

ist schon ziemlich weit vorgeschritten, und habe ich in Betreff der Constitution bereits wesentliche Anhaltspunkte. In kurzer Zeit werde ich in der Lage sein, über diese Verbindungen ausführlicher zu berichten.

Ich bitte mir die Bearbeitung dieses Gebietes in dem angedeuteten Umfange noch einige Zeit zu überlassen.

200. Eduard Buchner: Alkoholische Gärung ohne Hefezellen.

[Zweite Mittheilung.]

(Eingegangen am 6. Mai.)

Durch Zerreiben von Bierhefe und Auspressen der zertrümmerten Zellen wurde ein Presssaft erhalten¹⁾, welcher Zucker ohne Mithülfe von Organismen in alkoholische Gärung versetzt. Es war demnach gelungen, die Gährwirkung von den lebenden Hefezellen abzutrennen; als Träger derselben wurde ein Enzym-ähnlicher Eiweisskörper, die Zymase, angesprochen. Obwohl der Hefenpresssaft durch Kieselguhrkerzen filtrirt und demselben Chloroform zugesetzt werden kann, ohne die Gährwirkung zu vernichten, haben sich doch gewichtige Stimmen dafür erhoben, dass vielleicht im Presssaft befindliche, winzige Stückchen von lebendem Protoplasma den Zerfall des Zuckers veranlassen könnten²⁾. Im Folgenden beschriebene neue Versuche³⁾ sprechen nicht zu Gunsten dieser Annahme.

Die Herstellung des Presssaftes geschah nach der früheren Methode; nur konnte der Wasserzusatz beim Auspressen von 1 Ko. Hefe um 50 ccm herabgesetzt werden, ohne die Gesamtausbeute von 500 ccm Presssaft zu verringern⁴⁾. Als Hefenmaterial diente wieder Münchner untergährige Bierhefe, wie sie, ein Abfallproduct der Brauereien, bei der Presshefe-Fabrication zur Anwendung kommt. Merkwürdiger Weise lieferte sog. Getreidepresshefe, bezogen aus einer badischen Fabrik und dort eigens zur Presshefefabrication im Grossen herangezüchtet, die von den Bäckern bevorzugt und viel theurer be-

¹⁾ Diese Berichte 30, 117.

²⁾ Z. B. C. v. Voit, C. v. Kupffer, Münchn. med. Wochenschr. 1897, No. 12.

³⁾ Diese Untersuchungen wurden, wie die früheren, während der Ferienzeiten im hygienischen Institut zu München ausgeführt. Es ist mir Bedürfniss, dankbar der vielfachen Verdienste zu gedenken, welche sich Herr Privatdocent Dr. M. Hahn dortselbst um die Ausarbeitung der Zerreibungs- und Auspress Methode erworben hat.

⁴⁾ Diese Berichte 30, S. 118, Zeile 5 v. o. lies: 350 ccm Presssaft statt: 300 ccm. S. a. die Druckfehlerberichtigungen S. 335.

zahlt wird, als gewöhnliche Bierpresshefe, einen Presssaft, welcher auf Rohrzucker keine deutliche Gährwirkung ausübte.

Haltbarkeit des Presssaftes.

Dieses Ergebniss wird einigermaassen verständlich durch die Beobachtung, dass auch der wirksame Presssaft im Eisschrank aufbewahrt nach zwei Tagen, bei gewöhnlicher Temperatur aber schon nach etwa einem Tage unwirksam wird. Au- oder Abwesenheit von Luft ist darauf ohne Einfluss. Wahrscheinlich muss die Ursache des Verderbens in dem Gehalt des Presssaftes an peptischen Enzymen gesucht werden. Die Gegenwart von solchen hat M. Hahn durch Aufgiessen von Presssaft auf erstarrte Gelatine constatiren können¹⁾; peptische Enzyme sind bei Saccharomyceten schon mehrfach beobachtet worden²⁾. In der That scheidet durch Stehen im Eisschrank unwirksam gewordener Presssaft, auf 45–50^o erwärmt, nur wenige Flocken von geronnenem Eiweiss aus, während wirksamer Presssaft unter gleichen Bedingungen grosse Mengen von Gerinnsel fallen lässt. Das Unwirksamwerden geht also mit einer Abnahme an gerinnbarem Eiweiss einher.

