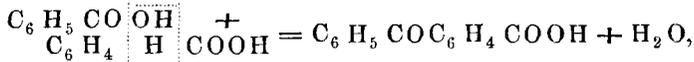


Das Anthrachinon wurde durch seine physikalischen Eigenschaften, durch die Analyse und durch die Ueberführung in Alizarin als solches nachgewiesen.

Die Parabenzoylbenzoëssäure, in derselben Weise behandelt, liefert kein Anthrachinon; wir haben bis jetzt im Reaktionsgemisch blos unveränderte Säure nachweisen können.

Geringe Mengen von Anthrachinon erhält man auch beim Destilliren von Benzoëssäure mit  $P_2O_5$ , indem offenbar aus zwei Mol. Benzoëssäure sich zuerst unter Wasserverlust  $\beta$ -Benzoylbenzoëssäure<sup>1)</sup> bildet:



die dann unter nochmaligem Verlust von einem Molekül Wasser zu Anthrachinon condensirt wird.

Die Bildung von Anthrachinon bei der Destillation von benzoësaurem Kalk<sup>2)</sup> beruht auf einem ganz analogen Vorgang, nur dass in dem einen Fall  $H_2O$ , in dem anderen  $CaH_2O_2$  sich abspaltet. Wahrscheinlich wird sich auch bei der Destillation des  $\beta$ -benzoylbenzoësauren Kalks Anthrachinon bilden.

Die Synthese des Anthrachinons aus der  $\beta$ -Benzoylbenzoëssäure scheint uns für die Formulirung des Anthrachinons von Interesse zu sein, indem sie sehr für die von Zincke<sup>3)</sup> und Fittig<sup>4)</sup> ausgesprochene Ansicht spricht, nach der das Anthrachinon als ein Diketon anzusehen ist.

Org. Laboratorium der Gewerbe-Academie.

### 173. Adolf Mayer: *Saccharomyces cerevistae* und der freie Sauerstoff.

(Eingegangen am 18. April.)

Die Versuche des Hrn. O. Brefeld über den Sauerstoffbedarf des Bierhefepilzes und die Bedingungen, unter welchen derselbe Gährung erregt, haben in dieser Zeitschrift den Anstoss zu einigen Mittheilungen<sup>5)</sup> für und wider gegeben, zu welchen auch ich einige experimentelle Beiträge zu liefern im Stande bin.

<sup>1)</sup> Möglicherweise tritt eine ähnliche Condensation beim Schmelzen von Benzoëssäure mit Kali ein; Barth hat (Ann. der Chem. und Pharm. 164, S. 138) nachgewiesen, dass in diesem Fall unter anderen Produkten ein Körper von der Zusammensetzung der Benzoylbenzoëssäure entsteht; seine Eigenschaften sind aber verschieden von denen der beiden bekannten Benzoylbenzoëssäuren.

<sup>2)</sup> Diese Ber. V, S. 908.

<sup>3)</sup> Diese Ber. VI, S. 137.

<sup>4)</sup> Diese Ber. VI, S. 167.

<sup>5)</sup> Diese Berichte VII, H. 3 u. 4.

Ich habe selbst früher, wie schon von Hrn. Moritz erwähnt wurde, einige Versuche <sup>1)</sup> veröffentlicht, nach welchen das Durchleiten von Luft durch eine gärende Flüssigkeit keinen sehr tiefgreifenden Einfluss auf das Verhältniss von Alkohol- und Hefeproduction ausübt, und wobei zum Vergleich Kohlensäure durchgeleitet oder die Gährungsflüssigkeit ohne Lüftung gelassen wurde. Derartige Versuche sind auch so leicht anzustellen und ihrem Erfolg nach zu controliren, dass an wesentliche Irrthümer dabei nicht zu denken ist. Allein ich bin nicht so kühn, aus derartigen, sowie aus den vielfach anderweitig angestellten Lüftungsversuchen zu folgern, dass die Untersuchungen des Hrn. Brefeld, sowie dessen Schlussfolgerungen incorrect seien; denn es ist nicht zu läugnen, dass Angesichts der Resultate, welche mit der von Hrn. Brefeld ausgearbeiteten exacten Methode erlangt worden sind, jene älteren Versuche sehr viel von ihrer Beweiskraft eingebüsst haben.

