

XV.

Untersuchungen über die Alkoholgährung.

Von

Dr. Oscar Brefeld.

Vorgetragen am 26. Juli 1873 in der physicalisch-medicinischen Gesellschaft
zu Würzburg.

Ueber die Alkoholgährung liegen von Botanikern einerseits und von Chemikern anderseits eine Menge von Beobachtungen vor. Der Vorgang der Gährung hat eine botanische und eine chemische Seite; eine botanische, weil dabei die Hefe auftritt und eine Rolle spielt, ein kleiner einzelliger Organismus, welcher dem Pflanzenreiche, speciell den Pilzen angehört; eine chemische, weil dabei Processe vor sich gehen, die mit chemischen Zersetzung Aehnlichkeit haben, deren Ausgangspunkt im Wesentlichen Zucker, deren Endresultat Kohlensäure und Alkohol sind, Verbindungen, welche einen bestimmten chemischen Charakter tragen und in der Chemie von Bedeutung sind. Von Chemikern, welche sich mit der Alkoholgährung beschäftigten, sind vornehmlich zu nennen GAY-LUSSAC und PELOUZE, DUMAS, BERZELIUS, MITSCHERLICH, LIEBIG, TRAUBE, PASTEUR. Die Zahl der Botaniker, welche die Hefe untersuchten, ist ungleich grösser, ich will darunter nur wenige hervorheben: PERSOON, CAGNIARD DE LATOUR, SCHWANN, TURPIN, MEYEN, KARSTEN, EHRENBURG, FREMY, TRÉCUL, HOFFMANN, BAIL, REES. Die Chemiker betrachteten im Anfange den Vorgang der Gährung naturgemäss vom chemischen Standpunkte, die Botaniker hingegen richteten, unbekümmert um die Gährung selbst, ihr Hauptaugenmerk auf den Organismus, die Hefe für sich. So ist es gekommen, dass man in der richtigen Erkenntniss der Ursachen der Gährung nur langsame Fortschritte machte und dass noch bis in die neueste Zeit hinein über wesentliche Punkte Controversen und Unklarheiten bestehen. Die chemische Seite lässt sich nicht vollständig ohne die botanische, und da diese ausser der

morphologischen noch eine speciell physiologische hat, also ihrerseits wieder nicht ohne die chemische richtig verstehen.

Es waren CAGNIARD DE LATOUR und SCHWANN, welche in den Jahren 1836 und 1837 zuerst der Ursache der Gährung nachforschten. CAGNIARD beobachtete, dass die bei der Gährung auftretende Hefe ein Organismus sei, der sich durch Sprossung vermehre, er vermutete schon ganz richtig, dass auf den Vegetationsprocess dieses Organismus, der Hefe, die bei der Gährung auftretende Kohlensäure und Alkohol zurückzuführen seien. Den Beweis aber des ursächlichen Zusammenhangs der Gährung von der Gegenwart der Hefe erbrachte SCHWANN. Er zeigte, dass die Gährung nicht eintrete, wenn man die Hefekerne tödtet; er vermutete diese Hefekerne in der Luft und zeigte, dass in reiner gährungsfähiger Lösung keine Gährung eintrete, wenn man die zutretende Luft vorher ausglühte.

Als nun durch die Versuche SCHWANN's sicher gestellt war, dass die Gährung nicht ohne die Hefe stattfinden könne, war der Weg zu einer Erklärung des Vorgangs geebnet. BERZELIUS und MITSCHERLICH (1843 und 45) sagten einfach, die Hefe wirke als Contactsubstanz auf den Zucker ein und spalte ihn in Alkohol und Kohlensäure. LIEBIG stellte im Jahre 1843 die erste Gährungstheorie auf. Er fasste die Hefe in dem allgemeinen Sinne eines Fermentes als eine stickstoffhaltige, eiweissartige Substanz auf, welche wie viele andere, z. B. das Emulsin, chemische Zersetzung zu bewirken vermöge. LIEBIG führte nun die Gährung auf die leichte Zersetbarkeit dieser eiweissartigen Substanz zurück und dachte sich den Vorgang folgender Art: Der in Zersetzung begriffene Eiweissstoff besitzt die Fähigkeit, gewissen anderen Körpern den nämlichen Zustand der Bewegung zu ertheilen, in welchem sich seine Atome befinden, durch seine Berührung also mit anderen Körpern diese zu befähigen, Verbindungen einzugehen oder Zersetzung zu erleiden. Indem LIEBIG die Hefe als lebenden Organismus ignorirte, machte er mit seiner Theorie einen entschiedenen Rückschritt.

— TRAUBE stellte 15 Jahre später eine zweite Theorie auf. Er meint, die Fermente seien aus der Zersetzung des Proteins, hier aus der Hefe hervorgegangene chemische Verbindungen, die zwar für sich nicht isolirbar seien, die aber die Fähigkeit besässen, freies O aufzunehmen und auf andere Verbindungen zu übertragen, die dadurch Zersetzung erlitten. Die vermutete Verbindung habe natürlich nach der Abgabe von O wiederum die Fähigkeit O aufzunehmen und von Neuem zu übertragen, und dieser Vorgang kann sich dann sehr oft wiederholen.

Die Theorie TRAUBE's fand wenig Beachtung gegenüber der von LIEBIG gegebenen. Gestützt durch die grosse Autorität LIEBIG's fand sie allgemeine Verbreitung, so sehr, dass es sogar möglich wurde, die Thatsache, dass

das bei der Alkoholgährung wirkende Ferment ein lebender Organismus sei, zum zweiten Male als neue Entdeckung hinzustellen. Es war PASTEUR, der sie machte, seine Arbeiten beginnen im Jahre 1857 und gehen bis in die neueste Zeit. Er bestätigte die Versuche SCHWANN's und stützte sie durch neue Beweise. Die Vermuthung SCHWANN's, durch Versuche gestützt, dass die Hefekerne in einer gährungsfähigen Flüssigkeit aus der Luft kämen, begründete er durch directe Beobachtung. Er filtrirte Luft durch Schiessbaumwolle, löste diese in Alkohol und Aether auf und wies die bei der Lösung zurückbleibenden Pilzkeime direct nach. PASTEUR betrachtet sich, im Gegensatze zu LIEBIG, als Entdecker der Thatsache, dass bei der Alkoholgährung die Hefe die Gährung bewirke, dass die Gährung ein Vorgang der Lebenstätigkeit der Hefe sei, dass die Gährung Hand in Hand gehe mit dieser Lebenstätigkeit, d. h. mit der Entwicklung und mit der Vermehrung der Hefezellen und dass sie also nicht, wie LIEBIG meinte, ein Act der Zersetzung sei durch eine nicht lebende eiweissstoffartige Substanz.

Es handelte sich nun darum, die Lebensregungen bei der Vegetation der Hefe genau zu studieren. Diess ist mit vielem Erfolge von PASTEUR geschehen. PASTEUR fand zuerst, dass die Hefe für gewöhnlich wie alle lebenden Wesen zuerst O aufnehme und dafür Kohlensäure abgabe. (In anderer Form hatte diess schon GAY-LUSSAC ausgesprochen, indem er angab, dass zum Beginn der Gährung O nothwendig, später aber nicht mehr erforderlich sei.) Er fand weiter, dass die Gährung auch ohne freien Sauerstoff eintrete, und stellte hiernach folgende Theorie auf: Bei Gegenwart von freiem Sauerstoff lebt die Hefe wie alle anderen Organismen, sie erregt keine Gährung. Findet die Hefe den Sauerstoff aber nicht frei vor, so nimmt sie ihn zum Zwecke ihrer Lebenstätigkeit, ihrer Entwicklung und Vermehrung aus ihr zusagenden sauerstoffreichen Verbindungen. Durch diese Entnahme von Sauerstoff aus diesen Verbindungen, hier vom Zucker, wird der Gleichgewichtszustand gestört und er zerfällt in Kohlensäure und Alkohol, nebenbei werden noch etwas Bernsteinsäure und Glycerin gebildet. Die Hefe hat nach PASTEUR zwei Arten zu leben: als Pilz, als Schimmel bei freiem Sauerstoff, als Ferment, wenn der Luftzutritt abgeschlossen ist. PASTEUR zieht hieraus selbst die Consequenz, dass es Organismen giebt, speciell die Hefe, welche ohne Luftzutritt alle Acte der Lebenstätigkeit, der Entwicklung und Vermehrung vollziehen können, und er wies durch Gewichtsbestimmungen nach, dass in beiden Fällen, wenn auch ungleiche, so doch eine Vermehrung der Hefe stattfinde.