Diese Hypothese erklärt auch die conservirende Wirkung von starkem Rohrzuckerzusatz; frischer Presssaft mit einem Volum einer 75-procentigen Saccharoselösung gemengt zeigt im Zimmer durchschnittlich eine Woche, im Eisschrank vierzehn Tage Gährwirkung; da ein Versuch bewies, dass die verdauende Wirkung von Pepsin auf Carminfibrin bei 37^o und Gegenwart von 0.3 pCt. Salzsäure durch Zusatz von 40 pCt. Rohrzucker verlangsam wird, werden vermuthlich auch die peptischen Enzyme des Presssaftes durch Zuckerzusatz in ihrer verderblichen Wirkung gestört.

Bei dieser Veränderlichkeit des Presssaftes und des Zymasavorrathes in den Hefezellen, welcher, wie der Versuch mit von auswärts bezogener Getreidepresshefe beweist, vorübergehend sehr abnehmen kann, ist ein recht verschiedener Wirkungswerth des Presssaftes mehrerer Darstellungen zu erwarten. Bis jetzt liegen nur zwei derartige Versuche vor; beim einen lieferte 1 ccm Presssaft vermengt mit 1 ccm einer 75-proc. Saccharoselösung bei Zimmertemperatur innerhalb 20 Stunden 3 ccm Kohlendioxyd, das über Quecksilber aufgefangen wurde, beim zweiten dagegen unter ganz gleichen Umständen 4 ccm.

Sind das Wirksame im Presssaft lebende Plasmareste?

Zusatz von antiseptischen Mitteln, von Chloroform, von Benzol und, wie mein Bruder, Hans Buchner, ermittelt hat, von 1 pCt.

¹⁾ Gütige Privatmittheilung.

²⁾ Vgl. die Zusammenstellung von H. Will, Centralbl. für Bacteriologie 1896, II. Abth. S. 92.

Natriumarsenit¹⁾ vernichten die Gährwirkung des Presssaftes nicht. Alle diese Antiseptica verhindern aber das Wachsthum der lebenden Hefezellen; viel schädlicher müssten sie daher auf suspendirte, der schützenden Membran beraubte Plasmatheilchen einwirken.

Es hat sich ferner ergeben, dass der Presssaft zur Trockne gebracht werden kann, ohne seine Wirkung einzubüssen. In dünner Schicht ausgebreitet wird er hierzu innerhalb sechs Stunden im evacuirbaren Trockenschrank bei 30—35° und wenigen Millimetern Quecksilberdruck vollständig eingedampft. Man erhält eine spröde, gelbliche Masse, die dem trocknen Hühnereiweiss ähnelt und 9—10 pCt. des Presssaftgewichtes repräsentirt. Mit der fünffachen Menge Wasser löst sie sich bei 30° bis auf einen geringen Rückstand wieder auf; durch mehrmaliges Aufgiessen auf ein gewöhnliches Papierfilter resultirt eine klare Flüssigkeit, welche mit einem Volum einer 75-procentigen Rohrzuckerlösung vermischt, nach 6—10 Stunden deutliche, regelmässige Gasentwicklung zeigt, die Tage lang andauert und zur Bildung einer beträchtlichen Schaumschicht führt. Der so getrocknete Presssaft behält seine Wirksamkeit, wie bisher ermittelt, sicher 20 Tage, wahrscheinlich aber viel länger.

Auch durch Alkoholfällung ist es nach mehreren vergeblichen Versuchen einmal gelungen, wirksame Substanz zu isoliren. Der Presssaft wurde dabei in das zwölffache Volum absoluten Alkohols eingetröpfelt, der Niederschlag abgesaugt und rasch getrocknet. Das so erhaltene weisse Pulver (aus 50 ccm Presssaft: 3.2 g) wird mit 20 ccm Wasser bei 30° digerirt, die Flüssigkeit von dem sehr beträchtlichen unlöslichen Rückstand unter mehrmaligem Zurückgiessen abfiltrirt und das klare Filtrat mit 1 Volum einer 75-procentigen Rohrzuckerlösung gemengt; nach 5 Stunden beginnt eine geringe Gasentwicklung, die nach 20 Stunden bedeutend zunimmt. — Fällungsversuche mit Ammonsulfat haben bisher noch keine positiven Resultate gehabt.

