

# Die Blattfermentation als Autolyse

Von

A. FREY-WYSSLING

(Pflanzenphysiologisches Institut der E. T. H.)

**Begriff der Autolyse.** Wenn ein Lebewesen bei gewöhnlicher Temperatur getötet wird, bleiben die zahlreichen Fermentsysteme, die das Stoffwechselgeschehen der Lebensvorgänge katalysieren, vorerst unversehrt. Die Enzyme sind zwar sehr labile chemische Verbindungen, die sich namentlich durch eine grosse Hitzeempfindlichkeit auszeichnen; aber durch den Tod der Zellen werden sie nicht zerstört. Sie entfalten ihre chemische Tätigkeit als Beschleuniger von Ab- und Umbaureaktionen weiter. Während ihnen jedoch in den lebenden Geweben das Substrat für ihr Wirkungsfeld in geregelter, koordinierter Weise zur Verfügung gestellt wird, hört dieses symphonische Zusammenspiel nach dem Tode auf. Es folgt kein weiterer Nachschub der umzusetzenden Substrate, und die Fermentsysteme mit ihren aktionsbereiten Wirkungsgruppen wären bald zur Tatenlosigkeit verurteilt. Aber ihre Affinität zu dem Substrat, auf das sie spezialisiert sind, ist so gross, dass sie beginnen, entsprechende chemische Bindungen der Zellbausteine anzugreifen: Die allgegenwärtigen Desmolasen beginnen den Zelleib als Atmungsmaterial zu verwerten, und die Hydrolasen die zelleigenen Proteine und Lipide zu zerlegen.

Diese Enzymtätigkeit erfolgt nicht geordnet wie in der lebenden Zelle, sondern es herrscht gewissermassen ein Wettbewerb um die im getöteten Protoplasma eingebauten Substrate, ein Kampf Aller gegen Alle; ein Freilauf der Fermente, wie man den Prozess bezeichnet hat. Diese Selbstzerfleischung der Zellen durch chemischen Abbau bis zum Zusammenbruch der submikroskopischen Zellstrukturen ist die *Autolyse*.

In der Enzymologie wird von der Autolyse reichlich Gebrauch gemacht. Nur wenige Enzyme lassen sich aus intakten Zellen extrahieren. Die meisten, und gerade die lebenswichtigsten (Atmungsfermente, Dehydrasen usw.), sind als sogenannte *Desmoenzyme* unlöslich an das Gelgerüst des Zellplasmas gebunden. Beim erwähnten Kampfe Aller gegen Alle wird jedoch die Verankerung der Desmoenzyme zerstört, und ihre Wirkungsgruppen können mit einem relativ kleinen kolloiden Träger in Lösung gehen und als Lyofermente gewonnen werden. Bei der Herstellung von derartigen Autolysaten geht man so vor, dass man die Zellen zuerst mit Sand mechanisch zerreibt und sie dann sich selbst überlässt. Um eine Infektion durch Bakterien zu verhüten, werden kleine Mengen eines Antisepticums zugegeben in Form von Chloroformwasser, Toluol oder Essigester. Diese Desinfektionsmittel helfen ihrerseits durch ihre Lipide lösenden Eigenschaften beim Zusammenbruch der Zellstruktur mit. Nach Bebrütung des hergestell-

ten Zellbreies bei geeigneter Temperatur setzt deshalb die Autolyse die gewünschten Fermente nach kurzer Zeit frei und führt sie in den gelösten Zustand über. Durch Filtration oder Zentrifugierung wird dann die erhaltene Lösung von den grobdispersen Bestandteilen des Autolysates abgetrennt.

Die Autolyse ist jedoch nicht nur für die Enzymologie von eminenter Bedeutung, sondern sie spielt überall dort eine grosse Rolle, wo wir es mit abgetöteten Lebewesen oder Geweben zu tun haben. Wenn ein Tier verendet, so führen in seinem Inneren autolytische Prozesse zu weitgehender Selbstauflösung, lange bevor die Bakterien und andere Mikroben in die von der Aussenwelt gut abgeschlossenen Gewebe eingedrungen sind. Erst durch die Autolyse entsteht der günstige Nährboden, auf dem sich die Mikroben dann in so ungeheurer Zahl vermehren. Auch beim Fleische geschlachteter Tiere sind die autolytischen Prozesse wichtig; denn im frischgeschlachteten Zustande gekocht, ist es bekanntlich weniger bekömmlich, als wenn man es vor dem Konsume kurze Zeit lagert, wobei bereits ein gewisser Abbau, gleichsam als Vorverdauung, einsetzt.