Diese von PASTEUR aufgestellte Theorie hat jetzt ebensolche Verbreitung gefunden, wie die frühere von LIEBIG, sie ist, mit Ausnahme der Pflanzenphysiologen im Engeren, ganz allgemein angenommen.

LIEBIG, der inzwischen eingesehen hatte, dass seine Auffassung über die Natur des Alkoholferments nicht haltbar sei, und der zu seinem Missvergnügen wahrgenommen, dass er dadurch PASTEUR Gelegenheit gegeben hatte, eine Entdeckung zum zweiten Mal zu machen, die von SCHWANN 20 Jahre früher gemacht war, nahm seine früheren Untersuchungen wieder auf und theilte das neue Ergebniss vor etwa vier Jahren mit.

LIEBIG's Ansicht über die Alkoholgärung lautete nun so: »Die Hefe besteht aus Pflanzenzellen, die sich in einer Flüssigkeit entwickeln und vermehren, welche Zucker, ein Albuminat und verwandte Körper enthält. Nur durch die Vermittlung der Hefezellen kann ein Albuminat und Zucker zu der eigenthümlichen Verbindung zusammentreten, in welcher sie als Bestandtheil des Pilzes eine Wirkung auf den Zucker äussert. Wenn der Pilz nicht mehr wächst, so löst sich das Band, welches die Bestandtheile des Zellinhaltes zusammenhält, und es ist die in demselben eintretende Bewegung, wodurch die Hefezellen eine Verschiebung oder eine Spaltung der Elemente des Zuckers bewirken.«

Ich will aus seiner Mittheilung noch einige Stellen kurz hervorheben. »In dem Processe der Gärung findet so zu sagen eine Wirkung nach aussen auf Stoffe statt, welche in Producte zerfallen, die von dem lebenden Organismus nicht weiter verwendbar sind. Der vitale Vorgang und die chemische Wirkung sind 2 Erscheinungen, welche in der Erklärung auseinander gehalten werden müssen.« Er führt weiter aus: »Der Ansicht, dass auf der Entwicklung und Vermehrung der Hefezellen die Zersetzung des Zuckers in der Gärung beruhe, steht die Thatsache entgegen, dass die Hefe in reiner Zuckerlösung Gärung hervorbringt, wo bei der Ermangelung stickstoff-, schwefel- und phosphorsäurehaltiger Verbindungen doch nur unbedeutende Vermehrung der Hefe stattfinden kann.« LIEBIG fand, (was auch schon PASTEUR gefunden, aber von ihm anders verrechnet wurde), dass in reiner Zuckerlösung das Gewicht der Hefe mit der Gärung abnimmt, wenn ein bestimmtes Maass des Hefezusatzes überschritten wird, dass es hingegen zunimmt, wenn davon weniger zugesetzt wird.

PASTEUR liess die wesentlich gegen seine Theorie gerichteten Einwendungen LIEBIG's (soweit sie die Alkoholgärung betreffen) unberücksichtigt, und es scheint, als ob diess allgemein geschehen sei, wenigstens sind PASTEUR's Auffassungen nach wie vor im vollsten Ansehen.

Die Controverse in den Ansichten PASTEUR's und LIEBIG's

besteht wesentlich darin, dass PASTEUR die Gährung als den Ausdruck der Lebenstätigkeit, d. h. der Entwicklung und Vermehrung des Hefepilzes auffasst, aber einer Lebenstätigkeit unter besonderen Bedingungen unter dem Ausschlusse freien Sauerstoffs. Dieser zur Lebenstätigkeit sonst nothwendige freie Sauerstoff wird dann dem Zucker, einer sauerstoffreichen Verbindung, entnommen, es tritt Wachsthum und Vermehrung der Hefezellen, zugleich aber auch Gährung, ein Zerfallen des Zuckers in Kohlensäure und Alkohol etc. ein. LIEBIG hingegen meint, der vitale Vorgang und die chemische Zersetzung, die Gährung seien auseinander zu halten, die Gährung trete erst dann ein, wenn der Pilz nicht mehr wächst. PASTEUR stützt sich auf die Thatsache, dass ohne freien Sauerstoff der Hefepilz Gährung erzeuge, dass er dabei wächst und sich vermehre; LIEBIG auf die Thatsache, dass auch reine Zuckerlösung mit Hefe vergähre, wo das Wachsthum nur ein geringes sein könne. Gegen beide aber spricht die weitere Thatsache, dass in normaler Nährlösung, wo die Hefe tatsächlich wächst, Gährung eintritt dann, wenn sie mit ihrer Oberfläche dem freien Zutritt der Luft ausgesetzt ist. — Hiemit habe ich in Kürze den gegenwärtigen Standpunkt in Thatsachen und Ansichten über die Alkoholgährung dargelegt, ich will an dieser Stelle abbrechen und zur eigenen Untersuchung übergehen.

Es ist eine allbekannte Thatsache, dass alle lebenden Wesen zu ihrer normalen Lebenstätigkeit (abgesehen von ihren Nährstoffen) des freien Sauerstoffs bedürfen, dass sie alle, die Pflanzen sowohl wie die Thiere, athmen, d. h. freien Sauerstoff aus der Luft aufnehmen und dafür Kohlensäure abscheiden. Die Hefe nun, die die Gährung erregt, ist eine Pflanze, ein Pilz, welcher in organischen Nährflüssigkeiten lebt und zwar in solchen, welche ausser den stickstoffhaltigen und mineralischen Bestandtheilen vorzugsweise Zucker enthalten. Diese Nährflüssigkeiten müssen nun nach der allgemein geltenden Thatsache freien Sauerstoff aus der Luft aufgelöst haben, welcher zur Athmung, zur Lebenstätigkeit, kurz zur normalen Entwicklung der Hefe nothwendig ist. Normaler Weise müssen weiter bei dieser Lebenstätigkeit, wie es bei allen Pflanzen und Thieren geschieht, für ein Volumen eingeathmeten Sauerstoffes im höchsten Falle ein gleiches, sonst ein etwas geringeres Volumen an Kohlensäuregas wieder ausgeathmet werden, weil das Volumen-Verhältniss zwischen ungebundnenem Sauerstoff und seiner Verbindung mit Kohlenstoff zu gasförmiger Kohlensäure ein Gleichtes ist. Thatsächlich ist diess nun aber bei der Lebenstätigkeit der Hefe nicht der Fall. Die aus der gährenden Flüssigkeit, worin die Hefe lebt, ausgeschiedene Kohlensäure kann mehr wie um das 30fache die Athmungskohlensäure übertreffen. Dieses ganz abnorme Verhalten der Lebenstätigkeit der Hefe, diese ganz enorme Ausscheidung von Kohlensäure und

