

Ueber die Flockung der Hefe.

Von Heinrich Lüers und Karl Geys (München).

(Eingegangen am 26. März 1922.)

Einleitung.

Die Flockung der Hefe beansprucht sowohl wissenschaftliches als auch praktisches Interesse. In wissenschaftlicher Hinsicht vermittelt uns der Vorgang der Flockung wertvolle Aufklärung über die chemischen und physikalischen Verhältnisse an einzelligen Organismen, der Praktiker hingegen zieht aus der Art der Hefeflockung wichtige Schlüsse nach betriebstechnischer Richtung. Die Flockung, oder wie die Praxis sich ausdrückt, der Bruch der Hefe soll ein grobgrießiger sein, das vergorene Substrat soll klar zwischen den Flöckchen hindurchschimmern. Mangelhafter Bruch ist ungern gesehen, da eine Reihe von unliebsamen Erscheinungen, wie schlechte Klärung, zu hoher Vergärungsgrad, mangelhafte Hefeernte u. dgl. mehr damit verbunden sind. Typische Bruchhefen zieht dementsprechend die Praxis immer den Staubhefen vor.

Früher neigte man der Ansicht zu, daß die Eigenschaft der Staub- und Bruchbildung verschiedenen Heferassen zukomme. Durch die Arbeiten Lange's, ferner Schönfeld's und Krumhaar's¹⁾ hat man aber erkannt, daß ein und dieselbe Heferasse je nach den Züchtungsbedingungen bald Bruch-, bald Staubeigenschaften annehmen kann. Zur Erklärung dieser Erscheinung können wir einerseits innere physiologische, andererseits äußere physikalisch-chemische Gründe heranziehen.

Theoretisches.

Die Flockung der Hefe gegen Ende der Gärung erfolgt dadurch, daß die einzelnen, bislang getrennt in der Gärflüssigkeit schwebenden Zellen sich zu größeren Aggregaten aneinanderlagern, ähnlich wie es bei der Bakterienagglutination der Fall ist. Für den Vorgang der Flockung kommen in erster Linie die Ladungsverhältnisse der Zellen gegen das Dispersionsmittel in Betracht. Bei der Hefe hat sich, wie im folgenden berichtet werden wird, nachweisen lassen, daß die Flockung immer mit einer Abnahme der Ladung, meist aber

mit einer Umladung der Zellen verbunden ist. Man kann somit die Flockung darauf zurückführen, daß entweder infolge der Ladungsabnahme die Oberflächenspannung und damit die Fähigkeit der Zellen, sich aneinanderzulagern, steigt, oder darauf, daß die umgeladenen Zellen mit den noch entgegengesetzt geladenen unter Entladung zu neutralen Komplexen zusammentreten. Wie weit bei beiden Möglichkeiten auf der Zellmembran adsorbierte Kolloide eine Rolle spielen können, soll später noch gezeigt werden.

Ursachen der elektrischen Potentialdifferenz der Hefezelle gegen das Dispersionsmittel.

a) Innere physiologische Ursachen. Die Ansicht, daß die physiologisch-chemische Beschaffenheit des Zellinhaltes für den elektrischen Charakter der Zelle nach außen verantwortlich zu machen sei, wurde erstmals eingehend von R. S. Lillie²⁾ vertreten und experimentell gestützt. Lillie betont die grundsätzlich verschiedene elektrische Natur der Zellproteine. Die Nukleoproteide besitzen sauren Charakter, dessen Grad mit der Menge der vorhandenen Nukleinsäuren wechselt und im Chromatin der sich teilenden Zellen und Spermatozoen ein Maximum erreicht. Die Kernproteine sind also negativ geladen. Die zytoplasmatischen Proteine hingegen scheinen vorwiegend basischen Charakter und damit positive Ladung zu besitzen. Die Folge chemischer Differenzen zwischen Kern- und Plasmaproteinen sind also auch Unterschiede elektrischer Art. Im Stadium der Mitose müssen diese Differenzen am größten sein, da dann das Chromatin am meisten sauer, am stärksten negativ ist. Freie Kerne müssen negativ wandern, während Zellen mit voluminösem Zytoplasma nur schwach negativ bzw. sogar positiv wandern können. Lillie konnte an roten Blutkörperchen, Muskelzellen, großen und kleinen Leukozyten, Zellkernen, Spermatozoen diese Forderungen bestätigen.

Auch für Hefezellen lassen sich ähnliche Betrachtungen auf Grund unserer experimentellen Befunde³⁾ anstellen. Ruhende, gewässerte

¹⁾ Schönfeld u. Krumhaar, Wochenschrift f. Brauerei 1905, 647; 1914, 245; 1918, 261, 298, 302, 342; 1919, 324; 1920, 317. Jahrbuch der V. L. B. 1900, 101; 1901, 19.

²⁾ R. S. Lillie, Amer. Journ. of Physiol. 8, 273 (1903).

³⁾ K. Geys, Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen 45, 51 (1922).

Hefe zeigt in Wasser schwach positive Ladung, ebenso ist in Würze positive oder wenigstens amphotere Ladung festzustellen. Nach einigen Stunden aber, wenn gesteigertes Zelleben einsetzt, beginnt sich mehr und mehr deutlich negative Ladung einzustellen, die mit fortschreitender Sprossung immer deutlicher wird und sich bis zum 3. und 4. Gärtag erhält. Von da ab beobachtet man vereinzelt bereits wieder positive Ladung, die Wanderung wird amphoter und Flockenbildung setzt ein. Am 5. und 6. Gärtage tritt dann der grobgrießige Bruch, die Ausscheidung der Hefe aus der vergorenen Flüssigkeit, auf. In diesem Zeitpunkt haben wir dann neutrale Flöckchen neben vereinzelt Zellen mit ausgesprochen positiver Ladung in Suspension.

