

279. Eduard Buchner und Albert Spitta: Zymasebildung in der Hefe.

[Aus dem chem. Laboratorium der Landwirthschaftl. Hochschule in Berlin.]

(Vorgetragen in der Sitzung von Hrn. E. Buchner.)

Da frische untergährige Bierhefe mehreren Nachprüfern der Zymaseentdeckung unwirksamen Presssaft geliefert und in ähnlicher Weise Grünwinkler Getreidepresshefe, welche von den Bäckern ihrer Triebkraft wegen sehr geschätzt wird, dem Einen von uns nur Presssaft ohne deutliche Gährwirkung gegeben hatte¹⁾, schien der Zymasegehalt der Hefe, je nach dem physiologischen Zustand, beträchtlichen Schwankungen unterworfen zu sein²⁾. Auch eine Erfahrung aus dem Brauereibetriebe konnte im Sinne eines veränderlichen Zymasegehaltes der Hefezellen gedeutet werden. Die Hefe wird häufig nach einer wechselnden Anzahl von Gährungen unbrauchbar, d. h. sie vergährt die Bierwürze nicht mehr in normaler Weise, ohne dass etwa Störungen durch das Auftreten von Spaltpilzen oder anderen Heferassen eintreten würden. In solchem Falle ermöglicht das Regenerierungs- oder Herführungsverfahren von M. Hayduck³⁾, die degenerirte Hefe durch Umzüchten in gelüfteter, stickstoffarmer Zuckertlösung bei 15° wieder gährkräftig und für den Betrieb geeignet zu machen.

Directe Versuche über Anreicherung der Hefe an Zymase liegen aus dem hiesigen Laboratorium, ausgeführt von R. Albert⁴⁾, vor, welcher Hefe nach der Hayduck'schen Methode regenerirte und vor- und nach-her auf Presssaft verarbeitete. Nach der Regenerirung wurde gährwirksamerer Saft erhalten, woraus man auf eine Erhöhung des Zymasegehaltes schloss; im Augenblick der höchsten Schaumschichtbildung auf Presssaft verarbeitete Hefe ergab jedoch dabei ein Product von erheblich verminderter Gährkraft. »Zur Zeit der höchsten Gährthätigkeit ist daher ein geringerer Zymasevorrath in der Hefezelle anzunehmen, als nach Ueberschreitung des Höhepunktes.« Neuestens sind ferner Versuche von Max Delbrück, Lange, König und Haymann⁵⁾ veröffentlicht worden, wonach der Zymasegehalt ruhender, abgepresster Hefe ziemlich wechselt, beim Lagern in der Wärme abnimmt, dagegen in der Kälte auch ansteigen kann.

Diese wichtigen Resultate erschienen nur in einer Richtung nicht einwandfrei; als Maass des Zymasegehaltes wurde einfach die sogen.

¹⁾ Diese Berichte 30, 1110 [1897]. ²⁾ Diese Berichte 31, 573 [1898].
Eben diese Möglichkeit discutirte H. Will, Zeitschr. f. d. gesammte Bauwesen 28, 363 [1897].

³⁾ Wochenschr. für Brauerei 1, 697 [1884].

⁴⁾ Diese Berichte 32, 2372 [1899].

⁵⁾ Jahrb. der Versuchs- u. Lehranst. für Brauerei, Berlin, 4, 158, 298 [1901].

Triebkraft der Hefe bestimmt, d. h. festgestellt, wie viel Cubikcentimeter Kohlendioxyd 10 g der lebenden Hefe in einer 10-procentigen Zuckerlösung bei 30° nach Verlauf einer 1/2-, 1- und 1 1/2-stündigen Gährdauer nunmehr während einer halben Stunde entwickelten. Wechselt der Zymasegehalt der Hefe rasch, so war diese Methode nicht exact, weil während der Versuchsdauer Aenderungen desselben möglich blieben. Auch die Ergebnisse von Albert mussten, da aus der zu untersuchenden Hefe Presssaft hergestellt wurde, was Zeit erfordert, aus dem gleichen Grunde nachgeprüft werden. Einwandfrei ist nur ein Verfahren, welches gestattet, die Hefe im Augenblick festzulegen, unter Sistirung aller Lebensprocesse; ein solches stellt die von R. Albert¹⁾ beschriebene Behandlung mit Alkohol-Aether vor. Die Hefe wird dabei momentan getödtet und getrocknet, sie geht in »Dauerhefe« über, die unverändert aufbewahrt werden kann. Mit Hilfe dieser Methode beziehungsweise einer kleinen Abänderung derselben, welche noch gleichmässige Ergebnisse liefert und demnächst in diesen Berichten beschrieben werden soll, haben wir nun den Zymasegehalt der Hefezellen während des Regenerirungsvorganges verfolgt. In Uebereinstimmung mit den Beobachtungen von Albert zeigte sich auch jetzt wieder die auffallende Thatsache, dass die Hefe im Augenblicke höchster Schaumbildung, also intensivster Gährthätigkeit (zwischen der 4. und 8. Stunde), weniger Zymase enthält.

