenkorn gelang (Kühnemann, 1875 *b*).

Kjeldahl (1879 und 1881) bestätigt das Saccharosevorkommen in der Gerste; O'Sullivan (1885) konstatiert während der Keimung eine Zuckervermehrung, an der vor allem die Saccharose beteiligt sei; Hansteen (1894) und Puriewitsch (1896) bestätigen dies, lassen aber die Frage der gebildeten Zuckerarten offen. Eine klassische Arbeit über dieses Thema ist die Untersuchung von Brown und Morris (1890) mit isolierten Gerstenembryonen, die auf Zuckerlösung wuchsen. Aus den Resultaten schließen sie, daß bei der Keimung die Maltose zunächst in Glukose gespalten und diese neben der Veratmung nach komplizierten Umwandlungen in der Keimanlage zu Saccharose synthetisiert wird.

Auch Grüss (1898) weist Maltose auf demselben indirekten Wege wie Brown und Morris nach.

Während aus der Zeit vor und knapp nach der Jahrhundertwende eine große Anzahl Untersuchungen über die freien Zucker der Gerste gemacht wurden, ist die Anzahl der Arbeiten in den letzten fünfzig Jahren eher spärlich. Ein Hauptgrund dafür wird sein, daß keine we-

sentlich verbesserten Methoden zur Zuckertrennung und Bestimmung aus natürlichen Pflanzenextrakten entwickelt wurden. Ausführlichere Arbeiten aus dieser Zeit stammen von Kluyver (1914), Pringalle (1927), Hopkins und Krause (1937), James (1940), Täufel und Müller (1942), Montreuil und Scriban (1951), während Lehmann und Aichele (1931) eine Übersicht der Untersuchungen bis 1931 geben.

Kluyver (1914) untersucht die Zucker des Gerstenkorns sowohl mittels chemischer Methoden als auch auf fermentativem Wege mit verschiedenen Hefestämmen. Seine Untersuchungen beziehen sich auf die qualitative und quantitative Zuckerbildung im Verlaufe der Keimung. Ebenso bei Pringalle (1927), der aber rein chemisch arbeitet.

Bei Hopkins und Krause (1937) finden sich detaillierte Angaben über die Lokalisation der verschiedenen Zucker im Gerstenkorn, ebenso bei Kretowitch (1933) für Weizen. Ebenfalls auf Weizen bezieht sich die viel spätere Untersuchung von Koch, Geddes und Smith (1951), die bereits die Papierchromatographie anwenden. Das Maximum an Genauigkeit bei Anwendung orthodoxer, das heißt rein chemischer Methoden erreichte wohl James (1940). In Experimenten mit Gerstenkeimlingen, die entweder ihre Nahrung aus dem Endosperm oder, vom Korn weggeschnitten und isoliert, aus einer kohlenhydratfreien Kulturlösung zogen, ergab sich, daß der Saccharose größte Wichtigkeit für den Kohlenhydratstoffwechsel der Gerste zukomme. Dieser Zucker diene als Material für Atmung und Aufbau des neuen Zellwandmaterials; erst wenn die Saccharose auf eine gewisse Stufe vermindert ist, können Maltose oder andere Zucker auch verbraucht werden. Täufel und Müller (1942) geben eine nach Keimtagen detaillierte Bilanz der niederen Kohlenhydrate der Gerste an. Es werden nur Glukose, Fruktose und Saccharose bestimmt, letztere unter der Voraussetzung, daß in der Gerste keine anderen, bei der Hydrolyse Ketozucker liefernden Saccharide vorhanden sind.

Montreuils und Scribans (1951) Untersuchung und auch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen aber, daß diese Voraussetzung nicht erfüllt ist.

III. Die freien Zucker im Gerstenkorn

1. Saccharose

Die Arbeit von Kühnemann (1875 *b*) wurde erwähnt. Kjeldahl (1879 und 1881) findet im ungekeimten Korn 1,5 % Saccharose, während das Grünmalz zirka 7,5 % enthält. Die Hauptmenge befinde sich im Keimling. Brown und Morris (1890) zeigen, daß bei einer Keimdauer von zehn Tagen der Saccharosegehalt im Keimling von 5 % auf 24 %, im Endosperm von 0,3 % auf 2,2 % ansteigt. Lintner und

Düll (1893) und Petit (1895) erbringen den Nachweis der Saccharosevermehrung während der Gerstenkeimung, indem sie Saccharose aus Malz in Substanz isolieren. Aus den Untersuchungen von Kluyver (1914) geht hervor, daß der Saccharosegehalt zwischen dem ersten und dem fünften Keimungstag mit Schwankungen zwischen 0,7 % und 0,5 % ungefähr konstant bleibt, um dann am achten Keimungstag auf 4 % anzusteigen. Lüers (1915) bestimmt den Saccharosegehalt des Malzes mit 1,58 %. Nach Loibl (1923) enthält das ungekeimte Korn fast 2 % Saccharose (bezogen auf das Trockengewicht); am ersten Keimtag enthält es noch 1,5 %, ebenso nach zwei Tagen; am dritten Tag Zunahme auf 2 %, am vierten Tag Abnahme auf das Minimum von 1,3 %; dann Zunahme auf 3,7 % (fünfter Tag), 4,2 % (sechster Tag) und 5 % am siebenten Tag. Die vorübergehende Abnahme sei verursacht durch den Verbrauch des Keimlings. Nach Pringalle (1927) sind 0,2 % der Gerstentrockensubstanz Saccharose. Kretowitch (1933), der mit Weizen arbeitet, stellt fest, daß in den äußeren Schichten des Endosperms die Saccharosekonzentration etwa fünfmal größer sei als im Innern. Hopkins und Krause (1937) bestätigen, daß die Mono- und Disaccharide hauptsächlich in der Aleuronschicht des Endosperms liegen. James (1940) schnitt in verschiedenen Keimungsstadien Embryonen vom Endosperm weg und analysierte sie: Von 15 mg Hexoseäquivalenten im ungekeimten Embryo sinkt der Saccharosespiegel am zweiten Tag auf Null, steigt am dritten Tag auf 30 mg, am fünften Tag auf 60 mg an, um am siebenten und achten Tag auf 30 resp. 25 mg abzusinken; am neunten Tag steigt er nochmals auf 40 mg, um dann stetig auf 3 mg am 14. Tag abzufallen.

Täufel und Müller (1942) geben je nach Gerstensorte im ungekeimten Korn einen Sacharosegehalt von 1,48 bis 2,32 % (bezogen auf 100 g Trockenmasse) an. Bei einer eingehender untersuchten Gerste nimmt die Saccharose von 1,5 % im ungekeimten Korn stetig ab auf 0,9 % am dritten Tag, um dann ebenso gleichmäßig auf 4,5 % am sechsten Keimtag anzusteigen, womit das Maximum erreicht ist. Am siebenten Tag 4 %, am achten Tag 4,2 %.

Da die Resultate von Koch, Geddes und Smith (1951), wie schon erwähnt, auf papierchromatographischem Wege entstanden sind, verdienen sie Beachtung, auch wenn diese Autoren statt Gerste die Zucker des Weizenmehls untersuchen; sie finden 0,10 % Saccharose im Mehl. Montreuil und Scriban (1951) bestätigen ebenfalls papierchromatographisch die Anwesenheit von Saccharose in der Gerste.

2. Raffinose

Die Angaben über Raffinose sind seltener. O'Sullivan (1886) ist wohl der erste, der im Gerstenkorn Raffinose feststellt. Er findet sie

nur im Endosperm. Kluyver (1914) berechnet den Raffinosegehalt des ganzen Korns vom Anfang der Keimung bis zum dritten Tag mit wenig mehr als 0,4 %. Am fünften Tag verschwindet die Raffinose aus dem Korn. Pringalle (1927) und Leberle (1930, S. 180) geben ebenfalls das Vorhandensein von Raffinose an. Colin und Belval (1934 *a*) stellen fest, daß in Gerste die Raffinose ausschließlich im Keimling angetroffen wird. Hopkins und Krause (1937, S. 56) erwähnen das Vorhandensein von Raffinose. James (1940) findet in hundert ungekeimten Gerstenembryonen 0,6 mg Hexoseäquivalente Raffinose. Nach einer Keimdauer von 24 Stunden ist die Raffinose jedoch verschwunden. Während Täufel und Müller (1942) und Lüers (1950) in der Gerste für ihre Untersuchungen keine Raffinose voraussetzen, bestätigen Montreuil und Scriban (1951) das Vorhandensein von Raffinose in der Gerste.

3. Maltose

In der Gerste wurde Maltose durch O'Sullivan (1886) nachgewiesen. Brown und Morris (1890) können im ungekeimten Korn keine Maltose finden; jedoch nach zehn Tagen Keimdauer im Endosperm. Kluyver (1914) findet im ungekeimten Korn keine Maltose; sie soll sich erst im Verlaufe der Keimung bilden: am fünften Tag 0,5 %, am sechsten und achten Tag 2 resp. 3 %. James (1940) kann ebenfalls im ungekeimten Korn keine Maltose feststellen; am zweiten Keimtag jedoch sind es 10 mg Hexoseäquivalente, am dritten Tag noch 5, am siebenten Tag 20, am zwölften Tag 22 und am 14. Tag wieder nur noch 3 mg.

Lindet (1903), Choate (1921), Loibl (1923) und Täufel und Müller (1942) finden alle keine Maltose in der Gerste. Lüers (1950) erklärt, der Nachweis sei nicht mit Sicherheit erbracht. Pringalle (1927) und Montreuil und Scriban (1951) bestätigen das Vorhandensein von Maltose.

4. Hexosen

Seit O'Sullivan (1886) wird das Vorkommen von Hexosen in der Gerste nie bestritten. Kluyver (1914) macht die ersten Zahlenangaben:

Ungekeimt	0,05 %	Hexosen bezogen auf das Trockengewicht
1. Keimtag	0,15 %	
3. Keimtag	0,10 %	
5. Keimtag	0,25 %	
6. Keimtag	1,0 %	
7. Keimtag	1,4 %	
8. Keimtag	1,5 %	

Loibl (1923):

Ungekeimt	0,4 %	Invertzucker bezogen auf das Trockengewicht
1. Keimtag	0,2 %	
2. Keimtag	0,3 %	
3. Keimtag	0,7 %	
4. Keimtag	2,0 %	
5. Keimtag	3,1 %	
6. Keimtag	3,7 %	
7. Keimtag	3,3 %	

James (1940):

0.—5. Keimtag	0,2 mg	Hexosenäquivalente per 100 Embryonen
7. Keimtag	0,8 mg	
10. Keimtag	1,3 mg	
12. Keimtag	1,5 mg	
14. Keimtag	1,2 mg	

Täufel und Müller (1942): «Die Monosaccharidfraktion des Gerstenkorns besteht prinzipiell nur aus Glukose und einer sehr kleinen Spur Fruktose.»

	Glukose + Fruktose	Fruktose allein	
Ungekeimt	0,35 g	0,05 g	bezogen auf 100 g Trockenmasse
1. Tag	0,15 g	—	
2. Tag	0,35 g	—	
3. Tag	1,7 g	0,05 g	
4. Tag	3,4 g	0,3 g	
5. Tag	4,1 g	0,4 g	
6. Tag	4,5 g	0,6 g	
7. Tag	3,8 g	0,4 g	
8. Tag	1,9 g	0,3 g	

5. Oligosaccharide (außer Saccharose und Raffinose)

Kühnemann (1875 *b*) ist wohl der erste, der eine Angabe über einen in Gerste gefundenen, nach links polarisierenden Körper macht, von ihm Sinistrin genannt. Tanret (1891) nennt ein aus Gerste isoliertes Kohlenhydrat Lévosin. Auf das Trockengewicht bezogen, findet der Autor eine Menge von 0,3 bis 0,8 %. Jessen-Hansen (1896) benennt das von ihm in Gerste gefundene Polysaccharid Apeponin.

Bis in die neunziger Jahre des vergangenen Jahrhunderts machen noch verschiedene andere Forscher Angaben über Fruktosanvorkommen in den verschiedensten Pflanzen, während nachher ungefähr dreißig Jahre lang dieser Frage nicht mehr nachgegangen wird. Eine Zusammenstellung der Arbeiten und Forscher dieser ersten Periode der Fruktosanforschung bis 1940 gibt Archbold (1940); es finden sich

hier ausführliche Angaben über das Vorkommen von Fruktosanen, über die verschiedene Benennung derselben, die Isolierung, die chemische Konstitution, die quantitative Bestimmung usw.

Eine Analyse von Gerstenähren durch Archbold (1938) zeitigt bei einem Totalzuckergehalt von 4,8 % (bezogen auf das Trockengewicht) einen Fruktosangehalt von 2,2 %.

Interessant im Zusammenhang mit der Fruktosanfrage ist die bei Archbold nicht erwähnte Arbeit von Myrbäck (1938): Bei der Fraktionierung der beim Abbau durch verschiedene Amylasen gewonnenen Grenzdextrine wird in mehreren Fällen beobachtet, daß in wasserhaltigem Alkohol leichtlösliche Fraktionen mit Trisacchariden vorhanden sind. Aus Darrmalz isoliert er eine solche Fraktion — die aber nicht Raffinose sein kann — in einer Menge von 3,3 %.

An neueren Arbeiten sind zu erwähnen Bradfield und Flood (1950), die in einer papierchromatographischen Untersuchung über lösliche Kohlenhydrate einiger Früchte einen mit dem Ketosereagens sichtbar werdenden Flecken finden, der einen ähnlichen R_F-Wert hat wie das Gersten-Glukofruktosan in der vorliegenden Arbeit.

Interessant sind auch die Arbeiten von Dedonder (1950 *a* und 1950 *b*) über Topinambur. In 1950 *a* zeigt hydrolisiertes Inulin auf dem entwickelten Papierchromatogramm acht Flecken, inklusive Fruktose und Saccharose. Der Flecken *B* mit einem R_G-Wert (Fließweg Glukose dividiert durch den Fließweg Fruktose) von 0,65 ist möglicherweise identisch mit dem Gersten-Glukofruktosan. In 1950 *b* (Hydrolyse eines Extraktes aus Topinamburknollen) wäre es der Flecken Nr. 3 aus einer Serie von neun Flecken, die zwischen Startlinie und Saccharose liegen.

In einer Arbeit von Dedonder und Burry (1950) kommen die Autoren zum Schluß, daß die Saccharose die Funktion eines Stabilisators und eines Transportorgans für die Moleküle der Fruktofuranose spiele.

Ebenfalls mit papierchromatographischen Methoden untersuchen Bacon und Edelmann (1951) die Kohlenhydrate verschiedener Kompositen, und auch diese Forscher finden mindestens sieben nichtreduzierende Substanzen mit einem R_F, der zwischen Startlinie und der Saccharose liegt. Diese Substanzen bestehen vor allem aus Fruktofuranoseresten und wenig Glukose, letztere mengenmäßig proportional abnehmend mit dem R_F. Es wird als wahrscheinlich angenommen, daß diese Substanzen in Verwandtschaft zu Inulin stehen.