zugleich das Auftreten von Alkohol in der Flüssigkeit ist das, was man hier als Gährung bezeichnet, als Alkoholgährung, weil bei dem Vorgange Alkohol gebildet wird. Woher kommt nun diese Kohlensäure? Das ist die erste Frage. Athmungskohlensäure kann sie nur zum kleinen Theile sein, dem Theile nämlich, der etwa nahezu dem aufgenommenen Volumen Sauerstoff entspricht. Ihr Ursprung bedarf einer besonderen Erklärung und diese Erklärung ihres Ursprungs, ihres ursächlichen Zusammenhangs mit dem Leben der Hefe begreift die Erklärung des Processes der Gährung in sich. Die Frage nun, welcher Stoff der Nährösung das Material zur Kohlensäure und Alkoholbildung hergiebt, lässt sich leicht beantworten, es ist unzweifelhaft der Zucker; auch die Frage, wodurch der Zucker die eigenthümliche Zersetzung erleidet, ist über jeden Zweifel sicher gestellt, es ist die lebendige Hefe. Wie und unter welchen Umständen kommt nun aber die Zersetzung des Zuckers zu Stande? Welches sind die Bedingungen der Gährung? Die Gährung tritt ein in normaler Nährösung bei Luftzutritt z. B. in der Bierwürze; hier findet mit der Gährung eine bedeutende Vermehrung der Hefezellen statt. Die Gährung tritt aber ein auch bei Luftabschluss, sie tritt ferner auch ein bei alleiniger Gegenwart von Zucker, und es frägt sich nun weiter: Wie verhält sich hier die Hefezelle? LIEBIG und PASTEUR sind bis zu dieser Frage gekommen, aber sie haben sie nicht weiter durch Thatsachen gestützt, sondern an dieser Stelle ihre Theorien begonnen. Der eine sagt (PASTEUR), die Hefe wächst auch ohne freien Sauerstoff, die Gährung ist der directe Ausdruck dieser vegetativen Thätigkeit, die sich hier im speciellen Falle in der Form der Gährung anders äussert als sonst; der andere (LIEBIG) sagt, die Hefe kann in der blossen Zuckerlösung nur wenig wachsen, die Gährung ist hier aber sehr stark und diese starke Gährung kann unmöglich im normalen Verhältnisse zur Entwicklung, zur Lebensthätigkeit der Hefe stehen. Die Theorien beider stehen aber mit der Thatsache im Widerspruch, dass, wie in den Brauereien, die Hefe bei Luftzutritt Gährung erregt und zugleich erheblich wächst.

Es handelt sich hier in erster Linie offenbar um die Cardinalfrage: Kann denn die Hefezelle wirklich ohne freien Sauerstoff wachsen? Giebt es auf der untersten Stufe lebender Wesen eine Classe von solchen, deren Lebensbedingungen plötzlich anders sind, die, wie PASTEUR meint, im Gegensatze zu allen anderen von gebundenem Sauerstoff leben, sich ernähren und vermehren können.

Die Frage zu beantworten ist nicht leicht. Es handelt sich bei streng wissenschaftlicher Genauigkeit nicht um Wägungen und Bestimmungen, die, wie die PASTEUR'schen, Einwendungen und Hinterthüren offen lassen, sondern um die Beobachtung einer einzelnen Hefenzelle in den

verschiedensten Lebensbedingungen und namentlich unter absolutem Ausschlusse von freiem Sauerstoff. Sollen diese Versuche Werth haben, so ist ganz selbstverständlich, dass in jedem Falle Controlversuche zu machen sind, in welchen Hefezellen von derselben Cultur, in derselben Nährösung¹⁾ zur selben Zeit ausgeführt, unter denselben Umständen zur Beobachtung hergerichtet unter normalen Lebensbedingungen, bei ungestörtem Zutritt freien Sauerstoffs der Luft, mitbeobachtet werden. — Ich leitete also zunächst über oder besser gesagt um eine Aussaat von Hefe in Bierwürze, in welcher sich die einzelne Hefezelle in einer geeigneten Kammer (von GEISSLER in Berlin nach Art der RECKLINGHAUSEN'schen Kammern angefertigt) bei 300facher Vergrösserung wochenlang verfolgen liess, einen starken continuirlichen Strom von Kohlensäure. Die Kohlensäure wurde aus Marmor mit verdünnter Salzsäure gewonnen und zur Reinigung nur in einer Lösung von 2fach kohlensaurem Natron gewaschen. Der Apparat war so eingerichtet, dass der Strom ohne Unterbrechung wochenlang in beliebiger Stärke fortduern konnte. Es zeigte sich bei dem ersten Versuche, dass die einzelne Hefezelle in Kohlensäure fortwuchs, nur erheblich langsamer als in der normalen Controlcultur. Das Wachsthum dauerte etwa 14 Tage hindurch fort, bis die Nährösung erschöpft war und die Cultur, in welcher durch die Vermehrung der Zellen die Beobachtung der einzelnen am Ende unmöglich war, unterbrochen wurde. Es frug sich nun, da sich auch in weiteren Versuchen immer das gleiche Resultat herausstellte, die Hefezelle nämlich in gewöhnlicher Kohlensäure weiterwuchs, ob die Kohlensäure auch rein sei. Eine Probe durch Absorption der Kohlensäure mit Kalilauge die Menge etwa beigemengten fremden Gases zu bestimmen, ergab, dass sie bis $\frac{1}{700}$ Volumen nicht absorbirebaren Gases enthielt. Da dieses Gas nichts anderes als atmosphärische Luft war, diese zu etwa $\frac{1}{5}$ aus Sauerstoff besteht, so betrug die in der Kohlensäure als Verunreinigung enthaltene Menge Sauerstoff $\frac{1}{3500}$ Volumen. Ich versuchte nun in einer weiteren Versuchsreihe die Kohlensäure, ehe sie durch die Kammer geleitet wurde, zu reinigen resp. vom Sauerstoff zu befreien, und verwendete zu diesem Zwecke eine sehr concentrirte Lösung von pyrogallussaurem Kali, welche die Kohlensäure in einer 5 Zoll hohen Flüssigkeitssäule durchdringen musste, bevor sie in die Kammer kam. Die Versuche gelangen nicht, die Absorption des Sauerstoffs war nicht vollständig. Die Hefe wuchs zwar langsamer noch als früher, aber sie wuchs weiter. Die absolute Befreiung der Kohlensäure vom beigemengten Sauerstoff schien nach diesem Misserfolge kaum noch in einer für den speciellen Versuch zulässigen Weise möglich. Es blieb nur ein Mittel übrig. Hatte nämlich, wie aus dem Versuche vermutungsweise hervorging, die Hefe die merk-

1) Es wurde als Nährösung immer nur frische Bierwürze verwendet aus der Brauerei von Hrn. Dr. BÖTTINGER in Würzburg.