**Die Blattgärung.** Bei der Trocknung von Blättern werden die Zellen durch Verlust ihres Schwellwassers und durch die damit verbundene Plasmaentquellung getötet. Erfolgt diese Vertrocknung ohne Zuhilfenahme künstlicher Wärmequellen, oder wenn solche zur Verwendung kommen bei Temperaturen unter  $70^{\circ}$  C, so erleiden die in den Zellen enthaltenen Fermente keinen Schaden. Mit dem getrockneten Blattwerke gelangt daher dessen ganzes Enzymarsenal in mehr oder weniger unversehrtem Zustande in die Scheunen und Speicher. Es ist daher nicht verwunderlich, dass in solchem Blattmateriale Umsetzungen auftreten, sobald die Feuchtigkeits- und Temperaturverhältnisse den vorhandenen Fermenten die Entfaltung ihrer Tätigkeit gestatten. Trotz dieser einfachen Sachlage, die die Blattfermentation als autolytischen Prozess kennzeichnet, herrschen über die Gärung getrockneter Blätter ganz verschiedene, sich widersprechende Ansichten. Dies ist um so merkwürdiger, da die Gärungserscheinungen gestapelter Blattmassen von sehr grosser wirtschaftlicher Tragweite sind. Bei Dürrfutter für das Vieh ist die Gärung unerwünscht, weil leicht eine Übergärung eintritt, die den Nährwert des Futterstockes stark herabsetzt (PALLMANN und DÖNZ); man trachtet daher die stürmische Stoffumsetzung möglichst zu dämpfen. Umgekehrt ist die Fermentation für getrocknete Blätter, die dem Menschen als Genussmittel dienen, die notwendige Voraussetzung für die Entwicklung der gewünschten Geruch- und Geschmacksstoffe, so dass ihr ein ganz besonderes Interesse zugewendet und die Lenkung der Gärung in ganz bestimmte Bahnen angestrebt wird. Solche Bestrebungen werden jedoch oft ohne Berücksichtigung der autolytischen Vorgänge im Blatte durchgeführt, deren Kenntnis uns vor unzweckmässigen Massnahmen bewahren könnte. Obwohl zur Zeit über die Autolyse von Blättern noch recht wenig Einzelheiten bekannt geworden sind, soll doch versucht werden, an drei verschiedenen, praktisch wichtigen Fällen der Blattgärung die grosse Bedeutung dieser Erscheinung für die Fermentation darzulegen.

## 1. Die Tabak-Fermentation

Wenn die geernteten Tabakblätter zum Trocknen aufgehängt werden, leben sie vorerst weiter; ihre Stärkevorräte werden abgebaut und veratmet, während gleichzeitig die Vergilbung einsetzt. Dieser Vorgang verläuft am besten bei 27—30° C und 75—80 % Luftfeuchtigkeit. Der Abbau des Chlorophylls ist ein Zeichen des Hungerstoffwechsels, der aus Mangel an aus dem Boden zugeführten Nährstoffen eintritt. Erst wenn die Blätter richtig vergilbt sind, darf man dazu übergehen, sie durch scharfe Trocknung (evtl. auf künstlichem Wege bei 70—80° C) zu töten, d. h. ihr Zellprotoplasma irreversibel austrocknen zu lassen. Erfolgt der Austrocknungstod, bevor die Vergilbung abgeschlossen ist, so trocknet das Blatt grün ein und ist dann als Tabak minderwertig. Solche Schäden treten bei uns infolge von plötzlichen Föhneinbrüchen auf, wenn es nicht gelingt, dem Blattgut die für den Hungerstoffwechsel notwendige Feuchtigkeit durch geeignete Massnahmen (z. B. Schliessung der Trockenscheunen) zu bewahren.

Die getrockneten Blätter müssen wir als abgetötet bezeichnen, da wir in ihren Zellen keine Lebensäusserungen mehr erkennen können. Der vertrocknete Zellinhalt zeigt weder Plasmastromung noch Plasmolysierbarkeit. Es handelt sich aber auch nicht etwa um latentes Leben wie in den Zellen von Sporen oder Samen, deren dehydratisierte «scheintote» Zellen durch Wasseraufnahme wieder zu aktiven Lebensäusserungen erweckt werden können; denn der verdorrte Zellinhalt getrockneter Blätter lässt sich durch Wässerung nicht mehr in den normalen Quellungszustand zurückführen: Er ist irreversibel entquollen.

