

Untersuchungen über die chemische Zusammensetzung und Bildung der Enzyme.

X. Mitteilung.

Einfluß von Temperatur und Luftzufuhr auf die Invertasebildung.

Von

Hans Euler und Harald Cramér.

(Der Redaktion zugegangen am 9. Januar 1914.)

In der vorhergehenden ¹⁾ Mitteilung haben wir aus unseren Versuchen den Schluß gezogen, daß die Invertasebildung an diejenigen Bedingungen geknüpft ist, unter welchen eine Neubildung des Protoplasmas eintritt. Von diesem Gesichtspunkt aus haben wir nun den Einfluß zweier Faktoren studiert, welche für die Protoplasmaabildung von wesentlicher Bedeutung sind, nämlich der Temperatur und der Sauerstoffzufuhr. Für den Zuwachs der Hefe wie für die Bildung des Hefeneiweißes ergibt sich eine Temperaturkurve mit sehr stark ausgeprägtem Maximum, dessen Lage von verschiedenen Versuchsbedingungen abhängt, stets aber zwischen 10° und 40° liegt.

Läßt man den obigen Gesichtspunkt außer Betracht, so läge die Annahme nahe, daß wenigstens bis zu dem Temperaturbereich, in welchem eine Schädigung der Invertase beginnt, die Geschwindigkeit der Bildung dieses Enzyms nach Art organischer oder biologischer Reaktionen mit der Temperatur stark wächst, solange die Wärmedenaturation des Enzyms nicht in Betracht kommt.

Bis zu etwa 40° ist die Schädigung, welche die Invertase erfährt, unmerkbar oder wenigstens außerordentlich gering, besonders wenn die Invertase nicht isoliert ist, sondern durch

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 88, S. 430; 1913.

Eiweißstoffe und andere Bestandteile der Hefezelle geschützt wird.¹⁾)

Im Gegensatz hierzu ergaben unsere jetzt mitzuteilenden Messungen, daß die Invertasebildung in lebender Hefe bei der Temperatur von 16° rascher vor sich geht als bei 39°.

Versuch.

Die Anordnung der Vorbehandlung war die gleiche wie in früheren Mitteilungen, und zwar befanden sich 5 g Hefe in 500 ccm Lindnerscher Nährlösung, welche 2% Traubenzucker enthielt.

Serie A: Vorbehandelt bei 39°.

 B: " " 16°.

Unvorbehandelte Hefe.

Minuten	α	$k \cdot 10^4$	
0	6,12	—	Trockensubstanz: 32,87%
15	5,22	34	
25	4,70	34	
35	4,10	35	
40	3,95	31	
∞	— 1,96	—	

Dauer der Vorbehandlung: 16 Stunden.

A			B		
Minuten	α	$k \cdot 10^4$	Minuten	α	$k \cdot 10^4$
0	6,10	—	0	6,10	—
15	4,90	47	15	6,63	58
25	4,17	48	25	3,65	63
35	3,48	49	35	2,80	65
40	3,11	50	∞	— 1,95	—
∞	— 1,95	—			
Trockensubstanz: 29,68%			Trockensubstanz: 27,13%		

¹⁾ Euler und af Ugglas, Diese Zeitschrift, Bd. 65, S. 124; 1910.

II.

Wie durch die Versuche von M. Traube, Buchner u. a. festgestellt ist, wird die Fortpflanzung der Hefe in hohem Grade durch reichliche Zufuhr von Sauerstoff begünstigt. Die im Berliner Institut für Gärungsgewerbe gewonnenen Resultate zeigen ferner, daß die Hefe um so eiweißreicher wird, je mehr Sauerstoff ihr zur Verfügung steht. Es war hiernach anzunehmen, daß auch die Invertasebildung durch Sauerstoff begünstigt würde. Hierauf beziehen sich die folgenden Versuche:

Wie früher wurden je 5 g abgepreßte Hefe in 500 ccm Lindnerscher Nährlösung (mit 2% Rohrzucker) aufgeschlemmt. Durch drei solche Kolben wurde ein Luftstrom mittels einer Wasserluftpumpe gesogen, welcher mittels Klemmschrauben auf die drei Kolben gleichheitlich verteilt wurde (Serie A). Die zu den drei Parallelversuchen dienenden Kolben wurden ohne Luftzufuhr von Zeit zu Zeit umgeschüttelt (Serie B). Nach 21 Stunden wurde aus je einem Kolben der Serien A und B die Hefe abfiltriert und auf ihre Inversionsfähigkeit gegenüber Rohrzucker untersucht.