würdige Fähigkeit, die so minimalen Quantitäten von Sauerstoff, die der übergeleiteten Kohlensäure beigemengt waren, zu ihrer Lebenstätigkeit an sich zu ziehen, so war nichts natürlicher als der Gedanke, mit dem Versuchsobjecte selbst die Kohlensäure vom Sauerstoff zu befreien. Ich wandte also in einer abermaligen Serie von Versuchen statt des pyrogallussauren Kali eine geeignete Culturlösung mit viel Hefe an und zwang die eingeleitete Kohlensäure durch geeignete Vorrichtung zur möglichst grossen und langen Berührung mit der Culturlösung. Nun wuchs die Hefezelle nicht, aber sie wuchs auch nicht weiter, als die Kammer geöffnet wurde, sie war aus nicht näher ermittelten Ursachen todt. Als auch diese Versuche, reine Kohlensäure zu bekommen, misslungen waren, versuchte ich endlich die Culturen in den Kammern mit möglichst gereinigter Kohlensäure durch Abschmelzen des Zu- und Ableitungsrohres luftdicht abzuschliessen. Diese wurden vorher zu einem feinen Röhrchen ausgezogen, die Culturlösung mit den einzelnen Hefezellen in die Kammer eingesogen und nun mehrere Stunden lang ein möglichst heftiger Kohlensäurestrom durchgeleitet, dann schnell während des Durchleitens mit dem Löthrohr die ausgezogenen Stellen der Leitungsröhren abgeschmolzen. In den Apparat war ein anderes weites Rohr eingeschaltet, dieses wurde ebenfalls abgeschmolzen, dann unter Kalilösung geöffnet und die Verunreinigung der Kohlensäure im speciellen Falle bestimmt, sie betrug z. B. $1/1200$ Volumen an Luft, also $1/6000$ Volumen Sauerstoff. Die mit der Kohlensäure eingeschmolzene winzig kleine Menge von Sauerstoff war nun den Hefezellen in der Cultur zu ihrer Entwicklung geboten. Es war nach den früheren Resultaten vorherzusehen, dass sie schnell verbraucht sein würde, und es handelte sich nun darum, ob dann noch ein weiteres Wachsthum der Hefe erfolgen könne. Bei den ersten Culturen dieser Art, die bei einer Zimmertemperatur von $13-14^{\circ}$ C. angesetzt waren, wuchsen die Hefezellen 2 Tage, aus je einer Zelle wurde in einer Aussaat, worin bei 300facher Vergrösserung 5-6 einzelne Zellen im Gesichtsfelde lagen und je einzeln mit absoluter Sicherheit verfolgt werden konnten, etwa 5-8 neue Sprosse, dann stand, offenbar mit dem Verzehr des freien Sauerstoffes in der Kammer, das Wachsthum still. Aber die nicht mehr wachsenden Hefenzellen blieben zunächst am Leben, erst in einigen Tagen verloren sie ihr gewöhnliches Ansehen, die Vacuolen verschwanden und sie bekamen etwas dickere Membranen; dabei nahm der Zellinhalt ein gleichförmiges, völlig körnchenfreies, stark lichtbrechendes Ansehen an. Nach etwa 8-10 Tagen (verschieden, je nach der Temperatur) färbte sich der Inhalt gelb, die Zellen schrumpften stark zusammen und waren spätestens in 14 Tagen alle todt. — Es konnte nun gegen diese Versuche der Einwand erhoben werden, dass die Hefezellen etwa aus Mangel an Nahrung oder durch sonstige Ursachen so wie so zu Grunde gegangen wären. Wurde nun auch ein solcher Einwand durch die Control-cultur allein schon beseitigt, in welcher ein sehr starkes Wachsthum und

Vermehrung der Hefe bis zur völligen Verdunkelung des Gesichtsfeldes durch Hefezellen eintrat, ich begnügte mich nicht damit, sondern säete in den ersten Fällen in die Culturlösung der geöffneten Kammer, worin alles abgestorben war, mit Hilfe eines ausgeglühten, in reiche Hefemischung eingetauchten Platindrahtes frische Hefezellen aus. Sie wuchsen in jedem Falle wie in frischer Bierwürze aus und vermehrten sich durch den ganzen Culturtropfen. In den weiteren Fällen beobachtete ich die in den Kammern wie früher eingeschmolzenen Hefenzellen so lange, bis kein Wachsthum mehr erfolgte, dann wartete ich 2—4 u. 6 Tage, öffnete unter Abbrechen der Spitze die Kammer und liess Luft zutreten; jedesmal begannen die noch lebenden Hefezellen sofort neu auszuwachsen und sich wie früher zu vermehren. Ich will noch beifügen, dass im Sommer bei 25° C. die eingeschlossenen Hefezellen in der Frist von 12 Stunden die Spur von Sauerstoff in dem Culturtröpfchen und in der eingeschlossenen Kohlensäure der Kammer bereits verzehrt haben und von da an nicht weiter wachsen. Beim Oeffnen der Kammer unter Wasser war stets durch heftiges Austreten von Gas activer Druck bemerkbar, auch dann, wenn die Temperatur beim Oeffnen niedriger war, als beim Zusammelzen. Der Druck nahm zu mit der Länge der Zeit, schon ein Beweis, dass die Gährung noch fort-dauerte nach dem Stillstande des Wachstums der Hefezellen.

Es geht aus diesen hier cursorisch beschriebenen Versuchen aufs Unzweifelhafteste hervor, dass die Hefe ohne freien Sauerstoff nicht wachsen kann. PASTEUR's Annahme, dass die Hefe im Gegensatz zu allen anderen lebenden Organismen von gebundenem Sauerstoff leben und wachsen könne, entbehrt hiernach durchaus der thatsächlichen Begründung. Da weiter nach der PASTEUR'schen Theorie auf eben dieser Eigenthümlichkeit der Hefe, von gebundenem Sauerstoff leben und wachsen zu können, der Process der Gährung beruht, so ist folgerichtig die ganze Theorie, die sich so allgemeinen Beifalles ersfreut, unhaltbar geworden, sie ist einfach unrichtig. — Doch mit diesem negativen Resultate, dass die Hefe ohne freien Sauerstoff nicht wachsen kann, ist durch die mitgetheilten Versuche ein anderes entschieden positives Ergebniss gewonnen, die Thatsache nämlich, dass die Hefe innerhalb der Nährösung eine wunderbare Anziehung zum freien Sauerstoff besitzt, dass einzelne Hefezellen in der kurzen Frist von einigen Stunden die minimalsten Mengen von freiem Sauerstoff aus weiter Umgebung an sich zu ziehen vermögen, mit ihrer Hilfe ihr Wachsthum, ihren natürlichen Lebensprocess zu vollziehen. Wollte ich durch einen Vergleich diese Anziehungskraft der Hefezellen für freien Sauerstoff klarer zu machen versuchen, so könnte ich an die Fähigkeit der grünen Blätter erinnern, im Lichte die Spuren von Kohlensäure

in der Luft zu ihrer Nahrung an sich zu ziehen. Von mehr chemischen Gesichtspunkte aufgefasst, könnte man nach diesem Verhalten der Hefe zum freien Sauerstoff dann, wenn ihr in Nährösung die Möglichkeit des Wachses gegeben ist, die Hefe auch als ein äusserst feines Reagenz auf freien Sauerstoff bezeichnen, geeignet, die feinsten Spuren nachzuweisen und zu entfernen. In dieser rapiden Anziehung für freien Sauerstoff steht die Hefe unter den Schimmelpilzen und ihren nächsten Verwandten fast einzig da. Sie vermögen in gewöhnlicher Kohlensäure, welche Spuren oder nur geringe Mengen von Sauerstoff beigemengt enthält, nicht zu wachsen, sie sterben in kürzerer oder längerer Zeit, verschieden nach den einzelnen Gattungen und Arten ab; nur eine einzige Ausnahme habe ich bis jetzt gefunden, die mit der Hefe übereinstimmt in der Anziehung zum freien Sauerstoff, es ist der *Mucor racemosus*, der (nebst seinen nächsten Verwandten) einzig unter seinen zahlreichen Stammesgenossen, wie die Hefe, in Zuckerlösung alkoholische Gährung hervorzubringen vermag.

