

An abstract painting by Pablo Picasso, featuring a vibrant blue background with various geometric shapes, including a large white circle, a red crescent moon, and a stylized figure in the lower right. The composition is dynamic and colorful, with a mix of red, yellow, black, and white elements.

**MIGUEL KATZ**

**LA MUJER QUE  
REFUTÓ AL  
VITALISMO**



**ASOCIACIÓN QUÍMICA ARGENTINA**







## LA MUJER QUE REFUTÓ AL VITALISMO



MIGUEL KATZ

LA MUJER QUE REFUTÓ AL VITALISMO



ASOCIACIÓN QUÍMICA ARGENTINA

BUENOS AIRES

2019

Katz, Miguel

La mujer que refutó al vitalismo.

1a ed. - Buenos Aires: Asociación Química Argentina, 2019.

Avda. Santa Fe 1145 C1059ABR

Ciudad Autónoma de Buenos Aires. República Argentina.

Tel-Fax (14 11) 4814 5942

Libro digital, PDF/A

Archivo Digital: descarga y online

ISBN 978-987-47159-2-0

Libro de edición electrónica

Hecho en la República Argentina

Hecho el depósito de la Ley 11.723

Derechos reservados

*A Zulema,  
con el afecto de toda la vida.*



*Agradecimientos*  
*A la Asociación Química Argentina en las personas de*  
*su Presidente, Dr. Carlos Cañellas,*  
*su Vicepresidente, Dr. Alberto Capparelli*  
*y a la Directora de la División Educación Dra. Sandra Hernández.*



## PRÓLOGO

Para quienes nos dedicamos a la investigación educativa en didáctica de las ciencias naturales, la lectura del libro de Miguel Katz es como un soplo de aire fresco. Demasiadas veces escuchamos decir que los resultados de nuestras investigaciones no llegan a las aulas. Esto no es cierto y este libro es una prueba de lujo, porque estoy convencida que llegará a las aulas de diferentes niveles educativos y será un material didáctico que ayudará a la labor docente por varias razones.

Por de(formación) profesional comienzo por la enseñanza de la Química: ¡Por algo el libro es editado por la Asociación Química Argentina! A quienes enseñamos esta maravillosa disciplina nos acusan de transmitir solamente fórmulas y ecuaciones y de enseñarla de forma totalmente descontextualizada. Si bien, lamentablemente, esto sigue siendo cierto en las aulas donde todavía existen docentes que se resisten a las innovaciones, esto está cambiando. Este libro recurre a la Historia de la Química que, como la historia de las ciencias y de las tecnologías en general, puede favorecer el desarrollo de las competencias científicas (**Álvarez Lires y col., 2013**) aumentando la comprensión de la Naturaleza de la Ciencia (NdC). Y, justamente, uno de los objetivos de la enseñanza explícita de la NdC y de la educación Ciencia, Tecnología y Sociedad (CTS) es que el estudiantado comprenda la relación entre la ciencia, la tecnología y otros campos tales como el progreso científico y la sociedad. Y dentro de esto aparece lo que me interesa destacar particularmente: la perspectiva de género.

El Prefacio de este libro comienza diciendo que “por una cuestión de género, el trabajo científico de una mujer no ha sido completamente valorado”, a tal extremo que hubo otros casos, además del relatado por Katz, en que a las mujeres no se les otorgó un Premio Nobel que les hubiera correspondido con todo derecho. Baste como terrible ejemplo del de Lise Meitner que fue participante activa en la investigación de la fisión nuclear, pero a quien le fue negado el Premio Nobel, que fue otorgado a uno de sus colegas hombres. Lise Meitner se vio obligada a emigrar a Estocolmo durante el período nazi en la segunda guerra mundial ya que era judía. Anteriormente, ella junto a Otto Hahn y Fritz Straßmann se convirtieron en los primeros en reconocer que el átomo de uranio se dividió cuando fue bombardeado por neutrones, gracias a los experimentos realizados por el grupo en Berlin. Pero Meitner quedó varada en el exilio, en Suecia, y Hahn recibió el Premio Nobel de Química 1944 (**Guerrero Cusumano, 2019**). Lo sucedido con Lise Meitner, es una temática eminentemente CTS porque muestra cómo la ciencia es una construcción humana afectada por los contextos ya que, además del hecho que Lise fuera mujer, fue debido a una circunstancia política por lo que Meitner no compartió con Hahn el mérito del descubrimiento de la fisión del uranio (**Sánchez Ron, 2019**).

En el libro aparecen otras cuestiones que nos permiten reflexionar acerca de la condición de las mujeres (y no sólo las científicas) en el pasado.

El nombre de la científica era Maria Mikhailovna Korkunova, pero fue conocida profesionalmente por el apellido de su segundo marido, Manassein. O sea que, al igual que Maria Salomea Sklodowska, su verdadero apellido fue silenciado.

Fue la primera mujer en Rusia en obtener una educación médica superior, adelantándose sólo un par de décadas a nuestra Cecilia Grierson.

Recibió una invitación de Justus von Liebig para unirse a su laboratorio en la Universidad de Giessen (Alemania) pero no aceptó porque debía regresar a Rusia por razones familiares. Aún hoy en día las mujeres reportan mayor interferencia de la familia en su trabajo que los hombres (Mary Fox, 2010)

María no quiso divorciarse de Manassein (y vivió sola el resto de su vida) porque la legislación zarista les quitaba ciertos derechos a las mujeres divorciadas.

En 1842, aún morían mujeres de fiebre puerperal, incluso de clases acomodadas (como la del padre de Buchner)

Más allá de las cuestiones de género, el libro de Katz pone de manifiesto un tema tan importante para la enseñanza de la naturaleza de la ciencia, como son las controversias científicas. El tratamiento de los conflictos socio-científicos en la prensa refleja una visión mayoritariamente consensuada de la ciencia y de las relaciones entre las personas que integran la comunidad científica. Generalmente se tiende a dar una imagen neutral de la ciencia la cual es favorecida por medios de divulgación, sino también por los ámbitos político, científico y otros que intervienen en este proceso. Debido a este consenso en las noticias científicas, al cuerpo docente interesado en trabajar las controversias en el aula le es muy complicado encontrar y utilizar noticias controvertidas con diferentes posicionamientos y puntos de vista distintos con los que desarrollar diferentes temáticas (Díaz Moreno y Jiménez Liso, 2012). Esta es entonces, otra razón por la que este libro es valioso para la enseñanza de la NdC.

En sus conclusiones, Katz escribe: “Dado que el resultado<sup>1</sup> invalidaba una teoría aceptada por gran parte de la comunidad científica desde principios del siglo XVIII, la rapidez y superficialidad de la respuesta de Buchner se debieron a una idea preconcebida acerca de la poca capacidad científica del género femenino”.

Desde que ocurrieron los hechos que se relatan en este libro, el siglo XIX, mucha agua ha pasado debajo del puente, pero aún hay mucho por hacer ... ¡a seguir trabajando por un mundo más justo!

## Referencias bibliográficas

- **Álvarez Lines, M., Arias, A., Pérez Rodríguez, U., Serrallé, J.F. (2013):** La historia de las ciencias en el desarrollo de competencias científicas, *Enseñanza de las Ciencias*, 31 (1), pp.- 213 – 233.
- **Díaz Moreno, N. & Jiménez Liso, M. R. (2012):** Las controversias socio-científicas:

---

<sup>1</sup> de los experimentos de Maria von Manassein.

temáticas e importancia para la educación científica, *Revista Eureka sobre enseñanza y divulgación de las ciencias*, 9(1), 54 – 70.