Hr. Brefeld hat unzweideutig gezeigt, dass die Art und Weise, wie man andere Organismen vom freien Sauerstoff absperrn kann und wie wir bis dahin glaubten, die Hefepilze von diesem Gase absperrn zu können, eben bei diesen Formen nicht genüge, um eines solchen Erfolges sicher zu sein, und die gleichzeitig und ganz unabhängig von Jenem veröffentlichten Resultate der HH. Schützenberger und Quinquaud über die grosse bis dahin ungeahnte Anziehungskraft der Hefe für Sauerstoff <sup>2)</sup> dienen als eine willkommene Bestätigung des wichtigen Fundes. Wenn wir aber früher Kohlensäure durchleiteten, so haben wir in der That eine allerdings durch Kohlensäure sehr stark verdünnte sauerstoffhaltige Luft durchgeleitet, eine Luft, die freilich für die überwiegende Mehrzahl aller Organismen einen genügenden Ausschluss jenes belebenden Elementes bedeutete. Aber bei dem ganz neuen Stande, in welchen die Frage durch die erwähnten Versuche gelangt ist, erscheint eben dieser Ausschluss für die eigenthümlichen Vegetationsbedingungen der Hefepilze als ungenügend, und man thut übel und hemmt die Fortschritte der Wissenschaft zu Gunsten eines missverstandenen persönlichen Interesses, wenn man die moralische Entschuldbarkeit einer nunmehr antiquirten Schlussfolgerung mit der wirklichen Beweiskraft eines Versuchsergebnisses verwechselt.

Hr. Brefeld hat nach meiner Ansicht überzeugend nachgewiesen, dass der Bierhefepilz nur wächst, so lange man ihm freien Sauerstoff zur Verfügung stellt, und dass er Gährung zu erregen im Stande ist, wenn man ihn von diesem Elemente abschliesst, im Uebrigen aber günstige Lebensbedingungen herstellt, während man bis dahin nur

<sup>1)</sup> Landw. Versuchsst. B. 16, S. 290.

<sup>2)</sup> Compt. rend. 1873, 28. Juillet.

an einen vorübergehenden Sauerstoffbedarf dieses Organismus, z. B. beim Auskeimen der Hefesporen, glaubte. Es ist ihm zweifellos gelungen, zwei Erscheinungen, welche die ganze Pasteur'sche Schule als wesentlich zusammengehörig betrachtete, Hefewachsthum und Gährungserregung, wenigstens eventuell aus einander zu reissen. Die Gründe, warum diese wichtige Thatsache früher übersehen werden musste, liegen auf der Hand. Die Bedingungen der gewöhnlichen mikroskopischen Beobachtung waren zugleich die Bedingungen einer wenn auch geringen Sauerstoffzufuhr, und deshalb wuchs eben eine jede lebenskräftige Hefezelle, auch wenn man sie im Gährungsstadium aus einer Würze entnahm. Was die Brefeld'schen Folgerungen in Bezug auf die Bedeutsamkeit der Pasteur'schen Theorie für die Entwicklung unserer Anschauungen betrifft, so ist hier nicht der Ort, auf diese Eigenthümlichkeiten einzugehen. Wenn einer der älteren Forscher Pasteur gegenüber an Terrain zurückgewinnt, so ist dies wohl nur Gay-Lussac, welcher ja den Sauerstoff als zur Entwicklung des Gährungsfermentes unentbehrlich nachzuweisen suchte, wenn auch freilich in einem rein chemischen Sinne.

