

Zur Chemie der höheren Pilze.

II. Mitteilung: *Polyporus igniarius* Fr.

von

Dr. Julius Zellner.

(Mit 1 Textfigur.)

(Vorgelegt in der Sitzung am 15. Oktober 1908.)

In einer im Vorjahre veröffentlichten Abhandlung¹ habe ich über die chemische Zusammensetzung des *Trametes suaveolens* Mitteilung gemacht. Seither habe ich mich mit dem chemischen Studium eines anderen Baumschmarotzers, und zwar des sehr häufig vorkommenden sogenannten unechten Feuerschwammes (*Polyporus igniarius* Fr.) beschäftigt und möchte über die erhaltenen Resultate in den folgenden Zeilen berichten.

Der genannte Pilz wurde besonders deshalb in Untersuchung genommen, weil er auf denselben Arten von Weidenbäumen (*Salix alba, fragilis, purpurea*) vorkommt wie *Trametes* und es von Interesse schien, die Analogien und Divergenzen in der chemischen Zusammensetzung zweier Pilze festzustellen, welche einander systematisch nahestehen und auf demselben Substrate leben.

Der Pilz wurde so wie seinerzeit *Trametes* in der Umgebung von Bielitz im Februar und März gesammelt. Die Zerkleinerung bietet hier wegen der fast holzartig festen Beschaffenheit des Materials größere Schwierigkeiten wie sonst. Dasselbe muß im frischen Zustande mit einem starken, scharfen Messer in kleine Stückchen geschnitten werden.

¹ Monatshefte, 1907, p. 1285.

welche man auf dem Wasserbade trocknet und noch warm in einer Mühle völlig zerkleinert. Für die Versuche bezüglich der Wirkungen der Fermente, für welche geringe Substanzmengen genügen, wurden die frischen Pilze mittels eines Reibeisens in hinreichend fein verteilten Zustand gebracht.

Der Wassergehalt der lebenden Pilze ist trotz der festen Beschaffenheit derselben ziemlich hoch und beträgt 70 bis 75%. Dragendorff¹ fand 58·4 bis 70%. Doch kann der Feuchtigkeitsgehalt bei anhaltender Trockenheit bis auf 32% herabgehen.

1. Mineralbestandteile. Der Aschengehalt des völlig getrockneten Materials wurde einmal zu 8·67%, das andere mal zu 7·85% gefunden, also weit höher wie bei *Trametes*. Doch muß bemerkt werden, daß Dragendorff² bei (wahrscheinlich) russischen Pilzen derselben Art bloß Aschenmengen von 4·16% und 4·27% konstatiert hat. Die zur Gewinnung der Asche bestimmten Pilze müssen übrigens vor der Verarbeitung sorgfältig an der Oberseite abgebürstet werden, da diese besonders bei größeren Individuen reichliche Mengen mineralischen Staubes aufweist. Die Analyse der Asche ergab folgende Resultate, wobei erwähnt sei, daß die Mehrzahl der Bestimmungen doppelt ausgeführt wurde:

| | |
|--|--------|
| K ₂ O | 23·82% |
| Na ₂ O | 0·87 |
| MgO | 6·67 |
| CaO | 23·93 |
| Fe ₂ O + Al ₂ O ₃ | 2·85 |
| Cl | Spur |
| SO ₃ | 19·91 |
| S (als Sulfid) | 0·42 |
| P ₂ O ₅ | 1·78 |
| SiO ₂ und in Salzsäure Unlösliches | 2·29 |
| CO ₂ | 16·27 |
| Freier C | 0·46 |

¹ Chemische Untersuchung über einen an der *Betula alba* vorkommenden Pilz. Dissertation, Petersburg 1864, p. 30.

² L. c., p. 30.

Die Ähnlichkeit dieser Zahlen mit denjenigen der Aschenanalyse von *Trametes* ist auffällig: hier wie dort der hohe Gehalt an Kalk und Schwefelsäure, der niedrige Prozentsatz an Phosphorsäure und Chlor. Die Menge des letzteren betrug bei *Trametes* noch einige Zehntelprozente, hier liegt sie unter der Grenze der quantitativen Bestimmbarkeit. Der Kaligehalt ist ein für Pilzaschen normaler; er ist fast der gleiche wie bei *Trametes*. Dasselbe zeigt sich beim Magnesiumgehalt. Eisen ist nur in minimaler Menge vorhanden, hingegen findet sich verhältnismäßig reichlich Tonerde vor.

