

**475. Eduard Buchner und Rudolf Rapp:  
Alkoholische Gährung ohne Hefezellen.**

(Eingegangen am 8. November.)

In zwei Mittheilungen<sup>1)</sup> hat der Eine von uns ein Verfahren beschrieben, welches die Gewinnung eines Zucker vergärenden Presssaftes aus Hefe ermöglicht. Die Methode versagte bei Anwendung von frischer Münchener untergahriger Bierpresshefe in mehr, als dreissig Einzelfällen, die sich über den Zeitraum eines ganzen Jahres erstrecken, niemals. In der Literatur liegen einige zweifelnde Aeusserungen von anderer Seite vor, welche, soweit sie sich nicht überhaupt nur auf Worte beschränken<sup>2)</sup>, von ungünstigen Versuchsergebnissen zu berichten wissen<sup>3)</sup>; daran muss entweder nicht genaues Einhalten der Methode zur Presssaftgewinnung oder die Beschaffenheit der verwendeten Hefe Schuld tragen.

Der Einwand, dass die Gährwirkung des Presssaftes durch etwa noch vorhandene Mikroorganismen bedingt sein könne, darf nunmehr als widerlegt gelten. Zunächst hat ein abermaliger Filtrationsversuch und zwar diesmal durch ein Chamberland-Porcellanfilter, wobei die Operation bei 4–5 Atmosphären Druck für 20 ccm eine halbe Stunde dauerte, Presssaft von guter Gährwirkung geliefert; zur Prüfung des Filters wurde sodann durch dieselbe Kerze eine Aufschwemmung von *Bacterium coli* filtrirt: vom Filtrate gelangte ein ccm in Fleischwassergelatine zur Aussaat; die Platten blieben bei 22° nach 48 Std. völlig steril, die Kerze war also Bacterien-dicht. Ganz überzeugend sind ferner Vergleichsversuche ausgefallen zwischen der Gährkraft frischen Presssaftes und durch längeres Aufbewahren unwirksam gewordenen, dem je 1 g lebende Hefe (Presshefe) zugesetzt wurde: die Hefe und die in dem alten Presssaft anwesenden Bacterien kommen unter den eingehaltenen Bedingungen nur äusserst langsam oder bei Zusatz von Kaliumarsenit überhaupt nicht zur Wirkung, der frische Presssaft dagegen zeigt grosse Gährkraft (s. u. Tab. VII). Beweisend wirkt endlich ein Vergleich des Gahrvermogens einerseits frischen Presssaftes, andererseits desselben, nachdem er ein oder zwei Tage ge-

<sup>1)</sup> Diese Berichte 30, 117, 1110. Vorliegende Untersuchungen wurden, wie die frühern, im hygienischen Institut der Universität München ausgeführt.

<sup>2)</sup> Alfred Fischer, Vorlesungen über Bacterien, Jena 1897, S. 172. In auffallendem Gegensatz hierzu stehen Bemerkungen, die von fachmännischer französischer Seite erfolgt sind (M. E. Duclaux, *Annal. Pasteur* 11 (1897), S. 287).

<sup>3)</sup> H. Will, *Zeitschr. ges. Brauwesen* 1897, No. 28, 363; Max Delbrück, *Wochenschr. f. Brauerei* 1897, No. 29, 364.

standen hat. Sind Organismen die Ursache, so müsste die Gährkraft beim zweiten und dritten Versuch steigen, denn hier haben die Organismen Zeit zu ihrer Vermehrung gehabt; es ist aber im Gegentheil raschestes Zurückgehen der Gährwirkung mit dem Aufbewahren zu constatiren (s. u. Tab. VI). Die frühere Annahme, dass dieses Schwinden des Gährvermögens mit der Anwesenheit von peptischen Enzymen im Presssaft zusammenhängt, konnte durch einen neuen Versuch gestützt werden. Drei Gläschen mit je 5 ccm Presssaft wurden in Eis verpackt, nachdem vorher noch bei einem 0.1 g Trypsin, bei einem anderen 0.1 g Papayotin zugefügt waren; das dritte blieb als Controlle ohne Zusatz: Nach 12-stündigem Liegen wurden in jedem 2 g gepulverter Rohrzucker zur Lösung gebracht. Die Controlle gerieth in starke Gährung, bei den beiden Gläschen mit Zusatz von Verdauungsenzymen aber unterblieb jede Gährungserscheinung.