Edelmann und Bacon (1951) geben eine interessante Theorie zur Enstehung dieser Fruktosane. In der ebenfalls aus Topinamburknollen untersuchten Kohlenhydratserie ist Saccharose die Komponente mit dem kleinsten und Inulin diejenige mit dem größten Molekulargewicht. Es konnten nun Enzympräparate gefunden werden (isoliert aus Topinambur), die als Katalysatoren bei der Anlagerung von Fruktose

an Saccharose wirken, wobei ein Trisaccharid und höhere Oligosaccharide gebildet werden. Dieser Vorgang, von den Autoren «Transfructosidation» genannt, ist auch möglich durch eine Anlagerung von Fruktose an Raffinose und an freie Fruktose, nicht aber an Maltose oder Glukose. Auch sind sich die Autoren mit Dedonder (1950 *a*) einig, daß alle dabei gebildeten Polysaccharide zur Hauptsache aus Fruktose bestehen, aber einen endständigen, nichtreduzierenden Glukoserest haben. Diese Ansicht wird von Laidlaw und Reid (1951) geteilt, die zeigen, daß das terminale Glukosemolekül mit den Fruktoseketten auf gleiche Weise verbunden ist wie in der Saccharose.

Während diese Arbeiten über Fruktose sich auf Topinambur beschränken, beziehen sich zwei neuere papierchromatographische Untersuchungen auf Gramineenfrüchte. Koch, Geddes und Smith (1951) finden im Weizenmehl ein nicht reduzierendes Glukofruktosan, das sie auch «Levosin» nennen, und Montreuil und Scriban (1951) erwähnen einen nichtidentifizierten Zucker aus einem Extrakt aus Gersten- und Malzdialysat, der wahrscheinlich identisch ist mit dem Gersten-Glukofruktosan.

Mit orthodoxen Methoden arbeitet Schlubach (1953), der mittels stufenweiser Desorption aus Gerstenähren eine von ihm «Kritesin» genannte Substanz isoliert. Durch Säurehydrolyse entstehe nur Fruktose, es sei also ein Polyfruktosan; Fehlingsche Lösung wird nicht reduziert; eine Ringstruktur sei wahrscheinlich; $(\alpha)\,{}^{20}_{D}$—37,2; die Teilchengröße liege bei fünf Fruktoseeinheiten. Edelmann und Bacon (1951) meinen aber, daß die von Schlubach gefundenen Polysaccharide wohl aus Fruktose bestehen, aber einen endständigen, nichtreduzierbaren Glukoserest haben.

6. Andere Zucker

Der Vollständigkeit halber sei erwähnt, daß Montreuil und Scriban (1951) noch eine Reihe weiterer Kohlenhydrate qualitativ bestimmen können. Aus in der Kälte dialysierten wäßrigen Auszügen von Gerste und Malz werden Extrakte hergestellt, in denen papierchromatographisch außer Raffinose, Saccharose, Maltose, Glukose, Fruktose und möglicherweise dem Glukofruktosan noch Arabinose, Xylose, Ribose und Uronsäure festgestellt werden. Größere Flecken von geringer Mobilität ergeben nach Hydrolyse Xylose und Arabinose.

IV. Untersuchungsmaterial

Die Untersuchung wurde ausschließlich mit der dänischen Sommergerste *Abid-Kenia* ausgeführt, einer Züchtung von Wettergard, die aus einer Kreuzung der Sorten *Binder* × *Goldgerste* (eine schwedische Landgerste) hervorgegangen ist. Das Material wurde mir zuvor-

kommenderweise von der Eidg. Landwirtschaftlichen Versuchsanstalt in Zürich-Oerlikon zur Verfügung gestellt. Es stammt aus dem Erntejahr 1950 und wurde in einem verdunkelten, mit einer Glasplatte bedeckten Glasgefäß aufbewahrt. Da sich in diesem Behälter bald eine Kornkäferkolonie *(Calandra granaria)* breitmachte, wurde das gesamte Material zweimal während vier Stunden dem Dampf von drei Hexavaptabletten (das γ-Isomer von Hexachlorcyclohexan) der Firma Maag, Dielsdorf/ZH, ausgesetzt. Nach dieser Behandlung zeigten sich keine Insekten mehr im Untersuchungsmaterial.

Die Samen keimten 1953 zu 64 %; die Bestimmung erfolgte in Anlehnung an Lehmann und Aichele (1931), indem 4 × 100 Körner viermal im später verwendeten Keimbett und unter gleichen Bedingungen angekeimt wurden. Als gekeimt galten nur diejenigen Körner, die nach acht Tagen normale Wurzel- und Blattkeime entwickelt hatten, nicht also, wie das bei Braugerste sonst üblich ist, Samen, die nur den Wurzelkeim entwickelten.

Der Wassergehalt der untersuchten Gerste, bezogen auf das Frischgewicht, war 11,9 %, das Tausendkorngewicht betrug 41,97 g.

V. Untersuchungsmethoden

Aus teils ungekeimten, teils gekeimten Gerstenkörnern wurde ein Extrakt hergestellt und dieser papierchromatographisch analysiert.

1. Die Keimung

In einer runden Glasschale mit zugehörigem Deckel (Durchmesser 16 cm, Höhe 15 cm) wurde der Boden mit acht Schichten Filterpapier ausgelegt. Als neunte Schicht kam darüber ein Hartfilterpapier, um zu verhindern, daß die sich bei der Keimung bildenden Wurzeln in die Filterpapierschicht einwachsen konnten. Destilliertes Wasser wurde eingegossen, bis die Filter damit gesättigt waren; nun wurden die Körner ohne vorherige Desinfektion hineingelegt. Schimmelkolonien (meist *Penicillium*) begannen sich erst nach dem 11. oder 12. Keimtag zu bilden. Die Keimung auf Filterpapier wurde gewählt, weil nach dem Keimunterbruch, also vor der Extraktherstellung, die Keimlinge nicht erst vom anhaftenden Keimmedium befreit werden müssen, was zum Beispiel bei der Keimung in Sand nur durch Spülung mit Wasser geschehen kann; dies hat aber immer eine — wenn auch kleine — Auswaschung der leichtest löslichen Zucker zur Folge.

Zur Keimung der Körner wurde das Gefäß bei Zimmertemperatur (18 bis 20° C) ins Dunkle gestellt.

Die Versuche wurden nach 24, 48, 72, 120, 192 und 240 Stunden Keimdauer abgebrochen. Zu diesen Zeitpunkten herrschten folgende Zustände:

nach 24 Stunden Keimdauer:	das Korn ist gequollen
nach 48 Stunden:	die Wurzelspitze ist deutlich sichtbar
nach 72 Stunden:	Wurzellänge 4 bis 8 mm; die Coleoptile ist noch unter der Spelze
nach 120 Stunden:	Wurzellänge 15 mm, Sproßlänge 25 mm
nach 192 Stunden:	Wurzellänge 40 mm, Sproßlänge 75 mm
nach 240 Stunden:	Wurzellänge 100 mm, Sproßlänge 140 mm

2. Die Extraktherstellung

Nach anfänglichen Mißerfolgen zeigte es sich, daß nicht beliebige Methoden gewählt werden können, um quantitativ vollständige und reproduzierbare Resultate zu erhalten, sondern daß schon geringe methodische Varianten in der Extraktherstellung ungenügende Resultate zur Folge haben können. Aus diesem Grund wird die folgende Beschreibung der angewandten Methoden ausführlich gehalten.

Für einen Extrakt kamen ungefähr 100 Körner zur Verwendung — nie weniger als 75 und im Maximum 200 Stück —, die nach einheitlicher Größe selektioniert wurden; meistens mußten ein paar Einzelkörner mit überdurchschnittlichem Wachstum und rund die Hälfte bis Dreiviertel aller Körner mit keinem oder nachhinkendem Wachstum weggeworfen werden.

Wurden Embryo und Endosperm einzeln untersucht, so bot die Teilung des Korns in diese zwei Bestandteile keine Schwierigkeit, wenn das Korn schon angekeimt war. Schon Brown und Morris (1890) beschrieben, daß, während der Embryo an Größe zunimmt, sich die anliegenden Endospermzellen entleeren und dann absterben. Ihre Zellwände werden zwischen dem wachsenden Keimling und dem noch vorhandenen stärkehaltigen Endosperm zerdrückt, und es bildet sich so eine mit dem Scutellum nicht mehr organisch verbundene Schicht abgestorbener Zellen. Entlang dieser Schicht ist eine Spaltung in Endosperm und Embryo leicht möglich. Schwieriger gestaltet sich die Teilung des Korns in ungekeimtem Zustand: zuerst wurden die Spelzen gelöst; im Halbkreis, rund um den Embryo, wurde damit das Scutellum als hellere Zellschicht sichtbar; der Übergang von Scutellum zu Endosperm ist zudem mit einer ganz leichten Einsenkung angedeutet. Entlang dieser Einsenkung wurde nun mit einem scharfen, muschelförmig gekrümmten Skalpell der Embryo weggeschnitten. Unter der Binocularlupe wurde er dann vorsichtig von allen noch anhaftenden Stärkezellen gereinigt, indem eine quergeschliffene Nadel, die eine Schneidefläche von zirka 1/2 mm hatte, als Schaber verwendet wurde.

Sofort nach der Operation oder, wenn das Korn ungeteilt untersucht wurde, sofort nach dem Herausnehmen aus der Keimschale kam das Untersuchungsmaterial zur Abtötung der Enzyme für 30 Minuten in siedenden 96 % Äthylalkohol, der dabei eine klare, gelbe Farbe an-

nahm. Die Körner wurden nun aus dem Bad genommen, während zirka 24 Stunden im Exsiccator über Phosphorpentoxyd getrocknet, darauf im Mörser zu feinem Mehl zerstoßen und dieses bis zur Gewichtskonstanz (zirka 48 Stunden) in einem offenen Wägegläschen wieder über P_2O_5 im Exsiccator belassen.

Zur Entfernung des Fettes (nach Lehmann und Aichele, 1931, 0,8—3,5 %) wurde dann das Mahlgut während fünf Stunden im Soxhlet-Apparat mit absolutem Äther extrahiert; im Embryo konnten auf diese Weise bis 10 % Fett herausgelöst werden, im ganzen Korn bis 2,5 %.

Lüers (1950, S. 18) gibt als Fettgehalt der Gerste 2—3 % an, Prianischnikow (1930, S. 205) fand im Gerstenkeim 12,41 % Fett, so daß anzunehmen war, das später beim Auftragen des Extraktes auf das Chromatogrammpapier störende Fett sei zur Hauptsache eliminiert worden.

Da die Zucker nur in völlig wasserfreiem Äther unlöslich sind, wurde dieser vor Gebrauch redestilliert und über Natrium völlig wasserfrei aufbewahrt.

Der Inhalt der Soxhlet-Hülse wurde nun unter Zusatz von etwas $CaCO_3$ in ein großes Zentrifugenglas (∅ 3 cm, Länge 10 cm) geleert und 50 ml destilliertes Wasser dazu gegeben. Dieses Zentrifugenglas stand in einem Wasserbad von 35° C, und ein Rührwerk mischte den Glasinhalt kontinuierlich. Nach einer Stunde wurde auf der Zentrifuge bei 3500 Touren während 30 Minuten der Extrakt geklärt und nachher in einen Langhals-Schliffkolben von 400 cm^3 Inhalt abdekantiert. In diesen Kolben wurde auch der gelbgefärbte Äthylalkohol, der zur Abtötung der Enzyme gedient hatte, gegeben.

Zum Bodensatz des Zentrifugenglases wurden wieder 50 ml H_2O dest. gegeben und das Glas unter dem Rührwerk ins Wasserbad gestellt; diese Prozedur wurde im ganzen fünfmal wiederholt. Eine Kontrolle ergab, daß nach fünfmaligem Aufnehmen in Wasser keine freien Zucker mehr im Rückstand vorhanden sind.

Nun wurde der Inhalt des Schliffkolbens (zirka 275 ml Wasser-Alkohol-Gemisch) im Vakuum bei 30—35° C zu einem dicken Sirup (zirka 5 ml) eingeengt. Das Schäumen wurde durch Zugabe von einigen Tropfen Amylalkohol verhindert. Der Sirup wurde dann mit 10 ml absolutem Äthylalkohol versetzt. An der Mündungsstelle der Haarkapillare im Extrakt bilden sich bei der Vakuumdestillation leicht Blasen, die dann zerspritzen. Verluste, die durch solche Spritzer hervorgerufen werden, kann man gut durch Verwendung von Langhalskolben vermeiden. Durch mehrmaliges Waschen mit absolutem, 100prozentigem Äthylalkohol und anschließend mit absolutem 100prozentigem Äther — beide im Vakuum wieder abdestilliert — wurde der Rückstand getrocknet.

Durch vorsichtiges Abkratzen des Trockenrückstandes von den Kolbenwänden und Zerdrücken desselben auf dem Kolbenboden erhielt man ein weißlich-gelbes, feines Pulver. Dieses wurde im Kolben belassen und im evakuierten Exsiccator über Phosphorpentoxyd während mindestens 24 Stunden bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

In Anlehnung an die Methode von Malpress und Morrison (1949), die auf der Löslichkeit der Zucker und der Unlöslichkeit der anorganischen Salze in Pyridin beruht, wurde nun der Trockenextrakt mit 10 ml absolutem Pyridin versetzt. (Dieses war vorgängig redestilliert, getrocknet und über Kaliumhydroxydpastillen aufbewahrt worden.) Der Kolben wurde dann in ein Wasserbad gestellt und unter mehrmaligem Schütteln während 2 Stunden bei leichtem Unterdruck auf 35° C belassen. Dabei entstand eine schwach gelbbraun gefärbte, klare Lösung, die sich beim Schütteln durch die ungelösten Rückstände trübte. Nach dem Absetzen dieser Rückstände wurde die Lösung vorsichtig durch einen Hartfilter in einem 100-ml-Kurzhals-Schliffkolben filtriert. Nach fünfmaliger Wiederholung dieses Prozesses enthielten die Filterrückstände und die Rückstände im Langhalskolben keine Zucker mehr, was sich zeigte, wenn zur Kontrolle diese Rückstände in 1 ml Wasser aufgenommen und chromatographiert wurden. Die zirka 50 ml Pyridin im Kurzhalskolben wurden im Vakuum bei 30° C wegdestilliert, und nach mehrmaligem Zugeben von absolutem Äthylalkohol und absolutem Äther wurde ein hellbrauner, wasserfreier und geruchloser Trockenextrakt erhalten, der im Kolben selbst mit einem Glasstab leicht pulverisiert werden konnte. (Die bräunliche Farbe rührt nach James, 1940, wahrscheinlich von einem Pigment des Anthoxanthin-Typs her.) In dieser Form wurde der Extrakt bis zur chromatographischen Analyse im Exsiccator aufbewahrt.

Es zeigte sich, daß Äthylalkoholextrakte die saubereren Flecken auf dem Chromatogramm ergaben und daß die Zucker mit Alkohol rascher extrahiert werden als mit Wasser. Aber auch die Alkoholextrakte mußten zur Chromatographierung noch weiter gereinigt werden. Da die Fruktosane, wie aus der Literatur ersichtlich war, in Alkohol leicht fällbar sind, wurde trotz den Nachteilen die Wasserextraktion gewählt, um wenigstens qualitativ das Vorhandensein des Gersten-Glukofruktosans in den verschiedenen Keimungsstadien sicher nachweisen zu können. Auch ist die Löslichkeit der höheren Saccharide in Alkohol nicht sehr gut.

