Über Fermentlähmung.

II. Mitteilung.

Von

L. Lichtwitz.

(Aus der medicin. Klinik und dem landwirtschaftlich-bakteriolog. Institut
zu Göttingen.)

(Der Redaktion zugegangen am 8. April 1915.)

Mit einer Kurvenzeichnung.

Im 78. Bande dieser Zeitschrift¹⁾ habe ich über Versuche berichtet, aus denen hervorging, daß Hefe, die in einer Lösung von Rohrzucker + Invertzucker gewachsen war, eine geringere Inversionskraft hatte, als nur mit Rohrzuckerlösung gezogene Hefe, und daß diese Abnahme an Inversionsvermögen, die als Fermentlähmung bezeichnet wurde, auch nach Fortschaffung des Invertzuckers (durch Auswaschen oder Vergären) bestehen blieb.

Diesen Versuchen ist widersprochen worden, zuerst von Meisenheimer, Gambarjan und Semper,²⁾ die aus Versuchen ganz anderer Art auch ganz andere Resultate bekommen haben. Ich habe auf das Unzutreffende der Schlußfolgerungen dieser Autoren hingewiesen,³⁾ und darf wohl das Schweigen zu meiner Kritik als Zustimmung auffassen. Auch Euler und Cramer⁴⁾ haben die Frage der Fermentbeeinflussung durch Rohrzucker einerseits, durch Glukose anderseits studiert und nichts von Fermentlähmung gefunden. Die

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 78, S. 128, 1912.

²⁾ Biochem. Zeitschrift, Bd. 54, S. 112, 1913.

³⁾ Biochem. Zeitschrift, Bd. 56, S. 160, 1913.

⁴⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 88, S. 430, 1913; Bd. 89, S. 277, 1914.

Versuche von Euler und Cramer unterscheiden sich in zwei Punkten von den meinigen. Erstens ist die Zahl der verimpften Hefezellen in ihren Versuchen sehr groß (1 g frische Hefe = 18×10^{10} Zellen für 100 ccm Nährlösung gegenüber 8 Millionen Zellen in meinen früheren und in den nachstehenden Versuchen). Zweitens aber haben Euler und Cramer nur mit Lösungen eines Zuckers gearbeitet, während ich die Fermentlähmung nur bei Hefe aus Lösungen von Rohrzucker + Invertzucker, bezw. Rohrzucker + Glukose (oder Lävulose) gefunden habe.¹⁾

Da dieser Unterschied für das Ergebnis des Versuches wesentlich ist, und da sich daraus die Möglichkeit einer Einsicht in die physikalisch-chemischen Bedingungen ergibt, die der Fermentlähmung zugrunde liegen, so soll eine neue Versuchsreihe mitgeteilt werden.

Gemäß dem Typus II der früheren Versuche wurden 14 Gärversuche von je 100 ccm Hefewasser angesetzt. Jedes Glas enthielt Zucker und zwar nur Rohrzucker oder nur Invertzucker, oder Mischungen beider in verschiedenen Verhältnissen. Die Zuckermenge, als Invertzucker berechnet, betrug in jedem Glase 20 g. Der Kopf der nachstehenden Tabelle macht die Verteilung der Zucker deutlich. Alle Kulturen wurden mit je 8 Millionen Hefezelle (Reinkultur der Weinhefe «Oppenheimer-Kreuz») geimpft und zunächst der Gärungsverlauf gemessen.

Diese Versuchsreihe hat, wie Tabelle und Kurve zeigen, das nämliche Ergebnis, wie die früher mitgeteilten Versuche. Die Vergärung der reinen Rohrzuckerlösung und der reinen Invertzuckerlösung verläuft geradlinig, während die Mischzuckerlösungen einen scharfen Knick in der Kurve der CO_2 -Entwicklung abgeben, der ganz genau dort liegt, wo die aus dem Invertzucker berechnete Kohlensäure entwichen ist. Von da an verläuft die Gärung mit gleichbleibender Trägheit, und um so langsamer, je höher die Konzentration des primär zugesetzten Invertzuckers war.

Daß in solchen Kulturversuchen Inversionsgeschwin-

¹⁾ Herr von Euler und ich haben nach brieflicher Verständigung diese Frage weiter verfolgt. Nach einer mündlichen Mitteilung von Herrn von Euler stimmen die tatsächlichen Ergebnisse unserer Versuche nunmehr überein.

Tabelle 1.