Um beiläufige Anhaltspunkte zu gewinnen, in welcher Form diese Mineralsubstanzen im ursprünglichen Pilz vorhanden sind, wurden 9·17 g getrocknetes Pilzpulver (mit 8·20% Aschengehalt) mit kochendem Wasser erschöpft, die vereinigten Dekokte konzentriert und in einem Teile der Lösung die Schwefelsäure, im anderen Tonerde und Kalk bestimmt. Die Fällung der Schwefelsäure wurde direkt in der Lösung vorgenommen, damit nicht etwa durch Veraschung der organischen Stoffe gebildete Schwefelsäure das Ergebnis beeinträchtigt, hingegen wurden die Basen in der Asche des Lösungsrückstandes bestimmt, da sich zeigte, daß die Anwesenheit der verschiedenen organischen Stoffe die Fällungen sehr behindert. Aus obiger Menge des Pilzpulvers wurden in Lösung erhalten:

| | |
|-----------------------------------|----------|
| Al_2O_3 | 0·0180 g |
| CaO | 0·0295 |
| SO_3 | 0·0837 |

Eisen läßt sich im wässerigen Auszuge nicht mit Sicherheit nachweisen; auffallend ist, daß fast die ganze Tonerde in wasserlöslicher Form im Pilz vorhanden ist, in welcher Verbindung konnte ich allerdings nicht konstatieren. Calciumsulfat findet sich reichlich, läßt sich aus dem wässerigen Auszuge beim Eindampfen krystallisiert abscheiden (siehe unten) und ist wohl sicher (wie bei *Trametes*) präformiert im Pilz enthalten. Die nicht an Calcium gebundene Schwefelsäure des Wasserextraktes liegt in Verbindung mit Kalium vor, welches

sich reichlich vorfindet und teilweise auch an organische Säuren gebunden ist.

Der Vergleich der Aschenanalysen von *Trametes* und *Polyporus* mit denen des Weidenholzes¹ ergibt beiläufige Übereinstimmung in den Werten für Kalk, Magnesia, Eisen, Tonerde und Kalium; hingegen ist der Gehalt der Weidenholzasche an Chlor merklich, an Phosphorsäure bedeutend höher, an Schwefelsäure hingegen viel geringer wie bei den Pilzaschen.

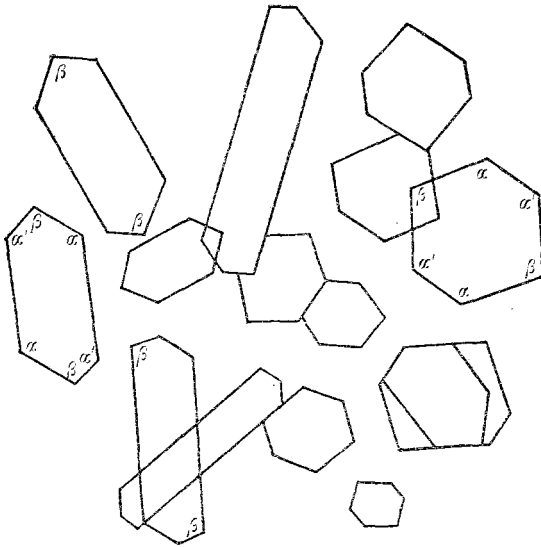
Die Menge der in den indifferenten Lösungsmitteln löslichen organischen Stoffe ist gering (so wie bei *Trametes*), Wasser und verdünnte Basen, welche größere Substanzmengen in Lösung bringen, wirken auf das Material chemisch ein. Lufttrockenes Pilzpulver (mit 8·30% Wassergehalt) gibt ab

| | |
|-----------------------------|-----------|
| an Petroläther | 1·08% |
| » Äther..... | 0·92 |
| » 96prozentigen Alkohol.... | 1·40 |
| » Wasser..... | 7·76 |
| » 2prozentige Lauge | zirka 50% |

2. Petrolätherauszug. Derselbe ist gelb bis braun gefärbt und erstarrt beim Erkalten unter Abscheidung von Krystallen. Dieselben werden abgesaugt, mit kaltem Petroläther gewaschen und auf Tonplatten getrocknet. Aus siedendem Petroläther umkrystallisiert, zeigen sie eine Schmelzlinie von 135 bis 145°, welche nach zweimaligem Umkrystallisieren unter Zusatz von Tierkohle auf 144 bis 149° rückt. Die Substanz ist schwer löslich in kaltem, leichter in heißem Petroläther, reichlich in Äther und Chloroform. Aus diesen Solventien krystallisiert sie in feinen Nadeln, während sie sich aus Alkohol in sechsseitigen Blättchen abscheidet. Das Aussehen der Krystalle gleicht völlig dem der aus *Trametes* und aus dem Fliegenpilz gewonnenen ergosterinartigen Körper. Die vier stumpferen Winkel betragen im Mittel 126, die zwei

¹ Emil Wolff, Analysen von Pflanzenaschen, 1871, I. Bd., p. 123. Leider sind keine Aschenanalysen vom Stammholz und alter Rinde, welche für den Vergleich in erster Linie in Betracht kommen, angegeben.

spitzeren etwa 105° . Doch sind ziemlich große Abweichungen von diesen Werten bei verschiedenen Krystallen, ja sogar am selben Individuum zu bemerken. Es macht den Eindruck, als ob hier isomorphe Mischkrystalle vorliegen, denn die Krystallisation sieht ganz einheitlich aus. Nur die aus den Mutterlaugen gewonnenen Anteile zeigen Neigung, mehr langgestreckte Krystalle zu bilden (Schmelzlinie 143 bis 150°).



Mischkrystalle von Ergosterinen (Schmelzlinie 143 bis 150°), $\alpha = \alpha' (?) = 124$ bis 128° , $\beta = 105$ bis 107° , Krystallsystem rhombisch oder monoklin (vgl. Monatshefte, 1905, p. 266).