- **Fox, M. F. (2010)**: Women and men faculty in academic Science and engineering: Social-organizational indicators and implications, *American Behavioral Scientist*, 53 (7), 997 – 1012.
- **Guerrero Cusumano, J. L. (2019)** ¿Por qué Matilda? **En: Giordano Lerena, R., Páez Pino, A.** (Eds; Comps): *Matilda y las mujeres en ingeniería en América Latina*. (pp. 25 – 28) Mar del Plata: Universidad FASTA Ediciones.
- **Sánchez Ron, J. M. (2019)**: Hahn y Meitner en la Alemania nazi, *Investigación y ciencia*, Abril 2019, 82 – 85.

Dra. Silvia Porro  
Noviembre de 2019.



## PREFACIO

El presente texto describe uno de los tantos casos en los que, por una cuestión de género, el trabajo científico de una mujer no ha sido completamente valorado. En el año 1872, el Profesor Julius Wiesner publicó un libro sobre varios trabajos de su especialidad, la Microscopía, en uno de los cuales una médica rusa, — Marie von Manassein, Maria Manasseina o Marie de Manacéine, como fue conocida en distintos países europeos, — docente en la Universidad de San Petersburgo, describió sus experimentos tratando de comprobar si la fermentación alcohólica podía efectuarse aún sin la presencia de células vivas. Al cabo de seis meses, luego de múltiples ensayos y observaciones microscópicas, pudo detectar la producción de alcohol, acompañada por la evolución de dióxido de carbono, en recintos donde, por las altas temperaturas a las que habían sido sometidas, — hasta 15 minutos a 308 °C, — las células de levadura estaban muertas, la mayoría carbonizadas. Su trabajo no tuvo la trascendencia científica que merecía ya que con sus resultados ella había refutado empíricamente la llamada *Teoría vitalista*, teoría que desde principios del siglo XVIII sostenía que ciertas sustancias que, encontrándose en la Naturaleza, tenían una estructura química tan compleja que sólo podrían ser producidas por organismos vivos mediante lo que se llamaba entonces "*impulso vital*".

En 1897, el químico alemán Eduard Alois Buchner, que había trabajado en una fábrica de conservas lidiando con los problemas derivados de la fermentación cuando trabajó como Profesor en la Universidad de Tübingen y a instancias de su hermano mayor, que era bacteriólogo, puso en práctica un método consistente en triturar la levadura de cerveza, filtrar y con el filtrado producir la fermentación alcohólica. Sus resultados experimentales fueron publicados en los *Berichte* (Informes) de la Sociedad Química Alemana en enero de 1897.

La Dra. von Manassein se enteró del trabajo del Profesor Buchner recién en 1898, por lo que envió una carta a la Sociedad Química Alemana relatando los experimentos que había realizado 26 años antes y los detalles de su publicación.

A pesar de la existencia de una controversia acerca de la prioridad en ese descubrimiento, la Sociedad no nombró un investigador imparcial para que resuelva la disputa mediante la reproducción de los experimentos, sino que le giró el reclamo al propio Profesor Buchner quien descalificó los resultados experimentales en un texto de dos carillas, en los cuales hacía hincapié que la fermentación podría haber sido hecha por células conteniendo esquizomicetos, sin reparar que el reclamo se asentaba en que la fermentación se había realizado *a pesar de que las células estaban muertas*, por lo que era irrelevante si la habían realizado esquizomicetos, *Saccharomyces cerevisiae* u otro tipo de hongo.

La respuesta de Eduard Buchner fue rápidamente aceptada por la Sociedad Química Alemana y el reclamo de von Manassein fue rechazado.

La importancia de la comprobación, queda patentizada por el otorgamiento a Eduard Buchner del Premio Nobel de Química 1907 por su trabajo.

En el presente trabajo, se efectúa una breve Introducción consistente en una reseña de los antecedentes históricos del vitalismo, una breve biografía de Marie von Manassein, la traducción de su trabajo publicado en 1872, un resumen biográfico de Eduard Buchner, la traducción de su trabajo de 1897, la traducción de la carta con el reclamo de Marie y la contestación de Buchner. En unas breves líneas doy las conclusiones a las que arribé.



## CONTENIDOS

	<b>I. EL VITALISMO</b>	1
1 – 1.	Introducción.	1
1 – 2.	Marie von Manassein.	5
1 – 3.	El trabajo de Maria Manasseina en el libro de Wiesner.	7
1 – 4.	Eduard Buchner.	19
1 – 5.	El trabajo de Buchner sobre la fermentación alcohólica libre de células de levadura.	22
1 – 6.	El reclamo de Marie von Manassein.	28
1 – 7.	La respuesta de Eduard Buchner al reclamo de Marie von Manassein.	34
1 – 8.	Conclusiones.	35
	ÍNDICE ALFABÉTICO	37

## I. EL VITALISMO

### 1 – 1. Introducción

Bajo el nombre genérico de "*vitalismo*" se suelen agrupar distintas corrientes de pensamiento, tanto científicas como filosóficas según las cuales la vida no puede ser reducida a factores físicos, mecánicos o químicos. Estas corrientes surgen, en el campo de la Biología y de la Química, a partir del siglo XVIII como reacción frente a las doctrinas mecanicistas.

La primera formulación doctrinaria del mecanicismo fue publicada, en 1554, por el médico español Gómez Pereira en el libro "*Antoniana Margarita: opus nempe physicis, medicis ac theologis non minus utile quam necessarium*"<sup>1</sup>. En este libro, para justificar la concepción de que "*las bestias no tienen alma*" el autor, imbuido por su concepción religiosa, trató de demostrar "racionalmente" que los animales son "mecanismos perfectos" creados por Dios. En el texto, recurriendo a Aristóteles y a otros filósofos, al sostener que las bestias no tienen alma, Gómez Pereira se refirió a que los animales carecen de lo que en esa época se llamó "*alma racional*" sino que tampoco tenían "*alma sensitiva*" es decir, se comportan como autómatas. Así, por ejemplo, cuando un animal ve o huele una presa, se lanza sobre ella para cazarla, pero no la "ve" ni la "huele" — porque no siente,— sino que es una máquina cuya perfección, — que sólo podía ser obra de Dios — al recibir un estímulo del medio exterior efectúa una determinada acción que sigue un patrón característico. Cuando Gómez Pereira describe el "mecanismo" de la recepción del estímulo por el animal ("objeto motivo") y su reacción automática, expresa un modelo de comportamiento que siglos más tarde se encuadraría como "reflejo condicionado".

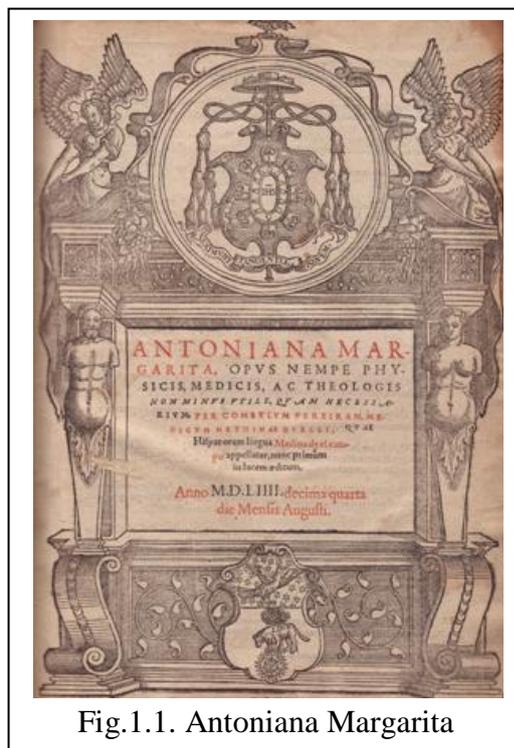


Fig.1.1. Antoniana Margarita

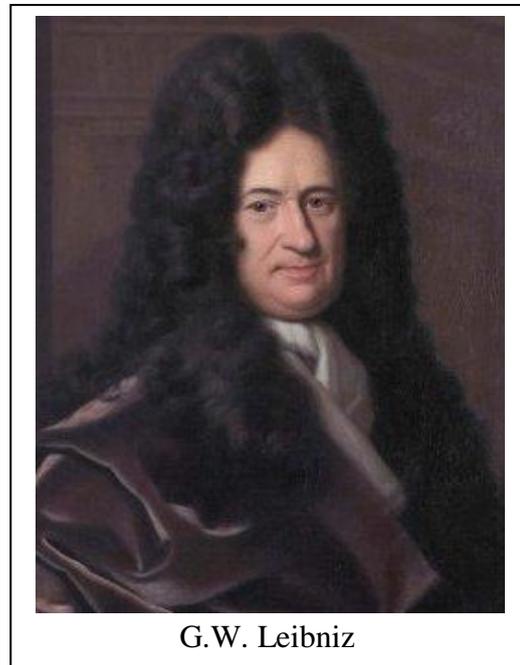
En 1637, al publicar "*Discours de la Méthode*", René Des Cartes, retomó la concepción del mecanicismo<sup>2</sup>, extendiéndola a todos los procesos físicos que ocurren en el Universo ya que la