Trotzdem sind die Fermente in den vertrockneten Zelleibern nicht zerstört; und wenn man die Blätter bei geeigneten Aussenbedingungen aufstapelt, so fangen sie an zu gären.

Die Ursachen dieser Gärung sind in ganz verschiedenen Richtungen gesucht worden. Da wie bei einer Verbrennung Wasser und Kohlensäure auftreten, lag es nahe, an eine rein chemische Reaktion durch Oxydation mittelst Luftsauerstoff zu denken (BOEKHOUT und DE VRIES); weil jedoch organische Verbindungen bei den vorhandenen Temperaturverhältnissen nicht mit messbarer Geschwindigkeit oxydiert werden, zog man die Mitwirkung anorganischer Katalysatoren in Betracht.

Diese Oxydationstheorie hat jedoch nie die Anhängerschaft erreicht wie die Bakterientheorie von SUCHSLAND. Nach diesem Forscher wird die Tabakfermentation durch Mikroben bedingt, die in der Natur auf den Blättern vorkommen, ähnlich wie die Hefezellen auf den Weinbeeren. Durch die Stapelung sollen diese Bakterien in gewaltiger Menge zur Entwicklung gelangen. und die gewünschten Umsetzungen im Blattgute bewirken.

Als dritter Erklärungsversuch ist die Enzymtheorie von LOEW zu erwähnen, der als erster die im Blatt vorhandenen Fermente für die Gärung verantwortlich machte und bewies, dass der Feuchtigkeitsgehalt von getrocknetem Tabak (ca. 18 %) für die Entwicklung von Bakterien viel zu gering ist; denn

diese können sich erst bei einem Wassergehalt des Blattgutes von über 35—40 % reichlich vermehren. Den damaligen Kenntnissen entsprechend legte LOEW vor allem Gewicht auf die Gegenwart von Oxydase, Peroxydase und Katalase in den Blättern. Seither ist jedoch der ganze Fragenkomplex von NEUBERG und dann namentlich durch die Schule von SMIRNOW an der russischen Tabaksversuchsstation in Krasnodar gründlich bearbeitet worden. Wir wissen daher heute, dass in den trocknenden Tabakblättern folgende Enzyme vorhanden sind: Amylase, Inulinase, Pektase, Glukosidasen, Proteasen, Peptidasen, Amidasen und Esterasen, die wegen ihrer hydrolytischen Spaltungstätigkeit als *Hydrolasen* zusammengefasst werden; ferner das Enzymgemisch Zymase, Desaminase, Karboxylase und Dehydrasen, die zur Gruppe der *Desmolasen* gehören.

Die Desmolasen führen den Abbau der organischen Substanzen ohne Mithilfe von Wasser durch. Als Endergebnis ihrer Tätigkeit wird Kohlensäure und Wasserstoff von den angegriffenen Kohlenstoffgerüsten abgespalten. Die Kohlensäure entweicht, während der Wasserstoff ein verschiedenes Schicksal erleidet, je nachdem ob aerobe oder anaerobe Verhältnisse herrschen. Unter aeroben Bedingungen wird er wie bei der Atmung durch besondere Fermente auf aktivierten Luftsauerstoff als Akzeptor übertragen, wobei *Wasser* und *Wärme* entstehen. Bei Ausschluss von Luftsauerstoff figurieren dagegen die Abbauprodukte der Molekülspaltung als Akzeptoren und werden durch den freigesetzten Wasserstoff hydriert. Auf diese Weise entsteht z. B. aus dem Spaltungsprodukt Acetaldehyd Aethylalkohol.

Es ist nun anzunehmen, dass diese Prozesse in den getrockneten Blättern langsam weitergehen, da ja die Fermente nicht zerstört sind. Die Hydrolasen können freilich kaum arbeiten, da sie für ihre Tätigkeit freies Wasser benötigen. Die Desmolasen sind dagegen nur dadurch gehindert, dass die Substratwanderung zu den Wirkungsgruppen, die auf dem Wege der Diffusion erfolgt, blockiert ist. Sofern jedoch bereits Kontakt zwischen Ferment und Substrat besteht, können desmolytische Prozesse vor sich gehen, und weil die Trocknung der Blätter unter aeroben Bedingungen erfolgt, werden kleine Mengen von Wasser und Wärme entstehen. Diese latente Gärung oder postmortale Atmung kann sich jedoch nicht bemerkbar machen, da die geringen Wasser- und Wärmemengen durch die Konvektion der die Blätter umspülenden Luft beständig weggeführt werden.