Man wird sich aber doch vorstellen müssen, dass die Production der Zymase zu dieser Zeit ein Maximum erreicht, sonst wäre die erhöhte Gährungsintensität nicht verständlich; die Zymase wird aber nicht aufgespeichert, sondern wieder zerstört, entweder durch proteolytisches Enzym, oder, was weniger wahrscheinlich, durch die Gährungsregung selbst. Um die erhöhte Fähigkeit zur Production von Zymase nachzuweisen, haben wir uns der Versuche von Delbrück und seiner Mitarbeiter erinnert und die Hälfte jeder Hefenprobe vor der Verarbeitung auf Dauerhefe 2—3 1/2 Stunden in ausgewaschenem und abgepresstem Zustand bei niederer Temperatur gelagert. Der Erfolg war der erwartete; der Zymasegehalt stieg bei Hefe, die während der höchsten Gährthätigkeit entnommen und nachher gelagert war, innerhalb 2—3 1/2 Stunden im einen Falle um 35, im anderen gar um 64 pCt. Eine derartige Anreicherung an Enzym tritt durch einfaches Lagern von Hefe vor der Regenerirung, wie auch nach Ueberschreitung des Höhepunktes derselben (nach 24 und 48 Stunden) nicht ein. Verständlich ist nun auch die Vorschrift des Hayduck'schen Verfahrens²⁾: »Sobald sich der grösste Theil der Hefe abgesetzt hat«, d. h. sobald der Höhepunkt der Gährung überschritten ist, »muss man die Gährflüssigkeit sofort von der Hefe entfernen«, sonst büsst dieselbe eben von ihrer Fähigkeit zur Enzymbildung wieder ein. »Regenerirte«

¹⁾ Diese Berichte 33, 3775 [1901]. ²⁾ Wochenschr. f. Brauerei 1, 698 [1884].

Hefe ist demnach nicht solche, welche viel Zymase vorrätig enthält, sondern solche, welche dieses Enzym schnell zu produciren vermag. Schliesslich ist es uns eine angenehme Pflicht, der Schultheiss-Brauerei, A.-G., Berlin (Laboratoriumsvorsteher Hr. Dr. Gronow) für die Ueberlassung vorzüglicher Bierunterhefe bestens zu danken.

Regenerierungsversuche nach Hayduck.

In beiden zu beschreibenden Versuchen kamen je 4 kg bei 100 Atmosphären abgepresste Unterhefe zum Ansatz mit 4 kg Rohrzucker (aufgekocht mit 4 L Wasser), Extract aus 120 g Hopfen (ausgekocht mit 4 L Wasser), 40 g Dikaliumphosphat und 12 g $MgSO_4 + 7aq$ unter Auffüllung auf 48 L. Die Temperatur während der Gährung betrug beim 1. Versuch 10—17°, beim 2. 15—20°; es wurde 24 Stdn. lang Luft durchgeleitet. Die höchste Schaumschicht zeigte sich nach 6—8 Stdn.; nach 12 Stdn. hatte sich die Hefe grösstentheils zu Boden gesetzt. Proben der Hefe wurden vor dem Beginn, dann nach 4, 8, 12, 24 und 48 Stdn. entnommen, die Nährlösung abgesssen, dann einmal mit 10 L Wasser durchgewaschen, bei 100 Atmosphären abgepresst, und hierauf entweder direct oder nach $3\frac{1}{2}$ Stdn. Lagern bei 0—2° (1. Versuch), bezw. 2 Stdn. bei 4—8° (2. Versuch), nach dem oben erwähnten Verfahren auf Dauerhefe verarbeitet. Zur Bestimmung der Gährkraft der Dauerhefe wurden je 2 g derselben mit 4 g Rohrzucker, 10 ccm Wasser und 0.2 ccm Toluol in Erlenmeyer-Kolben von 80 ccm Inhalt mit dem Meissl'schen Schwefelsäureverschluss und Bunsen-Gummischlauchventilen bei 22° angesetzt und der Gewichtsverlust nach 24, 48, 72 und 96 Stdn. ermittelt; das in dem Kölbchen angesammelte Kohlendioxyd wurde nicht verdrängt; die Gährung war schon nach 72 Stdn. so gut wie beendet. Sämmtliche Zahlen der Tabellen sind Durchschnittszahlen von zwei Parallelversuchen.

