

Sitzungsberichte

der

königl. bayer. Akademie der Wissenschaften
zu München.

Jahrgang 1869. Band II.

München.

Akademische Buchdruckerei von F. Straub.

1869.

In Commission bei G. Franz.

Mathematisch-physikalische Classe.

Sitzung vom 6. November 1869.

Herr Geheimrath Baron v. Liebig hält einen Vortrag
„Ueber die Gährung und die Quelle der
Muskelkraft.“

I. Die Alkoholgährung.

Aus einer Reihe von Versuchen über das Verhalten der Hefe in der Alkoholgährung hat Pasteur vor neun Jahren (Ann. de Ch. et de Phys., III. Serie, Tome LVIII, p. 323) den Schluss gezogen, dass die von mir aufgestellte Erklärung der Wirkung der Hefe auf den Zucker einer jeden Grundlage ermangele. Ich hatte angenommen, dass das Zerfallen der gährungsfähigen Materie in einfachere Verbindungen zurückgeführt werden müsse auf einen Spaltungsprocess, der im Ferment bestehe, und dass die Wirkung des Gährungserregers auf die gährungsfähige Substanz fort dauere oder ihr Ende finde mit der Dauer oder der Beendigung des im Fermente bestehenden Umsetzungsprocesses.

Die Umlagerung der Zuckeratome im Zuckermolecul sei demnach eine Folge der Zersetzung oder Umlagerung eines oder einiger Bestandtheile des Fermentes, sie finde nur bei Berührung beider statt.

Die Ansicht Pasteur's über die Gährung ist folgende:
„Der chemische Vorgang der Gährung ist wesentlich eine die Lebensacte der Hefe begleitende Erscheinung; sie fängt

damit an und endigt damit; eine Alkoholgährung ohne gleichzeitige Organisation, Entwicklung und Vermehrung, d. h. ohne fortgesetztes Leben, findet niemals statt“ (S. 359).

Pasteur betrachtet also die Gährung als einen chemischen Process, der einen physiologischen begleite und davon abhängig sei; die Lebensacte des Fermentes bedingen das Zerfallen des Zuckeratoms. Diese Ansicht hatte schon vor 20 Jahren ihre Vertreter gefunden, wie ich in meinen chemischen Briefen (XX. Brief) weitläufig auseinandergesetzt habe; die Natur der Hefe war mir zur Zeit, in der ich meine Ansicht über die Gährung entwickelte, wohl bekannt, aber der physiologische Process herührte nicht mein Gebiet; was ich versuchte, war, den chemischen Vorgang der Zersetzung des Zuckers auf einen einfachen, alle ähnlichen Processe umfassenden Ausdruck zurückzuführen.

Auf das, was ich zu erklären versuchte, nämlich die Spaltung der gährungsfähigen Substanz in Berührung mit der Hefenzelle, ist Pasteur nicht eingegangen, und indem er uns mit einem „Lebensacte“ als den Grund der Gährung abfindet, setzt er an die Stelle einer Erklärung eine Thatsache, die für sich der Erklärung bedarf.

Von dem chemischen Standpunkte aus, den ich nicht aufgeben möchte, ist ein „Lebensact“ ein „Bewegungszustand“, und in diesem Sinne genommen steht die Ansicht Pasteur's nicht im Widerspruch mit der meinigen und ist keine Widerlegung derselben. Man beobachtet, so sagte ich, dass die Hefe beim einfachen Aufbewahren unter Wasser sich verändert und zuletzt wie ein thierischer Stoff in Fäulniss übergeht; dieser Vorgang hat einen Anfang, eine gewisse Dauer und ein Ende; diess setzt voraus, dass die Theile der Hefe sich in einem Zustande der Umlagerung, des Ortswechsels, das ist in einer Bewegung befinden, deren Ende ein Zerfallen in andere, einfachere Verbindungen ist, die sich beim Abschluss der Luft nicht weiter ändern; in diesem

Falle, wo die eingetretene Bewegung aufhört, tritt ein Gleichgewichtszustand ein.

Dieser Bewegungszustand ist ganz unabhängig von der Mitwirkung anderer Körper; man beobachtet ferner, dass eine ganze Anzahl von Substanzen, wenn sie in Berührung mit Hefe gebracht werden, eine Aenderung in der Anordnung ihrer Atome erleiden, die darin besteht, dass sich neue Producte daraus bilden; Zucker z. B. verhält sich damit genau so, wie wenn er ein Theil oder Bestandtheil der Hefenzelle wäre, es findet eine Umlagerung oder Verschiebung der Zuckeratome statt.

Ich hatte die Wirkung, welche das Ferment auf den gährungsfähigen Körper ausübt, mit der Wirkung der Wärme auf organische Molecule verglichen; bei beiden wirke eine Bewegung auf die innere Anordnung der Atome ein. Essigsäure werde durch Wärme in Kohlensäure und Aceton, ganz ähnlich wie Zucker durch Hefe in Kohlensäure und Alkohol gespalten; die Kohlensäure in der Zersetzung der Essigsäure enthalte $\frac{2}{3}$ von dem Sauerstoff, das Aceton allen Wasserstoff der Essigsäure, ganz so, wie in der Gährung des Zuckers die Kohlensäure $\frac{2}{3}$ von dem Sauerstoff, der Alkohol allen Wasserstoff des Zuckers enthalte.

Die Entwicklung einer Pflanze, die Bildung und Vermehrung der Hefenpilze ist abhängig von der Gegenwart und Aufnahme von Nährstoffen, die im Inneren zu Theilen des lebenden Organismus werden; aber in dem Processe der Gährung findet, man kann so sagen, eine Wirkung nach Aussen hin statt auf Stoffe, welche in Producte zerfallen, die von dem lebenden Organismus nicht verwendbar sind. Der vitale Vorgang und die chemische Wirkung sind offenbar zwei Erscheinungen, welche in der Erklärung auseinandergehalten werden müssen.

Der Ansicht, dass auf der Entwicklung und Vermehrung der Hefenzellen die Zersetzung des Zuckers in der Gährung

beruhe, stand die Thatsache entgegen, dass die Hefe in reiner Zuckerlösung Gährung hervorbringt; die Hefe besteht zum grössten Theil aus einer stickstoffreichen und schwefelhaltigen Substanz, sie enthält ausserdem eine beträchtliche Menge phosphorsaurer Salze, und es war schwer zu verstehen, wie sich beim Ausschluss beider in der gährenden, reinen Zuckerlösung die Anzahl der Hefenzellen vermehren könnten.

Dazu kam, dass die Bierhefe noch auf viele andere Materien eine ähnliche zersetzende Wirkung wie auf den Zucker ausübt.

Ich habe gezeigt, dass äpfelsaurer Kalk mit Bierhefe ziemlich rasch in Gährung übergeht, und dass dieses Kalksalz in Kohlensäure und in drei andere Kalksalze, in essigsauren, kohlensauren und bernsteinsauren Kalk gespalten wird. Wenn die Wirkung der Hefe auf ihrem Wachstume und ihrer Vermehrung beruht, so ist ihre Wirkung auf den äpfelsauren Kalk und andere pflanzensaure Kalksalze nicht leicht zu begreifen. Niemals ist bis jetzt in anderen Gährungen, als der Zuckergährung, die Bildung von Hefe, welche Zucker in Alkohol und Kohlensäure zu spalten vermag, beobachtet worden. Die Aepfelsäure, Citronensäure u. s. w. enthalten keinen Zucker, werden aber durch Bierhefe in ähnlicher Weise zersetzt wie der Zucker, und wenn ihre Wirkung auf dem physiologischen Process beruht, so müsste sie auch in diesem Falle sich vermehrt und fortgepflanzt haben.

In gleicher Weise wird Salicin in wässriger Lösung durch Bierhefe unter Bildung von Saligenin und salicyliger Säure zersetzt (H. Ranke), und wir wissen, dass eine ähnliche Spaltung des Salicins durch Emulsin bewirkt wird, ohne dass nachweisbar ein physiologischer Process an dieser Spaltung theilhaftig ist.

Das Emulsin wirkt auf Salicin und Amygdalin in gleicher

Weise ein und seine zersetzende Wirkung lässt sich nach wenig Minuten in den neugebildeten Producten nachweisen; beim Salicin durch die violette Färbung von Eisenchlorid, beim Amygdalin durch die Bildung von Berlinerblau.

Bei der Zersetzung des Amygdalins durch Emulsin wissen wir, dass das Wasser einen Antheil daran hat; es wird nur eine der Wassermenge, welche nöthig ist, um das erzeugte Bittermandelöl aufzulösen, entsprechende Menge Amygdalin zersetzt; ist mehr Amygdalin vorhanden, so bleibt es unverändert; setzt man alsdann Wasser zu, so wird eine neue Quantität zersetzt, bis bei hinreichender Wassermenge alles vorhandene Amygdalin verschwindet. In Mandelmilch von süssen Mandeln, welche als eine concentrirte Lösung von Emulsin angesehen werden kann, tritt beim Zusatz von Traubenzucker nach einiger Zeit eine lebhafte Alkoholgährung ein.

Schreibt man in dem Falle der Zersetzung des Salicins durch Hefe dem physiologischen Process des Wachsthums und der Entwicklung des Hefenpilzes eine Wirkung zu, so bleibt die Wirkung des Emulsins auf Salicin unerklärt, und wenn wir bei diesem annehmen, der leicht veränderliche schwefel- und stickstoffreiche Bestandtheil der süssen Mandeln, das Emulsin, habe die Zersetzung des Salicins bewirkt, so wissen wir, dass auch die Hefe einen schwefel- und stickstoffhaltigen Bestandtheil enthält von grosser Veränderlichkeit. Beide, das Emulsin und die Hefe, haben ferner mit einander gemein, dass sie mit Wasser zum Sieden erhitzt ihre gährungserregende Eigenschaft verlieren.

Wenn aber schwefel- und stickstoffhaltige Substanzen, wie das Emulsin, in Folge einer Aenderung in der Lage ihrer Atome eine Wirkung auszuüben vermögen auf andere organische Molecule, so zwar, dass diese in neue Producte zerfallen, so haben wir Grund zu vermuthen, dass an der Wirkung, welche die Hefe auf den Zucker ausübt, ihre

schwefel- und stickstoffhaltigen Bestandtheile einen ähnlichen Antheil haben, und wenn sich dieses herausstellt, so bliebe zu erklären, in welcher Beziehung der physiologische Process der Bildung der Hefe zu dem schwefel- und stickstoffhaltigen Körper steht, der offenbar erst dadurch, dass er zu einem Bestandtheil der Hefe wird, seine ihm eigenthümlichen, gährungserregenden Eigenschaften gewinnt.

Es könnte sein, dass der physiologische Process in keiner anderen Beziehung zu dem Gährungsprocess steht, als dass durch ihn in der lebenden Zelle der Stoff erzeugt wird, welcher durch eine ihm eigene Wirkung, ähnlich der des Emulsins auf Salicin und Amygdalin, das Zerfallen des Zuckers und anderer organischer Atome herbeiführt; der physiologische Process würde in diesem Falle nothwendig sein, um diesen Stoff zu erzeugen; aber mit der Gährung an sich würde er in keiner weiteren Verbindung stehen.

Ich habe in der Richtung dieser Fragen einige Versuche angestellt, die vielleicht beizutragen vermögen, diesen Vorgang aufzuhellen.

Ueber die Natur der Bier- und Weinhefe besteht kein Zweifel, sie ist eine Entwicklungsform verschiedener Pilzarten und besteht nach den mikroskopischen Untersuchungen von Dr. Lermier im ausgewachsenen Zustande aus der Zellenwand, dem der Zellenwand anliegenden Primordialschlauch, ferner aus einer körnig-schleimigen Substanz, dem Protoplasma und einer wässerigen Zellflüssigkeit, die in mehr oder minder grossen Tropfen, Vacuolen, im Protoplasma liegt.

„Beim Verweilen unter destillirtem Wasser werden die Vacuolen auffallend vergrössert und es reichen dann nicht selten ihre Grenzen bis an die Zellenwandung; im Zusammenhang damit steht die Aufquellung der Hefenzellen; beide Erscheinungen beruhen auf dem Process der Membrandiffusion, in Folge welcher nicht nur Wasser in die Zelle

aufgenommen, sondern auch Flüssigkeiten des Zelleninhaltes an das Wasser abgegeben werden“ (L e r m e r).