<sup>1</sup> "*Antoniana Margarita. Obra no menos útil que necesaria, sobre temas físicos, médicos y teológicos*". Medina del Campo (Provincia de Valladolid), 1554. El título fue puesto en recuerdo de los padres del autor, Antonio y Margarita.

<sup>2</sup> Muchos comentaristas llegaron a afirmar que Des Cartes había plagiado a Pereira ya que éste había escrito "Nosco me aliquid noscere, et quidquid noscit est; ergo ego sum." cuya traducción es "Conozco que yo conozco algo. Todo lo que conoce *es*; luego yo *soy*" que, abreviado y mejorado expresa "Pienso, luego existo".

estructura y el funcionamiento de la Naturaleza son comparables a los de una máquina. El funcionamiento de esa máquina perfecta (creada por Dios) está sometido a leyes físicas inmutables que se podrían expresar matemáticamente y que es un desafío para el hombre encontrar sus expresiones. Con esta visión, todo lo real se reduce a un sistema matemático. Pero para que ese sistema sea inteligible se debe considerar un espacio geométrico euclidiano en el que sólo se deben tomar en cuenta las cualidades primarias de los objetos: la extensión mensurable de los objetos y la relación de orden entre ellos. En cambio, en ese sistema matemático carecen de importancia las cualidades secundarias de los objetos: colores, sabores, olores, etc. Tanto el espacio como los cuerpos tienen como característica esencial la extensión. Por lo tanto, no hay una diferencia esencial entre ellos y, como consecuencia, el vacío no existe.

Para René Des Cartes, los cuerpos son máquinas integradas por piezas que funcionan de acuerdo con determinadas reglas. El ser humano es un compuesto de cuerpo y alma. Al igual que en todos los cuerpos, el atributo principal del cuerpo humano es la extensión que se manifiesta a través de la figura y del movimiento. El atributo principal del alma es el pensamiento. El alma se une al cuerpo mediante la glándula pineal, que se encuentra en el cerebro. A través de esta glándula, el alma comunica al cuerpo sus pensamientos y recibe del cuerpo las impresiones del medio que lo rodea.



En su juventud, el Barón Gottfried Wilhelm Leibniz (o Leibniz, como también se lo suele llamar) adhirió fervientemente al mecanicismo cartesiano, lo que lo llevó a estudiar profundamente las Matemáticas. Pero sus conversaciones en París con Christiaan Huygens, lo llevaron a la búsqueda de las leyes que rigen los movimientos y descubrió que era imposible encontrarlas solamente mediante las Matemáticas. Ese descubrimiento le hizo dirigir su atención hacia la metafísica. Entonces descubrió que la mayoría de los metafísicos tienen razón en lo que afirman pero no en lo que niegan, que tienen razón en buscar las fuentes de los cambios en las causas finales o formales pero que no la tienen si descuidan las causas eficientes o materiales. Así aceptó que hay fenómenos que no pueden ser explicados mecánicamente.

Leibniz rompió con el mecanicismo cartesiano en 1686, cuando publicó "*Breve demostración del memorable error de Descartes*" y en 1705, muestra su adhesión a la teoría del vitalismo, al publicar sus "*Consideraciones sobre los principios de vida y sobre las naturalezas plásticas*". En esta obra expresa que el alma es el primer principio vital que vive entre nosotros y llama *animados* a los vivos e *inanimados* a los no vivos. La vida se manifiesta, sobre todo, en una doble acción: la

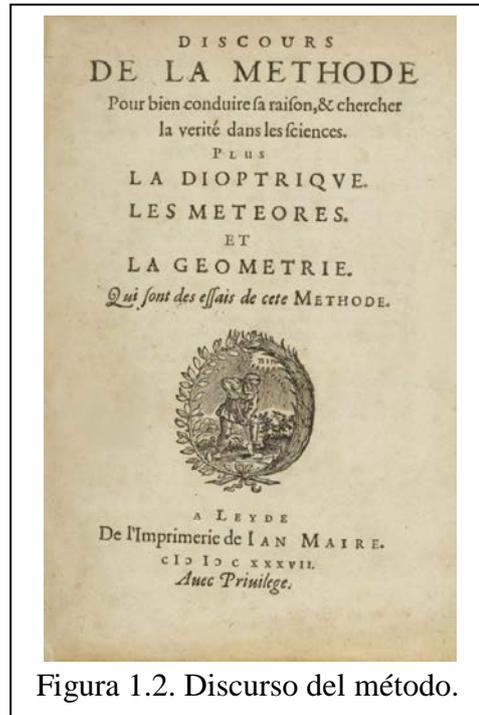


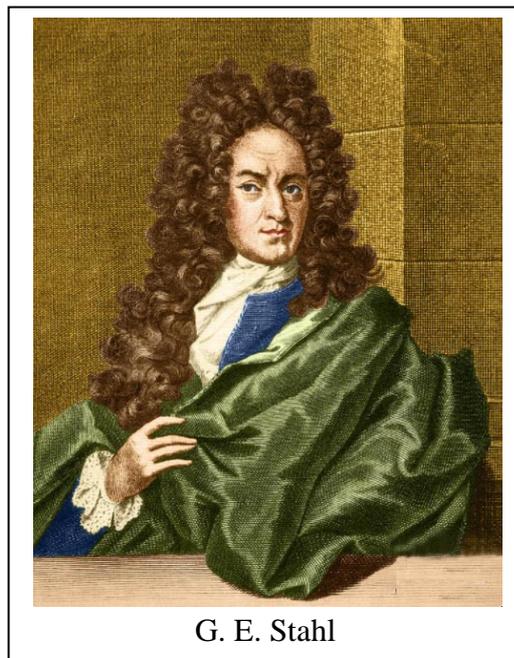
Figura 1.2. Discurso del método.

del conocimiento y la del movimiento; de ahí que sea activa y dinámica, en acción. Al reexaminar las reglas cartesianas del movimiento, Leibniz pasa de la Geometría a la Física y declara que la acción de todo cuerpo es espontánea y se origina por una fuerza interna aunque es motivada por algo externo.

Leibniz consideró que el Universo estaba constituido por partículas básicas indivisibles llamadas “mónadas” cada una de ellas dotadas de una "fuerza vital", con lo cual se opuso al planteo cartesiano y newtoniano sobre el comportamiento puramente mecánico de los cambios. Sostuvo que en la Naturaleza hay dos reinos en plena armonía: el reino de las almas y el reino de los cuerpos. Así, en la *Monadología* (1714) escribió: “Las almas actúan según las leyes de las causas finales mediante apeticiones, fines y medios. Los cuerpos actúan según las leyes de las causas eficientes o de los movimientos. Y los dos reinos, el de las causas eficientes y el de las causas finales, son armónicos entre sí”

La concepción vitalista adoptada por Leibniz en los últimos años de su vida, lo llevaron a polemizar con el "animismo" de Georg Ernst Stahl a raíz de las concepciones sobre el alma que este último había publicado en su libro "*Theoria medica vera*" en 1708.