Stapelt man nun die Blätter zu einem Stock, wird die latente Fermentation manifest. Das gebildete Wasser kann im Innern des Stapels nicht mehr verdunsten, und die schlechte Wärmeleitung des Blattgutes verhindert die Entweichung der entstehenden Wärme. Die aerobe Gärung kann freilich nur so lange dauern, bis der im Stapel vorhandene Sauerstoff aufgebraucht ist. Aber dies genügt, um die Blattmasse zum Schwitzen zu bringen, und mit Hilfe des freigelegten Wassers beginnen nun die Hydrolasen ihre Tätigkeit: Sie spalten die vorhandenen Polysaccharide zu Monosacchariden, Polypeptide zu Aminosäuren und zerlegen die mannigfachen Glukoside in ihre

Zucker und Aglukone. Der letzte Vorgang ist besonders wichtig, denn viele Geruch- und Aromastoffe sind in den Blättern in Form von Glukosiden vorhanden, in welchem Zustande sie nicht flüchtig sind; und erst wenn sie auf fermentativem Wege freigelegt werden, können wir sie mit unseren Sinnesorganen wahrnehmen.

Zufolge dieser Vorgänge wird nun das Schwitzwasser, das aus den fermentierenden Blättern austritt, zu einem ausgezeichneten Nährboden für Mikroben, denn es enthält gelöste Zucker und Stickstoffverbindungen. Erst jetzt kann eine rege Bakterienentwicklung einsetzen. Aber diese aufblühende Mikrobenflora ist nicht die Ursache, sondern die Folge der Tabakfermentation. Die Anhänger der Bakterientheorie können nicht erklären, wieso der Stapel im Innern feucht wird. Aber ohne die nötige Feuchtigkeit ist keine Bakterientätigkeit denkbar. Sie sind daher geneigt, den Beginn der Fermentation blatteigenen Abbauvorgängen zuzuschreiben, aber der weitere Verlauf und namentlich die Aromabildung soll durch die Bakterientätigkeit zustandekommen.

Die Frage, ob Bakterien massgebend an der Fermentation beteiligt sind, wäre theoretisch durch die Verfolgung der Gärungsprozesse in sterilisierten Blättern leicht zu entscheiden. Aber praktisch ist eine einwandfreie Sterilisation ohne Beschädigung der autolytischen Fermente schwierig durchzuführen, denn durch die Hitzesterilisation werden die Enzymsysteme zerstört, und chemische Sterilisation mit Sublimat, Formol oder Chloroform ist nicht leicht so zu lenken, dass ohne jegliche Schädigung des Blattes alle Pilz- und Bakteriensporen auf der behaarten Blattoberfläche quantitativ vernichtet werden. Immerhin bestehen ältere Angaben von JENSEN, und FODOR und REIFENBERG, dass chemisch desinfizierte Tabakblätter normal fermentieren. Sie bezeichnen die Bakterienflora nicht sterilisierter Blätter als inkonstant und zufällig.

SMIRNOW löste die Frage auf einfacherem Wege, indem er zeigte, dass Orienttabak mit 14—18 % Feuchtigkeit bei Temperaturen unter 40° C normal fermentiert, ohne dass sich nennenswerte Bakterienmengen entwickeln. GIOVANNONZI, der die Fermentation mehr vom mikrobiologischen Standpunkte aus verfolgt, wendet dagegen ein, dass jene Fermentation nicht mit derjenigen von Zigarrentabak zu vergleichen sei, die ihr Optimum bei einem Wassergehalt von über 30 % und Temperaturen von 55—60° C hat.