	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	X.	XI.	XII.	XIII.	XIV.	
Rohrzucker	19,0	19,0	11,4	11,4	9,5	9,5	7,6	7,6	9,5	9,5	9,5	9,5	0	0	
Dextrose	0	0	4,0	4,0	5,0	5,0	6,0	6,0	10,0	10,0	0	0	10,0	10,0	
Lävulose	0	0	4,0	4,0	5,0	5,0	6,0	6,0	0	0	10,0	10,0	10,0	10,0	
Zeit		g CO ₂													
Tag	Stund.														
12. I.	6 ¹⁵	Impfung													
15. I.	62 ³⁰	1,53	1,50	1,35	1,33	1,07	1,22	1,40	1,57	1,65	1,90	0,87	0,70	0,77	1,32
16. I.	86 ⁴⁰	2,63	2,62	2,30	2,20	1,97	2,17	2,40	2,72	2,67	2,75	1,72	1,60	1,70	2,47
17. I.	108 ³⁰	3,65	3,63	2,97	2,90	2,70	2,89	3,25	3,49	3,28	3,50	2,47	2,42	2,64	3,40
18. I.	132 ³⁰	4,47	4,58	3,53	3,57	3,49	3,69	4,02	4,22	3,87	4,00	3,37	3,05	3,50	4,25
19. I.	156 ³⁰	5,25	5,60	3,90	3,90	4,22	4,32	4,57	4,77	4,35	4,20	4,12	3,98	4,50	4,95
20. I.	180 ³⁰	6,25	6,58	4,28	4,30	4,85	4,90	5,15	5,27	4,48	4,38	4,87	4,78	5,37	5,82
21. I.	204 ³⁰	6,95	7,28	4,70	4,72	5,20	5,39	5,57	5,67	4,70	4,60	5,42	5,60	6,27	6,60
22. I.	228 ³⁰	7,32	7,80	4,85	4,85	5,42	5,52	5,60	5,67	4,75	4,60	5,59	6,00	6,82	7,10
23. I.	252 ³⁰	7,73	8,25	5,03	5,17	5,65	5,79	5,75	5,82	4,80	4,65	5,77	6,38	7,29	7,60
24. I.	276 ³⁰	8,13	8,65	5,28	5,38	5,87	6,04	5,88	5,97	4,83	4,75	5,97	6,75	7,80	7,99
26. I.	324 ³⁰	8,83	9,15	5,68	5,98	6,39	6,60	6,10	6,30	5,10	5,03	6,49	7,38	8,44	8,49
28. I.	372 ³⁰	9,03	9,30	6,25	6,40	6,72	6,97	6,30	6,45	5,25	5,15	6,75	7,55	8,52	8,52
31. I.	444 ³⁰	9,17	9,50	6,90	7,00	7,27	7,57	6,60	6,77	5,55	5,43	7,22	8,03	8,57	8,55
3. II.	517	9,27	9,68	7,60	7,63*	7,67	8,07*	6,95	7,03*	5,92	5,85	7,64	8,40	8,59	8,62
7. II.	613	9,27	9,68	8,15	—	8,12	—	7,32	—	6,47	6,30	8,17	8,62	8,65	8,67
11. II.	709	—	—	8,60	—	8,49	—	7,85	—	6,85	6,67	8,34	8,68	8,65	8,67
14. II.	805	—	—	8,88	—	8,70	—	7,95	—	7,20	7,07	8,57	8,80	—	—
19. II.	925	—	—	9,02	—	8,90	—	8,20	—	7,82	7,42	8,72	—	—	—
25. II.	1069	—	—	9,30	—	9,02	—	8,55	—	8,25	7,82	8,92	8,85	—	—
2. III.	1285	—	—	9,30	—	9,05	—	8,68	—	8,55	8,17	8,92	—	—	—
9. III.	1353	—	—	—	—	—	—	8,87	—	8,83	8,52	—	8,85	—	—
20. III.	1617	—	—	—	—	—	—	—	—	9,00	8,77	—	—	—	—

* Versuch abgebrochen zum Zwecke der Zuckeranalyse.

digkeit und Vergärungsgeschwindigkeit parallel gehen, daß in einem System von Fermenten und Substraten eine strenge Ordnung herrscht, ist früher gezeigt worden.

Auch in dieser Versuchsreihe wurde in einigen, auf der Tabelle mit * bezeichneten Proben die Zuckeranalyse gemacht und zwar zu einer Zeit, als die Vergärung der reinen Rohrzuckerlösung und der reinen Invertzuckerlösung beendet war.

Es enthielt Glas	am	reduzierender Zucker	
		vor der Hydrolyse	nach der Hydrolyse
Nr. IV	3. II.	0,298 g	3,460 g
› VI	3. II.	0,242 ›	2,410 ›
› VIII	3. II.	0,250 ›	3,448 ›

Auch an diesen Stichproben, ausführlicher an Versuch III. der I. Mitteilung, ist die Langsamkeit der Inversion zu sehen, die die Langsamkeit der Gärung zur Folge hat.