Zum Messen der Gährkraft des Presssaftes diente das Verfahren von Meissl<sup>1)</sup> zur Bestimmung des Wirkungswerthes von Hefe, wonach der durch Entweichen von Kohlensäure bedingte Gewichtsverlust ermittelt wird. Die so erhaltenen Zahlen sind zu Vergleichen vollständig genügend, wenn sie auch keine absolute Genauigkeit beanspruchen können, da die im Presssaft am Schlusse gelöste CO<sub>2</sub> wegen der Neigung des Saftes zu unglaublichem Schäumen nicht ausgetrieben werden kann; sie sind also in Wirklichkeit etwas zu niedrig, was jedoch zum Theil durch die schon von vornherein im Presssaft vorhandene Kohlensäure ausgeglichen wird. Bei einem Versuche wurde ausser der Kohlensäureproduction von 6.67 g (durch 450 ccm Presssaft innerhalb 40 Stunden bei 12° und Arsenitzusatz) auch der gleichzeitig gebildete Alkohol bestimmt und als Differenz der Gesamtmenge mit der schon vorher in der zugehörigen Presshefe vorhandenen, experimentell festgestellten Quantität, 7.72 g aufgefunden. Bei der alkoholischen Gährung des Rohrzuckers durch Sprosshefe entstehen bekanntlich aus 100 Theilen ungefähr 51 pCt. Alkohol und 49 pCt. Kohlensäure, also annähernd gleich viel. Das Minus an gefundener Kohlensäure im obigen Versuche ist wahrscheinlich auf die mangelhafte Bestimmungsmethode zurückzuführen.

Das Verfahren zur Messung der Gährkraft hat gestattet, den Einfluss der Temperatur, von Arsenitzusatz und verschiedenen Zuckercorcentrationen auf die Wirkung des Presssaftes zu bestimmen. Noch mehr Interesse verdienen aber die Vergleiche zwischen der Gährkraft verschiedener Presssäfte. Während die Presshefe der einen Münchener Fabrik in 5 Einzelversuchen Presssaft von annähernd gleicher Gährkraft lieferte, gab die Presshefe einer zweiten, kleineren Münchener Firma, obwohl letztere auch untergährige Bierhefe auf Presshefe ver-

<sup>1)</sup> Vergl. H. Will, Ber. über 8. Versamml. bayr. Chemiker 1889, 72.

arbeitet, wie jene, wesentlich schwächer wirkenden Presssaft. Das Product aus einer niederbayerischen Getreidepresshefe aber zeigte fast gar keine Gährwirkung; dasselbe Ergebniss hat früher schon der Presssaft einer badischen Getreidepresshefe geliefert<sup>1)</sup>. Ein weiterer Versuch mit Münchener Bierpresshefe scheint hierzu die Erklärung zu bieten: von frischer Hefe wurde die eine Hälfte (a) sofort auf Presssaft verarbeitet, die andere (b) erst nach dreitägigem Lagern bei 7—8°. Der Presssaft von a war normal wirksam, der Presssaft von b vollständig wirkungslos. Hieraus muss man schliessen, dass lagernde Presshefe keine gährerregende Substanz neubildet, im Gegentheil wird die ursprünglich vorhandene baldigst zerstört, wohl durch den Einfluss peptischer Enzyme. Wahrscheinlich beruht hierauf die Unwirksamkeit des Presssaftes der von auswärts bezogenen Getreidepresshefe. Mit Hülfe der Methode zur Bestimmung der Gährkraft<sup>2)</sup> des Presssaftes wird sich auch vielleicht die Frage entscheiden lassen, in welcher Lebensperiode der Hefe am meisten Zymase vorhanden ist, ob sich also gewissermaassen eine Anreicherung der Hefe an Zymase erzielen lässt.