Was aber den andern Nachweis des Hrn. Brefeld angeht, dass athmende und sprossende Hefezellen schlechthin keine alkoholische Gährung der umgebenden Zuckerlösung erregen <sup>1)</sup>, so ist seine Beweisführung mir nicht endgültig entscheidend erschienen, und ich habe selbst eine grössere Reihe von Experimenten angestellt, um in Bezug auf diese Frage zu einem selbständigen Urtheile zu gelangen. Hr. Brefeld hat seinen Beweis so angetreten, dass er bei einer sehr kleinen Aussaat von Hefe in einer Bierwürze den Sauerstoff niemals sich erschöpfen liess, und erzeugte so unter periodischer Mässigung der Hefevegetation und jeweiligem Abfiltriren des grössten Theils der neugebildeten Hefe eine erhebliche Neuproduction von diesem Organismus, ohne dass alkoholische Gährung beobachtet werden konnte. Bewiesen ist somit, dass ansehnliche Hefevegetationen in zuckerhaltigen Flüssigkeiten eintreten können, ohne dass diese nothwendig Gährung einleiten. In demselben Sinne sprechen auch die Erfahrungen am frischen Weinmoste, ehe eigentliche Gährung beginnt. Unter diesen Umständen empfiehlt sich vielleicht die Brefeld'sche Hypothese, dass Gährung nur in Folge eines eingetretenen Sauerstoffmangels erregt werde, obwohl hierfür die eigentliche experimentelle Beweisführung fehlt und überhaupt nur sehr schwierig zu erbringen ist. Allein man bleibe sich bewusst, dass hier die Hypothese beginnt und es sich nicht lediglich um Thatsachen handelt, die als solche bewiesen worden

<sup>1)</sup> Brefeld sagt (Landw. Jahrb. III, S. 93) geradezu: „Wir können also sagen, die Gährung tritt dann in der Flüssigkeit ein, wenn aller Sauerstoff verzehrt ist, und sie dauert fort, so lange der Sauerstoff fehlt, und überall dort, wo er fehlt, und so lange, als Zucker vorhanden und die Hefezellen lebendig bleiben.“

sind, und in Betreff deren ein Streit nicht mehr möglich. Auch verräth Hr. Brefeld dadurch eine gewisse Unsicherheit seiner Position, dass er das Problem bespricht, ob eine und dieselbe Hefezelle gleichzeitig wachsen und Gährung erregen könne.

Einige experimentelle Beiträge zu dieser nach meiner Ansicht noch offen stehenden Frage bin ich, wie gesagt, zu liefern im Stande. Zunächst wurden einige Versuche mit rapider Luftdurchleitung durch nur geringe Mengen von Hefe enthaltende Gährungsflüssigkeiten angestellt, also Bedingungen herzustellen versucht, unter welchen voraussichtlich kein Sauerstoffmangel in der Umgebung der Hefezellen eintreten kann. Bei diesen Versuchen wurde ein kegelförmiges Gefäss (ein unten mit Paraffin ausgegossener Näbel'scher Schlämtrichter) verwendet, bis zu dessen spitzem Ende eine Glasröhre hinabragte, durch welche nach der Füllung Sauerstoff oder atmosphärische Luft hindurchgeleitet wurde. In einem solchen Apparate kann sich sicherlich nirgends eine ruhende Flüssigkeitsschicht halten, und die ganze Masse wird stets gleichmässig mit dem durchgeleiteten Gase in Berührung sein. Findet diese Durchleitung so rasch statt, dass oberhalb der Flüssigkeit stets eine sauerstoffreiche Luftschicht sich anhäuft, so wird es schwer sein, sich in der Flüssigkeit irgend eine Hefezelle so situirt vorzustellen, dass ihr kein freier Sauerstoff zur Verfügung stände.

