

## Zellatmung.

V. Mitteilung:

### Über den Oxydationsmechanismus einiger Pflanzen.

Von

A. v. Szent-Györgyi.

(Aus dem physiologischen Laboratorium der Reichsuniversität zu Groningen.)

(Eingegangen am 18. Dezember 1926.)

Vor einiger Zeit wurde der Oxydationsmechanismus der Kartoffeln einer Analyse unterzogen<sup>1)</sup>, in der Hoffnung, bei dieser Arbeit Gesichtspunkte für die Erforschung der tierischen Oxydationen zu gewinnen. Diese Arbeit nahm ihren Ausgangspunkt aus der Arbeit *W. Palladins* und stützte sich weiter auf die Arbeit von *J. Wolff* und *M. W. Onslow* und *M. E. Robinson*. Als Grundlage dieser Versuche wurde die klassische Guajakreaktion gebraucht. Es wurde festgestellt, daß das untersuchte Oxydationssystem der Kartoffeln im wesentlichen aus drei Gliedern besteht, aus einer Phenoloxydase, einem Phenol (mit o-Dihydroxygruppe) und der Gruppe der Dehydrasen. Das Phenol hat die Funktion des Wasserstofftransporteurs und wird einerseits durch die Oxydase (plus Sauerstoff) zum o-Diketochinon oxydiert. Dieses wird dann durch die Dehydrasen wieder zum Brenzcatechin reduziert. Werden in diesem System die Dehydrasen (mit den dehydrierbaren Substanzen) durch Guajakharz ersetzt, so wird nun an Stelle des aktivierten Wasserstoffs der Nährstoffe der labile Wasserstoff des Harzes durch das Chinon aboxydiert, welche Oxydation sich durch die entstehende Blaufärbung erkennen läßt. Im wesentlichen ist diese Arbeit in der letzten Zeit durch *Onslow* und *Robinson*<sup>2)</sup> bestätigt worden.

Weiterhin wurde bei der obigen Arbeit die schwarzbraune Verfärbung untersucht, die die mit Chloroformdämpfen behandelten Schnitte der Kartoffeln an der Luft eingehen. Es wurde gezeigt,

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr. 162, 399, 1925.

<sup>2)</sup> Biochem. Journ. 20, 1138, 1926.

daß diese durch eine vierte Substanz bedingt wird, die mit dem o-Diketochinon reagiert, wenn dieses nicht durch die Dehydrasen reduziert wird. Diese Substanz wurde *Tyrin* genannt.

Untersucht man verschiedene Pflanzen mit derselben Methode, d. h. mit der Guajakreaktion, und der Beobachtung der schwarzbraunen Verfärbung an der Luft, so zeigen die verschiedenen Pflanzen, wie bereits aus den Arbeiten von *Wolff, Onslow, Onslow* und *M. E. Robinson, B. Moore* und *E. Whitley* bekannt, ein durchaus verschiedenes Verhalten. Einige Pflanzen zeigen diese Reaktionen diffus an der ganzen Schnittfläche, andere zeigen sie nur stellenweise, andere wieder gar nicht, oder in ganz anderer Form. Wie durch *Wolff, Onslow* und *Robinson* bekannt, enthalten auch nicht alle Pflanzen aromatische Substanzen mit einer o-Dihydroxygruppe.

Die Frage, die ich mir zunächst vorgelegt habe, war die, ob dieses System Dehydrase—aromatischer Wasserstofftransporteur—Phenoloxydase bloß das Eigentum gewisser Pflanzen sei, die die obigen Reaktionen geben, oder aber, ob alle Pflanzen, die mir zugänglich waren, auch die, die keine Guajakreaktion geben, ein derartiges Oxydationssystem besitzen.

Es wurden also 13 verschiedene Pflanzen bzw. die Früchte, Knollen oder Wurzeln der Pflanzen untersucht. Diese waren die folgenden: Kartoffel (*Solanum tuberosum*), Apfel (*Pirus malus*), Birne (*Pirus communis*), Bohne (*Phaseolus vulgaris*), Banane (*Musa sapientum*), Traube (*Vitus vinifera*), Rübe (*Beta vulgaris*), Melone (*Cucumis melo*), Zeller (*Apium graveolens*), Ananas (*Ananassa sativa*), Karotten (*Daucus carota*), Meerrettigwurzel (*Rafanus sativus niger*) und Gurke (*Cucumis sativus*).

