

Werk

Titel: Über den Zusammenhang von Atmung und Gärung

Autor: Meyerhof, Otto

Ort: Berlin

Jahr: 1919

PURL: https://resolver.sub.uni-goettingen.de/purl?34557155X_0007|log186

Kontakt/Contact

[Digizeitschriften e.V.](#)
SUB Göttingen
Platz der Göttinger Sieben 1
37073 Göttingen

✉ info@digizeitschriften.de

DIE NATURWISSENSCHAFTEN

WOCHENSCHRIFT FÜR DIE FORTSCHRITTE DER NATURWISSENSCHAFT, DER MEDIZIN UND DER TECHNIK

HERAUSGEGEBEN VON

DR. ARNOLD BERLINER UND PROF. DR. AUGUST PÜTTER

Siebenter Jahrgang.

18. April 1919.

Heft 16.

Über den Zusammenhang von Atmung und Gärung.

Von Prof. Dr. Otto Meyerhof, Kiel.

I.

Die Gärung ein „anaërober“ Atmungsvorgang.

Während die Mehrzahl der Organismen, insbesondere die höheren Tiere, die Nahrungsstoffe oxydieren, „aërob“ atmen, gibt es eine Reihe anderer, zumal aus den Klassen der Hefen und Bakterien, deren Stoffwechsel ohne Eingriff des Sauerstoffs verläuft. Unter diesen „anaëroben“ Lebensvorgängen spielt die alkoholische Gärung eine hervorragende Rolle, die ja bei den Bier- und Weinhefen als technisch bedeutsamer Prozeß allgemein bekannt und ausgiebig studiert ist, die aber offenbar in ganz ähnlicher Weise noch bei vielen andern pflanzlichen Zellen verläuft, insbesondere in den keimenden Samen vieler höherer Pflanzen. (Übersichtsformel der Gärung: $C_6H_{12}O_6 = 2 C_2H_5OH + 2 CO_2$.) Es handelt sich nun bei der Mehrzahl der Erreger der alkoholischen Gärung, wenn nicht bei allen, um *fakultativ*¹⁾ anaëroben Zellen, d. h. um solche, die in Abwesenheit des Sauerstoffs ihren Nahrungs- und Energiebedarf aus Spaltungen gewinnen, dagegen in seiner Gegenwart ihn veratmen und nun auf Grund eines oxydativen Stoffwechsels ebenso gut, eventuell noch besser gedeihen. Pasteur, der die Gärung zuerst als sauerstofffreien, „anaëroben Atmungsvorgang“ ansprach⁽²⁾, hielt sie auch insofern für einen Ersatz der Sauerstoffatmung, als sie nach ihm erst bei Abwesenheit von Luft in Erscheinung treten sollte. Für die Hefe ist diese besondere Annahme unrichtig, sie gärt ebenso gut an der Luft, für manche andere Gärungserreger trifft sie wahrscheinlich zu. Zieht man in Rücksicht, daß zur Zeit der Pasteurschen Entdeckung eine „Atmung ohne Sauerstoff“ ganz unerhört erschien, so wird es aus den Zeitumständen gut verständlich, daß Pasteur diesen von ihm selbst als anaërob erwiesenen Vorgang doch nicht schlechthin ohne Sauerstoff von statten gehen lassen wollte; der Sauerstoff sollte vielmehr statt aus der Luft aus dem vergärenden Zuckermolekül selbst stammen, derart, daß die eine Hälfte des Zuckermoleküls die andere zu Kohlensäure oxydiere. Er kam so

¹⁾ Ihnen gegenüber stehen die „obligat Anaëroben“, wie z. B. der Tetanusbazillus, Rauschbrandbazillus u. a., die nur in Abwesenheit von Sauerstoff gedeihen. Sie verbrauchen zwar offenbar auch den etwa vorhandenen Sauerstoff, werden aber hierbei vergiftet und gehen zugrunde.

zum Begriff der „intramolekularen Atmung“, einer Vorstellung, die von dem Pflanzenphysiologen Pfeffer und dem Tierphysiologen Pflüger noch etwas modifiziert und auf den Stoffwechsel der höheren Lebewesen übertragen wurde. Unter diesem Begriff wurden nunmehr die in den Zellen in Abwesenheit von Luft vor sich gehenden Stoffwechselforgänge zusammengefaßt und eine Reihe von Hypothesen daran geknüpft: einmal sollte es sich auch chemisch dabei vorwiegend um alkoholische Gärung handeln, des weiteren sollte dieser anaërober Prozeß stets bei Ausschluß von Luft als Ersatz der oxydativen Atmung auftreten, schließlich, als wichtigstes, sollte die intramolekulare Atmung ein normaler Teilprozeß der Sauerstoffatmung sein, der Molekülzerfall also unter allen Umständen mit anaëroben Umsetzungen beginnen; die Zerfallsprodukte träten dann bei Abwesenheit von Sauerstoff als solche in Erscheinung (z. B. Alkohol), andernfalls würden sie zu Kohlensäure und Wasser verbrannt.