Eine Entfärbung der Extrakte mit Tierkohle wurde versucht, doch zeigte sich dabei, daß ein mit Tierkohle gereinigter Extrakt neben der Farbe auch Raffinose an die Kohle verliert.

Extrakte in Verdünnungen, wie sie zur Auftragung auf das Papierchromatgramm verwendet wurden, erlitten beim Aufbewahren auch bei niedrigen Temperaturen schon nach 24 Stunden Veränderungen ihres

Zuckergehaltes, ohne daß eine bakterielle Infektion vorlag. Daher wurden die Extrakte jeweils völlig getrocknet und erst unmittelbar vor dem Chromatographieren in Wasser aufgenommen.

Es zeigte sich auch, daß auf Filterpapier aufgetragene Extrakte, die erst nach einigen Wochen chromatographiert wurden, wesentliche Zuckerverluste aufwiesen, im Vergleich zu Extrakten, die sofort nach dem Auftragen chromatographiert wurden. Möglicherweise sind diese Verluste rein mechanisch bedingt, da die einzelnen Filterpapierstreifen nicht ohne sich gegenseitig zu berühren aufbewahrt werden konnten.

3. Die papierchromatographische Analyse

In den vor Gebrauch tarierten Kolben konnte nun eine bestimmte Menge destilliertes Wasser eingewogen werden, je nach der aus dem Extrakttrockengewicht grob abschätzbaren Totalzuckermenge. So wurden aus 75 bis 200 Körnern oder Kornteilen Extrakte von 0,75 bis 5,00 ml hergestellt. Diese Extrakte waren leicht getrübt, klärten sich aber beim Stehenlassen und wurden mit einer automatischen Mikropipette von 6,01 bis 19,76 μl Inhalt auf das Filterpapier (Whatman Nr. 1) aufgetragen. Vor jedem Aufsaugen des Extraktes in die Mikropipette wurde der Kolben kurz geschüttelt.

Pro Extrakt wurden meist zwei Serien mit je vier Filterpapierstreifen gemacht.

Für die quantitative Analyse wurde immer mit absteigenden, eindimensionalen Chromatogrammen gearbeitet; Kontrollversuche mit zweidimensionaler Chromatographie (Decker, Riffart und Orneder, 1951) bestätigen, daß keine Zucker überlagert waren. Die Chromatographierkammern und grosso modo auch die Technik sind dieselben, wie sie Wanner (1952 *a*) beschrieb.

Als Lösungsmittel für qualitative und quantitative Bestimmungen von Glukose und Fruktose wurde ein Gemisch von Äthylazetat-Eisessig-Wasser (3 : 1 : 3) (Jermin und Isherwood, 1949) oder *n*-Butanol-Eisessig-Wasser (4 : 1 : 5) (Partridge, 1948) verwendet.

Zur Sättigung der in die Wanne gehängten Streifen mit dem Dampf der beiden Phasen genügte eine Äquilibrierungszeit von drei Stunden. Der Hauptvorteil dieser Gemische bestand darin, daß schon nach einer Fließzeit von 15 bis 20 Stunden die Zucker genügend getrennt waren, um qualitativ bestimmt zu werden. Zudem ergaben Größe und Intensität der Flecken einen vorläufigen Anhaltspunkt für die bei der quantitativen Analyse zu erwartenden Mengen von Polysacchariden, so daß bei dieser die Konzentration entsprechend gewählt werden konnte. Jedoch ließen sich nur die Hexosen genügend trennen, um nach der Methode von Duff und Eastwood (1950) mit Sicherheit sauber herausgeschnitten zu werden.

Für alle quantitativen Bestimmungen der höheren Zucker gelangte ein Gemisch von *n*-Butanol-Äthylazetat-Wasser (4 : 1 : 5) zur Anwendung. Diese Methode war zeitraubender. Es mußte während mindestens zwölf Stunden äquilibiert werden, und die Fließzeit der oberen Phase des Gemisches über die Papierstreifen betrug fünf bis sechs Tage. Wurde weniger äquilibriert, so wurden die Spots länglich und im Rande unscharf, statt fast kreisrund und scharf begrenzt. Eine kürzere Fließdauer trennte die Zucker mit dem kleinsten R_F zu wenig und ließ die Raffinose zu nahe der Startlinie stehen. Weil aber auf der Startlinie immer noch unmobile Substanzen zurückblieben, ergaben sich bei der quantitativen Bestimmung der Raffinose bei zu kurzer Fließzeit zu hohe Werte.

Durch Besprühen der an der Luft getrockneten Streifen mit Anilinphthalat (Partridge, 1949) und Naphthoresorcin-Trichloressigsäure (Flood, Hirst und Jones, 1948) erfolgte der Nachweis der Aldosen resp. Ketosen. Die Trocknung der mit Anilinphthalat besprühten Streifen im Ofen während drei Minuten bei 170° C ließ übrigens nicht nur die Aldosen, sondern auch die Ketosen sichtbar werden.

Von je vier Filterpapierstreifen wurde immer ein Streifen ganz entwickelt. Auf diesen wurden alle Testzucker, also Raffinose, Saccharose, Maltose, Glukose und Fruktose, aufgetragen, und zwar alle in der gleichen Konzentration, zum Beispiel aus je einprozentigen Zuckerlösungen mit der gleichen Pipette immer 6,01 μl, so daß also pro Zucker 60,1 γ mitflossen. Ein zweiter Startpunkt dieses Streifens enthielt 60,1 μl Extrakt, ein dritter dreimal 60,1 μl und ein vierter $6 \times 60{,}1$ μl. Auf diese Weise war es möglich, die bei der quantitativen Analyse zu erwartenden Zuckermengen grob abzuschätzen, und qualitativ erhielt man Aufschluß über die im Extrakt vorhandenen Zucker.

Auf einen zweiten Filterpapierstreifen wurde am Rande 60,1 μl Extrakt und auf weitere fünf Einzelstartpunkte nochmals je 60,1 μl Extrakt aufgetragen. Ein dritter und vierter Streifen wurden auf gleiche Weise mit $120{,}2 + 5 \times 120{,}2$ μl Extraktflüssigkeit beschickt. Der Randstreifen wurde jeweils nach dem Chromatographieren und Trocknen weggeschnitten und die Lokalisierung der Zucker mit einem der Sprühreagenzien festgestellt. Aus den restlichen Teilen wurden quer zur Fließrichtung die Zucker enthaltenden Elemente herausgeschnitten und unter einer luftdicht verschlossenen Glasglocke in wasserdampfgesättigter Atmosphäre bei Raumtemperatur eluiert. Die Elution benötigte pro Streifen zirka 2 ml H_2O dest., die in bei 5 ml geeichte und in Plastillin gesteckte Reagenzgläser flossen. Aus dem chromatographierten Papier wurden ferner noch zwei bis drei zuckerfreie Querstreifchen von derselben Breite wie die zuckerhaltigen herausgeschnitten und ebenfalls eluiert. Diese Blindwerte sind unbedingt nötig, weil immer mit dem Zucker noch feine Unreinheiten und reduzierende Substanzen heraus-

gewaschen werden, die später bei der quantitativen Bestimmung zu hohe Werte ergeben würden. Dieser Fehler ist relativ um so größer, je mehr Wasser zur Elution verwendet wird, je weniger Zucker ein Streifchen enthält und je breiter das eluierte Streifchen ist. Erfolgt die quantitative Bestimmung kolorimetrisch, so ergibt sich durch die aus dem Papier stammenden feinsten Schwimmteile eine leichte Trübung, die zu hohe Zuckerwerte vortäuscht; wird das Eluat aber hydrolysiert, wie dies zur Bestimmung der Saccharose und der Raffinose nötig ist, so können sich bis zu 100 % zu hohe Zuckerwerte ergeben, wohl weil diese Schwimmteilchen weitgehend aus Cellulose bestehen. Der Fehler wird verringert, wenn die Schnittfläche der zu eluierenden Streifchen sehr sauber ist (d. h. es muß eine sehr scharfe Schere verwendet werden), wenn wenig Eluierungsflüssigkeit gebraucht wird (im Maximum 3 ml) und wenn pro Probe nicht zu kleine Zuckermengen (in der Größenordnung 5 bis 40 γ) bestimmt werden müssen. Größere Zuckerquantitäten können zur Bestimmung verdünnt werden, zum Beispiel 1 : 20. Probebestimmungen aus reinen Testlösungen zeigten auch, daß bei Verwendung von *n*-Butanol-Äthylazetat-Wasser als Lösungsmittel der Fehler größer wurde als bei Verwendung von Äthylazetat-Eisessig-Wasser. Möglicherweise hängt dies mit der kürzeren Fließzeit des letztgenannten Gemisches zusammen, wobei an eine geringere chemische und mechanische Beanspruchung des Papiers zu denken wäre.

Vergleichsuntersuchungen mit andern Papiersorten wurden nicht durchgeführt.

Durch Filtration durch Glaswatte konnte das Eluat fast völlig von allen Unreinheiten befreit werden; jedoch brauchte das quantitative Auswaschen so viel Wasser, daß die Bestimmungen nachher sehr erschwert waren.

Bei diesen Versuchen zur Aufdeckung von Fehlerquellen zeigte sich überraschenderweise auch, daß für Hexosen und speziell für Fruktose nach Chromatographierung mit *n*-Butanol-Äthylazetat-Wasser (weniger mit Äthylazetat-Eisessig-Wasser) größere Verluste enstehen können (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1

Zuckerverluste in zwei Lösungsmitteln. Je 60,1 γ Zucker

	n-Butanol-Äthylazetat-Wasser		Äthylazetat-Eisessig-Wasser	
	mittlerer Fehler aus 8 Proben	maximaler Verlust	mittlerer Fehler aus 8 Proben	maximaler Verlust
Maltose ...	+1,7%	—2,1%	+1,5%	—2,1%
Glukose ...	—2,8%	—7,4%	—1,1%	—5,5%
Fruktose ...	—9,2%	—17,3%	—3,9%	—7,8%

Möglicherweise ist der eingetretene Verlust eine Funktion des zurückgelegten Weges, der bei Fruktose am größten ist, erklärbar durch

das Hängenbleiben einzelner Moleküle im Filterpapier. Man könnte sich aber auch vorstellen, daß während der sechs Tage Fließzeit in *n*-Butanol-Äthylazetat-Wasser mehr Fruktose — ein empfindlicher Zucker — zerstört wird als bei nur 20stündiger Fließzeit in Äthylazetat-Eisessig-Wasser.

Die quantitative Bestimmung der eluierten Zucker erfolgte kolorimetrisch an einem Lumetron-Colorimeter (Mod. 402-E) mit Filtern von 540 bis 660 mμ Wellenlänge, mit dem Reagens von Somogyi (1945) und in Verbindung mit dem Farbentwicklungsmittel von Nelson (1944) nach den Methoden von Hirst und Jones (1949) und Duff und Eastwood (1950). Die reduzierenden Zucker, Maltose, Glukose und Fruktose wurden direkt bestimmt; Raffinose und Saccharose nach Hydrolyse: zu 5 bis 10 ml Zuckerlösung (enthaltend 0 bis 500 γ des betreffenden Polysaccharides) wurden 3 ml *n*/10 HCl gegeben; nach 90 Minuten Kochzeit im siedenden Wasserbad — jedes Reagenzglas von 25 mm Durchmesser bedeckt mit einer Glaskugel — wurde abgekühlt und nach kurzem Schütteln und nach Zugabe von 4 ml Somogyi-Reagens wieder 30 Minuten ins kochende Wasserbad gestellt; nach dem Abkühlen und Schütteln wurde 1 m Nelson-Reagens zugefügt und sofort wieder kräftig geschüttelt. Die sich bildende Blaufärbung ist schwach, wird aber nach 10 Minuten im Wasserbad von 50° C viel deutlicher. Anschließend daran wurde sofort gemessen.

Mit jeder einzelnen Serie aller zu analysierenden Zucker wurde immer eine Reihe von

0, 50, 100, 150, 200, 250 oder
0, 100, 200, 300 usw. bis 600 γ Testzucker

unter genau gleichen Bedingungen mitbehandelt; so entstand jedesmal eine neue Eichkurve.

Im Verlaufe der Arbeit zeigte es sich, daß auf diese Weise wesentliche Fehler vermieden werden konnten. Nicht nur die hydrolysierten Zucker, sondern in geringerem Maße auch die nichthydrolysierten nehmen nämlich bald nach dem Zusatz von Nelson-Reagens eine dunklere Farbe an, die zu hohe Werte ergeben würde.

Wichtig für befriedigende Resultate war auch das peinliche Säubern der verwendeten Reagenzgläser, am besten mit Chromschwefelsäure.

Die Überlegenheit der hier angewandten Methoden zur quantitativen Zuckerbestimmung aus Pflanzenextrakten über orthodoxere Methoden ist aus der Arbeit von Wanner (1952 *b*) deutlich ersichtlich: In seiner Untersuchung über den Zuckergehalt eines Erbsenextraktes wurden — wenn man die papierchromatographisch ermittelte Menge von Hexosen (Glukose und Fruktose zusammen) mit 100 % annimmt — mit der Kupferreduktionsmethode (nach Somogyi, 1945, und Nelson, 1944) 144 % und mit der Ferricyanid-Reduktionsmethode (nach Ha-

gedorn und Jensen, 1923) 355 % reduzierende Zucker, berechnet als Glukose, gefunden.

Auch die Ermittlung des Saccharosegehaltes eines Pflanzenextraktes wird ohne die Papierchromatographie wohl nur selten unverfälschte Resultate ergeben können. Durch diese Tatsache sowie durch die Anwendung der verschiedenen Extraktionsmethoden erklären sich teilweise die in der Literatur vorhandenen Widersprüche. In früheren Arbeiten (ohne papierchromatographische Methoden) über den Zuckergehalt der Gerste wurde in den wenigsten Fällen berücksichtigt, daß neben der Saccharose auch rund halb so viel Raffinose im ungekeimten Korn vorhanden ist, ganz abgesehen von der beträchtlichen Menge Glukofruktosan. Die Mithydrolyse dieser Substanzen mit der Saccharose konnte nicht umgangen werden und mußte natürlich für letztere durch das Freiwerden anderer reduzierender Komponenten zu hohe Werte ergeben.

Zur quantitativen Bestimmung von Saccharose und Raffinose mit den hier angewandten Methoden ist noch zu sagen, daß die Bestimmung genauer wurde, wenn diese Zuckerlösungen nach der Hydrolyse nicht mit Lauge neutralisiert wurden. Bessere Resultate wurden durch vermehrtes Zugeben von Somogyi - Reagens erreicht.