Die Arbeit ergab, daß in allen daraufhin untersuchten Pflanzen ein analoges Oxydationssystem gefunden werden konnte. Die wesentlichste Variation ergab sich nur in der chemischen Konstitution des aromatischen Wasserstofftransporteurs mit der damit Hand in Hand gehenden etwas verschiedenen Einstellung und Leistungsfähigkeit der zugehörigen Phenoloxydase. Dieser Unterschied ist auch genügend, um das verschiedene Verhalten der Pflanzen in den obigen Reaktionen zu erklären.

#### Experimenteller Teil.

1. *Die Guajakreaktion.* Die untersuchten Pflanzen lassen sich auf Grund dieser Reaktion in drei Gruppen einteilen: in solche, die die Reaktion an der ganzen Schnittfläche geben, in solche, die die Reaktion nur stellenweise, und in solche, die die Reaktion gar nicht geben.

*Pflanzen mit diffuser Guajakreaktion.* Zu dieser Gruppe gehören die Früchte der folgenden Pflanzen: Kartoffel, Apfel, Birne, Banane und die Hülse der Bohne. Auf Grund der Untersuchungen von *J. Wolff, M. W. Onslow* und *M. E. Robinson* können wir sagen, daß diese Pflanzen das oben

beschriebene dreigliedrige Oxydationssystem besitzen und hierbei als aromatischen Wasserstofftransporteur eine Substanz mit o-Dihydroxygruppe gebrauchen. Dieser Körper wird durch die Oxydase zu einem o-Diketochinon oxydiert.

Die Guajakreaktion und hiermit auch die Leistungsfähigkeit des Systems ist nicht in allen Teilen der Früchte gleich und ist am stärksten in den peripheren Teilen, wo auch die Sauerstoffkonzentration am höchsten ist. In der Banane scheinen die in Längsrichtung laufenden, strangartigen Bildungen Stätten besonders intensiver Oxydationen zu sein.

*Pflanzen, die nur stellenweise die Guajakreaktion geben*, sind: die Rübe, Traube, Karotte und Zeller. Die erste Frage, die sich beim Aufstellen dieser Gruppe aufdrang, war die nach der Ursache des negativen Ausfalls der Reaktion an gewissen Teilen der Schnittfläche. Unter den untersuchten Pflanzen ist die *Rübe* ein besonders schönes, man könnte sagen klassisches Beispiel. Schneidet man eine Scheibe aus dieser Wurzel, so finden wir, daß diese ganz weiß ist, nur an der Peripherie einen dünnen braunen Saum aufweist. Beim Stehen an der Luft verändert sich die weiße Farbe nicht. Bestreicht man nun die ganze Schnittfläche mit Guajaktinktur, so erscheint bald im peripheren, dünnen Saume, der sich auch ohne Guajak durch seine braune Farbe erkennen läßt, eine intensive blaugrüne Farbe. Die große zentrale Masse bleibt ungefärbt. Wird aber vorher in diesem zentralen Teile mit einem Glasstäbchen etwas Brenzkatechin an der Oberfläche des Schnittes verrieben und dann die Guajaktinktur aufgebracht, so erscheint an dieser Stelle, die mit Brenzkatechin behandelt war, bald die schöne blaugrüne Farbe. Die Rübe besitzt also in allen ihren Teilen eine recht aktive Oxydase für Brenzkatechin, die diese Substanz unter Bildung des o-Diketochinons oxydiert, nur ist in der Pflanze, abgesehen vom schmalen peripheren Saume, keine Substanz mit o-Dihydroxyformation anwesend. Diese Folgerung kann auch durch die direkte chemische Analyse gestützt werden. Die aus den zentralen Teilen der Pflanze gewonnenen Extrakte zeigen keine Brenzkatechinreaktion.