Während bei pflanzlichen Objekten sich nun wenigstens die ersten beiden Annahmen, die experimentell direkt prüfbar sind, als in manchen Fällen zutreffend erwiesen, haben sich die dahingehenden Beobachtungen an tierischen Zellen durchweg als fehlerhaft herausgestellt. So zeigten z. B. die englischen Forscher Harden und Maclean⁽³⁾ entgegen den Behauptungen Stoklasas⁽³⁾, daß nach Ausschluß der Luft von Organbreien, Preßsäften, getrockneten Organpulvern von Säugetieren weder Alkohol noch Kohlensäure produziert wird. Für das besonders umstrittene Objekt des in Abwesenheit von Sauerstoff arbeitenden Muskels bewiesen Fletcher und Brown⁽⁴⁾, daß die reichlich dabei auftretende Kohlensäure nicht etwa neugebildet, sondern nur infolge zunehmender Säuerung des Muskels aus den Karbonaten ausgetrieben wird. Das gleiche zeigte ich kürzlich für zerkleinerte Froschmuskulatur, während in der Leber höchstens Spuren anaërober Kohlensäure gebildet werden⁽⁵⁾. Auch konnte bei obligat aëroben Zellen, z. B. den kernhaltigen roten Blutzellen der Vögel, bei Fehlen von Sauerstoff keine Wärmebildung beobachtet werden, die als energetischer Ersatz der Oxydationen hätte angesprochen werden können^(6, 7). Wenn aber die Endprodukte der alkoholischen Gärung, Alkohol und Kohlensäure, unter anaëroben Bedingungen nicht auftreten, so entfällt erst recht die Hypothese, daß sie normale Zwischenprodukte der Sauerstoffatmung seien.

Anders steht es aber mit einem besonderen Zerfallsprozeß des Zuckers, der auch als Gärung

bezeichnet wird, nämlich der Spaltung des Hexosemoleküls in zwei Moleküle Milchsäure: $C_6H_{12}O_6 = 2 C_3H_6O_3$. Dieser Vorgang spielt sich in der Tat in den Organen der höheren Tiere in großem Umfang ab und hat, wie wir wissen, speziell für die Muskelkontraktion eine hervorragende Bedeutung. Bei der Tätigkeit des Muskels bildet sich unter aeroben wie anaeroben Bedingungen Milchsäure, die nachher während der anschließenden „Erholungsphase“ oxydiert werden kann, sich aber bei Ausschluß von Sauerstoff ansammelt^{8, 9, 10}). Wenn wir die Pflüger-Pfeffersche Vorstellung der intramolekularen Atmung von der Alkoholgärung auf die Milchsäurespaltung übertragen, so ist sie offenbar für den arbeitenden Muskel zutreffend. Wie weit sich dies verallgemeinern läßt, sei dahingestellt. Jedenfalls ist Milchsäurebildung aus Kohlehydraten in den verschiedensten tierischen Geweben beobachtet, wenn sie auch quantitativ wohl sicher hinter dem Auftreten bei anaeroben Muskelarbeit zurücksteht. Immerhin ließe sich die ältere Hypothese über den Zusammenhang von Atmung und alkoholischer Gärung ohne weiteres wieder aufnehmen, wenn die Milchsäure auch ein Zwischenprodukt der Gärung wäre, wie dies von Buchner vermutet ist¹¹). Das hat sich, wie wir weiter unten noch sehen werden, bisher nicht beweisen lassen. Aber trotzdem können wir, was in den folgenden Kapiteln darzustellen sein wird, doch auch jetzt schon so viel sagen, daß in der alten Atmungstheorie ein richtiger Kern enthalten ist, und daß sich neuerdings Anzeichen dafür gefunden haben, daß die ersten Phasen der Atmung und Gärung nahe verwandt, vielleicht sogar teilweise identisch sind.

II.

Die Abtrennung der Gärung vom Leben der Zelle.

Wir müssen nun auf die beiden Vorgänge der Gärung und Sauerstoffatmung noch etwas näher eingehen; zunächst den ersten. Bis zu der im Jahre 1898 erfolgten Entdeckung des Gärungsferments, der „Zymase“, durch Eduard Buchner¹²) war die prinzipielle Natur dieses Zuckerzerfalls durch das ganze neunzehnte Jahrhundert heftig umstritten. Nachdem Gay Lussac die oben angeführte Gärungsgleichung aufgestellt hatte, die als Bruttoformel noch heute gültig ist, suchte man nach der Ursache dieser eigentümlichen Molekülsplaltung. Der französische Forscher selbst sah sie in einer direkten chemischen Einwirkung des Luftsauerstoffs auf den Zucker. Erst Schwann erwies sie als vitalen Vorgang, als Stoffwechsel der Hefezelle, gegen den heftigen Widerspruch Liebig's, der besonders an dem seltsamen Umstand Anstoß nahm, daß die Hefe in 18 Stunden das 70-fache ihres Gewichts an Zucker umzusetzen vermag. In diesem Stadium wurde die Forschung durch die Ansicht von Berzelius, die Gärung wäre eine Katalyse, wie die Zersetzung des Wasserstoffsperoxyds durch Platinmoor, die Hefe eine bloße Kontaksubstanz,

nicht sehr gefördert. Vielmehr verhalf Pasteur der vitalistischen Gärungstheorie zum Siege und beseitigte gleichzeitig den Einwand Liebig's, indem er die Zuckervergärung nicht als Assimilationsprozeß, als *Baustoffwechsel*¹⁾ der Zelle auffaßte, sondern als *Betriebsstoffwechsel*, als energetischen Ersatz der Oxydation. Da nun bei Verbrennung von einem Molekül Hexose 677 Kalorien gebildet werden, bei Vergärung aber nur 24 Kalorien, wird es verständlich, daß die Hefe hierbei aus energetischen Gründen so abundante Zuckermengen verbraucht, während sie nur 1 % davon assimiliert.