VI. Analysenresultate

1. Das ungekeimte Korn

Es wurden zuerst zwei Extrakte des ganzen Kornes papierchromatographisch analysiert und nachher je zwei Extrakte von Embryonen und von Endospermen. Die eingesetzten Werte entsprechen je dem Mittel der beiden Analysenwerte (Tabelle 2). Die Reihenfolge der Zucker entspricht ihrer mengenmäßigen Häufigkeit. Da das Gersten-Glukofruktosan nicht quantitativ bestimmt werden konnte, ist sein Vorhandensein mit einem + bezeichnet; mengenmäßig klassiert müßte man es wohl zwischen Saccharose und Maltose einordnen.

2. Das keimende Korn

Korn, Embryo und Endosperm wurden nach einer Keimdauer von 24, 48, 72, 120, 192 und 240 Stunden (im folgenden als 1, 2, 3, 5, 8 und 10 Tage bezeichnet) analysiert. Die eingesetzten Werte sind die Mittel aus zwei bis fünf Analysen. Die Reihenfolge der Zucker entspricht nicht mehr ihrer Häufigkeit, wurde aber aus Tabelle 2 beibehalten.

Betrachtet man die Veränderungen, die sich im einzelnen Korn abspielen, so ist festzustellen, daß sowohl im ganzen Korn als auch im Embryo (nicht aber im Endosperm) der Totalzuckergehalt (Tabelle 11 A) in den ersten zwei Keimungstagen abnimmt, um dann in beiden Korn-

Tabelle 2

Zuckergehalt des ungekeimten Korns

a) absoluter Gehalt in mg/100 Körner
b) Mol · 10^{-5}/pro 100 Körner
c) mg Zucker/100 g Frischgewicht
d) mg Zucker/100 g Wassergehalt
e) mg Zucker/100 g Trockensubstanz
f) als % des Totalzuckergehaltes

		Saccharose	Raffinose	Maltose	Glukose	Fruktose	Glukofruktosan	Total ohne Glukofruktosan	Anteil %
ganzes Korn	*a)*	25,2	12,6	4,0	3,4	2,6	+	47,8	
	b)	7,0	2,5	1,1	1,9	1,4		13,9	
	c)	600	300	95	79	62			
	d)	5040	2520	800	680	520			
	e)	680	341	107	93	69			
	f)	52,7	26,5	8,3	7,2	5,3			
Embryo	*a)*	20,6	10,2	1,2	0,9	0,6	+	33,5	65,5
	b)	5,7	2,0	0,3	0,5	0,3		8,8	
	e)	4120	2040	240	180	120			
	f)	61,7	30,5	3,5	2,6	1,7			
Endosperm	*a)*	6,3	3,0	3,5	2,7	2,1	+	17,6	34,5
	b)	1,7	0,6	1,0	1,5	1,2		6,0	
	e)	197	94	110	84	66			
	f)	35,8	17,0	20,1	15,1	12,0			

Tabelle 3

Absoluter Zuckergehalt in mg/100 Körner. *a:* Embryo; *b:* Endosperm; *c:* ganzes Korn

Keimdauer in Tagen	Saccharose			Raffinose			Maltose			Glukose			Fruktose		
	a	*b*	*c*	*a*	*b*	*c*	*a*	*b*	*c*	*a*	*b*	*c*	*a*	*b*	*c*
—	20,6	6,3	25,2	10,2	3,0	12,6	1,2	3,5	4,0	0,9	2,7	3,4	0,6	2,1	2,6
1	5,5	6,7	13,3	6,9	2,8	9,5	4,7	3,8	8,0	1,0	2,5	3,7	0,5	2,3	2,7
2			11,5			4,5			9,2			3,7			3,9
3	20,4	10,4	29,3	3,5	1,6	4,8	3,8	3,9	8,1	1,1	2,9	3,9	0,6	2,0	2,6
5	61,8	36,1	103,3	5,3	4,6	9,8	18,3	26,7	47,0	1,9	3,9	6,1	0,0	0,4	0,6
8			64,3			8,4			49,2			6,0			0,5
10	36,1	22,1	61,2	0,2	0,8	1,1	14,4	15,5	30,0	15,0	12,4	24,7	0,5	0,6	1,2

fraktionen steil anzusteigen zum Maximum am fünften Tag; die Abnahme erfolgt langsamer und ist dem Zuckergehalt von Embryo sowohl als Endosperm ungefähr proportional.

Die dominierende Rolle bei diesen Veränderungen spielt die Saccharose, wie aus Tabelle 3 ersichtlich ist. An der Zuckerabnahme zu Beginn der Keimung ist nur der Embryo beteiligt; nach 24 Stunden Keimdauer enthält er, bezogen auf 100 Körner, noch 5,5 mg (von ursprünglich 20,6 mg) Saccharose, an Raffinose noch 6,9 mg von 10,2 mg, während die Konzentration an reduzierenden Zuckern (außer Maltose, die von 1,2 mg

auf 4,7 mg zunimmt) keinen großen Veränderungen unterworfen ist. Letzteres gilt auch für das Endosperm, nicht nur für die reduzierenden Zucker, sondern auch für Saccharose und Raffinose.

Nach dem zweiten Keimtag jedoch schnellt der Saccharosegehalt hinauf zum Maximum am fünften Tag; im Embryo auf 61,8 mg (dritter Tag 20,4 mg) und im Endosperm auf 36,1 mg (dritter Tag 10,4 mg). Ruhiger verlaufen die Veränderungen im Raffinosegehalt, der im Embryo von 3,5 mg (dritter Tag) auf 5,3 mg (fünfter Tag) und im Endosperm im gleichen Zeitabschnitt von 1,6 mg auf 4,6 mg ansteigt; so verliert die Raffinose ihre Stellung als zweithäufigster Zucker an die Maltose. Diese nimmt plötzlich im Embryo von 3,8 mg auf 18,3 mg und im Endosperm von 3,9 mg auf 26,7 mg zu. Die Glukose verändert ihren Gehalt nur wenig in zunehmendem Sinne, während die Fruktose im Embryo ganz verschwindet und im Endosperm von 2,0 mg auf 0,4 mg abnimmt; eine leichte Zunahme ergibt sich erst wieder gegen den zehnten Keimtag auf 0,6 mg, und im Embryo erscheint sie wieder neu mit 0,5 mg. Auch die Glukose nimmt nun zu: im Embryo von 1,9 mg auf 15,0 mg und im Endosperm von 3,9 mg auf 12,4 mg. Auf das ganze Korn bezogen nimmt nur noch die Maltose um 2 mg auf 49,2 mg am achten Keimtag zu; auf den zehnten Tag hin sinkt der Maltosegehalt aber auf 30,0 mg, wobei der Embryo noch 14,4 mg (fünfter Tag: 18,3 mg) und das Endosperm noch 15,5 mg (26,7 mg) enthalten. Die Raffinose ist am Verschwinden: Embryo und Endosperm verfügen noch über 0,2 mg resp. 0,8 mg. Auch die Saccharose nimmt stark ab: im Embryo (von 61,0 mg am fünften Keimtag) auf 36,1 mg am zehnten Tag und im Endosperm (von 36,1 mg) auf 22,1 mg. Vom totalen Zuckergehalt des Korns macht sie aber noch immer mehr als 50 % aus! (Tabelle 9.)

Tabelle 4

Mol·10^{-5} Zucker/100 Körner. *a:* Embryo; *b:* Endosperm; *c:* ganzes Korn

Keimdauer in Tagen	Saccharose			Raffinose			Maltose			Glukose			Fruktose		
	a	*b*	*c*	*a*	*b*	*c*	*a*	*b*	*c*	*a*	*b*	*c*	*a*	*b*	*c*
—	5,7	1,7	7,0	2,0	0,6	2,5	0,3	1,0	1,1	0,5	1,5	1,9	0,3	1,2	1,4
1	1,5	1,9	3,7	1,4	0,6	1,9	1,3	1,1	2,2	0,6	1,4	2,1	0,3	1,3	2,5
2			3,2			0,9			2,6			2,1			2,2
3	5,7	2,8	8,1	0,7	0,3	1,0	1,1	1,1	2,2	0,6	1,6	2,2	0,3	1,1	1,4
5	17,2	10,0	28,7	1,1	0,9	1,9	5,1	7,4	13,1	1,1	2,2	3,4	0,0	0,2	0,3
8			17,9			1,7			13,7			3,3			0,3
10	10,0	6,1	17,0	0,0	0,2	0,2	4,0	4,3	8,3	8,3	6,9	13,5	0,3	0,3	0,7

Werden die Veränderungen des Zuckergehaltes innerhalb des Kornes berechnungsweise in Molen ausgedrückt (Tabelle 4), so ergibt sich ein fast gleiches Bild wie in Tabelle 3. Nur die Hexosen scheinen nun

Tabelle 5

mg Zucker/100 g Trockensubstanz (bezogen auf die Kornfraktion resp. das ganze Korn)

a: Embryo; *b:* Endosperm; *c:* ganzes Korn

Keimdauer in Tagen	Saccharose			Raffinose			Maltose			Glukose			Fruktose		
	a	*b*	*c*	*a*	*b*	*c*	*a*	*b*	*c*	*a*	*b*	*c*	*a*	*b*	*c*
—	4120	197	680	2040	94	341	240	110	107	180	84	93	120	66	69
1	933	222	368	1170	93	263	797	126	221	169	83	102	85	76	75
2			329			128			263			106			111
3	3400	378	878	583	58	144	633	142	243	184	106	117	100	73	78
5	7820	1440	3140	681	184	298	2320	1070	1430	241	148	185	0	16	18
8			2115			276			1612			197			16
10	2490	2260	2520	14	82	45	994	1580	1235	1030	1270	1009	34	61	49

Tabelle 6

Mol·10^{-5} Zucker/100 g Trockensubstanz. *a:* Embryo; *b:* Endosperm; *c:* ganzes Korn

Keimdauer in Tagen	Saccharose			Raffinose			Maltose			Glukose			Fruktose		
	a	*b*	*c*	*a*	*b*	*c*	*a*	*b*	*c*	*a*	*b*	*c*	*a*	*b*	*c*
—	1142	54,8	189	405	18,7	67,7	66,8	30,6	29,7	100	46,6	51,7	66,8	36,6	38,3
1	259	61,4	102,2	232	18,4	52,1	221	35,0	61,5	93,9	46,1	56,7	47,2	42,2	41,6
2			91,3			25,4			73,0			58,9			61,6
3	945	105	244	116	11,5	28,5	178	39,5	67,5	102	58,9	65,0	55,6	40,6	43,3
5	2175	400	873	122	36,5	59,2	645	297	397	132	82,2	103	0	8,9	10,0
8			588			54,8			447			109			8,9
10	692	629	700	2,8	16,3	8,9	262	439	343	572	706	560	18,9	33,9	27,2

eine größere Rolle zu spielen: während die Fruktose am ersten Keimtag sogar am zweithäufigsten (nach Saccharose) ist — um dann langsam abzusinken —, steigt die Glukose gleichmäßig bis zum achten Keimtag, um dann scharf zuzunehmen und nach Saccharose die wichtigste Stellung zu beziehen.

Die in der Literatur häufigst angewandte Bezugsgröße, die Trockensubstanz, wurde den Tabellen 5, 6 und 11 C zugrunde gelegt. Über die wirklichen Veränderungen im keimenden Korn sagen sie aber nicht viel aus und wurden hier nur der Vollständigkeit halber aufgenommen und um, ohne umzurechnen, Vergleiche mit andern Arbeiten anstellen zu können. Die scheinbare Zunahme der Saccharose vom achten zum zehnten Keimtag (von 2115 auf 2520 mg) (Tabelle 5) ist in Wirklichkeit im Korn selbst eine Abnahme und nur bedingt durch das Leichterwerden der Pflanze, speziell des von der Stärke entblößten Endosperms. Das gleiche gilt für die Angaben über die anderen Zucker.

Sinnvoller ist die seltener angewandte Bezugnahme auf den Wassergehalt (Tabellen 7 und 8). Wanner (1952 *a*) schrieb: «Als Bezugsgröße ist dem Trockengewicht bei Problemen des Stofftransportes jedoch das Frischgewicht oder, besser, der Wassergehalt vorzuziehen. Erst damit erhalten wir Maße, die mit der notwendigen Vorsicht als „Konzentrationen" bezeichnet werden dürfen.»

Zwischen den Resultaten der Tabelle 7, in der die «Konzentration» als mg Zucker/g Wassergehalt ausgedrückt wurde, und Tabelle 8 (Mol· 10^{-6} Zucker/g Wassergehalt), bestehen keine grundsätzlich wichtigen Unterschiede.

Vergleicht man jedoch den Verlauf der Konzentrationskurve mit der Kurve des absoluten Zuckergehaltes (Figur 1), so fällt vor allem auf, daß im Embryo nach der Quellung die größte Saccharosekonzentration auf den dritten Tag fällt, um dann, zuerst schneller und später langsamer, gegen den Nullwert hin abzusinken, während absolut gesehen die Saccharose erst am fünften Tag ihr Maximum erreicht und am zehnten Tag noch immer fast doppelt so hoch steht wie am dritten Tag, der, auf den Wassergehalt bezogen, das Saccharosemaximum aufweist.

Deutlich zeigt sich durch diese Gegenüberstellung, wie nötig es ist, pflanzliches Material nicht nur als Ganzes, sondern womöglich detailliert zu analysieren; die völlig verschiedenen Wege der Konzentrationsverhältnisse im Embryo einerseits und Endosperm anderseits sind niemals zu ahnen, wenn man den Kurvenverlauf der Zucker im ganzen Korn betrachtet. Leider überstieg eine noch detailliertere Untersuchung (besonders des Embryos) den Rahmen dieser Arbeit, doch hätten sicherlich die Resultate dadurch teilweise ein ganz anderes Gesicht bekommen und eine entsprechend andere Interpretation.