Wir können die im Innern der Rübe anwesende aktive Phenoloxydase auch direkt nachweisen, wenn wir auf die Oberfläche Brenzkatechin oder Pyrogallolguajak aufbringen. Die Stellen, die wir mit diesen Substanzen behandelt haben, zeigen bald eine dunkle, braune Verfärbung. Die Reaktion ist am stärksten in den zirkulär angeordneten sekundären Gefäßbündeln. Auch die Guajakreaktion ist hier am stärksten (nach vorhergehender Behandlung mit Brenzkatechin).

Die Rübe hat also in ihrer ganzen Masse eine recht aktive Phenoloxydase, die Brenzkatechin in intensiver Weise zum o-Diketochinon oxydiert. Der zu dieser Oxydase gehörende aromatische Körper (der also kein Brenzkatechinderivat ist) kann leicht nachgewiesen werden, wenn wir die Scheiben in Chloroformdämpfen an der Luft stehenlassen. Die Schnitte zeigen dann eine dunkle, blauschwarze Verfärbung, die nicht anders als durch die Oxydation eines aromatischen Körpers erklärt werden kann.

Dieses Beispiel zeigt auch, daß die Einteilung und Schlußfolgerung von *Onslow* zu streng gefaßt ist. *Onslow* teilt die Pflanzen ein in solche, die die Guajakreaktion geben, und in solche, die die Guajakreaktion nicht geben, und kommt weiter zu der Schlußfolgerung, daß die Gewebe, die die Reaktion nicht geben, keinen aromatischen Körper mit o-Dihydroxygruppe enthalten, und daß diese Gewebe, die keine solche Substanz enthalten,

auch nicht imstande sind, Brenzcatechin zu oxydieren. Daß dieser Schluß zu streng gefaßt ist, dafür gibt auch das weitere Material dieser Arbeit verschiedene Beispiele (s. weiter unten).

Ein der Rübe analoges Verhalten zeigt die *Traube*. Bestreicht man die Schnittfläche mit Guajak, so bleibt die große Masse ungefärbt, nur um die Kerne hin erscheint ein schmaler grüner Saum mit positiver Guajakreaktion. Bestreicht man jedoch die Schnittfläche mit Brenzcatechin und dann mit Guajak, so zeigt sich bald eine sehr intensive positive Reaktion. Auch die Farbe kann also in ihrer ganzen Masse Brenzcatechin zum o-Diketochinon oxydieren, trotzdem sie, wie auch die direkte chemische Analyse zeigt, keinen aromatischen Körper mit o-Dihydroxygruppe enthält. Auch die nach *Onslow* gereinigten Oxydasen der Traube zeigen in Gegenwart von Brenzcatechin eine positive Guajakreaktion.

Die Karotten zeigen in ihrer äußersten Schale die Guajakreaktion äußerst intensiv. Macht man mit der Spitze eines Messers einige Striche an der Oberfläche der Wurzel und bringt dann Guajaktinktur auf, so zeigen die Striche gleich eine dunkel blaugrüne Farbe. An dem Querschnitt der Wurzel läßt sich dieser Saum intensiver Reaktion wegen seiner Schmalheit kaum nachweisen. Der Querschnitt zeigt in einem breiten peripheren Saume eine schwächere, jedoch recht deutliche Guajakreaktion. Die zentrale Partie ist negativ und zeigt nur unregelmäßig zerstreute Punkte mit positiver Reaktion.

Beim *Zeller* finden wir einen schmälere peripheren Saum positiver Reaktion. Hiernach folgt an der Schnittfläche nach innen zu ein schmaler Ring mit negativer, dann ein Ring mit schwacher positiver Reaktion, die stellenweise strangförmig radiär gegen das Zentrum einstrahlt. Diese Stellen positiver Reaktion lassen sich schon an der frischen Schnittfläche durch ihre bräunliche Verfärbung erkennen. Die mir zur Verfügung stehenden Exemplare schienen ziemlich alt zu sein.

Zur Gruppe der negativen Pflanzen gehören Gurken, Meerrettigwurzel, Melonen und Ananas [s. auch *B. Moore* und *E. Whitley*<sup>1)</sup>]. Bei Meerrettigwurzel darf die Einteilung nicht ganz scharf gefaßt werden. Bei einigen alten Exemplaren von Meerrettigwurzeln fand ich an der Schnittfläche einen doppelten peripheren Saum positiver Reaktion. Diese Stelle positiver Reaktion ließ sich bereits im voraus an der schwachen bräunlichen Verfärbung erkennen. Bei der Melone fand ich stellenweise an bereits normal dunkelbraun gefärbten Stellen der äußersten Schale eine positive Reaktion.