#### .Zur Methodik der Presssaftbereitung.

Für die vergleichenden Versuche über die Gährkraft verschiedener Presssäfte war natürlich das Einhalten derselben Bereitungsweise geboten, welche gegen die frühere etwas abweicht und daher beschrieben werden soll. Bei 50 Atmosphären Druck entwässerte Presshefe (1 Kilo) wird mit Quarzsand (1 Kilo) und Kieselguhr (200 g) gemischt und behufs vollständigen Mengens durch ein Sieb geschlagen. Die staubtrockne Masse kommt hierauf in Parthieen von 100 g in die Zerreibungsmaschine, welche durch einen Gasmotor von 1 PS. getrieben wird, wobei das Pulver nach dem Grade der Zerreibung allmählich feuchtes Aussehen, sowie teigförmige Consistenz annimmt und sich schliesslich zu einem Klumpen zusammenballt. Bis hierher dauert die Operation für 1 Kilo Hefe etwa 2 Stunden. Nun wird die ganze Menge auf einmal, in ein doppeltes Presstuch eingeschlagen, in die hydraulische Presse gegeben: den Druck steigert man allmählich auf 500 Atmosphären und erhält nach etwa 2 Stunden 320 ccm Presssaft. Der Presskuchen wird nun zerstoßen, mit 140 Wasser in der Reibschale durchgearbeitet und abermals für 2 Stunden einem Drucke bis 500 Atmosphären ausgesetzt: es werden noch 180 ccm Presssaft gewonnen. Die Gesammtausbeute beträgt aus 1000 g Hefe somit 500 ccm Presssaft; sie liesse sich zwar durch längeres Auspressen und erneutes Zerstoßen unter Wasserzugabe leicht noch steigern; es wurde aber, um vergleichbare Resultate zu erzielen, bisher immer nur

<sup>1)</sup> Diese Berichte 30, 1110.

bis zu dieser Gesamtausbeute ausgepresst. Der aus der Presse fließende Saft wird durch ein gewöhnliches Faltenfilter direct filtrirt, eventuell nochmals zurückgegossen, in einem durch Eiswasser gekühlten Gefäss aufgesammelt und schliesslich vollständig gemischt.

Hr. Dr. Will, bei einem der jüngsten Versuche gerade anwesend, hatte die Güte, das Verhalten der Hefezellen dabei mikroskopisch zu controlliren und berichtet Folgendes:

a) Nach dem Zerreibungsvorgang. In zwei Proben untersuchte Gesamtzahl von Hefezellen: 229. Davon 31 pCt. intacte Zellen, 31 pCt. alterirte Zellen, 38 pCt. leere Häute.

b) Nach dem ersten Auspressen von Presssaft. Gezählte Zellen 111. Davon 21 pCt. intacte Zellen, 40 pCt. Uebergangsstadien (Zellen, die in Folge Seitenpressung ihre Vacuolen verloren haben) und deutlich alterirte Zellen, 39 pCt. leere Häute.

c) Nach dem zweiten Auspressen, also am Schlusse der Gesamtoperation, rückständiger Presskuchen. In zwei verschiedenen Präparaten gezählte Zellen: 437; davon 4 pCt. intact, 13 pCt. Uebergangsstadien, 26 pCt. alterirte Zellen, 57 pCt. leere Zellhäute. »Die Zahl der leeren Häute kann oft nicht mit Sicherheit festgestellt werden, da dieselben zu dichten Klümpchen zusammengepresst sind, welche sich schwer zertheilen lassen. In Beziehung auf die alterirten Zellen ist noch zu bemerken, dass jedenfalls schon die ursprüngliche Hefe eine gewisse Zahl derselben enthält«.

#### Weitere Versuche über die Natur der Zymase.

Die frühere Annahme, dass ein Enzym des Presssaftes Gährwirkung bedinge, entspricht auch jetzt noch allen Thatsachen<sup>1)</sup>. Von einer wirklichen Isolirung der sogenannten Zymase ist zwar vorläufig keine Rede, schon deshalb nicht, weil der Presssaft auch andere Enzyme, insbesondere Invertin, sowie peptische Enzyme, enthält. Jedoch konnte neuerdings bestätigt werden, dass der beim Eintragen von Presssaft in 12 Volumina absoluten Alkohols entstehende, im Vacuum vom Fällungsmittel möglichst rasch befreite Niederschlag, noch Gährwirkung