Es wurden nun die in den reinen Rohrzuckerlösungen (Glas I und II) und in den reinen Invertzuckerlösungen gewachsenen Hefen von den ausgegorenen Flüssigkeiten getrennt und in neuen Gärversuchen mit je 100 ccm eines 19 g Rohrzucker enthaltenden Hefewassers angesetzt.

Tabelle 2.

Tag	Stunden	g CO ₂			
		Glas I	Glas II	Glas III	Glas IV
16. II.	—	—	—	—	—
19. II.	63 ³⁰	2,00	1,83	1,72	1,77
20. II.	87 ³⁰	3,15	2,85	2,60	2,82
21. II.	111 ³⁰	4,10	3,95	3,67	3,92
23. II.	159 ³⁰	5,80	5,55	5,27	5,62
24. II.	183 ³⁰	6,20	6,05	5,72	6,22
25. II.	207 ³⁰	6,70	6,55	6,27	6,92
26. II.	231 ³⁰	7,20	6,95	6,67	7,32
27. II.	255 ³⁰	7,40	7,15	6,97	7,42
28. II.	279 ³⁰	7,60	7,30	7,27	7,62
2. III.	327 ³⁰	7,80	7,60	7,67	7,77
4. III.	375 ³⁰	8,27	8,00	8,22	8,22

In allen 4 Proben erfolgte die Gärung gleich schnell. Da man, wie die früheren Versuche zeigen (in Kulturversuchen), aus der Gärungsgeschwindigkeit auf die Inversionsgeschwindigkeit schließen kann, so zeigt dieser Versuch in Übereinstimmung mit Euler und Cramer, daß das Wachstum der Hefe in reinen Rohrzucker- und reinen Invertzuckerlösungen (oder die Vorbehandlung der Hefe mit solchen Lösungen) auf die Invertase ohne jeden Einfluß ist.

Es ist also nicht die Anwesenheit der durch die Fermenttätigkeit entstehenden Produkte schlechthin, die das Ferment schädigt, sondern nur ihre Anwesenheit bei Gegenwart des Substrates. So weit das Tatsächliche.

Die Vorstellung, die man sich von den physikalisch-chemischen Vorgängen macht, die der Fermentlähmung zu Grunde liegen, muß bei der Unbestimmtheit der chemischen und physikalischen Natur eines Ferments eine Lücke haben. Es erscheint aber möglich wenigstens den Ort zu finden, an der vorläufig die Erkenntnis aufhört.

Wählen wir zur Verdeutlichung als Beispiel den vorliegenden Fall Rohrzucker (Rz)—Invertase (I)—Invertzucker (DL = Dextrose, Lävulose), so ist ein logisches Erfordernis, daß Rohrzucker und Invertase in eine enge räumliche Beziehung treten, also einen Komplex RI bilden, in dem die Wirkung der Invertase vor sich geht. Durch diese Wirkung entsteht aus RI der Komplex Invertzucker-Invertase DLI, der sich dann in seine Einzelbestandteile auflöst (dissoziiert). Als chemische Gleichung würde sich also ergeben:

Dieser letzte Vorgang, die Dissoziation, muß aber nach bekannten Gesetzen gehemmt werden, wenn in der Lösung D oder L oder D + L vorhanden ist. Daß in dem Komplex RI die Spaltung des Rohrzuckers bei Gegenwart von Invertzucker nicht oder nur langsam erfolgte, wäre physikalisch-chemisch nicht zu begründen.

Bis zu dem Prozeß der Dissoziation können wir dem Vorgang folgen. Warum aber, wenn bei Gegenwart von viel Invertzucker in der Lösung der Komplex DLI längere Zeit besteht, das Ferment geschwächt ist, ob es dadurch chemisch verändert wird oder ob sich der Komplex DLI auf eine dauernde trägere Dissoziation einstellt, entzieht sich dem Verständnis.

Göttingen, 28. März 1915.

Berichtigung.

Von

Dr. Max Oppenheimer.

(Der Redaktion zugegangen am 22. April 1915.)

Ich bemerke jetzt erst, daß sich in meine zweite Mitteilung »Über die Bildung von Milchsäure bei der alkoholischen Gärung«¹⁾ ein bedauerlicher Fehler eingeschlichen hat, welcher weder im Manuskript noch im Korrekturabzug vorhanden war.

Es muß auf Seite 267 selbstverständlich heißen:

»Innerer« Cannizzaro:

und nicht:

Durch die richtige Formulierung sollte ja gerade die gekoppelte Reaktion von der Neubergschen Pseudo-Wasseraufnahme unterschieden werden, wie übrigens aus dem Texte zur Genüge hervorgeht.

¹⁾ Max Oppenheimer, Diese Zeitschrift, Bd. 93, S. 262 (1914).