Unter solchen, für die Bakterien optimalen Wachstumsbedingungen lässt sich ihre Massenentwicklung kaum unterbinden, und es ist daher schwierig zu entscheiden, ob im feuchten Fermentiergute bei 55° C die Autolyse die chemischen Umsetzungen alleine beherrscht. Es lassen sich jedoch viele Argumente dafür geltend machen, dass die Bakterien nur eine unwesentliche Zutat, nicht aber die notwendige Voraussetzung für den richtigen Verlauf der Fermentation sind. In erster Linie ist zu erwähnen, dass die Bakteriologen sich sozusagen allein auf die Auszählung der Bakterien beschränken und für die erwähnten optimalen Entwicklungsbedingungen über 2 Milliarden Bakterien je Gramm Tabak feststellen (REID, Mc KINSTRY und

HALEY; GIOVANOZZI). Was für Gärungsprozesse diese Bakterien jedoch *in vitro* auslösen und welches ihre spezifischen Fermentsysteme sind, wird nirgends angegeben. Im Gegensatz dazu sind die autolytischen Prozesse im Blatte durch SMIRNOW und seine Schule chemisch genau untersucht worden, und man weiss, dass die für den Abbau notwendigen Fermente bereits im Blatte vorhanden sind. Jene können daher das Substrat an Ort und Stelle verarbeiten, während die an der Oberfläche der Blätter sitzenden Bakterien nur den ausgeschwitzten Gärungssaft weiter abbauen können. Bei der geplanten «Lenkung» der Edulgärung von Tabaken durch Bakterien, wie dies beim Weine durch besondere Hefestämme geschieht, muss ferner berücksichtigt werden, dass bei der Gärung des Traubensaftes durch die Gasentwicklung eine beständige Homogenisierung des Gärgutes erfolgt, während mit Bakterien beimpfte Blätter ein sehr heterogenes System vorstellen, auch wenn man durch sorgfältige Besprengung mit Bakteriensuspensionen für eine möglichst gleichmässige Verteilung der sich bildenden Kolonien gesorgt hat. Man darf daher in die Verbesserung der Tabakgärung durch eingepflichte Bakterien keine grosse Hoffnung setzen.

Ein letztes Argument, das gegen die entscheidende Mitwirkung von Mikroben spricht, ist die Raschheit, mit der die Fermentation unter optimalen Bedingungen abläuft. Während bei der ursprünglichen Fermentierung in Stapeln die Gärung 4 bis 8 Wochen dauerte, wobei die Stapel mindestens zweimal umgesetzt werden musste, um eine Übererwärmung im Innern zu vermeiden, kann heute die sogenannte künstliche Gärung in Konditionierungskammern mit optimalen Temperatur- und Feuchtigkeitsverhältnissen in wenigen Tagen zum Abschluss gebracht werden. Es ist fraglich, ob sich die hypothetische Bakterienflora ohne Beimpfung in so kurzer Zeit genügend rasch entwickeln kann.

Man kann sich daher die Tabakgärung gut ohne Bakterientätigkeit denken, während sie ohne richtige Einleitung der autolytischen Prozesse unmöglich ist. Die Grundlage der Tabakfermentation bildet daher die Autolyse.

## 2. Die Tee-Fermentation

Die Gärung bei der Herstellung von Schwarztee ist ein Vorgang, den man früher ebenfalls gerne mikrobieller Tätigkeit, namentlich der Mitwirkung von Hefen zuschrieb. Heute ist man jedoch zur Einsicht gelangt, dass Mikrobeninfektionen bei der Teegärung eher schädlich sind, weil gerne Buttersäurebakterien überhandnehmen und dem Tee statt ein besseres Aroma einen üblen Geschmack verleihen. Man arbeitet daher in den Fermentierräumen der modernen Teeplantagen mit peinlicher Sauberkeit, um das Gär-gut möglichst steril und die Entwicklung der Mikrobenflora hintanzuhalten (SPRECHER).

Die geernteten Teeblätter und Knospen werden zuerst gewelkt, um dem Gewebe seinen Turgor und damit seine Brüchigkeit zu nehmen. Darauf wird das gewelkte Teegut gerollt, in Kleinbetrieben von Hand, oder auf Grossplantagen in riesigen, als Roller bezeichneten Maschinen. Dadurch werden die Zellen des Mesophylls zerquetscht. Der Zellsaft, der abbaufähige Gerb- und Aromastoffe in Form von Glukosiden enthält, wird auf diese Weise mit dem Zytoplasma vermischt, das die verschiedenen Fermentsysteme birgt. Es setzt daher alsbald eine autolytische Gärung ein.

