

Die Ernährungsphysiologie der Hefezelle bei alkoholischer Gärung

Von

Max Rubner

o. ö. Professor an der Universität zu Berlin
und Direktor des physiologischen Instituts

Mit 40 Figuren im Text



Leipzig
Verlag von Veit & Comp.
1913

Inhalt.

Seite

I. Teil.

Vitale und fermentative Umsetzungen.

Erstes Kapitel. Einleitung und Anschauungen über die Lebenseigenschaften der Hefe	1
Zweites Kapitel. Biologische Ziele und Aufgaben	17
Drittes Kapitel. Die Mikrokolorimetrie	25
Viertes Kapitel. Verhältnis der Gärung zum Wachstum	33
Fünftes Kapitel. Ist neben der Zuckergärung noch eine weitere Quelle der Wärmebildung bei der Hefe nachweisbar?	37
Sechstes Kapitel. Die Trennung zwischen fermentativer und vitaler Zuckerverzersetzung	52

II. Teil.

Die physiologischen Bedingungen des Energiebedarfs der Hefe im Zustande der Wachstumsbehinderung.

Erstes Kapitel. Einleitende Bemerkungen	65
Zweites Kapitel. Abhängigkeit des Energieverbrauchs von der Hefemasse	69
Drittes Kapitel. Abhängigkeit des Energieverbrauchs von der Zelltemperatur	81
Viertes Kapitel. Schädigender Einfluß des Alkohols	87
Fünftes Kapitel. Gärung bei gleicher Hefe- und Zuckermenge, bei wachsenden Mengen von Wasser	91
Sechstes Kapitel. Verschiedene Konzentration der Zuckerlösung bei gleichbleibender Aussaat an Hefe	104
Siebentes Kapitel. Gärkraftveränderungen der Hefezelle	118

III. Teil.

Das Wachstum der Hefe in seinen allgemeinen Beziehungen zu Nahrungsmenge, Nahrungsart und Temperatur.

Erstes Kapitel. Die Gesichtspunkte, welche beim Studium der Wachstumsfrage in Betracht kommen	149
Zweites Kapitel. Zeitlicher Verlauf und Bedingungen des Hefewachstums	156
Drittes Kapitel. Die Beziehungen des Alkoholgehalts einer Nährflüssigkeit zum Wachstum	168
Viertes Kapitel. Beziehungen zwischen der Menge der Ernte und der Konzentration der Nährlösung an N-haltigen Nährstoffen	172
Fünftes Kapitel. Die Gärwirkungen der in verschiedener Konzentration derselben Bierwürze wachsenden Hefe	181

Sechstes Kapitel. Die Bedeutung des Nährstoffverhältnisses für Wachstum und Gärung	Seite 191
Siebentes Kapitel. Einfluß der Temperatur auf das Wachstum und die Intensität der Gärung	200

IV. Teil.

Die absolute Gärleistung wachsender und nicht wachsender Hefe und die energetischen Beziehungen zwischen Wachstum und Gärung.

Erstes Kapitel. Die absolute Größe des Energieumsatzes der Hefezellen im nicht wachsenden Zustande	210
Zweites Kapitel. Die absolute Größe des Energieumsatzes der Hefezelle im wachsenden Zustande	222
Drittes Kapitel. Wachstum und Gärung in ihrem gegenseitigen Verhältnis des Energieverbrauches	230

V. Teil.

Fermentationswärme und andere Wärmetönungen in der Hefe	239
---	-----

VI. Teil.

Das Verhältnis des Kraft- und Stoffwechsels der Hefe zu anderen Organismen	255
--	-----

VII. Teil.

Die Rolle der Zellmembran als Resorptionsfläche der Nahrungsstoffe	267
--	-----

VIII. Teil.

Der Stickstoffwechsel der nicht wachsenden Hefe.

Erstes Kapitel. Die Anschauungen über den Stickstoffwechsel der Hefe und über die bei der Umwandlung des stickstoffhaltigen Nährmaterials wirk-samen Kräfte	272
Zweites Kapitel. Das Verhalten nicht wachsender Hefe in N-haltigen Nährböden, das N-Gleichgewicht und die N-Anlagerung	296
Drittes Kapitel. Läßt sich unverändertes Pepton in der Hefezelle nach Ernährung in peptonhaltigen Nährböden nachweisen?	311
Viertes Kapitel. Biologische Beobachtungen an nicht wachsender Hefe, welche mit Pepton oder Pepton und Zucker ernährt wird	317
Fünftes Kapitel. Die Beziehungen zwischen Ernährungszustand der Hefezelle und der Größe des N-Ansatzes bei nicht wachsender Hefe	324
Sechstes Kapitel. Gärungserscheinungen nach Zufuhr peptonhaltiger Nähr-lösung	332
Siebentes Kapitel. Das Verhältnis zwischen Eiweißzerfall und Gärungs-kraftwechsel bei nicht wachsender Hefe	344

IX. Teil.

Der Stickstoffwechsel der Hefe beim Wachstum.

Erstes Kapitel. Allgemeines über die Besonderheiten des Wachstums der Hefe	347
Zweites Kapitel. Die untere Grenze des Wachstums und über verschiedene Nahrungsstoffe	356
Drittes Kapitel. Wachstumsschwelle und Wachstumsreiz	380
Register	393

I. Teil.

Vitale und fermentative Umsetzungen.

Erstes Kapitel.

Einleitung und Anschauungen über die Lebesneigenschaften der Hefe.

Die allgemeine Physiologie stellt sich durch die Vergleichung der Naturerscheinungen verschiedener Spezies die Aufgabe, zu gemeinsamen Grundsätzen über die Erscheinungen des Lebens zu gelangen. Was lebt, — ist Eins, daher muß trotz der Varianten, welche die einzelnen Spezies vorstellen, in ihrem Leben das gemeinsame Bild des Ganzen sich widerspiegeln.

Jede Spezies, deren Lebensvorgänge näher erkannt werden, kann zur Lösung des Problems einen wesentlichen Teil beitragen. Es liegt der Gedanke besonders nahe, aus dem Studium einfacher Formen wie der Einzelligen den grundlegenden Erscheinungen näher zu kommen, weil uns naturgemäß hier auch die funktionellen Vorgänge plastischer und großzügiger entgegentreten.

Von den Lebenserscheinungen, welche neben dem morphologischen Aufbau die größte Variabilität besitzen, stehen die Ernährungsvorgänge in erster Linie, die Gewinnung und Verdauung der Nahrung, Resorption, Assimilation und Dissimilation zeigen die wandelbarsten Möglichkeiten. Bei manchen Gruppen von Organismen scheinen die Grundgesetze der Ernährung andere zu sein, wie sonst im Tier- und Pflanzenreich; es bieten sich Paradoxa aller Art dem Beobachter dar.

Die wissenschaftliche Arbeit auf diesem Gebiete steht noch sozusagen im Stadium des ersten Sammelns, ohne in die geistige Verwertung des Tatsachenbestandes tiefer eingedrungen zu sein. Aber man kann schon a priori vermuten, daß das Gebiet einer vergleichenden Ernährungsphysiologie in der Erkenntnis der grundlegenden Eigenschaften der Zelle ihren Schlußstein finden wird. Die vergleichende Methode wird durch das Studium der einfachen Formen, die frei von allen Differenzierungen äußerer Art ihr Dasein hinbringen, uns mehr lehren können als das eingehendste Studium eines hochstehenden komplizierten Organismus.

Wie die historische Entwicklung der Ernährungslehre zeigt, hat sich die letztere von Anfang an ganz überwiegend mit bestem Erfolge mit den warmblütigen höheren Tieren, den Haustieren und dann auch mit dem Menschen beschäftigt. Darüber hinaus stehen uns nur lückenhafte Kenntnisse zu Gebot. Bemühungen, die Ergebnisse der Ernährungsphysiologie zu einer Erkenntnis des Stoffwechsels anderer Wesen und vor allem der einzelligen Wesen oder der Zellen überhaupt zu vertiefen, finden sich zwar vielfach, aber es ist dies doch nur annähernd möglich, denn ein Organismus wie ein Warmblüter besitzt so komplizierte und weitgehende Kompensations- und Regulationsmechanismen, daß wir nicht oder doch nur mit Schwierigkeiten uns eine Vorstellung von der Ernährung einzelner Organe machen können. Um nur Eines herauszugreifen, läßt die Kompliziertheit der Einrichtungen bei Tieren mit Kreislaufsystem eine direkte Beobachtung der Resorption der Nahrung und Ernährungsflüssigkeit zur Zelle nicht zu, nur auf Umwegen lassen sich nicht immer bindende Schlüsse ziehen. Wir können die Nahrungsstoffe nicht bis zu ihrem Eintritt in die Zelle verfolgen und haben auf die experimentelle Variation der nährenden Bestandteile in den Säften nur wenig Einfluß und ebensowenig sind wir in der Lage, die aus den Zellen austretenden Zersetzungsprodukte abzufangen und nach ihrer Art und Menge zu bestimmen.

So sind wir aus verschiedenen Gründen darauf angewiesen, nicht die Lebensvorgänge einzelliger Organismen aus dem Komplizierten, sondern umgekehrt aus dem Einfachen das Komplizierte neu aufzubauen und dem Verständnis näher zu bringen.

Die Zelle des einzelligen Wesens ist zwar ebensowenig wie die des Warmblüters ein einfaches Gebilde, sondern selbst ein wahrer Organismus, es stört uns aber bei ihrer Beobachtung nicht ein die Zellen leitendes Zentralorgan oder die Korrelation zwischen differenzierten Organen; die Nährflüssigkeit kann mit den Zellen direkt in

Berührung kommen und die Ausscheidungsstoffe lassen sich gewissermaßen sofort nach dem Verlassen der Zelle abfangen.

Wir kommen der Zelle einen Schritt näher. Fragen, wie jene über den Einfluß der Nahrungskonzentration auf die Umsetzungen, die bei den Warmblütern so schwierig sind, können hier bei den Einzelligen leichter bearbeitet werden. Das Wachstum, im Leben der höheren Lebewesen nur von kurzer Dauer, spielt bei den niederen Organismen in alle Vorgänge hinein, ihre unerschöpfliche Wachstumskraft bietet der Forschung beliebige Angriffspunkte und interessante Parallelen und Ausblicke.

Die Welt der Mikroorganismen ist von ungeheurer Ausdehnung, die Lebensbedingungen mannigfaltig wechselnd. Der Warmblüter, zum Teil auch der höhere Kaltblüter entzieht sich mehr oder minder geschickt den wechselnden Lebensbedingungen durch seine Akkommodations- und Regulationseinrichtungen. Das innere Leben der Zellen verläuft mehr oder minder geschützt vor den Einflüssen variabler Außenbedingungen.

Das einzellige Wesen scheint bei seiner unvollkommenen Entwicklungsstufe mehr noch der Spielball verschiedener Einflüsse, die Variationen der physiologischen Versuchsbedingungen auf das Protoplasma treten ungeschwächt zutage. Unter je mannigfacheren Bedingungen das Lebende zu einer Reaktion veranlaßt wird, um so mehr muß es uns von seinem Wesen verraten. Die Welt der Einzelligen umfaßt eine ungeheure Zahl von Spezies; bei den Infusorien mit ziemlicher Massenentwicklung anfangend gelangen wir über die Schimmelpilze, Hefen und Bakterien hinab zu den Zellen, die an der Grenze der mikroskopischen Sichtbarkeit liegen.

Die Ernährungsbedingungen sind äußerst variabel, gleichen die einen Zellen mit der Aufnahme fester Nahrung in vielen Richtungen noch höheren Organismen, und stimmen in der Oxydation, Spaltung und dem Schema des Kraftwechsels gleichfalls mit den Wirbeltieren überein, so haben wir andererseits Organismen, deren Lebensweise wesentlich anders sich gestaltet, vor allem bei den Bakterien und Hefen. Die Nahrung liegt hier in den Medien gelöst vor, sie schwimmen in diesem Nährmedium selbst. Die Behinderung des Sauerstoffzutritts wird oft zeit lebens ertragen, oder erzeugt bei vorübergehender Wirkung völlige Veränderungen des Stoffwechselbildes, das wir nach unserer Erfahrung an höheren Organismen gewonnen haben. Die Absonderlichkeit des Stoffwechsels, die Transformierung in den Erscheinungen der Gärung und Fäulnis machen gerade diese Gruppe von Organismen nicht nur

überhaupt zum Gegenstand eines lebhaften Interesses, sondern lassen auch einen tieferen Einblick in das Wesen des Ernährungsprozesses erhoffen.

Das Studium der Lebensvorgänge dieser Organismen, zu dem ich bereits in einer früheren Abhandlung durch die Darstellung der Kraftwechsel- und Wachstumsvorgänge bei einigen Bakterien den Grundstock gelegt, bedarf der Erweiterung und Ausdehnung.