Sicher liegt hier wie meist bei den Pilzen ein Gemisch von Ergosterinen vor, für deren Trennung das Material leider nicht ausreichte. Die Farbenreaktionen von Hesse-Salkowski und Liebermann-Burchard treten in typischer Weise ein.

Das Rohfett zeigt eine hohe Säurezahl ($87 \cdot 80$). Es wurde verseift, die Seife zur Beseitigung von noch vorhandenen Ergosterinen mit Äther ausgeschüttelt und sodann mit Säure zerlegt. Die Fettsäuren sind dunkel gefärbt, ölig und enthalten nur sehr geringe Mengen fester Fettsäuren. Eine nähere Untersuchung wurde wegen Mangel an Material nicht durchgeführt.

3. Ätherextrakt. Der intensiv rotgelb gefärbte Rückstand der Ätherauskochenungen wird mit Wasser behandelt, wobei der größere Teil (*A*) ungelöst bleibt, während eine geringere Menge Substanz (*B*) in Lösung geht. Der Teil *A* wird durch Auskochen mit Petroläther von noch vorhandenen Ergosterinen befreit und besteht hauptsächlich aus einem tief gelbroten, halbfesten Harz, welches in Methyl- und Äthylalkohol löslich ist. Die alkoholische Lösung reagiert schwach sauer, gibt auf Wasserzusatz eine gelbe, milchige Trübung und färbt sich auf Zusatz von Laugen oder Ammoniak tiefrotbraun. Mit Bleiacetat entsteht ein ziegelroter, mit Kupferacetat ein brauner, mit Ätzbaryt ein rotbrauner, mit Quecksilberoxydnitrat ein bräunlicher und mit Aluminiumacetat und Ammoniak ein roter Niederschlag. Eisenchlorid färbt tief dunkelgrün.

Der wasserlösliche Anteil *B* reagiert sauer. Er wurde mit Kupferacetat gefällt, die Fällung gewaschen und mit Schwefelwasserstoff zerlegt, das Filtrat konzentriert, mit Tierkohle gereinigt und eingedampft. Der Rückstand war amorph, die erwartete Fumarsäure konnte nicht isoliert werden. Dieser Umstand ist auffallend, da ich mit nicht unbeträchtlichen Mengen Pilzmaterial arbeitete und das Vorhandensein der Fumarsäure im *Polyporus igniarius* von früheren Chemikern (Braconnot,¹ Dessaignes,² Dragendorff³) mit Bestimmtheit angegeben wurde. Der letztgenannte Autor sagt allerdings, daß er nur Spuren von Fumarsäure erhalten konnte.

Das Vorhandensein der Fumarsäure ist wohl möglich, ja sogar wahrscheinlich, aber ihre Menge ist jedenfalls (wie bei *Trametes*) sehr gering. Vielleicht verhindern auch amorphe Begleitkörper die Krystallisation. Auch aus dem Filtrat von der Kupferacetatfällung konnte nach der Entkupferung und Konzentration nur ein amorpher, sauer reagierender Rückstand in kleiner Menge gewonnen werden, der keine charakterisierbaren Produkte ergab.

¹ Ann. de chimie, 79, p. 265, und 87, p. 249.

² Comptes rendus, 37, p. 782.

³ L. c., p. 30.

4. Der Alkoholextrakt bildet eine dickliche gelbbraune Masse. Durch Behandlung mit warmem Wasser wird dieselbe in einen unlöslichen (*A*) und einen löslichen Anteil (*B*) getrennt. Der erstere bildet ein gelbbraunes Pulver, welches zur Reinigung gründlich mit Wasser gewaschen und hierauf mehrmals mit Äther extrahiert wird, wobei etwas Harz und krystallinische Verunreinigungen in Lösung gehen. Sodann wird der Körper in Alkohol gelöst und durch Wasserzusatz gefällt. In der Wärme ist diese Fällung harzig und bildet beim Erkalten glänzende, schwarzbraune, amorphe Krusten, kalt gefällt, ist der Stoff ein lehmfarbiges Pulver. Außer in Alkohol löst sich die Substanz in Ammoniak und Laugen mit rotbrauner Farbe und wird aus diesen Lösungen durch Säuren in Flocken gefällt. Die alkoholische Lösung wird durch Bleizucker und ammoniakalische Chlorcalcium- und Chlorbariumlösung in rotbraunen Flocken gefällt; Eisenchlorid färbt grünbraun, Kaliumbichromat gibt eine bräunliche Trübung. Der Körper ist auch in Eisessig löslich. Beim Erhitzen schmilzt die Substanz und zersetzt sich dann plötzlich unter starkem Aufblähen. Es liegt hier offenbar ein Phlobaphen vor.