Für die Durchführung der Gärung wird das gerollte Blatt auf peinlich rein gehaltenen, mit glasierten Platten belegten Bänken oder Fluren in dünner Lage von nur 4 cm Mächtigkeit ausgelegt. Auf durchlöcherter Unterlage kann die Mächtigkeit bis 6 cm aufgeführt werden. Die optimalen Fermentations-Bedingungen für die Gewinnung eines aromatischen Tees sind 25—26° C bei 95—98 % Luftfeuchtigkeit. Diese Voraussetzungen werden in den Fermentierkammern auf künstlichem Wege hergestellt, und die Schüttung der Gärmasse in dünner luftiger Schicht erfolgt, um eine Erwärmung, die in einem Gärstocke auftreten müsste, zu vermeiden.

Vom Standpunkte der Autolyse aus haben diese durch Erfahrung herausgefundenen optimalen Gärbedingungen zur Folge, dass die Tätigkeit der Desmolasen, die als wichtigste Gärprodukte Kohlensäure, Wasser und Wärme liefern, relativ bescheiden bleibt. Denn das Optimum ihrer katalytischen Wirkung liegt bei höheren Temperaturen, über 30° C. Der Gewichtsverlust bleibt daher bei der Teegärung in bescheidenem Rahmen. Dagegen entfalten offenbar die für die Fermentation wichtigen Hydrolasen bei dieser niedrigen Temperatur ihre volle Tätigkeit, indem sie die Gerbstoffe in löslicher und die gebundenen Aromastoffe in flüchtiger Form freilegen. Erfolgt die Gärung über 30°, so bleiben die Gerbstoffe unlöslich, und der von solchem Tee gewonnene Auszug schmeckt fade.

Auch die Farbstoffbildung, die dem Tee seine schwarz-goldene Farbe verleiht, ist enzymatischer Natur. Offenbar ist jenes Fermentsystem jedoch ziemlich temperaturempfindlich, denn beim Erwärmen der gerollten Teeblätter in eisernen Pfannen auf etwa 55° wird es bereits zerstört, und man erhält den in Ostasien beliebten Grüntee. Die Hydrolasen, die das spezifische Teearoma entwickeln, werden jedoch bei dieser Temperatur noch nicht in Mitleidenschaft gezogen, so dass dieser Grüntee von den Chinesen zur Aromabildung noch einer Fermentation unterworfen wird. Es ist verständlich, dass die Zubereitung von aromatischem Grüntee eine heikle Aufgabe ist, die Fingerspitzengefühl voraussetzt. Erhitzt man die gerollten Blätter zu wenig, werden sie nachher bei der Fermentation braun, und erhitzt man sie zuviel, so unterbleibt die Aromabildung, weil die betreffenden Hydrolasen zerstört sind.

Bei der japanischen Methode Grüntee zu bereiten, wird das gerollte Blattgut bei 80—95° gedämpft, wodurch aller enzymatischen Tätigkeit ein Ende bereitet wird. Dieser Tee erhält dann eine einheitliche, von allen Zufälligkeiten unabhängige grüne Farbe. Aber der Vorteil der schönen Farbe wird

mit dem Verzicht auf jegliche Aromabildung erkaufft, die dem Europäer die Hauptsache, dem Japaner jedoch offenbar Nebensache ist.

Aus diesem Beispiel ist deutlich zu ersehen, dass man die Blattfermentation tatsächlich l e n k e n kann. Aber dies hat nicht durch Zugabe von Mikroben zu geschehen, sondern indem man den günstigsten Wirkungsbereich der verschiedenen in den getrockneten Blättern vorhandenen Fermentsysteme untersucht, und dann die Fermentation durch künstlich geschaffene Aussenbedingungen so leitet, dass die gewünschten aromabildenden Hydrolasen ihre katalytische Tätigkeit optimal entfalten können.

### 3. Die Heustock-Gärung

Die Ansichten über die Selbsterhitzung des Heues haben ähnliche Wandlungen erfahren wie die Theorien über die Tabakfermentation; wobei freilich noch die Komplikation der häufig auftretenden Selbstentzündung mit erklärt werden muss. Es gab Forscher, die die Gärung in erster Linie der Bakterientätigkeit zuschrieben (MIEHE), und es wurden besondere thermophile Bakterien entdeckt (*Bacterium calfactor*). Andere wieder entwickelten rein chemische Oxydationstheorien (BOEKHOUT und DE VRIES; LAUPPER), wobei Sauerstoff verdichtende Stoffe wie pyrophore Kohle oder pyrophores Eisen angenommen wurden. Aber alle diese Ansichten mussten nach und nach wieder verlassen werden. Besonders hervorzuheben ist, dass namentlich die Bakteriologen zum Schlusse kommen, dass die reiche Bakterienflora nässender Heustöcke eine Sekundärererscheinung ist (DÜGGELI; BURRI). DÜGGELI zeigte, dass die riesige Bakterienvermehrung eine Folge der Heustockerwärmung ist, und BURRI schreibt: «Es ist eben zu beachten, dass das Zusammentreffen der drei Faktoren Nährstoffe, Wärme und Feuchtigkeit unter allen Umständen einer mehr oder weniger üppigen Bakterienvegetation ruft, welcher Umstand leicht Veranlassung geben kann, Ursache und Wirkung zu verwechseln.»