Wie die vergleichende Morphologie Entwicklungsgesetze der Organismen und ihre gegenseitige verwandtschaftliche Zusammengehörigkeit begründet hat, so wird man hoffen dürfen, die allgemeinen Gesichtspunkte einer vergleichenden und entwicklungsgeschichtlichen Darstellung der Ernährungsgesetze, wie ich sie vor ein paar Jahren in dem Buche „Kraft und Stoff im Haushalt der Natur“ zu begründen versucht, weiter auszugestalten und zu vertiefen. Wie die morphologischen Charaktere im Tier- und Pflanzenreich sich allmählich weiter entwickelt, differenziert und vervollkommen haben, so kommt auch den physiologischen Funktionen im Sinne einer allmählichen Vervollkommenung ein fortschreitender Entwicklungsgang zu. Aber trotz aller Variabilität der äußeren Erscheinung und der dadurch bedingten Verschiedenheit der Organfunktionen müssen im Lebensprozeß gemeinsame Grundprinzipien des Wachstums und des Kraftwechsels gegeben sein. Diese allmählich aufzudecken, muß eine dankbare Aufgabe vergleichender Forschung sein. Die Hauptumrisse dieser Gesetze sind die Arbeitsgesetze des Protoplasmas, mögen dabei die Einzelheiten des Stoffwechsels in der Qualität der Spaltungsprozesse, in der Art und Größe der Energieentwicklung noch so verschieden sein. Aber auch nur in den großen Gesetzen werden wir gemeinsame Unterlagen erwarten dürfen.

Auch von diesen Perspektiven abgesehen, scheint es mir von Wichtigkeit zu sein, die Biologie der einzelligen Wesen mit Rücksicht auf die Bedeutung, die diese selbst in unserem Leben und im Hinblick auf unsere Gesundheit spielen, aufzuklären.

Unter den Mikroorganismen, welche einer eingehenden Untersuchung wert erscheinen, mußte der Alkoholgärungspilz, die Bier- oder Weinhefe, in erster Linie in Frage kommen.

Ich denke, was sich hier an Problemen ergibt, ist eine solche Fülle des Anregenden, daß, wenn es gelänge, diese kleinen Wesen für unsere Methoden ebenso zugänglich zu machen, wie es manche Versuchstiere gewesen sind, man eine große Ausbeute von Ergebnissen nicht nur für die speziellen Arten dieser Organismen erhoffen könnte, sondern daß

darüber hinaus die Stoffwechsellere einen Anstoß allgemein gültige Grundsätze und Normen gesetzmäßigen Geschehens auszusprechen, erhielt.

Zu den Problemen, welche im Laufe der Zeiten eines eingehenden Studiums gewürdigt worden sind, gehört die Hefegärung, schon von den Zeiten angefangen, als man von einer morphologischen Grundlage des Vorganges noch keine Ahnung hatte. Die Geschichte der Hefegärung spiegelt die naturwissenschaftliche Methode in ihrem Eindringen in die Biologie wieder, wie die Fortschritte der organischen Analyse, der Gasanalyse, der morphologischen Forschung, die chemischen und vitalistischen Theorien. An dem Gärungsproblem haben sich hervorragende Gelehrte: Thénard, Gay-Lussac, Dubrunfaut, Schwann, Küntzig, Pasteur, Liebig, Schützenberger, Duclaux, Nägeli durch umfangreiche Arbeiten beteiligt. Die Alkoholgärung durch die Hefezelle war stets als Urbild für die Gärungsprozesse betrachtet und die aus ihr fließende biologische Erkenntnis auf die übrigen Gärungsprobleme übertragen worden.

Nachdem man zur Mitte des 19. Jahrhunderts die biologische Gärungshypothese durch den Nachweis von Organismen in gärenden Flüssigkeiten zu stützen vermochte, schien die Ätiologie der alkoholischen Gärung einen festen Boden gewonnen zu haben. Indes doch nur kurze Zeit. Denn Liebig's Theorie der Gärung und Fäulnis, welche nur die Anwesenheit „ungeformter“ Fermente zur Voraussetzung hatte, erfreute sich allseitiger Aufnahme und großen Beifalles. Die interessanteste Periode war der Streit zwischen der chemischen Gärungstheorie, die Liebig vertrat, und der vitalistischen, als deren Hauptvorkämpfer wir Pasteur ansehen können. Die vitalistische Theorie, die Annahme, daß die Hefezelle als Lebewesen die Ursache der Gärung seien, war schließlich die Siegerin geblieben.

Aber vor wenigen Jahren hat die Gärungstheorie sich erneut eine Umarbeitung gefallen lassen müssen. E. Buchner hat durch Auspressen von Hefe und mit anderen Methoden ein Ferment hergestellt, das die Alkoholgärung wie die Hefe selbst herbeiführt. Auch bei anderen Gärungen verhält es sich völlig analog. So hat das uralte Problem der Gärung selbst nichts von seinem Reize verloren. Kaum schien es endgültig gelöst, so steht es schon wieder inmitten der lebhaftesten Diskussion. Viele glauben in der Tat unsere Kenntnisse im wesentlichen als abgeschlossen, ich meine aber behaupten zu dürfen, daß gerade die Biologie einen solchen Standpunkt nicht einnehmen kann. Für den Biologen ist die Formulierung des Gärungsprozesses

als eines rein enzymatischen Vorganges durchaus nicht so befriedigend als man meinen sollte. Ihm, der das Leben als ganzes erfassen muß, bietet die Annahme einfacher Fermentwirkung ein neues, schwer verständliches Rätsel.

Um besser zu würdigen, wo die Lücken und Mängel unserer Erkenntnis liegen, muß ich, ohne hierdurch zu weit ausgreifen zu wollen, die maßgebendsten Anschauungen über die Beziehungen zwischen Gärung und Hefe näher darlegen.

Unter diesen können zunächst jene von Pasteur einen hervorragenden Platz beanspruchen.

Pasteurs Anschauungen und Theorien über die Gärung des Zuckers sind wesentlich physiologischer Natur, sie suchen den Vorgang als einen Ausdruck von Lebensprozessen zu erklären. Die Hefe ist ein Organismus, welcher Zucker in Kohlensäure und Alkohol spaltet. Die Anschauung über die Ernährungsvorgänge lehnte sich damals an die Auffassung von Lavoisier an, der den Sauerstoff als Ursache der Verbrennung in den Organismen ansah. Den anscheinenden Widerspruch, der in dem Leben der Hefe ohne Sauerstoff mit dieser Theorie lag, wußte Pasteur in geschickter Weise zu lösen und in ein glückliches kausales Verhältnis zu bringen, indem er den Sauerstoffmangel als die Ursache der Gärung bezeichnete und annahm, daß bei der Gärung der im Zuckermolekül gebundene Sauerstoff durch seine Wanderung an das Kohlenstoffatom die Funktion des sonst freien Sauerstoffs erfüllt. Die Gärung konnte als innere Verbrennung aufgefaßt werden und entsprach einer solchen auch durch die schon damals bekannte Wärmebildung.

Die tatsächlichen Unterlagen der Pasteurschen Theorie stießen aber bald auf manchen Widerspruch, denn die unerläßliche Konsequenz, daß bei O-Gegenwart gar keine Gärung eintreten sollte, fand sich nicht voll bestätigt, so daß die anfänglich einfache Theorie mit einer Reihe komplizierter Annahmen rechnen mußte, um aufrecht erhalten werden zu können. Einiges hierüber findet sich in einer Polemik zwischen Schützenberger und Pasteur ausgesprochen, die hier kurz skizziert sein soll.¹

Schützenberger, sagt Pasteur an dieser Stelle, wundere sich, daß auch Fermentation in Gegenwart von Sauerstoff eintrete, wenn die Zersetzung des Zuckers die Folge der Ernährung mit einer oxydierten Verbindung „combinaison oxygénée“ an Stelle von freiem

¹ Pasteur, *Études sur la bière*. p. 246.

Sauerstoff sei. Schützenberger sage, wenn Pasteurs Hypothese richtig ist, muß der freie Sauerstoff die Gärung mindern, während Pasteurs Experimente mit Lüftung das Gegenteil ergeben hätten. Letzterer argumentiert nun in folgender Weise: „Der Sauerstoff gibt der Hefe eine starke Lebenskraft, aber ihre Gärkraft wird gleich Null“, sie nähert sich in der Ernährung einfach den Schimmelpilzen, und die Menge des zersetzten Zuckers wird ähnlich den Lebewesen, die keine Fermente sind. Der Sauerstoff hat aber noch eine andere Fähigkeit, indem Hefe, die bei seiner Gegenwart entsteht, jugendlicher ist und mehr Lebenskraft hat, als wenn sie bei ungenügendem Luftzutritt wächst. Sie hat dann auch, geschützt vor Luft, die Fähigkeit, mehr zu zersetzen und zeigt in ihrer fermentativen Umsetzungskraft ein Maximum.“

Hier erscheint also die „Fermentation“ als eine besondere Funktion der sonstigen, davon trennbaren Lebensvorgänge des lebenden Protoplasmas, über deren Natur freilich nichts Näheres ausgesagt wird.

Und andererseits will Pasteur die Fermentation als etwas für sich allein Bestehendes betrachtet wissen, als einen Vorgang, der unabhängig von sonstigen Funktionen der Zelle verläuft, als echten Fermentprozeß, für dessen Wirkungen die Zeit ein variabler und mit dem Zellvorgange selbst nicht zusammenhängender Faktor ist.

Diesen letzten Umstand finden wir bei Pasteur mehrfach betont; eine Auffassung, welche mit Rücksicht auf die Frage, ob ihm ein unseren heutigen Vorstellungen entsprechender Gedankengang vorgeschwebt habe, von ausschlaggebender Bedeutung ist.

Für einen Lebensprozeß, der durch die Oxydation eingeleitet und energetisch aufgefaßt wird, kann unmöglich, wie es hier geschieht, ein völlig zeitlich unbegrenzter, von äußeren Umständen beliebig abhängiger, in seinem Erfolge also materiell ungleich großer Fermentationsprozeß gleichwertig sein.

Die Fermentation nach Pasteur ist von der Jugendlichkeit und Lebenskraft der Zelle abhängig, groß, wenn die Zelle vorher gelüftet wurde, und klein, wenn dieselbe Zellmasse ohne Luftzutritt gebildet worden ist.

Was wir heute Intensität des Lebensvorganges in energetischem Sinne heißen müßten, ist hier noch etwas aus verschiedenen Gründen Wandelbares, eine schwankende Größe. Die aeroben Zustände und die anaeroben sind bei genauer Betrachtung hier nicht unter einen gemeinsamen Gesichtspunkt gebracht und nicht quantitativ übereinstimmende äquivalente Vorkommnisse. Worin sich die Erhöhung der Lebenskraft, außer in dieser Gärfähigkeit nach erfolgter Lüftung

äußert, erfahren wir nicht. Die Fermentwirkung, die nach Pasteurs Auffassung eine direkte Äußerung des Lebensprozesses (geformtes Ferment) ist, bedarf des Sauerstoffs, denn in jedem Lebensprozeß äußert sich nach Lavoisier eine Verbrennung.

„Die zu dieser Arbeit verbrauchte Wärme muß notwendigerweise bei der Gärung der gärungsfähigen Substanz, d. h. dem Zucker entlehnt werden, der in der Art der Explosivkörper Wärme durch seine Zersetzung frei macht.“ Der Ausdruck Explosivkörper will hier offenbar nichts anderes besagen, als daß ohne O-Aufnahme von außen die Zerlegung erfolgt.

„Die Gärung durch Hefe scheint demnach wesentlich zusammenzuhängen mit der Eigenschaft dieser kleinen Pflanzen, durch den mit dem Zucker verbundenen Sauerstoff einigermaßen zu atmen. Ihre Gärkraft (eine Kraft, die man nicht mit der Gärtätigkeit oder der Intensität der Zersetzung in bestimmter Zeit verwechseln darf. Verf.) variiert beträchtlich zwischen zwei Grenzen, welche durch die größte und die kleinste mögliche Teilnahme des freien Sauerstoffs an dem Akte der Pflanzenernährung bestimmt werden. Würde diese eine so große Menge Sauerstoff liefern als es ihr Leben, die Ernährung, die Verbrennung bei der Respiration verlangt, in anderen Worten: läßt man sie im eigentlichen Sinne wie Schimmelpilze leben, hört sie auf, ein Ferment zu sein, d. h. das Gewichtsverhältnis der Pflanze zu dem des Zuckers, der sein hauptsächlichstes kohlenstoffhaltiges Nahrungsmittel ist, verhält sich ebenso wie bei allen Schimmelpilzen. Im anderen Fall gelingt es, die Hefe jedem Einfluß der Luft zu entziehen, läßt man sie sich in einer sauerstofffreien Zuckerlösung entwickeln, — vermehrt sie sich noch ebenso als ob die Luft anwesend war, wenn schon aber weniger heftig, und dann ist ihr Gärcharakter der kräftigste. Dann existiert der größte Spielraum — die übrigen Bedingungen gleich gehalten — zwischen dem Gewicht der entstandenen Hefe und dem Gewicht des zersetzten Zuckers. Endlich, wenn der freie Sauerstoff dazukommt, — in beträchtlicher Menge — kann man die Gärkraft der Hefe zwischen den äußersten Grenzen, die wir angegeben haben, variieren. Man kann sich, wie mir scheint, nicht besser ausdrücken, als daß die Gärung in einer direkten Beziehung zum Leben steht, wenn sie sich ohne oder mit kleinen, für Ernährung und Assimilation ungenügenden Sauerstoffmengen vollzieht.“

„Die Gärfähigkeit, sagt Pasteur (S. 258), ist keine Eigentümlichkeit der Struktur. Es ist eine Eigenschaft, die von bestimmten äußeren Bedingungen abhängt und von der Ernährungsweise.“

Obwohl in vorstehendem der supponierte innere O-Verbrauch das entscheidende Moment für die Umwandlung des Oxydationsprozesses in den Fermentstoffwechsel bildet, äußert sich Pasteur über die näheren quantitativen Beziehungen dieser antagonistischen Prozesse nicht. Dies erklärt sich genügend aus seiner Auffassung über die wechselnde Lebenskraft der Zellen bei aerober und anaerober Lebensweise überhaupt. Über die engeren quantitativen Beziehungen zwischen O-Verbrauch bei Luftzutritt und Gärungsgröße ließ sich bei dem damaligen Stand des Wissens und speziell bei der Versuchsanordnung Pasteurs aber auch nicht das geringste aussagen.