Stahl introdujo el *vitalismo* como enfoque biológico pero usó otro nombre para sus ideas: *animismo*. El animismo de Stahl surgió como una alternativa a las teorías habituales en su época, en particular, a la iatroquímica, establecida por Paracelso y aceptada y desarrollada por diversos médicos e instituciones durante los siglos XVI y XVII, pero que era incapaz de explicar dos propiedades excepcionales del cuerpo humano: su conservación y su autorregulación. Stahl admitió que en la naturaleza había muchas cosas que no podían ser explicadas a la luz de los conocimientos de su época, algo que es igualmente cierto hoy. Por eso optó por una solución sencilla: se inventó una explicación *ad hoc*. Obviamente, Stahl no inventó el *ánima*, sino que la adoptó para explicar todo lo que la Medicina y la Biología de su época no podían explicar.



Para Stahl, el *ánima* es el principio rector que infunde vida a la materia muerta, colabora en la concepción (materna y paterna), genera el cuerpo humano como su morada y lo protege contra la desintegración, lo que únicamente sucede cuando el *ánima* lo abandona y se produce la muerte. El *ánima* actúa en el organismo mediante “movimientos”. Esos movimientos no siempre son mecánicos y visibles, usualmente son invisibles y “conceptuales”, pero son responsables de un “tono” concreto e indispensable para la salud.

Stahl tuvo muchos seguidores en Europa, no sólo en Alemania y, especialmente, en Francia, en la conocida Escuela de Montpellier. A finales del siglo XVIII el “animismo” de Stahl cambió de nombre (pero no de espíritu) bajo el impacto de la filosofía de quien fue Profesor de Botánica y

Medicina en la Universidad de Montpellier: Paul Joseph Barthez. Así fue que el animismo pasó a llamarse “vitalismo”. En síntesis, podría definirse *vitalismo* como una posición filosófica caracterizada por postular la existencia de una fuerza o impulso vital sin la cual, la vida no podría ser explicada. Se trataría de una fuerza específica, distinta de la energía estudiada por la Física y otras ciencias naturales, la que actuando sobre la materia organizada daría como resultado la vida. Esta postura se opuso a las explicaciones mecanicistas que presentaban a la vida como fruto de la organización de los sistemas materiales. Esa fuerza vital no es física ni química sino que se la identificaba con lo que en las relaciones se consideraba como el alma.

Stahl estableció un límite claro e infranqueable entre lo vivo y lo inerte. A diferencia de lo que se acepta actualmente, la muerte, no era producida por el deterioro de la organización del sistema, sino el resultado de la pérdida del impulso vital o de su separación del cuerpo material.

La publicación de la *Theoria medica vera* motivó que, en 1709, Leibniz redactara sus "*Animadversiones in G.E. Stahl's Theoriam medicam veram*" que con un tono despectivo y sarcástico criticaba la teoría del animismo expresada en el libro. Stahl recibió ese texto en 1709, pero recién en 1720, – cuatro años después del fallecimiento de Leibniz, – publicó sus respuestas bajo el título de "*Negotium otiosum, Seu Skiamachia Adversus Positiones Aliquis Fundamentales, Theoriae Verae Medicae à Viro quodam celeberrimo Intentata, Sed Adversis Armis Conversis Enervata*".

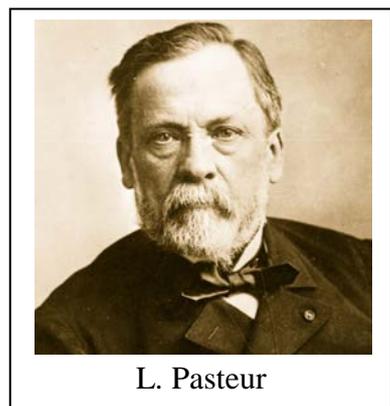
En el campo de la Química tuvo mucha influencia la concepción de Jöns Jakob Berzelius, que extendió las concepciones vitalistas a esa ciencia. En su Tratado de Química Orgánica de 1827 consideraba que los organismos vivos estaban imbuidos de una "fuerza vital", que los diferencia completamente de los objetos inanimados. Esa fuerza le permitiría producir sustancias orgánicas de estructura sumamente compleja y es totalmente diferente de las fuerzas que provocan las interacciones mecánicas o eléctricas. La creencia en la necesidad de la intervención de organismos vivos para la producción de sustancias orgánicas, fue refutada por la síntesis de la urea, – una sustancia producida por los animales



J.J. Berzelius

ureotélicos, – realizada por Friedrich Wöhler en 1828, a partir de cianato de amonio. En 1845, Adolph Wilhelm Hermann Kolbe sintetizó el ácido acético a partir del disulfuro de carbono. Ese

mismo año, Marcellin Berthelot sintetizó el metano. A raíz de esas síntesis y de otros resultados experimentales, en las ediciones posteriores de su Tratado, Berzelius fue restringiendo sucesivamente su concepción del vitalismo.



L. Pasteur

El vitalismo también fue defendido por Louis Pasteur, especialmente a partir de su comprobación de la inexistencia de la generación espontánea. Él sostuvo que si bien la materia inerte es indistinguible de la viva, las reacciones químicas que se producen en un ser vivo obedecen a leyes diferentes a las que se cumplen en un tubo de ensayos a partir de sustancias inertes. Por eso, muchas

veces es imposible reproducir en el laboratorio una reacción química que puede ocurrir naturalmente en un ser vivo, aunque fuera una bacteria.

Fue en el último cuarto del siglo XIX, en que investigadores se abocaron a refutar experimentalmente la teoría vitalista.

## 1 – 2. Marie von Manassein

Maria Mikhailovna Korkunova, conocida como Marie von Manassein, Maria Manasseina o Marie de Manacéine, nació en 1841<sup>3</sup>. Fue la hija de un conocido historiador y arqueólogo ruso,



Maria von Manassein

miembro de la Academia de Ciencias de San Petersburgo, el Profesor Mikhail Andreevich Korkunov (1806 – 1858). Recibió una excelente educación en su hogar y desde la niñez estuvo rodeada por científicos y por médicos, que, en cierta medida contribuyeron a su formación intelectual. Maria Manasseina fue la primera mujer en Rusia en obtener una educación médica superior. Se graduó en los cursos de Medicina para mujeres recibiendo el título de *zhenshchina-vrach* (doctora - mujer) y luego como "Doctora en Medicina".

Siendo estudiante, se casó con un joven de apellido Poniatowski. Con él participó activamente en el movimiento populista de los *narodniki* una organización surgida en 1860 que intentaba instalar una suerte de socialismo agrario y que, en última instancia, trataría de derrocar a la monarquía rusa. Poniatowski comenzó a ser investigado por la Gendarmería rusa, por lo que huyó del

país y falleció en el exterior.

En 1865, Marie se volvió a casar con Vyacheslav Avksentievich Manassein (1841 – 1901), quien al poco tiempo fue nombrado Profesor de la Academia Médica Militar y que fuera el Director de la primera revista médica rusa *Vrach* (El médico).