Man muss deshalb in erster Linie die Autolyse für das Verständnis der mannigfaltigen Vorgänge bei der Heustockgärung heranziehen. Im allgemeinen unterscheidet man bei der Heustockerwärmung drei verschiedene Stufen, die von SMIT folgendermassen charakterisiert werden:

Nach der Stapelung «atmet» das getrocknete Gras weiter unter Bildung von Kohlensäure und Wasser. Es erfolgt also eine postmortale Atmung unter Einwirkung der Desmolasen. Zufolge der schlechten Wärmeleitung erfolgt eine Erwärmung (Atmungswärme), die die Temperatur bis auf 45—50° auführt. Als zweite Stufe wird eine weitere Temperatursteigerung durch thermophile Bakterien (*Bacterium calfactor*, *Actinomyces thermophilus*) angenommen, die bis 75—85° führe, wo das Temperaturmaximum dieser hitzebeständigen Lebewesen erreicht ist. Obschon die Wärmeproduktion dieser Lebewesen bei ihren Stoffumsetzungen erwiesen ist, darf man sie nicht aus-



schliesslich für die Weitererwärmung des Heustockes verantwortlich machen. Denn die verschiedenen autolytischen Fermentsysteme werden bei 50° keineswegs zerstört. Ihre Tätigkeit erstreckt sich bis über 80° hinauf, und es müsste daher abgeklärt werden, welcher Prozess mehr Wärme liefert, die verwilderten Enzymsysteme, die die organische Substanz in den Zellen an Ort und Stelle abbrechen, oder die thermophile Mikrobenflora, die die ausgeschwitzten Säfte weiterverarbeitet.

Bei 80° und darüber folgt dann die rätselhafte Stufe der Überhitzung mit der Gefahr der Selbstentzündung. Es treten Ammoniakdämpfe und oft beginnende Verkohlung auf. Dann steigt die Temperatur sprunghaft. TRUNINGER wies nach, dass wenn man durch feingeschnittenes Heu Luft von über 100° Temperatur leitet, die Hitze plötzlich bis 230° steigen kann, und SMIT erreichte bei der Wiederholung solcher Versuche sogar bis über 400°. Damit ist aber der Entflammungspunkt bei Gegenwart von Luftsauerstoff bereits überschritten. Man nimmt an, dass sich bei der trockenen Destillation, die über 80° einsetzt, ungesättigte Verbindungen bilden, die bei der herrschenden Temperatur Sauerstoff gierig aufnehmen und durch Selbstoxydation zu starker Wärmebildung führen<sup>1)</sup>. Da bei der trockenen Destillation ausserdem freies Wasserstoffgas gebildet wird, kann dann die Entzündung oft plötzlich explosionsartig erfolgen. Gewöhnlich beginnt der Brand an der Oberfläche des Stockes, weil im Inneren zu wenig Luftsauerstoff vorhanden ist.

Es ist nun interessant festzustellen, dass die Stoffe Ammoniak, ungesättigte Kohlenstoffverbindungen und Wasserstoff, die in der Phase der Überhitzung auftreten, in den lebenden Zellen durch die Tätigkeit der Desmolasen (Dehydrasen, Desaminase) auch auftreten. Sie kommen freilich nur in Spuren frei vor; denn der abgespaltene Wasserstoff wird im normalen Stoffwechsel auf Wasserstoffakzeptoren und der Ammoniak durch die sogenannte Umaminierung von Aminosäuren auf Ketosäuren übertragen. Immerhin lässt sich eine, allerdings verschwindend kleine, Wasserstofftension in den Geweben durch die Messung des sogenannten Redoxpotentials nachweisen. Auch die Bildung von ungesättigten Verbindungen, wie z. B. Fumarsäure aus Bernsteinsäure durch bestimmte Dehydrasen, erfolgt im lebenden Gewebe nur transitorisch. Wenn man sich nun vergegenwärtigt, dass die das Leben charakterisierenden aufeinander abgestimmten Übertragungsmechanismen nach dem Tode nicht mehr richtig funktionieren, so wäre jedoch eine Freisetzung solcher Spaltprodukte denkbar. Bei der Temperatur der einsetzenden trockenen Destillation kommt freilich eine Mitbetätigung der erwähnten Desmolasen kaum mehr in Betracht; aber man könnte sich doch vorstellen, dass die Hitzespaltung durch die Tätigkeit der Desmolasen bei niedrigerer Temperatur bereits vorbereitet und in gewisse Bahnen geleitet wäre.