Auch was Pasteur sonst über die geformten Fermente im allgemeinen sagt, war nur eine Hypothese, für welche alle positiven Unterlagen fehlten.

Der Gärungstheorie hat Pasteur eine allgemeine Bedeutung gegeben, er meint, der Fermentcharakter (S. 259) kann jeder chemischen und pflanzlichen Zelle zukommen, in der Art, daß sie eine chemische Arbeit des Lebens, die Assimilation oder Desassimilation leistet, ohne freien Sauerstoff, d. h. mit einer Bildung von Wärme, die aus der Zersetzung eines Körpers stammt. Man könne wohl bei dem größten Teil der Lebewesen solche Fälle der Fermentation finden.

„En résumé, la fermentation est un phénomène très général. C'est la vie sans air, c'est la vie sans gaz oxygène libre ou plus généralement encore, c'est la conséquence d'un travail chimique accompli au moyen d'une substance fermentescible capable de produire de la chaleur par sa décomposition, travail qui emprunte précisément la chaleur qu'il consomme à une partie de la chaleur que la décomposition de cette substance fermentescible met en liberté. La classe des fermentations proprement dites se trouve restreinte cependant par le petit nombre des substances capables de se décomposer avec production de chaleur et pouvant servir à l'alimentation des êtres inférieurs en dehors de la présence et de l'action de l'air.“

Bei der Fermentation wird also eine Arbeit geleistet, welche notwendig ist, um die gärfähigen Stoffe zu spalten, und diese fließt aus der Quelle der zerlegten Stoffe, deren Wärmeentwicklung also größer sein muß als zur Zerlegung neuer Substanzen notwendig ist. Das war eine Definition eines Fermentes, die allerdings allen späteren Erfahrungen über die Natur eines Fermentes widerspricht, weil das Ferment selbst im Sinne eines Energieverbrauches in die Zersetzung nicht eingreift. Bei dem damaligen Stand des Wissens war aber die Kenntnis der Wärmeentwicklung bei fermentativen Vorgängen so wenig ent-

wickelt, daß eine Generalisierung der Verhältnisse bei der Hefe und anderer Fermente eine bloße Vermutung ohne alle tatsächlichen Unterlagen war.

Die Pasteursche Hypothese war auf den ersten Blick eine sehr bestechende, hatte aber, abgesehen von dem Mangel einer strikten Beweisführung der kausalen Wirkung der Sauerstoffentziehung und Gärung, wie Schützenberger schon ganz richtig bemerkt hatte, eine biologische Inkonsequenz insofern, als Pasteur bei seinen Betrachtungen über die Leistungsfähigkeit der Hefe unter verschiedenen Umständen stets nur die Wirkungen der trocken berechneten Hefemenge zum zersetzten Rohrzucker in Rechnung stellte, aber die Zeit, innerhalb deren die Wirkungen sich ausprägten, unberücksichtigt ließ. Das Charakteristische aller Lebensäußerungen auf dem Gebiete der Ernährung ist die Intensität gerade der Umsetzungen, der Verbrauch berechnet auf die Lebenseinheit in der Zeiteinheit, ohne diese Rücksichtnahme kann man überhaupt keinen Vergleich zwischen den Leistungen anstellen, also auch im vorliegenden Falle nicht entscheiden, wie die Zuckerzerlegungen im aeroben und anaeroben Leben gewesen sind, was doch der Ausgangspunkt für eine Begründung der Theorie hätte sein müssen. Von einem Beweise, daß der anaerobe Gärungsvorgang ein biologisch völliger Ersatz für den aeroben gewesen sei, kann man nicht sprechen. Von einer Äquivalenz beider Vorgänge im Sinne gleichen Wärmeverbrauches ist nirgendwo die Rede, offenbar kam es Pasteur nur darauf an, auszusprechen, daß die im anaeroben Zustande auftretenden Gärungen so mächtige seien, um die geringe Menge von Kraft zu leisten, welche zur fermentativen Spaltung des Zuckers notwendig sei. Abgesehen von der Frage zwischen aeroben und anaeroben Lebensbeziehungen wird man vergeblich nach einer Äußerung suchen, welche präzise zum Ausdruck brächte, ob diese Hefezelle als Gesamtheit aller biologischen Funktionen einzig und allein Zucker vergäre oder ob sie außerdem noch andere Funktionen, also auch besondere Stoffbedürfnisse habe.

Die Pasteursche Hypothese wurde auch, was die sachlichen Grundlagen anbelangt, namentlich von Liebig bekämpft¹. Obwohl schon im Jahre 1856 Dubrunfaut² eine, wenn auch noch recht fehlerhafte Bestimmung der bei der Gärung entwickelten Wärme aus-

¹ Liebig, *Sitzungsberichte der bayrischen Akademie der Wissenschaften*. 1869. Bd. II. S. 427.

² Dubrunfaut, *Journal für praktische Chemie*. Bd. LXIX. S. 444.

geführt hat und bewiesen zu haben glaubte, daß der Zucker durch Zerlegung Wärme liefere, hat Liebig — allerdings auf Grund irriger Berechnungen, wie erst später erwiesen wurde — behauptet, der Zucker spalte sich endotherm, indem die Spaltprodukte mehr Energie hätten als der Zucker selbst. Die Gärwärme, die ja in praxi längst bekannt war, entstände überhaupt aus Umsetzungen in der Hefe, und sei notwendig, um die Zersetzungsarbeit des Zuckers zu leisten. So wurde also anscheinend die ganze Basis der Pasteurschen Auffassung als irrig hingestellt. Liebigs Anschauung war aber selbst weder bewiesen noch auch haltbar, denn man konnte schon damals trotz der noch mangelhaften Kenntnisse über den Wärmewert der Eiweißstoffe einwenden, daß auch eine völlige Verbrennung der ganzen Masse der bei einer Gärung tätigen Hefe niemals so viel Wärme liefern könne, als angeblich nach Liebig frei wird, was dieser durch das Argument: „die lebenden Eiweißstoffe hätten eben viel mehr Energiegehalt als das tote Eiweiß“ entkräften wollte.

Bald stritten andere Theorien über die Gärung mit jener von Pasteur um Anerkennung. Schon 1858 wurde von Traube angenommen, daß in den Zellen von Organismen neben anderen Stoffen auch ungeformte Fermente enthalten seien und Umsetzungen erzeugten; so auch bei der Gärung. Solche Fermente hätten mit dem Lebensprozeß nichts weiter gemein als eben ihre Erzeugung durch das Leben, im übrigen wäre ihre Wirkung, wenn sie einmal entstanden waren, jeder weiteren Einflußnahme entrückt, die Gärung im speziellen Falle wäre dann nur ein Teil der sonst unbekannten undefinierten Lebensvorgänge selbst. Auch Hoppe-Seyler hat Jahrzehnte später an dieser Fermenttheorie, die er übrigens auf alle möglichen Umsetzungen, nicht etwa nur auf die Milchsäure- und Buttersäuregärung usw. ausdehnte, festgehalten. Von ihm scheint auch zuerst der generelle Gedanke ausgesprochen worden zu sein, daß Gärungen allemal Stoffe von insgesamt niedrigerer Verbrennungswärme erzeugten¹, während Liebig, wie schon erwähnt, das Gegenteil angenommen hatte.

Im Jahre 1879 suchte Nägeli in einem an Gedanken reichen Buche das Gärungsproblem auf einem anderen Wege zu lösen: Nägeli widerlegt zunächst die Pasteursche Behauptung, daß O-Entziehung die Ursache der Gärung sei auf Grund eingehender quantitativer Experimente (a. a. O. S. 25) und kommt zu dem Schluß, daß die Anwesenheit von O sogar die Alkoholbildung steigere.

¹ Siehe bei Nägeli, *Theorie der Gärung*. 1879. S. 52.

Gärung sei eben immer eine Eigenschaft der Hefezelle; er verwirft auch die Fermenthypothese Traubes, weil solche Fermente aus der Hefezelle nicht dargestellt worden seien. Er glaubt überhaupt nicht an Fermente im Plasma, da sie dort unnötig seien. Fermente hätten immer den Zweck, Nahrungsstoffe für die Zelle verwertbar zu machen, ein Gärungsferment würde geradezu etwas erzeugen, was dem Leben der Zelle selbst hinderlich sei. Man könne eher daran denken, daß die Gärungsprodukte vielleicht etwa Schutzstoffe in der Konkurrenz mit anderen Pilzen seien, wie man etwa die Spaltung von Amygdalin durch Emulsin oder des myrinsauren Kali durch Myrosin auffassen könnte. Fermente seien Körper, welche Spaltung unter Wärmebindung veranlaßten, er glaubt das durch Berechnungen (deren Mangelhaftigkeit wir heute kennen, a. a. O. S. 54) zu beweisen, bei der Gärung, das erkennt aber Nägeli an, handle es sich um exotherme Vorgänge, also um Prozesse mit Wärmeentwicklung.

Für ihn wird die Spaltung des Zuckers durch das Plasma der Zelle, das freilich auch noch andere Lebensfunktionen habe, hervorgerufen. Der Sauerstoff (a. a. O. S. 73) vermöge durch das Freiwerden von Kräften die Lebensbewegungen zu unterhalten, — Massenbewegungen und Molekülschwingungen — und die bei der Gärung frei werdende Wärme wirke ebenso. Unter den Molekularbewegungen sind solche, welche sich weiterhin im Umkreis verbreiten und den Zucker zu Mitschwingungen und schließlich zum Zerfall bewegen. Die Energie, welche den Zucker zerlegt, sei klein im Verhältnis zu der Wärme, die bei seiner Spaltung sich bilde. Gärung unterhält also auch durch diese Wärme zugleich das Leben (a. a. O. S. 75). Gärung sei aber nie der einzige Lebensvorgang, dies sehe man auch schon daraus, daß außer der alkoholischen Spaltung noch (5 Prozent) Glyzerin und Bernsteinsäure und etwas CO_2 entstehe. Auch bei der Milchsäurebildung würde nie aus Zucker nur Milchsäure, sondern auch noch andere Produkte gebildet (a. a. O. S. 15). Nägelis Molekularwirkung des Plasmas reicht über die Hefezelle selbst hinaus, so daß durchaus nicht aller Zucker in die Zelle und in die Nähe des Protoplasmas kommen muß (a. a. O. 48).

Nägelis Theorie nimmt also mit Rücksicht auf die Hefe als Organismus an, daß die Gärung neben anderen Lebensvorgängen besteht und aus der Fernwirkung bis über die Zellgrenze hinaus geht hervor, daß auch die entwickelte Gärwärme viel größer sein muß als jener Anteil der Wärme, der dem Protoplasma zugute kommt und dieses lebend erhält.

In den Untersuchungen, durch welche ich die energetische Auffassung der Ernährungsvorgänge beim Warmblüter begründet habe, nahm ich auch Gelegenheit zu einem Ausblick auf die Mikrobiologie und habe die damals als so besonders merkwürdig erscheinende ungeheure Zerstörungskraft der Gärungserreger für das ihnen angepaßte Nährsubstrat dem Verständnis näher gerückt. Ich habe damals die Meinung ausgesprochen, daß zwischen der Kleinlebewelt und den höheren Organismen kein Unterschied der prinzipiellen Lebensvorgänge angenommen werden könne. Weil für die höher stehenden Organismen der Gleichgewichtszustand durch eine gewisse Menge von Kräften erzielt werde, das lebende Protoplasma also einen bestimmten Bedarf an solchen habe, so müsse das gleiche Gesetz auch für die Einzelligen gelten.¹ Dann aber war ein Unterschied zwischen aerobem und anaerobem Leben, was die zum Leben erforderliche Energiemenge betraf, überhaupt hinwegfallend, nur stofflich bestand ein Quantitätsunterschied insofern, als die höhere Verbrennungswärme bei der Oxydation und die geringe Wärmeentwicklung bei einer Spaltung etwa von Zucker in Kohlensäure und Alkohol natürlich weit mehr „Stoffmaterial“ erforderte, um die gleiche Energie zu liefern, wie bei dem Leben in aerobem Zustand. Oxydative Spaltung ist eben nur ein Optimalfall für die Auslösung der Energie organischer Körper (Rubner, a. a. O. S. 389).

