

## 372. R. Albert:

## Ueber künstliche Anreicherung der Hefe an Zymase.

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

(Eingegangen am 5. August; vorgetragen in der Sitzung vom Verfasser.)

Bei der Herstellung von Hefepresssaft aus untergähriger Bierhefe, welche mir Seitens der hiesigen Versuchs- und Lehr-Brauerei freundlichst zur Verfügung gestellt wurde, machte ich die Erfahrung, dass der erhaltene Saft, trotz gleicher Herstellungsweise, an Gährwirkung meist bedeutend gegen den von E. Buchner und Rapp, aus Münchner Hefe gewonnenen, zurückstand. Ich versuchte daher, durch zweckmässige Behandlung der Hefe, vor ihrer Verarbeitung auf Presssaft, eine Steigerung des Zymasegehaltes herbeizuführen. Nach Hayduck<sup>1)</sup> lässt sich für Brauereizwecke unbrauchbar gewordene Hefe dadurch regeneriren, dass man sie eine stickstoffarme Zuckerlösung vergären lässt; z. B. wird 1 kg Rohrzucker mit der gleichen Menge Wasser aufgekocht, dazu ein aus 30 g Hopfen gewonnener, wässriger Extract, sowie 10 g Dikaliumphosphat und 3 g Magnesiumsulfat gegeben, das Ganze sodann mit Wasser auf 12 L aufgefüllt und mit 1 kg abgepresster Hefe angesetzt. Sobald die Gährung begonnen hat, leitet man ca. 6 Stunden lang einen durch Watte filtrirten Luftstrom hindurch. Bei Zimmertemperatur ist nach 24 Stunden die Gährung beendet, die Hefe hat sich abgesetzt; wird mehrmals mit Wasser gewaschen und abgepresst. — Bei der Verarbeitung solcher regenerirter Hefe auf Presssaft, welche genau nach den Vorschriften von E. Buchner und Rapp<sup>2)</sup> erfolgte, fand sich, dass der erhaltene Saft, der den aus der ursprünglichen Hefe gewonnenen an Gährkraft stets bedeutend übertraf, in vielen Fällen sich noch gährwirksamer, als der Münchner erwies. Zum Vergleiche der einzelnen Versuche sind nachstehend immer die nach Meissl ausgeführten Gährkraftbestimmungen tabellarisch zusammengestellt.

Tabelle I.

20 ccm Saft, 8 g Saccharose, 0.2 ccm Toluol.

	CO <sub>2</sub> in g nach Stunden		
	20	44	48
Auf Saft verarbeitet: Brauereihefe direct . . . . .	0.3	0.61	0.81
»     »     nach 24 Stunden Regeneration . . . . .	0.56	1.13	1.5
Auf Saft verarbeitet: Brauereihefe direct . . . . .	0.58	0.93	1.04
»     »     nach 24 Stunden Regeneration . . . . .	0.79	1.38	1.5

<sup>1)</sup> Wochenschrift für Brauerei von Delbrück und Hayduck, 1884, No. 16, 26, 46.      <sup>2)</sup> Diese Berichte 30, 2670.

Ein längeres Stehenlassen der Hefe mit der Nährlösung, sowie Herabsetzung der Temperatur, während der Gährung, beeinflusst den Erfolg nicht, wie folgende Versuchsresultate ergaben:

Tabelle II.  
20 ccm Saft, 8 g Saccharose, 0.2 ccm Toluol.