<sup>1)</sup> Es würde also der gleiche Prozess stattfinden wie bei der Selbstentzündung von mit ungesättigten Ölen getränkten Lappen.

#### 4. Zusammenfassung

Die Ergebnisse der neueren Enzymologie zeigen, dass man die Blattfermentation in erster Linie als autolytischen Prozess auffassen muss. Nach dem Eintrocknungstode der Protoplasten bleiben die zahlreichen Ferment-systeme der Zellen erhalten und beginnen je nach Temperatur- und Feuch-tigkeitsbedingungen einen unregelmässigen Abbau der vorhandenen orga-nischen Substanzen. Durch Veränderung der Aussenbedingungen kann man den Ablauf der Fermentation durch Förderung der einen oder an-deren Fermenttätigkeit in bescheidenem Masse beeinflussen und «lenken». Im Vergleiche zu den an Ort und Stelle wirkenden zelleigenen Fermenten der Autolyse kann den Fermentsystemen zugesetzter Mikroben bei dem re-lativ rasch verlaufenden Prozess der Blattfermentation nur eine unterge-ordnete Bedeutung zukommen.

#### Literatur

- BERSIN, Th.: Kurzes Lehrbuch der Enzymologie, Leipzig, 1939.
- BURRI, R.: Die Selbsterhitzung lagernder Pflanzenmassen. Landw. Jahrb. d. Schweiz, 29 . 23 (1915).
- BOEKHOUT & DE VRIES: Zentralbl. f. Bakteriologie, 24 (II) 496 (1909).
- DÜGGELI, M.: Z. f. Land- u. Forstwirtschaft, 4 . 466 u. 489 (1906).
- FODOR & REIFENBERG: Z. physiol. Chemie, 162 . 1 (1927).
- GIOVANNOZZI, M.: La fermentazione dei tabacchi, Roma, 1940.
- JENSEN, H.: Zentralbl. f. Bakteriologie, 21 . 469 (1908).
- LAUPPER, G.: Landw. Jahrb. d. Schweiz, 34 . 1 (1920).
- LOEW, O.: Zentralbl. f. Bakteriologie, 6 (II) 108, 590 (1900) u. 7 (II) 673 (1901).
- LÖHNIS, F.: Hdb. d. landwirtsch. Bakteriologie, Bd. I, Teil 1 S. 17 (1933) 2. Aufl.
- MIEHE, H.: Die Selbsterhitzung des Heues, Jena, 1907 u. 1930.
- NEUBERG & KOBEL: Studien an Tabak-Enzymen, Biochem. Z., 179 . 459 (1926), 190 . 232 (1927) u. 229 . 455 (1930).
- PALLMANN & DÖNZ: Schweiz. landwirtsch. Monatshefte, 17 . 167 (1939).
- REID, KINSTRY & HALEY: Pennsylvania Agric. Exper. Station Bull., 356, 363 (1938).
- SMIT, J.: Hooibroei, Landbouwkundig Tijdschrift, 52 . 446 (1940).
- SMIRNOW, A. I.: Biochemie des Tabaks, Den Haag, 1940.
- SMIRNOW, A. I.: Physiologisch-biochemische Grundlagen der Tabakverarbeitung, Krasnodar, USSR (1933).
- SPRECHER v. BERNEGG, A.: Tee und Mate, Stuttgart 1936, Tropische und subtropische Welt-wirtschaftspflanzen, Bd. III/3.
- SUCHSLAND, E.: Ber. dtsch. bot. Ges., 9 . 79 (1891).
- TRUNINGER, E.: Landw. Jahrb. d. Schweiz, 43 . 278 (1929).
- WEBER, W.: Der Abbau des Nikotins bei der Fermentation des Tabaks, Diss. E.T.H. Zürich, 1935.