

Untersuchungen über das diastatische Ferment der Bacterien.

Von

Dr. Julius Wortmann.

Assistent am botanischen Institut zu Strassburg i. E.

(Der Redaktion zugegangen am 23. Februar 1882.)

Die in neuerer Zeit angestellten Untersuchungen über das Auftreten diastatischer Fermente im Pflanzenreich haben durch die Constatirung des allgemeinen Vorkommens derselben in den verschiedensten Pflanzentheilen nicht allein auf die Vorgänge des Stoffwechsels neues Licht geworfen, sondern sie nehmen auch dadurch, dass sie die Frage nach der Natur der fermentativen Prozesse in den Vordergrund stellen, ein hohes Interesse für sich in Anspruch.

Während die früheren Beobachtungen sich fast einzig und allein auf das Auftreten der Diastase in keimenden Gersten- und Weizensamen beschränkten, sind unsere Kenntnisse in dieser Hinsicht durch die neueren Arbeiten von Gorup-Besanez, Will, Krauch, und namentlich durch diejenige von Baranetzky¹⁾ wesentlich bereichert worden. Wir wissen jetzt, dass die dem Embryo bei der Keimung in Form von Glycosé zugeführten Nährstoffe durch Einwirkung des in den Cotyledonen enthaltenen diastatischen Fermentes auf das Stärkemehl der Samen gebildet worden sind; wir wissen auch, dass die Diastase, dadurch dass sie den Transport der Stärke von den grünen Blättern nach dem Stengel und von hier aus nach den Rhizomen, Wurzeln und Knollen

¹⁾ Vergl. Baranetzky, Die stärkeumbildenden Fermente in den Pflanzen. Leipzig 1878. Hier auch die ausführlichen historischen Angaben.

einerseits, sowie andererseits aus den Reservestoffbehältern in die austreibenden Sprosse u. s. w. vermittelt, eine hervorragende Rolle beim pflanzlichen Stoffwechsel spielt. Auch über die chemischen Vorgänge, welche sich bei der Einwirkung der Diastase auf das Stärkemehl, bei der Umwandlung desselben in Zucker geltend machen, sind wir durch die eingehenden Untersuchungen von Musculus, E. Schulze, O' Sullivan u. A. wenigstens in soweit unterrichtet, dass wir einigen Einblick in die quantitativen Verhältnisse und die sie modificirenden äusseren Faktoren, — Temperatur und Säuregehalt — gewonnen haben, wenngleich über das Wesen der Fermentprozesse im Allgemeinen, über die Art und Weise, wie die als Ferment wirkenden Substanzen ihren eigenthümlichen Einfluss auf die Molecüle der von ihnen zur Spaltung gezwungenen Körper geltend machen, auch gegenwärtig noch ganz verschiedene Ansichten ausgesprochen werden.

Wenn wir nun sicher annehmen können, dass ein weiteres und eingehenderes Studium der stärkeumbildenden Fermente bei den höher organisirten Pflanzen uns noch in vieler Hinsicht Aufschluss über bisher noch unerklärte Erscheinungen des pflanzlichen Stoffwechsels sowohl als auch der Fermentprozesse im Allgemeinen liefern wird, so liegt es doch nahe, die Untersuchungen auch jetzt schon auf diejenige Abtheilung der pflanzlichen Organismen auszudehnen, deren Repräsentanten wir nach den durch sie hervorgerufenen Wirkungen nach unseren heutigen Erfahrungen allgemein als Erzeuger der verschiedensten fermentartigen Substanzen ansehen müssen, nämlich auf die Abtheilung der Pilze, und hier vornehmlich die Bacterien, die Fermentträger par excellence näher in's Auge zu fassen.

Dass die Bacterien die Erreger der Fäulnisprozesse, die Ursachen der verschiedensten Gährungserscheinungen sind, und dass alle diese durch sie angeregten Vorgänge fermentativer Natur sind, ist durch die vorzüglichen Untersuchungen Pasteur's, sowie anderer Forscher eine feststehende und wohlbegründete Thatsache; wir wissen auch, dass jene Fäulnisprozesse und Gährungen dadurch zu Stande kommen,

dass die Bacterien den fäulniss- oder gährungsfähigen Substanzen zum Zweck der Ernährung stickstoff- respective kohlenstoffhaltige Verbindungen entziehen, und hierdurch den Zerfall jener Substanzen bedingen. Während nun früher allgemein die Ansicht vorherrschte, dass die Bacterien direct auf die Eiweissstoffe angewiesen seien, ist besonders durch Pasteur nachgewiesen worden, dass Entwicklung und Vermehrung von Bacterien auch in eiweissfreien zuckerhaltigen Flüssigkeiten stattfindet, sofern denselben nur der nöthige Stickstoff in Form eines Ammoniaksalzes zu Gebote steht. Cohn¹⁾ vermochte dann festzustellen, dass auch der Kohlenstoff in Form von Zucker entbehrlich ist und durch Weinsäure (weinsaures Ammoniak) ersetzt werden kann. Wir können also hinsichtlich der Ernährungsverhältnisse der Bacterien folgende Punkte auseinanderhalten:

- a) Ausser den nöthigen Aschenbestandtheilen, die in jedem Falle vorhanden sein müssen, kann Eiweiss, sowohl fest als gelöst, als Stickstoff- und zugleich als Kohlenstoffquelle dienen.
- b) Der Stickstoff kann als Ammoniaksalz aufgenommen werden, der Kohlenstoff als Zucker.
- c) Der Stickstoff kann als Ammoniaksalz, der Kohlenstoff in Form einer anderen organischen Verbindung²⁾, beide zugleich z. B. in Form von weinsaurem Ammoniak, aufgenommen werden.

Sind nun auch die Bacterien befähigt, ihren Bedarf an Kohlenstoff aus der Stärke zu beziehen? Sind sie im Stande feste Stärke z. B. durch Ausscheidung eines stärkeumbildenden, der Diastase ähnlichen Fermentes, oder auf irgend eine andere vorläufig nicht näher zu ermittelnde Weise, in lösliche, diffundirbare und zur Ernährung geeignete Verbindungen überzuführen? Der Umstand dass, obwohl doch die Bacterien von verschiedensten Seiten und in mannigfaltigster Weise

¹⁾ Cohn: Beiträge zur Biologie der Pflanzen, Bd. I, H. 2, S. 191 ff.

²⁾ Der Kohlenstoff kann aber nicht in jeder beliebigen organischen Verbindung aufgenommen werden. Der Kohlenstoff des Harnstoffs z. B. ist nicht geeignet (wohl aber der Stickstoff dieser Verbindung).

in ihrem chemisch-physiologischen Verhalten untersucht und erforscht worden sind, in der Litteratur nur ganz vereinzelte Angaben sich verzeichnet finden, welche eine thatsächliche Einwirkung der Bacterien auf Stärke constatiren oder andeuten, lässt von vornherein vermuthen, dass die Lösung der Stärke nur in besonderen bestimmten Fällen von den Bacterien ermöglicht werden kann. In seinem Werke «Ueber die niederen Pilze» sagt Nægeli, S. 12: «Ein besonderes energisches Ferment wird von den Spaltpilzen abgesondert. Dasselbe führt den Milchzucker in gährungsfähigen Zucker über, setzt Stärke und Cellulose (Holz) in Traubenzucker um, löst geronnenes Eiweiss und andere Albuminate.» Hiernach üben also die Bacterien auf Stärke einen Einfluss aus durch Abscheidung eines Fermentes, welches aber auch zugleich jene anderen angedeuteten Umwandlungen auszuführen vermag. Eine andere Angabe, welche zu schliessen erlaubt, dass das Verschwinden von Stärkesubstanz durch Bacterien hervorgerufen werden kann, findet sich bei Sachsse: «Chemie und Physiologie der Farbstoffe u. s. w.» auf S. 106 und lautet wörtlich: «Eine Lösung von Stärke ist vollkommen haltbar, sobald für die Abspaltung der in der Luft schwebenden Keime oder für deren Tödtung gesorgt ist. Lässt man sie ohne weitere Vorkehrung an der Luft stehen, so findet bald eine Umwandlung statt, die sich mit Hülfe der Jod- und Gerbsäurereaktion leicht verfolgen lässt. Das Jod hört bald auf blau zu färben. Die Färbung wird violett, nach einiger Zeit roth und hört endlich nach etwa 10 Tagen gänzlich auf. Dementsprechend wird auch die Gerbsäurewirkung schwächer und schliesslich wird auch mit dieser überhaupt kein Niederschlag mehr erhalten. Die Flüssigkeit hat aufgehört Stärke zu enthalten.» Der hier angeführte Fall betrifft also das allmähliche Verschwinden der löslichen Modification der Stärke. Gelegentlich anderweitiger Untersuchungen, welche ich im Sommer 1881 mit Milchsäften anstellte, machte auch ich einige Wahrnehmungen, welche mich zu der Vermuthung führten, es möchten auch feste Stärkekörner unter Umständen Corrosionserscheinungen zeigen, deren Ursache auf das Vor-

handensein von Bacterien zurückzuführen wäre. Es waren nämlich Proben verschiedener Milchsäfte mit etwas fester Weizenstärke vermischt in durch Kork verschlossenen Reagenscylindern aufbewahrt worden.

Nachdem diese Mischungen ungefähr sechs Wochen lang ohne controlirt worden zu sein, in den Cylindern verweilt hatten, konnte ich in jedem Falle eine deutliche, bald mehr oder weniger heftige Corrosion der grossen Stärkekörner beobachten, während zugleich überall zahlreiche Bacterien sich eingefunden hatten. Gleichzeitig und ebenso lange waren einige Glaskölbchen aufbewahrt, in denen Rohrzuckerlösung mit Hefezellen und kleinen Mengen fester Weizenstärke enthalten waren. Nach ungefähr sechs Wochen waren hier die Hefezellen, die sich ausserordentlich stark vermehrt hatten, abgestorben, es waren ebenfalls zahlreiche Bacterien aufgetreten, allein irgendwelche Corrosionserscheinungen an den Stärkekörnern konnten hier nicht im Geringsten wahrgenommen werden; die Stärke hatte ihr vollkommen normales Aussehen bewahrt. Hier haben wir also zwei Fälle vor uns, in denen bei Gegenwart von Bacterien feste Stärke das eine Mal die Erscheinungen der Lösung zeigt, das andere Mal hingegen vollständig intact gelassen wird. Sind nun, so werden wir uns fragen, in dem ersteren Falle die Bacterien wirklich die Ursache der Lösungserscheinungen gewesen? Oder waren hier die Corrosionen unabhängig von den Bacterien durch anderweitige, vorläufig unbekante Ursachen hervorgerufen? Folgende Versuche scheinen diese hier angeregten Fragen in Bezug auf die Mitwirkung der Bacterien im negativen Sinne zu entscheiden: Wenn man frische Kartoffelscheiben in einem Gefässe mit etwas Wasser übergiesst, so tritt bekanntlich schon nach sehr kurzer Zeit eine üppige Bacterienvegetation auf, welche nach und nach dahin führt, dass die Kartoffelscheiben in eine breiartige, zerfliessliche Masse verwandelt werden. Untersucht man jetzt die Stärkekörner, so erweisen sie sich als absolut intact; keine Spur von Corrosion ist an ihnen zu bemerken. Bekanntlich sind die Stärkekörner der Kartoffel von diastatischen Fermenten

sehr schwer, von den bisher untersuchten, diastatische Eigenschaft zeigenden Pflanzensäften so gut wie gar nicht angreifbar, es ist mithin die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, dass in diesem Falle von den Bakterien dennoch ein diastatisches Ferment ausgeschieden wird, allein in zu geringer Menge, um eine bemerkbare Eiwirkung auf die Stärkekörner ausüben zu können. Verwendet man statt der Kartoffelscheiben Cotyledonen von Phaseolus, deren Stärkekörner verhältnissmässig leicht durch Diastase aufgelöst werden, so bleiben auch hier die Stärkekörner trotz des massenhaften Auftretens von Bakterien vollkommen intact. Ein gleiches Schicksal erleiden Weizenstärkekörner, wenn man sie in eine eiweisshaltige, bakteriöse Flüssigkeit einstreut. Die Thatsache, dass in diesen speciellen Fällen durch die Bakterien keine diastatische Wirkung auf die verschiedenen Stärkesorten ausgeübt wurde, erlaubt uns indessen noch keineswegs, überhaupt ein passives Verhalten der Bakterien den Stärkekörnern gegenüber anzunehmen; es ist sehr wohl denkbar (und wir werden später sehen, dass es sich in der That so verhält), dass durch das Vorhandensein von besser und leichter verwendbaren Nährstoffen als es die Stärke ist, die Bakterien gar nicht zur Umbildung von gleichzeitig vorhandener Stärke angeregt werden. Es stellt sich uns daher die Aufgabe, zu untersuchen, unter welchen Bedingungen die Bakterien die Stärke in Lösung zu bringen vermögen.