Nach der Erledigung unserer ersten Frage durch die tatsächliche Constatirung, dass Hefe ohne freien Sauerstoff nicht wachsen kann, kommen wir nun zur zweiten. Sie lautet: Kann die nicht wachsende Hefe, die Hefe, welche keinen freien Sauerstoff vorfindet, in Zuckerlösung Gährung erregen? Zur Beantwortung dieser Frage leistete das gewonnene Resultat, die Eigenschaft der Hefe, den ihr gebotenen freien Sauerstoff schnell und vollständig an sich zu ziehen, vorzügliche Dienste. Ich füllte einen grossen Ballon von 3 Litre Inhalt mit einer ausgekochten 10 prozentigen Lösung von Candiszucker, vertheilte darin etwa 18 Gramm Hefe halbtrockener weicher Beschaffenheit und verschloss nun den Ballon mit einem doppelt durchbohrten mit zwei gebogenen Glasröhren versehenen Kautschukpropfen so dicht als möglich. Zwischen dem Korken und der Flüssigkeit blieb in dem engen Halse des Kolbens ein luftfüllter Raum von etwa 2 Zoll Höhe. Ich leitete nun bald nach dem Verschlusse durch das eine Rohr, welches bis nahe an die Oberfläche der Flüssigkeit ging, einen starken Strom von Kohlensäure über diese, welcher aus dem zweiten an seiner umgebogenen Spitze unter Quecksilber mündenden Rohre wieder austrat. Schon nach $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ Stunde begann eine sehr starke Gährung, eine heftige Entwicklung von Kohlensäure in der Flüssigkeit, welche in Form kleinerer oder grösserer Blasen entwich. Als sie einige Stunden fortgedauert hatte, beschloss ich das Durchleiten von Kohlensäure, indem ich das Leitungsröhr an einer vorher dünn ausgezogenen Stelle abschmolz. In dem Ballon befanden sich geringe Mengen atmosphärischer Luft, welche die ausgekochte Flüssigkeit während des Erkaltens wieder gelöst hatte, sie war aber zum Theil, ebenso wie die Luft des todtenden Raumes, durch den stark übergeleiteten Strom von Kohlen-

säure wieder entfernt. Von dieser kleinen Menge freien Sauerstoffes, die also die Flüssigkeit enthielt, konnte die Hefe wachsen. Diese Mengen Sauerstoff mögen vielleicht den spurenhaften Verunreinigungen des weissen Candiszuckers entsprechen und den unvermeidlichen Beimengungen der Hefe, welche alle zusammen als Nährstoffe ein Wachsthum der Hefe, freilich nur ein sehr unbedeutendes, ermöglichen. Die Menge der in der Zuckerklösung suspendirten Hefe war so gross, dass bei 300facher Vergrösserung unter Deckglas das Gesichtsfeld mehrere hundert Zellen aufwies. Vermochten nun in den früheren Versuchen wenige, vielleicht der 50ste Theil der Hefezellen den freien Sauerstoff aus dem Tröpfchen Nährlösung und aus der weiten Umgebung von Kohlensäure in der Frist von 12 Stunden vollständig an sich zu ziehen, so kann man nach Analogie wohl mit Sicherheit schliessen, dass hier gleich mit dem Beginn der Gährung oder vielleicht nach einigen Stunden, aber doch sicher nach etwa 12 bis 24 Stunden aller in der Flüssigkeit vorhandene freie Sauerstoff verbraucht ist. Wenn nun die nicht wachsende Hefe keine Gährung zu erregen vermöchte, so müsste doch spätestens nach 24 Stunden in dem Ballon Stillstand eingetreten sein. Dies war aber nicht blos nicht der Fall, sondern die Flüssigkeit gohr 14 Tage lang fast ungeschwächt fort, so lange, bis aller Zucker in Kohlensäure, Alkohol, Bernsteinsäure, Glycerin etc. zersetzt war. Die zu verschiedenen Zeiten in Kalilösung aufgefangene Kohlensäure erwies sich als vollständig rein, sie wurde in Kalilösung vollständig absorbiert.

Es geht aus diesem Versuche wiederum mit Sicherheit hervor, dass die nicht wachsende Hefe Gährung zu erregen vermag. Die Nebenfrage, ob denn diese Hefezellen noch lebten, liess sich leicht entscheiden. Ich hob die klare ausgegohrte Flüssigkeit von dem Hefesediment ab, und untersuchte erstens eine Probe mit dem Mikroskop, dann weiter eine zweite im Wege der Cultur in normaler Nährlösung. Die Beobachtung ergab, dass die Hefe zum grossen Theile noch lebendig war, dass sie sich aber in dem eigenthümlichen Zustande befand, den ich früher beschrieben habe, ein Zustand, aus dem sie, mit Wasser benetzt, sehr bald zu normalem Aussehen zurückging. In den Culturen wuchsen die Hefenzellen freilich langsamer als sonst, aber doch mit wenigen Ausnahmen nach einigen Stunden aus¹⁾. Noch will ich bemerken, dass dieselbe Hefe nachher zwei Mal mit neuer Zuckerklösung versetzt, Gährung erregte, freilich in jedem späteren Versuche mit verminderter Energie, und der verminder-ten Energie entsprach das vermehrte Absterben der Hefezellen. Es ist also die lebende, nicht wachsende Zelle, welche in diesem

¹⁾ Eine zweite Nebenfrage, ob die Gährung erregende Hefezelle einen Stoff, eine Verbindung erzeuge, welche den Zucker spaltet, blieb nicht unberücksichtigt. Durch kein Mittel war es möglich, einen solchen Stoff zu gewinnen und rein darzustellen.

Falle Gärung zu erregen vermag, die Fähigkeit erlischt mit dem Tode der Hefe.

Bei der Kenntniss der hier mitgetheilten Thatsachen müssen wir nothwendig mit einem Erstaunen fragen, woher es denn aber kommt, dass in Nährösungen, deren Oberfläche der freien Luft ausgesetzt ist, wo nachweislich die Hefe ganz bedeutend wächst, die Erscheinung der Gärung auch eintritt? Wir haben ja gerade constatirt, dass die nicht wachsende Hefe es ist, welche Gärung in Zuckerlösung hervorbringt, und hier ist es ja doch die wachsende Hefe, welche, wenigstens dem Anscheine nach, die Gärung erregt. Hiermit sind wir an die dritte Frage gekommen, welche vornehmlich der Aufklärung bedarf.

Betrachten wir die sicheren Thatsachen, welche unsere Versuche lehrten, wenden wir sie mit ruhiger Ueberlegung auf die Vorgänge an, welche jede Beobachtung in der Technik leicht ergiebt, so verschwindet bald der scheinbare Widerspruch und jeder Vorgang lässt sich nicht nur mit Leichtigkeit durch die bekannten Thatsachen erklären, liefert vielmehr noch die weiteren sichersten Beweise für ihre Richtigkeit, wenn sie überhaupt weiteren Beweises bedürftig wären.