In Tabelle 9 ist der Zuckergehalt des Kornes in Prozent des Gesamtzuckers ausgedrückt. Im unzerteilten Korn dominiert während aller

Tabelle 7

mg Zucker/g Wassergehalt (bezogen auf 100 Körner resp. die entsprechenden Kornfraktionen). *a:* Embryo; *b:* Endosperm; *c:* ganzes Korn

Keimdauer in Tagen	Saccharose			Raffinose			Maltose			Glukose			Fruktose		
	a	*b*	*c*	*a*	*b*	*c*	*a*	*b*	*c*	*a*	*b*	*c*	*a*	*b*	*c*
—	294	14,6	50,4	146	7,0	25,2	17,2	8,1	8,0	12,9	6,3	6,8	8,6	4,9	5,2
1	14,1	2,4	4,2	18,7	1,0	3,0	12,0	1,4	2,5	2,6	0,9	1,2	1,3	0,8	0,8
2			3,3			1,3			2,7			1,1			1,1
3	29,0	3,0	7,1	5,0	0,5	1,2	5,4	1,1	2,0	1,6	0,8	0,9	0,9	0,6	0,6
5	11,1	7,0	9,6	1,0	0,9	0,9	3,3	5,2	4,4	0,3	0,8	0,6	0	0,08	0,07
8			2,6			0,3			2,4			0,2			0,02
10	1,3	7,9	2,0	0,01	0,3	0,04	0,5	5,5	1,0	0,5	4,4	0,8	0,02	0,2	0,04

Tabelle 8

Mol·10^{-6} Zucker/g Wassergehalt (bezogen auf 100 Körner resp. die entsprechenden Kornfraktionen). *a:* Embryo; *b:* Endosperm; *c:* ganzes Korn

Keimdauer in Tagen	Saccharose			Raffinose			Maltose			Glukose			Fruktose		
	a	*b*	*c*	*a*	*b*	*c*	*a*	*b*	*c*	*a*	*b*	*c*	*a*	*b*	*c*
—	814	39,6	140	285	13,9	50,0	42,8	23,3	22,0	71,4	34,9	38,0	42,8	27,9	28,0
1	38,5	6,8	11,6	35,9	2,2	6,0	33,3	3,9	6,9	15,4	5,0	6,6	7,7	4,7	7,9
2			9,2			2,6			7,4			6,0			6,3
3	81,3	8,2	19,7	10,0	0,9	2,4	15,7	3,2	5,3	8,6	4,7	5,3	4,3	3,2	3,4
5	30,8	19,4	26,9	2,0	1,8	1,8	9,2	15,4	12,2	2,0	4,3	3,2	0	0,4	0,3
8			7,1			0,7			5,4			1,3			0,1
10	3,6	21,8	5,6	0	0,7	0,07	0,1	15,4	2,7	3,0	2,5	4,4	0,1	1,1	0,2

Keimungsstadien die Saccharose, ungekeimt gefolgt von der Raffinose; während diese aber langsam verschwindet, übernimmt die Maltose nach dem ersten Keimtag ihren Platz und behält ihn bis zum zehnten Tag.

Tabelle 9
Zuckergehalt ausgedrückt in % des Gesamtzuckers. *a:* Embryo; *b:* Endosperm; *c:* ganzes Korn

Keimdauer in Tagen	Saccharose			Raffinose			Maltose			Glukose			Fruktose		
	a	*b*	*c*	*a*	*b*	*c*	*a*	*b*	*c*	*a*	*b*	*c*	*a*	*b*	*c*
—	61,4	35,8	52,8	30,5	17,1	26,3	3,6	19,9	8,4	2,7	15,3	7,1	1,8	11,9	5,4
1	29,6	37,0	35,7	37,1	15,5	25,5	25,2	21,0	21,5	5,4	13,8	10,0	2,7	12,7	7,3
2			35,0			13,7			28,1			11,3			11,9
3	69,5	50,0	60,1	11,9	7,7	9,9	12,9	18,8	16,7	3,7	13,9	8,0	2,0	9,6	5,3
5	70,8	50,4	61,8	6,1	6,4	5,9	20,9	37,2	28,2	2,2	5,4	3,7	0	0,6	0,4
8			50,2			6,5			38,2			4,7			0,4
10	54,5	43,0	51,8	0,3	1,6	0,9	21,7	30,1	25,4	22,7	24,1	20,9	0,8	1,2	1,0

Es ist möglich, daß später die Glukose die Maltose überflügeln würde; während diese vom achten Tag an abnimmt, nimmt die Glukose von diesem Zeitpunkt an rasch zu. Interessanter sind jedoch die prozentmäßigen Veränderungen in den einzelnen Kornfraktionen: im ungekeimten Zustand sind im Embryo rund 60 % allen Zuckers Saccharose, 30 % Raffinose; die reduzierenden Zucker teilen sich in den Rest in der Reihenfolge: Maltose, Glukose, Fruktose. Im Endosperm sind 36 % Saccharose, 17 % Raffinose, 20 % Maltose, 15 % Glukose und 12 % Fruktose. Nach 24stündiger Keimung tritt die Saccharose noch mehr zurück: der Embryo enthält noch 30 %, das Endosperm 37 %. Für die Raffinose lauten die Zahlen 37 (!) resp. 16 %, für die Maltose 25 und 21 %. Während der Embryo an Hexosen nur 8 % enthält, weist das Endosperm 14 % Glukose und 13 % Fruktose auf. Am fünften Keimtag sind 71 % des Zuckers im Embryo Saccharose und 21 % Maltose; die Fruktose ist ganz verschwunden, und die Raffinose zeigt dieselbe Tendenz. Im Endosperm liegen die Verhältnisse ähnlich: 50 % Saccharose und 37 % Maltose.

Nach einer Keimdauer von zehn Tagen kommt im Embryo zu Saccharose (55 %) und Maltose (22 %) noch die Glukose mit 23 %; ähnliche Verhältnisse finden sich im Endosperm: Saccharose 43 %, Maltose 30 %, Glukose 24 %; in die restlichen 3 % teilen sich Raffinose und Fruktose.

Die prozentuale Verteilung der einzelnen Zucker in den Kornfraktionen ist aus Tabelle 10 ersichtlich. Im Embryo sind vor allem die Saccharose und bis zum fünften Keimtage auch die Raffinose lokalisiert, während das Endosperm die Hauptmenge der Fruktose enthält. Um den

zehnten Keimtag gleichen sich die Unterschiede aus: die Anteile an reduzierenden Zuckern von Embryo und Endosperm werden sich ungefähr gleich, während über 60 % der Saccharose sich im Embryo befinden und der Raffinoserest zu 80 % im Endosperm.

Tabelle 10

Zuckergehalt ausgedrückt in % der Einzelzucker des Korns. *a:* Embryo; *b:* Endosperm

Keimdauer in Tagen	Saccharose		Raffinose		Maltose		Glukose		Fruktose	
	a	*b*	*a*	*b*	*a*	*b*	*a*	*b*	*a*	*b*
—	76,5	23,5	77,3	22,7	25,5	74,5	25,0	75,0	22,2	77,8
1	45,1	54,9	71,1	28,9	55,3	44,7	28,5	71,5	17,8	82,2
3	66,2	33,8	68,6	31,4	49,4	50,6	27,5	72,5	23,1	76,9
5	63,0	37,0	53,5	46,5	40,8	59,2	32,8	67,2	0	100,0
10	62,0	38,0	20,0	80,0	48,4	51,6	54,8	45,2	45,5	54,5

Tabelle 11

Totalzuckergehalt (ohne Glukofruktosan). *a:* Embryo; *b:* Endosperm; *c:* ganzes Korn

Keimdauer in Tagen	A mg Zucker in 100 Pflanzen			B %-Anteil der Kornfraktionen am Ges.Zucker		C mg Zucker pro 100 g Trockensubstanz			D mg Zucker pro g Wassergehalt		
	a	*b*	*c*	*a*	*b*	*a*	*b*	*c*	*a*	*b*	*c*
—	33,5	17,6	47,8	65,5	34,5	6700	551	1290	478,7	40,9	95,6
1	18,6	18,1	37,2	50,5	49,5	3154	600	1029	48,7	6,5	11,7
2			32,8					937			9,5
3	29,4	20,8	48,7	58,5	41,5	4900	757	1460	41,9	6,0	11,8
5	87,3	71,7	166,8	55,0	45,0	11062	2858	5071	15,7	14,0	15,6
8			128,4					4216			5,5
10	66,2	51,4	118,2	56,5	43,5	4562	5253	4858	2,3	18,3	3,9

Die Tabelle 11 B verdeutlicht, daß, sobald die Keimung begonnen hat, gewichtsmäßig die Gesamtzucker ohne große Unterschiede auf Embryo (± 55 %) und Endosperm (± 45 %) verteilt sind.

VII. Diskussion

Im Hinblick auf das bisher Bekannte ergab diese Arbeit zum Teil überraschende Ergebnisse. Wieweit die Widersprüche zu früheren Arbeiten bedingt sind durch die Verschiedenheit des untersuchten Materials in bezug auf Sorte, Jahrgang usw., ist schwer zu beurteilen. Auffallend ist vor allem das erstaunlich deutliche Auftreten von Maltose und Raffinose in allen untersuchten Entwicklungsstadien. Diese beiden Zucker wurden eigentlich in fast allen neueren Arbeiten über die löslichen Zucker der Gerste — zum Teil allerdings nur für das ungekeimte Korn

— geleugnet, so daß noch Lüers (1950) schreiben mußte, der Nachweis von Maltose und Raffinose sei nicht als entscheidend geführt zu betrachten.

Wie schon James (1940) betonte, muß beim Betrachten derartiger Analysenresultate immer die Tatsache im Auge behalten werden, daß die Keimung im Dunkeln stattfand. Für die frühen Keimungsstadien macht dies keinen Unterschied, da das gesamte Material für das erste Wachstum und die Atmung im Überfluß vorhanden ist. Wird aber der Vorratsnachschub aus den Reserven kleiner als die genügende Versorgung des Sämlings verlangt, so führt das Ausbleiben der Photosynthese zu Hungerbedingungen, die progressiv anwachsen.

Der quantitative und qualitative Gehalt des Getreidekeimlings und seines Endosperms an löslichen Kohlenhydraten ist in jedem Zeitpunkt der Keimung eine Funktion der drei Faktoren Produktion, Transport und Verbrauch. Im folgenden wird versucht, die erhaltenen Resultate mit den heutigen Kenntnissen über diese drei Teilgebiete des Stoffwechsels des keimenden Getreidekorns zu koordinieren.

1. Die Produktion löslicher Kohlenhydrate

Die Stärke des Endosperms ist die Hauptquelle für die Bildung löslicher Zucker; sie besteht zu rund $^1/_4$ aus Amylose und zu $^3/_4$ aus Amylopektin. Während die Amylose aus langen, unverzweigten Ketten von durch 1,4-Brücken verbundenen Glukosemolekülen besteht, ist das Amylopektin eher kurzkettig und stark verzweigt, wobei man sich vorstellt (Peat, 1951), daß Kurzketten (von zirka 20 α-1,4-Glukoseeinheiten) durch ihr reduzierendes Ende verbunden sind mit dem zentralgelegenen Glukosemolekül einer zweiten Kurzkette, die ihrerseits wieder auf dieselbe Weise verbunden ist mit einer nächsten Kurzkette und so fort. Die Verbindung zwischen zwei Kurzketten wird jeweils durch eine 1,6-Brücke gebildet.

Quantitativ ist der Abbau der Gesamtstärke des keimenden Gerstenkorns durch Loibl (1923) untersucht worden.

Wie sich die Mobilisation der Stärke im einzelnen abspielt, ist noch nicht völlig abgeklärt; sicher ist nur, daß er in der Natur auf der Wirkung von Fermenten beruht, wobei im folgenden nie vergessen werden darf, daß diese Enzymwirkungen mit wenigen Ausnahmen (zum Beispiel Lindersström-Lang und Engel, 1937) nur in vitro nachgewiesen wurden.

Zwei Arten des Stärkeabbaues sind heute bekannt: die irreversible Amylolyse durch die Amylasen und die reversible Phosphorolyse.

a) Der Stärkeabbau durch Amylasen

Die Amylasen — ein der Uneinheitlichkeit der Stärke entsprechendes Enzymgemisch — vermehren sich im Verlaufe der Keimung, was

jedoch wahrscheinlich nicht auf eine Neubildung zurückzuführen ist, sondern auf die enzymatische Freilegung durch Proteinasen von bereits im Korn vorhandenen, aber an Eiweißkörper gebundenen Amylasen (Waldschmitt-Leitz und Purr, 1931).

Die β-Amylase (auch maltogene oder Saccharogenamylase genannt) ist schon vorgebildet im ungekeimten Korn vorhanden; sie greift sowohl die Amylose als auch das Amylopektin an, indem jede zweite 1,4-Brücke vom nichtreduzierenden Kettenende her gespalten wird, wodurch ständig Maltose freigesetzt wird.

Theoretisch könnte also dadurch die Amylose, deren Glukosekettenglieder alle durch 1,4-Brücken verbunden sind, vollständig abgebaut werden. Merkwürdigerweise ist dies aber nur nach einer unphysiologisch langen Einwirkungszeit möglich; normalerweise entstehen durch die Einwirkung von β-Amylase auf die Amylose neben der Maltose Restdextrine. Beim Abbau des Amylopektins bieten die Verzweigungsstellen, die 1,6-Brücken darstellen, der β-Amylase ein unüberwindbares Hindernis, und als erste Abbauprodukte werden in diesem Fall neben der Maltose die Grenz-β-Dextrine (Haworth, Kitchen, Peat, 1943), auch Dextrin A genannt (Myrbäck, 1948), gebildet.

Die α-Amylase (Dextrinogenamylase) ist im ruhenden Korn nur spurenweise vorhanden; erst im Verlaufe der Keimung tritt sie stärker auf und ist dann bald vorherrschend. Die 1,6-Brücken bieten ihr kein Hindernis, und sie vermag daher das Grenz-β-Dextrin zu α-Dextrinen abzubauen, die ihrerseits wieder unter der gemeinsamen Wirkung von α- und β-Amylasen zu Maltose und während der Endhydrolyse (nur von α-Amylase allein) zu Glukose abgebaut werden. Auch die Amylose und die Restdextrine der Amylose, die die β-Amylase nicht abzubauen vermochte, zerfallen unter der Wirkung von α-Amylase zu kurzkettigen (meist aus sechs Glukosemolekülen bestehenden) α-Dextrinen, die wiederum sowohl durch die β- wie auch durch die α-Amylase zu Maltose bzw. Maltose und Glukose abgebaut werden. (Daneben können auch Isomaltose und Maltotriose entstehen.) Neuerdings wurde auch die notwendige Mitwirkung noch anderer Fermente erkannt, auf die aber hier nicht näher eingegangen werden kann. Erwähnt sei immerhin die Tätigkeit der glukosebildenden Malz-α-Amylase, die die Glukose nicht durch Spaltung der Maltose bildet, sondern unmittelbar aus den α-Dextrinen (Myrbäck, 1941 und 1948).

b) Der Stärkeabbau durch Phosphorylase

Die Phosphorolyse der Stärke liefert als Endprodukt Glukose-1-phosphat. Durch Hydrolyse dieses Esters wird Phosphorsäure wieder freigesetzt, und damit sind weitere Spaltungen möglich. Komplizierte Gleichgewichte bestimmen den Ablauf dieses Prozesses.

Die Beteiligung von Phosphorylase am Kohlenhydratstoffwechsel der grünen Pflanzen wird aber neuerdings wieder zur Diskussion gestellt (Peat, 1951). Dies vor allem deshalb, weil es bis heute nicht gelang, in diesen mit Sicherheit Glukose-l-phosphat nachzuweisen und es sich höchstens um Spuren handeln kann. Eigene Untersuchungen über das Vorkommen von Glukose-l-phosphat in Gerste wurden nicht gemacht; in keimenden Maiskörnern können laut unveröffentlichten Untersuchungen von Prof. Wanner am hiesigen Institut Hexosenphosphate nur in chromatographisch kaum nachweisbaren Mengen auftreten; der einzige säurelösliche Phosphorsäureester, der in größeren Mengen angetroffen wurde, ist die Phytinsäure.