Indes war die bloße Feststellung, daß die Gärung der anaerobe Atmungsvorgang der Hefezelle ist, doch bei weitem keine Lösung des Problems, und ein untrüglicher Forscherinstinkt ermutigte nach allen fehlgeschlagenen Versuchen immer von neuem dazu, den gärerregenden Körper aus der Hefe zu isolieren, die Gärung statt in vivo in vitro ablaufen zu lassen. Erst Buchner gelang es, nach Zerreiben der Hefe mit Kieselgur und Sand mittels der hydraulischen Presse einen zellfreien gärwirksamen Saft zu gewinnen und damit zum erstenmal die *enzymatische Natur*²⁾ eines (anaeroben) Atmungsvorgangs sicherzustellen. Buchner und seine Mitarbeiter entdeckten alsbald noch ein anderes Verfahren, um die Gärung vom Leben der Zelle abzutrennen: Durch Eintragen der Hefe in Aceton, Nachwaschen mit Äther und Trocknen im Vakuum gewannen sie ein steriles, haltbares Pulver, das Zuckerlösung in kräftige Gärung versetzt. Nur ein Umstand ließ auch die Buchnersche Entdeckung der fermentativen Natur der Alkoholgärung noch nicht in ganz ungetrübtem Licht erstrahlen: die Gärungsgeschwindigkeit sinkt im Preßsaft bzw. im Acetonpulver stets auf einige Prozente der vitalen Größe. Trotzdem ist es eine mißverständliche Auffassung, daß auch in der lebenden Zelle nur ein Bruchteil der Gärung an die Zymase gebunden, der übrige aber mit dem lebenden Protoplasma unzertrennlich verknüpft sei. Nein, auch in der Zelle ist die Gärung reine Fermenttätigkeit, nur läßt sich zeigen, daß das Ferment in der intakten Zelle zum größten Teil nicht in wässriger Lösung, sondern in enger Verbindung mit den Strukturelementen (Adsorption?) existiert und wirkt, und weiterhin wird sich im folgenden ergeben, daß die einzelnen Bestandteile des Gärungsferments gegenüber ihrer Herauslösung aus der Zelle verschieden empfindlich sind.

¹⁾ Die Unterscheidung von „Baustoffwechsel“ und „Betriebsstoffwechsel“ stammt von Pfeffer. Stellen wir uns den Organismus als eine Maschine vor, so können wir seinen chemischen Stoffverbrauch danach einteilen, wie weit er dem Aufbau und Umbau der Maschinensubstanz, inkl. Ersatz der „Abnutzungsquote“ dient und wie weit er, entsprechend dem Feuerungsmaterial, nur zum Betrieb dient. Allerdings läßt sich die Scheidung nicht so streng wie bei einer technischen Maschine durchführen.

²⁾ „Enzym“ und „Ferment“ sind Synonyma.

III.

*Die Abtrennung der Atmung vom Leben
der Zelle.*

Die Buchnersche Entdeckung wirkte ungemein anregend auf die Physiologie des Zellstoffwechsels, vor allem nach zwei Richtungen: einmal war durch die Abtrennung der Gärung vom Wachstum und der sonstigen Lebenstätigkeit der Hefe und ihre Herausschälung aus dem unzugänglichen Zellinnern die Möglichkeit eröffnet, den chemischen Gärverlauf weiter aufzuhellen und seine Abhängigkeit von Milieueinflüssen zu untersuchen, die nicht in die intakte Zelle hineindringen, auf der andern Seite eröffnete sich eine große Perspektive, auch die aerobe Zellatmung nach den gleichen Methoden zu erforschen.