Gleichzeitig wurden alle übrigen mit je 10 g Rohrzucker versetzt. Nach weiteren 24 Stunden wurden wieder zwei Kolben in Arbeit genommen und in die beiden noch übrigen je 5 g Rohrzucker eingeführt. Nach weiteren 5 Stunden wurde schließlich die Hefe in diesem letzten Kolben untersucht.

Die Ergebnisse waren die folgenden:

Unvorbehandelte Hefe.

Minuten	α	$k \cdot 10^4$
0	6,96	—
15	5,85	37
25	5,17	38
35	4,54	38
40	4,25	38
∞	— 2,23	—

Trockensubstanz: 28,71%.

Dauer der Vorbehandlung: 21 Stunden.

A			B	
Minuten	α	$k \cdot 10^4$	α	$k \cdot 10^4$
0	6,98	—	6,98	—
15	5,27	59	4,27	71
25	4,23	62	3,77	74
35	3,18	66	2,73	77
40	2,72	67	2,22	79
∞	— 2,23	—	— 2,23	—
Trockensubstanz: 28,21%			Trockensubstanz: 29,82%	

Dauer der Vorbehandlung: 45 Stunden.

A			B	
Minuten	α	$k \cdot 10^4$	α	$k \cdot 10^4$
0	6,98	—	6,98	—
15	4,88	75	4,85	76
25	3,62	79	3,55	81
35	2,56	81	2,40	85
40	2,07	83	1,95	86
∞	— 2,23	—	— 2,23	—
Trockensubstanz: 30,76%			Trockensubstanz: 30,18%	

Dauer der Vorbehandlung: 50 Stunden.

A			B	
Minuten	α	$k \cdot 10^4$	α	$k \cdot 10^4$
0	6,97	—	6,97	—
15	4,83	77	4,70	82
25	3,46	83	3,27	89
35	2,47	83	2,45	84
40	2,15	81	1,95	86
∞	— 2,23	—	— 2,23	—
Trockensubstanz: 31,94%			Trockensubstanz: 31,14%	

dem äußeren Habitus nach schienen Anzeichen dafür vorhanden zu sein, daß die Entwicklung in Rohrzuckerlösung eine andere war als in Traubenzuckerlösung. Wie sich aber ergab, verlief die Enzyymbildung in der wachsenden Hefe ziemlich gleichartig und unabhängig vom Zuckersubstrat. Von zwei Versuchsreihen führen wir nur den folgenden an:

Während etwa 30 Tagen entwickelte sich *Saccharomyces thermantionum* (Reinkultur vom Berliner Institut für Gärungsgewerbe) aus eingepflichten Zellen bei 29° in Lindners Nährlösung, welche einerseits 5% Rohrzucker, andererseits 5% Traubenzucker enthielt. Die Inversionsfähigkeit der Hefe wurde teils in Gegenwart von 0,5 ccm Toluol auf 30 ccm Lösung geprüft, teils in Abwesenheit von Toluol.

Gewachsen in Minuten	Rohrzuckerlösung				Traubenzuckerlösung			
	Ohne Toluol		Mit Toluol		Ohne Toluol		Mit Toluol	
	α	$k \cdot 10^4$	α	$k \cdot 10^4$	α	$k \cdot 10^4$	α	$k \cdot 10^4$
0	6,15	—	6,15	—	6,15	—	6,15	—
40	5,68	6,5	5,70	6,2	5,62	7,3	5,63	7,2
80	5,21	6,7	5,28	6,2	5,06	7,8	5,20	6,8
∞	— 1,97	—	— 1,97	—	— 1,97	—	— 1,97	—
	Trockensubstanz 44,05%				Trockensubstanz 49,87%			

Die Mittelwerte der Konstanten auf den Trockengehalt 55% reduziert betragen für die Hefe

gewachsen in Rohrzuckerlösung 6,6

» » Traubenzuckerlösung 6,6.

Weitere Versuche sind im Einverständnis mit Herrn Prof. Lichtwitz in Aussicht genommen. Einstweilen wollen wir bezüglich der «Fermenthemmung» in lebender Hefe aus unseren Versuchen keine endgültigen Schlüsse ziehen.