Da die Bakterien die Fähigkeit besitzen, die Eiweissstoffe zu zersetzen, so wissen wir jetzt, dass diese Zersetzung zu dem Zwecke erfolgt, um die der einzelnen Bacterienzelle zur Ernährung nothwendigen stickstoff- respective kohlenstoffhaltigen Verbindungen in einer Form zu erhalten, in welcher sie fähig sind, durch Membran- und Protoplasmaschlauch der Bacterienzelle zu diffundiren. Es ist nun von vornherein wahrscheinlich, dass diejenigen Verbindungen, welche am leichtesten und bequemsten aufgenommen werden können, auch dementsprechend am stärksten verbraucht werden; wir werden also, wenn wir bezüglich der Einwirkung der Bakterien auf Stärke entscheidende Versuche

uns vor Augen führen wollen, zunächst darauf zu achten haben, dass in der den Bacterien gebotenen Nährflüssigkeit ausser Stärke keine andere, vielleicht leichter umzuwandelnde, kohlenstoffhaltige Verbindung enthalten ist. Sind die Versuchsbedingungen so gestellt, so wird, falls überhaupt die Bacterien einen Einfluss auf Stärke auszuüben vermögen, die Art und Weise dieser Einwirkung jetzt im ungetrübtesten Lichte erscheinen; entweder wird die Stärke gelöst, in Bestandtheile des Protoplasmas verwandelt und in Folge dessen kann eine Weiterentwicklung der Bacterien stattfinden, oder aber die Stärke bleibt intact, und die Bacterien gehen, da ihnen keine andere kohlenstoffhaltige Nährverbindung zu Gebote steht, zu Grunde. Von diesem Gesichtspunkte ausgehend, stellte ich nun eine grosse Reihe von Versuchen an, welche mir das Resultat lieferten, dass die Bacterien befähigt sind, ihren Bedarf an Kohlenstoff aus der Stärke zu beziehen, und dass die dabei auftretenden Lösungserscheinungen der angewendeten festen Stärke genau in derselben Weise vor sich gehen, wie wenn Diastase oder Speichel auf Stärkekörner einwirken.

Die Methode, nach welcher ich operirte, war sehr einfach: Zu einer bestimmten Quantität destillirten Wassers — meist 20 oder 25 ccm — wurde soviel eines Gemenges anorganischer Nährsalze¹⁾ zugesetzt, dass die dadurch erhaltene Lösung die Concentration 1‰ hatte. Dann wurde dem Gewicht nach ebensoviel feste Weizenstärke hinzugefügt; diese

¹⁾ Dieses Nährstoffgemenge war zusammengesetzt aus gleichen Theilen von Kochsalz, schwefelsaurer Magnesia, salpetersaurem Kali und saurem phosphorsaurem Ammoniak $[(NH_4)H_2PO_4]$. Selbstverständlich kann ein derartiges und roh zusammengesetztes Gemenge von Nährstoffen nicht für genaue Ernährungsversuche in Verwendung kommen; für meine Zwecke war dasselbe aber vollkommen ausreichend, da es mir nur darauf ankam den Bacterien die nöthigen Elemente mit Einschluss des Stickstoffs in der Form zu bieten, dass sie überhaupt gebraucht werden konnten. Die Bacterien gedeihen übrigens in einer derartigen Nährlösung, (welcher aber noch eine C-haltige ernährungstüchtige Verbindung hinzugefügt werden muss) ganz vortrefflich.

Mischung wurde darauf mit 1 oder 2 Bacterientropfen¹⁾ versetzt und zur gleichmässigen Vertheilung der Bacterien einige Male geschüttelt. Das die Mischung enthaltende Reagensglas wurde sodann gut verkorkt und verweilte im Zimmer bei einer Durchschnittstemperatur von 18—22° C. Unter diesen Verhältnissen waren gewöhnlich, bei mässiger Vermehrung der Bacterien, nach 5—7 Tagen die ersten Anfänge von Corrosion an den Stärkekörnern bemerkbar. Wie schon bemerkt wurde, gleichen diese Corrosionen sowohl in ihrem Auftreten als auch in ihrer Weiterentwicklung vollständig jenen durch die Einwirkung diastatischer Fermente auf die Weizenstärke hervorgerufenen. Da dieser Vorgang bereits von Baranetzky richtig beobachtet und ausführlich beschrieben ist, so mag eine Hinweisung auf jenen Autor hier genügen²⁾. Mit Bezug auf die von mir beobachteten Corrosionserscheinungen kann ich indessen noch hinzufügen, dass die grossen Körner zunächst der Auflösung anheim fallen; viel später, nachdem jene fast vollständig verschwunden sind, werden die Wirkungen des Fermentes auch an den kleinen Körnern bemerkbar, und lässt man den Versuch lange genug andauern, (etwa 3—4 Wochen) so verschwinden auch diese gänzlich. Die Auflösung der grossen Stärkekörner nimmt bei den erwähnten Temperaturverhältnissen gewöhnlich einen Zeitraum von 10—14 Tagen in Anspruch, wobei noch zu bemerken ist, dass auch hier die einzelnen Körner mit verschiedener Geschwindigkeit aufgelöst werden; während von einigen fast gar keine Substanz mehr übrig ist, befinden sich andere erst in den ersten Stadien der Corrosion. Bei den meisten der grossen Körner verläuft allerdings der Auflösungsprozess ziemlich gleichmässig, doch sind, wie aus dem Ge-

¹⁾ Als Bacterientropfen bezeichne ich hier in demselben Sinne wie es von Cohn (Beiträge zur Biologie der Pflanzen, Bd. I, Heft 2, S. 196) geschieht, einen Tropfen einer durch faulende Bohnen oder Kartoffeln ganz stark bacteriös gemachten wässerigen Flüssigkeit. Auch meine Versuche beziehen sich zunächst auf *Bacterium Termo*, da dasselbe in den meisten Fällen ganz allein in der Culturflüssigkeit dominirt.

²⁾ Baranetzky, loc. cit. S. 48. Vgl. auch S. 5 daselbst.

sagten ersichtlich ist, genaue Zeitangaben, in welcher die Auflösung vollendet wird, nicht möglich.

Bei einer zweiten Versuchsreihe wendete ich statt fester Weizenstärke *ceteris paribus*, gleiche Mengen von in Wasser löslicher Stärke an. Da eine reichlichere Vermehrung von Bacterien eintrat, so gelang es in diesen Fällen, die Stärke in kürzerer Zeit zum Verschwinden zu bringen. Bei Anwendung von löslicher Stärke ist man zwar nicht im Stande, den Anfang der Fermenteinwirkung, trotzdem dieselbe, wie wir später sehen werden früher eintritt, so genau festzustellen, wie bei der festen Stärke, allein es kommt hier der grösse Vortheil in Betracht, dass an den Veränderungen der Jodreaktion der Verlauf der Einwirkung verfolgt und besonders das Ende genau bestimmt werden kann. Werden von Zeit zu Zeit Proben aus der Versuchsflüssigkeit untersucht, so reagiren dieselben anfänglich durch violette oder dunkelrothe Färbung¹⁾, später geht die Färbung allmählich von dunkelroth in hell-weinroth über und zuletzt vermag die Jodlösung nur noch eine durch ihre eigene Farbe bedingten hellgelben Farbenton hervorzurufen, wodurch also angezeigt ist, dass die Stärke dann vollständig verschwunden ist. Bei späteren Versuchen habe ich in Folge dessen, wenn es darauf ankam, die ersten Momente der Fermenteinwirkung zu bestimmen, mich der festen Weizenstärke bedient; sollte hingegen das Ende der Reaktion ermittelt werden, so wurde lösliche Stärke zu Hülfe genommen²⁾.

Wie Baranetzky³⁾ nachgewiesen hat, werden von

¹⁾ Die anfängliche Färbung durch Jod ist nicht immer gleichmässig, sondern variiert zwischen violett und dunkelroth, was theils von der Menge des zugefügten Reagens, theils von der mehr oder weniger sauren Beschaffenheit der Stärkelösung (ich untersuchte die Flüssigkeiten immer, nachdem die anorganischen Nährstoffe bereits zugesetzt waren) zum Theil auch von der Concentration der Stärkelösung abhängen wird.

²⁾ Ich erwähne, dass für die bis jetzt beschriebenen Versuche, bei denen es also nur auf die Constatirung einer von den Bacterien ausgehenden Einwirkung auf Stärke ankommt, ebenso gut auch Stärkekleister verwendet werden kann und auch verwendet wurde.

³⁾ Baranetzky, loc. cit., S. 38.

den in Pflanzensäften enthaltenen diastatischen Fermenten die Stärkekörner verschiedener Sorten mit ganz ungleicher Geschwindigkeit gelöst; das aus dem Malz isolirbare und am stärksten wirksame Ferment übt, wie auch alle früheren Beobachter gefunden haben, selbst bei längerer Versuchsdauer keinen nachweisbaren Einfluss auf feste Kartoffelstärke aus, während Weizen- oder Buchweizenstärke mit Leichtigkeit von demselben gelöst werden.

Es lag nun nahe nachzusehen, ob in Bezug hierauf auch die durch Bacterien hervorgerufenen Lösungserscheinungen der Stärke sich analog verhielten. Zu diesem Zwecke habe ich nur einen Versuch angestellt, welcher, da die aus demselben gewonnenen Resultate klar waren und mit den bis jetzt von anderer Seite gefundenen vollständig übereinstimmen, zur Entscheidung der angeregten Frage auch hinreichend genügen wird. Um einen Massstab für die Lösungsgeschwindigkeit der angewendeten verschiedenen Stärkesorten zu haben, wurde je einer derselben stets die gleiche Menge fester Weizenstärke zugefügt, von welcher ich mich überzeugt hatte, dass sie relativ sehr schnell angegriffen und gelöst wurde. Die Ausführung des Versuches war folgende: Zu je 20 ccm destillirten Wassers, in welchem 1⁰/₀₀ anorganischer Nährstoffe von der bereits beschriebenen Zusammensetzung, und 0,01 gr. (also $\frac{1}{2}$ ⁰/₀₀) Weizenstärke enthalten waren, wurden je 0,01 gr. A) löslicher Stärke, B) Weizenstärkekleister, C) Kartoffelstärke, D) Bohnenstärke — aus den Cotyledonen von *Phaseolus multiflorus*, — E) Iris-Stärke — aus dem Rhizom von *Iris germanica*, — F) Canna-Stärke — aus Canna-Knollen, — G) Curcuma-Stärke — *Curcuma leucorrhiza*, — H) Palmen-Stärke — Species unbestimmt — hinzugefügt. Die Mischungen wurden in verkorkten Reagensgläsern aufbewahrt und jeder ein Bacterientropfen zugesetzt. Um während der ganzen Dauer des Versuches eine möglichst gleichmässige Wärme zu erzielen, wurden die Gläser in einen aus Zink angefertigten, mit doppelter Wandung versehenen geräumigen Wärmekasten gebracht, in welchem eine durch einen Bunsen-Regulator constant erhaltene Temperatur von 28—30° C. herrschte.

Beginn des Versuches am 27. Oktober, 6 Uhr Abends. Ich theile jetzt das über den Gang der Versuche angefertigte Protocoll mit, wobei ich noch bemerke, dass zu jeder Prüfung aus den einzelnen, vorher umgeschüttelten Cylindern je eine kleine Probe herausgenommen und mikroskopisch untersucht wurde.

28. Oktober, 10 Uhr Vormittags: A) Stärke intact; im Gesichtsfeld bewegen sich einzelne Bacterien. B) Befund wie bei A. C) Befund wie bei A. D) Befund wie bei A. E) Befund wie bei A. F) Etwas stärkeres Auftreten von Bacterien; einzelne Weizenstärkekörner zeigen eben Anfang von Corrosion. G) Befund wie bei A. H) Befund wie bei A.

Mit Ausnahme von F) war also noch Alles unverändert. Vielleicht hatte überall eine geringe, übrigens nicht nachweisbare Vermehrung von Bacterien stattgefunden.