Die wässrige Lösung *B* scheidet nach längerem Stehen Krystalle ab; die zähflüssige Mutterlauge wird abgesaugt, die Krystalle auf Tonplatten vom Rest des Sirups befreit und schließlich aus siedendem Methylalkohol umkrystallisiert. Der Körper bildet Nadeln, welche in Wasser leicht, in kaltem Alkohol schwer, in Äther gar nicht löslich sind. Der Schmelzpunkt liegt bei 166°. Der Körper ist nach allen Eigenschaften Mannit. Mykose konnte nicht aufgefunden werden. Dieser Umstand ist bemerkenswert, da *Trametes* nur Mykose und keinen Mannit enthält.¹ In der Mutterlauge von der Mannitkrystallisation findet sich reichlich Glukose, deren Anwesenheit durch die Reduktion der Fehling'schen Lösung und Bildung des Osazons nachgewiesen wurde.

Hier sei auch erwähnt, daß ein eisenbläuender Gerbstoff von Naumann² im *Polyporus igniarius* aufgefunden wurde,

¹ Siehe Zellner, Monatshefte, 1907, p. 1289; derselbe, Chemie der höheren Pilze, 1907, p. 99 ff.

² Über den Gerbstoff der Pilze. Dissertation, Dresden, 1895.

was ich bestätigen kann. Hingegen gelang es mir nicht, die Äpfelsäure zu isolieren, welche nach den Angaben von Bouillon-Lagrange, Braconnot und Dessaignes¹ im selben Pilz vorkommen soll.

5. In Wasser lösliche Stoffe. Die Menge dieser Stoffe ist nicht gering, doch weist die auffallende Dunkelfärbung des Pilzpulvers während der Wasserbehandlung darauf hin, daß bereits eine chemische Einwirkung erfolgt. Die rotbraunen, grünlich fluoreszierenden Auszüge liefern beim Eindampfen eine braune sulzartige Masse, aus der sich nach längerer Zeit Krystalle abscheiden. Durch Auflösen in salzsäurehaltigem Wasser und Fällung mit Alkohol lassen sie sich leicht reinigen und als Gips erkennen (siehe oben). Der übrige Extrakt zeigt ganz ähnliche Eigenschaften wie jene Körpergemische, welche auf gleiche Weise aus dem Fliegenpilz und *Trametes* erhalten worden waren; er besteht vorwiegend aus gummiartigen Kohlehydraten, deren Untersuchung mit Rücksicht auf frühere Erfahrungen nicht in Angriff genommen wurde, da eine Reindarstellung dieser Stoffe vorläufig kaum möglich sein dürfte.

Eiweißkörper sind im wasserlöslichen Zustande nur in minimaler Menge vorhanden und fallen beim Kochen der Lösung nach Säurezusatz in spärlichen Flocken aus.

Interessantere Resultate ergaben die Versuche, welche auf den Nachweis von Fermenten gerichtet waren.

Ein fettspaltendes Ferment ist zweifellos vorhanden. Wenn auch wahrscheinlich in Wasser unlöslich, sei es doch hier im Anschluß an die anderen Enzyme erwähnt. Die Versuchsanordnung war dieselbe wie bei früheren ähnlichen Experimenten.² Es wurden auf je 30 g Fett 15 g des lufttrockenen Pilzpulvers (mit etwa 10% Wassergehalt) ohne weiteren Wasserzusatz einwirken gelassen. Die Resultate enthält die folgende kleine Tabelle:

¹ Siehe Zellner, Die Chemie der höheren Pilze, 1907, p. 49.

² Monatshefte, 1906, p. 120.

| | Rüböl | | Olivenöl | |
|---------------|--|-------------------------|--|-------------------------|
| | Säurezahl zu Beginn des Versuches: 6·38, Verseifungszahl 175·1 | | Säurezahl zu Beginn des Versuches: 2·07, Verseifungszahl 193·0 | |
| | Säurezahl | Prozente Fett gespalten | Säurezahl | Prozente Fett gespalten |
| Nach 3 Wochen | 26·90 | 15·36 | 28·00 | 14·50 |
| Nach 6 Wochen | 39·51 | 22·56 | 43·96 | 22·77 |

Die fettspaltende Wirkung des Pilzpulvers ist nicht sehr kräftig und zeigt ähnliche Werte wie bei *Trametes*.

Zur Prüfung auf invertierende und diastatische Fermente wurden zunächst die in der folgenden Tabelle angeführten Versuche angestellt. Sämtliche Proben befanden sich in wohlverschlossenen Kölbchen, die Temperatur lag zwischen 16 und 18°, die Versuchsdauer betrug 3 Tage. Das Pilzpulver war bei gewöhnlicher Temperatur an der Luft getrocknet worden und zeigte einen Feuchtigkeitsgehalt von 13·4⁰/₁₀₀. Wegen der voluminösen Beschaffenheit desselben wurden für jeden Versuch bloß 5 g verwendet.

| | Zusammensetzung der Probe | Kupfermenge, welche durch 25 cm ³ der Flüssigkeit aus 60 cm ³ Fehling'scher Lösung abgeschieden wurde |
|---|---|---|
| 1 | 5 g lufttrockenes Pilzpulver, 100 cm ³ Wasser, 0·3 cm ³ 1/2 n. Kalilauge, 5 cm ³ Petroläther | 0·0387 |
| 2 | Wie 1, aber noch außerdem 1 g Saccharose | 0·0582 |
| 3 | 1 g Saccharose, 100 cm ³ Wasser, 5 cm ³ Petroläther | 0 |
| 4 | Wie 1, aber noch 1 g Lintner'sche Stärke | 0·3441 |
| 5 | 1 g Lintner'sche Stärke, 100 g Wasser, 5 cm ³ Petroläther | Spur |
| 6 | 5 g Pilzpulver, 100 cm ³ 1/4 n. Salzsäure, 5 g Petroläther | 0·0167 |

Der Petroläther diene als schwaches Desinfiziens, der kleine Laugenzusatz hatte den Zweck, die geringe, im Pilz vorhandene Säuremenge zu neutralisieren, um einer hydrolytischen Wirkung der letzteren vorzubeugen.