„Jodlösung färbt die Zellen nur schwach gelblich; Zucker und Schwefelsäure bringen eine kaum mehr unterscheidbare rosenrothe Färbung hervor, was wohl schliessen lässt, dass die Menge der Eiweisskörper durch die Einwirkung des Wassers bedeutend vermindert worden ist“ (L e r m e r).

Ich bin im Zweifel darüber, ob die durch Wasser der Hefe entziehbare Substanz ein Eiweisskörper ist. Wenn 1 Liter frische breiartige Bierhefe etwa viermal nacheinander mit ihrem sechs- bis achtfachen Volumen Wasser durch Decantiren ausgewaschen wird und man vertheilt sie jetzt zum fünftenmale mit 4 Liter Wasser, so nimmt dieses Wasser in 3 bis 4 Stunden nur geringe Mengen organischer Materie daraus auf, 1 Liter Wasser nicht über 350 Mgrm., und die gährungserregende Eigenschaft dieser ausgewaschenen Hefe scheint kaum geschwächt zu sein. Lässt man die ausgewaschene Hefe längere Zeit mit ihrem gleichen Volumen Wasser in Berührung, so vermehrt sich die organische Materie in dem Wasser, so zwar, dass nach einigen Tagen das Wasser zehnmal mehr als das letzte Waschwasser enthält; 20 CC. dieses Wassers lieferten nach dem Abdampfen 78 Mgrm. Rückstand = in 1 Liter 3,9 Grm. Die organische Substanz, welche das Wasser allmähig aus der Hefe aufnimmt, scheint ein Product der Zersetzung von einem ihrer Bestandtheile zu sein; sie ertheilt bekanntlich dem Wasser sehr bemerkenswerthe Eigenschaften.

Löst man krystallisirten Rohrzucker darin auf, so verwandelt sich dieser in Traubenzucker; nach wenigen Minuten schon erhält man bei Zusatz der Fehling'schen Probe, noch ehe die Flüssigkeit die Siedehitze erreicht, eine starke Fällung von Kupferoxydul. Die Flüssigkeit hat eine sehr schwach saure Reaction, sie ist farb- und geschmacklos und giebt mit Bleiessig und Gerbsäure eine schwache, milchige

Trübung; sie verliert ihre Durchsichtigkeit, wenn sie mehrere Tage an der Luft steht, unter Bildung eines weissen, flockigen Niederschlages.

Um eine Vorstellung von der Stärke der Wirkung der organischen Substanz auf den Rohrzucker zu gewinnen, habe ich Rohrzucker in verschiedenen Verhältnissen in dem Hefenwasser aufgelöst und nach 24 Stunden die Menge des gebildeten Traubenzuckers bestimmt, und es zeigte sich, dass 25 Grm. Rohrzucker in 100 CC. dieser Lösung über Nacht vollständig in Traubenzucker übergegangen waren; diese 100 CC. Lösung enthielten 0,39 Grm. organische Substanz; ich glaube, dass in der nämlichen Flüssigkeit noch viel grössere Mengen Rohrzucker in Traubenzucker umgewandelt worden wären.

Wenn man diese Flüssigkeit zum Sieden erhitzt, so verliert sie ihre Wirkung auf den Rohrzucker vollständig.

Ueber die Ursache der Wirkung des Hefenwassers kann wohl kein Zweifel sein; es enthält, wie sein Verhalten an der Luft und in der Siedehitze beweist, eine Materie im Zustande der Umsetzung, und es muss von diesem Zustande der Bewegung die Umwandlung des Rohr- in Traubenzucker bedingt worden sein; die Rohrzuckertheilchen verhielten sich, wie wenn sie Theile oder Bestandtheile der sich umsetzenden stickstoffhaltigen Materie gewesen wären: sie gingen in eine neue Lagerung über. Die Berührung mit einer sehr geringen Menge dieser sich umsetzenden Substanz brachte die nämliche Wirkung, wie die Berührung mit Mineralsäuren, d. i. wie eine starke chemische Verwandtschaft hervor. Wir kennen eine ganz ähnliche Erscheinung in der Wirkung, welche das Aethylaldehyd auf Cyan in wässriger Lösung ausübt; eine sehr kleine Menge Aldehyd, dieser Lösung zugesetzt, bewirkt, dass sich das Cyan geradeauf mit den Elementen von zwei Atomen Wasser zu Oxamid verbindet; das Aldehyd ist bekanntlich eine äusserst veränderliche

Substanz. Es ist offenbar, dass das Aldehyd, von dem ein Theil in einen acroleinartigen Körper verwandelt wird, während dieses Ueberganges eine Wirkung ausübt, die darin bestand, dass sich die Elemente des Cyans mit denen des Wassers in einer neuen Weise ordneten. Es ist neuerdings von Schmidt und Glutz beobachtet worden, dass die Berührung mit starker Salzsäure die Ueberführung des Cyans in Oxamid in derselben Weise, wie die des Rohrzuckers in Traubenzucker bewirkt. Ebenso wird Salicin durch verdünnte Schwefelsäure in ähnlicher Weise gespalten, wie durch Emulsin.

In der Substanz, welche sich beim Keimen vieler Getreidesamen erzeugt, kennen wir einen stickstoffhaltigen Körper, der Stärkmehl in Traubenzucker und Dextrin spaltet; auch dieser Körper verliert in der Siedehitze diese Eigenschaft.

Das Emulsin wirkt auf Salicin und Amygdalin; Helicoïdin wird dadurch in salicylige Säure, Saligenin und Zucker, das Arbutin in Hydrochinon und Zucker umgesetzt; das Emulsin wirkt aber nicht auf Stärkmehl oder Rohrzucker.

Die Diastase wirkt auf Stärkmehl, nicht auf Amygdalin; die Substanz des Hefenwassers wirkt auf Rohrzucker, nicht auf Stärkmehl. Aehnlich wie diese verhalten sich noch eine Menge anderer organischer Stoffe: der gemischte Speichel wirkt auf Stärkmehl ähnlich wie die Diastase aus Gerste; er zerlegt Salicin in ganz gleicher Weise wie Emulsin in Zucker und Saligenin (Städeler); der pankreatische Saft enthält eine Materie, welche Stärkmehl in Zucker, aber auch Fette in Glycerin und fette Säuren umwandelt. Das Pepsin gehört in dieselbe Classe von Verbindungen; alle sind stickstoffhaltig und haben die Eigenthümlichkeit miteinander gemein, dass durch Siedehitze ihre Wirkungen aufgehoben werden, und dass diese nach kurzer Zeit verschwinden, wenn sie sich selbst überlassen bleiben. Wir haben in diesen

Materien Stoffe von der verschiedensten Zusammensetzung, welche ähnliche Wirkungen haben, aber jedem kommt eine ihm eigene Wirkung zu, zum Beweis, dass diese in der Richtung verschieden ist.

Die Wirkung der Substanz im Hefenwasser auf den Zucker ist offenbar von der der Hefe selbst verschieden.

Von allen Chemikern, die sich mit der chemischen Untersuchung der Hefe beschäftigt haben, hat keiner die nämlichen Zahlen in der Analyse erhalten; Mitscherlich erhielt 47 pC., Schlossberger bis 50 pC. Kohlenstoff; der erstere fand 10 pC., der andere bis $12\frac{1}{2}$ pC. Stickstoff.

In Versuchen, die in meinem Laboratorium ausgeführt wurden, erhielt Dr. Reichenbach in vier Bestimmungen in bei 100° getrockneter Hefe 34,57 pC. Kohlenstoff und 7,41 pC. Stickstoff; die analysirte Hefe war im feuchten Zustande sehr wirksam.

Die Zusammensetzung der Hefe wechselt, man kann sagen, von einem Tage zum anderen, und diess ist wohl ein sicheres Merkzeichen der Veränderungen, die unausgesetzt in ihrer Substanz vor sich gehen.

Die Hefe enthält Schwefel als constanten Bestandtheil, sie entwickelt beim Faulen Schwefelwasserstoff; Mitscherlich fand darin 0,6 pC. Schwefel. Nach Bestimmungen in meinem Laboratorium enthielt eine untersuchte trockene Hefe 0,685 Schwefel, eine andere Hefe 0,568 (Reichenbach), eine dritte 0,387 pC. Schwefel (Dempwolff).

Der Gehalt an unverbrennlichen Bestandtheilen wechselt in der Hefe in eben dem Grade wie ihre verbrennlichen; man erhält von trockener Hefe durchschnittlich 7 bis 8 pC. Asche, welche sehr reich an phosphorsaurem Kali ist. Dieses Salz ist offenbar in der Hefe in einer chemischen Verbindung, wie etwa in den Getreidesamen, enthalten, da es sich durch Auswaschen nicht entziehen lässt.

Zwei Hefenaschen ergaben folgende Zusammensetzung:

	I.	II.	Mitscherlich.
Phosphorsäure . . .	44,76	48,53	59,0
Kali	29,07	30,58	28,3
Natron	2,46	—	—
Kalk	2,39	2,10	12,5
Magnesia	4,09	4,16	
Kieselsäure	14,36	—	—
Chlor, Kohlensäure . }	2,12	—	—
Eisenoxyd }			
	99,25.		

Die Hefe enthält in ihrer Asche die nämlichen Bestandtheile und sehr nahe in demselben Verhältnisse wie der Roggen- und Weizensamen und nach Abzug der Kieselsäure wie die Gerste. Andere Pilze, wie die Trüffel und Morcheln, enthalten ein grösseres Verhältniss von Kali (O. Kohlrausch).

	<i>Tuber cibarium</i>	<i>Morchella esculenta</i>
Phosphorsäure . . .	32,96	39,03
Kali	54,51	49,51
Kalk und Bittererde	22,83	18,48
Schwefelsäure . . .	1,17	2,98.

In der Hefenasche ist die Abwesenheit der Schwefelsäure bemerkenswerth, sie erklärt sich vielleicht aus der überwiegenden Menge Phosphorsäure; die Asche des gewöhnlichen Champignons (*Agaricus campestris*) enthält 24,29 pC. Schwefelsäure, aber nur 15,43 pC. Phosphorsäure (Kohlrausch).

Die Pilze leben als Schmarotzer von organischen Stoffen, die in dem Organismus anderer Pflanzen erzeugt sind. Die Pilzsporen verhalten sich zu den abgestorbenen Gewächsen oder Thierüberresten oder zu Lösungen, die deren Hauptbestandtheile enthalten, wie die Blüthe eines jährigen Gewächses, einer Getreideart z. B., welche nach vorher-

gegangener Befruchtung in dem sich bildenden Samen die in den Blättern, Stengeln und Wurzeln bereits vorhandenen Stoffe in der Form von Samenbestandtheilen ansammelt. In ganz gleicher Weise wandern die in abgestorbenen Pflanzenüberresten noch vorhandenen Proteinsubstanzen, Phosphate und löslichen stickstofffreien Stoffe in den sich entwickelnden Pilz und empfangen durch die in ihm wirkende organische Thätigkeit die Form von Eiweiss, Legümin, Zucker, Mannit und Cellulose u. s. w. In vermodertem Eichenholz fand Schlossberger (Ann. Ch. Ph. LII, 115) kaum Spuren an Phosphaten, die in dem darauf gewachsenen Schmarotzerschwamm (*Daedalea quercina*) in ziemlicher Menge sich fanden.

Die Veränderlichkeit der Hefe beim Aufbewahren ist bekannt genug; wenn sie im breiartigen Zustande mit Wasser bedeckt an einem kühlen Orte steht, so bemerkt man eine Gasentwicklung; das Gas ist kohlensaures Gas, frei von Stickgas.

In der breiartigen Hefe bilden sich trichterförmige Höhlungen, aus denen wie aus kleinen Kratern Gasblasen in die Höhe steigen; das meiste Gas löst sich aber in dem überstehenden Wasser auf und dunstet aus diesem ab.

Wenn man die Temperatur der feuchten Hefe erhöht, so wird die Gasentwicklung deutlicher, es entsteht ein Schaum auf der Oberfläche der Flüssigkeit; die in der Hefe schon bei gewöhnlicher Temperatur vor sich gehende Umsetzung wird in höherer beschleunigt.

Bei 30 bis 35° C. tritt eine wahre, beinahe stürmische Gährung ein, genau so wie in einer Zuckerlösung, die man mit einer genügenden Menge frischer Hefe versetzt hat; wenn das Gefäss nicht geräumig genug ist und einen engen Hals hat, so steigt die schaumige, gährende Masse leicht über; hat das über der Hefe stehende Wasser etwa das nämliche Volumen, wie die Hefe selbst, so entsteht während

der Gährung der Hefe ein sehr dünner homogener Brei, der sich, wenn die Gährung beendigt ist, wieder scheidet in einen Absatz und in eine darüber stehende klare Flüssigkeit von gelblicher Farbe. Wenn keine Gasentwicklung mehr wahrnehmbar und die Flüssigkeit klar geworden ist, so ist die Gährung beendigt.