Am 17. Januar wurde ein halbes Liter frisch aufgekochter Bierwürze in den Apparat gebracht, eine kleine Menge frischer Hefe hinzugethan und gleichmässig aufgeschlämmt. Dann wurde durch die bis auf den Grund des Gefässes eintauchende Glasröhre Sauerstoff stundenlang in einem so raschen Strome geleitet, dass sich eine Gaschicht über der Gährflüssigkeit ansammelte, welche sehr deutlich die Sauerstoffprobe zeigte. Die Nacht hindurch wurde der Gasstrom etwas gemässigt; doch unterhielt noch am anderen Morgen das Gasgemenge über der Gährflüssigkeit sehr gut die Verbrennung. Die Flüssigkeit enthielt zu dieser Zeit sehr deutliche Mengen von Alkohol, hatte also zu gähren begonnen. Die Hefe erwies sich unter dem Mikroskope als überwiegend im Zustande der Sprossung, man mochte sie nun oben oder unten aus dem Gefässe entnehmen; doch fehlte es auch nicht an vereinzelt Zellen, auf welche die Brefeld'sche Beschreibung für den Zustand der Gährungserregung passt. Dieselben zeigten theilweise ein homogenes, das Licht stark brechendes Protoplasma.

Ein ähnlicher Versuch wurde am 26. Januar nach minimaler Hefeausaat angestellt. Hier wurde nur Anfangs Sauerstoff, später gewöhnliche atmosphärische Luft eingeleitet. Der Strom war nicht sehr stark, aber durchaus continuirlich, und immer war die Luft über der Gährungsflüssigkeit fähig, die Verbrennung zu unterhalten. Hier dauerte

es bei der geringen Menge von ursprünglich vorhandener Hefe einige Tage, nämlich bis zum 31. sten, während immer Luft hindurchgeleitet wurde, bis deutliche Gährung mit grösseren Mengen von erzeugtem Alkohol Platz griff. Hier hatte also eine Zeit lang Hefesprossung ohne Gährung stattgefunden; allein der Sachverhalt sieht nicht darnach aus, als ob die Gährung erst bei völligem Mangel an Sauerstoff eingetreten wäre. Die während des Verlaufes des Versuchs mehrfach untersuchte Hefe war theils im gesprossenen, theils im isolirten Zustande und zeigte ein das Licht stark brechendes Protoplasma. Schliesslich waren auch noch die Formen des sogenannten Weinkahms bemerklich.

Auch noch ein dritter Versuch, in ganz ähnlicher Weise, aber mit einer grösseren Menge von Hefe angestellt, sei hier erwähnt. Es wurden 20 C.C. eines dünnflüssigen Hefebreies mit 400 C.C. einer gährungsfähigen Zuckerlösung gemischt. Die verwendete Hefe war durchaus frisch und im gewöhnlichen, nicht gesprossenen Zustande und ergab, für sich erhitzt, ein Destillat, das keine merklichen Spuren von Alkohol enthielt. Durch die Mischung wurde nun mehrere Stunden lang ein sehr heftiger Strom von Luft hindurchgeleitet. Der Versuch begann um 10 Uhr 20 Min. bei einer Temperatur der Gährflüssigkeit von 22° C. und wurde um 5 Uhr beendet, nachdem ungefähr 2 Cubikfuss Luft hindurchgeleitet worden waren. Der Hefe, deren Trockengewicht nicht 1 Gr. betragen konnte, wurden in dieser Zeit über 10 Liter, also über 14 Gr., Sauerstoff zur Verfügung gestellt. Diese Menge musste selbstverständlich mehr als hinreichen, auch die ungestümste Athmung der Hefe zu unterhalten, um so mehr, da nachfolgende Versuche lehren, dass die absolute Aufnahmegrösse der Hefe für Sauerstoff gar nicht so gross ist, als man nach ihrer Anziehungskraft für die letzten Spuren von diesem Elemente vermuthen sollte.

Um 5 Uhr wurde ein Theil der Flüssigkeit destillirt und sehr reichliche Mengen von Alkohol vorgefunden. Die Hefe erwies sich schon um 4 Uhr als fast durchgehends in Sprossung begriffen und zwar, so weit ich übersehen konnte, ausschliesslich in Sprossverband zu zweien. Aehnlich verhielt sich auch die Hefe der gleichen Gährungsmischung, die ungelüftet zur Seite gestellt worden war.