Diese Anschauung hat aber weiter keine Beachtung gefunden, vielleicht deshalb, weil damals die Mittel fehlten, um methodisch die Frage in weitem Umfange bei verschiedenen Spezies zu prüfen. Andererseits ergab sich ja auch aus der Nägelischen Theorie, daß man einen näheren biologischen Zusammenhang zwischen Aerobie und Anaerobie gar nicht mehr suchte.

Einen wesentlichen Umschwung in den Anschauungen über die Gärung hat die Auffindung des Alkoholgärungsferments durch E. Buchner hervorgerufen, dem alsbald die Entdeckung anderer Gärungsfermente bei der Milchsäure-Essigsäuregärung u. a. folgten. Der Standpunkt, den jahrzehntelang Hoppe-Seyler vertreten hatte, schien damit zur Gewißheit geworden. Das Alkoholferment ist nach dieser Auffassung ein endozelluläres Ferment, das unter bestimmten Verhältnissen aus der Hefezelle gewonnen werden kann.

Die Zuckerzerlegung durch Gärung gilt jetzt als die ausschließliche Wirkung der Fermente, der Zymase, welche den Traubenzucker

¹ *Zeitschrift für Biologie.* 1885. Bd. XXI. S. 339.

nach bekannter Formel spaltet. Das vitale Element in dieser Theorie bleibt die Hefezelle nur noch als die Erzeugerin dieses Fermentes, das einmal entstanden, seine Wirkungen nach bestimmten bekannten Gesetzen entfaltet. Die Sachlage ist also sozusagen wie bei den höheren Organismen, in deren Verdauungstraktus sogar verschiedene Fermente von Organen, deren Zellen im übrigen ihren besonderen Stoffwechsel haben, gebildet werden. Was ist aber das Leben der Hefezelle überhaupt und worin äußert es sich? doch nicht nur in einer Fermentsekretion, oder ist diese etwa wirklich ihr ganzer Lebensinhalt?

Es ist bemerkenswert und auffällig, wie wenig man an diese doch eigentlich den Kernpunkt jeder biologischen Betrachtung bildende Frage denkt, und wie man allmählich völlig auf eine solche biologische Auffassung des Gärungsproblems verzichtet hat. Wenn man die wichtigsten Handbücher der Gärungsorganismen studiert, wird man keine Antwort auf unsere Frage finden.

Adolf Meyers treffliches Buch über die Gärungschemie beschäftigt sich in seinem Grundgedanken mehr mit dem Problem der molekularen Umlagerung bei der Gärung, den Beziehungen der Zuckerkonstitution zur Zuckerspaltung, der chemischen Mechanik, den intermediären Vorgängen, aber nicht mit unserer biologischen Frage des Gärungsproblems selbst.

Bei Duclaux sind die Beziehungen der Gärungen zum Leben der Zelle mit wenigen Worten abgetan, die Zuckerumlagerungen finden im aeroben wie anaeroben Leben statt, nur sei ersteres lebhafter als das letztere.

Ein schärferes Bewußtsein für die biologischen Konsequenzen der modernen Gärtheorie findet sich bei Lafar. Lafar sagt, durch diese neue Erkenntnis sei die vitalistische Auffassung der Gärungserscheinungen eingeengt und berichtigt worden. „Diese sind also nicht der Ausdruck des Gesamtstoffwechsels der Gärungsorganismen, sondern sie sind das Ergebnis der Wirkung eines bestimmten einzelnen Bestandteils der Zellen und können auch ohne diese selbst in allen Fällen hervorgerufen werden, in denen es gelingt, das spaltende Enzym in wirkungsfähigem Zustande abzuscheiden und für sich allein in Tätigkeit zu bringen.“¹

Nach dieser Auffassung wäre sonach die Alkoholgärung eine Nebenerscheinung der sonstigen darin anzutreffenden, allerdings unbekannten

¹ Lafar, Bd. I. S. 22.

Lebensprozesse der Hefezelle. Auch noch an einer anderen Stelle findet sich bei Lafar (S. 25) diese Auffassung wiederholt. Die Gärungserscheinungen seien nicht als Ausdruck des „Gesamtlebens“ aufzufassen, sondern als Wirkung eines bestimmten Bestandteils der Gärungserreger. Lafar macht darauf aufmerksam, daß zwar eine eigentliche Definition der Gärung in neuerer Zeit nicht ausgesprochen sei, daß man aber doch im allgemeinen annehme, Gärung sei eine durch Mikroorganismen herbeigeführte Zerlegung von Substanzen, wobei aber weder das Material, noch die Spaltungsprodukte für die Zwecke des Zellaufbaus in größerem Maße herangezogen würden. „Durch letzteres Merkmal ist diese Abgrenzung gegen jene anderen Erscheinungen zu ziehen versucht, welche als wahre und eigentliche Ernährungsvorgänge gelten“.

Ich glaube, man darf diese Auffassung als die wohl allgemein heute herrschende ansehen, so daß sie schließlich dem Bilde entspricht, das ich oben von den Beziehungen der Verdauungsfermente zu den Lebensprozessen und der Zellarbeit der höheren Organismen gegeben habe. Die Gärung ist eine Nebenleistung der Hefezelle, die man durch Trennung des Fermentes auch an einem beliebigen anderen Orte als in der Zelle oder deren Nachbarschaft einleiten kann.

Freilich haben wir schon in der historischen Übersicht gesehen, die Verbindung der Fermenttätigkeit mit der lebenden Substanz der Hefezelle war auch bei Pasteur und Nägeli eine ziemlich lockere; wollte auch ersterer die Gärung als ein Äquivalent der oxydativen Spaltung des Zuckers ansehen, so hatte er doch praktisch diesen Gedanken durch die zeitlich unbegrenzte Wirksamkeit des „Fermentes“ wieder fallen lassen, und bei Nägeli liegt in der Annahme einer extrazellulären Gärung die gleiche Lücke vor, indem auch hier eine unbestimmte Menge der molekular-physiologischen Zersetzungskraft für die Zelle selbst verloren geht. Im Suchen nach einer Zweckbestimmung der Zuckergärung greift man auf einen von Nägeli schon ausgesprochenen ökologischen Gedanken zurück.

Die Erklärung des Gärungsvorganges bringt die sogenannte ökologische Theorie. Man sagt, die Gärtätigkeit eines Pilzes befördert sein eigenes Wachstum und benachteiligt die anderen Pilze.

Den hierin liegenden Grundgedanken hat auch Wortmann als eine Erklärung für das Wesen der Gärung angesehen, demnach würde also den Gärungsprodukten, wie man sich ausgedrückt hat, die Bedeutung von „Kampfstoffen“ zukommen.¹

¹ Lafar, Bd. I. S. 330.

Die Experimente, welche zu einer solchen Anschauung führen, sind leicht genug anzustellen; im wesentlichen genügt es, in einer gezuckerten Faulflüssigkeit etwas Hefe auszusäen, um die störende Wirkung der Hefe alsbald eintreten zu sehen. Und die Alkoholgärung sollte wirklich nur diesen einen Zweck zu erfüllen haben?

Die ökologische Theorie sucht in dieser Weise dem Gärungsvorgang einen indirekten Nutzen für das Leben der Hefezelle zuzuweisen; denn einen direkten Nutzen hat die Fermenttheorie ja nicht mehr zu verteidigen.

Der Preßsaft enthält nach neueren Untersuchungen übrigens bei der Hefe nicht nur ein Alkohol bildendes Ferment, sondern noch eine ganze Reihe anderer, nämlich: hydrolytische, welche Maltose, Rohrzuckerin, Glykosen spalten, ein proteolytisches, die Endotryptase, ein oxydierendes, reduzierendes, fettspaltendes, H_2O_2 zersetzendes und ein Labferment. Nach den jüngsten Angaben von E. Buchner soll die Zymase, die jetzt als Lactacidase bezeichnet wird, Milchsäure in CO_2 und Alkohol umwandeln, und die Milchsäure selbst würde durch einen intermediären Prozeß, durch Hefenzymase, aus Zucker entstehen.

Danach hat es den Anschein, als wenn auch andere Funktionen, welche in der Hefezelle ausgeführt werden können, rein enzymatischer Natur wären.

Ganz ähnlich wie für die Hefe hat man auch in zahlreichen tierischen und pflanzlichen Zellen auch bei höheren Organismen Fermente für die allerverschiedensten Verrichtungen, die wir sonst als Ausfluß der Lebenstätigkeit aufgefaßt haben, gefunden. Ganz ähnlich bei den Bakterien, deren Stoffspaltungen fast ungeändert weiter gehen, auch wenn man die lebende Substanz tötet und die Fermente allein wirken läßt. Es hat wohl für manche Autoren gar nichts Bedenkliches, ganz allgemein den Stoffwechsel auf die Wirkung der „Stoffwechselermente“ zurückzuführen.

Diese Erweiterung unserer Kenntnis von den endozellulären Stoffwechselermenten, im Gegensatz zu den schon länger bekannten Verdauungsfermenten ist gewiß ein Tatsachenmaterial von großer Bedeutung. Es hat uns aber die Erklärung der eigentlichen Lebensvorgänge keineswegs, wie man meint, erleichtert, sondern fast noch mehr verwickelt. Denn daß die Spaltung solcher Verbindungen, denen man bisher die Funktion als Kraftquelle für die Organismen zu dienen zugeschrieben hat, die naturgemäß also mit einer positiven Wärmetönung endet, eine rein fermentative ist, bringt uns in die schwierige Lage, diese Umformung der Wärme für die energetischen Bedürfnisse der

lebenden Substanz einer verständlichen Erklärung zuzuführen, weil die Regelung einer systematischen biologischen Arbeit durch vom Protoplasma losgelöste Fermente zunächst als ein völlig ungelöstes Rätsel erscheint. Die Selbstregulation der Zersetzung, wie wir sie in jedem Organismus sehen, läßt sich ohne weiteres einem Fermentgemische kaum zuschreiben.

Zweites Kapitel.

Biologische Ziele und Aufgaben.

Wie ich soeben bei der Betrachtung über die Hefe und den Stoffwechsel höherer Organismen angedeutet habe, klafft in unserer Erkenntnis der Lebensvorgänge eine tiefe Lücke insofern, als die rein biologische Seite des Fermentproblems mehr oder minder völlig übersehen worden ist, für die Hefe im engeren Sinne könnte man sagen, man sei mit der Annahme einer rein fermentativen Zuckerspaltung zum Zwecke des Speziesschutzes an dem Gedanken der Hefe als einem Organismus glattweg vorbeigegangen. Eine biologische Erklärung eines Lebensvorganges kann sich mit der Annahme ungeordneter, zusammenhangloser Fermentationsvorgänge nicht beruhigen; es muß festgestellt werden, wie diese Dinge stofflich und energetisch zusammenhängen und wie daraus die Leistungen des ganzen Organismus zu begreifen sind.

Die innere Ordnung der Zelle mit ihrer Befriedigung des Nahrungsbedürfnisses und die Selbstregulation sind Vorgänge, ohne welche eben der Begriff Organismus in sich zusammenfällt; hierin Aufklärung zu schaffen, ist Aufgabe der biologischen Betrachtung eines Problems der lebenden Welt. Wenn die mächtige Alkoholgärung nur eine Nebenerscheinung des Lebens ist, so werden wir uns vom biologischen Standpunkt aus fragen müssen, was geht denn sonst in diesem Organismus vor, der solche gewaltige Umsetzungen nur zu seinem Schutze vornimmt? Ein Organismus kann doch nicht als ruhende Masse gedacht werden, und wenn überall das Leben einen labilen Gleichgewichtszustand darstellt, der nur durch besondere Ernährungsvorgänge unterhalten werden kann, mit stetem Verbrauch von Stoff und Energie, was geschieht denn dann in der Hefezelle, abgesehen von dieser Fermentsekretion, deren Wirkungen nach den Gesetzen der unorganisierten Körper ohne Nutzen für den Ablauf der Lebensvorgänge im Protoplasma sich äußern? Ohne Nutzen für die lebende Substanz; denn wir können uns ja keine andere Vorstellung von der Zerlegung

des Zuckers machen, als daß er eben durch das räumlich benachbarte Ferment zum Zerfall gebracht wird, je nach seiner Lage in der Nähe der lebenden Substanz oder auch entfernt davon, und die in diesem Moment freiwerdende Wärme wird die CO_2 und der Alkohol besitzen und von diesen Substanzen wird sie sich weiter verbreiten. Diese Wärme kann für die lebende Substanz keine anderen Wirkungen auslösen, als wenn wir ein Gärgesäß von außen erwärmen, sie wird die Lebhaftigkeit der Umsetzungen steigern, aber nie nähren.

Mag diese Gärwärme noch so erheblich sein, so kann sie unmöglich irgend eine Kraftquelle für die Hefe abgeben. Wenn es auch bisweilen den Anschein hat, als habe einzelnen Autoren ein ähnlicher Vorgang vorgeschwebt, so wissen wir aus den Ergebnissen biologischer Forschung, daß eine solche Umwandlung der Wärmeenergie in nutzbare Kraft für Lebenszwecke allen unseren Erfahrungen direkt widerspricht. Die Energie muß im Moment der Auslösung in die für das Leben nutzbaren anderen Formen übergehen oder sie wird zwecklos für dasselbe.