En 1870 – 1871, Maria Manasseina se especializó en Microscopía, trabajando durante seis meses en el laboratorio del Dr. Julius Wiesner (1838 – 1916) en el Instituto Politécnico de Viena. Bajo la dirección del Dr. Wiesner — considerado uno de los más prominentes microscopistas de esa época — se dedicó a estudiar el proceso de la fermentación alcohólica. A partir de sus trabajos experimentales y del estudio microscópico de sus resultados empíricos hizo un descubrimiento de enorme importancia que la convirtieron en una de las pioneras de lo que luego se llamó Química Fisiológica y, actualmente, Química Biológica. Ella demostró experimentalmente que el proceso de

---

<sup>3</sup> Algunos comentaristas afirman que nació en 1843.

fermentación se debe a sustancias específicas — que, en esa época se llamaron "enzimas no organizadas"— que pudo aislar de las células de levadura pero no de las células de levadura *per se*. Sus experimentos refutaron la teoría "fisiológica" de la fermentación de Louis Pasteur (1822 – 1895) y confirmaron la hipótesis "química" propuesta por científicos tan sobresalientes como Claude Bernard, (1813 – 1878), Justus von Liebig, (1803 – 1873) y Marcellin Berthelot, (1807 – 1907).

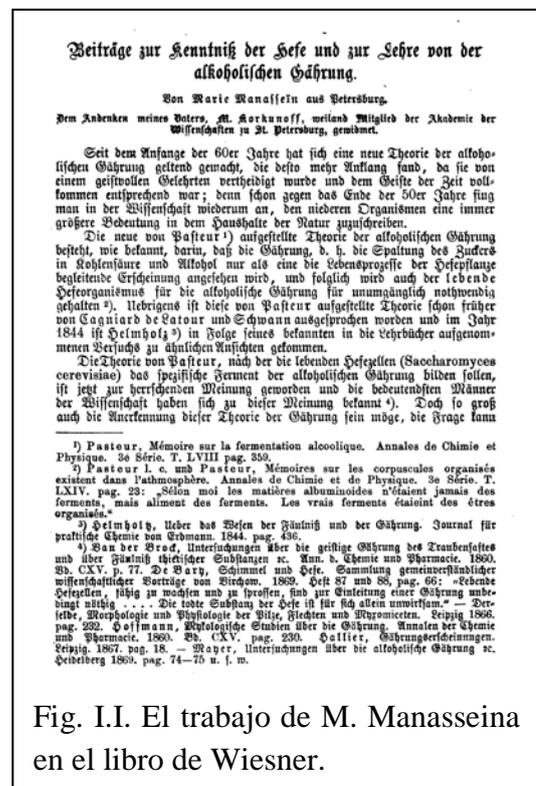


Fig. I.I. El trabajo de M. Manasseina en el libro de Wiesner.

El trabajo de Maria Manasseina, fue publicado en 1872 en el libro de Wiesner *Mikroskopische Untersuchungen*<sup>4</sup> (Investigaciones microscópicas). De su lectura, Justus von Liebig la invitó a unirse a su laboratorio en la Universidad de Giessen, pero ella no aceptó la invitación de Liebig aduciendo que debía regresar a San Petersburgo por razones familiares. Poco después de retornar a su casa, Maria Manasseina comenzó a investigar en temas de Fisiología en el laboratorio del profesor Ivan Romanovich Tarkhanov<sup>5</sup> (1846–1908), un amigo de su esposo y un ex alumno del famoso fisiólogo ruso Ivan Mikhailovh Sechenov. A fines de la década de 1870 surgieron desavenencias conyugales en la vida de los Manassein y, en 1879, Maria dejó a su esposo, iniciando una relación sentimental con Ivan Tarkhanov, que en ese entonces estaba casado y que se negó a divorciarse. Maria no quiso divorciarse de Manassein para no perder ciertos

derechos que la legislación zarista les quitaba a las mujeres divorciadas y vivió sola el resto de su vida. Su esposo inició una relación con Ekaterina Dostoevskaya, sobrina del dramaturgo Feodor Dostoevsky, que mantuvo hasta su muerte.

Los logros científicos de Maria Manasseina parecen no haber sido estimados en toda su magnitud por la comunidad científica rusa. Fue más conocida como una escritora popular en ciencia y medicina, profesora, traductora y revisora. Su producción científica incluye 48 trabajos en diversas cuestiones de fisiología, higiene, psicología y pedagogía, 16 artículos bibliográficos críticos y 14 traducciones de libros de varios idiomas extranjeros, que ella dominaba muy bien. Entre sus trabajos merecen mencionarse los libros, "Sobre la crianza de los niños durante los primeros años de vida (en ruso, 1871), "Sobre la teoría de la fermentación alcohólica" (artículo en alemán, 1872), El papel de ambos hemisferios cerebrales (en ruso, 1883); Anormalidad de la actividad cerebral del hombre educado moderno (en ruso, 1886): Quelques observations expérimentales sur l'influence de l'insomnie absolue. *Archives Italiennes de Biologie*, (1894) 21: 322–325; *L'anarchie passive et le comte Leon Tolstoï*, F. Alcan, Paris, 1894; *Sleep: its Physiology, Pathology, Hygiene and Psychology*, Walter Scott, Ltd., London, 1897.

<sup>4</sup> *Mikroskopische Untersuchungen. Ausgeführt im Laboratorium für Mikroskopie und Technische Waarenkunde am k. k. Polytechnischen Institute in Wien*, Julius Maier, Stuttgart, 1872.

<sup>5</sup> Originario de Georgia, su apellido era, inicialmente, Tarkhnishvilli.

Los resultados experimentales sobre la fermentación alcohólica obtenidos por Maria Manasseina fueron comprobados un cuarto de siglo después por el químico alemán Eduard Buchner.

### 1 – 3. El trabajo de Maria Manasseina en el libro de Wiesner.

En 1872, El Profesor Julius Wiesner, publicó su libro *Mikroskopische Untersuchungen*, en el que figura el trabajo de Maria Manasseina (pp. 116 – 128) cuya traducción al castellano es la siguiente:

#### Contribución al conocimiento de la levadura y al estudio de la fermentación alcohólica.

Por Marie Manassein \*

Sant Petersburg

*Dedicado a la memoria de mi padre, M. Korkunoff, quien fuera miembro de la Academia de Ciencias a San Petersburgo.*

Desde principios de los años '60 se ha puesto vigente una nueva teoría sobre la fermentación alcohólica, que ha encontrado tanto más aceptación al ser defendida por un estudioso inteligente. Ya a fines de los '50, el espíritu de la época estuvo de acuerdo en adscribir a los organismos inferiores un significado cada vez mayor en la acción de la naturaleza.

La nueva teoría de la fermentación alcohólica propuesta por Pasteur<sup>6</sup> consiste, como se sabe, en que la fermentación, o sea, la descomposición de los azúcares en dióxido de carbono y alcohol, es sólo un proceso viviente de las plantas de levadura que acompañan al fenómeno considerado. En consecuencia se requiere que la levadura se mantenga viva ya que eso es absolutamente necesario para la fermentación alcohólica.<sup>7</sup> Por cierto, las teorías que ha establecido Pasteur fueron enunciadas anteriormente por Caignard de Latour y Schwann y en 1844 fue Helmholtz<sup>8</sup>, según sus bien conocidos libros de texto, quien registró experimentos que lo llevaron a puntos de vista similares.

La Teoría de Pasteur según la cual las células de levadura vivas (*Saccharomyces cerevisiae*) son

---

\* En 1871, Marie von Manassein entendía alemán y lo hablaba como extrajera, pero su redacción no era muy buena, por lo que, para la traducción, hubo que hacer varias correcciones gramaticales para que el texto no diese lugar a interpretaciones equivocadas. [N. del T.]

<sup>6</sup> Pasteur, Mémoire sur la fermentation alcoolique. *Annales de Chimie et Physique*. 3<sup>e</sup>. Série. T. LVIII. Pag. 359.