Behandelt man die Schnittfläche dieser Pflanzen mit Brenzcatechin und bringt dann Guajak auf, so bleibt die Reaktion negativ. Die nach *Onslow* aus diesen Pflanzen präparierten Oxydasen waren ebensowenig imstande, Guajak zu bläuen, auch nicht nach Zufügung von Brenzcatechin. Diese Pflanzen enthalten also keine Oxydase, die Brenzcatechin zum o-Diketochinon zu oxydieren vermag.

Die Frage war nun, ob diese Pflanzen nun überhaupt kein dem obigen analoges Oxydationssystem enthalten, oder ob das System unter den gegebenen Umständen nur nicht nachgewiesen werden kann. Diese Frage war für uns von besonderem Interesse, da die Gewebe phylogenetisch höher stehender Tiere nach ihren Reaktionen sich gleich dieser dritten Gruppe verhalten.

<sup>1)</sup> Biochem. Journ. 4, 136, 1909.

Daß Glieder dieser dritten Gruppe trotz der obigen negativen Reaktion ein analoges System bzw. eine recht aktive Phenoloxydase besitzen, läßt sich am Beispiel der Gurke einfach nachweisen.

Wird die Schnittfläche der Frucht mit Pyrogallol bestrichen, so zeigt sie bald eine dunkelbraune Verfärbung, die auf eine intensive Oxydation dieses Phenols hinweist.

Eingehender wurden auf ihre Wirksamkeit bei allen vier Pflanzen die anlehnend an die *Onslo*sche Methode präparierten Oxydasen untersucht.

Bei der Augurke wurde folgendermaßen vorgegangen: Die Frucht wurde dünn geschält. Der zentrale, weichere, wasserreichere Teil wurde entfernt, der Rest in dünne Schnitte geschnitten und dann sofort in das dreifache Volumen 96proz. Äthylalkohol gesetzt. Nach mehrmaligem gründlichen Durchrühren und Durchkneten wurde etwa eine Stunde später über Watte filtriert, dann in der *Buchner*schen Presse bei 300 Atmosphären Druck ausgepreßt. Der Rest wurde nochmals aus einem geringeren Volumen Alkohol versetzt, nochmals ausgepreßt, dann in vacuo getrocknet und zerkleinert.

Bei der Melone wurde in derselben Weise gearbeitet, nur wurden die zweimal mit Alkohol extrahierten und ausgepreßten Gewebe noch mit Äther gründlich extrahiert. Bei Ananas wurde außer der Schale die zentrale, faserige Achse entfernt.

Bei der Meerrettigwurzel wurde das mit Alkohol extrahierte Gewebe mit einer geringeren Menge Wasser versetzt, dessen Volumen ungefähr ein Viertel des Volumens der verwendeten Gewebe entsprach. Mit dem Wasser wurde das Gewebe bei 37° 1 Stunde lang digeriert. Dann wurde an der *Buchner*-Presse bei 200 Atmosphären Druck ausgepreßt, der Preßsaft zentrifugiert, dann mit dem dreifachen Volumen Alkohol präzipitiert. Das Präzipitat wurde am *Büchner*-Filter abgeschieden und samt dem Filtrierpapier in vacuo getrocknet. Stückchen des Papiers mit der anhaftenden Oxydase wurden dann zum Oxydaseversuch verwendet.

Der Oxydaseversuch wurde folgendermaßen ausgeführt: 0,5 ccm des entsprechenden Phenols wurden in einem kleinen, etwa 6 ccm fassenden Mikrobecher mit 1 ccm eines 0,2 mol. Phosphatpuffers versetzt. Die Amine wurden vorher selbst auch noch auf das gewünschte  $p_H$  gebracht. Das  $p_H$  entsprach stets dem  $p_H$  des frischen Preßsaftes der entsprechenden Pflanze. Außerdem wurde mit der Oxydase der Augurke und der Meerrettigwurzel noch ein Versuch bei  $p_H$  7 bzw. 6,8 angestellt. Von Adrenalin Dopa und Tyrosin wurden schwächere Lösungen verwendet. Die Oxydation des Phenols wurde nach einstündigem Stehen bei Zimmertemperatur aus der dunklen Verfärbung abgelesen. Bei allen Versuchen wurden natürlich auch Kontrollversuche ohne Oxydase angestellt, um die spontane Oxydation des Phenols auszuschließen.