Wir wissen erstens, dass die Hefezellen die Fähigkeit besitzen, sich sehr schnell zu vermehren und, dieser schnellen Vermehrung entsprechend, den freien Sauerstoff zu ihrem Wachsthum aus den Medien, in welchen sie leben, rapide und vollständig an sich zu ziehen. Jede gärungsfähige Mischung, Maische, Würze u. s. w. erhält mit der Abkühlung diejenige Menge Luft, welche ihrer Lösungskraft für Stickstoff und Sauerstoff bei dem herrschenden Druck und der Temperatur der Lösung entspricht. Wird demnach Hefe in eine Flüssigkeit gegeben, welche ihr als Nährösung dienen und gleichzeitig vergären kann, so wird sie bald allen in der Flüssigkeit vorhandenen freien Sauerstoff bei ihrem rapiden Wachsthum an sich ziehen. Wir werden also im Beginne der Operation nur allein starkes Wachsthum der Hefe haben müssen. Jede Untersuchung mit dem Mikroskop bestätigt diese nach unseren Beobachtungen nothwendige Annahme als vollkommen richtig und zutreffend. Mit fortschreitendem Wachsthum wird der freie Sauerstoff in der Flüssigkeit verzehrt werden, und zwar muss dies in verschiedener Frist geschehen, um so schneller, je höher die Temperatur ist, welche das Wachsthum der Hefe so ausserordentlich begünstigt, und je mehr Hefe man zugesetzt hat; um so langsamer hingegen, je weniger Hefe man zusetzt und je weniger die Temperatur ihre Entwicklung fördert. In den Brennereien, wo bei 18° R. die Hefe zur Maische in grosser Menge zugesetzt wird, ist der freie Sauerstoff in 6 bis 8 Stunden verzehrt und die Gärung beginnt; bis zu diesem Punkte zeigt das Mikroskop, dass alle Hefe in lebhaftester Sprossung begriffen ist. In den Brauereien,

wo man die Gährung zu begrenzen sucht, die Temperatur durch Abkühlen auf 8° herabstimmmt und weniger Hefe zur Erregung der Gährung zusetzt, dauert es ein bis zwei Tage bis sie beginnt, bis aller Sauerstoff in der Flüssigkeit verzehrt ist und damit das Wachsthum aufhört. Beim Most, welcher keinen Hefenzusatz bekommt, indem man die Hefekeime, welche aussen an der Schale der Trauben haften, als Gährungserreger verwendet, im Verhältniss zu den künstlichen Gährungen eine sehr geringe Menge, dauert es 4 bis 5 Tage, bis mit dem Stillstande des Wachstums die Gährung anhebt. Mikroskopische Beobachtungen bestätigen genau diese Angaben. Ist nun durch lebhaftes Wachsthum im Anfange der freie Sauerstoff in der Gährflüssigkeit von der Hefe verzehrt, so wird neuer Sauerstoff von der Oberfläche her aus der Luft in die Flüssigkeit eindringen, diess kann aber nur langsam geschehen und bei weitem nicht mit der Schnelligkeit, als er durch die nun stark vermehrte Hefe verzehrt wird. Es ist ganz unmöglich, dass von aussen der Sauerstoff an alle Stellen der Flüssigkeit vordringt und zwar in dem Maasse, als er vergriffen wird, er wird vielmehr schon von den Zellen in der obersten Schicht festgehalten werden, und wo diess geschieht, wird Wachsthum der Hefe nach Massgabe der Zufuhr von Sauerstoff fortduern. Im Innern der Flüssigkeit hingegen, wo die Luft verzehrt ist, befinden sich die Hefezellen in derselben Lage wie in den Kammern eingeschmolzen und wie in reiner Zuckerlösung, sie fahren fort den Zucker als Nährlösung in sich aufzunehmen, aber sie können ihn, eben weil der freie Sauerstoff fehlt, nicht zum Wachsen verwenden und scheiden ihn nun in zersetzer Form wieder ab.

Wir können also sagen, die Gährung tritt dann in der Flüssigkeit ein, wenn aller Sauerstoff verzehrt ist, und sie dauert fort, solange der Sauerstoff fehlt und überall dort, wo er fehlt, und solange als Zucker vorhanden und die Hefezellen lebendig bleiben.

Anfangs haben wir also nur Wachsthum, mit dem Ausgehen des Sauerstoffs in der Gährflüssigkeit tritt die Gährung ein, und Wachsthum findet nur mehr an der Oberfläche in unbedeutendem Grade statt, wo eben neuer Sauerstoff hingelangt.

Der Process zerfällt in zwei Abschnitte: in einen ersten kurzen des Wachstums und einen zweiten langen der Gährung. Beide Processe folgen sich der Zeit nach, der erste hört auf mit dem Consum des freien Sauerstoffes; der zweite beginnt erst nach dem Verzehr desselben. Nichts ist leichter zu beobachten, als dass die gährende Hefe nicht wächst. Hiefür bietet der Most das günstigste Object. Hier gährt die Hefe, in beschränkter Menge vorhanden, vollständig aus, beim Bier u. s. w. lässt man sie nur bis zum bestimmten Punkte gären, um sie für weitere Vermehrung und Cultur zu verwenden. Bis zum Beginne der Gährung beim Most sprosst die Hefe in der Flüssigkeit, sie ist schwer, die gesunde, kräftige Hefe und

sinkt mit der mechanischen Verunreinigung zu Boden. Im dicken Niederschlage, der sich zusammenballt, wird bei der Menge der Hefe zuerst der Sauerstoff verzehrt sein, in ihm die Gärung, die Abscheidung der Kohlensäure beginnen. Sie beginnt so stark, dass das ganze Sediment durch die Kohlensäure nach oben mitgerissen wird. Es sinkt allmählich, die Hefe wird durch die Bewegung in der Flüssigkeit vertheilt mit sammt dem Niederschlage. Die letzten Reste von Sauerstoff werden verzehrt und die Gärung beginnt in allen Zellen. Eine Probe zeigt, dass das Wachsthum aufgehört hat. Mit der Gärung wird die Hefe aufgetrieben, der mechanisch mitgerissene Schmutz senkt sich, und nach einigen Tagen schon ist die Hefe allein in der Schwebe, der Most hat den Zustand, den man Federweiss nennt. Die Hefezellen in ihm schwimmen fast alle einzeln, von Sprossung, Wachsthum ist keine Spur zu sehen. Ein kleiner Theil der Hefezellen hat nur geringe Grösse, es sind nicht besondere Hefeformen, vielmehr nicht ganz ausgewachsene Zellen, für deren vollkommene Entwicklung der Sauerstoff zu früh ausgegangen ist¹⁾. Alle Zellen, kleine und grosse, befinden sich in dem beschriebenen homogenen lichtbrechenden Zustande, und dieser ist es, welcher dem Moste eine federweisse Farbe giebt. Ich kann nur annehmen, dass sich noch niemals Jemand die Mühe gegeben hat, die Hefe während der Gärung, und zwar während ihrer vollkommenen Gärung, die nur beim Wein in der Technik vorkommt, von Anfang bis zu Ende gradatim anzusehen; die grosse Verschiedenheit zwischen wachsender und gährender Hefe kann gar nicht übersehen werden. Wäre es geschehen, so beständen in den Hauptfragen längst keine Meinungsverschiedenheiten mehr, und Theorien wie die PASTEUR'sche wären unmöglich gewesen. Was ich früher im Kleinen beobachtet habe, bietet hier das Experiment im Grossen mit allen Einzelheiten in einer Klarheit und Uebereinstimmung, die Nichts zu wünschen übrig lässt. — Somit stimmen die Vorgänge in der Technik ganz genau mit unseren wissenschaftlichen Beobachtungen, hier besteht nicht nur nichts Unnatürliche, der Erklärung Widersprechendes, man müsste sich im Gegentheile wundern, wenn es anders wäre. Da nun Wachsthum und Gärung einander ablösende Vorgänge sind, Vorgänge, welche in grossen Mengen von Flüssigkeit an ihren verschiedenen Stellen recht gut neben einander hergehen können, so dass an einer Stelle der Flüssigkeit schon Gärung eintritt, während an einer andern das Wachsthum der Hefezelle noch fortdauert, so müssen wir nothwendig auch noch [die Nebenfrage berücksichtigen, ob denn etwa auch ein und dieselbe Zelle zugleich wachsen und Gärung erregen kann? Diese Frage ist kaum mit Sicherheit direct zu beantworten; wir wollen ihr nach

1) Freilich lassen sich verschiedene Hefeformen in der Weinhefe unterscheiden, es sind nicht alle kleine Zellen nicht ausgewachsene Junge, ein Theil stellt wohl besondere Formen dar; es ist jedoch nicht hier der Ort näher auf diesen Punkt einzugehen.