Beginnen wir mit dem zweiten. Es waren zwar schon früher gewisse Oxydationsfermente in tierischen und pflanzlichen Geweben bekannt, etwa die Tyrosinoxidase, die Tyrosin in ein schwarzes Pigment verwandelt, oder die „Urikase“, die Harnsäure zu Allantoin und Kohlensäure oxydiert. Aber in all diesen Fällen handelt es sich um keineswegs allgemein verbreitete, vielmehr auf wenige Zellarten beschränkte Vorgänge, die bestenfalls geringfügige Teilprozesse der oxydativen Atmung vorstellen. Wenn wir die typische Atmung charakterisieren durch kontinuierlichen und konstanten Verbrauch von Sauerstoff aus der Luft, Produktion einer annähernd äquivalenten Kohlensäuremenge, Bildung der entsprechenden Verbrennungswärme, endlich typische Beeinflussbarkeit durch Narkotika und Atmungsgifte, so ließ sich für diesen Prozeß zunächst nicht die enzymatische Natur sicherstellen. Nur für einen speziellen oxydativen Gärungsvorgang, die Essiggärung des *Bakt. aceti*, wiesen schon *Buchner* und *Meisenheimer* mit dem Acetonverfahren die Abtrennung vom Leben nach⁽¹³⁾. Doch lagen die Mißerfolge bei der eigentlichen Zellatmung teils an den Objekten, teils an der Methode. Unter Anwendung des Buchnerschen Acetonverfahrens konnten *Warburg* und ich vor einigen Jahren sowohl aus *Staphylokokken*, wie aus unbefruchteten Seeigeleiern Dauerpräparate gewinnen, die, aufgeschwemmt in wässriger Lösung, Sauerstoff verbrauchten und Kohlensäure bildeten⁽¹⁴⁾. Die Seeigeleier fuhren auch fort, Sauerstoff zu verbrauchen, wenn die Zellen durch Zerreiben mit Sand oder kräftiges Zerschütteln völlig zerstört wurden. Indes ist, wie *Warburg* dann zeigte, hiermit noch keine völlige Trennung der Atmung von der Struktur erzielt, da die Atmung zu einem wesentlichen Teil gebunden bleibt an feine, offenbar schon in der lebenden Zelle präformierte Körnchen, jedoch nicht ganz und gar: sowohl hier als quantitativ exakter an Leberzellen von Säugetieren konnte dieser Forscher feststellen, daß auch körnchenfreie Zellflüssigkeit, die man z. B. durch Filtrieren der Körnchensuspension durch Porzellankerzen gewinnen kann, noch eine

meßbare Atmung aufweist, bei der Leber bis zu 10 % der vitalen Größe⁽¹⁵⁾.

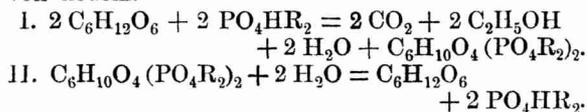
Daß sich Gärung und Atmung in gleicher Weise im Innern der Zellen in einem Konnex der Stoffwechsellzyme mit den Zellstrukturen abspielen, dafür konnte *Warburg* verschiedene Beweise erbringen, von denen der wesentlichste hier angeführt sei. Die Beeinflussung der Gärungs- und Atmungsgeschwindigkeit durch narkotische Substanzen folgt der sogenannten Regel der homologen Reihe, die von *Overton* für die Hirnnarkose gefunden ist⁽¹⁶⁾. Danach steigt die narkotische Wirksamkeit chemisch indifferenten Narkotika unabhängig von der chemischen Struktur der Stoffe mit dem Aufstieg in einer homologen Reihe⁽¹⁾. Die Ursache dieses Gesetzes müssen wir jetzt abweichend von *Overton* selbst, der sie in der Löslichkeit der Zellipoide für die Narkotika suchte, mit *J. Traube* in der in den homologen Reihen wachsenden „Oberflächenaktivität“ sehen. Das heißt in der Fähigkeit der Substanzen, sich an Oberflächen sichtbaren und submikroskopischen (= kolloiden), infolge von Adsorption anzureichern^(17, 18, 19). Nun besteht außer der allgemeinen Gültigkeit dieses Gesetzes auch eine quantitative Übereinstimmung in der Wirkungsstärke der einzelnen Substanzen bei Atmungs- und Gärungshemmung durch sie. Aber noch mehr. In beiden Fällen gilt die Regel sowohl für die lebenden, die getöteten Zellen wie die Zellextrakte; dabei zeigt sich jedoch ein charakteristischer Unterschied, je nachdem es sich um lebende Zellen und Körnchensuspensionen einerseits, um strukturlose Säfte andererseits handelt. In letzterem Falle sind die hemmenden Narkotikakonzentrationen bedeutend höher. Wir können daher mit *Warburg* zwischen den „Strukturwirkungsstärken“ und den „Saftwirkungsstärken“ der Substanzen unterscheiden und als Erklärung für die größere Wirksamkeit in der Zelle ihre Anreicherung an den festen Strukturelementen wie Kern, Granula, Zellmembran, annehmen. *Dann müssen aber auch die Strukturen gleichzeitig der Sitz der Stoffwechsel-fermente sein.* — Das hier Gesagte läßt eine weitgehende Verwandtschaft der alkoholischen Gärung und der Sauerstoffatmung in physikochemischer Hinsicht erkennen. Die neuerdings gefundenen *chemischen* Beziehungen zwischen beiden können wir erst erörtern, nachdem wir kurz auf die Fortschritte der Gärungschemie eingegangen sind, die an die Buchnersche Zymasentdeckung anknüpfen.

¹⁾ Bestimmt man z. B. die molekulare Konzentration verschiedener Substanzen, die eben ausreicht, um eine völlige Narkose von Kaulquappen hervorzurufen, die sog. „narkotische Grenzkonzentration“, so findet man für die Alkohole (g. Molekül pro 1 l): 0,55 Methylalkohol; 0,3 Äthylalkohol; 0,11 norm. Propylalkohol; 0,04 norm. Butylalkohol; 0,023 (Gärungs-)Amylalkohol; 0,0004 Caprylalkohol; oder für die Ketone: 0,26 Aceton; 0,09 Methyläthylketon; 0,029 Diäthylketon; 0,019 Methylpropylketon usw.