Aus diesen Zahlen geht folgendes hervor: eine merkliche Spaltung von Rohrzucker findet nicht statt, wie aus dem Vergleiche von Probe 1 und 2 hervorgeht, da nur etwa 4% der Saccharose invertiert worden sind, so daß die Anwesenheit eines invertierenden Fermentes kaum anzunehmen ist. Hingegen findet sich im Pilz ein kräftig wirkendes diastatisches Ferment, wie der Vergleich der Proben 4, 1 und 5 zeigt. Nach 3 Tagen ist ein großer Teil der angewandten Lintner'schen Stärke verzuckert worden; der Rest der letzteren ist aber durchaus nicht in unverändertem Zustande vorhanden, denn die Flüssigkeit gibt keine Jodreaktion mehr; die Stärke ist vielmehr vollkommen in Abbauprodukte verwandelt worden.

Nun wurden frische Pilze zerkleinert und mit dem zehnfachen Gewicht Wasser einen Tag lang bei Zimmertemperatur digeriert. 50 cm^3 der so erhaltenen weingelben Flüssigkeit wurden zu einer Lösung von 2 g Lintner'scher Stärke in 150 cm^3 Wasser zugefügt. Nach 6 Stunden war die Jodreaktion nicht mehr blau, sondern rot, nach 20 Stunden war überhaupt keine Jodreaktion zu erhalten. Auf native Kartoffelstärke (Kleisterlösung) war die Wirkung bei gleichen Versuchsbedingungen noch stärker. Nach 2 bis 3 Stunden trat an Stelle der Blaufärbung mit Jod eine weinrote, nach 8 Stunden eine rötlichgelbe Reaktion; gleichzeitig wurde die dickliche Lösung dünnflüssig und leicht filtrierbar; nach 20 Stunden verschwand die Jodreaktion völlig. In der Wärme (40°) geht der Prozeß viel rascher vor sich; die Blaufärbung mit Jodlösung tritt schon nach 30 Minuten nicht mehr ein. Aus diesen Versuchen geht hervor, daß ein kräftig wirkendes Ferment vorhanden ist, welches leicht in Wasser löslich ist.

Im sechsten der oben erwähnten Versuche war statt Wasser sehr verdünnte Salzsäure verwendet worden, um zu sehen, ob nicht durch dieses Reagens abbaufähige Kohlehydrate vorhanden sind. Auffallenderweise zeigte sich, daß in diesem Falle weniger reduzierende Körper in Lösung gehen

als bei der Anwendung reinen Wassers (Probe 1). Die verdünnte (nicht ganz 1prozentige) Salzsäure lähmt offenbar die Wirkung des Fermentes, welches sonst während der Versuchszeit eine gewisse kleine Menge (Differenz von Probe 1 und 6) im Pilz enthaltener Kohlehydrate zu reduzierend wirkenden Körpern abbaut. Um die Richtigkeit dieser Ansicht zu prüfen, wurden noch die folgenden beiden Proben mit demselben Material und unter gleichen Versuchsbedingungen wie oben durchgeführt.

| | Zusammensetzung der Probe | Kupfermenge, welche durch 25 cm^3 Flüssigkeit aus 60 cm^3 Fehling'scher Lösung reduziert wird |
|---|---|---|
| 7 | 1 g Stärke (verkleistert), 100 cm^3 $\frac{1}{4}$ n. Salzsäure | nicht wägbare |
| 8 | 1 g Stärke (verkleistert), 100 cm^3 $\frac{1}{4}$ n. Salzsäure, 5 g Pilzpulver | 0.0223 |

Es zeigt sich, daß der Unterschied zwischen Probe 6 und 8 sehr gering ist und daß, wenn überhaupt, nur eine sehr unbedeutende Hydrolysierung der Stärke stattgefunden hat. Das Ferment ist also durch die Säure gelähmt worden. Gleichzeitig ist aber auch sichergestellt, daß das Ferment auf die im Pilze selbst enthaltenen Kohlehydrate spaltend einwirkt und daß es also, da in Pilzen keine Stärke vorkommt, auch andere Polysaccharide abzubauen vermag.