Ich habe bereits der Kohlensäure als eines der Producte dieser Hefengährung erwähnt, ein zweites flüchtiges Product ist Alkohol; beide sind bereits von Béchamp und Pasteur im Wasser, welches mit Hefe in Berührung ist, beobachtet worden; auch hatte Pasteur gefunden, dass, wenn man sehr wenig Zucker mit viel Hefe gähren lässt, man alsdann mehr Alkohol erhält, als der zugesetzten Zuckermenge entspricht, und er schloss daraus, dass der Alkohol nothwendig von der Hefe geliefert worden sein müsste.

Pasteur erklärt diese Erscheinung in folgender Weise: „Die Bierhefe, welche beinahe gänzlich aus Zellen besteht, die ihre normale Entwicklung erreicht haben oder erwachsen sind, wenn man so sagen kann, wird in Berührung mit Zucker gebracht; ihr Leben fängt wieder an, sie sprosst. Diess ist eine wohlbewiesene Thatsache. Enthält die Flüssigkeit Zucker genug, so entwickeln sich die Knospen, sie assimiliren Zucker und die albuminöse Materie der Mutterzelle; sie erreichen in dieser Weise nach und nach das Volum, das wir an ihnen kennen. Diess ist ein treues Bild der gewöhnlichen Gährungen. Wenn wir dagegen annehmen, der Zucker sei ungenügend, die ersten Sprossen in vollständige Zellen oder selbst in fertige, sichtbare Zellen überzuführen — so hat man in gewisser Weise es zu thun mit Mutterzellen, welche alle sehr junge haben, und da die äussere Nahrung fehlt, so leben die jungen Knospen auf Kosten der Mutterzellen“ (S. 419).

Die Gährung der Hefe für sich erklärt er wie folgt: „Das Leben der Hefe offenbart sich, sobald seine Bedingungen,

Feuchtigkeit und Wärme, geeignet sind. Wie ein Same stets bereit zu keimen ist, so lebt die Hefe, wenn sie die nöthige Temperatur und Wasser hat, auf Kosten ihrer eigenen Substanz und ihr Leben offenbart sich in dem physiologischen Act, der ihr eigenthümlich ist: der Bildung von Kohlensäure, Alkohol, Bernsteinsäure und Glycerin. Bringt man diese Hefe mit Zucker in Berührung, so setzt sie ihr Leben fort, welches niemals unterbrochen ist; aber in diesem Falle vollendet sie ihre Gestaltungen mit einer sehr viel grösseren, scheinbaren Energie, weil in derselben Zeit die Summe des Lebens und der Organisation weit zugenommen hat.“

Ich muss bekennen, dass ich nicht im Stande bin, mir eine klare Vorstellung von Pasteur's Ansicht über die Ursache der Gährung des Zuckers und der Hefe zu machen, wie sie in dem Vorhergehenden von ihm entwickelt ist; Herr Pasteur hat die Geschichte der Gährung mit einer Menge von interessanten Thatsachen bereichert, aber in Beziehung auf die Ursache des Zerfallens des Zuckers ist unsere Einsicht dadurch nicht grösser geworden.

Es kann wohl nicht bezweifelt werden, dass die Hefe, die sich in gährender Bierwürze entwickelt, eine gewisse Menge Zucker zur Bildung ihrer Zellenhaut verbraucht; wie aber der Uebergang von Zucker in Cellulose, von einem Kohlenhydrat in ein anderes mit weniger Wasser oder den Bestandtheilen des Wassers das Zerfallen eines anderen Theils des aufgelösten Zuckers zur Folge haben kann, diess bleibt völlig unverständlich.

In einem seiner Versuche hatte Pasteur eine Lösung von 9,899 Grm. Zucker mit 20 CC. einer klaren, wässerigen Abkochung von Hefe und einer Spur Hefe versetzt. Die Flüssigkeit ging in Gährung über, und die als Same zugesetzte Hefe hatte sich beträchtlich vermehrt. Nachdem der Zucker vollkommen zersetzt war, wurde die Hefe gewogen, ihr Gewicht betrug 152 Mgrm. Die Hefe enthält nach

Pasteur im Mittel etwa $18\frac{1}{2}$ pC. Cellulose. Setzen wir statt diesen 20 pC. Zucker, so sind zersetzt worden: Zucker 9869 Mgrm. und verbraucht zur Bildung der Hefe 30 Mgrm. Zucker.

Es ist wohl kaum möglich, sich zu denken, dass der physiologische Act des Ueberganges von 30 Mgrm. Zucker in die Substanz der Zellenwand der Hefe die Ursache sein kann von dem Zerfallen einer 329mal grösseren Quantität Zucker in Kohlensäure und Alkohol oder Bernsteinsäure, Glycerin und Kohlensäure, in Producte, die keinen weiteren Antheil an dem Leben der Zelle nehmen.

Noch viel dunkler ist Pasteur's Erklärung der Gährung der Hefe für sich und der Bildung von Alkohol und Kohlensäure aus ihrer eigenen Substanz. Wenn die Hefenzelle in geeigneter Temperatur und Feuchtigkeit wie ein Same keimt und Sprossen treibt, so kann zur Bildung der jungen Zellen die Substanz der alten verwendet werden; diess ist verständlich, woher aber der Alkohol und die Kohlensäure stammt, bleibt unerklärt. Die Wirkung der jungen Zellen kann immer nur die Wirkung der Substanz der alten sein, die sie zu ihrer Bildung aufgenommen haben.

Pasteur meint, dass in der Hefengährung die Cellulose der alten oder Mutterzellen in Zucker verwandelt werde, von dem ein Theil zur Bildung der Zellenwand der sich entwickelnden Sprossen verwendet wird, ein anderer in Alkohol, Kohlensäure, Bernsteinsäure u. s. w. zerfallen müsste. Diese Ansicht liesse sich leicht durch Bestimmung der Cellulose und des Alkohols einer Prüfung unterwerfen. In eben dem Verhältniss als sich Alkohol bildet, müsste die Cellulose verschwinden.

Ich habe versucht, die Cellulose aus der Hefe nach Schlossberger's Methode (Ann. Ch. Ph. LI, 205) darzustellen, es ist mir aber nicht gelungen, sie ganz stickstofffrei zu erhalten; durch abwechselnde Behandlung mit schwacher

Salzsäure, um die eingebetteten erdigen Phosphate aufzulösen, dann mit Kalilauge in der Wärme wurden die im Wasser vertheilten Hefenzellen beinahe durchscheinend, unter dem Mikroskop zeigten sie aber stets einen körnigen Inhalt; auf dem Filter sahen sie wie ein dicker, trüber Schleim aus, der nach dem Trocknen grau, faserig wie Papiermasse war. Ich überzeugte mich, dass die Hauptmasse aus Cellulose bestand; sie löste sich in concentrirter Schwefelsäure ohne Schwärzung, und in dieser Lösung liess sich, wenn sie mit Wasser verdünnt eine Zeitlang im Sieden erhalten worden war, leicht die Gegenwart von Traubenzucker erkennen. Auf 100 trockene Hefe berechnet erhielt ich nicht über 17 pC. Cellulose von der oben bezeichneten Beschaffenheit, meistens weniger. Ich glaube kaum, dass die Hefe mehr wie 12 bis 14 pC. reine Cellulose enthält. Die von mir dargestellte Hefencellulose löste sich nicht in Kupferoxyd-Ammoniak.

Pasteur fand in drei Versuchen 17,77, 19,29 und 19,21, im Mittel 18,76 pC. Cellulose.

Die Bestimmung des in der Gährung der Hefe gebildeten Alkohols hat keine Schwierigkeit.

Die zu diesem Zwecke angewandte Hefe war wie alle Hefe, die zu meinen Versuchen diente, sogenannte Unterhefe aus den hiesigen Brauereien; sie wurde mit Wasser vertheilt und sodann mittelst eines sehr feinen Siebes von den mechanisch beigemengten Bier- und Hopfenresten befreit. Die durch das Sieb mit dem Wasser durchlaufende Hefe liess man absitzen, der Absatz wurde wieder zertheilt, mit dem zehnfachen Volumen Wasser gemischt und mit stets erneuertem reinem Wasser durch Decantation so lange ausgewaschen, bis das überstehende Wasser keine Färbung mehr zeigte. Beim Scheiden der Hefe vom Wasser setzt sich ein Theil leicht und schnell auf dem Boden ab, ein anderer bleibt sehr viel länger suspendirt; es ist nützlich, die vollständige Klärung des Wassers nicht abzuwarten, sondern die trübe

Flüssigkeit abzugießen, sobald sich die Hauptmasse mit einem deutlichen Rande abgesetzt hat, was ziemlich rasch geschieht. Wenn diess mehrmals nacheinander geschehen ist, so erhält man eine Hefe von sehr gleichmässiger Beschaffenheit, welche unter dem Mikroscope keine fremden Zellen erkennen lässt.

Das Klumpigwerden der Hefe beim Stehen unter Wasser wird verhütet, wenn man dem Waschwasser Anfangs etwas kohlensaures Kali zusetzt. Das Gährungsvermögen der Hefe wird dadurch nicht beeinträchtigt.

Ich habe erwähnt, dass die Gährung der Hefe am Raschesten bei einer Temperatur von 30 bis 35° C. verläuft; nach 36 Stunden bemerkt man kaum noch eine Kohlensäureentwicklung.

Eine Temperatur von 60° tödtet die Hefenzellen; sie gehen, wenn sie im Wasser vertheilt dieser Temperatur ausgesetzt gewesen sind, nicht mehr in Gährung über und bringen auch in Zuckerwasser keine Gährung mehr hervor.

- I. 1500 CC. feuchte, mit Wasser sorgfältig vertheilte Hefe, nach zwei übereinstimmenden Proben = 147 Grm. trockene Hefe, lieferte, nach 18 Stunden der Destillation unterworfen, 14,792 wasserhaltigen Alkohol von 0,8472 spec. Gewicht = 11,981 Alkohol.
- II. 1200 CC. = 48,88 Grm. trockene Hefe lieferte, nach 36 Stund. destillirt, 6,188 Alkohol.
- III. 1200 CC. = 91,5 Grm. trockene Hefe nach 24 Stund. 8,23 Alkohol.
- IV. 1000 CC. = 79,22 Grm. trockene Hefe nach 18 Stund. 6,66 Alkohol.
- V. 1000 CC. = 100,58 Grm. trockene Hefe nach 36 Stund. 13,9 Alkohol.

Wenn man den in diesen fünf Versuchen erhaltenen Alkohol rückwärts in Cellulose berechnet und mit der Cellulose vergleicht, welche in der Hefe enthalten ist, so ergibt sich Folgendes. Ich lege dieser Berechnung die Be-

stimmungen des Cellulosegehaltes von Pasteur zu Grunde, welche im Mittel 18,76 pC. Cellulose ergeben haben; nach der meinigen beträgt der Cellulosegehalt der Hefe weniger.

In dem Versuch I wurden 147 Grm. Hefe der Gährung unterworfen, sie enthielt nach Pasteur 27,57 Cellulose, die in Zucker umgewandelt liefern könnten 15,7 Grm. Alkohol; sie hat wirklich geliefert 11,98 Grm. Alkohol, entsprechend 76 pC. von dem Gewichte der Cellulose in der Hefe, oder von 27,57 Grm. sollten zurückgeblieben sein 8,63 Grm. Cellulose:

	Hefe	Cellulose	sollte liefern Alkohol	hat geliefert Alkohol	Procente der Cellulose
I.	147,0	27,57	15,7	11,98	76 pC.
II.	48,8	9,16	5,2	6,18	118 „
III.	91,5	17,16	9,7	8,23	87 „
IV.	79,22	13,85	7,8	6,66	85 „
V.	100,53	18,86	11,26	13,90	120 „

Man bemerkt, dass mit der Dauer der Gährung die gebildete Alkoholmenge zunahm; in den Versuchen II und V, in welchen die Gährung 12 resp. 18 Stunden länger dauerte, wurde im Verhältniss mehr Alkohol erhalten, als in den drei anderen, und es ist wahrscheinlich, dass wenn man diese längere Zeit in der geeigneten Temperatur der Gährung überlassen hätte, dass auch bei diesen mehr Alkohol erzeugt worden wäre. Das Resultat dieser Versuche bleibt darum nicht minder entscheidend.