IV.

Der Chemismus der Zuckergärung und die ihn bewirkenden Teilfermente.

Unsere Kenntnisse von dem Zerfallsprozeß des Zuckers über die Bruttoformel von *Gay Lussac* hinaus sind in den letzten Jahren vor allem durch die englischen Forscher *Harden* und *Young*⁽²⁰⁾ und ferner *C. Neuberg* erweitert worden. *Harden* und *Young* erwiesen zunächst die chemische Beteiligung des Phosphats an der Zuckergärung, und zwar in stöchiometrischem Verhältnis zum vergorenen Zucker: während sich jeweils ein Molekül Hexose mit zwei Molekülen Phosphorsäure zu einem Hexosediphosphorsäureester kondensiert, zerfällt gleichzeitig ein zweites Zuckermolekül in Alkohol und Kohlensäure. In einer zweiten Etappe wird die gebildete Hexosephosphorsäure wieder gespalten, anorganisches Phosphat wird wieder frei, und das Spiel beginnt von neuem.



Für jede dieser Etappen treten besondere Fermente in Tätigkeit, so daß sich die Zymase in ein Gemisch verschiedener Teilfermente aufspaltet. So wird die Reaktion II durch ein Ferment, „die Hexosephosphatase“ verursacht, das ganz andern Einwirkungen unterliegt als der Fermentkomplex der Gleichung I. Ja, es läßt sich zeigen, daß der starke Abfall der Gärgeschwindigkeit im Hefesaft gegenüber der lebenden Hefe nur durch einen relativen Mangel an Hexosephosphatase hervorgerufen ist, was mit der schlechten Extrahierbarkeit dieses Ferments in Zusammenhang steht^(21, 22). Man kann daher die Gärgeschwindigkeit im Saft vorübergehend bedeutend erhöhen, wenn man Phosphat im Überschuß hinzugibt, oder anhaltender, wenn man die hydrolytische Tätigkeit der Hexosephosphatase erhöht, was durch Zugabe von Natriumarseniat geschehen kann. Man erzielt so für längere Zeit im Hefesaft eine Gärgeschwindigkeit von etwa 50 % der vitalen Größe. Beim Studium der Kinetik der zellfreien Gärung im Anschluß an *Harden* und *Young* fand ich noch einen merkwürdigen Einfluß des Hexosephosphats auf die Geschwindigkeit. Bedient man sich statt des Buchnerschen Preßsafts eines Extrakts aus Trockenhefe, der nach der Vorschrift des russischen Forschers *Lebedew* hergestellt wird⁽²³⁾ und für chemische und kinetische Studien des enzymatischen Gärverlaufs sehr geeignet ist, so wird unter bestimmten Umständen die Angärung des Gemisches stark verzögert. Diese Verzögerung wird durch Spuren von Hexosephosphorsäure beseitigt, und der Anstieg der Gärgeschwindigkeit zu Beginn geschieht um so rascher, je höhere Konzentrationen des Esters man hinzugibt. Da sich nun die Hexosephosphorsäure während der Gärung bildet, so muß, was sich auch zeigen läßt, die Gärgeschwindigkeit anfangs in-

folge einer *autokatalytischen* Beschleunigung durch diese Substanz fortgesetzt steigen, bis sie durch andere Faktoren beschränkt wird.

Des weiteren haben die englischen Autoren ein Koferment der Gärung entdeckt, das neben dem Fermentgemisch „Zymase“ unentbehrlich für die Zuckerspaltung ist. Es ist den Enzymen gegenüber vor allem ausgezeichnet durch seine Kochbeständigkeit und Dialysierbarkeit, d. h. die Fähigkeit, durch Membranen wie Pergamentpapier, Fischblase, Kollodium, Gelatine zu diffundieren. Darauf beruht seine Abtrennung. Dialysiert man den Hefesaft in Pergamentschläuchen gegen Wasser, oder besser, preßt man ihn unter Druck durch Kollodium oder Gelatinemembranen hindurch — sogenannte Ultrafiltration —, so erhält man einen das Zymasegemisch enthaltenden Rückstand und ein Ultrafiltrat, die jedes für sich unwirksam sind, aber vermischt den Zucker vergären. Das so im Ultrafiltrat nachgewiesene (von dem gleichzeitig anwesenden Phosphat noch abzutrennende) Koferment läßt sich noch konzentrierter durch Kochen und Filtrieren des Hefesaftes („Kochsaft“) oder durch Wasserextrakt aus Acetonhefe gewinnen. Dieses Koferment ist nur für die Reaktion der *Harden*-schen Gleichung I, nicht für die Spaltung der Hexosephosphorsäure erforderlich. Wie es wirkt, ist unbekannt. Jedenfalls ist, wie ich kürzlich zeigte, die Gärgeschwindigkeit während der Phase, die ausschließlich durch die Gleichung I bestimmt wird, bei gegebener Zymasemenge nicht abhängig von der Menge des Koferments, sondern von seiner Konzentration¹⁾. Das Koferment verhält sich danach so, als ob es nicht chemisch am Gärungsprozeß teilnimmt, sondern eher wie eine notwendige Milieubedingung.