<sup>1)</sup> M. E. Duclaux meint (Ann. Pasteur 11 (1897), 348), man müsse wohl noch die Existenz specieller Enzyme in der Hefe annehmen, welche das Glycerin und die Bernsteinsäure, bis zu 4 pCt. des Zuckergewichts ständige Gährproducte, liefern. Denn die Zymase werde wahrscheinlich den Zucker glatt in Kohlensäure und Alkohol spalten, wie besonders bei hydrolytischen Enzymen der Spaltungsprocess glatt verläuft. Da jedoch der Zerfall des Zuckers in Kohlendioxyd und Alkohol chemisch betrachtet ein bei weitem complicirter Vorgang ist, als z. B. die Invertirung des Rohrzuckers, scheint mir das regelmässige Auftreten von Nebenproducten nicht besonders auffällig, denn solche entstehen bei allen verwickelteren chemischen Processen.

besitzt; sollte dabei die Gährkraft nicht allzusehr abnehmen, wie es leider den Anschein hat, so wäre damit der erste Schritt zu einer Isolirung gegeben. Im Vacuum bei 35° zur Trockne gebrachter Presssaft behielt in luftleeren Röhrchen eingeschmolzen die Gährwirkung fünf Monate lang. Bekanntlich zeigt sechs Stunden auf 100° erhitze, nicht mehr entwicklungsfähige Presshefe auch noch Gährkraft<sup>1)</sup>, offenbar auf Grund ihres Zymasevorrathes. M. W. Beijerinck<sup>2)</sup> wendet sich dagegen, dass solche Hefe als todt bezeichnet wird. Der Gesamtorganismus als solcher ist jedenfalls todt, denn er assimilirt nicht mehr und ist nicht mehr entwicklungsfähig. Wenn wir ihn aber in seine Constituenten zerlegen, so sind diejenigen darunter, welche als Sitz der Lebensfunctionen zu betrachten sind, welche also assimiliren und wachsen, auch todt; ob aber die übrigen Constituenten der Zelle, welche mit der Assimilation und dem Wachsthum direct nichts zu thun haben, überhaupt jemals als lebend zu betrachten sind, scheint fraglich.

Bezüglich der Einwirkung von Mitteln, welche die Gährthätigkeit lebender Hefe verhindern, auf den Presssaft, wurde ausser dem früher Berichteten von meinem Bruder, Hans Buchner<sup>3)</sup>, festgestellt, dass Zusatz von Rohr- oder Trauben-Zucker zu Bierwürze bis zum Entstehen einer 44-procentigen Lösung die Gährwirkung lebender Hefe bei gewöhnlicher Temperatur verhindert, nicht aber, selbst bei Zusätzen bis zu 50-procentiger Lösung, die Gährkraft des Presssaftes. Aehnlich verhält es sich mit Glycerin, das bei Zusatz zu Bierwürze bis zu 50-procentiger Lösung die Wirkung der lebenden Hefe aufhebt, nicht jedoch bei Presssaft.

Blausäure wirkt auf Zymase ebenso merkwürdig wie auf andere Enzyme<sup>4)</sup>. 4 ccm wirksamer Presssaft wurden mit 6 ccm einer 2-procentigen, wässrigen Blausäurelösung gemischt, dann die eine Hälfte (a) direct mit 3 g Rohrzucker versetzt, die andere Hälfte (b) aber erst, nachdem vorher 1 Stunde lang Luft durchgeleitet worden; beide Flüssigkeiten kamen hierauf in kleine auf einer Seite verschlossene U-Röhrchen. Bei a trat keine Gasentwicklung ein, auch nicht nach 24 Stunden, bei b dagegen begann nach 5 Stunden eine geringe Blasenbildung und nach 20 Stunden war die eine Seite des U-Rohres mit Gas gefüllt. Aehnliches Verhalten zeigt mit Blausäure versetzter Presssaft auch gegen Wasserstoffsperoxyd. Wie andere Enzyme<sup>5)</sup>,

<sup>1)</sup> Diese Berichte 30, 1113.

<sup>2)</sup> Ctrbl. Bacteriologie II. Abth. 3 (1897), 454.

<sup>3)</sup> Münch. medic. Wochenschr. 1897, 44.