Wenn nach Alledem auch nicht in Zweifel gezogen werden soll, dass nur athmende Hefe sprosst und auch die nicht mehr freien Sauerstoff athmende Hefe Gährung erregt, so erscheint es doch kühn, zu behaupten, dass die Gährung genau in dem Moment beginnt, wo der freie Sauerstoff verbraucht ist. Vielmehr liegt schon nach diesen Versuchen zwischen den beiden von Hrn. Brefeld mit so viel Glück interpretirten Grenzfällen ein Zwischenstadium, ja ein sehr breites Zwischenstadium, wo trotz Anwesenheit von Sauerstoff die Hefe Gährung erregt, wo dieselbe, wie nach unsern bisherigen Vorstellungen, gleichzeitig sprosst und Gährung erregt, oder wo trotz der Anwesen-

heit von Sauerstoff viele Zellen im isolirten Zustande verharren, in welchem sie allein Gährung zu erregen im Stande sein sollen <sup>1)</sup>).

Noch lehrreicher erscheinen mir folgende nach gasometrischer Methode angestellte Versuche, wobei die quantitativen Verhältnisse des Gasaustausches berücksichtigt werden konnten. Alle diese Versuche wurden so ausgeführt, dass Hefebrei mit oder ohne Zuckerrösung in kleinen, mit einer Schleifvorrichtung versehenen Glasbecherchen in Absorptionsröhren gebracht wurde, welche ein durch Quecksilber abgesperrtes Luftvolum enthielten. In manchen Fällen wurde über das Quecksilber zur Absorption der ausgegebenen Kohlensäure Natronlösung geschichtet, in allen Fällen der ganze Apparat unter Wasser versenkt, um die Temperatur wirksam reguliren und zu jeder Zeit die Ablesungen an der Graduierung der Absorptionsröhre vornehmen zu können <sup>2)</sup>).

In einem Versuche wurde frische, breiige Hefe (etwa 2 C. C.) in das Absorptionsrohr gebracht, Natronlösung über das Quecksilber geschichtet und dann folgende Volumabnahmen, welche unter den vorhandenen Umständen von der Hefe aufgenommenen Sauerstoff bedeuteten, beobachtet und (nach den bekannten umständlichen Reductionsmethoden) berechnet:

Zeit.	Volumen.	Sauerstoffaufnahme <sup>3)</sup> .	Temperatur.
14. Februar 9 <sup>h</sup> 55 <sup>m</sup>	14.62 C. C.	0.02 C. C.	14.03 C.
- 12 —	14.58 -		14. 8 -
- [4 30] <sup>4)</sup>	14.63 -		15. 8 -
15. - 10	14.60 -		8. 5 -
16. - 9 30	14.30 -	0.30 -	6. 9 -
17. - 9 —	14.01 -	0.29 -	7. 0 -
18. - 9 —	13.54 -	0.47 -	8. 5 -
- [3 —]	13.10 -	2.15 -	34. 2 -
19. - 9 —	11.39 -		23. 5 -

Die Temperaturen wurden den angegebenen Schwankungen unterworfen, um ein Urtheil über den Einfluss derselben auf die Stärke

<sup>1)</sup> Gesprächsweise hat mir Hr. Brefeld das Zugeständniss gemacht, dass auch der Mangel an irgend einem anderen Nährstoffe, als an Sauerstoff die Hefe in den gährungserregenden Zustand zu versetzen vermag.

<sup>2)</sup> Ueber eine in dieser Richtung von mir in Gemeinschaft mit v. Wolkoff ausgearbeitete Methode der Ermittlung der Pflanzenathmung, vergl. Landw. Jahrb., Berlin 1874, H. III.

<sup>3)</sup> Die Gesamtabnahme an Gas erscheint in diesem Versuche (wie auch in einigen anderen) grösser, als nach dem Sauerstoffgehalt der Luft möglich, nämlich 22 pCt. Dies rührt her von einer anfänglich die Absorption durch die Natronlauge überwiegenden Kohlensäureabgabe aus der Hefe — eine Mangelhaftigkeit der Methode, die für unsere Schlussfolgerungen ohne Belang ist.