Wenn der Alkohol von der Cellulose der Zellenwände der Hefe geliefert wird, so müssten in den Versuchen II und V nach der Gährung alle Zellen vollständig verschwunden sein, es hätten keine Zellen in dem Rückstande mehr nachweisbar sein dürfen; der Augenschein zeigt aber, dass die Zellen in der Hefengährung nicht vermindert werden und nicht verschwinden.

Ich habe im Absatz vom Versuch V die Cellulose bestimmt; er wurde abwechselnd mit schwacher Kalilauge

und verdünnter Salzsäure behandelt und durch häufige Decantation ausgewaschen, wobei ein Verlust nicht vermieden werden konnte; es blieben im Ganzen 11,750 Grm. Cellulose zurück.

Nach der mikroskopischen Untersuchung von Herrn Prof. Dr. Nägeli „gleichen die Zellen der Hefe, die ohne Zucker gegohren haben, in Gestalt und Grösse genau den Zellen der gewöhnlichen Hefe; sie unterscheiden sich von letzteren dadurch, dass sie 1) nicht mehr sprossen, 2) durch die derbere und dickere Zellennembrane, 3) durch den körnigen und verminderten Plasma-Inhalt“; es sind abgestorbene Hefenzellen und der Vorgang der Hefengährung eine Zersetzung des Zelleninhaltes; bei dieser Gährung beobachtet man nicht den geringsten Fäulnissgeruch.

Die über der gegohrenen Hefe stehende und durch Auswaschen des Rückstandes erhaltene Flüssigkeit giebt beim Erhitzen zum Sieden ein weisses Gerinsel, welches ganz das Ansehen von geronnenem Eiweiss hat; Barytwasser bringt darin einen weissen Niederschlag von phosphorsaurem Baryt hervor; wird sie mit Alkohol vermischt, so lange sie noch davon getrübt wird, so scheidet sich eine syrupartige Masse ab und die darüberstehende klare gelbliche Flüssigkeit setzt nach der Entfernung des Alkohols kleine Krystalle ab, die gereinigt weiche perlmutterglänzende Blättchen darstellen; es ist gewöhnliches *Leucin*.

Die durch Alkohol fällbare Substanz ist reich an Stickstoff und enthält eine gewisse Menge Schwefel; nach dem Kochen mit starker Kalilauge bringt Zusatz von Säuren eine Entwicklung von Schwefelwasserstoff hervor. Der Rückstand von der Gährung der Hefe, der aus den abgestorbenen Zellen besteht, ausgewaschen und getrocknet, stellt eine braune, zähe Masse dar, in welcher der Stickstoff und Schwefel bestimmt wurde; vier Bestimmungen ergaben 5,65, 5,79, 5,85, 5,48, im Mittel 5,64 pC. Stickstoff und 0,603,

0,489 und 0,493 pC. Schwefel. Die frische Hefe enthält 7,4 pC. Stickstoff, die gegohrene dagegen 1,76 pC. weniger; es ist klar, dass in der Gährung der Hefe der stickstoffhaltige Bestandtheil derselben eine Zersetzung erfährt; ein grosser Theil davon wird löslich, ein kleinerer bleibt in den Hefenzellen. Aus letzterem lässt sich durch schwache Kalilauge ein dem Käsestoff ähnlicher Stoff ausziehen, der aus der alkoholischen Lösung durch Säuren in dicken Flocken gefällt wird; die Analyse ergab aber weniger Stickstoff, als der reine Käsestoff enthält, nämlich nur 11,39 pC. Stickstoff.

Es ist klar, dass wenn nicht die Cellulose der Hefenzelle es ist, welche das Material zur Alkohol- und Kohlensäurebildung lieferte, dass dieses von einem, dem Zucker identischen oder ähnlich zusammengesetzten Stoffe stammen muss, der einen Bestandtheil des Zelleninhaltes ausmacht; und da dieser Stoff durch Auswaschen der Hefe nicht entziehbar ist, so muss er nothwendig in Form einer festen Verbindung mit einem anderen Körper in der Zelle enthalten sein, welcher reich an Stickstoff und schwefelhaltig ist.

Wenn man den im Versuche V erhaltenen Alkohol rückwärts in Zucker berechnet, so entsprechen 13,9 Grm. Alkohol 27 Grm. Zucker ($C_{12}H_{12}O_{12}$); fügt man diesem Zucker die Cellulose in 100 Hefe zu, nach Pasteur 18,75, nach meiner Bestimmung 16,5 Cellulose, so erhält man in Summe 45,6 oder 43,5 pC. stickstofffreie Bestandtheile der Hefe; es würden demnach übrig bleiben 54,4 pC. oder 56,5 pC. stickstoffhaltige Bestandtheile, worin 7,41 Stickstoff; diess gibt für diese Substanz 13 bis $13\frac{1}{2}$ pC. Stickstoff, etwa $1\frac{1}{2}$ bis 2 pC. weniger, als die Albuminate enthalten. Zieht man in Betracht, dass die Hefe weniger als $16\frac{1}{2}$ pC. Cellulose in reinem Zustande enthalten muss und eine gewisse Menge festes und flüssiges Fett und einen bitteren harzartigen Stoff, wahrscheinlich vom Hopfen (Schlossberger a. a. O. S. 198) an Alkohol abgibt, so wird man

keinen Fehler begehen, wenn man annimmt, dass der stickstoff- und schwefelhaltige Körper in der Hefe entweder ein Albuminat selbst oder ein den Albuminaten sehr nahe stehender Körper ist; dass er von einem Albuminate stammt, darüber kann kein Zweifel bestehen.

Ueber das Verhalten der Hefe in der Bierwürze besteht, wie ich glaube, keine Meinungsverschiedenheit; sobald sich vollkommene Hefenzellen gebildet haben, beginnt die Zersetzung des Zuckers, neben welcher unausgesetzt und bis aller Zucker zersetzt ist, die Hefenzellenbildung fort dauert.

Ich habe erwähnt, dass die Spaltung des Zuckers begleitet ist von einer Zersetzung des Zelleninhaltes, von welchem ein stickstoffhaltiger Bestandtheil löslich wird und in die gährende Flüssigkeit übergeht; die letztere verliert an stickstoffhaltigen Bestandtheilen, wenn diese zu Bestandtheilen der Zellen werden, und gewinnt wieder einen Theil davon durch die Zersetzung des Zelleninhaltes.

Bereits im Jahre 1853 haben die Herren Graham, A. W. Hofmann und Redwood in ihren Untersuchungen über Gährung des Biers mit Rücksicht auf Steuerverhältnisse (Chem. Soc. Qu. J. V, 229) ermittelt, dass eine gehopfte Würze von hellem Malz vor der Gährung 0,217 pC. Stickstoff, nach der Gährung 0,134 pC. Stickstoff gab; es blieben demnach nur 0,083 pC. des ganzen Stickstoffgehaltes der Würze in der Hefe, der Rest ging wieder in die gährende Flüssigkeit über oder blieb in derselben. Die zahlreichen Stickstoffbestimmungen des Bieres von Feichtinger (Ann. Ch. Ph. CXXX, 227) ergaben in den bayrischen Bieren einen constanten und durchschnittlich einen noch grösseren Stickstoffgehalt.

Nach den Erfahrungen in der Bierbrauerei vermehrt sich die der Würze zur Einleitung der Gährung zugesetzte Hefe um das 18- bis 20 fache, das heisst für 100 Hefe in brei-

artigem Zustand erhält man 1800 bis 2000 Hefe von derselben Beschaffenheit.

Bei der Gährung des Zuckers mit Hefe kann selbstverständlich keine Vermehrung der Hefe statthaben, denn in reinem Zuckerwasser fehlt es an dem zur Ernährung der Hefenzellen nothwendigen schwefel- und stickstoffhaltigen Bestandtheile.

Herr Pasteur hat sich über diesen Vorgang eine eigene Ansicht gebildet; er sagt: „Wenn man diese Dinge näher prüft, so überzeugt man sich, dass in der Gährung der Zuckerarten bei Gegenwart von Albuminaten sich *nicht mehr*, sondern *eher weniger Hefe bildet, als in der Gährung von reinem Zuckerwasser.*“

Wenn man unter *Vermehrung* der Hefe sich die Zunahme und Vermehrung von Hefenzellen denkt, so ist die Behauptung von Pasteur völlig unverständlich und mit den von ihm selbst ermittelten Thatsachen im Widerspruche.

In einem seiner Versuche hatte er 20 CC. einer wässrigen Abkochung von Hefe, welche 0,334 stickstoffhaltige Substanz enthielt, zu einer Lösung von 9,899 Grm. Zucker und dazu eine Spur Hefe gesetzt; die Flüssigkeit kam in Gährung und nach Vollendung derselben hatte sich 0,152 Grm. trockene Hefe erzeugt. Wenn man unter einer Spur Hefe 2 Mgrm. Hefe annimmt, so würde diese mithin um das 76fache vermehrt; 100 Hefe wurden zu 7600.

In seinen Versuchen mit Zuckerwasser und Hefe (S. 491) und zwar in dem mit A bezeichneten, liess er 100 Grm. Zucker mit 4,625 Grm. Hefe vergähren; die Hefe wog nach der Gährung 3,230 Grm.; sie hatte mithin 30 pC. am Gewichte verloren; 100 Hefe wurden zu 70; in dem Versuche B wurden 100 Hefe zu 91.

Bei sehr viel Zucker und wenig Hefe nahm das Gewicht des Hefenrückstandes zu; die stärkste Zunahme hatte er im Versuche F, in welchem er 100 Zucker mit 1,198 Grm. Hefe

vergähren liess; der Hefenrückstand wog 1,700; 100 Hefe wurden zu 142.

Vergleicht man die Gewichtszunahme des ersterwähnten Versuches, in welchem die Hefe um das 76 fache, mit dem anderen, in welchem ihr Gewicht nur um 42 pC. vermehrt wurde, so ist der Unterschied ausserordentlich gross und man versteht leicht den Grund; in dem ersteren war in der gährenden Flüssigkeit eine Materie vorhanden, die zur Ernährung und Fortpflanzung der Hefenzellen dienlich war, in dem anderen fand die Gährung in reinem Zuckerwasser statt.

Unter einer Vermehrung der Hefe kann nichts anderes gedacht werden, als eine Vermehrung der Hefenzellen; eine Zunahme von Hefenzellen setzt aber das Vorhandensein einer stickstoffhaltigen Substanz zur Bildung ihres stickstoffhaltigen Inhaltes voraus. In dem reinen Zuckerwasser ist aber keine stickstoffhaltige Substanz; es ist demnach unmöglich anzunehmen, dass sich in der Gährung des Zuckers mit Hefe die Anzahl der wirksamen Hefenzellen vermehren könnte; die Gewichtszunahme muss einen anderen Grund haben.

Zur Begründung seiner Behauptung ist aber Pasteur von ganz anderen Voraussetzungen ausgegangen. Wenn man nämlich eine vergohrene Zuckerlösung zur Trockne abdampft, so bleibt nach Behandlung mit einer Mischung von Aether und Alkohol (zur Entfernung der Bernsteinsäure und des Glycerins) ein Rückstand, welcher stickstoffhaltig ist und dessen Bestandtheile nach Pasteur von der Hefe stammen; er bezeichnet sie als „lösliche Theile der Hefe, welche während der Gährung an die Flüssigkeit treten; sie müssen, so sagt er, der Hefe, welche nach der Gährung bleibt, hinzugerechnet werden, um die wahre Gewichtszunahme derselben zu erhalten. In dieser Weise findet er im Versuche A, dass die löslichen Theile der gegohrenen Flüssigkeit 2,320 Grm. betragen haben, und diese dem Hefenrückstand = 3,230 Grm. zugerechnet, findet er zusammen 5,550 Grm. Hefe, mithin 0,934 Grm.

mehr, als er Hefe genommen hatte. Das Deficit von 33 pC. verwandelt er in dieser Weise in einen Ueberschuss von 20 pC. — Es ist ganz richtig, dass die Flüssigkeit nach der Gährung einen stickstoffhaltigen Körper enthält, welcher von der Hefe geliefert worden sein musste; dass aber nicht alle Bestandtheile des Rückstandes, den diese Flüssigkeit nach dem Abdampfen hinterlassen, Hefenbestandtheile sind, dafür hat Pasteur selbst den überzeugendsten Beweis geliefert.