Die Resultate sind in der umstehenden Tabelle verzeichnet. Die Intensität der Oxydation steigt in folgender Weise: 0, Spur,  $\pm$ , (+), +, ++.

Alle verwendeten Phenole werden durch Kartoffeloxydase in intensiver Weise oxydiert. Bei den hier verwendeten Pflanzen bleibt, wie aus der Tabelle ersichtlich, der größte Teil der Phenole unoxydiert. Wenn wir von den Amidophenolen, deren Oxydation nach der letzt erschienenen Arbeit von *Handovsky*<sup>1)</sup> in besonderer Weise beurteilt werden muß, absehen, so sehen wir, daß alle vier Oxydasen am stärksten das Pyrogallol angreifen,

<sup>1)</sup> Biochem. Journ. 20, 1114, 1926.

	p-Phenylendiamin	m-Phenylendiamin	o-Phenylendiamin	p-Amidophenol	Phenol	o-Kresol	m-Kresol	p-Kresol	Hydrochinon	Resorcin	Brenzcatechin	Pyrogallol	Phloroglucin	Adrenalin	Dopa (3, 4-Dioxy-phenylalanin)	Tyrosin
Augurke, $p_H = 6$ . . . . .	± ± 0	± ± 0	± ± 0	± ± 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	+	0 0	0 0	0 0	0 0
$p_H = 7$ . . . . .	± ± 0	± ± 0	± ± 0	± ± 0	0 0	0 0	0 0	± 0	0 0	(+)	+	± 0	0 0	± 0	± 0	± 0
Meerrettigwurzel $p_H = 5,5$	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	+	0 Spur	0 0	0 0	0 0
$p_H = 6,8$ . . . . .	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	± 0	++	0 ±	Spur	± 0	± 0	± 0
Melone $p_H = 6,8$ . . . . .	? ?	0 0	++	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	± 0	+	± 0	0 0	0 0	0 0	0 0
Ananas (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) . . . . .	0 0	0 0	++	0 0	0 0	0 0	± 0	0 0	(+)	+	± 0	± 0	0 0	± 0	± 0	± 0

für dessen Oxydation unter den verwendeten Phenolen das geringste Oxydationspotential nötig ist. Daß die Vorliebe für Pyrogallol nicht in einer spezifischen Struktur des Moleküls, sondern eher im nötigen Oxydationspotential gesucht werden muß, zeigt der Umstand, daß bei niedrigerem  $p_H$  auch andere Phenole angegriffen werden. Die Leistungsfähigkeit der Oxydasen gegenüber Pyrogallol ist eine recht intensive und mit der Intensität der Leistungsfähigkeit der Oxydasen anderer Pflanzen recht vergleichbar.

Der negative Ausfall der Guajakreaktion bei diesen Pflanzen, auch nach Zufügung von Brenzcatechin, ließ vermuten, daß die Oxydasen das Brenzcatechin nicht oxydieren. Wie aus der Tabelle jedoch ersichtlich, wird diese Substanz doch oxydativ angegriffen. Die zugesetzte Guajak-tinktur bleibt aber auch in diesen Versuchen trotz der Oxydation des Phenols ungefärbt, also auch unoxydiert. Da das o-Diketochinon Guajak glatt oxydiert, muß angenommen werden, daß das Oxydationsprodukt bei diesen Pflanzen nicht das o-Diketochinon, sondern ein anderes (vielleicht ein Monoketochinon) ist. Auch die Farbe des bei diesen Versuchen entstehenden Chinons weicht deutlich von der Farbe des o-Diketochinons ab. Scheinbar kann das zur Bildung des o-Diketochinons nötige hohe Oxydationspotential durch diese Oxydasen nicht erreicht werden.