Was die Produkte der diastatischen Spaltung anbetrifft, so scheint es, daß dieselben größtenteils dextrinartiger Natur sind. Dafür spricht der Umstand, daß die für die Dextrine charakteristische Jodreaktion so lange bestehen bleibt (weit länger wie bei Malzdiastase), ferner auch der wenig süße Geschmack der erhaltenen Maische. Doch ist das Reduktionsvermögen derselben ein sehr bedeutendes, wie der folgende Versuch beweist: 5 g Kartoffelstärke wurden in etwa 300 cm^3 heißem Wasser unter Vermeidung von Klumpenbildung verkleistert,

die Flüssigkeit auf 40° abgekühlt und darauf 100 cm^3 eines wässerigen, kalt bereiteten Pilzauszuges zugesetzt, welcher 0·915 g feste Substanz enthielt und von welchem 25 cm^3 aus 60 cm^3 Fehling'scher Lösung 0·0264 g Cu reduzierten. Die Flüssigkeit wurde dann im Wasserbade bei 40° durch etwa 20 Stunden digeriert, abkühlen gelassen und auf 500 cm^3 aufgefüllt. 25 cm^3 derselben reduzierten dann 0·3513 g Cu. In einer anderen Portion von 25 cm^3 wurde der Trockenrückstand bestimmt und zu 0·305 g gefunden. Daraus berechnet sich, daß 1 g Stärke 1·037 g Abbauprodukte liefert und 0·259 g der letzteren (= 0·25 g Stärke) 0·3460 g Cu reduzieren. Wäre die reduzierend wirkende Substanz bloß Glukose, was allerdings sehr unwahrscheinlich ist, so wären in den Produkten der umgewandelten Stärke etwa 70% derselben enthalten. Ob Maltose und sonstige reduzierende Körper vorhanden sind, habe ich bisher nicht festgestellt. Vorläufige Versuche, die diastatische Kraft des Pilzpulvers nach der Kjeldahl-Lintnerschen Methode zu bestimmen, haben ergeben, daß das Fermentativvermögen des Pilzes weit kleiner ist als das von Malz. Trotzdem erscheint mir mit Rücksicht auf den Umstand, daß der *Polyporus igniarius* sehr verbreitet ist und sich daher leicht in größerer Menge beschaffen läßt, eine praktische Verwendung desselben im besprochenen Sinne nicht als ausgeschlossen.

Kohnstamm,¹ welcher die amylolytischen Fermente in den holzbewohnenden Pilzen entdeckte, hat mit dem Mycel von *Armillaria mellea*, dem Mycel und den Fruchtkörpern des Hausschwammes und mit den Fruchtkörpern des *Polyporus squamosus* gearbeitet und in allen Fällen die Anwesenheit von Amylasen konstatiert. Es erscheint mir nun ohne weiteres verständlich, daß diastatische Fermente im Mycel der baumschmarotzenden Pilze sich vorfinden, da sie dort die Stärke abbauen können, welche in manchen Hölzern als Reservestanz sich vorfindet, und dem Stoffkreislauf des Pilzes dienstbar machen. Hingegen ist es schwer verständlich, was für eine Bedeutung die Amylasen im Fruchtkörper besitzen,

¹ Beihefte zum botan. Zentralbl., X, p. 90 (1901).

da hier keine Stärke vorhanden und die Einwirkung auf das Nährsubstrat ausgeschlossen ist. Die Annahme, daß jene Stoffe bloß infolge der Säftezirkulation innerhalb des Organismus ohne besonderen Zweck in die Fruchtkörper gelangen, hat wenig für sich; wahrscheinlicher ist es mir, daß diese Körper auch für den internen Stoffumsatz des Pilzes von Wichtigkeit sind, weil, wie ich oben gezeigt habe, auch die im Pilzkörper vorhandenen, von der Stärke verschiedenen Kohlehydrate — wenn auch in weniger energischer Weise — diastatisch abgebaut werden.

Die Anwesenheit eines glykosidspaltenden Fermentes im *Polyporus igniarius* war von vornherein sehr wahrscheinlich, nachdem in dem systematisch sehr nahe stehenden *Polyporus fomentarius* ein solches Enzym bereits von Bourquetot nachgewiesen ist. Ich begnügte mich daher mit einem Versuche, bei welchem Salicin zur Verwendung gelangte.

| Zusammensetzung der Probe | Cu, welches durch 25 cm ³ der Lösung aus 60 cm ³ Fehling'scher Lösung reduziert wurde | Prozente des gespaltenen Salicins |
|--|---|-----------------------------------|
| 1 g Salicin, 100 cm ³ Wasser, 0·3 cm ³ 1/2 n. Lauge, 5 cm ³ Petroläther | 0·0020 g | |
| Ebenso, außerdem noch 5 g Pilzpulver | 0·2963 g | 90·7 |

Die Spaltung des Salicins geht also sehr glatt vor sich. Die Versuchsbedingungen waren die gleichen wie bei den oben erwähnten Versuchen.