In dem § V seiner Abhandlung, welche die Ueberschrift hat: „*Die Bernsteinsäure, das Glycerin, der Alkohol und die Kohlensäure sind nicht die einzigen Produkte der Alkoholgährung*“ beschreibt er folgenden Versuch: er liess 100 Grm. Zucker mit Hefe vergähren und er bestimmte in der gegohrenen Flüssigkeit die Bernsteinsäure, das Glycerin und die extractiven Materien.

Die zur Gährung verwendete Hefe wog 1,198 Grm., die extractiven Materien (frei von Bernsteinsäure und Glycerin) 1,130 Grm., die rückständige Hefe 1,700. Das Gewicht der extractiven Stoffe betrug mithin nur 68 Mgrm. weniger als das der verwendeten Hefe, und es ergibt sich hieraus ganz von selbst, dass weitaus der grösste Theil dieses extractiven Rückstandes nicht von der Hefe geliefert worden sein konnte, es hätte sonst keine Hefe übrig bleiben können; es blieb aber mehr, als Pasteur verwendet hatte, zurück.

Die Gährungsversuche von Graham, Hofmann und Redwood dürften, wie ich glaube, noch in Betracht gezogen werden, um für die Beobachtung von Pasteur weitere Beweise zu liefern, dass der grösste Theil des Rückstandes nicht von der Hefe stammt. Sie erwähnen in der angeführten Arbeit, dass sich bei der Gährung des Zuckers, wie weit man diese auch treiben möge, neben Alkohol und Kohlensäure eine eigenthümliche Substanz bildet, und zwar in reinen

Rohrzucker- oder Traubenzuckerlösungen so gut wie in Bierwürze. Eine Lösung von Rohrzucker in 7 Wasser in drei Versuchen mit $1\frac{1}{2}$, 3 und 6 Volumprocenten flüssiger Hefe versetzt, enthielt nach der Gährung beziehungsweise 4,4, 3,72 und 3,7 pC. dieser in ihren Eigenschaften an Caramel oder Glucinsäure erinnernden, nicht mehr gährungsfähigen Substanz; es war ein dunkelbrauner extractartiger Syrup von bitterem und etwas saurem Geschmack, und erwies sich als ein Gemenge verschiedener Stoffe, aber frei von Dextrin und Zucker, obwohl sie aus alkalischen Kupferoxydlösungen im Sieden Oxydul niederschlug.

Diese Rückstände sind allerdings vor der Wägung nicht mit Alkohol und Aether ausgewaschen worden, aber die Vergleichung ihres Gewichts mit dem der Hefenmenge zeigt augenscheinlich, dass zwischen beiden keine Beziehung besteht; diese Rückstände sollten in einem gewissen Verhältnisse zunehmen mit dem Gewichte der Hefe, aber sie betragen für die doppelte und dreifache Hefenmenge nicht mehr wie für die einfache, und zuletzt reduciren weder Bernsteinsäure noch Glycerin die alkalischen Kupferlösungen.

Es kann demnach nicht gestattet sein, die nach der Gährung in der Flüssigkeit bleibenden extractiven Stoffe als Bestandtheile der Hefe in Rechnung zu nehmen und sie dem Hefenrückstand zuzurechnen, wie diess von Pasteur geschehen ist.

In einer zuckerhaltigen Flüssigkeit, welche einen zur Ernährung des Hefenpilzes geeigneten stickstoff- und schwefelhaltigen Körper enthält, vermehrt sich die Anzahl der wirk-samen Hefenzellen unter Umständen um das Tausend- und Mehrfache und der Gehalt an stickstoffhaltiger Materie nimmt in der Flüssigkeit ab. In einer mit Hefe versetzten Zuckerlösung empfängt die Flüssigkeit während der Gährung von der Hefe eine gewisse Menge stickstoffhaltiger Substanz; die Hefe nimmt dadurch an Wirksamkeit ab, sie zersetzt zum

Zweitenmale mit Zuckerwasser in Berührung weniger Zucker. Ich habe gefunden, dass wenn die nach der Gährung des Zuckerwassers übrigbleibende Hefe mit Wasser jedesmal ausgewaschen wird, nach ihrer dritten Verwendung neues Zuckerwasser nicht mehr in Gährung damit versetzt wird; unausgewaschen brachte sie, zum Fünftenmale verwendet, noch eine sehr schwache Gährung hervor, sie war aber alsdann völlig erschöpft.

Der Verlauf der Gährung von Zuckerwasser mit Hefe und der von Zuckerlösungen, welche stickstoffhaltige, zur Ernährung des Hefenpilzes geeignete Materien enthalten, ist demnach in Beziehung auf die Bildung und Vermehrung von Hefenzellen verschieden und die Behauptung Pasteur's, dass sich in beiden Fällen eben so viel Hefe bilde, im ersteren Falle der Gährung von reinem Zuckerwasser eher mehr als in dem anderen, entbehrt einer jeden thatsächlichen Begründung.

Ich habe, wie Pasteur, gefunden, dass wenn man zu 1000 CC. Zuckerwasser, welches 10 pC. Zucker enthält, 15 bis 20 CC. feuchte Hefe setzt, worin $3\frac{1}{2}$ bis 5 Grm. Trockensubstanz, dass in diesem Fall nach der Gährung das Gewicht der rückbleibenden Hefe kleiner ist, als das der verwendeten Hefe in frischem Zustande; die Mischung geht bei diesem Verhältnisse in eine rasch verlaufende oft stürmische Gährung über, nach 3 bis 4 Tagen schon klärt sich die Flüssigkeit. Das Trübbleiben derselben kann als ein ziemlich sicheres Zeichen angesehen werden, dass die Gährung noch fortdauert; diess ist ein den Brauern wohlbekanntes Merkzeichen.

Meine Versuche bestätigen ferner die von Pasteur festgestellte Thatsache, dass wenn man weniger Hefe zum Zuckerwasser als das oben angeführte Verhältniss zusetzt, dass in diesem Falle das Gewicht der Hefe nach der Gährung nicht ab, sondern um 5, oft um 12 pC. zunimmt. Der Grund

dieser Gewichtszunahme ist von Pasteur betont worden, und ich glaube, jetzt ganz bestimmte Beweise dafür liefern zu können; die Gewichtszunahme beruht auf dem merkwürdigen Verhalten der stickstoffhaltigen Materie, welche die Hefe während der Gährung verliert, als Nährstoff zur Bildung neuer Hefenzellen dienen zu können.

Man versteht jetzt leicht, wie und in welcher Weise die Hefe an Gewicht zunimmt.

Beim Beginne und einer gewissen Dauer der Gährung tritt ein Theil des stickstoffhaltigen Bestandtheils des Hefenzelleninhalts an die Flüssigkeit, welche noch reich ist an Zucker, und die restirende lebende Hefe verhält sich jetzt zu dieser Flüssigkeit wie frische Hefe, die man zu Bierwürze gesetzt hat; sie sprosst und es bilden sich neue Zellen, welche die aufgelöste stickstoffhaltige Materie zur Wiederherstellung des ursprünglichen activen Zelleninhaltes verwenden; indem diese neuen Zellen auf den Zucker wirken, tritt wieder stickstoffhaltige Materie aus, und diess kann Monate lang so fortgehen.

Mit der Erzeugung frischer Zellen geht die Bildung neuer Zellenwände parallel, und da diese aus Cellulose bestehen, so vermehrt sich das Gewicht der Hefe um das Gewicht der hinzugekommenen Cellulose. Das Gewicht der Hefe nimmt zu, aber ihr relativer Stickstoffgehalt nimmt stetig ab.

Der eben beschriebene Vorgang lässt sich in folgender Weise versinnlichen. Wenn man 1 Liter zehnprocentiges Zuckerwasser mit 15 CC. feuchtem Hefenbrei vollständig vergähren lässt und filtrirt die über der restirenden Hefe stehende klare Flüssigkeit zwei bis dreimal durch doppelte Filter, so ist darin keine Spur einer organisirten Substanz nachweisbar. Wenn jetzt diese Flüssigkeit zur Entfernung des Alkohols zum Sieden erhitzt und eine Stunde lang im

Sieden erhalten wird, so bleiben etwa 450 bis 500 CC. Flüssigkeit, worin, wie erwähnt, der stickstoffhaltige Körper ist, den die Hefe in der vorangegangenen Gährung abgegeben hat. Löst man in dieser Flüssigkeit 30 bis 40 Grm. Zucker auf und setzt, wenn sie bis auf etwa 20° erkaltet ist, eine Spur Hefe zu ¹⁾, und überlässt sie in einer kleinen Flasche (die mit einer Caoutchouckapsel verschlossen und einer Gasleitungsröhre versehen ist, die in Wasser taucht) sich selbst, so bemerkt man nach zehn Stunden eine deutliche Gasentwicklung und am Boden einen sichtbaren Absatz von Hefe. Die Gasentwicklung nimmt fortwährend zu, und nach 3 bis 4 Tagen beträgt die erzeugte Hefe im feuchten breiartigen Zustande 450 bis 600 Mgrm. Nach 8 bis 10 Tagen ist der Zucker vollkommen verschwunden. Verfährt man mit dieser Flüssigkeit, die zum Zweitenmale gedient hat, wie mit der ersten, d. h. filtrirt man sie von der abgesetzten Hefe ab, dampft wieder zur Hälfte ein, setzt wieder Zucker und eine Spur Hefe zu, so wiederholt sich dieser Vorgang; es tritt wieder Gährung ein unter Bildung neuer Hefe.

In dieser Weise ist es mir gelungen, in einer und derselben Flüssigkeit viermal nacheinander Hefe von voller Wirksamkeit zu erzeugen, die sich also zu Zuckerwasser verhielt, wie frische Hefe.

Die einzige Vorsicht, welche man gebrauchen muss, um des Gelingens sicher zu sein, ist die, dass man nach der Vollendung der ersten und der folgenden Gährungen die abfiltrirte und eingedampfte Flüssigkeit mit kohlensaurem Kali genau neutralisirt; die gegohrenen Flüssigkeiten sind immer sauer und die vorhandene Säure vermehrt sich absolut in jeder der auf einander folgenden Gährungen, und relativ

1) Ich nehme dazu Hefenbrei von der Grösse eines Stecknadelknopfes, den ich in 10 CC. Wasser vertheile; hiervon nehme ich 1 CC.

durch die in Folge des Abdampfens wachsende Concentration der Flüssigkeit.

Die Dauer der Gährung bei geringen Hefenmengen oder die sogenannte Nachgährung beruht also darauf, dass der in Folge des Umsatzes in der Hefenzelle an die Flüssigkeit getretene stickstoff- und schwefelhaltige Bestandtheil derselben, der für sich das Vermögen nicht hat, den Zucker in Kohlensäure und Alkohol zu spalten, dieses Vermögen wieder gewinnt; und diess geschieht dadurch, dass er als Nährstoff zur Erzeugung neuer Hefenzellen dient und in der Zelle selbst die Form der Verbindung wieder gewinnt, in welcher er die Zersetzung des Zuckers hervorbringt.

Während der Gährung tritt in den Hefenzellen eine Theilung des stickstoffhaltigen Zelleninhaltes ein, ein Theil desselben bleibt in der unwirksam gewordenen Zelle in unlöslichem Zustande stets zurück, und diess ist der Grund, warum die Wirkung der Hefe zuletzt eine Grenze hat. Wenn alle stickstoffhaltigen Bestandtheile austreten würden und die Fähigkeit behielten, immer wieder aufs Neue zur Erzeugung von Hefe zu dienen, so würde der Vorgang der Gährung ein wahres Perpetuum mobile darstellen, einer arbeitenden Maschine gleich, die in sich selbst die Kraft zur Arbeit stets wiedererzeugt.

In den beschriebenen Fällen der Gährung des Zuckerwassers mit ausgewaschener Bierhefe hat man so ziemlich ein Bild aller ähnlichen Gährungen; bei einem gewissen Verhältniss Bierhefe verläuft die Gährung rasch und die Hefe nimmt an Gewicht ab; bei sehr wenig Hefe kann, wie in der Nachgährung der Weine, die Gährung Monate- oder Jahrelang dauern; in diesem Falle nimmt die Hefe an Gewicht zu.

Man kann sich denken, dass der Vorgang in beiden Fällen gleich sei, und dass nur die Menge der Hefe den Unterschied mache; wäre aber die fortdauernde Zellen-

bildung eine nothwendige Bedingung der rasch verlaufenden Gährungen, so müsste die Anzahl der Zellenbälge und damit das Gewicht der Cellulose in einem ähnlichen Verhältnisse wie bei der langsamen Gährung zunehmen, aber das Gewicht der rückbleibenden Hefe nimmt in der rasch verlaufenden Gährung ab.