29. Oktober, 10 Uhr Vormittags: A) Bacterien nicht merklich vermehrt. Stärkekörner intact. Eine abfiltrirte Probe nimmt auf Zusatz von Jodlösung nur noch hellgelbe Färbung an. B) Stärkekörner intact. Jodlösung ruft violette Färbung hervor. C) Kartoffelstärke vollständig intact. Weizenstärkekörner sämmtlich mehr oder weniger angegriffen. D) Bohnenstärke intact. Von den Weizenstärkekörnern zeigen einzelne Corrosionen. E) Noch Alles unverändert. F) Canna-Stärke intact. Weizenstärke sehr heftig angegriffen. G) Curcuma-Stärke intact. Einzelne Weizenstärkekörner lassen Corrosionen erkennen. H) Palmen-Stärke intact. Fast alle Weizenstärkekörner sind angegriffen, jedoch nicht stark.

Eine Vergleichung der einzelnen Resultate dieser Prüfung lässt uns Folgendes erkennen: Ueberall, mit Ausnahme von E und B (welch' letzteres indessen noch fraglich ist, da ja eine geringe Menge des Kleisters schon gelöst sein kann, ohne dass die Jodreaction sich ändert) hat bereits eine unzweifelhafte Wirkung der Bacterien auf die Stärke stattgefunden. Da wo Weizenstärkekörner mit Stärkekörnern anderer Art sich zusammen befanden, sind die ersteren mehr oder minder corrodirt, während die anderen intact geblieben

sind. Bei A hingegen sind die Weizenstärkekörner noch völlig intact, während die lösliche Stärke dafür vollständig verschwunden ist.

31. Oktober, 10 Uhr Vormittags: A) Die meisten Stärkeköerner zeigen (noch nicht starke) Corrosionen. B) Derselbe Befund wie bei A. Jodprobe noch nicht gemacht. C) Kartoffelstärke nicht angegriffen. Weizenstärke sehr stark corrodirt. D) Viele Weizenstärkekörner sind corrodirt, allein auch eben so viele Bohnenstärkekörner zeigen die Erscheinung. E) Iris-Stärke intact. Einzelne Weizenstärkekörner zeigen Anfänge der Auflösung. F) Canna-Stärke intact. Weizenstärke (die grossen Körner) fast verschwunden. G) Curcuma-Stärke intact. Weizenstärke ziemlich heftig corrodirt. H) An einigen Palmen-Stärkeköernern treten Canäle auf. Weizenstärke heftig corrodirt.

Das Gesammtresultat ist demnach eine fortschreitende, bald mehr, bald minder heftige Lösung der Weizenstärke, welche jetzt auch bereits bei A, B und C begonnen hat. Von den anderen Stärkesorten wird zuerst die Bohnenstärke und gleichzeitig, aber nicht so energisch, die Palmenstärke in Angriff genommen.

1. November, 10 Uhr Vormittags: A) Stärkeköerner in mittleren Corrosionszuständen. In der Culturflüssigkeit treten Sprosspilzzellen auf. B) Stärke verschwunden; eine Probe mit Jodlösung versetzt, zeigt hellgelbe Färbung. C) Kartoffelstärke intact; auffallendes Hervortreten der Schichtung. Weizenstärke verschwunden. D) Weizen- sowie Bohnenstärke ungefähr gleich stark corrodirt. E) Iris-Stärke intact. Weizenstärke mehr corrodirt. F) Canna-Stärke hin und wieder schwach angegriffen. Weizenstärke verschwunden. Da sich zahlreich Sprosspilze eingefunden haben, wird dieser Versuch abgebrochen. G) Curcuma-Stärke intact. Weizenstärke heftig corrodirt. H) An den Palmen-Stärkeköernern sind grosse, weite Canäle vorhanden. Weizenstärke verschwunden.

Das diesmalige Resultat lautet wieder günstig für die Weizenstärke: in vier Versuchen (B, C, F und H) ist sie vollständig verbraucht, in den übrigen ist sie in starker Auf-

lösung begriffen. Die Corrosionen der Bohnenstärkekörner schreiten jetzt gleich stark mit denen der Weizenstärkekörner vorwärts. Die Palmen-Stärke ist heftiger angegriffen und auch bei der Canna-Stärke zeigen sich die ersten Stadien der Corrosion. In diesen beiden Fällen ist Weizenstärke nicht mehr vorhanden.

4. November, 10 Uhr Vormittags: A) Stärkekörner nicht merklich stärker angegriffen. Da auch hier die Sprosspilze zahlreich aufgetreten sind, so muss der Versuch eingestellt werden. B) fällt aus. C) Kartoffelstärke nicht verändert. D) Starke Corrosionen an Bohnen- und Weizenstärkekörnern; erstere sind in viele Bruchstücke zerfallen. E) Iris-Stärke zum Theil heftig, zum Theil indessen noch gar nicht angegriffen. Weizenstärke verschwunden. F) fällt aus. G) Curcuma-Stärke zeigt an vereinzeltten Körnern schwache Corrosionen. Weizenstärke heftig angegriffen. H) Palmen-Stärke stark corrodirt.

Mit Ausnahme der noch vollkommen intact gebliebenen Kartoffelstärke zeigen jetzt alle übrigen Stärkesorten Lösungserscheinungen. Weizenstärke ist nur noch bei A (welches ausfällt) und E vorhanden, aber in vorgeschrittenen Stadien der Corrosion.

7. November, 10 Uhr Vormittags: A), B) und C) fallen aus. D) Kartoffelstärke noch immer intact. E) Dieselben Zustände wie vorher. Auftreten von Sprosspilzen. Der Versuch wird daher eingestellt. F) Dasselbe Resultat wie bei E. G) Fällt aus. H) Dieselben Zustände wie vorher. Auch hier muss der Versuch wegen Ansiedelung zahlreicher Sprosspilze aufgegeben werden.

Die Kartoffelstärke widersteht also siegreich den Einwirkungen der Bacterien. Das Auftreten der Sprosspilze in den Culturflüssigkeiten hindert die weitere Fortsetzung der Versuche.

Ueberblicken wir jetzt noch einmal die erhaltenen Resultate, so sehen wir, dass unter gleichen äusseren Bedingungen an der Weizenstärke überall bei Weitem früher die Einwir-

kungen der Bacterien sich zeigen als an den anderen Stärkesorten, dass sogar in mehreren Fällen die Weizenstärke vollständig verschwindet, ehe an der anderen Stärke auch nur Spuren der Auflösung wahrzunehmen sind; wir sehen aber, dass auch diese Stärkesorten, aber ebenfalls unter einander mit verschiedener Geschwindigkeit, schliesslich gelöst werden: die Bohnenstärke, welche den Anfang macht, — und welche, nachdem die Erscheinung der Lösung eingetreten ist, nunmehr gleichen Schritt mit der Weizenstärke hält, — folgen nacheinander die Palmenstärke, die Canna-Stärke, die Curcuma-Stärke und die Iris-Stärke. Nur die Kartoffelstärke ist, abgesehen von dem viel deutlicheren Auftreten der Schichtung, nicht angegriffen worden. Da wo Weizenstärke mit Stärkekleister oder Stärkelösung gemischt war, sehen wir die Weizenstärke den Angriffen der Bacterien einen grösseren Widerstand bieten; während sie z. B. mit Bohnenstärke zusammengebracht, bereits Lösungserscheinungen zeigt, ist sie in der gleichen Zeit unter jenen beiden Bedingungen intact geblieben. Wir sehen die Stärkelösung vollständig, den Stärkekleister jedenfalls zum grössten Theil verbraucht, ehe die feste Weizenstärke in Angriff genommen wird.

Wodurch ist nun das ungleiche Verhalten der verschiedenen Stärkesorten in Bezug auf ihre Lösungsgeschwindigkeit bedingt? Woher kommt es, dass die Weizenstärke allemal früher die Erscheinungen der Corrosion zeigt? Als Wegweiser zur Beantwortung dieser Fragen wird uns das Verhalten der löslichen Stärke, des Stärkekleisters und der Bohnenstärke dienen. Betrachten wir die beiden ersteren Fälle zusammen, so sehen wir die Stärke in fester Form das eine Mal mit Stärke in gelöstem, das andere Mal mit Stärke in gequollenem Zustande der Einwirkung eines sie umwandelnden agens ausgesetzt. Mag nun dieses agens als von den Bacterien ausgeschiedenes Ferment, also als Diastase wirken, oder aber mag sonst irgend eine unbekannte Ursache vorliegen, jedenfalls werden die Molecüle der Stärke — wie auch die jedes anderen Körpers — in dem Zustande, in welchem ihre Cohäsion zu einander am geringsten ist, am leichtesten

und schnellsten dem Einflusse auf sie wirkender Agentien unterliegen. Von dieser allgemein feststehenden Thatsache ausgehend, werden wir demnach schon a priori schliessen dürfen, dass unter denselben Bedingungen die gelöste Stärke schneller als der Stärkekleister und dieser wieder schneller als die feste Stärke angegriffen wird; ein Schluss, dessen Richtigkeit durch das Versuchsergebniss ausser Zweifel gesetzt wird; denn wir sahen, wie die gelöste Stärke bereits am zweiten Tage des Versuches nicht mehr vorhanden war, während der Stärkekleister erst am fünften Tage nicht mehr nachgewiesen werden konnte. Von diesem Gesichtspunkte aus wird uns auch das Verhalten der Bohnenstärke verständlich: da dieselbe Klüftungen und Risse zeigt, so werden die inneren, weicheren Theile des Stärkekornes frei gelegt, wodurch die Lösung leichter bewerkstelligt werden kann, als wenn das Korn im vollkommen homogenen Zustande von der peripherischen dichteren Parthie aus angegriffen werden müsste. Allgemein ausgedrückt dürfen wir also sagen: Die Geschwindigkeit, mit welcher eine Stärkesorte von einem wie ein Ferment wirkenden agens gelöst wird, steht in umgekehrtem Verhältniss zu ihrer Dichtigkeit; hierbei vorausgesetzt, dass die der Einwirkung unterliegenden Stärkekörner ohne Risse und Spalten sind. Denn ohne Zweifel würde die Lösung der Bohnenstärkekörner langsamer vor sich gegangen sein, wenn frische, noch nicht ausgetrocknete Körner ohne Risse zu den Versuchen verwendet worden wären, dergleichen würde man vielleicht an Kartoffelstärkekörnern Corrosionen zu beobachten im Stande gewesen sein, wenn man dieselben vor dem Versuche in Bruchstücke zersprengt hätte. Ich habe leider unterlassen, derartige Versuche selbst anzustellen. Der Grund, wesshalb Stärkekörner derselben Sorte, z. B. Weizenstärkekörner nicht alle gleiche Lösungsgeschwindigkeit zeigen, wird nach dem Gesagten auch erklärlich; denn es werden von denselben immer diejenigen zuerst gelöst werden, welche bereits bei Anfang des Versuches mit Verletzungen, wenn auch minimaler Natur, behaftet sind.

Erinnern wir uns jetzt der Versuche, in denen trotz Gegenwart zahlreicher Bacterien weder Kartoffelstärke noch Bohnen- oder Weizenstärke selbst nach längerer Dauer angegriffen wurde. Welche Ursache verhinderte hier die Lösung? Die Zahl der Bacterien konnte es gewiss nicht gewesen sein, denn dieselbe war bedeutend grösser als in den Versuchen, in denen wir eine Einwirkung der Bacterien auf die Stärke constatirt haben. Aber es standen den Bacterien im ersteren Falle andere Nährstoffe zur Disposition: in den Kartoffelscheiben, sowie in den Bohensamen konnten die eiweissartigen Substanzen vielleicht leichter verbraucht werden als die Stärke, und demzufolge traf Letztere hier dasselbe Schicksal wie in den Versuchen, in welchen Weizenstärke mit gelöster Stärke zusammengebracht war. Sie wäre also erst angegriffen worden, nachdem alle oder wenigstens der grösste Theil der Proteinstoffe zersetzt gewesen wären. In den von positiven Resultaten begleiteten Versuchen aber war absichtlich nur eine einzige Kohlenstoffquelle, und zwar in der Stärke selbst, gegeben. Um eine genauere Einsicht der hier in Rede stehenden Erscheinungen zu gewinnen, mussten speciellere Versuche angestellt werden, Versuche, welche die Frage zu beantworten hatten: welches Verhalten zeigt die Stärke, wenn neben ihr noch andere, — beliebig zu wechselnde — zur Ernährung taugliche Kohlenstoffverbindungen den Bacterien zur Verfügung gestellt werden? Wie Cohn nachgewiesen hat, ist weinsaures Ammoniak sehr geeignet, von den Bacterien aufgenommen zu werden, indem sowohl der Kohlenstoff der Weinsäure als auch der Stickstoff des Ammoniaks verwendet werden können. Da diese Verbindung ausserdem in Wasser leicht löslich als auch selbst in minimalen Quantitäten noch nachweisbar ist, so benutzte ich dieselbe um das Verhalten der Stärke bei ihrer Gegenwart zu prüfen. Bei einem zur vorläufigen Orientirung angestellten Versuche, in welchem einige feste Weizenstärkekörner in ungefähr 10 ccm destillirten Wassers, welches ausser den Aschenbestandtheilen etwas weinsaures Ammoniak gelöst enthielt, gebracht waren, ergab die nach drei Tagen ange-

stellte mikroskopische Prüfung eine überaus zahlreiche Vermehrung der Bacterien¹⁾, zugleich liess sie die meisten Stärkekörner, in den ersten Stadien der Corrosion befindlich, erkennen. Die von den Stärkekörnern abfiltrirte und neutral gewordene Lösung (das weinsaure Salz reagirt schwach sauer) ergab auf Zusatz von CaCl_2 nicht einmal eine Trübung, auch waren in ihr mikroskopisch Krystalle von Calciumtartrat nicht nachweisbar, wodurch also auf das Sicherste die Abwesenheit und damit in unserem Falle der Verbrauch der Weinsäure constatirt war. Aus diesem Versuche geht wenigstens das hervor, dass die Weinsäure eine bessere Kohlenstoffnahrung ist als die Weizenstärke, da, ausser dass dieselbe zuerst verbraucht war, auch die stärkere Vermehrung der Bacterien zu ihren Gunsten spricht.