Hier liegt also ein Grundproblem vor, das einer Entscheidung harret. Solange das Ferment nur Schutzwirkungen hat, ist der Nebeneffekt der Wärmebildung und des Energieverlustes gleichgültig. Für den Lebensbetrieb selbst ist ein solcher Vorgang völlig nutzlos.

Daß die Lösung der Fermentfrage und ihre Beziehungen zum Lebensprozeß nicht eben einfach ist, kann man ohne weiteres zugeben, daß sie aber gelöst werden muß, ist nicht nur für den Hefestoffwechsel, sondern für die Lebensvorgänge bei allen anderen Organismen von entscheidender Wichtigkeit, auch bei den höchsten Organismen, wo die „Stoffwechselermente“ für die intermediären Spaltungsvorgänge in den Oxydasen den Schlußstein zu einer rein fermentativen Lebenstheorie gebracht haben.

Es ließe sich ja freilich, um aus der Sackgasse zu kommen, die Annahme machen, daß das, was ein wahrer Lebensprozeß ist, zu geringe Änderungen bedinge, um neben der weit mächtigeren Gärung in die Erscheinung zu treten. Im Stadium der bisherigen Kenntnisse über die Biologie der Hefe läßt sich gewiß auch diese Vermutung aussprechen. Bei einer solchen Lebensweise könnten alle Vorgänge sich abspielen, wie sie sonst in anderen Zellen ablaufen und ein Ausdruck der lebenden Substanz sind, nur würde die Fermentsekretion bei der Hefe gewissermaßen hypertrophisch geworden sein und uns über den Umfang des „fermentproduzierenden“ Lebensprozesses täuschen.

Ich habe schon oben angedeutet, daß eine solche Auffassung anderen biologischen Tatsachen aus dem Leben der Hefe widerspricht. Sehen

wir von der Gärfunktion völlig ab, weil sie nach der heutigentags geltenden Theorie völlig von dem inneren Lebensbetrieb ausscheidet, so bleibt uns als besser bekannte Eigenschaft des Lebens das Wachstum der Zellen, dessen Größe durch die Ernten sicher feststellbar ist. Die Hefe wächst unter günstigen Bedingungen sogar sehr rasch; man überzeugt sich durch die einfachsten Experimente hiervon.

Das Wachstum soll nun nach der Meinung mancher Autoren mit der Gärtätigkeit der Hefe innig verwoben sein. Nirgendwo spielt im Tier- und Pflanzenreich das Wachstum, die Überschwemmung des Nährmaterials mit neuen Zellen eine so bedeutende Rolle wie bei den Bakterien und Hefen, bei allen bakteriologischen Züchtungsversuchen drängt sich uns diese Massenproduktion so auffällig in den Vordergrund, sie schien so mit Ferment- und Toxinbildung verknüpft, daß diese wie anderweitige vegetative Vorgänge überhaupt als Nebenerscheinungen des Wachstums aufgefaßt worden sind. So könnte also das Alkoholverment auch eine Art Abfall oder Nebenprodukt des Zellaufbaues sein.

Wenn Hefezellen ohne Wachstum auch Gärung erzeugen, so könnte dies durch aufgespeichertes Ferment bedingt sein.

Natürlich wollen wir auch diese^{*} Eventualität, daß Gärwirkung und Wachstum engstens zusammengehören, eingehender prüfen; ehe diese Annahme nicht widerlegt ist, wird man mit ihr rechnen müssen. Wir stehen aber keineswegs auf so unsicherem Boden, daß wir nicht schon jetzt kritisch die obigen Annahmen auf ihre Richtigkeit prüfen könnten. Seit etwa zehn Jahren habe ich mich eingehend mit dem Wachstumsproblem nach verschiedenen Richtungen hin beschäftigt, als Ergebnis dieser Arbeiten haben sich gewisse biologische Beziehungen zwischen Wachstum und Ernährung (Dissimilation) ergeben. Analogien des Ernährungsprozesses bestehen durch das ganze Tierreich, in allen wesentlichen Grundzügen. Ich will niemandem vorläufig zumuten, an solche Parallelen zwischen Warmblüterernährung und Hefeernährung zu glauben, aber ich habe doch auch das Bakterienwachstum und zwar verschiedener Spezies, auch solcher, welche „Gärungen“ erzeugen, untersucht, und dabei gefunden, daß neben dem Wachstum stets Dissimilation oder Zerstörung von Stoffen vorhanden ist.

Wachstumsgröße und Dissimilation stehen aber in einem gewissen quantitativen Zusammenhang, nicht im Sinne einer Naturkonstante, aber immerhin kann man sagen, daß bisher kein Fall bekannt ist, in welchem die Menge der als Anwuchs zu verzeichnenden Energie die Größe des Dissimilationsprozesses erreicht oder erheblich überschritten hätte.

Sollte aber gerade bei der Hefe das Wachstum, das, wie ich gezeigt habe, auch bei den verwandten Bakterien sich in den eben genannten Beziehungen zu dem Dissimilationsprozeß hält, so sehr zuungunsten des letzteren gesteigert sein, daß dieser verschwindend klein ist? Sollte, wie an einer Stelle der Literatur sich angedeutet findet, die Bildung von Glyzerin und Bernsteinsäure einzig und allein der Ausdruck jenes hypothetischen besonderen Stoffwechsels der Hefezelle sein?

Man stößt bei biologischer Betrachtung der heutigen Anschauungen, wie man sieht, überall auf Schwierigkeiten; es wird aber nicht möglich sein, durch theoretische Erwägungen und Diskussion eine Aufklärung zu verschaffen, sie zeigen uns nur die Lücken unserer Erkenntnis. Es drängen sich uns da drei wichtige Probleme auf:

Zunächst die Frage, ob es ein Wachstum der Hefe bei einem verschwindend kleinen Dissimilationsprozeß gibt; zweitens die Frage, ob letzterer, von der Gärung verschieden, vielleicht doch umfangreicherer Natur, aber bis jetzt eben noch nicht genauer erkannt sei, und drittens, ob vielleicht eine andere biologische Bewertung des Gärungsvorganges möglich sei?

Lassen wir also einmal auch die Beziehungen des Wachstums zur Gärung beiseite, so werden wir uns mit ersterem doch aus anderen Gründen eingehender zu beschäftigen haben. Die Bedingungen, welche zu dem Massenwachstum Veranlassung geben, sind nur wenig bekannt, daß aber über das Wachstum noch manch anderes entscheidet als bloß der gute Nährboden, ist von vornherein wahrscheinlich, der kausale Zusammenhang zwischen Nährmaterial und Wachstum muß näher klargelegt und auch nachgewiesen werden, durch welche Bedingungen überhaupt bei den Einzelligen die Nährlösungen das Wachstum auflösen.

Ich habe damit nur mit einigen Strichen angedeutet, wie lückenhaft tatsächlich unsere biologischen Kenntnisse sind, und wie große Probleme einer Lösung harren. Es wird sich im Laufe dieser Darstellung ohne weiteres ergeben, wie mit dem Fortschreiten der neuen experimentellen Befunde sofort neue Fragen auftauchen.

Ich glaube damit schon klar angedeutet zu haben, wohin unser Weg gehen muß, wir wollen versuchen, die gesamten Lebenserscheinungen der Hefezellen in eine quantitativ meßbare Form zu bringen; das ist bis jetzt nicht geschehen, nicht als ob nicht mancherlei messende Experimente an Hefen gemacht worden seien, im Gegenteil, ihre Zahl ist vielleicht enorm groß, aber trotz alledem haben sie

nicht genügt, das Rätsel des Lebens dieser einzelligen, einfachen Organismen in den Hauptpunkten aufzuklären.

Das Ungenügende und Unbefriedigende liegt mehr darin, daß die Experimente sich von Anfang an die Fragen nicht so gestellt haben, wie sie vom ernährungs-physiologischen Standpunkt aus notwendig sind.

Wir sollten, meine ich, zunächst einmal auf die Untersuchung der Hefe dieselben Gesichtspunkte anwenden, die wir mit gutem Erfolge auch beim Studium der stofflichen und energetischen Fragen bei den höheren Organismen angewendet haben.

Diese umfassen einmal die Untersuchung des betreffenden Organismus selbst: wie Wachstumserscheinungen oder Gleichgewichts- und Inanitionerscheinungen, die Feststellung etwaiger Ausscheidungen N-haltiger Natur im Zusammenhang mit den Veränderungen des „Körpers der Hefezelle“, Bestimmung der Nährstoffe und deren Verbrauch und eventuelle Kontrolle der Stoffwechselprodukte.

Die Methodik ist also selbstverständlich, denn sie wird die körperlichen Veränderungen durch den N-Gehalt der Zellen (eventueller Glykogengehalt usw.) den Stoffverbrauch durch Zuckerbestimmungen in allgemein bekannter Ausführung verfolgen können.

Gerade bei der Hefe liegen so gut wie keine technischen Schwierigkeiten zur Lösung dieser Experimente vor, weil sich die Hefezellen so leicht durch jede gute Zentrifuge von der Nährflüssigkeit scheiden lassen. Bei den Bakterien ist die Bestimmung der Ernte meist außerordentlich schwer richtig quantitativ zu machen, dies Bedenken fällt bei der Hefe völlig weg. Die Hefeernten werden also durch einfaches Ausschleudern, Auswaschen in physiologischer Kochsalzlösung absolut sicher gewonnen.

Auch die Bakteriologie bietet uns für viele Fälle durch die Anwendung geeigneter Zählmethoden oder auch Kulturmethode(n) (abgesehen von der Gewinnung reinen Ausgangsmaterials), durch welche die Zahl der wirksamen Hefezellen jederzeit leicht kontrolliert werden kann, eine wertvolle Hilfe.

Über die Anwesenheit des Alkoholfermentes kann man sich durch das von E. Buchner angegebene Verfahren der Behandlung der Hefe mit Aceton oder Toluol, welche nur die lebende Substanz töten, leicht orientieren.

Wir haben aber noch eine modernere Methodik zur Verfügung — die Mikrokolorimetrie, von deren Benutzung wir uns von vornherein eine

wichtige Hilfe versprechen können. Obschon ich bereits, wie erwähnt, im Jahre 1885 auf die Möglichkeit solcher Untersuchungen bei Gärungen verwiesen habe, hat diese Anregung nicht die geringste Beachtung gefunden, ich selbst bin erst durch mancherlei Beobachtungen über den Stoffwechsel der Bakterien wieder auf die Ausführung dieses Gedankens zurückgekommen. Nach jahrelangen Versuchen, durch Bestimmung der Verbrennungswärme von Bakteriennährböden zu einem Ziele zu gelangen, bin ich zur direkten Messung der Wärmeproduktion lebender Kulturen übergegangen.

Diese Untersuchungen haben sich schließlich so förderlich erwiesen, daß sie zusammen mit der übrigen Methodik einen vorläufigen Abriß über das Leben der Mikroorganismen gegeben haben. Da diese Ergebnisse von großer Bedeutung für unsere Aufgabe sein werden, will ich einen kurzen Überblick über diese Arbeiten geben.

Im Jahre 1902 habe ich zuerst¹ eine kurze Mitteilung erfolgen lassen, aus der sich ergab, daß die Messung kleinster Wärmemengen, wie sie bei bakteriellen Zersetzungen frei werden, in genauer Weise erfolgen könne. Die Methodik selbst wurde zuerst im Jahre 1903² näher beschrieben. Dort finden sich auch die Gedanken etwas weiter ausgeführt, die ich schon im Jahre 1885 angedeutet hatte. Ich habe hervorgehoben, daß gerade für die Kleinlebewelt die Wärmemessung eine außerordentlich bequeme Formel darstellt, um die außerordentlich großen Verschiedenheiten in der Stoffwechselgleichung, die vielleicht vielfach noch gar nicht vollkommen bekannt seien, unter einem einheitlichen Gesichtspunkt zu ordnen. Dieser Schluß war vielleicht insofern etwas weitgehend, als außer der Wärmewirkung bei der Alkoholgärung, bei der Essigsäuregärung, der Selbsterwärmung des Heues, des Düngers, der Baumwolle nicht viel über solche Prozesse bekannt war, ja sogar von mancher Seite auch „Wärmebindungen“ behauptet wurden.

Welche Stellungen nehmen die kleinsten Lebewesen in ihrer Fähigkeit, Stoffumwälzungen herbeizuführen, überhaupt ein? Wie stellt sich ihre Kraft zur Spaltungskraft der differenzierten Zellen der höheren Lebewesen?

Anlaß zu solchen Untersuchungen bot auch der Umstand, daß man namentlich trotz der außerordentlich zahlreichen Experimente an Bakterien kaum mehr studiert hatte, als das Wachstum auf den verschiedenartigsten Nährböden. Die Massenproduktion trat bei solchem

¹ *Gesetze des Energieverbrauchs.* S. 47.

² *Hygienische Rundschau.* Nr. 17.

Verfahren ganz in den Vordergrund, an etwaigen Vorgängen ohne Wachstum hatte man kein Interesse, auch kaum an deren Möglichkeit gedacht. Das Wachstum schien allein den ganzen Stoffumsatz dieser Organismen zu beherrschen.