Wenn man von blossen Meinungen absieht, so beschränkt sich unsere thatsächliche Kenntniss von der Hefe und ihren Wirkungen auf Folgendes:

Die Hefe besteht aus Pflanzenzellen, die sich in einer Flüssigkeit entwickeln und vermehren, welche Zucker und ein Albuminat oder einen von einem Albuminate stammenden Körper enthält; die Hauptmasse des Zelleninhaltes besteht aus einer Verbindung von einem stickstoff- und schwefelhaltigen Körper mit einem Kohlehydrate oder Zucker.

In der Hefe tritt von dem Momente an, wo sie sich fertig gebildet hat und in reinem Wasser sich selbst überlassen wird, eine moleculare Bewegung ein, die sich in der Umsetzung der Bestandtheile des Zelleninhaltes äussert. Das in derselben enthaltene Kohlehydrat (oder Zucker) zerfällt in Kohlensäure und Alkohol und ein kleiner Theil seines schwefel- und stickstoffhaltigen Bestandtheiles wird löslich und behält die in ihm eingetretene moleculare Bewegung in der Flüssigkeit bei; in Folge derselben hat dieser Stoff das Vermögen, Rohrzucker in Traubenzucker überzuführen.

An diesem Vorgange nimmt kein Körper von Aussen ausser Wasser Antheil.

Wenn einer Mischung von Hefe und Wasser Rohrzucker zugesetzt wird, so tritt zunächst dessen Umwandlung in Traubenzucker ein, und die durch die Zellenwände der Hefe eindringenden Zuckertheilchen verhalten sich in der Zelle selbst wie der Zucker oder das Kohlehydrat, welches ein Bestandtheil des Zelleninhaltes ist, sie zerfallen in

Folge der auf sie einwirkenden Thätigkeit in Alkohol und Kohlensäure (oder Bernsteinsäure, Glycerin und Kohlensäure); es tritt, wie man alsdann sagt, die Gährung des Zuckers ein.

Es ist bis jetzt kein wohlerwiesener Fall bekannt, in welchem sich Hefe ohne Zucker gebildet hat oder in welchem Zucker in Kohlensäure und Alkohol zerfallen ist ohne Gegenwart und Mitwirkung von Hefenzellen²⁾.

Es ist von Schlossberger beobachtet worden (Ann. Ch. Ph. LII, 118), dass viele saftige Schwämme (z. B. Agar. russula etc.) in einer Flasche mit enger, aber nicht verschlossener Oeffnung aufbewahrt, ganz von selbst in geistige Gährung übergegangen, so dass sich aus dem ausgepressten

2) Es soll damit nicht gesagt sein, dass es ausser dem organisirten Hefenferment kein anderes geben könne, welches Zucker in Alkohol und Kohlensäure zu spalten vermöge; ich glaube in dieser Beziehung die Aufmerksamkeit auf die höchst merkwürdigen Eigenschaften des von Ed. Schunck entdeckten Krappfermentes (Erdmann und Werther's Journal f. prakt. Chemie Bd. LXIII, 222) lenken zu sollen. Schunck zeigte, dass im Krapp und seinen wässerigen Extracten sich in mässiger Temperatur ein Gährungsprozess einstellt, in dessen Folge das Rubian zersetzt und eine Anzahl von neuen Verbindungen gebildet werden, unter denen das Alizarin besonders merkwürdig ist. Weder Hefe, noch Casein sind im Stande, das Rubian zu zersetzen, und Emulsin zeigt eine unvollkommene Wirkung. Das Krappferment, welches Schunck Erythrozym nennt, erhält man durch Fällung eines mit Wasser von 38° C. bereiteten Auszugs von Krapp mit verdünnter Salzsäure in Gestalt eines braunen flockigen Niederschlages; es bringt im zweiten Stadium seiner Zersetzung in Zuckerlösungen eine wahre Alkoholgährung hervor; er entdeckte bei dieser Gelegenheit Bernsteinsäure unter den Gährungsproducten (1854), die übrigens schon im Jahr 1848 in allen gegohrenen Flüssigkeiten von C. Schmidt in Dorpat aufgefunden und nachgewiesen worden war. (S. Handwörterbuch, Bd. III, 224.)

Safte durch Destillation Alkohol gewinnen liess; *es traten hierbei* echte Hefenzellen auf.

Die Bedeutung des pflanzlichen Organismus für die Erscheinung der Gährung scheint hiernach klar zu sein, insofern nur durch dessen Vermittelung ein Albuminat und Zucker in der Flüssigkeit, worin sich der Hefepilz entwickelt, zu der eigenthümlichen Verbindung, oder wenn man will, in der losen Form vorübergehend zusammentreten können, in welcher allein sie als Bestandtheil des Pilzes eine Wirkung auf den Zucker äussern; wenn der Pilz nicht mehr wächst, so löst sich das Band, was die Bestandtheile des Zelleninhaltes zusammenhält, und es ist die in demselben eingetretene Bewegung, wodurch die Hefenzellen eine Verschiebung oder Spaltung der Elemente des Zuckers und anderer organischen Molecule bewirken.

Wir kennen, wie erwähnt, eine ganze Anzahl von organischen Verbindungen, in welchen bei Gegenwart von Wasser eine Veränderung und Umsetzung beginnt, die eine gewisse Dauer hat und mit Fäulniss endigt, und wissen, dass andere organische Stoffe, die für sich einer ähnlichen Umsetzung nicht fähig sind, mit diesen in Berührung, eine ganz ähnliche Verschiebung oder Spaltung in ihren Moleculen erleiden, wie der Zucker in Berührung mit Hefe, ohne Mitwirkung einer vitalen Thätigkeit.

Wenn die Moleculararbeit oder der Umsatz des Zelleninhaltes aufgehoben wird, so hört damit auch ihre Wirkung auf den Zucker auf, und so kann z. B. in schwachem Kreosotwasser (Béchamp) oder einer schwachen Lösung von Carbolsäure (Dr. v. Pettenkofer) oder auch in Flüssigkeiten, welche wie Wein eine gewisse Menge Alkohol und Säure enthalten, die Hefe viele Monate lang ihre volle Wirksamkeit behalten.

Man versteht, dass die Producte, die sich in der Gährung der Hefe für sich und in Berührung mit Zucker aus dem

stickstoff- und schwefelhaltigen Bestandtheil desselben bilden, nicht identisch sein können, da dem Zucker, der in die Zelle eindringt, eine Gegenwirkung zugeschrieben werden muss, durch welche die Richtung der Lagerung der Theilchen des stickstoffhaltigen Körpers eine andere wird; die Flüssigkeit, welche von für sich gegohrener Hefe abfiltrirt wird und reich an stickstoffhaltigen Substanzen ist, ist übrigens zur Zellenbildung sehr geeignet.

Ich habe erwähnt, dass die Hefe, einer Temperatur von 60° C. ausgesetzt, ihr Vermögen, von selbst in Gährung überzugehen, verliert; in gleicher Weise verhält sich eine in voller Gährung befindliche zuckerhaltige Flüssigkeit; wird sie in einem Wasserbade bis auf 60° erwärmt, so ist die Gährung unterdrückt und sie stellt sich beim Erkalten nicht wieder ein. Das vortreffliche Verfahren Pasteurs, den Wein haltbar zu machen, indem man ihn bis auf 60° erwärmt, scheint mit diesem Verhalten der Wärme zur Hefe in Verbindung zu stehen.

Ich habe bemerkt, dass die Hefe während des Faulens lange Zeit hindurch das Vermögen behält, in Zuckerlösungen Gährung hervorzubringen. Der Punkt, in welchem Fäulniss eintritt, lässt sich leicht erkennen, wenn man der Hefe etwas Salpeterlösung zusetzt; wenn sie für sich oder mit Zuckerwasser gährt, bringt sie in dem Salpeter keine Veränderung hervor; sobald sie zu faulen beginnt, verwandelt sich das salpetersaure Salz in salpetrigsaures; eine Probe der Flüssigkeit mit Stärkekleister und Jodkalium versetzt, gibt alsdann beim Zusatz von sehr verdünnter Schwefelsäure eine tiefblaue Färbung von Jodstärkmehl.

Ich habe eine Portion Hefe vom Beginne der Fäulniss an fünf Wochen lang sich selbst überlassen und von vier zu vier Tagen Proben dieser faulenden Hefe zu Zuckerwasser gesetzt; auch nachdem sie in die stinkendste Fäulniss übergegangen war, trat in diesen Mischungen Gährung ein, in

welcher der üble Geruch derselben regelmässig verschwand. Die Menge des gebildeten Alkohols nimmt übrigens ab und es entstehen neben Kohlensäure noch andere Producte, die ich nicht weiter untersucht habe.

In Beziehung auf die Bildung und Entwicklung des Hefenpilzes hat Pasteur eine Beobachtung gemacht, welche den bisherigen Ansichten eine neue Richtung gegeben hat.

Man glaubte bis dahin, dass der Hefenpilz sich wie andere Pilze entwickele, welche als Schmarotzer ihre Hauptbestandtheile von Pflanzentheilen oder Thierüberresten empfangen, im Besonderen, dass zu dessen Fortpflanzung und Vermehrung neben den Phosphaten ein Albuminat oder ein davon abgeleiteter Stoff nothwendig sei. Die Versuche von Pasteur scheinen aber ausser Zweifel zu stellen, dass die Hefe sich fortzupflanzen vermag in Mischungen, welche weinsaures Ammoniak, Zucker und die Aschenbestandtheile der Bierhefe enthalten.

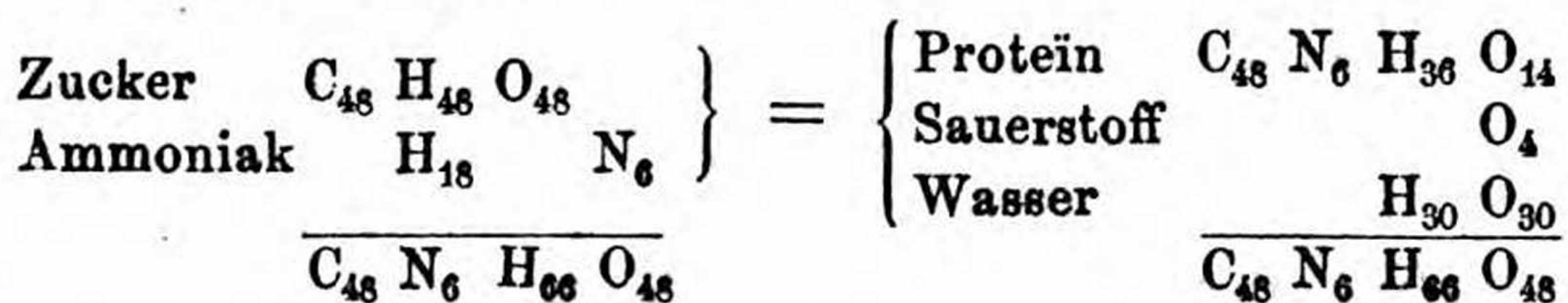
Es ist zu verwundern, dass diese Entdeckung in einer besonderen Beziehung nicht mehr Aufmerksamkeit auf sich gezogen hat, da sie eine für die Pflanzenphysiologie sehr bedeutungsvolle Thatsache in sich einschliesst: die Bildung nämlich der Albuminate in den Pflanzen, über die wir kaum mehr als Vermuthungen haben; sie ist bis jetzt als eines der grössten Räthsel in der organischen Natur angesehen worden.

Wir haben die organischen Säuren in den Pflanzen, die Oxalsäure, Aepfelsäure, Citronensäure u. s. w., als Zwischenglieder angesehen zwischen der Kohlensäure, dem Zucker, Stärkmehl, Cellulose u. s. w., welche den allmäligen Uebergang der Kohlensäure in einen Pflanzenbestandtheil vermitteln; aber für die Erzeugung der Albuminate in den Pflanzen finden wir in den Nährpflanzen, welche am reichsten daran sind, keine stickstoffhaltige Substanz, ausser Ammoniak, an die wir ihre Bildung knüpfen könnten.

Dieses Problem schien durch die Versuche Pasteur's

gelöst zu sein; denn wenn in einer Mischung von Ammoniak, Weinsäure, Zucker und Phosphaten die eingebrachten Hefenpilze sich fortpflanzen und vermehren können, so muss sich nothwendig aus den Elementen dieser Mischung ein Albuminat gebildet haben, da einer der Hauptbestandtheile des Hefenpilzes ein Albuminat ist; in jeder der neu hinzugekommenen Hefenzellen muss eine gewisse Menge neuerzeugter Albuminate vorhanden sein, ohne die Gegenwart desselben würden sich keine echten Hefenzellen haben bilden können.