<sup>4)</sup> Die mit eckigen Klammern versehenen Stundenangaben bedeuten die Zeiten von Mittags 12 Uhr 1 Min. bis Nachts 12 Uhr.

der Sauerstoffathmung zu erlangen. Ohne auf den Gang der Sauerstoffaufnahme im Einzelnen Rücksicht zu nehmen, lehrt der Versuch, dass in den ersten 4 Tagen von den 2 C. C. breiiger Hefe bei einer anfangs mittleren und dann ziemlich niedrigen Temperatur ungefähr 1 C. C. Sauerstoff aufgenommen wurde, dass aber dann bei einer sehr erheblichen Steigerung der Temperatur bis in die Nähe der Wachstumsoptima für niedrige Pilze eine sehr viel raschere Sauerstoffaufnahme erfolgte. Bei diesen Temperaturen trat auch eine sehr kräftige, äusserlich erkennbare Selbstgärung der Hefe (Blasenentwicklung aus dem Hefebrei heraus) ein.

Bei der Oeffnung des Apparates zeigte sich an der Oberfläche des Hefebreies eine feine Bakterienhaut, die noch wesentlich an der Sauerstoffaufnahme participiren konnte. Die Hefe selber erwies sich als aus überwiegend vereinzelt Zellen mit grossen Vacuolen bestehend. Dieser Versuch ergibt Nichts weiter, als einen Anhaltspunkt für die verhältnissmässig geringe Sauerstoffaufnahme in Selbstgärung begriffener Hefe.

Am 19. Februar wurde unter denselben Bedingungen eine anscheinend bakterienfreie, frische Bierhefe gleich bei höherer Temperatur in den Apparat eingeführt. Die Ablesungen und Berechnungen ergaben folgende Gasvolumina:

	Zeit.	Volumen.	Sauerstoffaufnahme.	Temperatur.
19. Februar	10 <sup>h</sup> 15 <sup>m</sup>	15.80 C. C.	} 2.2 C. C.	19.03 C.
-	10 45	15.83 -		20. 3 -
-	[2 50]	15.82 -		33. 0 -
-	[5 30]	15.86 -		31. 9 -
20.	- 10 —	13.60 -		26. 9 -

Auch hier zeigte sich bei der Eröffnung am anderen Tage eine Bakterienhaut, sodass nicht einmal sicher ist, ob die verhältnissmässig langsame Sauerstoffaufnahme zu einem erheblichen Theile der Hefe zuzuschreiben ist. Deutlich sichtbare Selbstgärung war während der ganzen Versuchsdauer bemerklich.

Mehr Interesse gewähren noch die Versuche, wobei der Hefe zuckerhaltige Nährflüssigkeit zur Verfügung gestellt wurde. Ein dahin gehöriger Versuch ist besonders lehrreich, weil die gleiche Menge von Hefe unter denselben Versuchsbedingungen einmal auf ihre Sauerstoffaufnahme, einmal auf ihre Kohlensäureausgabe geprüft wurde. Das Letztere geschah dadurch, dass in die eine verwendete Absorptionsröhre keine Natronlauge gebracht wurde, wobei eine über die gleichzeitig vor sich gehende Sauerstoffaufnahme hinausgehende Kohlensäureausgabe als eine Volumvergrösserung sich kenntlich machen musste.

Frische, durch Schlämmen gereinigte Bierhefe wurde mit Traubenzuckerlösung vermischt und die dünnbreiige Mischung zu je 2 C. C.

in Glaseimerchen in Absorptionsröhren gebracht. Die eine der letzteren wurde über dem Quecksilber mit Natronlösung beschickt, die andere mit wenig Wasser, so zwar, dass in beiden Fällen gleiche Druckverhältnisse hergestellt waren.