Ich habe zuerst aber die Notwendigkeit ausgesprochen, die Erfahrungen, die wir über das Wachstum höherer Organismen gemacht hatten, auf die Verhältnisse der Mikroorganismen zu übertragen. Es hatte sich für die Säuglinge ergeben, daß der Energieverbrauch und die Wärmebildung beim Wachstum nicht spezifisch gesteigert sind, nur der Überschuß der Nahrung erzeugt die Massenzunahme. Der Energiezuwachs durch die Körpergewichtszunahme ist günstigsten Falles nur ein kleiner Teil des gesamten Energieumsatzes, mit anderen Worten, der durch den Abbau der Stoffe repräsentierte Energieverbrauch ist der umfangreichere, jenen des Wachstums selbst um ein Mehrfaches übertreffend.

Ich setzte voraus, es müsse auch bei den Mikroorganismen das Wachstum in irgend einem bestimmten Verhältnis zu den Dissimilationsvorgängen stehen.¹ Das war zunächst eine Hypothese; denn von solchen, dem Wachstum beigeordneten regulären Stoffwechselvorgängen wußte man eben nichts, ebensowenig wie man über die Natur der beim Wachstum verwendeten Stoffe, von dem Umfange von Synthesen und dergl. sicheres im Einzelfalle aussagen konnte.

Der Weg der Anwendung der Kalorimetrie mußte unbedingt einen Schritt weiter bringen; die Experimente, welche ich angestellt habe, verliefen durchaus in dem Sinne, wie erwartet werden durfte. Bei bakteriellem Wachstum findet man wenigstens in allen bis jetzt von mir geprüften Fällen zweifellos eine meßbare Wärmeentwicklung, welche im Verhältnis zur kleinen Menge der Zellmasse sehr beträchtlich ist.

Nicht alle bei bakteriellen Prozessen entwickelte Wärme stammt aus den Stoffwechselvorgängen im engeren Sinne, ich habe² an der Hand von experimentellen Beispielen gezeigt, daß die Wärmemengen, die aus Nebenprozessen stammen (Neutralisation durch Kohlensäure, Milchsäure, Buttersäure usw., Entweichen von verbrennlichen Gasen, Fällungen von Substanzen) wohl berücksichtigt werden müssen, um jenen Kern des Kraftwechsels herauszuschälen, der biologisches Interesse besitzt.

¹ *Archiv für Hygiene.* Bd. XLVIII. S. 264.

² *Archiv für Hygiene.* Bd. LVII. 1906. S. 193.

Ausgangspunkt aller Untersuchungen muß die Feststellung der Ernten, d. h. der Menge der wirksamen Substanz sein.

Auf Grund zahlreicher Beobachtungen war es möglich, das Verhältnis zwischen dem Wachstum und dem Energieverbrauch im Dissimilationsprozeß festzustellen, so daß für eine Reihe von Organismen die Verhältnisse sich vergleichend physiologisch haben betrachten lassen.

Auch hat sich die Lebensfähigkeit und der Stoffwechsel bei Bakterien bei fehlendem Wachstum erweisen und damit eine bisher sehr fühlbare Lücke im Parallelismus der Ernährungserscheinungen zwischen den höheren Organismen und den einfachsten Lebewesen ausfüllen lassen. Vergleichend physiologisch sind daher die Bakterien und Hefen nunmehr unserem Verständnis näher gerückt.

Die großen Umrisse dieser Stoffwechselphysiologie der Einzelligen bedürfen aber noch im einzelnen einer genaueren Erkenntnis, sowohl nach der stofflichen wie energetischen Seite hin.

Diese zu bieten soll die Aufgabe der nachfolgenden Untersuchungen sein, welche systematisch an einem Einzelligen die Möglichkeit der Begründung einer Stoffwechselphysiologie zeigen sollen.

In diesen Versuchen und ihren Ergebnissen können wir das Unterpfand für eine Lösung der uns gestellten Aufgabe für die Hefe sehen, denn Experimente, deren Ausführung bei den Bakterien sehr mühselig gewesen sind, liegen bei der Hefe, wo sich der Gewinnung von reichlichem Ausgangsmaterial gar keine Schwierigkeiten boten, unendlich viel einfacher.

Ein wichtiges Mittel für die Erklärung der Lebensvorgänge bleibt unter allen Umständen die zweckmäßige Variation der Lebensbedingungen, das biologische Experiment selbst.

Alles zusammengekommen verfügen wir über eine sehr umfangreiche Zahl methodischer Hilfsmittel und es soll im folgenden gezeigt werden, welche Aufklärung ihre konsequente Anwendung uns gebracht hat.

Drittes Kapitel.

Die Mikrokalorimetrie.

Die hauptsächlichsten Studien über die Gärwirkung der Hefezelle sind bisher stets durch die Untersuchung der Zuckerzerlegung ausgeführt worden, und zwar hat man sich dabei fast ausnahmslos der Methode des Nachweises der Kohlensäureentwicklung bedient. Das Verfahren ist einfach, da man für diese Zwecke bestimmte Gärkölbchen angegeben hat, durch deren Wägung nach verschiedenen Zeiten — Verlust von Wasserdampf wird durch Zwischenschaltung von konzentrierter Schwefelsäure ausgeschlossen — die Größe der Kohlensäureentwicklung gemessen wird. In den meisten Fällen kann das Verfahren als zureichend angesehen werden, vorausgesetzt, was noch zu beweisen wäre, daß keine andere Kohlensäurequelle vorliegt als Zucker, d. h. nicht noch ein supponierter Nebenprozeß bei der Dissimilation vorkommt.

Die CO_2 als Maß der Zuckergärung kann aber nur dann beanspruchen, einwandsfrei zu sein, solange sicher aerobe Verhältnisse vorliegen, bei anaerober Spaltung hat die CO_2 natürlich eine völlig andere quantitative Beziehung zum zersetzten Zucker, als im vorigen Falle. Ich habe mich auch gelegentlich dieser Kohlensäuremethode bedient, wo es unbedingt nötig war, und dann die von E. Buchner angegebene Form der Gärkölbchen benützt.

Fast ausnahmslos habe ich zum Studium der Lebensäußerungen der Hefe die thermische Methode angewendet. Wenn man auch von alters her die Gärwärme kennt, so ist in ihr doch bis jetzt nie ein Mittel gesehen worden, um die Gärvorgänge zu studieren und man hat auch nie versucht, eine Methodik auf thermischer Basis aufzubauen. Es ist also hier im kleinen gegangen wie bei der Anwendung der Bio-kalorimetrie im großen. Auch da beherrschen die chemischen Methoden die ganze Arbeitsrichtung der Stoffwechsellehre, während die direkte Kalorimetrie noch immer sich auf die gelegentliche Anwendung etwa bei fundamentalen Fragen beschränkt hat.

Zum Teil liegt dieser Stand der Kalorimetrie in der Kompliziertheit der Apparate begründet, deren Technik von nur wenigen Autoren voll beherrscht wird, für die Mikrokalorimetrie liegen die Verhältnisse aber wesentlich anders. Ich habe die Methode so ausgebildet, daß sie nicht schwerfälliger, sondern einfacher wie die chemische Methode geworden

ist und letztere nach allen Richtungen hin durch die Vielseitigkeit ihrer Ergebnisse übertrifft.

Die thermische Methode erlaubt im ersten Moment der Berührung von Hefe und Zucker die Gärung zu verfolgen; ohne den Versuch zu unterbrechen, kann man in jeder Minute den Verlauf der Prozesse verfolgen.

Die Versuche können auch beliebig lange Zeit, Tage und Wochen, wenn es nötig ist, fortgesetzt werden, ohne die Genauigkeit der Wärmemessung zu beeinflussen.

Etwas zeitraubend sind die Vorarbeiten zur kalorimetrischen Messung, die Eichung der Instrumente, die man ja vorläufig noch selbst ausführen muß.

Die kalorimetrische Messung ist nicht nur rascher ausgeführt, kontinuierlich anwendbar, sondern viel exakter in jeder Hinsicht als die Kohlensäuremessung durch Wägung.

Ich gebe ein Beispiel: Man kann mikrokolorimetrisch noch so wenig Wärme bestimmen als 2 g Kal. in 2 Stunden entspricht und zwar kann ich diese Wärmemenge in jedem Zeitmoment beurteilen, in dem sie auftritt, also nicht erst nach 1 Stunde ev. 2 Stunden. Wenn in 2 Stunden 2 g Kal. durch Alkoholgärung entstehen, sind 1.3 mg Rohrzucker umgesetzt, welche 0,6 mg CO_2 liefern. Ein Gewichtsverlust von 0,6 mg liegt bei den Messungen der Gärung durch die Kohlensäuremethode reichlich innerhalb der Fehlergrenze. Es ist schwer zu sagen, um wieviel empfindlicher die thermische Methode ist, denn sie gibt nur wenige Sekunden später nach der Wärmeentwicklung den Ausschlag am Thermometer; rechnet man hierauf willkürlich eine halbe Minute Zeit, so wäre sie also 240mal so scharf wie die Kohlensäuremethode. Ich kann aber die Empfindlichkeit leicht noch auf das 5 bis 10fache, also bis auf das mehrtausendfache nach Bedarf erhöhen.

Bei der Kohlensäuremethode kann man überhaupt keine einwandfreien fortlaufenden Resultate erhalten, weil man ja behufs Wägung der Apparate diese immer erkalten lassen muß, was den Gärprozeß gewaltig beeinflußt. Daher gibt nicht eine einzige der mit dieser Methodik ausgeführten Reihen ein zuverlässiges Bild.

Wir werden auch sehen, daß das wirklich Interessante der Hefegärung in einem ganz anderen Zeitintervall liegt, als man bisher angenommen hat.

Die Methodik ist zwar beschrieben in der Hyg. Rundschau 1903 Nr. 17 und Arch. f. Hyg. XLVIII. S. 260 1904, die weiteren Verbesserungen siehe Kalorimetrie v. Rubner S. 218 in Tigerstedts Methoden.

Es ist höchst auffällig, daß sie bis jetzt von anderer Seite gar keine

Beachtung gefunden hat; ja in den meisten Handbüchern, die sich mit Zellfragen beschäftigen, nicht einmal erwähnt worden ist, auch da nicht, wo einige meiner Ergebnisse über den Bakterienstoffwechsel benutzt worden sind. Ich gebe also hier nochmals eine kurze Darstellung der Methodik, da sich ja die ganzen weiteren Untersuchungen auf ihr aufbauen werden.

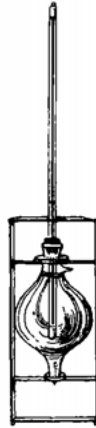


Fig. 1.

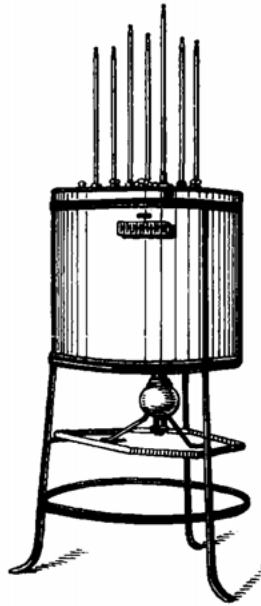


Fig. 2.

Das Kalorimeter besteht aus einem Glasgefäß von rund 300 ccm Inhalt, das in einen Hals ausläuft; dieses Gefäß ist von zwei Glashüllen, die einen Abstand von $\frac{1}{2}$ cm haben, umgeben; die beiden Räume sind möglichst luftleer. Das doppelte Vakuum und die dreifache Glashülle setzt den Wärmeverlust außerordentlich herab; wenn also Wärme von dem Inhalt des Kalorimeters — Kulturflüssigkeit — erzeugt wird, so steigen die Temperaturgrade sehr rasch. Die letzteren werden durch ein feines Thermometer abgelesen, dessen Küvette fast ebensolang als die Flüssigkeitsschicht im Kalorimeter ist. Von den Apparaten werden mindestens drei in einem Bakterienbrutschrank so montiert, daß sie von der Berührung mit festen Stoffen tunlichst isoliert sind; die drei Thermometer, die mittels Pfropfen das Kalorimeter abschließen, gehen durch den Deckel des Brutschrankes hindurch und werden, ohne diesen zu öffnen, mit der Lupe abgelesen.

Da man sich auf völlig konstante Temperatur des Brutschrankes selten so verlassen kann, wie dies für die kalorimetrischen Versuche nötig, so dient eines der Kalorimeter, mit Sublimatlösung gefüllt, als Kontrolle. Wenn die ganze Ausrüstung in Ordnung ist, müssen die drei Gefäße, mit steriler Flüssigkeit gefüllt, die gleichen Temperaturen zeigen. Wenn nicht, so ist die Wärmeverteilung des Brutschrankes keine genügende und muß verbessert werden. Die Kalorimeter sind durch Schirme gegen eine gegenseitige Bestrahlung geschützt.

Bei Beginn des Versuches muß das Hauptgewicht darauf gelegt werden, daß man die Nährflüssigkeiten einzufüllen lernt, ohne Abweichungen von der Temperatur des Brutraumes zu erhalten.