Möglichkeit indirect näher zu treten suchen. Wir wissen, dass die Gährung ohne Wachsthum entsteht; die 2te Hauptversuchsreihe lässt hierüber keinen Zweifel bestehen. Wir haben auch durch directe Beobachtung sichergestellt, dass in einer gährungsfähigen Flüssigkeit zu Anfang Wachsthum, erst später die Gährung sichtbar eintritt; es erübrigत aber zunächst noch mit Sicherheit zu constatiren, dass Wachsthum ohne Gährung eintritt. Wenn wir auch sehen, dass die Hefe anfangs wächst ohne bemerkbare Gährung, so ist diess noch kein Beweis, dass wirklich keine Gährung eintritt, sie kann ja sehr gering sein, so gering, dass sie äusserlich nicht bemerkbar wird. Den Beweis für die Gährung dürfen wir aber nicht in einer sichtbaren Kohlensäureabscheidung suchen, wir müssen vielmehr auf die Bildung von Alkohol das Hauptgewicht legen und auf seine An- und Abwesenheit prüfen, wenn wir sicher sein wollen, ob geringe Gährung eingetreten ist oder nicht. (Man könnte mir ja auch gegen meine bisherigen Versuche einwenden, dass die Hefe die Eigenschaft habe, immerfort während ihrer Entwicklung Zucker zu zersetzen, um daraus Alkohol und Kohlensäure zu bilden, dass aber erst mit fortschreitender Vermehrung mit der Masse der Hefe diese Eigenthümlichkeit als Gährung sichtbar werde; darum ist diese Frage sicher zu entscheiden, nicht ohne fundamentale Wichtigkeit.)

Ich machte meine Versuche über Wachsthum der Hefe ohne Gährung zunächst in der Art, dass ich ein bestimmtes Quantum Hefe auf ein grosses Filter verbreitete und den Trichter mit dem Filter in eine Nährlösung tauchte, so dass nur die Spitze des Filters die Nährlösung aufsaugte. Die Versuche misslangen vollständig. Jede, auch die reinste Hefe enthält Keime von Schimmelpilzen beigemengt, und diese Keime gewinnen an der Luft gegen die Hefe sofort die Oberhand, während sie umgekehrt in Flüssigkeit von der Hefe überwunden werden, gegen die sie nicht aufkommen können. So war es auch hier; nach 2 Tagen war die Hefe verschimmelt und damit der Versuch illusorisch geworden. Da diese Versuche zugleich lehrten, dass man eine grosse Oberfläche der Culturflüssigkeit möglichst vermeiden muss, wenn man die Entwicklung der Schimmelpilzkeime ausschliessen will, durch eine vergrösserte Oberfläche aber, durch vergrösserte Berührung der Flüssigkeit mit der Luft ihre Erschöpfung an Sauerstoff oder was dasselbe ist, der Ausschluss der Gährung beim Wachsen der Hefe vermieden werden kann, so sann ich darauf, eine Nährlösung für Hefe herzustellen, in welcher der Zucker durch einen anderen Stoff ersetzt ist, welcher Wachsthum der Hefe befördern kann, ohne durch Hefe in Art des Zuckers zu vergären. Ich probierte Mannit, Dextrin, Milchzucker u. s. w., aber in allen Lösungen wuchs die Hefe nicht. Schon glaubte ich, dass es überhaupt wohl nicht gelingen werde, hier sichere Beweise für die kritische Frage beizubringen, als ich bei ausgiebigeren Kenntnissen in der Gährung und bei der Einsicht in die Technik der verschiedenen Gährmethoden so einfach als möglich zum Ziele gelangte. Ich überzeugte mich, dass bei der

Bereitung des Weines, welcher bekanntlich durch Selbstgährung d. h. durch die Hefe bereitet wird, welche aussen auf den Schalen der Trauben haftet, das Wachsthum der Hefe 3—5 Tage andauert, ehe Gährung sichtbar wird. Wiewohl sich schon hier mit Leichtigkeit beweisen liess, dass nicht eine Spur von Alkohol gebildet wird, so lange die Hefe wächst bis zu dem Punkte, wo sie in Menge in der Flüssigkeit vorhanden ist, so machte ich doch noch zum ganz sicheren Beweise den Versuch in etwas veränderter Art nach. Ich nahm eine grosse Menge frischer, ausgekochter ganz klar filtrirter Würze, setzte hierzu soviel Hefe, als an einer Nadelspitze hängen blieb, also eine ganz unwägbare Spur. Im warmen Zimmer im ganz gefüllten Kolben trat die lebhafteste Sprossung und Vermehrung der Hefe ein. Ich trug am Abende den Kolben in eine Temperatur bis Null, wo die Hefe schnell zu wachsen nachlässt und Gährung vermieden wird. Am andern Morgen hatte sie sich in einer dünnen Lage am Boden des Kolbens abgesetzt. Ich zog die Würze nun auf einen 2ten Kolben ab und brachte die Hefe auf's Filter. Bei Tage stellte ich den Kolben wieder warm und liess ihn während der Nacht abkühlen. Die Vermehrung der Hefe überschritt so niemals den Punkt, wo der Sauerstoff in der Flüssigkeit ausgeht und Gährung beginnt, weil eben zu wenig Hefe im Kolben ist. Die frisch gewachsene Hefe ist sehr schwer, sie senkt sich beim Abkühlen leicht zu Boden, und so kann der tägliche Ueberschuss entfernt werden, es bleibt dann in der Flüssigkeit zur weiteren Entwicklung noch genug zurück.

In dieser Weise wurde es mir leicht, eine grosse Menge von Hefe durch Wachsthum zu gewinnen und Gährung auszuschliessen.

Die abdestillirte Würze ergab nicht eine Spur von Alkohol im Destillat. — So sicher nun also Gährung ohne Wachsthum der Hefe eintritt, ebenso sicher erfolgt Wachsthum ohne jede Gährung. — Gehen wir nun zur ersten Frage zurück, ob auch Wachsthum und Gährung in einer Zelle zugleich stattfinden kann, so kann man sich vom rein theoretischen Standpunkte aus beide Vorgänge in einer Zelle vereinigt recht wohl denken, ob es aber in Wirklichkeit so ist, wie man sich vorstellen kann, ist eine andere Frage, die nicht sicher zu entscheiden ist. Die Hefe braucht Zucker, Nährsalze und freien Sauerstoff zum normalen Wachsthum. Wenn nun alle drei in dem Verhältnisse von der Hefezelle aufgenommen werden können, welches der normalen Ernährung, dem normalen Wachsthum entspricht, dann tritt keine Gährung ein, sowie aber mehr Zucker aufgenommen wird, resp. die Nährlösung im Augenblick mehr Zucker enthält als Nährsalze und Sauerstoff, also von einem Nährstoff mehr als der Mitwirkung und der Gegenwart und Mitwirkung der anderen zur vollkommenen Weiterentwicklung entspricht, so wird dieser in Missverhältniss aufgenommene und daher zum Wachsen nicht gleich verwendbare Zucker in Alkohol und Kohlensäure u. s. w. zersetzt, abgeschieden. Hat in einer Nährflüssigkeit zugleich

Vermehrung der Hefe und Gährung stattgefunden, so ist sicher, dass anfangs bloss Vermehrung, am Ende nur Gährung eintrat, ob nicht aber in einem Punkte, ehe der Sauerstoff in der Flüssigkeit zur Neige ging, schon neben langamerem Wachsthum eine gelinde Gährung eintrat, ob also beide zu Anfang und zu Ende getrennte Vorgänge nicht kurze Zeit neben einander bestehen, oder ob sie der Zeit nach vollkommen getrennt auf einander folgen, kann durch Versuche nicht erwiesen werden.