Peat (1951) stellt daher die Frage, ob vielleicht die Saccharose in der Pflanze die Funktion des Glukose-l-phosphates innehabe, da ja in der Saccharose, als labiles Glukosid aufgefaßt, die Glukose (durch die reduzierende Gruppe) mit Fruktofuranose verbunden ist. In diesem Zusammenhang ist auch interessant, daß verschiedene Mikroorganismen bekannt wurden, die fähig sind, Polysaccharide ohne Hilfe von Phosphorsäureestern zu synthetisieren. Hehre (1948) stipuliert auch, «daß die Aktivität von Glukose-l-phosphat als Vorläufer der Polysaccharidbildung möglicherweise abhängt vom strukturellen Bau den auch das Saccharosemolekül besitzt und nicht von der Natur des Glukose-l-phosphates als Phosphat„ester", wie gewöhnlich angenommen wird.»

Jedenfalls ist die Rolle, die die Phosphorylase beim Stärkeabbau in der Pflanze spielt, noch völlig unabgeklärt.

c) Folgerungen

α *Die tatsächlich beobachteten Zuckerarten während der Gerstenkeimung lassen annehmen, daß der Stärkeabbau im Getreidekorn vorwiegend (und vielleicht ausschließlich) durch die Amylasen verursacht ist;* nur dadurch wird das Vorkommen von beträchtlichen Mengen Maltose (sowohl im Endosperm als auch im Embryo) erklärlich.

β Unerklärbar sind die nachgewiesenen großen *Saccharosemengen,* die durchwegs höher sind als die der Maltose. Saccharosesynthesen in vivo gibt es in den Blättern und während der Samen- und Fruchtreifung, wobei aber teilweise die Saccharose sich nicht im Samen selbst bildet, sondern als Wanderzucker zugeführt wird. Der Mechanismus dieser Synthese ist heute völlig unbekannt. Wenn es auch Hassid, Doudoroff und Barker (1944) gelang, aus Glukose-l-phosphat und Fruktose mittels der aus *Pseudomonas saccharophila* gewonnenen Saccharose-Phosphorylase Saccharose in vitro zu synthetisieren, so sind doch keine Anhaltspunkte dafür vorhanden, daß in höheren Pflanzen gleiche Verhältnisse herrschten wie bei *P. saccharophila.*

Daß das keimende Gerstenkorn aus Maltose und Glukose Saccharose synthetisieren kann, zeigen die Versuche von Brown und Morris (1890), die in isolierten Gerstenembryonen, die auf Maltoselösung wuchsen, Saccharose nachweisen konnten, ebenso wie Grüss (1898), der für einen gleichen Versuch Glukose als Nährlösung verwendete. In den Blättern ist eine Rohrzuckersynthese aus künstlich zugeführten Hexosen schon lange bekannt (zum Beispiel McCready und Hassid, 1941). Dieser Prozeß ist aber an die (aerobe) Atmung gebunden, die offenbar als Energiequelle für die Glukosidbildung dient. In bezug auf die Keimung könnte aus den Resultaten der vorliegenden Arbeit auf ähnliche Bedingungen geschlossen werden, indem nach einem anfänglichen Verbrauch des Saccharosevorrates im Embryo — dem ein unveränderter Saccharosegehalt des Endosperms gegenübersteht — (Tabelle 3), die nachher einsetzende Saccharosesynthese im Keimling zeitlich zusammenfällt mit einem starken Atmungsanstieg (Figur 2).

γ Die im ungekeimten Korn zum Teil reichlich vorhandene (Embryo!) *Raffinose* wird nicht nur abgebaut, sondern zum mindesten zwischen dem dritten und fünften Keimtag im Endosperm und im Embryo vermehrt. Die Galaktose (die mit Glukose die Melibiose und zusammen mit Glukose und Fruktose die Raffinose bildet) könnte aus dem Pektin der Mittellamellen der Endospermzellen stammen, da zu Beginn der Keimung die Cytase durch ihren Angriff auf die Hemizellulosen und Polyhexuronsäuren die Auflösung der Endospermzellwände bewirkt. Es konnte aber weder Melibiose noch Galaktose im keimenden Korn nachgewiesen werden, so daß anzunehmen ist, daß die Abbauprodukte der Raffinose entweder direkt veratmet oder, wahrscheinlicher, sofort in das neue Zellwandmaterial eingebaut werden.

δ Die *Fruktose,* die auch im ruhenden Korn nur schwach vertreten ist, nimmt während der Keimung eher ab. Es muß also angenommen werden, das die Gleichgewichte der Reaktionen, an denen Fruktose beteiligt ist, alle auf der entgegengesetzten Seite liegen. Ob die schwache Zunahme gegen Ende der Keimung im Zusammenhang steht mit dem Abbau des Glukofruktosans, ist nicht erklärbar, solange darüber keine quantitativen Werte bekannt sind.

ε *Zur Fruktosanfrage:* Das Fruktosan ist nicht nur wichtig als mengenmäßig stark vertretene Zuckerfraktion des ruhenden Korns, sondern vielleicht noch wichtiger während der Keimung. Ohne daß dieses Fruktosan aber näher bekannt und genauer definiert ist, sind Angaben über das mengenmäßige Vorkommen sinnlos. Zudem besteht auch die Möglichkeit, daß durch andere Extrak-

tionsmethoden quantitativ mehr Fruktosan bzw. noch andere Fruktosane nachgewiesen werden könnten.

Eine Eluierung des Fruktosans aus dem Chromatogrammstreifen mit nachträglicher Hydrolyse zum Zwecke des Wiederauftragens, Rechromatographierens und nachheriger quantitativer Bestimmung ist unmöglich, denn Täufel und Reiss (1951) nennen unter den prinzipiellen Schwierigkeiten für die Feinanalyse von Zuckergemischen aus Naturprodukten die Tatsache, daß beim Erwärmen von Zuckern in saurer Lösung Zersetzung (Fruktose) oder Reversion (Glukose) eintreten kann. Diese Autoren zählen unter anderem auch drei Oligosaccharide auf, bei denen eine Hydrolyse mit 3 % HCl zwischen ein und zwei Stunden dauert. Das Resultat ergibt jedoch um mindestens 5 % (Glukose) und bis 86 % (Fruktose) zu niedrige Werte.

Darum beschränken sich die folgenden Angaben auf das Qualitative:

Gersten-Glukofruktosan [1] konnte in allen untersuchten Keimungsstadien nachgewiesen werden. Während der Embryo immer eine Fruktosanfraktion enthielt, gelang es im Endosperm nach fünftägiger Keimung nicht, eine solche nachzuweisen, jedoch in allen andern Stadien, also auch wieder nach zehntägiger Keimung. Eluat, das nur Fruktosan enthielt, wurde durch Filtration von allen aus dem Chromatogrammpapier stammenden Unreinheiten befreit und nachher näher untersucht. Das isolierte Fruktosan ist nicht reduzierend, linksdrehend und hat keinen definierbaren Schmelzpunkt, sondern wird beim Erhitzen zuerst langsam braun und verkohlt dann. Gibt man Äthylalkohol zu wässeriger, fruktosanhaltiger Lösung, so fällt dieses aus. Mit 5prozentiger Oxalsäure oder *n*-HCl hydrolisiertes Fruktosan ergibt beim Rechromatographieren Fruktose *und* Glukose. Nach Übersprühen des Chromatogramms mit beiden verwendeten Entwicklern (Anilinphthalat nach Partridge, 1949, und dem Ketosenreagens Naphtoresorcin-Trichloressigsäure, nach Flood, Hirst und Jones, 1947) gibt das Fruktosan eine gute Farbreaktion.

Archbold (1940) zeigt, daß die Bedeutung des Fruktosans für den allgemeinen Stoffwechsel die gleiche ist, wie die aller anderen löslichen Zucker, da es wie diese eine Form der Kohlenhydratreserve darstellt. Immer werden unter Bedingungen, die eine An-

---

[1] Gersten-Glukofruktosan — vorläufig so genannt nach einem Vorschlag von Archbold (1940) zur Nomenklatur der Fruktosane, der aussagt, daß die Anwendung eines allgemeinen Terminus wie «Fruktosan» zusammen mit dem Namen der untersuchten Pflanze weniger verwirrend sei als der Gebrauch eines Namens, der möglicherweise auf Fruktosane angewandt werde, die aus den verschiedensten Quellen stammen.

häufung von Zuckerreserven begünstigen, relativ große Mengen Fruktosan produziert. Die Fruktosanbildung sei also weitgehend eine Frage der Konzentration und die Annahme eines sekundären Ursprungs indiziert.

Daß prinzipiell zur Synthese von Fruktosanserien Phosphate nötig sind, bewiesen Dedonder und Burry (1950); leider ist aber über die Art der Beteiligung von Phosphat in diesem Fall noch nichts bekannt. Edelmann und Bacon (1951) geben mit ihrer Transfruktosidationstheorie eine Erklärung zur Entstehung der Fruktosane und nehmen dabei (sowie in einer anderen Arbeit [Bacon und Edelmann, 1951]) eine nahe Verwandtschaft zwischen Fruktosanen und Inulin an.

ζ Es muß noch darauf hingewiesen werden, daß es im Verlaufe dieser Untersuchung nicht gelang, die von Montreuil und Scriban (1951) in Gerste papierchromatographisch nachgewiesenen Pentosen (Arabinose, Xylose, Ribose) und Uronsäure zu bestätigen. Möglicherweise stammen diese Zucker aus einer enzymatischen Hydrolyse der Hemizellulosen, deren wichtigste Gruppe, die Pentosane, sich in der Gerste in den Spelzen und im Endosperm vorfinden.

2. Transport- und Konzentrationsverhältnisse der löslichen Kohlenhydrate im Getreidekorn

Für die Entwicklung der jungen Pflanze aus dem reifenden Samen sind drei Abschnitte des Transportes von gelösten Kohlenhydraten wichtig: 1. der Transport vom Produktionsort, dem Endosperm, zum Verbrauchsort, dem Embryo, 2. die Absorption durch den Embryo, und 3. der Transport vom Resorptionsorgan, dem Scutellum, zu den Bildungsgeweben des Embryos. Da in der vorliegenden Arbeit der Embryo auch während seiner Differenzierung im Verlaufe des Wachstums nur als Ganzes untersucht wurde, sind Aussagen nur über den Transport vom Endosperm zum Embryo möglich.

Hansteen (1894) und nach ihm verschiedene andere Autoren zeigten, daß das Endosperm durch Diffusion entleert werden könnte. Über den Mechanismus der Zuckerabsorption durch den Getreide-Embryo ist jedoch nichts bekannt. Zur Ermöglichung von Konzentrationsvergleichen bei den Gerstenkeimlingen wurden daher für diese die Wassergehalte ermittelt und als Bezugsgröße verwendet (Tabellen 7 und 8).

Der Wassergehalt, ausgedrückt als Prozente des Frischgewichtes (Tabelle 12), zeigt für das Endosperm anfänglich einen leichten Wasserüberschuß an, wohl weil das Endosperm, im Gegensatz zum Embryo, zu Beginn der Keimung in direkter Berührung mit dem feuchten Keimbett

ist; vom dritten Tage an, sobald die Wurzelspitzen das Filterpapier erreichen können, weist der Embryo in stark steigendem Maße die höhere Wasserkonzentration auf. Daß in den Zellen des jungen Sprosses sogar ein ansehnlicher Überdruck vorhanden sein muß, beweisen die Guttationstropfen, die vom vierten Keimtage an beobachtet werden können.

Tabelle 12

Wassergehalt in % des Frischgewichtes. *a:* Embryo; *b:* Endosperm; *c:* ganzes Korn

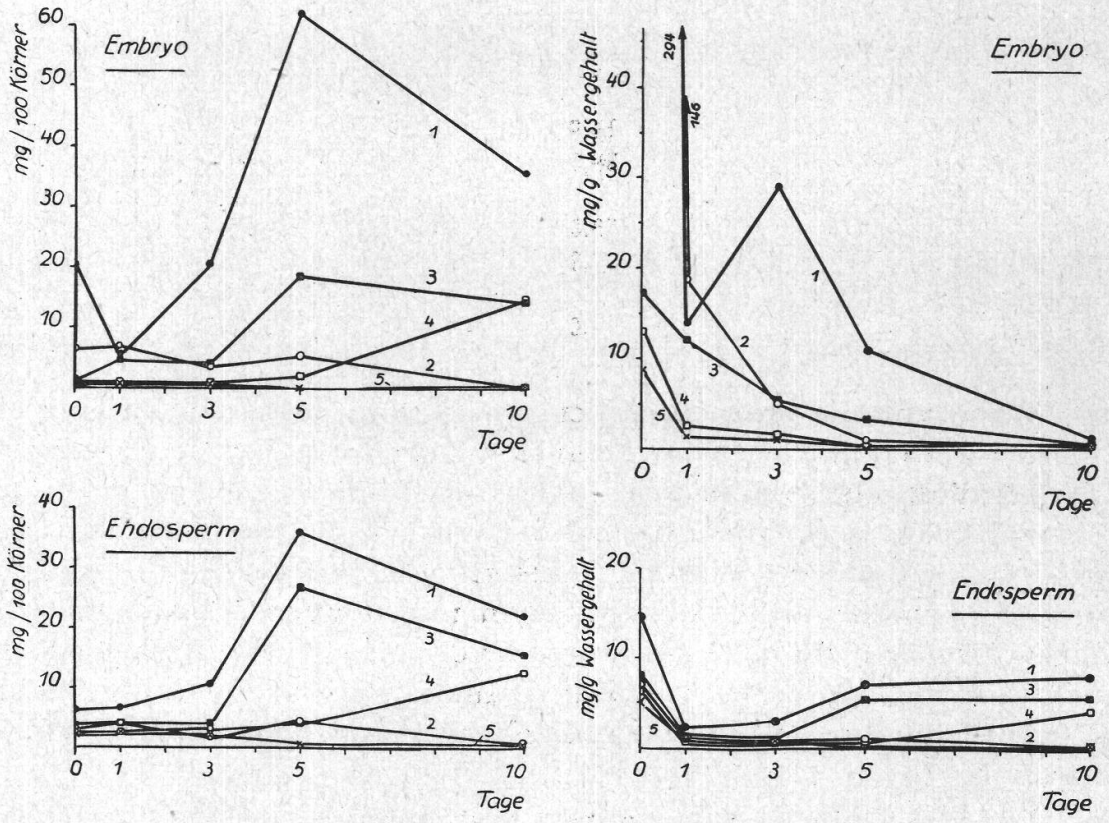
Keimdauer in Tagen	*a*	*b*	*c*
—	11,9	11,9	11,9
1	39,8	47,8	46,6
2			49,9
3	53,8	55,5	55,1
5	87,7	67,2	76,4
8			89,0
10	95,0	74,0	92,5

Wenn nun die Frage nach der Art des transportierten Zuckers gestellt wird, so fällt wieder die dominierende Stellung der Saccharose auf. Ob aber diese oder eventuell ein anderer der nachgewiesenen Zucker der Wanderzucker ist, kann auf Grund der vorliegenden Resultate nicht mit Sicherheit entschieden werden. Immerhin ist dieses Überwiegen der Saccharose merkwürdig, weil ja angenommen werden kann, daß der Zucker primär nicht in dieser Form aus der abgebauten Stärke entsteht und auch nicht in dieser Form unverändert verbraucht werden kann, weder für die direkte Veratmung noch für den Aufbau des neuen Zellmaterials.