<sup>7</sup> Pasteur l. c. y Pasteur, Mémoires sur les corpuscules organisés existents dans l'atmosphère. *Annales de Chimie et de Physique*, 3<sup>e</sup>. Série, T. LXIV, Pag. 23 : « Selon nous les matières albuminoïdes n'étaient jamais des ferments, mais aliment des ferments. Les vrais ferments étaient des êtres organisés. »

<sup>8</sup> Helmholtz, Über das Wesen der Fäulnis und Gährung. *Journal für praktische Chemie von Grossmann*, 1844. pag. 436.

un fermento específico para la fermentación alcohólica, se ha convertido ahora en la opinión más dominante y los hombres más importantes de la Ciencia han adherido a este dictamen. Pero si grande puede ser el reconocimiento de la teoría de la fermentación, la cuestión aún no se puede considerar como resuelta, ya que en la larga fila de los adversarios se encuentran hombres como Justus von Liebig y Berthelot.

Por cierto, en sentido estricto, la nueva teoría no puede considerarse todavía como una explicación de la fermentación, porque al aceptar que la fermentación alcohólica sólo es posible por medio de células vivas de levadura le damos a la cuestión de la naturaleza de la fermentación, una nueva forma que no explica el proceso mismo, lo que es, en todo caso, lo más importante, sin duda. Pues si se considera que ya está probado, por experimentación directa, que la fermentación alcohólica puede ser iniciada sin levadura, por medio de sustancias nitrogenadas animales (albúmina, fibrina, cafeína, gluten e incluso gelatina)<sup>9</sup> y que a partir de la rubia se puede obtener un fermento, (Eritrozima de Schunck)<sup>10</sup>, capaz de escindir el azúcar en alcohol y anhídrido carbónico y si también tenemos en cuenta que el alcohol puede ser también preparado artificialmente por procedimientos químicos ordinarios y que también lo pueden hacer otros fermentos, emulsina, diastasa, ptialina, pepsina, etc., en donde no se menciona que lo pueda hacer alguna organización e incluso que ni podamos representar un fermento que transforme al azúcar de caña en glucosa y actúe de la misma manera que la diastasa sobre el almidón. Si tenemos en cuenta todo esto, el pensamiento nos lleva a que, para la fermentación alcohólica, también sería adecuado encontrar un fermento químico semejante.

En este sentido, ofrezco mis investigaciones sobre algunos hechos no poco interesantes y me atrevo a ofrecer el trabajo de mis estudiantes — quienes han trabajado guiados por tantos maestros — para publicar con la más firme esperanza, mi intento por decidir una cuestión tan difícil como es la fermentación alcohólica esperando que cuenten con una recepción amistosa e indulgente. “Cuanto más profunda y completa es una ciencia, tanto menos son las disputas vanas y más se amplía el amor. La palabra tosca es abandonada por la educada”, dice Herder<sup>11</sup>.

Como es bien conocido, el Profesor H. Hoffmann<sup>12</sup> estudió la influencia de las altas temperaturas sobre las células de levadura y encontró que al calentar las dispersiones de células de levadura ya a 84 °C, precipitan completamente<sup>13</sup> y que, por el contrario, al calentar las células de levadura al estado seco, aún a 215° C no todas quedaban muertas<sup>14</sup>. Por cierto, la exposición de la levadura a altas temperaturas cambia su tipo de vegetación, se inicia una suerte de germinación y se forma *pellicula prolifera*, — lo que se produjo en la mayoría de los experimentos, consistente en

---

<sup>9</sup> Herder, *Ideen zur Geschichte der Menschheit*. 1r Theil. 1784. Herausgegeben von Johann von Müller. Tubingen 1827.. pag. XVII.

<sup>10</sup> Liebig, *Ueber Gärung, über Quelle der Muskelkraft und Ernährung*. Leipzig. 1870. pag. 31.

<sup>11</sup> Herder, *Ideen zur Geschichte der Menschheit*. 1er. Tomo. 1784. Publicado por Johann von Müller. Tubingen 1827.. pag. XVII.

<sup>12</sup> H. Hoffmann, „Zur Naturgeschichte der Hefe“. Bot. Unters. Aus. dem physiol. Laboratorium der landwirthsch Lehranstalt in Berlin, von Karsten. 1867, T I. pag. 341.

<sup>13</sup> Hoffmann, *l.c.* pág. 352.

<sup>14</sup> Hoffmann, *l.c.* pág. 360.

células de levadura con forma de bastoncillos muy finos, además de moléculas inconmensurables<sup>15</sup>. Como líquido para hervir y enfriar, el Profesor Hoffmann usó agua de miel (18 pulgadas cúbicas de agua y media pulgada cúbica de miel). Todos los experimentos se realizaron con levadura de cerveza ordinaria. A partir de estas interesantes observaciones, quedó en claro que el organismo de la levadura muestra una resistencia inusual a los efectos de temperaturas muy altas. La extraordinaria resistencia de las células de levadura contra las influencias nocivas también se desprende de los trabajos de Melsen<sup>16</sup>. Se ha hecho un ensayo según el cual las células de levadura soportan una presión de 8.000 atmósferas y se mantienen no sólo con vida, sino que también pueden fermentar. El Profesor J. Wiesner también hizo experimentos sobre el efecto de las altas temperaturas sobre las células de levadura y ha encontrado que la levadura secada al aire "puede ser mantenida a 100° C durante horas sin que todas las células de levadura fueran completamente muertas." El Profesor Wiesner encontró este llamativo hecho por observaciones directas señalando que las células de levadura viejas mueren por la acción de altas temperaturas debido a una vacuolización anormal, mientras que las células jóvenes, libres de vacuolas, permanecen viables y también fermentables<sup>17</sup>. La exactitud de esta afirmación ha sido confirmada por el hecho de que en los experimentos de deshidratación de soluciones (solución concentrada de azúcar en alcohol) sólo murieron las células viejas que contienen vacuolas, mientras que las células de levadura jóvenes libres de vacuolas permanecieron viables<sup>18</sup>.

Mis experimentos sobre la influencia de las altas temperaturas sobre las células vivas de la levadura contradicen, en cierto modo, los más interesantes resultados que el profesor Hoffmann obtuvo en su trabajo. Estas diferencias se explican también, en parte, por el hecho de que, para mis experimentos, siempre he usado levadura prensada de Viena (levadura de aguardiente) en lugar de la levadura de cerveza y en parte también por el hecho de que he introducido algunos cambios, de acuerdo con los consejos del profesor Wiesner acerca del método experimental.

Para todas mis investigaciones en las que he calentado la levadura en corriente de aire caliente, he tomado siempre una y la misma cantidad de levadura, es decir, 2,0 gramos. La levadura, finamente dividida, fue colocada sobre un vidrio de reloj cuidadosamente limpiado y luego ambos colocados en el baño de aire de tal manera que el bulbo del termómetro quedaba justo por encima de la propia levadura.

En diversos experimentos, la temperatura de transición fue muy diferente; en algunos casos, elegí un calentamiento muy lento por lo que la temperatura tardó tres horas y cinco minutos en subir hasta el grado deseado. En otros experimentos, sin embargo, dejé que en 7 minutos la temperatura suba hasta el grado deseado. A la temperatura deseada, dejé la levadura a veces durante una hora, a veces, 50, 40, 30, 20 ó 5 minutos, a veces sólo por un momento. En la mayoría de los experimentos, dejé que, una vez alcanzado cierto grado superior, la temperatura se mantenga

---

<sup>15</sup> Hoffmann, *l.c.* pág. 348.

<sup>16</sup> Melsen, Note sur la vitalité de la levure de bière. *Comptes Rendus*, Vol. LXX, 1870, pág. 63.

<sup>17</sup> Wiesner, Untersuchungen über den Einfluß, welchen Zufuhr und Entziehung von Wasser auf die Lebenstydtigkeit der Hefezellen äußern. Separata del Vol LIX b. *Sisb. B. K. Akademie der Wissensch.* II. Abth. Kärz-Heft. 1869. pag.6. Aquí también se muestran las diferencias morfológicas entre las células de levadura vivas y muertas.