Die Anwesenheit eines zelluloselösenden Fermentes in den holzbewohnenden Pilzen ist mikroskopisch mehrfach konstatiert worden. Ich versuchte, den Nachweis auf chemisch-analytischem Wege zu erbringen. Obwohl ich bisher keine entscheidenden Resultate erhielt, will ich über die bisherigen Versuche doch kurz berichten. Zunächst wurden 5·666 g

gewaschenes und bei 110° völlig getrocknetes Filtrierpapier mit 100 cm^3 einer Pilzlösung versetzt, welche durch 24stündige Digestion von lufttrockenem Pilzpulver in der zehnfachen Menge Wasser erhalten worden war, und sodann durch drei Tage bei einer Temperatur von 35 bis 40° stehen gelassen. Das Gewicht des gewaschenen und getrockneten Papiers betrug nach dem Versuche $5\cdot656\text{ g}$, woraus sich ein Gewichtsverlust von $0\cdot16\%$ berechnet, welcher innerhalb der Versuchsfehler liegt. Eine merkliche Wirkung hatte also nicht stattgefunden. Da das mutmaßliche Ferment in Wasser schwer löslich sein konnte, wurden nunmehr zwei Proben aus entschlichtetem, gewaschenen und sorgfältig getrockneten Baumwollbattist in feuchtes Pilzpulver eingebettet; die eine Pilzprobe war bloß an der Luft getrocknet, die andere längere Zeit auf 110° erwärmt worden, um die Enzyme zu zerstören. Nach Zusatz von etwas Petroläther wurden beide Proben im Kölbchen fünf Tage bei etwa 20° digeriert, sodann die Battistproben gewaschen und getrocknet. Dieselben hatten vor dem Versuch ein Gewicht von $0\cdot992\text{ g}$, nach dem Versuch zeigte die Probe, welche in dem sterilisierten Pulver gelegen hatte, ein Gewicht von $0\cdot985\text{ g}$, die andere von $0\cdot983$. Auch hier war keine Einwirkung bemerkbar. Nun wurde untersucht, ob der Pilzsaft auf Weidenholz selbst einwirkt. Zwei Proben fein geraspelttes Weidenholz von genau 5 g Gewicht (entsprechend $4\cdot172\text{ g}$ Trockensubstanz) wurden in Kölbchen mit je 100 cm^3 des obigen Pilzsaftes versetzt, und zwar wurde in einem Falle der Pilzsaft direkt, im anderen nach dem Aufkochen und Auffüllen auf das anfängliche Volum in Anwendung gebracht. Nach Zusatz von etwas Petroläther wurden die Kölbchen verschlossen und sechs Tage bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Sodann wurde durch gewogene Filter filtriert und bei 110° getrocknet. Die erste Probe ergab ein Gewicht von $4\cdot0755\text{ g}$ (Gewichtsverlust $2\cdot3\%$), die zweite von $4\cdot142\text{ g}$ (Gewichtsverlust $0\cdot7\%$); somit hatte die erste dreimal mehr an Gewicht verloren wie die zweite. Es ist also sicher, daß der Pilzsaft auf das Holz einwirkt. Nachdem das Vorhandensein von Zytasen in Baumpilzen höchst wahrscheinlich ist, kann zur Erklärung dieser Versuchsergebnisse nur angenommen

werden, daß das Ferment vielleicht nur im Mycel vorkommt, daß es schwer in Wasser löslich ist und nur langsam einwirkt oder endlich, daß es nur die dem Weidenholz zugrunde liegende Zellulose, nicht aber Baumwollzellulose anzugreifen imstande ist. In dieser Richtung sollen weitere Versuche angestellt werden.

6. In Laugen lösliche Stoffe. Die Menge der in verdünnten 2prozentigen Laugen löslichen Stoffe ist sehr groß (siehe p. 1174). Jedoch sind dieselben wohl kaum präformiert im Pilz vorhanden, sondern werden erst durch die Laugen- oder Ammoniakwirkung aus der Gerüstsubstanz abgespalten. Die tiefbraunen Lösungen werden durch Essigsäure nur wenig, durch verdünnte Mineralsäuren hingegen vollständig gefällt. Durch Auswaschen der Fällungen, Wiederauflösen in Ammoniak, neuerliches Fällen mit Säure und gründliches Auswaschen kann man die Substanz fast aschenfrei erhalten. Bei Anwendung von kalter Lauge ist das schließlich resultierende Produkt dunkel lehmfarben, bei warmer Extraktion dunkel, fast schwarz. In Wasser ist es fast unlöslich, hingegen in Alkohol ziemlich löslich, woraus deutlich hervorgeht, daß ein chemischer Prozeß während der Laugenbehandlung platzgreift, da ja das Pilzmaterial bereits mit Alkohol erschöpft worden war, ehe die Extraktion mit Lauge begann. Die ammoniakalische Lösung ist durch Chlorcalcium und Chlorbarium sowie durch Bleizucker fällbar.

Denselben Körper hat Dragendorff¹ isoliert und der Elementaranalyse unterworfen; er fand 48·13% C, 5·82% H und 0·011% Asche, Stickstoff in Spuren. Klingemann und Heusler² haben ein ähnliches Produkt aus demselben Pilz dargestellt und bei der Analyse 55·94% C, 5·18% H und 5·48% N gefunden. Angesichts solcher Differenzen schien mir eine neuerliche Analyse des Körpers zwecklos, da es sich hier offenbar um ein Körpergemisch handelt, aus welchem schwerlich einheitliche chemische Stoffe zu gewinnen sein werden.

¹ L. c., p. 30.

² Liebig's Annalen, 275, p. 89 (1893).