In der mit Natronlauge versehenen Röhre wurden folgende Volumveränderungen festgestellt:

Zeit.	Volumen.	Sauerstoffaufnahme		Temperatur.
		absolut	in der Stunde.	
25. Februar [12 <sup>h</sup> 10 <sup>m</sup> ]	18.10 C. C.	} 0.14	} 0.02	20.00 C.
- [ 2 25 ]	18.07 -			20. 1 -
- [ 4 — ]	18.05 -			20. 8 -
- [ 6 10 ]	17.96 -			20. 4 -
26. - 9 —	17.64 -	} 0.32	} 0.02	11. 9 -

Während diese schwache Sauerstoffabsorption Platz gegriffen hatte, war in der andern, nicht mit Natronlauge versehenen Absorptionsröhre eine solche Volumvermehrung eingetreten, dass schon nach wenig Stunden nicht mehr abgelesen werden konnte. Kurz die Hefe, die diesmal ganz rein von Bakterien geblieben war, hatte einen Gasaustausch vollzogen, bei welchem 1 Volumen aufgenommenen Sauerstoffs vielleicht durch 20 oder 30 Volumen Kohlensäure ersetzt wurde, obwohl eine Atmosphäre zur Verfügung stand, die noch fast so reich an Sauerstoff war, wie gewöhnliche atmosphärische Luft.

Aber freilich, nach der Theorie des Hrn. Brefeld war ein Theil der in der Gährungsflüssigkeit suspendirten Hefe in einer für die Sauerstoffathmung sehr ungünstigen Lage, wenn auch die ganze Gährungsflüssigkeit nur 2 C. C. Tiefe unter der Oberfläche hatte, von welcher aus der Sauerstoff ungehindert zutreten konnte. Auch diese Schwierigkeit habe ich noch nach Kräften zu beseitigen gesucht und mich dabei eines Verfahrens bedient, das Hr. Brefeld selbst als ein zweckdienliches bezeichnet, nach welchem es ihm nur nicht gelang, Versuche anzustellen. Derselbe versuchte, breiige Hefe in dünnen Schichten auf Filtrirpapier aufzutragen und diesem Papier die gährungsfähige Nährlösung capillar zuzuführen und scheiterte an der Ueberwucherung solcher Kulturen durch fremde schimmelartige Organismen<sup>1)</sup>. Für die von mir in dem letztbeschriebenen Versuche gewählte Beobachtungsmethode eignet sich dagegen eine derartige Vorrichtung vortreflich und gestattet schon nach wenigen Stunden einen Schluss zu ziehen.

Frische, lebenskräftige Bierhefe wurde in zwei vergleichenden Versuchen auf Streifen von mehrfach zusammengelegtem Filtrirpapier gestrichen und diese Streifen in die Glasbecherchen eingestellt, welche

<sup>1)</sup> A. a. O. S. 95.

Letztere mit zuckerhaltiger Nährlösung gefüllt waren. Nachdem die Becherchen in zwei Absorptionsröhren eingeführt waren, wurde die eine mit Natronlauge versehen, die andere davon frei gelassen und wie früher beobachtet.

Die Berechnung ergab für die Sauerstoffaufnahme:

Zeit.	Volumen.	Sauerstoffaufnahme		Temperatur.		
		absolut	in der Stunde.			
28. Februar [12 <sup>h</sup> 10 <sup>m</sup> ]	16.85 C. C.	1.46	1.20	18.08 C.		
- [12 20 ]	16.83 -			19. 5 -		
- [ 1 30 ]	15.39 -			19. 6 -		
- [ 3 20 ]	13.55 -			1.84	1.02	19. 2 -
- [ 4 50 ]	12.81 -			0.74	0.50	20. 4 -
- [ 6 50 ]	12.71 -			0.10	0.05	19. 1 -
29. - 9 —	12.71 -	0	0	13. 2 -		

Obwohl die Menge der verwendeten Hefe eine sehr geringe war, etwa  $\frac{1}{2}$  C. C. breiige Hefe, hatte hier doch eine sehr rasche Erschöpfung des zur Verfügung stehenden Sauerstoffs stattgefunden, sodass man sieht, welchen Einfluss die Vergrößerung der absorbirenden Oberfläche der Hefe auf die Intensität der Sauerstoffathmung ausgeübt hat. Allein die Kohlensäureausgabe war zur selben Zeit doch eine um viele 100 pCt. bedeutendere, als sich aus der einfachen Athmung erklären lässt. In der anderen, nicht mit Natronlauge beschickten Absorptionsröhre waren nämlich folgende Volumvergrößerungen eingetreten:

Zeit.	Volumen.	Temperatur.
12 <sup>h</sup> — <sup>m</sup>	15.40 C. C.	18.06 C.
[12 10]	16.35 -	18. 8 -
[12 20]	17.49 -	18. 5 -

Es war also in dieser Röhre eine Volumvermehrung von über 1 C. C. innerhalb 10 Min., d. i. 6—7 C. C. auf die Stunde, eingetreten, während die Sauerstoffabsorption nur etwas über 1 C. C. in der Stunde betrug. Die Gesamtkohlensäureausgabe würde also unter diesen für Sauerstoffzutritt günstigsten Umständen immer noch das Siebenfache von dem aufgenommenen Sauerstoff in Voluminen betragen, d. h. also, es ist trotz des Sauerstoffzutritts Gärung eingetreten.

Freilich, auch hier bleibt der Einwand möglich, dass selbst in einer so dünnen Hefeschicht von  $\frac{1}{2}$  oder  $\frac{1}{4}$  <sup>mm</sup> noch die tiefer liegenden Zellen an Sauerstoff verarmt waren; es fragt sich nur, ob dieser Einwand nicht künstlich ist.

Die producirtten Versuche sind nach meiner Meinung noch nicht im Stande, Hrn. Brefeld in irgend einem Stücke zu widerlegen; sie vermögen nur zu zeigen, dass auch dieser Forscher in seinen Anschauungen über die einfache, nackte Thatsache hinausgegangen ist.

Um den von uns herausgegriffenen wichtigen Satz endgültig zu erweisen, musste Hr. Brefeld meiner Meinung nach folgenden Versuch beibringen, zu dessen Ausführung ich nicht die Mittel besitze. Er musste zeigen, dass in irgend einer mit Hefe vermischten sauerstoffhaltigen Gährungsflüssigkeit die Gährung immer genau in dem Zeitpunkt beginnt, wo eben kein freier Sauerstoff mehr in jener durch die Gaspumpe und Gasanalyse oder auf irgend einem anderen Wege nachzuweisen ist. Ob ein derartiger Nachweis viel Aussicht auf Erfolg hat, dazu mögen die mitgetheilten Versuche einige Anhaltspunkte gewähren.

Dieselben zeigen auch jedenfalls, dass die Hefepilze, auch wenn sie wie andere Organismen Sauerstoff aufnehmen, doch in dieser Aufnahme sehr tiefgreifende Unterschiede von jenen zeigen, und dass also mit Nichten diese Unterschiede durch die überraschenden Resultate des Hrn. Brefeld verwischt werden; denn andere Organismen würden unter den zuletzt gestellten Bedingungen nichts Anderes gezeigt haben, als eine dem Volum nach ungefähr der Sauerstoffaufnahme gleiche Kohlensäureausgabe. Ob dieser Unterschied blos in der grösseren Energie der Sauerstoffanziehung seitens der Hefepilze besteht, möchte noch zweifelhaft sein. Auch bleibt die alte von den meisten Anhängern Pasteur's gehegte Anschauung zu Recht bestehen, dass die Zuckerspaltung gewissermassen vikariirend für die normale Sauerstoffathmung eintritt, nur dass diese Stellvertretung auf die mit den Wachstumsvorgängen in Beziehung stehenden Athmungserscheinungen keinen Bezug haben kann.

Heidelberg, den 15. April 1874.

---

#### 174. H. Salkowski: Berichtigung.

(Eingegangen am 18. April.)

Ich habe in meiner letzten Notiz eine schematische Formel als diejenige bezeichnet, welche man der Dinitroanissäure geben müsse. Dies ist unrichtig; nach den bisher bekannten Thatsachen bleibt, die Methoxylgruppe bei 1 und die Carboxylgruppe bei 4 gedacht, für die Nitrogruppen in der Dinitroanissäure noch die Wahl zwischen den Stellungen 2, 3, 2, 5 und 2, 6.

---