Zur Diskussion der Konzentrationsverhältnisse ist vorausschickend zu bemerken, daß die scheinbare Abnahme der Zuckerkonzentration im Endosperm während der ersten 24 Stunden der Keimung (Tabelle 7 und Figur 1) nur verursacht ist durch die Wasseraufnahme im Zuge der Quellung. Aus Tabelle 3 und Figur 1 ist ersichtlich, daß der Zuckergehalt des Endosperms sich während dieser Zeit tatsächlich nicht veränderte. Anders liegen die Verhältnisse im Embryo, wo die Zuckerreserven für Atmung und Wachstum angebraucht werden, sobald die Wasseraufnahme eingesetzt hat, wobei der absolute Saccharosegehalt im Embryo sogar unter denjenigen im Endosperm abzusinken vermag. Die Zuckerkonzentrationen aber (mg Zucker/g Wassergehalt) (Tabelle 7 und Figur 1) sind im Embryo bis zum fünften Keimtag höher, trotzdem die hier ursprünglich vorhandenen Kohlenhydratreserven bis dahin sicherlich längstens aufgebraucht wurden. Der Zuckernachschub aller nachgewiesenen Zucker erfolgte also, zum mindesten bis zum fünften

Tag, *gegen* das Konzentrationsgefälle; erst nachher würde er *mit* dem Konzentrationsgefälle gehen.

Die Zuckerkonzentrationen im Embryo: Während der Keimung nehmen konzentrationsmäßig (Tabelle 7 und Figur 1) alle Zucker (mit Ausnahme der Saccharose am dritten Keimtag) in einer stetigen Kurve ab. Der Annahme, daß die erwähnte erhöhte Rohrzuckerkonzentration am dritten Tag, durch ein allgemeines starkes Zuckerangebot aus dem Endosperm verursacht sei, von dem vorerst nur die leichter direkt ver-



Figur 1

Veränderungen des Zuckergehaltes in Embryo und Endosperm während der ersten 10 Keimtage, ausgedrückt in mg/100 Körner (links) resp. mg/g Wassergehalt (rechts).

Kurve 1 Saccharose Kurve 3 Maltose Kurve 5 Fruktose
Kurve 2 Raffinose Kurve 4 Glukose

wendbaren Zucker (Glukose, Fruktose und in gewissem Sinne auch Maltose) verbraucht würden, so daß es zu einer Akkumulation der nur indirekt verwertbaren Saccharose kommen könne, widerspricht die Tatsache, daß es gerade die Saccharose ist, die in den ersten 24 Stunden der Keimung im Embryo relativ am stärksten abgebaut wird, trotzdem freie Glukose (sowie auch Fruktose und Maltose) vorhanden wären, die aber nicht nur nicht abgebaut werden, sondern eher zunehmen (Tabelle 3).

Die Saccharose ist also für den Keimling das leichtest verwertbare Kohlenhydrat.

Die Konzentrationsverhältnisse der durch den Stärkeabbau im Endosperm anfallenden Zucker: wie erwähnt, vermag die β-Amylase von der Stärke keine Glukose abzuspalten und die α-Amylase erst in der Endhydrolyse. Die Zunahme der Maltosekonzentration vom dritten Keimtag an, im Gegensatz zur Glukose, die erst vom fünften Tage an zunimmt, scheint daher verständlich (Tabelle 7 und Figur 1). Wahrscheinlich wäre die Maltosezunahme noch größer und die Glukosezunahme entsprechend geringer, wenn die α-Glukosidase die Maltose nicht in Glukose aufspalten würde.

Auch im Endosperm fällt die Dominanz der Saccharose über die anderen Zucker auf. Es muß daher angenommen werden, daß ein sehr aktives Fermentsystem wirksam sei, das die aus der Amylose, dem Amylopektin und den Dextrinen abgespaltene Maltose und Glukose sofort in Saccharose umwandelt. Scheinbar ist dieses Fermentsystem zu Beginn der Keimung inaktiviert, denn trotz steigendem Maltosegehalt und der wenn auch kleinen Zunahme von Glukose und Fruktose, sinkt der Saccharosegehalt des Korns (Tabelle 3). Nach dem zweiten Keimtag muß die amylolytische Maltoseproduktion natürlich stark weiter ansteigen, aber wie die Resultate zeigen, nimmt sie im Korn sogar ab, während gleichzeitig die Saccharose stark zunimmt. Dieser anscheinende Widerspruch ist aber mit der Annahme eines in diesem Zeitpunkte aktiv gewordenen Enzyms, das aus den amylolytischen Abbauprodukten Saccharose bildet, erklärbar.

3. Der Verbrauch der mobilisierten Kohlenhydrate

Die mobilisierten Kohlenhydrate werden teils veratmet, teils zum Aufbau neuen Zellmaterials (Plasmaproteine, Zellwände usw.) verwendet. Ein enger Zusammenhang besteht insofern, als die materialverbrauchenden Synthesen auch gleichzeitig einen großen Energieaufwand erfordern, der durch die bei der Atmung freiwerdende Energie gedeckt werden muß.

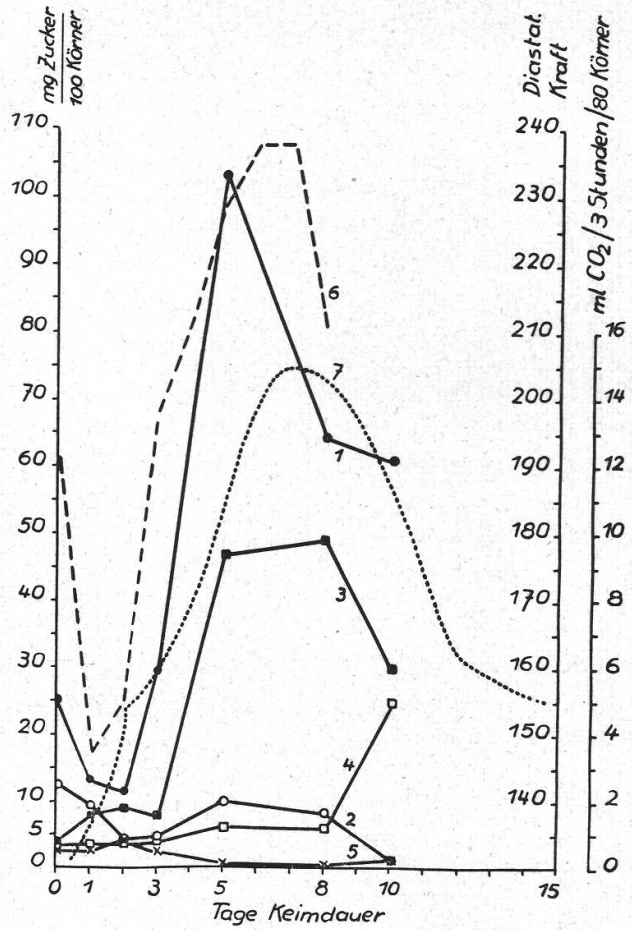
Das Zentrum der größten Atmungsintensität ist der Embryo bzw. dessen Meristeme. Der Atmungsverlauf während der Keimung wurde schon verschiedentlich untersucht, sehr ausführlich z. B. von James und James (1940) (siehe auch Figur 2). An Hand der erzielten Resultate teilten die Autoren die Atmung in verschiedene Phasen ein. Die Phase 1 umfaßt die ersten zwei Keimtage mit steilem Anstieg der Atmungsintensität. Ein abrupter Übergang leitet über zu Phase 2 (vom zweiten bis zum siebenten Keimtag) mit relativ flacherem Weiteranstieg zum Maximum. Ohne Übergang beginnt nun die Phase 3, in der mit zunehmender Schnelligkeit die CO_2-Produktion abfällt bis zum zwölften Tag, um in der 4. Phase langsam und unregelmäßig weiter zu sinken.

Der Vergleich dieser Ergebnisse mit den Resultaten eines zweiten Versuches, in dem die Atmung isolierter, auf Kulturlösungen mit und

ohne Kohlenhydrate keimender Embryonen untersucht wurde, ließ die Verfasser die verschiedenen Phasen wie folgt interpretieren:

Phase 1: Veratmung der Kohlenhydratreserven des Embryos.
Phase 2: Mobilisation der Kohlenhydrate des Endosperms.
Phase 3: Die Kohlenhydrate des Endosperms werden aufgebraucht.
Phase 4: Die Kohlenhydrate des Endosperms erreichen einen Tiefstand; Stärke (und Dextrine) sind nicht mehr nachweisbar.

Vergleicht man diese Ergebnisse mit den Resultaten der vorliegenden Arbeit, so ist leicht eine gewisse Übereinstimmung festzustellen: in



Figur 2
Zuckerbildung, diastatische Kraft und Atmung im keimenden Gerstenkorn, zusammengestellt nach Angaben von Lüers und Rümmler (1933), James (1940) und eigenen Resultaten.

Kurve 1 Saccharose
Kurve 2 Raffinose
Kurve 3 Maltose
Kurve 4 Glukose
Kurve 5 Fruktose
Kurve 6 Diastatische Kraft nach Lüers und Rümmler (1933)
Kurve 7 Atmung nach James (1940)

der 1. Atmungspause werden die im Embryo vorherrschenden Zucker, also Saccharose und Raffinose, abgebaut, während im Endosperm keine wesentlichen Veränderungen des Zuckergehaltes eintreten. (Ähnliches stellt schon Sachs [1862] fest: «Die ersten Entwicklungsprozesse des Keimes scheinen mit Hilfe der in den Zellen des Keimes selbst enthaltenen Stoffe stattzufinden.») Bis zum Ende der zweiten Phase jedoch (in dieser Arbeit der fünfte Keimtag) haben die beiden Hauptzucker (jetzt Saccharose und Maltose) im Endosperm stark zugenommen, nämlich rund um das Sechsfache resp. Siebenfache ihres Ausgangswertes; die Versorgung des Embryos mit diesen Zuckern ist in vollem Gange und

hat dort zu hohen verbrauchsbereiten Vorräten geführt. Mit dem Ende dieser Phase setzt zugleich auch die Glukoseproduktion des Endosperms stärker ein. Eine analoge Erscheinung fand auch Wanner (1952 *a*) bei Erbsen beim Vergleich seiner Resultate mit den Atmungsversuchen von Fernandes (1923). Dort fällt nämlich der Beginn der ansteigenden Hexosekonzentration zusammen mit dem Maximum bzw. dem beginnenden Absinken der Atmungsintensität; es sei aber möglich, daß schon vor Beginn der analytisch feststellbaren Zunahme der Hexosen solche entstehen, aber gleichzeitig durch die Atmung verbraucht werden. «Steigt die Atmungsintensität nicht mehr weiter an bzw. sinkt sie ab, so müßten sich bei gleichbleibender oder steigender Hexoseproduktion solche anhäufen.» Eine solche Hexosenanhäufung fand sich in der Gerste nun am zehnten Keimtag, als sich die Glukose im Embryo verachtfachte und im Endosperm mehr als verdreifachte.

In seiner Arbeit über den Kohlenhydratstoffwechsel keimender Gerste nimmt James (1940) an, daß die Saccharose den größeren Teil des Atmungssubstrates bilde und daß die Zucker aus den Reserven des Endosperms vor allem in Form von Saccharose, weniger als Maltose, in den Embryo wandern; diese Hypothese wird durch die Resultate der vorliegenden Untersuchung unterstützt. Da parallel dazu auch eine vollständige Abwanderung der Wuchsstoffe (Auxin und Heteroauxin) aus dem Endosperm in den Embryo stattfindet (von Guttenberg und Lehle-Joerges, 1947), bildet dort die nichtveratmete Saccharose auch das Hauptsubstrat für den Aufbau des neuen Zellwandmaterials.

Die Saccharosesynthese ist auf einen energieliefernden Vorgang angewiesen; als solcher kommt im Embryo nur die Atmung in Frage. So ist es nicht erstaunlich, daß zwischen der Atmungskurve und der Kurve des Saccharosegehaltes ein Zusammenhang besteht, der sicher nicht nur zufällig ist. Möglicherweise besteht aber auch eine kausale Beziehung zwischen den Aktivatoren bzw. Paralysatoren der Atmung und den Aktivitätsänderungen des früher angenommenen saccharosebildenden Fermentsystems.

Die zeitweise Akkumulation der Saccharose, die ja vor allem im Embryo lokalisiert ist, läßt sie als leicht löslichen und schnell verfügbaren Reservestoff der Pflanze deuten. Auch Koblet (1940) kommt zu einem ähnlichen Schluß in bezug auf die Veränderungen des Kohlenhydratgehaltes im reifenden Getreidesamen; er berechnete den Gesamtzucker im Embryo als Rohrzucker und sagt: «Der Zucker im Embryo ist nicht nur ein wanderungsfähiger, zur raschen Verarbeitung bestimmter Baustoff, sondern überdies ein typischer Reservestoff.» Man könnte sich fragen, wieso diese Reserve nicht in der noch schneller mobilisierbaren Form von Hexosen angelegt wird. (Aber auch der tierische Organismus akkumuliert die durch den Abbau entstandenen und in die Blutbahn übergeführten Hexosen nicht in dieser Form, sondern er bildet aus

ihnen eine schwerfälligere Reserve in Form von Glykogen.) Möglicherweise schützt die Pflanze dadurch, daß nicht Hexosen, sondern Saccharose akkumuliert wird, ihre für den Beginn des Wachstums nötige Kohlenhydratreserve vor zu rascher Veratmung.

Um die aufgetauchten Probleme besser lösen zu können, wären noch andere, speziellere und feiner differenzierte Untersuchungen des Embryos — im besonderen des Scutellums, aber auch der Wurzeln und des Keimes — notwendig, wodurch einerseits Fragen des Transports und anderseits Fragen des Verbrauchs besser beleuchtet werden könnten.

VIII. Zusammenfassung

Die löslichen Zucker keimender Gerste — getrennt in Embryo und Endosperm — wurden papierchromatographisch analysiert.

Es wird eine Extraktionsmethode beschrieben, die für die papierchromatographische Auswertung befriedigend «saubere» Extrakte ergibt und ein Lösungsmittel, womit sich auch Zucker mit kleinem R_F-Wert klar trennen lassen, ohne daß dabei die Zucker mit großem R_F zu weit wandern.

Im ungekeimten Korn

wurden (in der Reihenfolge ihrer mengenmäßigen Häufigkeit) folgende Zucker gefunden:

Saccharose, Raffinose, Maltose, Glukose und Fruktose sowie ein Glukofruktosan, über welches jedoch keine quantitativen Angaben gemacht werden können.

Der Embryo enthielt rund zwei Drittel, das Endosperm rund ein Drittel der gefundenen Zuckermengen. Während im Embryo Saccharose und Raffinose am stärksten vertreten sind, überwiegen im Endosperm Maltose, Glukose und Fruktose.

Im Verlaufe der Keimung

verschieben sich die Mengenverhältnisse.