Die *Harden*-sche Gleichung I sagt nichts über die Zwischenstufen des Zuckerzerfalls, die in der gekoppelten Reaktion von dem zu Alkohol und Kohlensäure verwandelten einen Hexosemolekül durchlaufen werden. In der Tat klafft hier eine große Lücke, die durch zahlreiche Hypothesen, aber trotz emsigster Forschung wenig gesicherte experimentelle Fakten ausgefüllt wird. Wie schon erwähnt, hat es sich nicht beweisen lassen, daß Milchsäure ein solches Zwischenprodukt ist. Über die letzten Stadien der Gärung hat nun eine wichtige Entdeckung *C. Neubergs* einiges Licht verbreitet⁽²⁴⁾. Der Forscher zeigte, daß eine Reihe von organischen Säuren, an erster Stelle Brenztraubensäure, stürmisch von Hefesäften vergoren wird unter Bildung von Acetaldehyd und Kohlensäure: $\text{CH}_3 \cdot \text{C} : \text{O} \cdot \text{COOH} = \text{CH}_3 \cdot \text{CHO} + \text{CO}_2$.

¹⁾ Ändert man in einem Gärgemisch nur die Menge der Zymase, während man alles übrige, Volumen, Zuckerkonzentration, Phosphat- und Kofermentgehalt genau gleich hält, so ist die Gärgeschwindigkeit proportional der Zymasemenge, obwohl das Verhältnis (Koferment : Zymase) dabei sich stark verschiebt; hält man dagegen die Zymasemenge und alles übrige konstant und ändert nur den Kofermentgehalt, so ändert sich die Gärgeschwindigkeit mit dem letzteren. Daraus läßt sich der obige Schluß ziehen.

Der Acetaldehyd kann des weiteren teilweise zu Äthylalkohol reduziert werden. Ist das hier wirksame, von *Neuberg* als Karboxylase bezeichnete Ferment ein Bestandteil der Zymase und mithin Brenztraubensäure ein Zwischenprodukt der Zuckergärung? Diese Frage darf mit Wahrscheinlichkeit bejaht werden, zumal es *Neuberg* kürzlich gelang, den Acetaldehyd, der gewöhnlich nur in Spuren bei der Gärung auftritt, durch Natriumsulfit aus dem Gärgemisch abzufangen und in diesem Fall eine Ausbeute von 74 % der theoretisch zu erwartenden zu finden. Danach dürfte jedenfalls der Aldehyd ein normales Zwischenprodukt vorstellen⁽²⁵⁾. An der Karboxylasewirkung ist das Koferment nicht beteiligt⁽²⁶⁾; geht also der Zuckerzerfall über Brenztraubensäure, so kämen für seinen Eingriff wesentlich die früheren Phasen in Frage. Allerdings ist zu bedenken, daß Brenztraubensäure und Acetaldehyd eine zu hohe Oxydationsstufe vorstellen, um die alleinigen Durchgangsstadien des Zuckerabbaus zu sein. Es muß stets ein sauerstoffärmerer Körper auf der gleichen Abbaustufe zugegen sein, der pro Molekül Acetaldehyd ein Sauerstoffatom übernimmt und den Aldehyd dadurch zu Alkohol reduziert. Im Hefeextrakt läßt sich ein Reduktionsferment von außerordentlicher Wirksamkeit nachweisen, das vielleicht an dieser Stelle in den Gärverlauf eingreift. Doch bewegen wir uns hier auf ganz hypothetischem Boden.

V.

Das Koferment der Atmung und seine mutmaßliche Identität mit dem der Gärung.

Wir fragen nun, ob die Sauerstoffatmung zu dem geschilderten Verlauf der Alkoholgärung chemische Beziehungen erkennen läßt.

Es gelingt bei der Hefezelle selbst, die Buchnerschen Methoden, das Acetonverfahren, die Herstellung von Preßsaft bzw. von Lebedewschem Hefeextrakt zur Konservierung eines beträchtlichen Teils der *Sauerstoffatmung* ebensowohl wie zur Konservierung der Gärung zu benutzen⁽²⁷⁾. Zieht man nun derartige neutralisierte, stark sauerstoffzehrende Acetonhefe mit Wasser aus, so verliert sie das Oxydationsvermögen, erlangt es aber durch Zugabe des Wasserextrakts zurück. Ebenso erlischt die Sauerstoffatmung im Lebedewschem Extrakt durch Ultrafiltration und gründliches Nachwaschen des Rückstands, wird aber durch Hinzufügung des Ultrafiltrats, noch besser von Hefekochsaft, wieder hervorgerufen. Während die gewaschene Acetonhefe und der Ultrafiltrationsrückstand hitzeempfindlich sind und ihrem ganzen Verhalten nach das *Oxydationsferment* enthalten, verhält sich die dialysierbare und kochbeständige Substanz, die im Kochsaft, im Ultrafiltrat und Acetonhefeextrakt vorliegt, wie ein Koferment der Atmung. Sie sei als *Atmungskörper* bezeichnet. *Zahlreiche Versuche haben nun ergeben, daß dieser nicht nur in seinem physiologischen Ver-*