<sup>4)</sup> Die erste Mittheilung darüber rührt wohl von C. F. Schönbein her; eine Zusammenstellung s. E. Schär, Zeitschr. Biologie 1870, 467.

<sup>5)</sup> Auch von Schönbein entdeckt.

bewirken die im Presssaft vorhandenen beim Mischen mit käuflicher Wasserstoffsperoxydlösung stürmische Sauerstoffentwicklung. Giebt man aber zum Presssaft Blausäurelösung, so büst er die Wirkung gegen Wasserstoffsperoxyd ein, gewinnt sie aber wieder nach längerem Luftdurchleiten. Es scheint demnach eine lockere, additionelle Verbindung zwischen Blausäure und den Enzymen des Presssaftes zu existiren, welche die Wirkung des letzteren verhindert, durch Ueberleiten von Luft aber bereits zerstört wird, unter Regenerirung der Wirksamkeit. Hier ist vielleicht der Punkt, wo die Forschung nach der chemischen Individualität der Zymase einzusetzen hat.

#### Ueber die Gährkraft des Presssaftes.

Im Folgenden sind die Resultate der Kohlensäurebestimmungen zusammengestellt. Alle Versuche (mit Ausnahme einiger der Tabelle V) wurden mit Presssaft, hergestellt aus dem Producte einer Münchener Bierpresshefefabrik, durchgeführt. Bei allen (mit Ausnahme derer in Tabelle I) wurden in kleine Erlenmeyer-Kölbchen von 120 ccm Inhalt je 40 ccm Presssaft gegeben, die betreffende Menge fein gepulverten Rohrzuckers sowie eventuell Arsenitlösung eingetragen, durch Umschwenken innerhalb etwa einer Minute gelöst, der Verschluss aufgesetzt und gewogen. Der Verschluss bestand aus einem doppelt durchbohrten Gummistopfen, durch dessen eines Loch eine für gewöhnlich verschlossene Glasröhre bis nahe auf den Spiegel der Flüssigkeit hinabführt (dieselbe ist zum Durchleiten von Luft und Verdrängung der Kohlensäure aus dem Gasraum des Kölbchens bei Beendigung des Versuches bestimmt), durch dessen zweite Bohrung ein Waschfläschchen, enthaltend 2 ccm concentrirte Schwefelsäure und auf der anderen Seite mit einem Bunsen'schen Gummiventil versehen, gesteckt ist.

#### Parallelbestimmungen der Gährkraft desselben Presssaftes.

Drei grosse Erlenmeyer-Kolben von 380 ccm Inhalt wurden an drei verschiedenen Tagen mit je 150 ccm frischem Presssaft, 60 g Rohrzucker (= 28 pCt.) und Arsenit beschickt. Bei den Versuchen (1, 2, 3) ist je 1 pCt. gepulvertes Natriumarsenit, bei (4, 5, 6) 1 pCt. in Potasche gelöstes Arsenitrioxyd (je 6.3 ccm einer Lösung von 50 g  $As_2O_3$  und 50 g  $K_2CO_3$  zu 150 ccm), bei (7, 8, 9) sind 2 pCt. in gleicher Weise in Potasche gelöstes Arsenitrioxyd zugesetzt. Die im Gasraum der Kolben angesammelte Kohlensäure wurde durch Luft verdrängt bei 1. nach 24 Stunden (gef. 0.17 g Kohlensäure), bei 3. nach 64 Stunden (gef. 0.20 g Kohlensäure), bei 4. nach 45 Stunden (gef. 0.135 g Kohlensäure), bei 8. nach 40 Stunden (gef. 0.17 g Kohlensäure); diese Zahlen liegen alle sehr nahe um den Mittelwerth 0.17;

es kam daher diese Zahl auch bei den übrigen Versuchen, wo die Kohlensäure im Gasraum nicht direct ermittelt wurde, in Zurechnung.