Ich habe vor 25 Jahren in einer Note über die Entstehung des Albumins in den Pflanzen (s. Ann. Ch. Ph. LI, 287) die Aufmerksamkeit darauf gelenkt, dass das Albumin in den Pflanzen, möglicher Weise durch die Vereinigung von Ammoniak und Zucker und durch Austrreten von Wasser und Sauerstoff entstehen könne:



Die als Protein hier aufgeführte Substanz enthält die nämlichen Elemente in demselben Verhältnisse wie das Casein, den Schwefel des letzteren nicht eingerechnet, von dem ich allerdings nicht anzugeben weiss, in welcher Form er hinzugetreten ist.

Die Vorstellung der Erzeugung von einem Albuminate aus Ammoniak und Zucker hatte demnach für mich nichts Auffallendes, sie war mir eher befreundet, aber an die Bildung desselben in einem Pilze konnte ich wohl nicht denken, denn ohne Ausscheidung von Sauerstoff aus dem Zucker war sie nicht möglich; der Hefenpilz entwickelt sich aber beim völligen Abschluss des Lichtes und bis jetzt ist eine Ausscheidung von Sauerstoff bei Pilzen noch niemals wahrgenommen worden.

Wenn man die Versuche genauer betrachtet, welche dem Hauptversuche Pasteur's vorhergegangen sind und die ihn

darauf geleitet haben, so wird man einige Bedenken kaum unterdrücken können.

Pasteur hatte nämlich einer Zuckerlösung weinsaures Ammoniak zugesetzt und nach der Gährung derselben weniger Ammoniak in der Flüssigkeit vorgefunden, als er zugesetzt hatte, und er schloss daraus, dass das verschwundene Ammoniak eine Verbindung eingegangen und zwar zur Bildung von Hefe gedient haben müsse; die drei Hauptversuche, die er in Beziehung auf das Verschwinden des Ammoniaks angestellt hat, sind folgende:

- I. 100 Grm. Zucker, aufgelöst in 1 Liter Hefenwassers, versetzte er mit einer Spur Hefe und überliess die Mischung der Gährung.
 Das Hefenwasser enthielt . . . 0,038 Grm. Ammoniak
 Die gegohrene Flüssigkeit . . . 0,020 „ „
 Es waren verschwunden 0,017 Grm.
- II. 100 Grm. Zucker, 10 frische Hefe wurden mit 0,200 weinsaurem Ammoniak versetzt. Vor der Gährung befand sich in der Flüssigkeit . . . 0,0185 Grm. Ammoniak
 Nach der Gährung befand sich in der Flüssigkeit . . . 0,0015 „ „
 Es waren verschwunden 0,0170 Grm.
- III. 19,575 Grm. Zucker, 0,525 Hefe und 0,475 weinsaures Ammoniak.
 In der Flüssigkeit war vor der Gährung 0,088 Grm. Ammoniak
 „ „ „ „ nach der Gährung 0,071 „ „
 Es waren verschwunden 0,017 Grm.

In diesen drei Versuchen verhielt sich die Menge des in der gährenden Flüssigkeit enthaltenen Ammoniaks wie 1 : 2 : 5, und es muss doch ziemlich auffallen, dass die Menge des verschwundenen nahe gleich war, 18 Mgrm. im ersten und 17 Mgrm. in den beiden anderen Versuchen; es ist ferner nicht wohl erklärbar, dass in diesen drei Gährmischungen ein Theil von dem zugesetzten Ammoniak zur Bildung eines stickstoffhaltigen Bestandtheiles gedient haben solle, während in der gegohrenen Flüssigkeit noch Stickstoff-

verbindungen rückständig bleiben, welche sich zur Ernährung von Hefenzellen vortrefflich und sicherlich weit besser als das Ammoniak eignen; ohne Ammoniakzusatz würde die Gährung in den drei Mischungen ganz denselben Verlauf gehabt haben.

Das Gleichbleiben des Ammoniakverlustes bei sehr ungleichen Mengen Ammoniak in der gährenden Flüssigkeit scheint eher auf einen gemeinschaftlichen Irrthum in der Bestimmungsmethode des Ammoniaks hinzudeuten; ich will aber dieser Vermuthung kein Gewicht beilegen. Die Feststellung der allerwichtigsten Thatsache, die Vermehrung der Hefe durch das in der Gährmischung vorhandene Ammoniak, ist nämlich von Herrn Pasteur ganz unbeachtet gelassen worden.

Es ist klar, dass wenn er der einen von zwei Mischungen einer gewissen Menge Zucker und dem gleichen Volumen Hefenwassers und Spuren Hefe ein Ammoniaksalz zugesetzt hätte, so würde er in beiden Fällen einen Unterschied in der erzeugten Hefenmenge haben wahrnehmen müssen. Wäre das Ammoniak zur Erzeugung von Hefe verwendbar gewesen, so würde die Mischung mit dem Ammoniaksalz mehr Hefe haben liefern müssen, wie die andere ohne Ammoniak.

Die Fähigkeit des Ammoniaks, zur Bildung der Hefe zu dienen, ist also nicht daraus erschlossen worden, dass durch seine Gegenwart die Hefenmenge vermehrt worden ist, sondern daraus, dass die Bestimmung des Ammoniaks auf analytischem Wege in der gegohrenen Flüssigkeit einen Verlust ergab. Den allein gültigen Beweis für seine Ansicht, dass das Ammoniak zur Erzeugung von Hefe gedient habe, ist Pasteur, wie erwähnt, uns schuldig geblieben.

Aus den Versuchen von Duclaux (Compt. rend. LIX, 450) sollte man schliessen, dass das Ammoniak auf die Bildung der Hefe keinen Einfluss habe; er liess 40 Grm. Zucker mit 15 Grm. Hefe und 1 Grm. rechtsweinsaurem

Ammoniak vergähren und fand, dass sich die Hefe von 2,5011 Grm. auf 2,326 Grm., also um 8 pC. vermindert hatte, ähnlich wie in den Pasteur'schen Versuchen ohne Ammoniak. In allen Flüssigkeiten aber, worin sich Stoffe befinden, die zur Ernährung der Hefe geeignet sind, vermehrt sich die Hefe.

Ich will aber auf diese Betrachtungen kein weiteres Gewicht legen, sondern ich wende mich jetzt zu seinen Hauptversuchen, durch die er die Bildung von Hefe aus stickstofffreien Substanzen und Ammoniak direct dargethan zu haben glaubt.

Wenn man

10 Grm. Zucker,
100 CC. Wasser,
0,100 Grm. weinsaures Ammoniak,
0,075 bis 0,080 Grm. Hefenasche

mit einer Spur Hefe versetzt, so stellt sich in dieser Mischung in wenigen Stunden eine Kohlensäureentwicklung ein; der Zucker wird zum Theil zersetzt und die Hefe vermehrt; es waren verschwunden 0,0062 Grm. Ammoniak (= 5,2 Mgrm. Stickstoff) und die erzeugte Hefe wog 0,043 Grm., welche den Stickstoff des Ammoniaks, d. i. über 11 pC. Stickstoff enthalten musste.

Pasteur hat den Verlauf dieses Versuches sehr genau angegeben, und man kann, wie ich glaube, mit ziemlicher Sicherheit aus seiner Beschreibung entnehmen, dass im Wesentlichen sich keine Alkoholgährung, sondern eine wahre Milchsäuregährung eingestellt hatte; es war zwar Alkohol merklich gebildet worden, aber er ist von ihm nicht bestimmt worden, ich vermuthe, weil seine Menge zu gering war; es waren aber $4\frac{1}{2}$ Grm. Zucker zersetzt worden; der Zucker war zum grossen Theile in eine organische Säure verwandelt, deren Menge 0,597 Schwefelsäure äquivalent war; die organische Säure bestand zum grossen Theil aus Milchsäure.

Ich habe diesen Versuch vielmals mit der grössten Sorgfalt wiederholt und bis auf die Bildung und Vermehrung der Hefe nahe die nämlichen Resultate, wie Pasteur, erhalten. Die einzige Veränderung, die ich mit den Mischungen vornahm, bestand darin, dass ich die Flüssigkeiten zum Sieden erhitzte und in dem Gefässe erkalten liess, ehe die Hefe zugesetzt wurde. In einem anderen Falle nahm ich Zucker, der vorher auf 160° erhitzt worden war, bei welcher Temperatur er bekanntlich sein Gährungsvermögen nicht verliert³⁾; auch ich fand, dass sich nach 12 Stunden etwas Kohlensäure entwickelt und dass der Zucker zum grossen Theil in eine organische Säure übergeht, deren Natur ich nicht weiter bestimmte.

Ich habe von einer dieser Mischungen 25 C. M. abdestillirt und das specifische Gewicht des Destillates bestimmt; es war 0,99968 und demnach von dem des destillirten Wassers kaum verschieden; mit Hülfe der feinen Probe von Lieben liess sich aber Alkohol darin nachweisen.

Eine Zersetzung findet unter diesen Umständen zweifellos statt und auch eine Alkoholbildung, die wahrscheinlich der zugesetzten Hefe, so klein deren Menge auch war, entspricht; aber der ganze Verlauf hat keine Aehnlichkeit mit dem, der sich in einer Zuckerlösung einstellt, welcher man so viel stickstoffhaltige Materie zugesetzt hat, als dem Stickstoffgehalte von 0,100 Grm. neutralem weinsaurem Ammoniak = 15,2 Mgrm. Stickstoff entspricht; in einer Mischung z. B. von 100 CC. Zuckerwasser, worin 5 Grm. Zucker und 16 CC. einer Abkochung von frischer Hefe, tritt, nach Zusatz einer Spur Hefe, nach acht Stunden eine deutliche Gährung ein, es entwickeln sich unausgesetzt, langsam auf einander fol-

3) Nach Analysen von Prof. Volhard, welche Prof. Nägeli veranlasst hat, enthält der anscheinend weisseste, wasserhelle Kandiszucker stets nahe an $\frac{1}{2}$ pC. Stickstoff.

gend, Blasen von kohlensaurem Gas, und der Boden des Gefässes bedeckt sich mit einer deutlichen, sehr weissen Schicht von Hefe, deren Höhe zunimmt, bis aller Zucker zersetzt ist.

Ich weiss wohl, dass ein negatives Argument in Forschungen dieser Art kein besonderes Zutrauen erweckt, denn, dass man nicht erhält, was ein anderer behauptet erhalten zu haben, dazu gehört keine besondere Kunst, und es ist der Mangel an Uebung und Sorgfalt in der Ausführung schwieriger Versuche genügend, um widersprechende Resultate zu ergeben; ich habe aber, wie ich glaube, keine Vorsicht versäumt und auch Professor Nägeli, dem ich eine, genau nach Pasteur's Vorschrift dargestellte Mischung übergab, ist nicht glücklicher gewesen wie ich.

Betrachtungen anderer Art veranlassten mich, diese Versuche abubrechen und keine weitere Zeit damit zu verlieren⁴⁾.

Man wird zunächst bemerken, dass Pasteur den in seinem Versuche erhaltenen Absatz allerdings gewogen hat, ob aber die erhaltenen 43 Mgrm. ächte Bierhefe geworden sind, dafür hat er keinerlei Beweise beigebracht; er hätte diesen Absatz mit Zuckerwasser in Berührung bringen müssen, um zu zeigen, dass er in der That aus *Torvula cerevisiae* bestand, der Zucker hätte damit in Gährung versetzt werden müssen. Das Mikroskop ist ein sehr unzuverlässiges Werkzeug, um die wahre Natur von Dingen dieser Art festzustellen. Nach der im Verhältniss überaus grossen Menge Milchsäure, die sich aus dem Zucker in seinem Versuche gebildet hat, muss der Same von *Torvula cerevisiae* Milchsäurehefe, d. i. *Penicillium glaucum*, erzeugt und sein Absatz daraus bestanden haben.

• Es fällt sodann auf, dass Pasteur Bierhefe erzeugt haben will in Mischungen, die keinen Schwefel enthalten;

4) In Ammoniaksalzen von organischen Säuren tritt bekanntlich sehr häufig ganz von selbst und ohne dass man ein Ferment zusetzt, eine Zersetzung durch Schimmelbildung ein.

Bierhefe, die keinen Schwefel enthält, gibt es aber nicht; ihr Hauptbestandtheil ist eine stickstoffhaltige Substanz, welche eben so viel oder noch etwas mehr Schwefel als das Caesin enthält.