Ich will die Thatsachen der Untersuchung in dieser Mittheilung nicht weiter ausdehnen, sie reichen hin, um uns den Begriff der Gährung klarer zu machen, als es bisher möglich war, ihr einen präziseren, das Wesen der Thatsache besser aussprechenden Ausdruck zu geben:

Die Vergährung des Zuckers durch Hefe ist der Ausdruck einer abnormalen, unvollkommenen Lebenserscheinung und diese Lebenserscheinung tritt dann ein, wenn die zur normalen Entwicklung der Hefe nothwendigen Nährstoffe nicht in zutreffender Weise zusammenwirken. Die Gährung ist eine pathologische Erscheinung, welche anfängt mit dem Momente, wo die Hefe in nicht erschöpfter Nährlösung nicht mehr wachsen kann, die aufhört mit dem Tode der Hefezelle.

Bei den Eigenschaften der Hefe, rapide zu wachsen und dem entsprechend schnell und energisch den freien Sauerstoff an sich zu ziehen, bei der weiteren Eigenthümlichkeit in Flüssigkeiten zu leben, die nur verhältnissmässig wenig gelösten Sauerstoff zur Verfügung haben, ist es ganz begreiflich, dass die einer solchen Pflanze normal entsprechenden Lebensbedingungen nur für kurze Zeit obwalten können, dass sie durch sie selbst bald abnormal werden und nun hierdurch die abnormalen Lebenserscheinung, die Gährung eintritt; beide, die abnormalen und normalen, können in ein und derselben Nährlösung neben einander, vielleicht sogar in einer Zelle mit einander gehen. Weiter geht unsere Aufklärung vorläufig nicht und wollen wir die Frage weiter stellen, wie es kommt, dass die Hefe diese eigenthümliche abnormalen Lebenserscheinung zeigt, wie es kommt, dass sie sie wochenlang zeigt, so ist die Antwort einfach und kurz — das wissen wir nicht. Es ist eine Lebenserscheinung abnormaler Art, deren Bedingungen und Resultate zunächst der Erklärung bedürfen, deren Urgrund uns wenigstens vorläufig verschlossen bleibt. Hier fängt die Hypothese an, welche ich vorläufig von meiner Fragestellung ausgeschlossen habe.

In nachstehenden Sätzen will ich die Hauptergebnisse der Untersuchung kurz zusammenfassen.

1. Die Alkohol-Hefe hat, wie alle Pflanzen, zu ihrer vegetativen Entwicklung und Vermehrung die Mitwirkung des freien Sauerstoffs nöthig.

2. Bei Luftabschluss, beim Abschluss von freiem Sauerstoff kann die Hefe in Nährösung nicht wachsen.
3. Es ist unrichtig anzunehmen, dass die Hefe statt freien, gebundenen Sauerstoff für ihre Entwicklung und Vermehrung aus sauerstoffreichen Verbindungen, wie z. B. Zucker, entnehmen kann.
4. Es ist weiter unrichtig, dass auf dieser der Hefe zuerkannten Eigenthümlichkeit von gebundenem Sauerstoff zu vegetiren, zu wachsen, der Process der Gährung beruht.
5. Die nicht wachsende, vom Zutritt des freien Sauerstoffs abgeschlossene lebende Hefezelle erregt in Zuckerlösung alkoholische Gährung.
6. Die Hefe geht in diesem Falle allmählich in einen eigenthümlichen Zustand über, in welchem sie sich durch gleichmässigen, körnchenfreien Inhalt, Mangel an Vacuolen, starkes Lichtbrechungsvermögen und dicke Membramen in höchst charakteristischer Weise von der wachsenden sprossenden Hefe auszeichnet. In Wasser quillt die in diesem Zustande noch lebendige Hefe von Neuem auf und zeigt nun das bekannte Ansehen der theilweise vergohrenen Zellen, wie sie in den Gährbottichen nach der Gährung und auch im Handel vorkommen.
7. Die Gährung ist der Ausdruck eines abnormalen unvollkommenen Lebensprocesses, bei welchem die zur Ernährung der Hefe nothwendigen Stoffe, Zucker, stickstoffhaltige und mineralische Bestandtheile und freier Sauerstoff, nicht alle gleichzeitig und harmonisch zusammenwirken zum Wachsthum der Hefe. Der hierzu allein oder im Missverhältnisse zu den übrigen Nährsubstanzen aufgenommene Zucker wird von der Hefezelle in Kohlensäure und Alkohol u.s.w. zersetzt wieder ausgeschieden.
8. Die Hefe vermag diesen abnormalen Lebensprocess unter langsamer Abschwächung ihrer Lebenskraft wochenlang fortzusetzen. Allmählich gährt sie sich zu Tode, wenn der Zuckergehalt der Nährösung weiter reicht, als ihre Lebenskraft. Ist diess nicht der Fall, der Zucker der Nährösung vergohren, die Kraft der Hefe nicht erschöpft, so vermag sie wenigstens 9 Monate lang in dem in 6 geschilderten Zustande lebensfähig auszudauern.
9. Die Hefezelle hat in Nährösung eine grosse Anziehung zum freien Sauerstoff, sie vermag so in Kohlensäure zu wachsen, welche weniger als $1/6000$ Volumen freien Sauerstoff enthält, und den Sauerstoff vollständig aufzunehmen. Die Hefe ist durch diese Eigenschaft als ein äusserst feines Reagens auf freien Sauerstoff anzusehen.
10. Diese Anziehung zum freien Sauerstoff ist eine besondere Eigenthümlichkeit der Hefe, sie kommt den Schimmelpilzen, mit Ausnahme des *Mucor racemosus* und seiner nächsten Verwandten, nicht zu.

14. Durch die starke Anziehung der Hefe zum freien Sauerstoff, verbunden mit ihrer Eigenthümlichkeit, in Flüssigkeiten zu leben, sich sehr schnell zu vermehren und zu wachsen, tritt in den flüssigen Medien, worin die Hefe wächst, leicht Mangel an freiem Sauerstoff und damit die Erscheinung der Gährung ein, wie z. B. in den Brauereien, in der Technik, mit anderen Worten, die Hefe bringt sich selbst in abnormale Lebensverhältnisse.
12. Es lässt sich nachweisen, dass die Hefe unter den geeigneten Umständen bei normaler Ernährung wächst ohne Gährung zu erregen, es lässt sich weiter sicher stellen, dass Gährung ohne Wachsthum der Hefe eintritt.
13. In Nährflüssigkeiten, welche mit ihrer Oberfläche der Luft ausgesetzt sind, erfolgt Wachsthum und Gährung an verschiedenen Stellen zugleich, die Gährung dort, wo der freie Sauerstoff verzehrt ist, das Wachsthum dort, wo er noch vorhanden und von Neuem zutreten kann.
14. Da Wachsthum und Gährung nach der Gegenwart und dem Mangel von Sauerstoff in der Nährflüssigkeit sich ablösende Erscheinungen sind, so ist vom rein theoretischen Standpunkte aus die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, dass Wachsthum und Gährung eine kurze Zeit in einer Hefezelle zugleich stattfinden können, dass also die wachsende Hefezelle den im Missverhältniss zum gebotenen freien Sauerstoff aufgenommenen Zucker vergährt.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Arbeiten des Botanischen Instituts in Würzburg](#)

Jahr/Year: 1874

Band/Volume: [1](#)

Autor(en)/Author(s): Brefeld Oscar Julius

Artikel/Article: [Untersuchungen über die Alkoholgährung 500-518](#)