	CO <sub>2</sub> in g nach Stunden		
	20	44	68
Hefe A bei 8° regenerirt . . . . .	0.44	0.8	1.06
» » » 15° » . . . . .	0.43	0.8	1.07
Hefe B nach 24 Stunden mit der Nährlösung . . .	0.61	0.94	1.50
» » 48 » * » . . .	0.59	0.92	1.49

Unterbricht man hingegen den Process, bevor die Gährung beendet ist, so wird die Gährkraft des Saftes erheblich vermindert. Nach ungefähr 5 Stunden scheint, aus der Höhe der gebildeten Schaumschicht zu urtheilen, die lebhafteste Gährthätigkeit eingetreten zu sein, während nach 15 Stunden schon eine deutliche Abnahme wahrnehmbar ist. Wie aus nachstehender Tabelle ersichtlich ist, liefert die Hefe, welche zur Zeit ihrer höchsten Gährthätigkeit auf Presssaft verarbeitet wurde, den gährschwächsten Saft. Nach 15 Stunden Regenerationsdauer wird eine Zunahme und nach 24 Stunden ein Maximum an Gährkraft des Saftes erreicht:

Tabelle III.  
20 ccm Saft, 8 g Saccharose, 0.2 ccm Toluol.

	CO <sub>2</sub> in g nach Stunden		
	20	44	68
verarbeitet Hefe I direct . . . . .	0.5	0.97	1.3
» » I nach 5 Stunden Regeneration . .	0.37	0.56	0.73
» » I » 24 » . . .	0.82	1.4	1.71
verarbeitet Hefe II nach 5 Stunden Regeneration . .	0.25	0.36	0.42
» » II » 15 » . . .	0.54	0.94	1.1
» » II » 24 . . .	0.62	1.1	1.56

Während der höchsten Gährthätigkeit ist demnach ein geringerer Zymasevorrath in der Hefezelle anzunehmen, als nach Ueberschreitung des Höhepunktes.

Steigert man den Gehalt der Nährlösung über die oben angewandten 8 pCt. Saccharose, so lässt sich eine weitere Zunahme des Saftes an Gährkraft erzielen:

Tabelle IV.  
20 ccm Saft, 8 g Saccharose, 0.2 ccm Toluol.

			CO <sub>2</sub> in g nach Stunden		
			20	44	68
Hefe A.	Saccharosegehalt der Nährlösung:	8 pCt.	0.56	0.81	0.83
"	" "	16 "	0.83	1.46	1.56
Hefe B.	Saccharosegehalt der Nährlösung:	16 pCt.	0.67	1.18	1.46
"	" "	22 "	0.87	1.45	1.77

Nach Hayduck erleidet bei diesem Regenerationsprocess die Hefe insofern keine Veränderung, als etwa eine andere Heferasse aufkommt und das numerische Uebergewicht erhält, sondern die Veränderung erstreckt sich lediglich auf die Zusammensetzung des Zellinhaltes der ursprünglich verwendeten Heferasse. In Ueberinstimmung mit dieser Erfahrung konnte ich nachweisen, dass in den einzelnen Stadien des Regenerationsvorganges die Zahl der glykogenhaltigen Zellen sehr verschieden gross war. Nach 4 Stunden ist eine Zunahme an Glykogen noch kaum festzustellen, nach 8 Stunden erwies sich etwa ein Drittel aller Hefezellen als stark glykogenhaltig, nach 24 Stunden ist nahezu sämmtliches Glykogen wieder verschwunden. Unterbleibt das Durchleiten von Luft während der Gährung, so ist die Glykogenzunahme noch erheblicher, nach 8 Stunden zeigt etwa die Hälfte aller Zellen die Jodreaction, nach 24 Stunden ist aber auch hierbei kaum noch eine glykogenhaltige Zelle zu finden. — Meiner Ansicht nach lässt sich diese künstliche Anreicherung der Hefezelle an gärwirksamer Substanz eher mit der Enzymtheorie, als mit der Plasmahypothese<sup>1)</sup> in Einklang bringen. Durch geeignete Verbesserungen dieses Regenerationsverfahrens hoffe ich, noch eine erheblichere Anreicherung des Presssaftes an Zymase erzielen zu können, um dann zu Isolierungsversuchen des Enzyms überzugeben.

<sup>1)</sup> Diese Berichte 32, 127 u. ff.