Bringen wir an Stelle des Wassers eine Nährlösung mit Mikroorganismen in eines der Instrumente, so zeigt uns der Gang des Thermometers manchmal bald, manchmal erst sehr langsam eine Wärmebildung.

Das Thermometer und Kalorimeter vermag uns zwar eine Anzeige über den Wärmegang zu geben; um darzustellen, was in jedem Moment an Wärme geliefert wird, ist es weiter notwendig, eine absolute Angabe über die Wärmemenge zu machen.

Das Kalorimeter erleidet zwei Veränderungen:

1. es gibt beständig Wärme ab, beim Gleichbleiben des Thermometers steht Wärmeerzeugung und Verlust im Gleichgewicht;
2. das Kalorimeter verändert auch seine Temperatur, speichert Wärme auf oder gibt sie ab. Dieser Umstand ist dann von Belang, wenn alle innerhalb eines längeren Zeitraumes entwickelte Wärme gemessen werden soll und das Kalorimeter eine von der Anfangstemperatur verschiedene Wärme besitzt. Was den ersten Punkt anlangt, so muß das Kalorimeter zunächst „geeicht“ werden, d. h. bestimmt werden, wieviel es im Gleichgewichtszustande bei Temperaturerhöhung über die Umgebung an Wärme abgibt.

Am bequemsten geschieht dies mittels des elektrischen Stromes; in die Kalorimeterflüssigkeit taucht ein Platindraht von bestimmtem Widerstand. Aus einer konstanten Elektrizitätsquelle wird ein Strom bestimmter Stärke entnommen und die Ampèremenge genau gemessen. Dann kennt man die angewandte Wärmemenge und erfährt durch die Thermometerablesungen, wieviel Wärmeverlust z. B. 1° Temperaturüberschuß entspricht.

Bei jeder Stromstärke wurde 10–12 Stunden beobachtet, um sicher eine zuverlässige Mittelzahl zu erhalten. Das Resultat einer solchen Eichung gibt folgende Tabelle:

Wenn das Thermometer gestiegen ist um:	ist für 1° Erhöhung die Menge der erzeugten Wärme
0.46°	0.0455 kg-Kal. p. 1 Std.
1.57°	0.0458 „ „ „
2.005°	0.0450 „ „ „
2.185°	0.0439 „ „ „
2.471°	0.0454 „ „ „
	Mittel 0.0444 kg-Kal. p. 1 Std.

Bei anderen Kalorimetern fand sich zwischen 0,052 bis 0,062 Kal. pro 1 Stunde schwankende Werte. Die Vakuumkalorimeter lassen sich also leicht in genügender Empfindlichkeit herstellen.

Will man die Methode noch empfindlicher machen, so ist es leicht, dieses Ziel zu erreichen; für die in diesem Buche erörterte Frage genügt es fast ausnahmslos bei der angegebenen Art der durchsichtigen Glaskalorimeter zu bleiben. Der einfachste Weg zur Empfindlichkeitserhöhung ist die Versilberung der Glaswandung. Dann erhält man bei den gewählten Dimensionen der Gefäße für 1° Temperaturdifferenz und 1 Stunde (Kalor. Nr. 680) 6.4 g-Kal. als Wärmeverlust, in einem anderen Falle (Kalor. Nr. 681) 6.7 g-Kal.

Da das Thermometer eine Ablesung von 0.01° direkt erlaubt und 0.005 leicht noch geschätzt werden kann, so erkennt man noch Wärmeprozesse von 0.064 bis 0.035 g-Kal. pro Stunde. Die erreichbare Genauigkeit hängt dann gar nicht einmal mehr von dem Kalorimeter selbst, sondern mehr von der gleichmäßigen Verteilung der Wärme im Brutschrank, in welchem das Kalorimeter aufgestellt war, ab, was man weder von jeder Konstruktion des Schrankes noch von jedem Thermoregulator sagen kann. Wenn ich also annehme, daß man sich auf eine Differenz von 0.01° zwischen messendem Instrument und Kontrollinstrument verlassen kann, so kann man immer noch 0.065 g-Kal. auffinden, wenn diese im Zeitraum einer Stunde sich entwickeln.

Für viele Untersuchungen wurde ein elektrischer Thermostat (s. Fig. 2) angewendet, der eine größere Anzahl von Gärkalorimetern gleichzeitig beobachten läßt. Namentlich bei Bakterien scheint es notwendig auf die empfindlichen Instrumente zurückzugreifen, aber auch bei Fermentreaktionen, die sich oft äußerst langsam entwickeln und über Tage hinaus sich fortschleppen können.

Ich bin dauernd bei der Anwendung der elektrischen Eichung

geblieben. Vor allem handelt es sich dabei um die Anwendung genau bekannter Widerstände. Die stündliche Wärmebildung ist:

$$W = \frac{\Omega \cdot 3600 \cdot \text{Amp.}^2}{9,81 \cdot 424}$$

Der Widerstand muß auch so in die Flüssigkeit gebracht werden, daß keine Verluste durch Nebenströme entstehen. Ich schließe die Widerstandsdrähte in feine Glasröhrchen ein.

Jede elektrische Eichung kontrolliere ich noch durch einen einfachen Abkühlungsversuch. Wenn man einen sich langsam abkühlenden Körper vor sich hat und solche sind die Kalorimeter, so kann man, falls der Wasserwert des Körpers bekannt ist, die Menge der verlorenen Wärme feststellen, wenn man Temperaturverlust und Wasserwert in Beziehung bringt zur Temperaturdifferenz zwischen abkühlenden Körper und Umgebungstemperatur.

Der Wasserwert des Kalorimeters muß für alle Fälle festgestellt werden, die Anwendung der Abkühlungsmethode macht daher nicht viel mehr Mühe, und gibt eine auf elementarem Wege gewonnene Kontrolle. Arbeitet man genau, so gehen Abkühlungsmethode und elektrische Eichung fast völlig überein. Abweichungen sind meist auf kleinste Fehler im Wasserwert zurückzuführen.

Die Versuche beweisen, daß die Kalorienproduktion proportional dem am Thermometer nachweisbaren Temperaturüberschuß zu- und abnimmt.

Für die Berechnung der erzeugten Wärme braucht man, wenn ein Gleichgewicht eingetreten ist, nur die Höhe der Temperatur zu wissen und die Eichungszahl des Kalorimeters.

Wenn man aber die ganze Menge der erzeugten Wärme eines längeren Zeitraumes und vom Anfang eines Experimentes an wissen will und der Versuch vor vollständiger Abkühlung des Kalorimeters beendigt wird, so steckt im Kalorimeter noch Wärme, welche besonders in Rechnung zu ziehen ist.

Sie ergibt sich aus dem Wasserwert des Kalorimeters und dem Wasserwert der Füllung; die letztere läßt sich berechnen, wenn man die spezifischen Wärmen der Füllung kennt.

Für die meisten hier in Frage kommenden Substanzen ist diese nicht bekannt; ich habe sie selbst direkt bestimmt und in folgender Weise:

Ein Kalorimeter mit 2 l Wasserfüllung befand sich, durch Luft isoliert, in einem Wassergefäß, dessen Temperatur sich in der in Betracht kommenden Zeit nicht ändert.

Die Temperatur des Kalorimeters wird genau bestimmt. Die auf ihre spezifische Wärme zu untersuchende Substanz befindet sich in einem zylindrischen Kupfergefäß mit eingeschliffenem Deckel, durch den ein Thermometer in gut schließendem Korkstopfen hindurchgesteckt ist. Die Flüssigkeit wird durch Einsenken des Kupfergefäßes in ein Wasserbad erwärmt, in einem gegebenen Moment äußerlich wohl abgetrocknet in das Kalorimeter übertragen und mit dem langen Thermometer als Halter hin und her bewegt, bis die Abkühlung eine erhebliche oder annähernd totale ist.

Die Endtemperatur wird im Kalorimeter und dem Kupfergefäß abgelesen und unter Berücksichtigung der einschlägigen Temperaturen die spezifische Wärme bestimmt.

Die Bestimmung des Wasserwertes des Kalorimeters wird in folgender Weise ausgeführt.

Das Kalorimeter wird mit Wasser von der Lufttemperatur gefüllt und stehen gelassen, die Temperatur notiert, inzwischen warmes Wasser (von 40° etwa) hergestellt und in ein zylindrisches Gefäß gebracht. Letzteres besteht aus Glas, hat unten eine mittels eines eingeschliffenen Glasstiftes verschlossene Öffnung. Als Auslauf dient ein gebogenes Rohr, das bequem in den Hals des Kalorimeters geschoben werden kann.

Dieses Gefäß dient zur vorübergehenden Aufnahme des warmen Wassers: Es hat eine Luftisolierung, dann noch Blechmantel und Filzisolierung, doppelten Deckel, durch welchen ein Mischer, ein Thermometer und der oben genannte als Verschuß dienende Glasstab hindurchgesteckt sind.

Man verfährt weiter wie folgt: Wenn man sicher ist, daß das in dem zylindrischen Gefäß befindliche Wasser sich nur wenig ändert, gießt man das Wasser des Kalorimeters, das ja nur den Zweck hat, die Temperatur des Glaskalorimeters zu finden, rasch aus, bringt das gebogene Rohr des zylindrischen Gefäßes in den Hals des Kalorimeters, läßt nochmals die Wasserwärme ab und hebt in einem gegebenen Moment den Verschußglasstab und das Thermometer mit einem Griff etwas in die Höhe. Das Wasser läuft ins Kalorimeter ab; kühlt sich dort allmählich ab. Die Erwärmung des Glases (Wasserwert) ist in zwei Minuten vollendet, dann beobachtet man noch in einer Zeit die Abkühlung zum Zwecke der Berechnung einer meist belanglosen Korrektur.

Die Wassérwerte des Glaskalorimeters bewegten sich meist zwischen 10 bis 12 g-Kal. und spielen in der Gesamtberechnung keine besondere Rolle.

Eine dritte Voraussetzung, welche man zur Messung der Wärme machen muß, ist die Vermeidung der Wasserverdunstung. Dieser Bedingung wird am leichtesten, wo angängig, durch Aufgießen von Öl genügt oder durch einen gut schließenden Pfropfen.

Endlich könnte, was aber bei der Hefe keine Rolle spielt, das Entweichen brennbarer Gase in Betracht kommen; hier kann die Untersuchung natürlich sehr kompliziert sich gestalten.

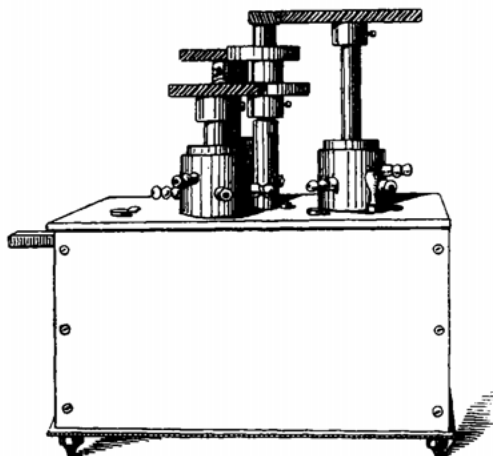


Fig. 3.

Für diese Fälle lassen sich Kalorimeter herstellen, welche aufgeschliffene Kapseln mit zwei Durchbohrungen besitzen. Eine dieser Öffnungen trägt das Thermometer, das zugleich als Gasableitungsröhre dient. Die andere Öffnung wird verschlossen, oder zur Zuleitung der Luft, des Sauerstoffs usw. benutzt.

Zur Durchleitung von Gasen verwende ich ein Uhrwerk, welches automatisch durch Drehung von Hähnen nach meiner Wahl eine bestimmte Anzahl von Gasblasen durch das Kalorimeter treten läßt (Fig. 3). Die Gase werden aus einem kleinen Gasometer unter Druck zugeleitet.

Die Glaskalorimeter haben den großen Vorzug, daß dieselben den Gang der Hefegärung jederzeit auch mit dem Auge verfolgen lassen. Sie sind ferner leicht zu sterilisieren, um Versuche mit Reinkulturen ausführen zu können.

Als eine Schwierigkeit wird von Anfängern meist das Füllen der Kalorimeter empfunden, weil dabei Veränderungen in der Temperatur der einzugießenden Flüssigkeit auftreten können.

Wenn man sofort nach dem Einfüllen der Gärflüssigkeit die auftretende Wärme messen will, muß man die erstere gerade so warm ins Kalorimeter bringen, als der Temperaturgrad des Thermostaten ist. Das mißlingt anfänglich, erst einige Erfahrung lehrt, wie viel man die Gärflüssigkeit höher erwärmen muß, damit der Wärmeverlust beim Eingießen gerade abgeglichen wird. Die Hefe etwa dem im Kalorimeter befindlichen Nährboden zuzumischen, geht nicht an. Die Hefe muß stets mit der Nährlösung in einer Reibschale sachte angerieben werden.

Viertes Kapitel.

Das Verhältnis der Gärung zum Wachstum.¹

Ich muß meine biologischen Betrachtungen des Lebens der Hefe mit einer Kontroverse die mit einem großen Aufwand von Argumenten und viel Temperament behandelt worden ist, beginnen, mit der von den meisten Autoren bis heute vertretenen Auffassung, daß eine Gärung ohne gleichzeitiges Wachstum nicht möglich sei.