Datum	Die Probe Hefe war entnommen worden	Je 2 g Dauerhefe gaben Kohlendioxyd in g nach Stunden							
		24		48		72		96	
		auf Dauerhefe verarbeitet							
		sofort	nach Lagern	sofort	nach Lagern	sofort	nach Lagern	sofort	nach Lagern
26. 2.	vor Beginn der Rege- nerierung	0.40	—	0.71	—	0.84	—	0.85	—
	4 Stdn. nach Beginn	0.33	0.51	0.54	0.89	0.61	1.00	0.62	1.01
	8 » » »	0.36	0.53	0.61	0.93	0.67	1.03	0.69	1.03
	12 » » »	0.33	0.49	0.53	0.81	0.57	0.86	0.58	0.86
	24 » » »	0.43	0.47	0.67	0.72	0.69	0.75	0.69	0.75
48 » » »	0.39	0.39	0.60	0.61	0.65	0.63	0.65	0.64	
5. 3.	vor Beginn der Rege- nerierung	0.40	0.42	0.80	0.83	0.95	0.98	0.96	0.99
	4 Stdn. nach Beginn	0.33	0.49	0.57	0.88	0.71	0.96	0.71	0.97
	8 » » »	0.34	0.47	0.63	0.89	0.75	0.97	0.76	0.98
	12 » » »	0.34	0.39	0.58	0.66	0.65	0.73	0.65	0.74
	24 » » »	0.36	0.37	0.65	0.67	0.72	0.72	0.72	0.74
48 » » »	0.33	0.30	0.58	0.50	0.67	0.57	0.68	0.58	

Anhang: E. Buchner, Bemerkungen gegen A. Wróblewski.

Unter dem Titel »Ueber den Buchner'schen Hefepresssaft« hat Hr. Wróblewski vor einigen Monaten eine 70 Seiten lange Mittheilung veröffentlicht¹⁾; es würde zu weit führen, auf alle Einzelheiten und die vielen Irrthümer einzugehen; zur Charakterisirung des Inhaltes mag Folgendes genügen. Die Herstellung des Presssaftes, ausführlich beschrieben²⁾, führte zu einer minimalen Ausbeute; aus 500 g Hefe wurden in 22 Stunden nur 43.5 ccm Saft erhalten, während bei meinen Versuchen, sowohl in München wie in Berlin³⁾, 500 g Hefe innerhalb 4 Stunden ohne Wasserzusatz 225—250 ccm Saft lieferten, also die 5- bis 6-fache Menge in $\frac{1}{5}$ der Arbeitszeit! Es scheint demnach Hrn. Wróblewski überhaupt nicht gelungen zu sein, die Hauptmenge der Hefezellen zu zerreiben. Aehnliches ergibt sich beim Vergleiche der Gährkraft des Saftes. In einem der günstigsten Fälle⁴⁾ entwickelten nach Wróblewski 10.5 ccm Saft gemischt mit 3.5 ccm einer 60-procentigen Rohrzuckerlösung [in 2 Stunden bei vermuthlich⁵⁾ 28—30° (eine Temperaturangabe fehlt hier) 11 ccm Kohlendioxyd. Vier eigens zum Vergleiche mit Presssaft aus Berliner Unterhefe S von Hrn. Dr. Spitta angestellte Versuche, bei denen noch je 0.2 ccm Toluol zugesetzt wurden, ergaben schon nach $1\frac{1}{2}$ Stunden für die gleiche Saft- und Zucker-Menge 30, 30, 26 und 25 ccm Kohlendioxyd; der Presssaft besass also etwa drei Mal stärkere Gährwirkung.

Schliesslich möchte ich mich noch gegen die von Hrn. Wróblewski geübte Art aussprechen, die gesammte Literatur nur am Schlusse der Mittheilung alphabetisch geordnet zu citiren, während dem Leser die Entscheidung überlassen bleibt, wo in der Abhandlung etwa eine neue Entdeckung des Verfassers oder nur eine Reproduction schon bekannter Thatsachen vorliegt.

¹⁾ Journ. für prakt. Chem. [2], 64, 1 [1901].

²⁾ A. a. O. S. 2.

³⁾ Diese Berichte 30, 117, 2670 [1897]; 32, 2086 [1899]; R. Albert Wochenschr. für Brauerei 16, 486 [1899].

⁴⁾ A. a. O. Tab. IX, S. 18.

⁵⁾ vergl. a. a. O. S. 5, 7.