Die nachfolgende Tabelle zeigt für den gleichen Presssaft sehr naheliegende Gährkraftzahlen, sodass die Methode als brauchbar erscheint. Ferner kann man aus den erhaltenen Zahlen die Gährwirkung für 100 ccm Presssaft pro Stunde berechnen: sie beträgt ausgedrückt in Grammen Kohlensäure als Mittel:

	1.—16. Stde.	16.—24. Stde.	24.—40. Stde.	40.—64. Stde.
der Versuche 1—3	0.17	0.060	0.020	0.002
4—6	0.11	0.010	0.002	—
7—9	0.08	0.016	0.004	—

Sehr bemerkenswerth ist die rasche Abnahme der Gährwirkung, und dabei sind die für die Gährwirkung in den ersten 16 Stunden gefundenen Zahlen noch zu niedrig, weil anfangs nicht Kohlensäure, sondern Luft aus dem Kolben entweicht. Vergleicht man die Gährkraft des Presssaftes soweit wie möglich mit der von lebender Hefe, so findet sich ein gewaltiger Unterschied: 1 g gute Presshefe liefert (allerdings bei 30° und in 8-procentiger Zuckerlösung) innerhalb 6 Stunden etwa 1.4 g Kohlensäure. 100 ccm Presssaft entsprechen nun 200 g Presshefe, die Gährkraft des Presssaftes ist also verhältnissmässig recht klein! Wahrscheinlich ist in der Hefe kein grosser Zymasevorrath vorhanden; im Presssaft wird natürlich keine neue Zymase gebildet und die vorhandene baldigst zerstört.

Tabelle I.

Laufende No.	Temperatur	Arsenitzusatz	Kohlensäureanhydrid in Grammen nach			
			16 Stunden	24 Stunden	40 Stunden	64 Stunden
1	Im Zimmer	1 pCt. Natriumarsenit	4.13	4.75	—	—
2			3.90	4.75	5.27	5.34
3			4.08	4.84	5.28	5.35
4	Im Zimmer	1 pCt. As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> gelöst in K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	2.61	2.74	2.78	—
5			2.69	2.82	2.87	—
6			2.88	3.04	3.12	—
7	Im Keller (12—14°)	2 pCt. As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> gelöst in K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	1.96	2.14	2.25	—
8			1.90	2.09	2.19	—
9			1.90	2.10	2.23	—

Der Einfluss der Temperatur auf die Gährkraft wurde in einem Vergleichsversuch bei 12—14° (Kellertemperatur) und bei 22° (im Wärmeschrank) ermittelt; noch höhere Temperaturen sind wegen des riesigen Schäumens bei rascher Gasentwicklung kaum anzuwenden. 27 pCt. Rohrzuckergehalt, 2 pCt. As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> gelöst in Potasche zugesetzt. Die Kohlensäure im Gasraum wurde nicht ausgetrieben.

Tabelle II. Einfluss der Temperatur.

No.	Temperatur	Kohlendioxyd in g nach Stunden			
		6	21	24	48
10	12–14°	0.43	1.11	1.14	1.20
11	22°	0.76	1.01	1.02	1.07

Die Tabelle zeigt, dass etwas erhöhte Temperatur zwar die Wirkung der Zymase beschleunigt, aber offenbar auch deren rasche Zerstörung begünstigt.

Ueber den Einfluss von Arsenitzusatz auf die Gährwirkung liegt ausser den später in Tabelle VII zu gebenden Resultaten ein specieller Versuch vor, welcher beweist, dass Zusatz von 1–2 pCt. arseniger Säure, jedesmal in überschüssiger Potasche gelöst, für die erste Zeit wenigstens ohne wesentliche Schädigung bleibt. 26 pCt. Saccharose zugesetzt. Zimmertemperatur.

Tabelle III. Einfluss von Arsenitzusatz.

No.	pCt. $As_2O_3$	Kohlendioxyd in g nach Stunden		
		16	24	40
12	—	0.84	1.23	1.81
13	1	0.70	0.80	0.82
14	2	0.82	0.86	0.87

Die Zuckerconcentration übt starken Einfluss auf die Gährkraft; von drei Concentrationen 16, 27 und 37 pCt. war die erste die günstigste, die höchste schon deutlich schädigend. Diese merkwürdige Thatsache wird dadurch verständlicher, dass auch Neutralsalze, z. B.  $(NH_4)_2SO_4$ ,  $CaCl_2$ , ungünstig auf Zymase einwirken. — Die Kohlensäure im Gasraume der Kölbchen wurde nicht ausgetrieben. Das Arsentrioxyd war in Potasche gelöst.