Alle die vier Pflanzen also, die Guajak auch nach Zufügung von Brenzcatechin ungebläut lassen, enthalten recht aktive Phenoloxidasen, so daß wir annehmen können, daß auch diese Pflanzen mit dem dreigliedrigen Systems Dehydrase, aromatischer Wasserstofftransporteur, Phenoloxydase arbeiten. Um diese Konklusion noch weiter zu stützen, versuchte ich, bei der Meerrettigwurzel die Anwesenheit des aromatischen Wasserstofftransporteurs, der durch die Phenoloxydase oxydiert wird, direkt nachzuweisen. Zu diesem Zwecke wurde der primäre alkoholische Extrakt, der bei der Herstellung der Oxydasen erhalten wurde, mit 5 Proz. einer 25proz. Bleiacetatlösung versetzt. Nach einiger Zeit wurde an der Büchner-Kerze filtriert und zentrifugiert, das Filtrat durch Schwefelsäure von Blei befreit und dann der Alkohol im Vakuum abgesogen. Die auf das nötige  $p_H$  gebrachte Flüssigkeit zeigt, mit Oxydase versetzt, nach einigem Stehen eine braungelbe Verfärbung.

2. Die Braunfärbung. Bekanntlich zeigen viele Pflanzen bzw. Früchte, wenn irgendwie beschädigt, eine dunkelbraune Verfärbung. Diese ist von der Farbe absterbender Äpfel und Birnen oder Bananen allgemein zur

Genüge bekannt. Diese letzteren Pflanzen geben bereits nach kürzerem Stehen an ihrer Schnittfläche die Verfärbung. Weitere Pflanzen, wie z. B. Kartoffeln oder Karotten, müssen in irgend einer Weise, z. B. mit Chloroformdämpfen beschädigt werden, um die Farbe zu geben. Andere Pflanzen wieder, wie Tomaten und Augurken, geben die Verfärbung unter keinen Umständen.

Wie eingangs erwähnt, konnte bei der früher ausgeführten Analyse bei Kartoffeln (zitiert S. 425) gezeigt werden, daß diese Farbe zum größten Teil bedingt wird durch die Oxydation einer besonderen Substanz, *Tyrin* genannt. Es wurde auch gezeigt, daß diese Substanz weder durch den Luftsauerstoff, noch durch die Oxydase zu Pigment oxydiert wird. Sie wird, ebenso wie das Guajakharz, durch das o-Diketochinon oxydiert, das unter Einwirkung von Oxydase aus aromatischen Substanzen mit o-Dihydroxygruppe gebildet wird. Durch minder aktive Chinone wird das Tyrin unter Bedingungen, die in den Pflanzen vorkommen, nicht oxydiert<sup>1)</sup>.

Nachdem das *Tyrin* in allen Pflanzen anwesend zu sein scheint, kann erwartet werden, daß alle Pflanzen oder Pflanzenteile, die eine aromatische Substanz mit o-Dihydroxygruppe und neben dieser eine Oxydase enthalten, die die Dihydroxyverbindung zu o-Diketochinon zu oxydieren vermögen, unter entsprechenden Bedingungen auch die typische dunkelbraune Verfärbung zeigen. Trifft eine dieser Bedingungen nicht zu, ist keine Substanz mit o-Dihydroxygruppe oder keine genügend aktive Oxydase anwesend, so können wir auch keine typische Braunfärbung erwarten.

Da wir das Zusammentreffen einer o-Dihydroxygruppe mit genügend aktiver Oxydase auch mit Guajak nachweisen können, konnte erwartet werden, daß die Stellen der Braunfärbung in den verschiedenen Pflanzen mit den Stellen positiver Guajakreaktion zusammenfallen werden, da die Bedingungen der Oxydation des Guajaks und des Tyrins identisch sind und beide Oxydationen Ausdruck desselben Prozesses sind<sup>2)</sup>.

Die Versuche zeigten, daß dies auch durchweg der Fall ist. Alle Pflanzen oder Pflanzenteile, die eine positive Guajakreaktion zeigten, zeigten unter entsprechenden Bedingungen auch die typische Braunfärbung, hingegen gaben die Pflanzen oder Pflanzenteile, die keine Guajakreaktion gaben, die typische Braunfärbung auch unter keinen Umständen.