- Weder Zucker noch weinsaures Ammoniak enthalten Schwefel und auch die Hefenasche ist in der Regel ganz frei davon. Die von mir verwendete Hefenasche enthielt eine Spur Schwefelsäure, aber auch wenn diese Asche eine bemerkliche Menge Schwefelsäure enthalten hätte, so wäre die Annahme, dass der Pilz die Fähigkeit besessen habe, die Schwefelsäure zu zerlegen, doch nur in dem Falle zulässig, wenn der Beweis klar vorläge, dass sich in Pasteur's Mischungen wirkliche Bierhefe erzeugen liesse. Ich sehe diesem Beweise mit dem lebhaftesten Interesse entgegen, und wenn er Herrn Pasteur gelingen sollte, so werden wir um eine überaus wichtige Thatsache im Gebiete der Pflanzenphysiologie bereichert werden, dass es entweder Bierhefe gibt, die keinen Schwefel enthält, oder dass die Pilze die Fähigkeit besitzen, die Schwefelsäure zu zerlegen und aus dem Schwefel der Schwefelsäure, dem Ammoniak und den Elementen des Zuckers oder der Weinsäure ein Albuminat zu erzeugen, eine Fähigkeit, von der wir bis jetzt geglaubt haben, dass sie nur den grünen Pflanzen unter der Mitwirkung des Lichtes zukomme.

Die Thatsache, dass Pasteur in seinen Ammoniakbestimmungen aus den gegohrenen Flüssigkeiten weniger Ammoniak wieder erhielt, als er zugesetzt hatte, kann unmöglich als ein Beweis für die Meinung gelten, dass dieses Ammoniak als Nährstoff zur Hefenbildung gedient habe; denn ich wiederhole, dass in *keinem einzigen Fall* von ihm die Bildung oder eine Vermehrung echter Hefe in Folge des Ammoniakzusatzes zu einer gährenden Flüssigkeit constatirt worden.⁵⁾

5) Mein verstorbener Freund Pelouze hatte mir vor 9 Jahren

Ich habe häufig bei'm Austreiben von Ammoniak aus gegohrenen Flüssigkeiten durch Kochen mit gebrannter Magnesia, welche Pasteur dazu verwendet hat, weniger Ammoniak erhalten, als die Flüssigkeit enthielt; aber in diesem Falle war in der rückständigen Magnesia das fehlende Ammoniak nachweisbar, es hatte sich phosphorsaure Ammoniak-Bittererde gebildet in Folge der Anwesenheit von löslichen phosphorsauren Alkalien, welche in gegohrenen Flüssigkeiten niemals fehlen.

Die Frage, was aus dem Stickstoff der Hefe in der Gährung wird, hat Pasteur beschäftigt; er sagt: „In der Alkoholgährung bildet sich auf Kosten der Hefe nicht die kleinste Menge Ammoniak“ (S. 380); damit steht allerdings im Widerspruche, wenn er auf der Seite vorher angibt, dass 1 Liter Wasser, welches die löslichen Bestandtheile der Hefe enthält, ihm 0,038 Grm. Ammoniak geliefert habe, ich finde, dass alle gegohrenen Flüssigkeiten Ammoniak enthalten, aber allerdings nur eine sehr geringe Menge; es scheint, dass der Stickstoff in einer anderen Form, zum Theil in der von organischen Basen austritt; Leucin konnte ich in den gegohrenen Rückständen nicht nachweisen, wahrscheinlich, weil dessen Menge zu gering war. Trimethylamin ist von Ludwig in allen von ihm untersuchten Weinsorten nachgewiesen worden, und ebenso hat Oser als constantes Product der Gährung des Zuckers mit Hefe eine sehr merkwürdige sauerstofffreie und stickstoffreiche Basis beschrieben; nach seinen Versuchen

die Resultate von Pasteur's Arbeiten über die Gährung mitgetheilt, und ich bemerkte ihm darauf, dass ich mich vorläufig dadurch nicht veranlasst sähe, meine Ansicht über die Ursache der Gährung aufzugeben; wenn es möglich wäre, mit Hülfe von Ammoniak in gährenden Flüssigkeiten Hefe zu erzeugen oder zu vermehren, so würde die Industrie sich sehr bald dieser Thatsache bemächtigen und diess wollte ich abwarten; bis jetzt hat sich aber in der Fabrikation von Presshefe nichts geändert.

scheint diese Base ein constantes Product der Gährung des Rohrzuckers zu sein.

In den Weingegenden Frankreichs, wo Tausende von Hectolitern Wein zur Branntweinfabrikation der Destillation unterworfen werden, dürften die Rückstände derselben ein reiches Material zur Untersuchung der nicht flüchtigen Gährungsproducte und eine Quelle interessanter Entdeckungen darbieten, und wenn nach Pasteur auf 1 Liter Alkohol über 50 Grm. Glycerin in der Gährung gebildet werden, so liess sich vielleicht aus diesen Rückständen Glycerin nicht ohne Vorthail darstellen.

Die neueren Untersuchungen über die Ursachen der Gährung und Fäulniss bewegen sich im Wesentlichen in dem Kreise der Ideen von Turpin, Cagniard-Latour, Mitscherlich und Anderen, welche vor 30 Jahren den Geist vieler Physiologen beherrschten und die vor 10 Jahren von Pasteur wieder erweckt worden sind.

Als Resultat seiner mikroskopischen Untersuchungen der Biergährung und Essigbildung sagt Turpin: „Unter Gährung muss man ein Zusammenwirken von Wasser und lebenden Körpern verstehen, die sich nähren und entwickeln durch Aufnahme eines Bestandtheils des Zuckers, indem sie daraus Alkohol oder Essigsäure abscheiden; eine rein physiologische Wirkung, welche anfängt und endigt mit der Existenz von Infusionspflänzchen oder Thierchen, deren Leben erst mit der totalen Erschöpfung der zuckerhaltigen nährenden Materie aufhört.“ (Ann. Chem. Pharm. Bd. XXIX, S. 100. 1839.)

Niemand wird im Stande sein, einen Unterschied in der Grundansicht von Turpin und der von Pasteur aufzufinden.

Indem Pasteur die Forschungen der Mikroskopiker im Gebiete der Gährungs- und Fäulnissprocesse auf den alten ziellosen Pfad wieder lenkte, ist man dahin gekommen, das Allgemeine, das ist die Erscheinungen, die allen diesen Vor-

gängen gemein sind, gar nicht mehr zu sehen und ganz ausser Acht zu lassen; die Arbeiten haben sich in die Aufsuchung von lauter Einzelheiten zersplittert; man ist dahin gelangt, in einem jeden dieser zahllosen Processe eine besondere Ursache aufzusuchen, und für die meisten derselben hat man in der That für jeden eine besondere Pilzspecies oder auch ein Thier aufgefunden, ebenso für manche Krankheiten, für Cholera etc.; und der Höhepunkt, den wir glücklich erreicht haben, ist der, dass wir gar nicht mehr begreifen, wie diesen Feinden gegenüber die organische Welt noch fortbesteht. Wenn wir die Forscher mit dem Mikroskop fragen, was denn das Milchsäure, Buttersäure u. s. w. Ferment eigentlich ist, so empfangen wir als Antwort den Namen einer Pilzspecies!

Es wird wohl Niemand den Nutzen mikroskopischer Beobachtungen bestreiten wollen, aber man sollte doch endlich zur Einsicht kommen, dass man „Ursachen“, auch mit Mikroskopen, nicht sehen kann; Beobachtungen dieser Art sind ganz geeignet, gewisse Dinge zu begrenzen, welche an einem Vorgange betheiligt sind, und die Forschung auf den Antheil zu lenken, den sie daran nehmen; wenn man aber meint, mit dem aufgefundenen, an sich nicht weiter bekannten Ding die Sache abgethan zu haben, so beweist man eben, dass man den Werth der physiologischen That-sachen verkennt.

Alle Fäulnissfermente erzeugen, wenn sie sich selbst überlassen sind, aus ihren eigenen Elementen Buttersäure, und bringen in anderen Materien, die sich dazu eignen, Buttersäuregährung hervor, ganz so wie die Hefe, sich selbst überlassen, Alkohol erzeugt und in Zucker gebracht Alkoholgährung hervorbringt; und wenn die Hefe unter gewissen Umständen Milchsäuregährung anstatt Alkoholgährung hervorruft, so kann man mit vieler Wahrscheinlichkeit schliessen, dass sich in ihrer Substanz selbst Milchsäure und nicht Al-

kohol bildet. Das Salicin ein Glucosid spaltet sich mit Emulsin in Saligenin und Zucker, mit Hefe hingegen bei Gegenwart von kohlensaurem Kalk in Saligenin und Milchsäure. Es sind diess, wie ich glaube, Fingerzeige, die uns hoffen lassen, durch richtig angestellte Versuche dem Grunde dieser Spaltungen etwas näher zu kommen.

Die Erzeugung der Bernsteinsäure und des Glycerins scheint auf eine Gährung zu deuten, welche neben der Alkoholgährung vor sich geht; sie ist offenbar analog dem Gährungsprocesse, in welchem aus Zucker Milchsäure und aus dieser Mannit und unter Umständen Buttersäure gebildet wird. Der Nachweis einer kleinen Wasserstoffgasmenge in der sich entwickelnden Kohlensäure könnte zur näheren Erklärung führen. Mannit und Glycerin unterscheiden sich nur im Wasserstoffgehalte.

Ich habe die Erscheinungen der Gährung und Fäulniss von einem ganz anderen Standpunkte aus angesehen und ihre Ermittlung als die Brücke betrachtet, die uns zu einer genaueren Kenntniss der Vorgänge im thierischen und pflanzlichen Organismus zu führen verspricht; ich sagte (*Ann. Chem. Pharm.* LXII, 263): „Wem könnte heutzutage die Bedeutung dieser Thatsachen für die Auffassung und Erklärung vieler vitalen Vorgänge verborgen geblieben sein? Wenn ein Wechsel des Ortes und der Lagerung der Elementartheilchen thierischer Stoffe ausserhalb des Körpers einen ganz bestimmten Einfluss auszuüben vermag auf eine Menge organischer Substanzen, die damit in Berührung kommen, wenn diese dadurch zersetzt und aus ihren Elementen neue Verbindungen gebildet werden, und man in Betracht zieht, dass zu den letzteren, nämlich zu den der Gährung fähigen, alle Stoffe gehören, welche Bestandtheile der Nahrung des Menschen und der Thiere ausmachen; wer könnte daran zweifeln, dass diese Ursache in dem Lebensprocess eine der wichtigsten Rollen übernimmt, dass

sie an den Veränderungen, welche die Nahrungsmittel erleiden, wenn sie zu Fett, zu Blut oder zu Bestandtheilen der Organe werden, einen mächtigen Antheil hat! Wir wissen ja, dass in allen Theilen des lebendigen Thierkörpers in jedem Zeitmomente ein Wechsel vor sich geht, dass belebte Körpertheilchen austreten, dass ihre Bestandtheile Fibrin, Albumin oder Leimsubstanz, oder wie sie sonst heissen mögen, sich zu neuen Verbindungen ordnen, dass ihre Elemente zu neuen Producten zusammentreten, und wir müssen unseren Erfahrungen gemäss voraussetzen, dass durch diese Thätigkeit selbst, an allen Punkten, wo sie stattfindet, je nach ihrer Richtung und Stärke, in allen Bestandtheilen des Blutes oder der Nahrung, die damit in Berührung kommen, eine parallel laufende Aenderung in ihrer Beschaffenheit und Zusammensetzung bewirkt wird, dass mithin der Stoffwechsel selbst eine Hauptursache der Veränderungen, welche die Nahrungsmittel erleiden, und eine Bedingung des Ernährungsprocesses ist, dass mit jeder durch eine Krankheitsursache bewirkten Aenderung in dem Umsetzungsprocess eines Organes oder einer Drüse, oder eines Bestandtheils derselben, die Wirkung dieses Organes auf das zugeführte Blut oder auf die Beschaffenheit des Secretes sich gleichfalls ändert, dass die Wirkung einer Menge von Arzneimitteln auf dem Antheil beruht, den sie an dem Stoffwechsel nehmen, dass sie hauptsächlich dadurch, indem sie die Richtung und Stärke der in dem Organe vorgehenden Thätigkeit ändern, sie beschleunigen, verlangsamen oder aufhalten, einen Einfluss auf die Qualität des Blutes oder der Nahrung ausüben?“

(Fortsetzung folgt.)