Es wurden hierauf am 11. November Vormittags folgende Parallel-Versuche angestellt:

A) 0,01 gr. Nährsalz werden in 10 cbcm. destillirten Wassers gelöst, hierauf 0,1 gr. Weizenstärke und 1 Bacterientropfen zugesetzt:

B) 0,01 gr. Nährsalz werden in 10 cbcm. destillirten Wassers gelöst, hierauf 0,1 gr. weinsaures Ammoniak und die gleiche Menge Weizenstärke hinzugefügt. Ebenfalls 1 Bacterientropfen.

C) 0,01 gr. Nährsalz werden in 10 cbcm. destillirten Wassers gelöst, dem dann 0,1 gr. eines aus einer Hefecultur durch Zusatz von Alkohol erhaltenen Eiweissniederschlages, sowie 0,1 gr. Weizenstärke zugefügt werden. Auch dieses Gemenge erhält 1 Bacterientropfen.

Jede Mischung wird im verkorkten Reagenscylinder im Zimmer bei gewöhnlicher Temperatur aufbewahrt.

Am 14. November Vormittags konnten bei A) schwache Vermehrung der Bacterien, sowie zugleich die ersten Erscheinungen der Corrosion an den Stärkekörnern constatirt werden. (Auftreten von Canälen; bei einigen Körnern auch schon Schichtung der äusseren Ränder). Bei B) waren die Bacterien

¹⁾ Die Zahl der Bacterien war auffallend grösser als in den früheren Versuchen, in denen nur Stärke als Kohlenstoffquelle diente.

viel zahlreicher erschienen; die Stärke war indessen vollständig intact. Bei C) war die stärkste Vermehrung der Bacterien, aber ebenfalls keine Lösungserscheinungen an der Stärke nachzuweisen.

Am 16. November, Vormittags: A) Bacterien nicht zahlreich; starke Corrosionen der Stärkekörner. B) Stärke intact. C) Einzelne Stärkekörner zeigen sich in Auflösung begriffen.

Am 18. November, Vormittags: A) Corrosionen sehr heftig. B) Stärke noch immer vollkommen intact. C) Eine grössere Anzahl von Stärkekörnern ist in Angriff genommen.

Am 21. November, Nachmittags: A) Von den grossen Körnern sind nur noch Skelette vorhanden; die kleinen Körner sind noch intact. B) Stärke noch vollständig intact. Eine abfiltrirte Probe der Mischung, welche, da sie noch schwach sauer reagirt, mit NH_3 neutralisirt wird, zeigt auf Zusatz von CaCl_2 noch eine weisse Fällung. Es ist also immer noch Weinsäure vorhanden. C) Lösung der Stärkekörner vorgeschritten.

Am 28. November, Nachmittags: A) Alle grossen Stärkekörner vollständig verschwunden; auch die kleinen Körner sind jetzt etwas angegriffen. Es macht sich in der Flüssigkeit ein deutlicher Geruch nach Phenol bemerkbar. B) Einzelne Stärkekörner zeigen Lösungserscheinungen. Die Flüssigkeit reagirt jetzt neutral und zeigt keine Weinsäurereaction mehr. C) Starke Corrosionen der grossen Körner.

Dieser Versuch lehrt uns, dass wenn leichter aufnehmbare Kohlenstoffverbindungen vorhanden sind, (B und C) die Stärke dann später angegriffen wird, als wenn sie allein den Kohlenstoff zu liefern hat. Wie Nägeli¹⁾ nachgewiesen hat, ist Eiweiss an sich ein besseres Nährmaterial als das weinsäure Ammoniak. Unser Versuch bestätigt dies vollkommen; wir sehen wie bei C die stärkste Vermehrung der Bacterien stattgefunden hat. Demzufolge musste auch hier die Stärke

¹⁾ Nägeli: Ernährungsschemismus der niederen Pilze. Nachtrag zur Sitzung der math.-phys. Classe der bayrischen Academie der Wissenschaften vom 5. Juli 1879.

früher in Angriff genommen werden als bei B, wo die Corrosionen der Stärkekörner am spätesten auftraten, und wieder erst dann, nachdem die Weinsäure gänzlich verbraucht war.

Folgender Versuch wurde nun speciell zur Untersuchung des Verhaltens der Weinsäure in Bezug auf die Stärke angestellt; es wurden in demselben gleiche Mengen von fester Stärke mit wechselnden Quantitäten weinsauren Ammoniaks zusammengebracht. — Das Wasser enthielt immer 1‰ Nährsalz.

A) 0,1 gr. weinsaures Ammoniak. 0,025 gr. Weizenstärke und 10 cbcm. aq. dest.

B) 0,05 gr. weinsaures Ammoniak. 0,025 gr. Weizenstärke und 10 cbcm. aq. dest.

C) 0,025 gr. weinsaures Ammoniak. 0,025 gr. Weizenstärke und 10 cbcm. aq. dest.

Jeder Mischung wurde 1 Bacterientropfen zugefügt, und Alles in den Wärmekasten gebracht. Beginn des Versuches am 1. Dezember, Vormittags.

Am 3. Dezember war die Stärke noch überall intact, die Bacterien hatten sich stark vermehrt. Am 4. Dezember war die Stärke noch nirgends angegriffen. In jeder Mischung war noch Weinsäure nachweisbar. Am 5. Dezember wurden die gleichen Resultate erhalten; bei A und B zeigte sich die Weinsäure fast verbraucht, bei B konnte nicht einmal durch CaCl_2 eine Trübung der Flüssigkeit mehr erhalten werden. Nur mikroskopisch waren in der in einem Uhrgläschen befindlichen Probe vereinzelt Krystalle von Calciumtartrat nachweisbar.

Am 6. Dezember waren nun bei A und B an den Stärkekörnern Spuren einer bereits stattgefundenen Lösung bemerkbar. Bei C waren die Stärkekörner noch intact, die Weinsäure aber auch noch wenngleich schwach nachweisbar. Am 7. Dezember zeigten alle drei Proben Lösungen der Stärkekörner, und zwar bei A und B ziemlich stark; es traten hier schon die bekannten Schichtungen auf, während an der Stärke in C tiefe Canäle bemerkbar waren.

Dieser Versuch ist sehr instructiv, insofern er uns zeigt, dass, solange auch nur noch eine Spur von Wein-

säure neben der Stärke vorhanden ist, diese Letztere von den Bacterien nicht im Mindesten angegriffen wird; dass aber nach dem Verschwinden jener leichter aufnehmbaren Verbindung an der Stärke sofort die Erscheinungen der Lösung sichtbar werden.

Es liegt hier ein ähnlicher Fall von Wahlvermögen vor, wie er von Pasteur bei der Traubensäure nachgewiesen werden konnte: während die rechtsdrehende Weinsäure zuerst von den Pilzen aufgenommen wird, bleibt die linksdrehende noch in der Flüssigkeit zurück. Jetzt werden uns aber auch die Fälle klar, in denen trotz der Gegenwart zahlreicher Bacterien dennoch keine Corrosionen an Stärkekörnern auftraten; ich meine die bereits beschriebenen Versuche mit der Hefe, den Kartoffelscheiben und Bohnensamen. Bei der Hefe hatten die Bacterien offenbar in den von derselben ausgeschiedenen Eiweissstoffen eine viel günstigere Kohlenstoffquelle als in der Stärke angetroffen und Letztere daher unberührt gelassen; in den beiden anderen Fällen standen den Bacterien ebenfalls Proteinstoffe zur Disposition, daher das nämliche Resultat. Auf die Ursachen dieses Verhaltens der Bacterien werde ich an einer späteren Stelle näher eingehen.

Sind nun die Bacterien im Stande, auch bei Sauerstoffabwesenheit ihren Einfluss auf die Stärke geltend zu machen? Mehrere Versuche, welche in Bezug auf diese Frage angestellt wurden, ergaben übereinstimmend ein negatives Resultat, sie liessen erkennen, dass wenn die Gegenwart atmosphärischer Luft ausgeschlossen ist, keine Corrosionen an den Stärkekörnern auftreten. Die Versuche wurden alle nach derselben Methode ausgeführt, ich theile deshalb nur einen Versuch mit, aus welchem Methode und Resultat ersichtlich sind: In 50 gr. destillirten Wassers wurden 0,1 gr. Nährsalz gelöst und die erhaltene Lösung sodann, um die von ihr absorbirte Luft auszutreiben, längere Zeit gekocht. Noch während die Flüssigkeit im Sieden befindlich war, wurde das dieselbe enthaltende Gefäss fest verkorkt und langsam abgekühlt. Hierauf wurden 0,1 gr.

fester Weizenstärke, sowie 2 Bacterientropfen schnell mit der Flüssigkeit vermischt, und dieselbe in drei Theile getheilt; zwei von denselben wurden je einer in eine Absorptionsröhre gebracht, die mit Quecksilber angefüllt, und umgekehrt in ein ebenfalls mit Quecksilber gefülltes Sperrgefäß getaucht wurde. Der dritte Theil der Mischung blieb in einem größeren, Luft enthaltenden Gefässe daneben stehen. Die Temperatur war die des geheizten Zimmers, also 18–20° C. Schon nach drei Tagen in diesem Versuche (bei anderen etwas später) liessen die Stärkekörner des mit Luft in Berührung befindlichen Theiles der Mischung deutlich Corrosionen erkennen, während zugleich eine Vermehrung der Bacterien zu constatiren war. Eine kleine, aus einer der Absorptionsröhren herausgenommenen Probe zeigten die Stärkekörner noch vollkommen intact. Auch nach weiteren drei Tagen war an den Stärkekörnern, welche sich in beiden Absorptionsröhren befanden, noch keine Spur von Corrosion zu erkennen, während die andere Stärke sehr heftig angegriffen war. Auch wenn statt fester Stärke die lösliche Stärke verwendet wurde, zeigten sich die Bacterien, wenn die atmosphärische Luft abgehalten wurde, ohne Einfluss.

Nachdem wir somit die Wirkung der Bacterien auf die Stärke und die Bedingungen unter denen diese Wirkung ausgeübt werden kann, kennen gelernt haben, würde jetzt die Aufgabe an uns herantreten, die Natur dieses Processes zu ermitteln. Wird, so haben wir uns zu fragen, die Lösung der Stärke von den Bacterien dadurch bewerkstelligt, dass dieselben ein ungeformtes, wie Diastase wirkendes Ferment absondern, oder aber liegen den Lösungserscheinungen andere Ursachen zu Grunde, und welche? Der Umstand, dass die dem Einfluss der Bacterien ausgesetzten Stärkekörner genau dieselben Erscheinungen der Corrosion, sowohl im Anfang als auch im Verlauf zeigen, welche durch Einwirkung der Diastase auf die Stärkekörner sowohl in der lebenden Pflanze als auch auf künstlichem Wege zum Vorschein gebracht werden, lässt vermuthen, dass auch in diesem Falle die Lösung durch eine wie Diastase wirkende Substanz verur-

sacht wird. Gestützt wird diese Vermuthung noch dadurch, dass wir sehen, wie auch von den Bacterien die verschiedenen Stärkesorten mit ungleicher Geschwindigkeit gelöst werden: die Kartoffelstärke zeigt sich sowohl der Diastase als auch den Bacterien am widerstandsfähigsten, die feste Weizenstärke wird leichter gelöst, Stärkekleister und lösliche Stärke verschwinden am schnellsten.