<sup>18</sup> Wiesner, *l. c.* pag.7 y 25.

durante 10 ó 15 minutos para que actúe sobre la levadura. En cuanto al curso del calentamiento, obtuve los mismos resultados que Hoffmann<sup>19</sup>; encontré, a saber, que cuanto más rápido cesa la acción del calor tanto más débil aparece la influencia sobre las células de levadura y cuanto más paulatino y constante actúa el calentamiento tanto más mortífero es su efecto.

Todos mis ensayos fueron hechos con todas las precauciones necesarias para la exclusión de los gérmenes atmosféricos. Primero, los tubos de ensayos se limpiaron a fondo, luego se los calentó fuerte y persistentemente bajo una lámpara y se los cerró con un tapón de algodón especialmente preparado. El algodón o se mantuvo simplemente en un baño de aire a 150 – 160° durante una o dos horas o, en otros experimentos, se lavó con agua destilada pero fría y, a continuación, se hirvió durante 20 – 40 minutos, en un recipiente, con agua destilada. Inmediatamente después, el algodón se retorció y se puso en un baño de aire caliente a 140 – 180° durante 30 – 50 minutos.

En algunos experimentos se usó como líquido de fermentación el llamado “líquido Pasteur”<sup>20</sup>, en otros casos, una solución acuosa de azúcar al 10%;

Dado que, generalmente, el azúcar Candy se considera una especie pura<sup>21</sup>, en mis experimentos utilicé exclusivamente azúcar Candy. El líquido de fermentación siempre se filtró, luego se hirvió durante 10 minutos. La cantidad de agua evaporada se determinó por pesada y se substituyó por una cantidad correspondiente de agua destilada hirviendo, después el líquido se dejó enfriar, se lo colocó en un tubo de ensayos previamente esterilizado y se calentó nuevamente hasta el hervor con una lámpara de alcohol. Después de que el líquido de fermentación hirviera durante unos instantes, el tubo de ensayos se cerró con un tapón de algodón. La levadura, que se calentó hasta la temperatura deseada, se dejó enfriar en el baño de aire y luego, lo más rápido posible, se pasó al tubo de ensayos conteniendo el líquido de fermentación. Una vez enfriado, el tubo de ensayos se volvió a tapar con un nuevo tapón de algodón. Al aplicar los tapones de algodón siempre se cercioró que los mismos cerraran con bastante firmeza<sup>22</sup>. Para control, siempre se usó un tubo de ensayos lleno con líquido de Pasteur<sup>23</sup> (sin levadura) pero tratados del mismo modo que los otros. Tales ensayos de control permanecieron durante 5 – 6 meses al cabo de los cuales, examinados microscópicamente no mostraron rastros de organismo alguno. Aquí es la ocasión para hacer notar de una vez por todas que una vez finalizado cada ensayo, el tubo fue abierto y sometido a un examen microscópico completo.

Algunos de mis experimentos se realizaron en un aparato especial. Este aparato<sup>24</sup> consiste en un

---

<sup>19</sup> Hoffmann, Zur Naturgeschichte der Hefe, *am. Ang. Drte.* Págs. 355 y 361.

<sup>20</sup> Pasteur, Mémoire sur les corpuscules organisés, etc. *am. Ang. D.* pág. 106: da la composición de este líquido de fermentación: 100 partes de agua destilada, 10 partes de azúcar Candy, 0,2 – 0,5 gramos de ácidos tartáricos, amoníaco y 0,1 gramos de cenizas de levadura.

<sup>21</sup> Mayer, *l. c.* pág. 10 – Liebig, en la página 39. dice: después de los análisis del Profesor Volhard el azúcar Candy más puro contiene ½ % de nitrógeno.

<sup>22</sup> Schröder, Ueber Filtration der Luft in beziung auf Fäulniß, Gärung und Krystallisation. *Annalen der Chemie und Pharm.* Vol. 117. pág. 43, dice que el tapón de algodón debe hacer un cierre perfecto.

<sup>23</sup> Para los experimentos de control, he tomado más líquido de Pasteur ya que para el desarrollo de los organismos inferiores es mucho más favorable que la solución de azúcar puro.

<sup>24</sup> Wiesner, *l. c.* pag. 14.

matraz que se selló con un tapón de corcho doblemente perforado. Una de las aberturas del tapón sirve para la conexión a un tubo con cloruro de calcio, en el segundo orificio entra un tubo de vidrio, corto, doblado en ángulo recto que se mantuvo ajustado y sellado cuidadosamente durante todo el experimento. El tubo con cloruro de calcio se había comunicado a través de un tubo de goma con un segundo tubo conteniendo también cloruro de calcio que, a su vez, estaba conectado al aparato con potasa por medio de un segundo tubo de goma. La potasa se aislaría de los vapores atmosféricos, del ácido coloidal y del tubo con cloruro de calcio, por un matraz conteniendo hidróxido de potasio. Un tubo de vidrio curvo, sellado, estaba destinado a conectar el aparato al aspirador después de completar el experimento.

El matraz sirvió para absorber el fluido de la fermentación con la levadura. Mediante un diario pesaje exacto, he podido convencerme de que, incluso en los casos en que se produce una evolución sensible pero débil de gas, la evolución del ácido carbónico se puede detectar. Por supuesto, en tales casos, la cantidad de ácido carbónico es tan pequeña que es insuficiente para saturar el líquido permitiendo que sea posible la aparición de burbujas de gas<sup>25</sup>. Desafortunadamente, a pesar de todas las precauciones, al utilizar este aparato no fue estrictamente posible lograr una exclusión completa de las bacterias atmosféricas. Por lo tanto, me vi obligada a contentarme con las reproducciones de los experimentos y con la determinación del alcohol. Para darle al lector una idea del curso de la evolución del anhídrido carbónico, citaré aquí, lo más brevemente posible, algunos experimentos como ejemplo.

El 22 de octubre 1870 se calentaron 2,0 gramos de levadura prensada, secada al aire, durante 30 minutos hasta alcanzar los 140° C. Luego la temperatura se mantuvo entre 140° y 150° C durante 30 minutos. Cuando la levadura (en el baño de aire) se enfrió a temperatura ambiente, tan pronto como fue posible, se la pasó a un matraz en el que ya había 30 centímetros cúbicos de solución acuosa de azúcar al 10% e inmediatamente el matraz se cerró, primero con algodón y luego con el tapón de corcho. Creo que sería superfluo mencionar que tanto el matraz como el algodón se purificaron por el método descrito anteriormente. Al tercer día se produjo un ligero desprendimiento de gas y un aumento en el peso del alcalímetro debido a la absorción de dióxido de carbono. Después de 10 días, el peso del matraz con el licor de fermentación disminuyó en 0,12 gramos. Por el contrario, el alcalímetro aumentó su peso en 0,112 gramos<sup>26</sup>. El experimento fue interrumpido. El examen microscópico más exacto mostró que no había quedado ni una célula de levadura viva. (Al menos es lo que se pudo juzgar con ayuda del microscopio). Estaban todas amontonadas y entremezcladas. Bacterias y vibriones, con formas de bastoncitos y como pequeños puntos y gránulos inconmensurables estuvieron presentes en cantidad.

El líquido de fermentación se filtró, y con una parte se obtuvo aldehído (acético) mediante el

---

<sup>25</sup> Hoffmann, *Mykologische Untersuchungen über die Gährung; am ang. O.* pág. 349: "Es cierto que el gas no se separa como tal sino en solución y recién asume la forma gaseosa si el líquido en las vecindades está saturado de él."

<sup>26</sup> Por lo tanto, faltaban 0,008 gramos. En los restantes días de ensayos, los números que obtuve por pesada eran, a veces, totalmente coincidentes, pero en la mayoría de los casos había diferencias que se evidenciaban en los días posteriores por lo que me inclino a pensar que esas diferencias podrían deberse a otro tipo de fermentación que acompañaba a la fermentación alcohólica en la que, quizás, se desprendía hidrógeno. Desafortunadamente, esto es sólo una conjetura.

uso de ácido sulfúrico y dicromato de potasio, con la otra parte hice la reacción de yodoformo de Lieben<sup>27</sup>. Después de unos instantes logré que se forme un precipitado visible de los más bellos cristales de yodoformo, que se produjeron, sobre todo, en forma de estrellas de seis puntas<sup>28</sup>.