7. Die Zellgewebesubstanz. Bezüglich dieses Stoffes existieren einige Angaben älteren Datums von Braconnot¹ und Dragendorff.² Er ist entschieden dem Kork ähnlich, sowohl was seine physikalischen Eigenschaften als auch sein chemisches Verhalten betrifft. Nur wird er viel leichter als dieser durch Laugen und verdünnte Salpetersäure angegriffen. Die ersteren färben ihn sofort braunschwarz und spalten die oben erwähnten huminartigen Substanzen aus ihm ab. Die nach der Laugenbehandlung übrigbleibende schwarze, krümelige Substanz wird leicht und vollständig durch verdünnte Salpetersäure (spezifisches Gewicht 1·11) beim Erwärmen oxidiert und in Lösung gebracht. Es tritt zunächst heftige Gasentwicklung ein, wobei die Masse gelbrot und durchscheinend wird; in diesem Stadium bildet die Substanz nach dem Waschen und Trocknen amorphe hyaline Blättchen, welche keine Zellulosereaktion zeigen. Bei weiterer Einwirkung der Salpetersäure geht alles in Lösung. In derselben befinden sich reichliche Mengen von Oxalsäure, welche rein dargestellt und in Form des Calciumsalzes analysiert wurde; die rotgelb gefärbte Mutterlauge von der Oxalsäurekrystallisation ist zum größten Teile durch Bleiacetat fällbar, der Bleiniederschlag ist amorph und braun gefärbt. Doch gelang es mir weder Korksäure noch Pikrinsäure zu isolieren.

Von dem Zellstoff des *Trametes* unterscheidet sich der des *Polyporus* hauptsächlich durch den großen Gehalt an braunen, in Lauge löslichen Stoffen; das Zellgerüst des *Trametes* ist ganz hell gefärbt.

Pentosane dürften hier wie bei *Trametes* vorhanden sein. Wird sorgfältig von Holz und Rinde befreites Pilzmaterial mit Salzsäure destilliert, so erhält man Furol, welches durch die Reaktionen mit Phloroglucin, Anilinacetat und Phenylhydrazin nachgewiesen wurde. Methylfurol ist durch die Maquenne'sche Reaktion nicht nachweisbar.

8. Flüchtige Bestandteile. Bei der Destillation des Pilzes mit verdünntem Alkali erhält man so wie bei *Trametes*

¹ Annales de chimie, 79, p. 256 (1811); 80, p. 872 und 87, p. 257 (1813).

² L. c., p. 18 ff. und p. 29.

weiße Flocken von Amanitol, welche in dem petersilienartig riechenden Destillat suspendiert sind. Aminbasen sind nur in sehr geringer Menge vorhanden und werden nur bei Verarbeitung größerer Substanzmengen durch den Geruch bemerkbar. Wahrscheinlich ist Trimethylamin vorhanden.

Vergleicht man die Resultate der phytochemischen Analyse des *Polyporus igniarius* und des *Trametes suaveolens*, so ergibt sich eine weitgehende Ähnlichkeit: in der Zusammensetzung der Asche, in dem reichlichen Vorhandensein von Gips, in dem Vorkommen ähnlicher, teilweise vielleicht identischer Ergosterinkörper, Fettsubstanzen und Harze, in dem spärlichen Vorkommen organischer Säuren, löslicher Eiweißstoffe und flüchtiger Substanzen, in dem reichlichen Vorhandensein gummiartiger, sehr ähnlicher, vielleicht gleicher Kohlehydrate und besonders in der Anwesenheit mehrerer Fermente von ungefähr gleicher Wirksamkeit. Als Unterschiede könnten hervorgehoben werden: die verschiedene Beschaffenheit des Zellstoffes, das Vorkommen von Mykose einerseits, von Mannit und Gerbstoff andererseits. Diese Analogie war eigentlich zu erwarten, nicht bloß deshalb, weil die beiden Arten von Pilzen einander systematisch nahestehen, sondern weil sie auf derselben Wirtspflanze schmarotzen und weil der Einfluß des Substrates bei Parasiten sicher größer ist wie bei grünen Pflanzen. Diese Abhängigkeit vom Nährboden muß sich auch in der chemischen Zusammensetzung widerspiegeln. Die vorliegende Untersuchung dürfte diese Anschauung bestätigen.

Die vorliegende Arbeit wurde zum Teil mit Hilfe einer Subvention durchgeführt, welche die kaiserl. Akademie der Wissenschaften in Wien dem Autor aus den Erträgnissen des Legates Scholz bewilligt hat; wofür derselbe an dieser Stelle seinen Dank ausspricht.

Die **Bände I bis inkl. VI, 1880 bis 1885**, sind vollständig vergriffen. Die Buchhandlungsfirma Mayer und Müller in Berlin W., Markgrafenstraße 51, hat es jedoch unternommen, diese sechs Bände (I bis VI) auf anastatischem Wege zu vervielfältigen.

Die Serie der Bände I bis inkl. X ist von der genannten Firma direkt zum Preise von 200 M zu beziehen.

Zu den Bänden I bis X (Jahrgänge 1880 bis 1889) und XI bis XXII (Jahrgänge 1890 bis 1899) ist je ein Generalregister im akademischen Buchhandel zum Preise von 3 K 60 h — 3 M 60 pf, beziehungsweise 7 K — 7 M zu beziehen.