Einige Pflanzen, wie z. B. die Karotten, zeigen die Braunfärbung erst nach längerem Behandeln mit Chloroformdämpfen, während die Guajakreaktion auch ohne Chloroform positiv ausfällt. Dies kann aber nicht wundernehmen, da das *Tyrin* schwerer oxydierbar ist als das Guajakharz, und sein Oxydationsprodukt ist auch viel minder farbenreich, also schwerer erkennbar.

<sup>1)</sup> Das p-Chinon oxydiert das Tyrin in erheblichem Maße erst bei hoher Konzentration, alkalischer Reaktion und erhöhter Temperatur.

<sup>2)</sup> Es sei daran erinnert, daß das aus Adrenalin und Dopa unter Einwirkung der Oxydase gebildete Chinon keinen Guajak zu bläuen vermag. Die Oxydationskraft dieser o-Chinone scheint durch die Seitenketten abgeschwächt zu sein. Es kann also erwartet werden, daß Pflanzen, die mit derartigen Wasserstofftransporteuren arbeiten, trotz der Gegenwart der o-Dihydroxygruppe und der aktiven Oxydase keine Guajakreaktion geben werden und wahrscheinlich auch keine typische Braunfärbung zeigen.

Mit Chloroformdämpfen behandelt, gibt auch die Rübe an ihrer ganzen Schnittfläche eine dunkle Verfärbung, obwohl die zentrale Masse der Pflanze keine Guajakreaktion gibt. Diese Farbe ist aber von der Farbe des oxydierten *Tyrins* durchaus verschieden, kann also nicht von der Oxydation dieser Substanz herrühren. Das Tyrin gibt eine dunkelbraune Farbe, während die Rübe eine in Lila spielende blauschwarze Farbe annimmt.

#### Zusammenfassung.

Es wurden 13 verschiedene Pflanzen bzw. ihre Früchte, Knollen oder Wurzeln mit Hilfe der Guajakreaktion untersucht. Die Gewebe dieser Pflanzen können sich in dreierlei Weise verhalten: 1. sie bläuen das auf die Schnittfläche aufgebrachte Guajak ohne besondere Zufügung, 2. sie bläuen Guajak erst nachdem Brenzcatechin auf die Schnittfläche aufgebracht ist, 3. sie lassen Guajak auch in Gegenwart von Brenzcatechin ungebläut.

Alle untersuchten Pflanzen besitzen das dreigliedrige Oxydationssystem: Dehydrase, aromatischer Wasserstofftransporteur, Phenoloxydase. Gewebe mit direkter Guajakreaktion haben einen Wasserstofftransporteur mit einer o-Dihydroxygruppe (*J. Wolff, M. W. Onslow M. E. Robinson*), der zum o-Diketochinon oxydiert wird (*v. Szent-Györgyi*). Gewebe, die das Guajak erst nach Zugabe von Brenzcatechin bläuen, haben eine Phenoloxydase, die Brenzcatechin ebenfalls zum o-Diketochinon zu oxydieren vermag, diese Pflanzen arbeiten aber mit einem anderen aromatischen Wasserstofftransporteur, dessen Oxydationsprodukt Guajak nicht zu oxydieren vermag. Pflanzen, die auch nach Zufügen von Brenzcatechin keine Guajakreaktion geben, besitzen Phenoloxydasen, die das Brenzcatechin nicht zum o-Diketochinon zu oxydieren vermögen.

Ein Teil der untersuchten Früchte bzw. Knollen oder Wurzeln zeigt an der ganzen Schnittfläche ein der Gruppe 1 entsprechendes Verhalten. Andere Pflanzen verhalten sich an der ganzen Schnittfläche der Gruppe 3 entsprechend. Andere Pflanzen wieder zeigen ein gemengtes Verhalten und zeigen in den verschiedenen Teilen in den verschiedenen Gruppen entsprechendes Verhalten.

Die Braunfärbung der der Luft ausgesetzten Pflanzenteile wird durch eine früher beschriebene Substanz (*Tyrim*) bedingt, die, ebenso wie das Guajak, nicht unmittelbar durch die Oxydase, sondern erst durch das unter Einwirkung der Oxydase entstehende o-Diketochinon oxydiert wird, hat also dieselbe Bedeutung, wie die Guajakreaktion.