Wollen wir R. S. Lillie folgen, so können wir auch hier für den Wandel der Ladung grundsätzliche Verschiedenheiten in der Zusammensetzung der Proteine von Zytoplasma und Kern in der ruhenden und sprossenden Zelle verantwortlich machen. Die sprossende Zelle wird bei der Mitose einen höheren Anteil saurer Nucleinsubstanzen aufweisen als die ruhende, demgemäß auch eine andere Ladung als diese tragen müssen. Nach Beendigung der Sprossung und allmählichem Ueberwiegen des Zytoplasmas kann sich die Ladung wieder umkehren.

b) Physikalisch-chemische Ursachen. Neben dieser vorher erörterten physiologisch-chemischen Deutungsmöglichkeit, läßt sich die Ladung der Zelle und ihre Veränderlichkeit noch auf physikalisch-chemischem Wege erklären. Die Hefezelle als suspendierte Phase ist mit einer deutlich begrenzten Membran umgeben, die sich chemisch und physikalisch scharf vom Dispersionsmittel unterscheidet. Schon dadurch muß zwischen Membranoberfläche und Dispersionsmittel nach physikalisch-chemischen Begriffen eine Potentialdifferenz sich ausbilden. Die Membran der Hefezelle besteht aus Mannanen, daneben spielen nach neueren Befunden [Boas⁴⁾] eine hervorragende Rolle Lipoide, die wir uns in die Membrangerüstsubstanz eingelagert vorstellen können. Auch ist noch nicht mit völliger Sicherheit bekannt, ob Eiweißkörper nicht auch am Aufbau der Membran beteiligt sind. Lipoide, noch mehr die Proteine, werden von der Reaktion der Lösung in ihren Ladungsverhältnissen empfindlich beeinflusst. Daraus ergibt sich die Möglichkeit, daß die Potentialdifferenz zwischen Membranoberfläche und

Lösung je nach der Zusammensetzung der letzteren Schwankungen, ja sogar einem Wechsel unterworfen sein kann. So können wir z. B. Hefe durch Zusatz von Neutralsalzen zur Lösung entladen und damit zur Flockung bringen.

Aber auch eine Adsorption von Kolloiden der Gärflüssigkeit an die Membrangrenzfläche ist ins Auge zu fassen. Dafür spricht die Tatsache, daß eine in Wasser schwach positive oder amphotere Hefe augenblicklich deutlich negativ wurde, sofern wir sie in verdünnte Gelatinelösungen brachten. E. Putter⁵⁾ fand, daß Bakterien, die normalerweise von Säuren nicht umgeladen werden konnten, bei Zusatz von Pepton ihre Ladung wechselten. In neuester Zeit konnte K. Heesch⁶⁾ zeigen, daß die umladende Wirkung von Lanthanionen auf suspendierte Teilchen, Zellbestandteile und Zellen durch Albumin und Gelatine stark sensibilisiert wurde. Zur Erklärung dieser Tatsache liegt die Annahme nahe, daß sich die Zellmembran mit einer Adsorptionsschicht aus den genannten Eiweißkörpern umgeben und damit deren Eigenschaften angenommen habe. Solche Adsorptionshäute amphoterer Kolloide würden auch die Aneinanderlagerung der Zellen zu Aggregaten verständlich machen, indem sie gewissermaßen das Binde- oder Verkittungsmaterial zwischen den einzelnen Zellen darstellen. Hierauf hat schon früher L. Michaelis⁷⁾ hingewiesen.

Eine weitere Möglichkeit der Potentialdifferenz zwischen der Zelle und dem Dispersionsmittel ist schließlich noch durch Donnan's⁸⁾ Theorie der Membrangleichgewichte gegeben. Jacques Loeb⁹⁾ hat in einer größeren Reihe erst kürzlich erschienener Veröffentlichungen die verschiedenen Erscheinungen an Proteinsolen, wie Quellung, osmotischer Druck, innere Reibung auf eine gemeinsame Grundursache, die Membranpotentiale zurückzuführen versucht. In seiner letzterschienenen Abhandlung¹⁰⁾ wendet er auch Donnan's Theorie auf die lebenden Zellen und Gewebe an. Es sind in der Tat, wie es Donnan voraussagte, alle Bedingungen für

⁵⁾ E. Putter, Zeitschr. f. Immun.-Forschung 32, 538 (1921).

⁶⁾ K. Heesch, Pflüger's Arch. f. d. ges. Physiol. 190, 198 (1921).

⁷⁾ L. Michaelis, Deutsche med. Wochenschr. 1911, Nr. 21.

⁸⁾ Donnan, Zeitschr. f. Elektrochem. 17, 572 (1911).

⁹⁾ Jacques Loeb, Journ. of Gen. Physiol. 3, 667, 671, 827 (1921); 4, 73 (1921).

¹⁰⁾ Jacques Loeb, Journ. of Gen. Physiol. 4, 351 (1922).

⁴⁾ F. Boas, Biochem. Zeitschr. 117, 166 (1922).