Im *ungeteilten Korn* nimmt die Saccharose während der ganzen untersuchten Keimdauer von zehn Tagen die erste Stelle ein. Die Raffinose wird am zweiten Tag von der Maltose abgelöst, die dann ihren zweiten Platz nicht mehr abgibt, während die Raffinose ihren dritten Platz bis zum achten Keimtag behält, um darauf von der Glukose überflügelt zu werden. Die Fruktose spielt während der ganzen Keimung mengenmäßig eine untergeordnete Rolle.

Embryo:

Die Saccharose ist weitaus am stärksten vertreten. Nach anfänglichem steilem Abfall erreicht sie am fünften Keimtag ihr Maximum, gefolgt von einem langsamen Absinken. Die Raffinose nimmt

im Verlauf der Keimung allmählich und stetig ab und ist nach zehn Tagen annähernd ganz verschwunden. Die zu Beginn der Keimung in Spuren vorhandene Maltose wird in zwei Phasen stark angereichert; ein erstesmal während der ersten 24 Stunden, und ein zweitesmal zwischen dem dritten und fünften Tag. Sie ist zu diesem Zeitpunkt der zweithäufigste Zucker und wird während der folgenden fünf Tage nur wenig vermindert. Die Glukose nimmt bis zum fünften — wahrscheinlich aber bis zum achten — Tag wenig, aber stetig zu. Zu dieser Zeit beginnen, außer der Fruktose, die übrigen Zucker abzunehmen; der Glukosegehalt hingegen wird nun stark vermehrt und erreicht am zehnten Keimtag sogar den Maltosegehalt. Die Fruktose tritt nie wesentlich in Erscheinung. Das Glukofruktosan konnte im Embryo in allen untersuchten Keimstadien qualitativ nachgewiesen werden.

Endosperm:

Auch hier dominiert die Saccharose in allen Keimungsstadien. Die Veränderungen des Saccharosegehaltes gehen annähernd parallel den Veränderungen des Maltosegehaltes. Letztere ist der zweithäufigste Zucker im Endosperm. Für diese beiden Zucker sind drei Perioden festzustellen: bis zum dritten Keimtag eine langsame und bis zum fünften Tag eine schnelle Zunahme, gefolgt von einer langsamen Abnahme. Raffinose, Glukose und Fruktose sind mengenmäßig bis zum dritten Keimtag ungefähr gleich stark vertreten und konstant. Während nachher die Raffinose nach schwacher Zunahme bis zum fünften Keimtag fast ganz verschwindet, nimmt die Glukose kräftig zu und löst sich damit von den quantitativ unbedeutenden Zuckern Raffinose und Fruktose, die am zehnten Tag nun noch in kleinsten Mengen vorhanden sind. Das Glukofruktosan konnte im Endosperm, außer am fünften Keimtag, in allen untersuchten Keimungsstadien qualitativ nachgewiesen werden.

Anschließend wurden die erhaltenen Resultate in ihren Zusammenhängen mit den bisher bekannten Tatsachen über Produktion, Transport und Verbrauch der löslichen Kohlenhydrate im keimenden Gerstenkorn diskutiert.

IX. Literaturverzeichnis

Archbold, H. K.: Physiological studies in plant nutrition. VII. The role of fructosans in the carbohydrate metabolism of the barley plant. Ann. Bot. Lond., NS II, **183**, 403, 1938.

— Fructosans in the monocotyledons. A review. New Phytologist, **39**, 185, 1940.

Bacon, J. S. D., und Edelmann, J.: The carbohydrates of the Jerusalem Artichoke and other Compositae. Biochem. J., **48**, 114, 1951.

Bradfield, A. E., und Flood, A. E.: Soluble carbohydrates of fruit plants. Nature, **166,** 264, 1950.

Brown, H. T., und Morris, G. H.: Researches on the germination of some of the Graminae. J. Chem. Soc., **57,** 446, 1890.

Choate, H.: Chemical changes in wheat during germination. Bot. Gaz., **71,** 409, 1921.

Christiansen, G. S., und Thimann, K. V.: The metabolism of stem tissue during growth and its inhibition. Arch. of Biochem., **26,** 248, 1950.

Colin, H., und Belval, H.: Le raffinose dans les graines de céréales. Bull. Soc. Chim. Biol., **16,** 424, 1934.

Decker, P., Riffart, W., und Orneder, G.: Mehrdimensionale Papierchromatographie. Naturwissenschaften, **38,** 288, 1951.

Dedonder, R.: Les glucides du Topinambour. I. Produits intermédiaires dans l'hydrolyse acide de l'inuline. C. r. Acad. Sci., **230,** 549, 1950 (*a*).

— Les glucides du Topinambour. II. Rapports entre la composition glucidique des tubercules du Topinambour et les produits d'hydrolyse de l'inuline. C. r. Acad. Sci., **230,** 997, 1950 (*b*).

— und Burry, Cl.: Les glucides du Topinambour. III. Données sur leur synthèse biologique. C. r. Acad. Sci., **231,** 790, 1950.

Duff, R. B., und Eastwood, D. J.: Use of the Arsenomolybdate-Somogyi reagent in quantitative paper chromatography and its application to the study of sucrose utilisation by a fungus. Nature, **165,** 848, 1950.

Edelmann, J., und Bacon, J. S. D.: Transfructosidation in extracts of the tubers of *Helianthus tuberosus* L. Biochem. J., **49,** 529, 1951.

Fernandes, D. S.: Aerobe und anaerobe Atmung bei den Keimlingen von *Pisum sativum*. Rec. d. trav. bot. Neerl., **20,** 107, 1923.

Flood, A. E., Hirst, E. L., und Jones, J. K. N.: Quantitative estimation of mixtures of sugars by the paper chromatogram method. Nature, **160,** 86, 1947.

Grüss, J.: Über Zucker und Stärkebildung in Gerste und Malz. Wochenschr. f. Brauerei, **14,** 321, 1897, und **15,** 81, 1898.

von Guttenberg, H., und Lehle-Joerges, E.: Über das Vorkommen von Auxin und Heteroauxin in ruhenden und keimenden Samen. Planta, **35,** 281, 1947.

Hagedorn, H. C., und Jensen, N. B.: Zur Mikrobestimmung des Blutzuckers mittels Ferricyanids. Biochem. Z., **135,** 46, 1923.

Hansteen, B.: Über die Ursachen der Entleerung der Reservestoffe aus Samen. Flora, **78,** 418, 1894.

Hassid, W. Z., Doudoroff, M., und Barker, H. A.: Enzymatically synthetisized cristalline sucrose. J. Am. Chem. Soc., **66,** 1416, 1944.

Haworth, W. N., Kitchen, H., und Peat, S.: Amylotic degradation of starch. J. Chem. Soc. (1943), S. 619.

Hehre, E. J.: The biological synthesis of polysaccharides. Trans. Acad. Sci. (New York), **10,** 188, 1948.

— Enzymic synthesis of polysaccharides: A biological type of polymerisation. Advances in Enzymology and related subjects of Biochemistry. (Interscience, New York.) Vol. **11,** 297, 1951.

Hesse, A., in Nord-Weidenhagen: Handbuch der Enzymologie. Leipzig 1940.

Hirst, E. L., und Jones, J. K. N.: The analysis of intimate mixtures of reducing sugars. Farad. Soc.: «General discussion on chromat. analysis.» Sept. 1949.

Hopkins, R. H., und Krause, B.: Biochemistry applied to malting and brewing. London 1937.

James, A. L.: The carbohydrate metabolism of germinating barley. New Phytologist, **39,** 133, 1940.

James, W. O., und James, A. L.: The respiration of barley germinating in the dark. New Phytologist, **39,** 145, 1940.

Jermin, M. A., und Isherwood, F. A.: Improved separation of sugars on a paper partition chromatogram. Biochem. J., **44,** 402, 1949.

Jessen-Hansen, H.: Studien über die in Roggen, Gerste und Weizen in verschiedenen Entwicklungsstadien auftretenden Kohlenhydrate. Medd. Carlsberg Lab., **4,** 145, 1896.

Kjeldahl, J.: Recherches sur les hydrates de carbone de l'orge et du malt. Medd. Carlsberg Lab., **1,** 129 und 298, 1879.

Kluyver, A. J.: Biochemische Suikerbepalingen (zitiert in Meeuse, 1943). Diss., Delft 1914.

Koblet, R.: Untersuchungen über die stofflichen Veränderungen im wachsenden und reifenden Weizenkorn. Ber. Schweiz. Bot. Ges., **50,** 99, 1940.

Koch, R. B., Geddes, W. F., und Smith, F.: The carbohydrates of Graminae. I. The sugars of the fluor of wheat *(Triticum vulgare).* Cereal Chem., **28,** 424, 1951.

Kretovitch, W.: Distribution of sugar and nitrogenous substances in wheat grain. Biochem. J., **27,** 1687, 1933.

Kühnemann, G.: Über das Vorkommen von kristallisirendem Zucker in den ungekeimten Cerealien und den Keimungsproceß. Ber. d. D. Chem. Ges., **8,** 202, 1875 (*a*).

— Untersuchung der ungekeimten Gerste auf Zucker und Dextrin. Ber. d. D. Chem. Ges., **8,** 387, 1875 (*b*).

Laidlaw, R. A., und Reid, S. G.: A fructosan from *Lolium perenne.* J. chem Soc. (1951), S. 1830.

Leberle, H.: Die Bierbrauerei. 1. Teil: Technologie der Malzfabrikation. 2. Aufl. Stuttgart 1930.

Lehmann, E., und Aichele, F.: Keimungsphysiologie der Gräser. Stuttgart 1931.

Lindet, L.: Les hydrates de carbone et leur transformation au cours de la germination de l'orge industrielle. Compt. rend. d. l'Académie française, **137,** 73, 1903.

Linderstrøm-Lang, K., und Engel, C.: Über die Verteilung der Amalyse in den äußeren Schichten des Gerstenkornes. Enzymologia, **3,** 138, 1937.

Lintner, C. J., und Düll, G.: Über den Abbau der Stärke und über den Einfluß der Diastasewirkung. Ber. d. D. Chem. Ges., **26,** 2533, 1893.

Loibl, H.: Zur Biochemie der Keimung von Cerealiensamen. Zs. f. d. ges. Brauw., **46,** 30, 1923.

Lüers, H.: Beiträge zur chemischen Kenntnis des Malzes. Zs. f. d. ges. Brauw., **38.** 106, 1915.

— Die wissenschaftlichen Grundlagen von Mälzerei und Brauerei. Nürnberg 1950.

— und Rümmler, W.: Die Entwicklung der Amylase während der Keimung der Gerste. Wschr. f. Brauerei, **50,** 297, 1933. 2. Mitt.: Wschr. f. Brauerei, **52,** 9. 1935.

Malpress F., und Morrison, A.: Use of Pyridine in the de-ionisation of solutions for paper chromatography. Nature, **164,** 963, 1949.

McCready, R. M., und Hassid, W. Z.: Transformation of sugars in excised barley shoots. Plant Physiol., **16,** 559, 1941.

Meeuse, B. J. D.: Oriënterende onderzoekingen over de vorming van rietsuiker uit zetmeel in planten bij lage temperatuur. Diss., Delft 1943.

Montreuil, J., und Scriban, R.: Les glucides de l'orge et du malt. Pet. J. Brasseur, **59,** 373, 1951.

Myrbäck, K.: Über Grenzdextrine und Stärke. III. Mitt. Trisaccharide unter den Abbauprodukten der Stärke. Biochem. Z., **297,** 179, 1938.

Myrbäck, K.: Über Grenzdextrine und Stärke. XI. Mitt. Spaltung der Stärke durch die Dextrinogenamylase des Malzes. Biochem. Z., **307,** 140, 1941.
— Products of the enzymic degradation of starch and glycogen. Advances in Carbohydrate Chemistry. (Academic Press, New York.) Vol. **3,** 251, 1948.
Nelson, N.: A new photometric adaption of the Somogyi-method for the determination of glucose. J. Biol. Chem., **153,** 375, 1944.
O'Sullivan, C. O.: On the sugars of some cereals and of germinated grain. J. Chem. Soc., **49,** 58, 1886.
Partridge, S. M.: Filter-paper partition chromatography of sugars. Biochem. J., **42,** 238, 1948.
— Anilin hydrogen phthalate as a spraying reagent for chromatography of sugars. Nature, **164,** 443, 1949.
Peat, S.: The biological transformation of starch. Advances in Enzymology and related subjects of Biochemistry. (Interscience, New York.) Vol. **11,** 339, 1951.
Petit, P.: Variations des matières sucrées pendant la germination de l'orge. Compt. rend. Acad. française, **120,** 687, 1895.
Prianischnikow, W.: Spezieller Pflanzenbau. Der Anbau der landwirtschaftlichen Kulturpflanzen. Berlin 1930.
Pringalle, F.: Über die Bildung der Zucker im Gerstenkorn während des Mälzens. Bull. trimestr. Ec. de Brass. Louvain 1927. Ref. in Wschr. f. Brauerei, **44,** 284, 1927.
Puriewitsch, K.: Physiologische Untersuchungen über die selbsttätige Entleerung der Reservestoffbehälter. J. f. Wiss. Bot., **31,** 1, 1898.
Sachs, J.: Zur Keimungsgeschichte der Gräser. Bot. Ztg., **20,** 145, 1862.
Samec, M.: Kolloidchemie der Stärke. Dresden 1927.
— Über die Wirkung von β-Amylase auf einige Stärkesubstanzen. 4. Mitt. Über enzymatische Amylolyse in der von M. Samec und E. Waldschmidt-Leitz begonnenen Untersuchungsreihe. Zs. physiol. Chem., **236,** 103, 1935.
Schlubach, H. H.: Über den Kohlenhydratstoffwechsel der Getreidearten. Experientia, **9,** 230, 1953.
Somogyi, M.: A new reagent for the determination of sugars. J. biol. Chem., **160,** 61, 1945.
Tanret, M. C.: Sur la lévosine, nouveau principe immédiat des céréales. Compt. rend. d. séances de l'Acad. d. sciences, **112,** 293, 1891.
Täufel, K., und Müller, K.: Über den Gehalt von Gerste und Malz an Mono- und Oligosacchariden. Zs. f. Untersuchung der Lebensmittel, **83,** 49, 1942.
— und Reiss, R.: Analytische und chromatographische Studien an Mono- und Oligosacchariden. Zs. anal. Chem., **134,** 252, 1951.
Waldschmidt-Leitz, E., und Mayer, K.: Über Amylophosphatase aus Gerste. Zs. physiol. Chem., **236,** 168, 1935.
— und Purr, A.: Über Amylokinase, einen natürlichen Aktivator des Stärkeabbaues in keimender Gerste. Zs. physiol. Chem., **203,** 117, 1931.
Wanner, H.: Über die Zuckerwanderung in Erbsenkeimlingen. Ber. Schweiz. Bot. Ges., **60,** 426, 1950.
— Natur und Verteilung der löslichen Kohlenhydrate im Erbsenkeimling. 2. Mitt.: Qualitative und quantitative Bestimmung der einfachen Zucker durch Papierchromatographie. Ber. Schweiz. Bot. Ges., **62,** 205, 1952 (*a*).
— Über die Genauigkeit quantitativer Zuckerbestimmungen in Pflanzenextrakten. Helv. Chim. Acta, **35,** 460, 1952 (*b*).