Zum Nachweis des thatsächlichen Vorhandenseins eines von den Bacterien abgeschiedenen diastasischen Fermentes kann man an zwei Wege denken. Da unter dem Einflusse der Diastase die Stärke in Kupferlösung reducirenden Zucker übergeführt wird, so würde, wenn es uns gelänge, durch Behandeln der Versuchsflüssigkeit mit Fehling'scher Lösung die Bildung von Kupferoxydul hervorzurufen, unsere Vermuthung mit grosser Wahrscheinlichkeit als bestätigt sich erweisen. In der That gelingt es leicht, mittelst Fehling'scher Lösung in den Culturflüssigkeiten die Zuckerreaktion hervorzurufen. Es gelingt leicht, aber nicht immer, wie wir gleich sehen werden. Um den Zucker nachzuweisen, verfuhr ich zunächst folgendermassen: Die bacteriöse Flüssigkeit wurde, nachdem die in ihr enthaltenen Stärkekörner heftig angegriffen und fast vollständig verschwunden waren, durch Filtration von den Stärkeüberresten getrennt und das Filtrat dann sofort nach Zusatz einiger Tropfen Kupferlösung gekocht. Es setzte sich ein Coagulum von eiweissartigen Stoffen zu Boden, aber es entstand keine rothe Fällung; die Flüssigkeit behielt vollkommen ihre durch das Kupfer erhaltene blaue Färbung bei. Auch bei mikroskopischer Untersuchung des Bodensatzes waren etwa vorhandene Körnchen von Kupferoxydul nicht wahrzunehmen. Dieses negative Resultat schliesst indessen nicht aus, dass nicht dennoch Zucker gebildet worden sei, nur konnte derselbe in zu geringer Menge vorhanden sein, um nachweisbar zu sein. Es wurden deshalb die Flüssigkeitsmengen mehrerer derartiger Culturen (6, 8, 10 und später 12) zusammengegossen und auf dem Wasserbade langsam aber stark eingeengt. Aber auch nach dieser Manipulation war der Nachweis von Zucker unmöglich.

Stellen wir uns jetzt einmal vor, unter welchen Bedingungen überhaupt Zucker in den Versuchsflüssigkeiten vorhanden sein wird: wir werden nur dann Zucker antreffen können, wenn von einem durch die Bacterien ausgeschiedenen Ferment mehr Zucker aus Stärke gebildet wird, als in der gleichen Zeit von den Bacterien verbraucht wird. Da wir nun gesehen haben, wie bei Anwendung von fester Stärke der Prozess der Auflösung sehr langsam verläuft, so können in diesem Falle Bildung und Verbrauch von Zucker gleich schnell erfolgen, und wir sind in Folge dessen nicht im Stande Zucker nachzuweisen. Wir müssen daher die lösliche Stärke zur Hülfe nehmen; denn wir sahen wie von allen Stärkearten sie am schnellsten dem Verbräuche unterliegt. Mehrere Culturen mit löslicher Stärke wurden daher so lange stehen gelassen, bis auf Zusatz von Jodlösung entweder gar keine oder nur schwach rothe Färbung eintrat. Dann wurden die Flüssigkeiten zusammengegossen, einige Male filtrirt und die etwa noch vorhandenen Stärkemengen, sowie die in der Flüssigkeit gelösten, von den Bacterien abgeschiedenen eiweissartigen Substanzen durch grosse Mengen absoluten Alkohols niedergeschlagen. Der Niederschlag wurde sodann durch Filtration gesammelt, das Filtrat auf dem Wasserbade stark eingeengt und mit Fehling'scher Lösung versetzt. Beim Kochen entstand jetzt jedesmal eine starke Fällung von Kupferoxydul.

Allein ein ganz sicherer, überzeugender Nachweis für die Existenz eines ungeformten Fermentes ist hierdurch doch noch nicht geliefert, da ja die Stärke immer noch auf andere Weise als durch Diastase in Zucker umgewandelt sein könnte¹⁾. Evident aber würde der Beweis geführt sein, wenn der in Wasser gelöste Alkoholniederschlag der Versuchsflüssigkeit dieselbe Wirkung auf Stärkekörner ausüben würde wie die Diastase.

¹⁾ Ich erinnere nur an die bekannte Thatsache, dass man durch Kochen mit verdünnten Säuren ebenfalls Stärke in Zucker umsetzen kann. Wenn auch nicht durch Säuren, so könnten doch durch andere Mittel als gerade durch Ferment die Stärke von den Bacterien umgewandelt werden.

Ehe ich zur Ausführung diesbezüglicher Versuche schritt, war ich mir indessen wohl bewusst, dass ich auf dem Wege der Alkoholbehandlung nicht sofort und immer günstige Resultate würde erzielen können, da nach den Erfahrungen, dass die durch Bacterien hervorgerufene Lösung der Stärkekörner verhältnissmässig doch nur langsam vor sich geht, vorauszusehen war, dass, falls sie überhaupt vorhanden waren, nur ganz minimale Quantitäten diastatischer Substanz in der Flüssigkeit auftreten mussten, deren Wirkung nur auf Umwegen wahrgenommen werden konnte. Die Versuche bestätigten diese Voraussetzung vollkommen; ich theile dieselben dennoch in der Reihenfolge, wie ich sie anstellte mit, weil hieraus zugleich die Umstände ersichtlich sind, unter welchen das Ferment nicht nachweisbar und unter welchen dasselbe nachweisbar ist.

Zunächst operirte ich mit fester Weizenstärke.

Eine bestimmte Menge derselben wurde in eine Nährlösung von bekannter Concentration gebracht und ein Bacterientropfen hinzugefügt. Die Mischung blieb dann jedesmal so lange stehen, bis die Stärkekörner in sehr vorgeschrittenen Stadien der Corrosion sich befanden. Durch Filtration wurden jetzt die Stärkekörner und der grösste Theil der Bacterien von der Flüssigkeit abgesondert, und letztere darauf mit grossen Mengen absoluten Alkohols versetzt. Hierdurch wurde eine starke weisse Trübung hervorgerufen, welche sich nach einiger Zeit als amorpher, flockiger Niederschlag allmählich zu Boden setzte. Jetzt wurde abermals filtrirt: der Niederschlag, welcher den Rückstand bildete, in destillirtem Wasser gelöst¹⁾, zum zweiten Male mit Alkohol gefällt, nochmals filtrirt und der Rückstand wieder mit geringen Mengen destillirten Wassers aufgenommen. Dieser nun in Lösung befindliche Niederschlag bestand natürlich zum grössten Theil aus eiweissartigen Substanzen; ich habe es jedoch stets

¹⁾ Bei der ersten Behandlung mit Alkohol werden auch die durch das Filter hindurchgegangenen Bacterien mit niedergeschlagen; bei der Behandlung dieses Niederschlages mit Wasser bleiben sie jedoch zurück, und werden auf diese Weise eliminirt.

vermieden, dieselben von dem eventuell vorhandenen Ferment zu trennen, aus dem besagten Grunde, weil diese Fermentmengen nur ganz gering ausfallen könnten, und ich vor allen Dingen darauf Bedacht zu nehmen hatte, dass mir auch nicht eine Spur hiervon verloren gieng. Es tritt hier ferner noch der üble Umstand ein, dass die Wirkung eines Fermentes durch die Behandlung mit Alkohol immer geschwächt wird. Die erwähnte Lösung des Alkoholniederschlags wurde nun mit kleinen Quantitäten fester Weizenstärke versetzt, und in einem verkorkten Reagenscylinder in den Wärmekasten gebracht. In den meisten Fällen konnte ich auf diese Weise nach ein paar Tagen zwar an den Stärkekörnern Corrosionserscheinungen bemerken, allein hierbei zeigte sich auch jedesmal, dass in der Versuchsflüssigkeit Bacterien aufgetreten waren, so dass dieselben ebenso gut die Ursache der Lösung gewesen sein konnten, als ein etwa gleichzeitig vorhandenes Ferment. Durch diese Art der Versuchsanstellung war also der sichere Nachweis eines Fermentes nicht möglich. Da, wie wir gesehen haben, gleiche Mengen löslicher Stärke von den Bacterien in kürzerer Zeit umgewandelt werden als feste Stärke, so musste bei Anwendung von Stärkelösung ein eventuell ausgeschiedenes Ferment dementsprechend auch durch Behandlung auf die angegebene Weise seine Wirkung auf die Stärkekörner früher erkennen lassen. Ich stellte mir daher Alkoholniederschläge aus Culturen mit löslicher Stärke dar, löste diese Niederschläge ebenfalls in Wasser und fügte einige Stärkekörner zu. Bei dieser Methode zeigten sich die Stärkekörner immer früher und verhältnissmässig stärker corrodirt, meistens waren schon nach 36 Stunden (die Culturegefässe befanden sich im Wärmekasten) Corrosionserscheinungen an den Stärkekörnern wahrzunehmen. Allein auch hier trat der Uebelstand ein, dass in den Lösungen stets Bacterien erschienen. Wenn nun auch die Anzahl dieser Bacterien zur Zeit als die Corrosionen sichtbar wurden, nur äusserst gering war, und wenn wir auch nach den gemachten Erfahrungen anzunehmen haben, dass diese Bacterien ihren Kohlenstoffbedarf zunächst von

den in der Flüssigkeit mit vorhandenen eiweissartigen Stoffen bezogen haben, und daher noch nicht nach so kurzer Zeit auf die Stärke gewirkt haben können, so dürfen doch, obwohl die Wahrscheinlichkeit, dass den Lösungserscheinungen der Stärkekörner die Wirkung eines ungeformten Fermentes zu Grunde lag, eine sehr grosse geworden ist, immerhin auch diese Versuche noch nicht exact genannt werden. Wir müssen, um überzeugende Resultate zu erhalten, die Versuche so einrichten, dass das nachherige Auftreten von Bacterien, resp. ihre Wirkung vollkommen verhindert wird.

Da wir nun constatirt haben, dass bei Ausschluss der atmosphärischen Luft die Bacterien nicht im Stande sind, auf Stärke einzuwirken, so können wir jetzt, um zum Ziele zu gelangen, diese Eigenschaft der Bacterien benutzen. Wenn wir die zu prüfende Lösung mit Stärkekörnern vermischt über Quecksilber verweilen lassen, so ist, wenn auch immerhin dennoch einige Bacterien hineingerathen sein sollten, ihre Wirkung auf die Stärke vernichtet, und wir werden vollkommen berechtigt sein, die jetzt auftretenden Corrosionserscheinungen der Stärkekörner als durch Ferment hervor gebracht, zu betrachten.

Versuch: Die Flüssigkeitsmengen von sechs Culturen mit löslicher Stärke werden zusammengewaschen, einige Male filtrirt und dann mit absolutem Alkohol behandelt. Der entstandene Niederschlag wird auf einem Filter gesammelt, zur Verdunstung des Alkohols eine kurze Zeit an der Luft liegen gelassen und in einer kleinen Menge frisch ausgekochten Wassers gelöst. Dieser Lösung werden einige Weizenstärkekörner zugefügt und dieselbe in einer Absorptionsröhre durch Quecksilber von der Atmosphäre abgeschlossen. Als Resultat stellte sich heraus, dass nach 6-tägiger Versuchsdauer die Stärkekörner noch vollkommen intact waren. Mehrere andere, in der gleichen Weise angestellte Versuche, von denen einer 1½ Wochen andauerte, ergaben das nämliche: keine Einwirkung auf feste Stärke. Aber auch jetzt, nach diesen abweisenden Resultaten, wollen wir uns erinnern, dass die feste Weizenstärke zwar in Bezug auf

andere Stärkesorten relativ schnell angegriffen wird, allein der Zeitpunkt, an welchem an ihr die Corrosionen in Erscheinung treten, bei den Culturen mit Bacterien immerhin erst nach einigen Tagen eintritt.

Und wenn nach den gemachten Erfahrungen der zu prüfende Niederschlag keine Lösung an der festen Stärke hervorzurufen vermag, so kann das seinen Grund ausser in der bereits erwähnten durch Alkoholbehandlung geschwächten Wirkung des Fermentes, noch darin haben, dass die Stärkekörner der Einwirkung des Fermentes, welches, wie wir gesehen haben, auch nur in äusserst minimalen Quantitäten in Anwendung kommen konnte, auf zu lange Zeit einen zu grossen Widerstand bieten. Wir müssen daher auch hier wieder zur löslichen Stärke zurückgreifen und versuchen, ob wir bei ihrer Anwendung im Stande sind, uns die gesuchten Erscheinungen vor Augen zu führen. Selbstverständlich haben wir in diesem Falle die Wirkung des Fermentes aus der Umwandlung der Stärke in Zucker zu erschliessen.