Schon bei Pasteur oder besser gesagt gerade durch Pasteur wurde in den Diskussionen mit Liebig die These, „keine Gärung ohne gleichzeitiges Wachstum“, mit größter Lebhaftigkeit verfochten. Es stand damals die vitalistische Gärungstheorie mit der rein chemischen in scharfem Kampf; wenn die Lebenserscheinungen die Zuckerumsetzung verursachten, so lag es nahe, als wesentliches Argument dieser Auffassung den völligen Parallelismus zwischen Gärung und Leben in einem innigen Zusammenhang mit jener Erscheinung zu suchen,

¹ Die Untersuchungen, über welche ich in den nachfolgenden Arbeiten berichte, sind größtenteils schon in den Jahren 1903—1906 angestellt worden, ich hatte deren Veröffentlichung im Anschluß an eine Publikation über die Gärungswärme bei der Zuckerzerlegung durch Hefe beabsichtigt (*Archiv für Hygiene*. 1904, Bd. XLIX, S. 418). Durch verschiedene Umstände hat sich dieser Wunsch nicht verwirklichen lassen. Zwei kleinere Mitteilungen haben einige der Resultate bereits bekanntgegeben: Grundlagen einer Theorie des Wachstums nach Ernährungsver suchen an Hefe: Sitzungsbericht der Kgl. preußischen Akademie der Wissenschaften 1909. Sitzung vom 4. Februar, und „Über die Beteiligung endozellulärer Fermente am Energieverbrauch der Zelle“. *Ebenda*. 1912. Sitzung vom 1. Februar.

Rubner, Ernährungsphysiologie der Hefezelle.

die als typischste, sinnenfälligste angesehen werden kann, mit dem Wachstum.

Und Tatsachen, welche für diesen Zusammenhang beweisend sein sollen, ließen sich auch anscheinend sehr leicht erbringen. Wenn man sich an die Verhältnisse des natürlichen Vorkommens der Hefegärungen und auch an jene der Gärungsindustrie hält, so kann über den Parallelismus zwischen Hefewachstum und Gärung kein Zweifel sein. Doch beweisen, wie man leicht einsieht, solche Vorkommnisse gar nichts für die innere biologische Untrennbarkeit beider Funktionen, in Gärflüssigkeiten natürlicher Art findet sich eben immer neben dem Gärstoff auch Material zum Wachstum.

Es ist natürlich auch Pasteur nicht unbekannt gewesen, daß Gärung in reinen Zuckerlösungen vorkommen kann, und es wäre wunderbar gewesen, wenn man solche Versuche nicht angestellt hätte, die wir heute in so vielen Fällen als Methode zum quantitativen Nachweis von Zucker im Harn und anderer Flüssigkeit benutzen. Aber Pasteur verwies bei diesen Experimenten, bei welchen eine überreichliche Hefemenge (mehr als 2-3g trockene Hefe auf 100g Zucker) in eine gute Nährlösung oder in einfache Zuckerlösung gebracht war, darauf, daß dabei Hefe nicht mehr normal bleibe, sondern an Gewicht abnehme.

Um die Wachstumstheorie zu retten, mußte man besondere Auslegungen der Versuchsergebnisse versuchen. Man sagte, auch dann wenn die Hefe wirklich abgenommen hat, betrage die Hefe + dem in der Flüssigkeit vorhandenen „Extrakt“, d. h. Spaltprodukten der Hefe, mehr an Gewicht als die ursprüngliche Hefe. Eine solche Betrachtungsweise wird man heute nicht ohne ernste Bedenken annehmen; Berechnungen, bei denen man wie Pasteur es tat, nur von der Trockensubstanz der Hefe ausgeht, werden schon um deswillen Zweifel über die Beziehung zwischen Wachstum und Gärung aufkommen lassen, weil der Begriff Wachstum sich nicht mit dem Begriff Mehrung der Trockensubstanz deckt; um einwandfreie Betrachtungen anzustellen, müßte man doch mindestens von dem N-Gehalt der Aussaat in der Ernte ausgehen. Es finden sich unter den Resultaten Pasteurs einige positive Angaben über den N-Gehalt der ausgesäten Hefe (a. a. O. S. 134), die kaum einen Zweifel über einen gelegentlichen N-Verlust während der Gärung lassen, woraus doch unmittelbar der Mangel des Wachstums und die Tatsache einer wachstumslosen Gärung zu folgern gewesen wäre. Aber Pasteur sieht in einem allenfallsigen Leben ohne Wachstum offenbar eine kurzdauernde mehr pathologische Erscheinung. S. 23 a. a. O. macht er auf Formverände-

rungen und Verdickungen der Wandungen aufmerksam, die bei solcher Tätigkeit der Hefe sich ausbilden. „La vie continuée des globules déjà formés ist nach seiner Auffassung eine Zellarbeit im vorgerückten Alter der Zellen, ein träger Vorgang. Normale frische Zellen pflanzen sich fort.

A. Mayers Auffassung aus späterer Zeit läßt aber schon eine Lösung von diesem Dogma „ohne Wachstum keine Gärung“ erkennen. Wenn es bei Mayer an einer Stelle (S. 136) heißt: „Der Hefepilz wächst unter gewöhnlichen Verhältnissen mit dem Zerfall des Zuckers während der Gärung und nimmt an Masse zu, indem seine Vegetation im wesentlichen die Veranlassung zur alkoholischen Gärung weckt“, so ist das allerdings ein Wortlaut, der eine Deutung im Sinne der Pasteurschen Auffassung erlaubt, aber genau besehen bezieht sich diese Darstellung nur auf die namentlich unter praktischen Verhältnissen auftretende Vermehrung der Zellen, ohne daß er (a. a. O. S. 120 u. 126) den ausnahmsweisen Gärvorgang ohne Wachstum in Abrede stellt.

Indes scheint doch noch die Anschauung über die Unerläßlichkeit des Hefewachstums ihre Vertreter zu finden.¹ Man hat zur Erklärung von Versuchen, in denen Brown (1892) das Hefewachstum durch überreichliche Aussaat ausgeschlossen hatte, angenommen, daß das Ausbleiben der Gewichtszunahme und selbst die völlige Gleichhaltung der Zahl der Hefezellen nicht das völlige Fehlen des Wachstums bei der Gärung bedeute, sondern so zu deuten sei, daß ebenso viele Zellen absterben als neu gebildet werden. Diese Anschauung läßt sich aber nicht beweisen, sie ist selbst nur eine Hypothese, ja eine schlecht fundierte, denn diese Art eines biologischen Perpetuum mobile, dieser quantitativ ganz unverkürzte Aufbau neuer Zellen aus Trümmern und Stoffwechselprodukten alter und abgestorbener Zellen hat sich noch nirgendwo erweisen lassen und widerspricht aller Erfahrung.

Man kann sich leicht von dem fortschreitenden N-Verlust gärender Hefe in reiper Zuckerlösung überzeugen und dies geschieht, wovon ich mich unterrichtet habe, obschon die Zellenzahl zunächst gar nicht abnimmt und keinerlei morphologische Zeichen des Absterbens vorhanden sind. Die Zellen sind nach einer solchen Zuckergärung übrigens ganz anders zusammengesetzt, wie dort, wo sie durch Wachstum ihren Bestand an Zellstoffen immer neu ersetzen können. Die Möglichkeit einer ausgiebigen Alkoholgärung besteht auch ohne Wachstum, wenn die N-haltige Nahrung ganz fehlt wie Zucker in einer reinen Lösung und sie ist auch bei bestem Wachstumsnährmaterial möglich, wenn, wie Brown

¹ S. Rapp, zit. bei Lafar, Bd. IV. S. 388.

ganz richtig angegeben hat, die Masse der Aussaat gewisse Grenzen überschreitet. Ich kann auch hinzufügen, daß man bei den Bakterien geradeso das wachstumslose Leben einige Zeit beobachten kann, wenn man den gleichen Kunstgriff reichlicher Aussaat wählt.¹ Das Dogma „keine Gärung ohne Wachstum“ ist ein Vermächtnis aus der Kampfzeit für die vitalistische Hypothese und kann heutzutage weder aufrecht erhalten werden, noch wird man in diesem Zugeständnis ein gegen die vitalistische Hypothese zu verwertendes Moment sehen können.

Ja diese Trennung zwischen Wachstum und Gärung oder besser gesagt Wachstum und Dissimilation wird uns sogar die richtige Auffassung der Lebensprozesse bei der Hefe und anderer ähnlicher Organismen wesentlich erleichtern.

Die Dissimilation, der Abbau von Stoffen, welche die Kraftquelle für das Leben zu liefern hat, macht, worauf ich hingewiesen habe bei einer Reihe untersuchter Bakterien, die größere Masse des Stoffverbrauchs aus. Die beiden hängen aber, wie ich außerdem bewiesen habe und wie aus den Gesetzen der Ernährung höherstehender Wesen vermutet werden konnte, nur locker zusammen, je nach der Konzentration der Nährlösungen kann das Wachstum auch = 0 werden, dann haben wir eine bestimmte Zeit hindurch noch den Umsatz allein.

Ich habe mich für die folgende Untersuchung mit großem Vorteil der Kultur der Hefe in reinen Rohrzuckerlösungen bedient, um den einen komplizierenden Faktor, das Wachstum, zunächst beiseite zu lassen, und erst dann, als die wachstumslosen Vorgänge näher aufgeklärt waren, mich dem Wachstum selbst zugewandt. Ausschuß des Wachstums ist auch schon deshalb zeitweilig erwünscht, weil dieses, wie wenigstens angegeben wird, sehr leicht durch die Anhäufung von Alkohol (durch 2 bis 3 prozentige Lösungen des letzteren) beeinflusst wird, während die Dissimilation, falls diese in der Alkoholgärung gesucht werden sollte, erst durch Mengen von 12 bis 13 Prozent Alkohol zum Stillstand kommt.

Außer dem Wachstum begegnen wir bei den Hefezellen, wie bei vielen anderen Organismen, besonders bei den in reiner Zuckerlösung wachsenden, bei Rückkehr in gutes N-haltiges Nährmaterial einer Ergänzung des mehr und mehr zurückgegangenen Zellinhaltes.

Die verschiedenen Ernährungsvorgänge in Zellkörpern scheiden sich im wesentlichen in drei Gruppen. Der eine Prozeß ist das Wachstum im engsten Sinne, wobei der Zelleib in allen Teilen eine Mehrung

¹ Rubner, *Archiv für Hygiene*. 1906. Bd. LVII. S. 240. .

erfährt. Wenn hier auch Vorgänge vorkommen müssen, welche die Zellen selbst zu vergrößern bestrebt sind, so gehört zum Begriff des Wachstums vor allem die Bildung neuer Zellen. Für Vorkommnisse dieser Art wähle ich den Namen Nutrition.

Daneben gibt es Zustände der Anhäufung von einzelnen Stoffen. Ausgleich für zu Verlust gegangenes Material — die Regenerationsvorgänge benannt werden. Die Ernährung kann nur bestehen unter gleichzeitigem Abbau von Stoffen, jede solche Veränderung, die zur Erhaltung der Zelle durch ihre Umsetzung beiträgt, sei als Dissimilationsvorgang bezeichnet. Dem Zustande ungenügender Ernährung der Inanition, steht der Zustand des Stoffwechselgleichgewichts der Äquation gegenüber.

Ich werde zunächst alle wichtigen biologischen Tatsachen an der nicht wachsenden Hefe schildern, um dann weiter auf das Wachstum und den N-Stoffwechsel der Zelle überzugehen. Und diese sind so eigenartig, daß sie eine eingehende Behandlung für sich beanspruchen werden.

Fünftes Kapitel.

Ist neben der Zuckergärung noch eine weitere Quelle der Wärmebildung bei der Hefe nachweisbar?

Die Fermenttheorie wie die eine biologische Richtlinie verfolgende ökologische Theorie lassen beide in biologischer Hinsicht eine Lücke offen, indem sie auf eine Erklärung und Begrenzung der Natur des Lebensprozesses der Hefe verzichten. Lassen wir vorläufig die Berechtigung der einen wie der anderen dieser Hypothesen gelten, so muß eine den Fortschritt anbahnende Untersuchung die Natur des Lebensprozesses der Hefe zu ergründen suchen, indem sie feststellt, welches die Energiequellen sind, aus denen die Zelle sich erhält, um neben anderen Funktionen eine zum mindesten sehr kräftige Fermentsekretion zu unterhalten. Ein experimenteller Versuch dieser Art liegt bislang nicht vor; ich werde im folgenden zeigen, daß das Problem zu lösen ist. Die Überlegung des einzuschlagenden Weges führt uns zu einer Vorfrage, welche in der Kapitelüberschrift zusammengefaßt ist; das technische Können vorausgesetzt, mußte sich erweisen lassen, ob bei der Hefegärung soviel Wärme auftritt, wie der Umsetzungsgleichung des Zuckers entspricht oder vielleicht mehr. Sollte letzteres der Fall sein, so würde dies allerdings als ein Hinweis angesehen werden können, daß neben der Gärung ein besonderer Stoffwechsel und Kraft-