halten, sondern auch in seinen chemischen Eigenschaften weitgehend mit dem Koferment der Gärung übereinstimmt; er wird z. B. wie dieses durch Alkali sowie durch mehrstündiges Kochen allmählich zerstört, durch Säuren weniger geschädigt, durch 50 % Alkohol noch nicht, wohl aber durch 85 % Alkohol größtenteils ausgefällt, durch Tierkohle stark adsorbiert usw. Nichts widerspricht der Annahme, daß beide Körper ganz oder zum Teil identisch sind. Nun wird durch Zusatz eines reduzierbaren Farbstoffs die Oxydationsgeschwindigkeit der Hefepräparate um Mehrfache gesteigert, indem der Farbstoff sich als Sauerstoffüberträger betätigt. Dieser durch Methylencblau hervorgerufene Mehrverbrauch an Sauerstoff verhält sich im wesentlichen ebenso wie die Atmung. Er erlischt, wie auch das Reduktionsvermögen der Hefepräparate, durch Wasserextraktion bzw. Ultrafiltration und wird im alten Umfang durch Zugabe von Kochsaft, Ultrafiltrat usw. wiedererweckt. Offenbar haben wir es in allen Fällen mit demselben als Koferment wirkenden Körper zu tun.

Die Versuche, den atmungsunwirksamen Rückstand des Hefeextraktes ohne Zusatz des Atmungskörpers durch definierte chemische Substanzen zu aktivieren, führten ebenfalls zum Erfolg. Ganz besonders ist hierzu die uns schon bekannte Hexosediphosphorsäure geeignet. Der durch sie erregte Oxydationsvorgang verhält sich weitgehend ähnllich dem ursprünglichen. Er wird durch Narkotika in gleichem Umfang gehemmt, durch Erhitzen des Rückstandes vernichtet, durch Methylencblau um Mehrfache gesteigert. Trotzdem ist er nicht identisch mit ihm, und vor allem läßt sich zeigen, daß der Atmungskörper nicht dieser Phosphorsäureester ist. Auf die Bedeutung der Hexosephosphatoxydation kommen wir nochmal zurück.

Der Atmungskörper ist aber nicht auf die Hefe beschränkt. Vielmehr läßt sich der Hefekochsaft durch Kochsäfte aus tierischen Organen vollständig ersetzen. Die besten Resultate erzielt man mit heißem Wasserextrakt aus Froschmuskeln, der den Heferückstand stärker aktiviert als der Hefekochsaft selbst. Wenn nun der Atmungskörper mit dem Koferment der Gärung mehr oder weniger identisch ist, so muß auch dieses im „*Muskelkochsaft*“ enthalten sein. *Und das ist der Fall. Auch bei der Gärung kann heißer Organextrakt von Warmblütern oder Kaltblütern den Hefekochsaft ersetzen, er enthält das Koferment.* Wenn auch nicht im Verhältnis von Hefe- und Organkochsäften, so doch bei diesen untereinander geht die Wirksamkeit für Gärungs- und Atmungsregung parallel. Bei gleicher Herstellung der Extrakte ergibt sich beide Male die Reihenfolge Muskeln > Leber. Ovarien > Milch. Das Blutserum ist wirkungslos.

Die Gärungsaktivierung ist nur mit *heißen* Organauszügen möglich, die Atmungsregung auch mit kalten. Die Ursache liegt in einem

kochunbeständigen Hemmungskörper, der in den Organen enthalten, schon in kleiner Konzentration die Gärung hemmt, und zwar, wie sich zeigen läßt, durch Angriff an der Zymase. Daher ist er ohne Einfluß auf die Atmung. Merkwürdigerweise findet er sich in den Organen in proportionaler Menge zum Koferment. Er muß in den Zellen die Gärung jedenfalls verhindern! Wie dies zu deuten ist, sei dahingestellt.

VI.

Die mutmaßliche Rolle des gemeinsamen Koferments im Chemismus der Atmung und der Gärung.

Wenn wir nach der Bedeutung des Vorkommens des Gärungskoferments in den tierischen Organen fragen, wo doch, wie oben erörtert, keine alkoholische Gärung stattfindet, so kann uns nur die durch zahlreiche Versuche zwar nicht streng bewiesene, aber doch sehr nahegelegte Annahme weiterhelfen, daß das Koferment der Gärung zugleich ein Koferment der Atmung ist. *Nun rufen die Organkochsäfte auch die Atmung durch Wasserextraktion atmungsunwirksam gemachter tierischer Gewebe wieder hervor.* Es ist schon vor Jahren von den Schweizer Autoren *Batelli* und *Stern* angegeben, daß die Atmung tierischer Organe durch Ausziehen mit Wasser abgeschwächt, durch Zusatz von Wasserauszügen, speziell aus Muskulatur, wieder verstärkt werden könnte. Den atmungswirksamen Stoff ihrer Extrakte nannten sie *Pneïn*⁽²⁸⁾. Diese Feststellungen errangen keine allgemeine Anerkennung; auch ich fand eine Reihe von Widersprüchen zwischen dem von den Schweizer Forschern geschilderten Verhalten des *Pneïns* und dem hier behandelten Atmungskörper, worauf indes an dieser Stelle nicht einzugehen ist.