Versuch: Die Flüssigkeitsmengen von sechs Culturen mit löslicher Stärke, in denen Jodlösung nur noch schwach rothe Färbung hervorruft, werden zusammengegossen, einige Male filtrirt, mit Alkohol behandelt und der Niederschlag, in welchem nur noch der Rest der angewendeten löslichen Stärke enthalten war, nach Verflüchtigung des ihm noch beigemischten Alkohols mit etwas frisch ausgekochtem, destillirten Wasser aufgenommen. Das etwa vorhandene Ferment trat hierdurch in Lösung, nicht aber der Rest der löslichen Stärke¹⁾, welcher in fein vertheiltem Zustand in der Lösung suspendirt blieb. Eine Probe dieses Gemisches wird auf Zuckergehalt untersucht: es tritt keine Reaction ein. Das Versuchsgemisch war also frei von Zucker, wenigstens von nachweisbaren Mengen; dasselbe wurde nun in eine Absorptionröhre gebracht und durch Quecksilber von der atmosphärischen Luft abgesperrt. Nach Verlauf von drei Tagen wurde der Versuch sistirt, das Gemisch filtrirt, und das

¹⁾ Die lösliche Stärke geht erst beim Erwärmen des Wassers auf etwa 60° C. in Lösung.

Filtrat mit einigen Tropfen Fehling'scher Lösung behandelt: Es trat eine starke Kupferreduction in die Erscheinung.

Sofort wurde ein neuer Versuch derselben Art in Scene gesetzt und bereits, nachdem die Mischung nur 24 Stunden in der Absorptionsröhre verweilt hatte, eine Probe herausgenommen und auf ihren Zuckergehalt untersucht: An den Wänden der Probirröhre trat ein roth-brauner Anflug auf, und mikroskopisch liessen sich in dem sich absetzenden Bodensatze kleine roth-braune Körnchen von Kupferoxydul erkennen. Nach Verlauf weiterer 24 Stunden wurde eine zweite Probe untersucht: hier stellte sich schon ein deutlicher rother Niederschlag ein; ein Zeichen, dass die Stärkeumbildung im Fortschreiten begriffen war. 48 Stunden hier-nach wurde der Rest untersucht, bei welchem eine starke Fällung von Kupfer erhalten wurde.

Bei einem ferneren Versuche wurde die Modification getroffen, dass nicht eher ein Alkoholniederschlag in der Versuchsflüssigkeit hervorgerufen wurde, als bis dieselbe auf Zusatz von Jodlösung anzeigte, dass sämtliche Stärke verbraucht war. Diesem Niederschlag, der also von vornherein keine Stärke enthielt, wurde erst nach seiner Lösung in Wasser, frische lösliche Stärke beigemengt. Nach 3-tägigem Verweilen über Quecksilber waren in der Mischung auch in diesem Falle relativ erhebliche Mengen von Zucker gebildet worden.

Diese Versuche haben also den sicheren Nachweis geliefert, dass die Bacterien auf Stärke in der Weise einwirken, dass sie ein Ferment ausscheiden, welches an und für sich auch im Stande ist, bei Sauerstoffabwesenheit zu wirken und sich genau so wie die Diastase verhält, indem es die Stärkesubstanz in Zucker umwandelt. Wird nun, dies ist eine nächstliegende Frage, dieses Ferment von den Bacterien zu jeder Zeit gebildet? Ist es immer da vorhanden, wo Bacterien in normaler Weise zu existiren vermögen? In den Fällen, in welchen den Bacterien ausser den Stärkekörnern auch noch Eiweissstoffe zur Verfügung standen, sahen wir

wie die Stärkekörner nicht angegriffen wurden. Da wir nun wissen, dass die Diastase auf Eiweisskörper ohne Einfluss ist, so scheint der Schluss berechtigt, dass die Bacterien ihr stärkeumbildendes Ferment nur dann erzeugen und ausscheiden, wenn sie eben nur auf Stärke angewiesen sind. Allein gegen diese Annahme könnte mit Recht der Einwand geltend gemacht werden, dass dieses auf Stärke einwirkende Ferment der Bacterien, da seine Identität mit der Diastase noch nicht festgestellt ist, zugleich mit der Fähigkeit ausgerüstet sein könne auf Eiweissstoffe zu wirken, und daher vielleicht zuerst peptonisirend und darauf diastatisch wirken würde. Dieser Einwand würde noch geschützt werden durch die Erfahrung, dass es in der That ein Ferment giebt, nämlich das Emulsin, welches befähigt ist, verschiedene Körper zu zerlegen¹⁾. Wir müssen uns daher die Ueberzeugung verschaffen, dass in dem Falle, in welchem die Bacterien Eiweissstoffe vorfinden, kein Ferment von ihnen gebildet wird, welches Stärke in Zucker umwandeln kann, ferner dass dann, wenn die Bacterien auf Stärke corrodirend wirken, keine mit peptonisirender Eigenschaft begabte Substanz in der Versuchsflüssigkeit vorhanden ist. Der Nachweis hierfür lässt sich durch folgende Versuche liefern: Wenn man in den bereits beschriebenen, mit Kartoffelscheiben als Substrat, erhaltenen Bacterienculturen durch Alkohol einen Niederschlag erzeugt und denselben darauf mit destillirtem Wasser aufnimmt, so bleibt diese Lösung, wenn man durch Absperrn über Quecksilber dafür Sorge trägt, dass keine Bacterien sich einstellen, absolut ohne Einwirkung, sowohl auf Stärkekörner als auch auf Stärkekleister oder gelöste Stärke. Wenn man im anderen Falle sich Niederschläge aus Bacterienculturen in löslicher Stärke verschafft, so sind die Lösungen dieser Niederschläge (wenn sie ebenfalls durch Quecksilber von der Atmosphäre abgesperrt werden) wiederum nicht im Stande,

¹⁾ Allerdings sind diese Körper chemisch nicht so different, wie es Eiweiss und Stärke sind, da sie alle in die Kategorie der Benzolglucoside gehören und auch ihre durch Emulsin bewirkten Spaltungen alle das Gemeinsame haben, dass Zucker ($C_6H_{12}O_6$) gebildet wird.

auch in ganz geringer Menge hinzugesetztes, frisches Fibrin zu lösen, während dieselben Lösungen nachher auf Zusatz von etwas löslicher Stärke nach einiger Zeit Zucker enthalten. Wir sehen also, dass in der That den Bacterien die höchst merkwürdige Eigenschaft zukommt, nur dann ein stärkeumbildendes Ferment zu erzeugen, wenn ihnen ausser der Stärke keine andere benutzbare Kohlenstoffquelle zu Gebote steht.

Hiermit im Einklange steht auch die von uns constatirte Thatsache, dass bei Gegenwart von Weinsäure in stärkehaltiger Versuchsflüssigkeit, von den Bacterien ebenfalls kein diastatisches Ferment abgegeben wird. Wir sehen ferner, dass diesem stärkeumbildenden Fermente nicht die Fähigkeit zukommt, Eiweiss in Pepton zu verwandeln, dass es also auch in dieser Beziehung sich genau wie die Diastase verhält¹⁾.

Bekanntlich wirkt das Pepsin des Magensaftes nur in einem sauren Medium; die aus Pflanzen gewonnenen Lösungen, welche diastatische Wirkung zeigen, besitzen ebenfalls immer eine bald mehr oder weniger saure Reaction, so dass auch für die Diastase, wie Baranetzky annimmt, die Mitwirkung einer Säure eine ganz nothwendige Bedingung zu sein scheint²⁾.

Da nun die Bacterien auch in neutralen Lösungen gedeihen, so legte ich mir die Frage vor, ob in diesem Falle die Bacterien überhaupt im Stande seien diastatisches Ferment

¹⁾ Wenn von Gorup-Besanez in einigen Samen diastatische und peptonisirende Fermente zugleich vorfand, so waren hier eben zwei verschiedene Fermente vorhanden, und nicht ein einziges Ferment, welches mit jenen zwei Eigenschaften zugleich ausgerüstet ist. Die Richtigkeit unserer Ansicht, nach welcher ein diastatisches Ferment nicht peptonisirend und umgekehrt ein peptonisirendes Ferment nicht diastatisch wirkt, ergibt sich mit Evidenz aus den eben mitgetheilten Versuchen. Nach unserer Anschauung können aber auch jene Fermente niemals in einander umgewandelt werden, wie es Baranetzky für wahrscheinlich hält.

²⁾ Loc. cit., S. 39.

auszuscheiden und ob, bei etwa erfolgender Fermentbildung nicht, wenn auch minimale Säuremengen zugleich mit ausgeschieden würden. Ich richtete zu dem Zwecke mehrere Culturen an, in welchen den Bacterien nur gelöste Stärke als Kohlenstoffquelle geboten wurde. Die Lösungen reagirten, da unter den in ihnen enthaltenen Aschenbestandtheilen auch saures phosphorsaures Ammoniak sich befand, schwach sauer. Es wurde nun vor Beginn des Versuchs, also vor Hinzufügung des Bacterientropfens, so lange Ammoniaklösung hineingetropt, bis sehr empfindliche Lackmustinctur vollkommen und genau neutrale Reaction anzeigte. Der Verlauf des Versuches wurde durch Behandlung mehrerer, der Flüssigkeit nach einander entnommenen Proben mit Jodlösung controlirt, wobei sich herausstellte, dass nach einigen Tagen die Stärke verschwunden war, die Bacterien sich reichlich vermehrt hatten, aber die Flüssigkeit noch genau neutral reagirte. Auch Versuche, in denen statt der gelösten Stärke, feste Weizenstärke verwendet wurde, waren stets von demselben Resultat begleitet: Die Versuchsflüssigkeit war vor wie nach neutral. Hieraus ist also ersichtlich, dass die Bacterien auch in vollkommen neutraler Lösung das diastatische Ferment abscheiden.

Bei allen diesen Versuchen ging übrigens der Prozess der Stärkeumbildung entschieden langsamer vor sich als bei den früheren, mit schwach sauren Lösungen angestellten: erst nach 7 Tagen war, bei Anwendung von löslicher Stärke, im günstigsten Falle, die Umbildung derselben vollendet. Es scheint deshalb auch mir sehr wahrscheinlich, dass das einmal ausgeschiedene Ferment bei Gegenwart einer genügenden Säuremenge energischer wirkt; diese Säuremengen können jedoch minimal sein, wie das auch der Fall war in allen anderen von mir verwendeten Versuchsflüssigkeiten. Wie Detmer¹⁾ vor einiger Zeit nachgewiesen hat, sind Zusätze

¹⁾ Detmer: Ueber Fermente der Pflanzen und über die Wirkung einiger Gifte auf Pflanzenzellen. (Separat-Abdruck aus den Sitzungsberichten der Jena'schen Gesellschaft für Medizin und Naturwissenschaft, Jahrgang 1881).

von kleinen Quantitäten Citronensäure zu einer Lösung von Diastase im Stande den Verlauf der Stärkeumbildung beschleunigend zu beeinflussen, und zwar wächst der Einfluss bis zu einer bestimmten Concentration des Säurezusatzes, über welche hinaus die Wirkung der Säure wieder geschwächt wird. Meine Versuche stehen insofern im Einklang mit diesen Beobachtungen, als auch sie zeigen, dass die Gegenwart geringer Säuremengen auf den fermentativen Prozess beschleunigend wirkt; allein meine Versuche zeigen noch weiter, dass das diastatische Ferment im Stande ist, auch ohne Beihülfe von Säure die Umwandlung der Stärke zu bewerkstelligen, und dass die Bacterien keine Säure an die neutrale Flüssigkeit abgeben.

Da der experimentelle Theil unserer Aufgabe hiermit erledigt ist, so will ich der Uebersicht wegen die erhaltenen Resultate nach der Reihenfolge, in der sie mitgetheilt wurden, noch einmal kurz anführen, um sodann an der Hand derselben auf einige allgemeine Erörterungen über die gemachten Beobachtungen einzugehen.