Tabelle IV. Einfluss der Zuckerconcentration.

No.	Temperatur	$As_2O_3$ pCt.	Saccharose pCt.	Kohlendioxyd in g nach Stunden		
				16	24	40
15	Zimmertemp.	1	16	1.33	1.46	1.48
13			27	0.70	0.80	0.82
16			37	0.60	0.72	0.74
17	Kellertemp. (12–14°)	2	16	1.78	1.84	1.86
18			27	0.90	1.02	1.07
19			37	0.37	0.55	0.66

Zum Vergleich der Gährkraft des Presssaftes verschiedener Presshefe sind in der folgenden Tabelle einige Versuche (zum Theil auch aus anderen Versuchsreihen) zusammengestellt, von welchen die ersten sechs mit Presshefe aus derselben Münchener Fabrik, aber an verschiedenen Tagen bezogen, recht ähnliche Resultate ergeben haben. Für die nächsten zwei Versuche (24 u. 25) blieb ein Theil der Hefe, wie sie für Versuch 23 zur Anwendung kam, 3 Tage im Eisschrank (7.2—8.6°) liegen: der Presssaft enthielt dann keine Zymase mehr. Die Versuche 26 und 27 sind mit dem Product einer andern Münchener Bierpresshefefabrik, Versuche 28 bis 30 mit dem Presssaft von aus Niederbayern bezogener Getreidepresshefe angestellt. Alle Versuche enthielten 27 pCt. Saccharose, 2 pCt. Arsen-trioxyd gelöst in überschüssiger Potasche (nur bei 30 unterblieb letzterer Zusatz) und wurden bei Kellertemperatur (12—14°) ausgeführt. Bemerkenswerth ist ferner, dass die zur Presshefefabrication verwendete Bierhefe in der Fabrik bei den Versuchen 22 und 23 15 Stunden lang mit Wasser gewaschen wurde, bei dem Versuche 21 dagegen 39 Stunden lang; trotzdem gaben alle drei Presssaft von ähnlicher Gährkraft. Die Zymase kann demnach aus lebender Hefe durch Wasser jedenfalls nicht ausgezogen werden.

Tabelle V. Gährkraft verschiedener Hefe-Pressäfte.

No.	Herkunft der Hefe		Kohlendioxyd in g nach Stunden					
			48				64	
			16	24	ohne Kohlen-säureverdrängung	mit Kohlen-säureverdrängung	ohne Kohlen-säureverdrängung	mit Kohlen-säureverdrängung
10	Münchener Bierpresshefe aus der gleichen Fabrik	frisch auf	—	1.14	1.20	—	—	—
20		Presssaft	0.89	0.96	1.00	—	1.01	—
18		verarbeitet	0.90	1.02	—	—	—	—
21			0.95	1.11	1.29	—	1.31	1.41
22			0.92	1.04	—	—	1.13	1.19
23			0.91	1.02	—	—	1.11	1.18
24		nach 3 Tagen Lagern bei	0	0	0	0	—	—
25		7.2—8.6° verarbeitet	0	0	0	0	—	—
26	Münchener Bierpresshefe einer anderen Fabrik, frisch verarbeitet		0.59	0.66	0.72	0.79	—	—
27			0.57	0.65	0.70	0.78	—	—
28	Niederbayr. Getreidepresshefe		0	0	0	—	—	—
29			0	0	0	0	—	—
30 <sup>a)</sup>			0.01	0.01	0.02	0.04	—	—

a) Bei Versuch 30 unterblieb jeglicher Arsenitzusatz.

Die Abnahme der Gährkraft beim Lagern des Presssaftes im Eisschrank (7–8.6°) ist eine gewaltige. Zwei Parallelversuche, der eine ohne, der andere mit Arsenitzusatz (2 pCt.  $\text{As}_2\text{O}_3$  in überschüssigem Kaliumcarbonat gelöst) geben darüber Aufschluss. Zugewetzt wurde Rohrzucker, bis die Lösung 27 pCt. enthielt; die Kohlensäure wurde nur in drei Fällen verdrängt.

Tabelle VI.

Abnahme der Gährkraft des Presssaftes beim Lagern.