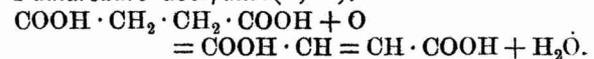
Der leicht nachzuweisende Tatbestand ist dieser: Schneidet man Froschmuskulatur mit der Schere in feine Stücke und zieht sie dann wiederholt mit viel destilliertem Wasser aus, so ist die Atmung auf Null gesunken. Nach Zusatz von Muskelkochsaft kann man bis 50 % der Atmung wieder erhalten. Dabei ist zu bemerken, daß die Atmung der Muskeln durch Zerschneiden auf über das Zehnfache steigt, so daß die reaktivierte Atmung bis zum Fünffachen der vitalen Oxydationsgröße beträgt. Im allgemeinen verhält sich die wiedererregte Atmung nicht anders als die ursprüngliche, nur wird etwas weniger Kohlensäure im Verhältnis zum Sauerstoff gebildet (volumetrisches Verhältnis der Kohlensäure zum Sauerstoff 0,8 statt 1).

Die Beseitigung der Gewebeatmung durch Wasserextraktion und ihre Reaktivierung durch Organextrakte ist zwar am leichtesten an der Muskulatur nachzuweisen, aber nicht auf diese beschränkt. So kann man auch die Körnchensuspension der Leberzellen durch Zentrifugieren in Salzlösung inaktivieren und durch Zusatz von Muskel- oder Leberkochsaft zu einem gewissen Grade zur Atmung wiedererregen. Indirekt geht die Ubiquität dieses Mechanismus auch daraus

hervor, daß verschiedene Organkochsäfte ebenso wie der Alkoholgärung sich auch der Muskelatmung gegenüber als wirksam erweisen.

Wenn wir danach annehmen müssen, daß wir es hier mit einem allgemeinen Koferment der Atmung zu tun haben, das ganz oder teilweise gleichzeitig auch Koferment der Gärung ist, werden wir als wahrscheinlichste Folgerung zu ziehen haben, daß diejenigen Phasen der Atmung und Gärung, bei denen es sich betätigt, nahe verwandt, vielleicht sogar identisch sind. Können wir über diese Phasen etwas aussagen? Oben wurde bereits erwähnt, daß Hexosephosphorsäure die Oxydation in gewaschenem Hefesaftückstand wiedererregt, während reine Hexosen für sich unwirksam sind. Ähnlich, aber schwächer, wirken auch andere organische Phosphorsäuren, wie Glycerinphosphorsäure. Nun hat *Embden* mit seinen Mitarbeitern eben diese Hexosediphosphorsäure, die ja in der Gärungsreaktion beteiligt ist, in der Muskulatur nachgewiesen und es wahrscheinlich gemacht, daß sie die Vorstufe der bei der Kontraktion des Muskels auftretenden Milchsäure ist⁽²⁹⁾. Da der Ester zweifellos im Muskel aus der Glukose entsteht, spielt sich hier ein ganz analoger Vorgang ab, wie in der ersten Gärungsphase. Auch der extrahierte Muskel zeigt mit Hexosephosphorsäure ein allerdings ziemlich schwaches Oxydationsvermögen, während er Hexosen gegenüber unwirksam ist. Sehr erheblich ist aber die Oxydationserregung im Muskel durch Glycerinphosphorsäure. Sicherlich wird dabei das Glycerin selbst oxydiert, gleichzeitig wird eine dem Sauerstoffverbrauch ungefähr äquimolekulare Menge Phosphorsäure abgespalten und Kohlensäure gleich einem Drittel des Sauerstoffs gebildet. Nun gelingt es weder mit Glycerin in Gegenwart von Phosphat, noch mit der dem Phosphorsäureester analog gebauten Glycerinessigsäure, eine Oxydation zu erhalten, eine recht geringfügige mit Glycerinsäure. Die Glycerinphosphorsäure stellt als Bestandteil des *Lecithins* einen normalen Baustein der tierischen Gewebe vor. Wir dürfen hiernach immerhin die Annahme aussprechen, daß die *Veresterung mit Phosphorsäure für eine Reihe organischer Moleküle Bedingung der Oxydation ist*, und da dieser selbe Vorgang sich auch in der Anfangsphase der Gärung abspielt, so ist die Vermutung naheliegend, daß an dieser Stelle der *Eintritt des gemeinsamen Koferments erfolgt*.

Doch gibt es sicher auch Verbindungen, die ohne Veresterung mit Phosphorsäure oxydiert werden können. So wird z. B., wie *Thunberg* und genauer *Einbeck* nachwies, die Bernsteinsäure von völlig ausgewaschener Muskulatur in *Fumarsäure überführt*^(30, 31).



Von einigen anderen mehrbasischen Säuren, deren atmungssteigernde Wirkung auch zuerst von *Thunberg* erkannt wurde, *Fumarsäure*, *Zitronensäure*, *Äpfelsäure*⁽³²⁾, konnte ich auch zeigen, daß