Ergebnisse:

- 1) Die Bacterien sind im Stande, sowohl an Stärkekörnern als auch an Stärkekleister und gelöster Stärke dieselben Veränderungen zu bewirken, wie sie von der Diastase hervorgerufen werden.
- 2) Verschiedene Stärkesorten werden von den Bacterien (wie von der Diastase) mit verschiedener Geschwindigkeit gelöst.
- 3) Die Bacterien üben ihren Einfluss auf die Stärke jedoch nur dann aus, wenn ihnen ausser derselben keine andere benutzbare Kohlenstoffverbindung zu Gebote steht, und zugleich der Zutritt der atmosphärischen Luft nicht verhindert ist.
- 4) Die Wirkung der Bacterien auf die Stärke wird hervorgerufen durch ein von denselben zu diesem Zwecke ausgeschiedenes Ferment, welches wie die Diastase durch Alkohol fällbar und in Wasser löslich ist.

- 5) Dieses ausgeschiedene Ferment wirkt nur diastatisch, d. h. es wandelt die Stärke in eine Kupferoxyd reducirende Zuckerart um; es wirkt nicht peptonisirend.
- 6) Das Ferment an sich ist im Stande auch bei Sauerstoffabwesenheit seinen Einfluss auf die Stärke geltend zu machen.
- 7) Das Ferment wird auch in neutralen, stärkehaltigen Lösungen von den Bacterien abgeschieden und äussert auch unter diesen Bedingungen seine Wirkung.
- 8) In schwach sauren Lösungen wird die Wirkung des Fermentes beschleunigt.

Wie schon im Verlauf der Untersuchungen vielfach angedeutet wurde, macht sich bei dem von den Bacterien producirt^{en} stärkeumbildenden Fermente, sowohl in der Art und Weise als auch in den Bedingungen der Wirkung eine auffallende Uebereinstimmung mit der Diastase bemerkbar. Wir sahen wie durch seinen Einfluss genau dieselben Erscheinungen der Corrosion an den Stärkekörnern auftraten, wie sie durch die Diastase hervorgerufen werden, wir sahen ferner, dass auch das Bacterienferment verschiedene Stärkesorten mit verschiedener Geschwindigkeit löst und dass dieser Lösungsprozess ebenfalls eine Saccharification der Stärke ist, dessen Verlauf durch Gegenwart geringer Säuremengen in der gleichen Weise beschleunigt wird, wie es bei der Diastasewirkung der Fall ist; wir sahen endlich, dass unserem Fermente nur diastatische, aber keine peptonisirende Wirkung zukommt, so dass es sich auch in dieser Hinsicht genau so verhält wie das Malzferment. Es kann daher nach dem Gesagten kein Zweifel mehr herrschen, dass wir es mit einem specifisch diastatischen Fermente zu thun haben. Unsere Beobachtungen, dass dieses diastatische Ferment durchaus nicht immer, sondern nur in ganz bestimmten Fällen von den Bacterien producirt wird, können nun dazu dienen, uns einigermaßen Aufschluss über einige bis jetzt noch nicht klar

gelegte Vorgänge des pflanzlichen Stoffwechsels zu geben. Betrachten wir zunächst einmal die Bacterien in ihrem Verhalten in verschiedenen Culturmedien. Der denkbar günstigste Nährboden für diese Organismen ist offenbar das Eiweiss; in allen eiweisshaltigen Lösungen beobachten wir stets ausserordentlich üppige Bacterienvegetation und dementsprechend schnell vor sich gehende Zersetzung, welche in erster Linie angeregt wird durch das in diesem Falle von den Bacterien reichlich ausgeschiedene peptonisirende Ferment.

So lange die Bacterienzelle sich also unter diesen Verhältnissen befindet, müssen in dem Protoplasma derselben ganz bestimmte moleculare Umlagerungen stattfinden, die unter Anderem auch stets dahin führen, dass immer eine bestimmte stickstoffhaltige Verbindung, nämlich das peptonisirende Ferment gebildet wird, welches, da es in Wasser leicht löslich ist und durch die Membran der Bacterienzelle diffundiren kann nun ausserhalb des Organismus zu Gunsten desselben thätig ist. Je schneller dieses Ferment wirkt, desto reichlicher stehen den Bacterien aufnehmbare Substanzen zu Gebote, desto besser können sie sich ernähren, desto schneller vermehren, und die Folge hiervon ist wieder eine gesteigerte Production von Ferment. Anders gestalten sich diese Vorgänge, wenn die Zusammensetzung der Nährstoffe eine andere ist. Bringen wir die Bacterien in eiweissfreie Stärkelösungen, so wird kein peptonisirendes Ferment gebildet, die Umlagerungen in Protoplasma müssen jetzt verändert worden sein; statt der früheren Verbindung wird eine andere, vorher nicht vorhandene, chemisch differente, mit anderen Eigenschaften versehene erzeugt, die Diastase, welche nun für den Organismus im gleichen Sinne wirkt, insofern sie ebenfalls direkt nicht aufnehmbare Substanzen in lösliche, diffusionsfähige verwandelt. Je nach der Zusammensetzung des Nährbodens sind also die intramolecularen Vorgänge im Protoplasma verschieden. Die im Protoplasma vor sich gehenden Dissociationen, welche die Entstehung von zur Zellstoffbildung geeignetem Material, von Fett etc. zur Folge haben, sowie diejenigen Dissociationen, welche den Athmungs-

erscheinungen zu Grunde liegen, können hierbei in allen Fällen in derselben Weise zu Stande kommen, mit der Einschränkung höchstens, dass im Falle üppiger Ernährung der Verlauf der Erscheinungen ein schnellerer ist.

Wie ist nun diese Einwirkung des Substrates auf die Vorgänge im Protoplasma der Bacterien zu verstehen? Ohne Uebertreibung können wir gewiss annehmen, dass in den weitaus häufigsten Fällen, in denen Bacterien einen ihnen zusagenden Nährboden finden, dieser wenigstens geringe Mengen von Eiweissstoffen enthält. Die Thätigkeit der Bacterien wird zunächst also immer auf Produktion von peptonisirendem Ferment hinauslaufen. Gelangen nun die Bacterien ausnahmsweise einmal auf einen eiweissfreien Nährboden, oder aber sind in einem Nährboden die Eiweissstoffe bereits von ihnen verbraucht, so dürfen wir wohl annehmen, dass sie gewohnter Weise vorläufig ebenfalls ihr peptonisirendes Ferment bilden. Da aber jetzt trotzdem bald ein Mangel an aufnehmbaren Nährstoffen eintritt, so werden in Folge hiervon, in dem nun vorhandenen Zustand des Hungers, die Umlagerungen im Protoplasma derart modificirt werden, dass die Bildung eines anderen Fermentes hieraus resultirt, eines Fermentes, welches zunächst nicht einmal Diastase zu sein braucht, sondern vielleicht ein Cellulose lösendes oder ein anderes sein kann. Der Mangel an nöthigen, in das Protoplasma einzutretenden Bestandtheilen ist also als die Ursache der Fermentbildung seitens des Protoplasma anzusehen. Es können, wie wir uns vorstellen, demnach aus dem Protoplasma der Bacterien nacheinander die verschiedensten Fermente erzeugt werden, von denen schliesslich dasjenige, welches gerade brauchbar ist, so lange gebildet wird, als Spaltungen durch dasselbe ausgeführt werden können. Von diesen Gesichtspunkten aus wird es uns klar, wesshalb die Bacterien auf den verschiedenst zusammengesetzten Substraten so lange Zeit vegetiren, so tiefgreifende und so mannigfache Zersetzungen (aber nicht auf einmal sondern nacheinander) hervorbringen können.

Nach unserer Anschauungsweise ist also der in einem gegebenen Augenblicke in einer Zelle vorhandene Vorrath an ernährungstüchtigen Stoffen, sagen wir, um sofort das letzte Glied zu nennen, an Glycose, von Einfluss auf die Vorgänge der intramolekularen Umsetzungen des Protoplasma's: ist keine oder nicht genügend Glycose vorhanden, so werden dieselben dahin verändert, dass jetzt, vielleicht mit anderen zugleich entstehenden Produkten, die Bildung von Ferment erfolgt. Je nach der verschiedenen Construction der Protoplasma-molecüle einer Zelle können dann verschiedene Fermente oder nur immer dasselbe erzeugt werden. Den ersteren Fall repräsentiren uns die Bacterien, zur Illustration des zweiten Falles mag die Hefe angeführt sein, welche, wie auch ich mich durch zahlreiche Versuche überzeugt habe, nur ein einziges Ferment zu bilden befähigt ist, nämlich das Invertin. (Hieraus ist aber zugleich auch ersichtlich, dass die Hefe nur eine ganz beschränkte Anzahl von Nährstoffen benutzen kann: entweder Rohrzucker, Fruchtzucker oder Glycose). Uebertragen wir jetzt unsere bei den niederen Organismen gewonnenen Vorstellungen auf die höher organisirten Pflanzen, so werden uns sofort die Vorgänge der Stofftranslocation und die hierbei auftretenden Erscheinungen der transitorischen Stärkebildung verständlich. Wenn der Embryo sein Wachstum beginnt, so müssen ihm zu diesem Zwecke vor allen Dingen Kohlehydrate zugeführt werden. Diese Kohlehydrate stehen ihm, wie wir wissen, in den Reservestoffen, welche in den Cotyledonen aufgespeichert sind, zur Disposition. Da diese Reservestoffe aber in fester Form vorhanden sind, so sind sie dem Embryo so ohne Weiteres nicht zugänglich, sondern sie müssen erst löslich und diffusionsfähig gemacht werden. Sobald aber bei der Keimung in dem wachsenden Theil des Embryo das Leben erwacht, werden die in den jungen Meristemzellen befindlichen geringen Zuckermengen bald verbraucht sein, dies ist aber zugleich der Anstoss, dass im Protoplasma Ferment gebildet wird, welches nun, da es diffusibel ist, in die nächstgelegenen Zellen der Cotyledonen eilt, um hier seine Thätigkeit zu beginnen. Es würde mithin

hier in einer Meristemzelle derselbe Zustand existiren, wie in einer Bacterienzelle, welche plötzlich ihren Kohlenstoffbedarf aus Stärke beziehen muss. Da übrigens das Protoplasma in den als Reservestoffbehälter fungirenden Theilen des Embryo auch sehr bald in Activität kommt, so werden in ihm dieselben Vorgänge sich geltend machen, wie in den in starkem Wachsthum begriffenen; auch hier wird Ferment erzeugt, dessen Wirkung den wachsenden Organen zu Gute kommt. Wenn nun in einem Pflanzentheile die Kohlehydrate im Wandern begriffen sind, so wissen wir, dass, aus hier nicht näher zu erörternden Gründen, diese Wanderung nur dadurch zu Stande kommen kann, dass die Kohlehydrate auf ihrem Wege transitorisch in Stärke übergeführt werden. Denken wir uns einmal in einem gegebenen Augenblicke eine beliebige Parenchymzelle der Stärkestrasse; sie enthält Stärkekörner und Zucker, und ihr Protoplasma scheidet, durch die oben geltend gemachten Ursachen einmal angeregt, wenn auch geringe Mengen, so doch continuirlich Diastase ab. Der von der Diastase durch Lösung der Stärkekörner gebildete Zucker wird nur zum geringsten Theil von dem Protoplasma der eigenen Zelle verbraucht, zum grössten Theil wandert er nach den über der Zelle liegenden Verbrauchsorten. Bei fortdauernder Bildung und Thätigkeit der Diastase würde nun sehr bald der Zeitpunkt eintreten, dass trotz der ebenfalls ununterbrochen gedachten Thätigkeit des Stärkebildners, kein einziges Stärkemolecül mehr in der Zelle vorhanden wäre. Allein es werden dieser Zelle ja auch stets neue Zuckermassen aus anderen unter ihr liegenden zugeführt, und da müssen wir annehmen, dass in dieser gleichsam concentrirten Zuckerlösung die Diastase, trotzdem sie vorhanden ist, keine Wirkung auf die Stärke ausüben kann¹⁾, so dass nun

¹⁾ Wie Brown und Heron (Annalen der Chemie 1879, Bd. 199, S. 247), sowie Kjeldahl (Chemisches Centralblatt 1880, S. 74) gefunden haben, wird jedoch die Diastasewirkung durch den sich anhäufenden Zucker nicht gehemmt; allein es ist hier zu bemerken, dass in diesen künstlich herbeigeführten Fällen der Diastase immer noch genügende Wassermengen zur Disposition standen. (Und die Diastase wirkt nur

dem Stärkebildner Zeit gelassen wird, neue Massen von Stärke den noch übrig gebliebenen hinzuzufügen. Wird hierdurch die Concentration des Zuckers in der Zelle geringer, so werden damit auch die Bedingungen für die Diastasewirkung wieder hergestellt, und der Lösungsprozess geht von Neuem vor sich. Dieser Anschauung, dass die Diastase in den Pflanzenzellen, obwohl sie vorhanden ist, nicht continuirlich, sondern mit Unterbrechung wirkt, neigt sich auch Arthur Meyer zu. In der vorläufigen Mittheilung «Ueber die Struktur der Stärkekörner¹⁾» sagt derselbe wörtlich: «So wäre die im hinteren Theile des Rhizomes (von Iris) erfolgende Lösung und die zugleich in weiter vorne liegenden Rhizomstücken erfolgende Umlagerung corrodirtter Körner mit neuer Substanz am einfachsten so zu verstehen, dass die lösende Thätigkeit des Fermentes im ganzen Rhizome annähernd gleichmässig stattfindet, und dass nur bei Zuführung eines Ueberschusses von Krystallisationsmaterial eine Bildung von Sphärokrystalloiden an den Stärkekörnern erfolgt.» Im Gegensatz zu unserer soeben entwickelten Ansicht, dass die Erscheinungen der transitorischen Stärkebildung vor sich gehen, trotzdem beständig Diastase vorhanden ist und fortwährend vom Protoplasma erzeugt wird, glaubt Baranetzky²⁾ zur Erklärung dieser Thatsachen ein wechselndes Auftreten und Wiederverschwinden des stärkeumbildenden Fermentes in den Pflanzengeweben annehmen zu müssen. Darnach würde also, so lange Stärke gebildet würde, kein Ferment abgesondert, sondern erst dann wieder, nachdem der in der Zelle vorhandene Zucker in Stärke übergeführt wäre. Uebertragen wir diese Anschauungsweise einmal auf die Vorgänge bei den Bacterien, bei welchen sie ja auch gültig sein müsste.

in wässriger Lösung). In der Zelle wird dies aber sehr wahrscheinlich nicht zutreffen, und so würde hier die Diastase ebenfalls nicht durch die Gegenwart grosser Zuckermengen, sondern wegen des hierdurch bedingten Mangels an freiem Wasser etwa, ihre Thätigkeit für einige Zeit einstellen müssen.