No.	Temperatur	$\text{As}_2\text{O}_3$	Presssaft	Kohlendioxid in g nach Stunden				
				16	24	40	64	
							ohne Kohlensäureverdrängung	mit Kohlensäureverdrängung
31	Keller (12–14°)	—	frisch	0.40	0.61	0.96	1.31	1.46
32			nach 24 Stunden Lagern	0.14	0.19	0.27	0.36	0.44
33			nach 48 Stunden Lagern	0.02	0.05	0.14	0.22	0.31
34	Zimmer	2 pCt.	frisch	0.82	0.86	0.87	—	—
35			nach 24 Stunden Lagern	0.49	0.55	0.56	—	—
36			nach 48 Stunden Lagern	0.03	0.15	0.17	—	—

Presssaft, der 20 Stunden bei 0° aufbewahrt wurde, lieferte dagegen unter ähnlichen Umständen innerhalb 24 Stunden 1.11 g Kohlensäure, war also nicht merklich verändert worden.

Directe Vergleiche mit der Thätigkeit lebender Hefe unter denselben Bedingungen zeigten, dass die Gährkraft des Presssaftes durch Anwesenheit einiger Mikroorganismen nicht merkbar verändert wird. Bei einem Theil der Versuche wurde zu durch Lagern unwirksam gewordenem Presssaft je 1 g frische Presshefe zugewetzt, ferner mit und ohne Arsenitzugabe (2 pCt.  $\text{As}_2\text{O}_3$  in überschüssigem  $\text{K}_2\text{CO}_3$  gelöst) gearbeitet. Saccharosezusatz bis zu 27-procentiger Lösung, Temperatur 12–14°.

Tabelle VII. Vergleich mit lebender Hefe.

No.	Presssaft	Lebende Hefe zugesetzt	As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> pCt.	Kohlendioxyd in g nach Stunden				
				16	24	48	64	
						Kohlensäureverdrängung		
						ohne	mit	
31	frisch	—	—	0.50	0.73	1.34	1.73	—
20		—	2	0.89	0.96	1.00	1.01	—
32	alt, unwirksam	1 g	—	0.020	0.080	0.43	0.82	—
33		1 g	2	0.005	0.005	0.03	0.07	—
34	frisch	—	—	0.40	0.61	1.10	1.31	1.46
21		—	2	0.95	1.11	1.29	1.31	1.41
35	alt, unwirksam	1 g	—	0.02	0.09	0.62	1.13	1.51
36		1 g	2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02

Beim Vergleiche der Versuche 31 und 20, sowie 34 und 21 dieser Tabelle, ist noch auffallend, dass die Gährkraft des Presssaftes durch den Arsenitzusatz für den Anfang merklich erhöht wurde (bei den Versuchen der Tabelle III tritt dies nicht hervor). Wahrscheinlich muss dafür die mit dem Arsenit zugesetzte überschüssige Potasche (Herstellung der Arsenitlösung s. o.) verantwortlich gemacht werden, welche die chemische Action der Zymase, den Zerfall des Zuckers jedenfalls erleichtern dürfte. So hat M. E. Duclaux<sup>1)</sup> die alkoholische Spaltung des Zuckers durch das Sonnenlicht bei Luftabschluss auch in alkalischer Lösung durchgeführt.

Nachschrift. Nach neuester Notiz von A. Stavenhagen (letztes Heft dieser Berichte S. 2422) soll durch Chamberland-Kerze filtrirter Hefepresssaft ohne Wirkung auf Zucker sein. Diese Angabe steht im Widerspruch mit dem oben in der Einleitung angeführten Versuch und bleibt überhaupt werthlos, so lange nicht erwiesen ist, dass der betreffende Presssaft vor der Filtration starke Gährwirkung besass; darüber fehlt aber jede Mittheilung. Auch die übrigen Einwände sind meist schon durch oben beschriebene Versuche widerlegt.

Tübingen und München, 5. November 1897.

<sup>1)</sup> Ann. Pasteur 10 (1896), 168. Es ist dies der erste Fall einer Spaltung von Zucker in Alkohol und Kohlensäure ohne jede Beihülfe von Organismen. Meine frühere Angabe (diese Berichte 30, 120) ist darnach zu berichtigen.