Lassen diese Ergebnisse schon kaum mehr einen Zweifel darüber, dass es sich bei der Gährwirkung des Presssaftes um eine Enzym-ähnliche, chemische Substanz, nicht aber um lebende Plasmatheilchen handelt, so soll doch im Folgenden ein weiteres Argument für diese Annahme angeführt werden.

Neuer Beweis für die Existenz der Zymase.

Bierhefe, die mehrmals gewaschen, von oberflächlich anhaftendem Wasser in der hydraulischen Presse möglichst sorgfältig befreit und in sehr dünner Schicht ausgebreitet, ein bis zwei Tage an der Luft gelegen hat, kann hernach ohne Veränderung bei 37° getrocknet werden; man erhält ein gelbliches, angenehm hefeartig riechendes Pulver. Die

¹⁾ Münchn. medic. Wochenschr. 1897, No. 12.

eine Hälfte desselben (A, 18 g) wurde in mit Watte verschlossenem Kölbchen 6 Stunden auf 100° erhitzt; hierdurch geht die Hefe, wie Plattenculturen und Aussaat grösserer Mengen in sterile Bierwürze ergaben, zu Grunde. Die zweite Hälfte (B) wurde 1 Stunde auf 140—145° erhitzt, wobei erfahrungsgemäss sämtliche Mikroorganismen getödtet werden. Rührt man nun den Inhalt beider Kölbchen unter aseptischen Vorsichtsmaassregeln mit je dem doppelten Gewicht 37-procentiger steriler Saccharoselösung an und stellt in Wasser von 37°, so ist bei A nach 3 Stunden ein gewaltiges Schäumen infolge Kohlensäureentwicklung zu bemerken, welches nach 5 Stunden zum Ueberschäumen der Masse aus dem Kölbchen führt, das aber nach etwa 10 Stunden trotz süssen Geschmacks des Rückstandes aufhört; bei B ist keine Veränderung, keine Gasentwicklung zu bemerken. Die todte Hefe im Versuche A besitzt demnach Gährwirkung, offenbar auf Grund ihres Zymasevorrathes¹⁾. Durch einstündiges Erhitzen auf 140—145° wird aber auch die Zymase vernichtet (Versuch B). Dieselbe steht demnach, was ihre Veränderlichkeit durch trockne Hitze betrifft, zwischen dem lebenden Hefenplasma und dem Invertin, welch' letzteres, wie Versuche ergeben haben, der eine Stunde auf 145° erhitzten Hefe noch in wirksamem Zustand entzogen werden kann.

Tübingen, den 3. Mai 1897.

201. C. Liebermann und F. Giesel: Notiz über Cuskygrinhydrat.

(Eingegangen am 12. Mai.)

Cuskygrin lässt sich durch Zerlegung seines gut krystallisirten Nitrats zwar sehr leicht, auch in grösserem Maassstabe rein darstellen²⁾, die Base wurde dabei aber immer als ein nicht erstarrendes Oel erhalten. Als bei einer Neudarstellung zufällig einmal die ätherische Lösung der Base nicht wie sonst mit Kali bezw. geglühtem Kaliumcarbonat getrocknet worden war, war nach dem Abdestilliren des Aethers die Base zu schönen Nadeln erstarrt. Da sie aus der gleichen ätherischen Lösung nach vorherigem Entwässern wieder ölig erhalten wurde, schien die Krystallisationsfähigkeit von einem Wassergehalt

¹⁾ Sehr ähnliche Beobachtungen hat H. Will an bei niederer Temperatur getrockneter, durch neunjähriges Aufbewahren abgestorbener Hefe gemacht und dabei bereits auf die Möglichkeit hingewiesen, dass vielleicht auch todte Hefe Gährung erregen könne und somit für die alkoholische Gährung nur ein von der Hefe producirtes Enzym in Betracht komme. Ztschr. f. d. ges. Brauwesen, 1896, XIX, S. 20 ff.

²⁾ Diese Berichte 28, 579.