¹⁾ Botanische Zeitung 1881, Nr. 52.

²⁾ Loc. cit., S. 62.

Die Thätigkeit einer in Stärkelösung gebrachten Bacterienzelle hätten wir uns demnach so vorzustellen, dass ihr Protoplasma in einem gegebenen Momente Diastase absondert, und zwar so lange bis die durch diese Fermentmenge gebildeten Zuckerquantitäten in das Protoplasma gelangen. Sobald nun die ersten Kohlehydratmolecüle vom Protoplasma aufgenommen würden, vollzögen sich die Dissociationen desselben wieder in normaler Weise, es würde kein Ferment gebildet, und dieser Zustand dauerte so lange bis die Thätigkeit des zuerst abgeschiedenen Fermentes erschöpft wäre, bis also dem Protoplasma kein Zucker mehr zur Verfügung stände. Jetzt würde abermalige Fermentbildung erfolgen, u. s. w.¹⁾

Wäre diese Anschauungsweise richtig, würde in der That, so lange genügende Zuckermengen disponibel wären, kein Ferment vom Protoplasma gebildet, dann müssten Ferment ausscheidende Organismen so lange sie in einer diffundirbaren und zur Aufnahme geeigneten Zuckerlösung sich befänden, ihre Fermentabsonderung unterdrücken. Wir würden also, wenn wir Hefe in Traubenzuckerlösung cultivirten, kein invertirendes Ferment auffinden können, sondern nur dann, wenn wir statt des Traubenzuckers Rohrzucker anwenden würden. Durch eine grosse Reihe von Versuchen, die ich zur Prüfung dieser Verhältnisse anstellte, habe ich mich aber auf das Sicherste überzeugt, dass auch die in Traubenzuckerlösung cultivirte Hefe ebensogut (wenn nicht sogar noch etwas mehr) Invertin abscheidet als die in Rohrzuckerlösung befindliche. Die Methode, nach der die Versuche ausgeführt wurden, war folgende: Es wurden 50 ccm einer 15% Rohrzuckerlösung einerseits, und einer ebenso concentrirten Lösung chemisch reinen Traubenzuckers andererseits in je ein Glaskölbchen gebracht; jeder Lösung so viel Aschenbestandtheile zugefügt, dass die Concentration 5‰ betrug und hierauf einer jeden so präparirten Flüssigkeit zwei Tropfen einer vorher in

¹⁾ Die Pausen, in denen diese Fermentbildung erfolgte, könnten bei der geringen Menge des auf einmal producirten Fermentes sehr kurz sein, so dass stets Ferment in der Versuchsflüssigkeit nachweisbar wäre.

Traubenzuckerlösung rein cultivirten Hefe zugesetzt. Die Kölbchen wurden dann gut verkorkt und in den Wärmekasten gebracht. Nach einigen Tagen, wenn in beiden Gefässen die Gährung im vollsten Gange befindlich war, wurde der Inhalt beider Gefässe filtrirt, und jedes Filtrat mit grossen Mengen absoluten Alkohols versetzt. Die hierdurch entstandenen Niederschläge wurden (jeder für sich natürlich) auf einem Filter gesammelt, mit Wasser aufgenommen, und zu jeder Lösung gleiche Mengen einer verdünnten Rohrzuckerlösung gefügt. Diese beiden Rohrzuckerlösungen wurden ein bis zwei Tage constant auf 40° erwärmt. Bei einer darauf vorgenommenen Prüfung mit Barfoed'schem Reagens konnte immer in beiden Rohrzuckerlösungen das Vorhandensein von Traubenzucker nachgewiesen werden.

Unsere ausgesprochene Ansicht, nach welcher das einmal zur Fermentbildung angeregte Protoplasma in seiner Thätigkeit so lange weiterschreitet, als ihm brauchbarer Zucker in genügender Menge zur Disposition steht, wird demnach durch diese Versuche wesentlich gestützt.

Die Consequenz der hier entwickelten Anschauungen ist natürlich auch die Annahme, dass die fermentartigen Substanzen immer bestimmte chemische Individuen sind, und eben als solche aus dem Protoplasma entstehen, womit indessen nicht ausgeschlossen ist, dass es nicht verschiedene chemische Individuen giebt, welche dieselbe Eigenschaft, z. B. diastatische, besitzen. Diese in neuerer Zeit von vielen Forschern vertretene Meinung steht durchaus nicht im Widerspruch mit unserer Annahme; es ist sehr wohl denkbar, dass die von der Bacterienzelle producirte Diastase chemisch etwas anders construirt ist als die von der Phanerogamen-Zelle oder von der thierischen Zelle gebildete, und darnach auch in ihrem speciellen Verhalten zu Stärke einige Abweichungen erkennen lässt. Für das peptonisirende Ferment ist es sogar im höchsten Grade wahrscheinlich, dass verschiedenen chemischen Verbindungen die Eigenschaft Eiweisse in Pepton zu verwandeln zukommt. Ich erinnere hier nur an die bekannte Thatsache, dass das Pancreaspepsin ebenso gut in einer

alkalischen als in einer sauren Flüssigkeit wirksam ist, während das Magenpepsin nur in saurer Lösung zu wirken vermag. Im Gegensatze hierzu nimmt Mulder und mit ihm Baranetzky an, dass jeder beliebige und vorher unthätige Eiweisstoff (auch wenn er bereits ausserhalb der Zelle sich befindet) durch eine leichte Umänderung in den Zustand des stärkeumbildenden Fermentes versetzt werden kann. Baranetzky glaubt diese Annahme durch einige von ihm gemachte Versuche bestätigt gefunden zu sehen. Seite 56 der bereits mehrfach citirten Abhandlung heisst es wörtlich: Es ist mir nämlich im Laufe meiner Untersuchungen mehrmals vorgekommen, dass die wässerigen Lösungen der alkoholischen Niederschläge, wenn sie auch, frisch bereitet, gar keine fermentartigen Eigenschaften besaßen, diese Eigenschaften dennoch in einem sehr bedeutendem Grade erlangten, nachdem sie eine Zeit lang an der Luft stehen geblieben waren. Die Fälle, wo inzwischen in der Flüssigkeit Bacterien erschienen, können natürlich nicht als beweisend gelten, wenn ich auch bemerken muss, dass nach anderwärtigen Beobachtungen das Auftreten von Bacterien die fermentartigen Eigenschaften der Flüssigkeit immer nur schwächte. Hierauf folgt noch die Mittheilung zweier Versuche, aus denen sich ergab, dass aus Pflanzentheilen gewonnene Lösungen anfangs keine diastatische Eigenschaft zeigten, während sie dieselbe später annahmen.

Nach den bei meinen Versuchen gewonnenen Erfahrungen möchte ich indessen annehmen, dass in den soeben citirten Fällen die nachträgliche diastatische Wirkung stets durch Anwesenheit von Bacterien hervorgebracht wurde, trotzdem Baranetzky die Fälle, in denen er Bacterien auftreten sah, als nicht beweisend annimmt. Mir ist es, wie ich auch bei verschiedenen Versuchen hervorhob, niemals gelungen, sowohl bei Anwendung von wässerigen Lösungen alkoholischer Niederschläge als auch bei Anwendung von Lösungen des Malzfermentes, dieselben, auch wenn ich die sie enthaltenden Gefässe schnell und sorgsam verkorkte, frei von Bacterien zu erhalten. Und wenn Baranetzky die

Lösungen sogar noch einige Zeit an der Luft hat verweilen lassen, so können in diesen so günstigen Nährböden die Bacterien gewiss nicht ausgeblieben sein; wobei ich noch bemerken will, dass eine Flüssigkeit vollkommen klar sein kann, aber dennoch schon soviel Bacterien enthalten kann, dass ihre Wirkungen sich an der Stärke bemerkbar machen. Wenn man bei derartigen Versuchen vollkommen sicher gehen will, so muss man die zu prüfenden Flüssigkeiten sofort von dem Zutritt der Atmosphäre abschliessen; sie also entweder über Quecksilber verweilen lassen oder in's Vacuum bringen.

Die Angabe Baranetzky's endlich, dass durch das Auftreten von Bacterien die fermentartige Eigenschaft einer Flüssigkeit immer geschwächt wird, bedarf wohl noch näherer Untersuchung, da nach meinen Versuchen sich eher das Gegentheil herausstellt: wenn die diastatische Wirkung einer Flüssigkeit durch die Anwesenheit von Bacterien nicht sofort erhöht wird, so wird sie es sicher nach einiger Zeit, nachdem die Bacterien den eventuell vorhandenen Vorrath an eiweissartiger Nahrung verbraucht haben¹⁾.

Die Versuche Baranetzky's können daher nicht so ohne Weiteres dessen Annahme beweisen.

Mit Mulder vermuthet Baranetzky ferner, dass die Umänderungen, durch welche die nicht fermentartig wirkenden Eiweisskörper (nach Ansicht dieser Forscher) zu Fermenten werden, in irgend einer Beziehung zum reichlichen Zutritt des freien Sauerstoffs stehen müssen. Hierfür scheint auch die von mir constatirte Thatsache zu sprechen, dass bei Sauerstoffabwesenheit die Bacterien kein diastatisches Ferment zu bilden vermögen, allein der Umstand, dass die Hefezellen ihr invertirendes Ferment auch in vollkommen sauer-

¹⁾ Nur ein einziger Fall wäre denkbar, in welchem trotz des Auftretens von Bacterien die diastatische Wirkung einer Flüssigkeit verringert würde: wenn nämlich eine concentrirtere Diastaselösung so lange stehen gelassen würde, bis die Diastase ihre Wirkung eingebüsst hätte, und die diastatische Wirkung der in dieser Zeit in der Flüssigkeit aufgetretenen Bacterien noch nicht so gross geworden ist als die der ursprünglichen concentrirteren Lösung. Die von Baranetzky angewendeten Pflanzensäfte sind aber nur verdünnte Lösungen.

stofffreien Medien produciren, spricht direkt gegen diese Annahme, desgleichen wäre zu betonen, dass es noch niemals gelungen ist, auf experimentellem Wege, ohne Mitwirkung von Organismen, Eiweissstoffe in Fermente zu verwandeln. Und wenn die Bacterien, sowie wahrscheinlich auch die Zellen höherer Organismen, zur Fermentbildung der Beihülfe des atmosphärischen Sauerstoffs bedürfen, so berechtigt uns das keineswegs zu folgern, dass die Einwirkung des Sauerstoffs hierbei eine direkte sei, wir haben vielmehr seine Beziehungen zu diesen Prozessen uns so vorzustellen, dass erst durch seinen Eingriff in die protoplasmatischen Umlagerungen die Kräfte frei werden, welche das Protoplasma in den Stand setzen, unter anderen Verbindungen auch die Fermente zu erzeugen.