El 05 de diciembre 1870, expuse 2,0 gramos de levadura secada al aire durante 1 hora y 15 minutos a 190°. Después la calenté durante 40 minutos de 195° a 205° C. El experimento fue hecho, como siempre, por el mismo método y el líquido de fermentación fue una solución acuosa de azúcar al 10%. No se notaron burbujas de gas. Al cabo de siete días, el matraz con el licor de fermentación y la levadura se había vuelto más liviano en 0,1 gramos, mientras que el peso del alcalímetro aumentó 0,098 gramos. Mediante las reacciones mencionadas anteriormente, se detectó la presencia de alcohol en el destilado. Los cristales de yodoformo aparecieron sólo después de 20 minutos. Todas las células estaban muertas, parcialmente carbonizadas tenían aspecto arrugado. De las bacterias, ni rastro. Gránulos<sup>29</sup> y puntos inconmensurables estaban disponibles en cantidad que, como siempre, mostraban un movimiento molecular animado. Además de estos dos ensayos, hice algunas determinaciones de ácido carbónico, pero como la exclusión de gérmenes atmosféricos no fue estrictamente posible, decidí conformarme haciendo las pruebas y experimentos para la detección de alcohol en tubos de ensayo. Hay una gran diferencia entre la influencia de las altas temperaturas a las que se expone la levadura fresca y a las que se expone la levadura seca, es decir, la que ya se había secado en el aire<sup>30</sup>. He hecho 20 pruebas con levadura fresca y de ese modo obtuve los siguientes resultados: calentando gradualmente, la levadura fresca se mantiene después de 15 a 45 minutos de exposición a 45°, 51° y 60 °C, sigue siendo viable y en un licor de fermentación muestra renovada vivacidad. La evolución visible de gas se produce después de unas 12 horas y pronto se torna muy animada. En el destilado se detectó el alcohol mediante las reacciones mencionadas anteriormente, Bajo el microscopio se pueden ver, primero células de levadura perfectamente normales, y además otras células vacuolizadas, además de una gran cantidad de bacterias, vibriones<sup>31</sup> y gránulos finos<sup>32</sup>. A los 15 minutos de exponer la levadura

---

<sup>27</sup> Lieben, Ueber Entstehung von Jodoform und anwendung dieser Reaction in der chemischen Analyse. *Annalen der Chemie und Pharmacie*. VII. Supplementband. 1870. pág.219. Liebig, *l. c.* en la página 39 expresa sobre esta reacción como “con la ayuda de este refinado ensayo de Lieben se puede detectar el alcohol”. Se trata de una reacción similar a mi ensayo para la detección de cantidades muy pequeñas de alcohol en el destilado. En mis experimentos he tenido varias veces la ocasión de convencerme de la extraordinaria sensibilidad de esta reacción.

<sup>28</sup> En mis ensayos, los cristales de yodoformo se produjeron principalmente en forma de estrellas, incluso en los casos en los que hice los controles de la reacción del yodoformo en alcohol diluido. Las placas de seis caras fueron mucho menos comunes (ver Rammelsberger, *Die neuesten Forschungen in der krystallographischen Chemie*. Leipzig 1857. pág. 215)

<sup>29</sup> M. le Ricque de Mouchy, Des ferments organisés qui peuvent se trouver dans le bicarbonate de soude du commerce. *Comptes Rendus*. Vol. 67. 1868. págs. 363 – 366., afirma que las estructuras en forma de puntos (corpúsculos móviles) pueden transformar el azúcar de caña en glucosa y el almidón en dextrina. En su opinión, a veces estas estructuras cumplen el rol de las enzimas en la fermentación alcohólica. Desafortunadamente, sus experimentos no son lo suficientemente precisos,

<sup>30</sup> Wiesner, *l. c.* en la pág.3, da que el contenido de agua de la levadura al secarse al aire supera el 13 por ciento.

<sup>31</sup> Lemaire, Nouvelles recherches sur les ferments et sur les fermentations. *Comptes Rendus*. 1863. Vol. 57. En la pág. 626. establece la afirmación de que la fermentación alcohólica es producida por bacterias, vibrios, espirilos y monadófitos.

<sup>32</sup> Béchamp, Sur les granulations moléculaires des fermentations et des tissus des animaux. *Comptes Rendus* 1868. Vol. LXVI. En la pág. 366 establece la afirmación de que algunos de eso gránulos poseen el carácter de fermentos

fresca a 70 – 72° C, todas las células de levadura estaban muertas y la evolución visible de gas se produjo sólo al 4º día. En los destilados, la presencia del alcohol fue comprobada mediante las dos reacciones mencionadas. El examen microscópico mostró que todas las células de levadura estaban decididamente muertas. Bacterias, vibriones, estructuras puntiformes y gránulos estaban presentes en cantidad.

En algunos casos, por ejemplo, al calentar hasta 100° y 125° C, se formó una superficie especial del líquido de fermentación (la primera vez en el sexto día y la segunda a los 20 días) una película delicada, consistente en bacterias, gránulos y partículas puntuales exclusivamente en reposo (¿muertas?) pero en las que no había rastros de células de levadura. En estos casos, en el destilado se detectó alcohol mediante las reacciones mencionadas anteriormente. Las temperaturas más altas que pude alcanzar con la levadura fresca, fue de 140° a 155° C; en este nivel de valores, la temperatura se mantuvo durante 15 minutos, pero el calentamiento previo llevó 3 horas y 5 minutos. No se detectó una evolución visible de gas. Con el destilado, se llevaron a cabo las dos reacciones antes mencionadas, se percibió un olor más suave a aldehído, los cristales de yodoformo aparecieron unas 12 horas más tarde y sólo pudieron ser detectados con la ayuda del microscopio. Todas las células de levadura estaban muertas, no había rastro de bacterias que pudiera verse; Puntos y gránulos estaban presentes en cantidad.

Ahora quiero representar los resultados de mis experimentos con la levadura secada al aire.

Durante una hora y 35 minutos, calenté la levadura secada al aire hasta que alcanzó los 100° C y luego mantuve la temperatura a 100 °C durante 30 minutos. Después de 24 horas, se observó una evolución importante de gas. En el cuarto día, el experimento fue interrumpido. En los destilados se detectó la presencia de alcohol (mediante las dos reacciones) y bajo el microscopio vimos que las células de levadura estaban normalmente vacuolizadas. Mediante un calentamiento lento y sostenido de la levadura secada al aire las células de levadura se mataron entre 115° C y 120° C. Durante un calentamiento rápido el efecto transitorio del calor mantiene vivas dichas células de levadura hasta 130° C (calentadas en 7 minutos hasta 130° C y mantenidas a esa temperatura durante 20 minutos) permaneciendo completamente vivas y con capacidad de fermentar. A temperaturas aún más altas, que van desde 140° C, siempre obtuve sólo células de levadura muertas. Sin embargo, mediante las dos reacciones, comprobamos que en el destilado había alcohol. En estos experimentos, así como en los experimentos con levadura fresca, fue particularmente preocupante la frecuente aparición de bacterias, vibriones, cuerpos puntuales, gránulos, y a veces incluso células parecidas a las de levadura, brotes<sup>33</sup> de apariencia de óvalos pequeños (las más grande eran 0,0016 milímetros de largo y 0,0008 milímetros de diámetro) del tipo de levadura. Pero, por suerte, en algunos experimentos me libré de estas estructuras, mientras que la cantidad de alcohol detectada en los destilados, fue importante. Probablemente nadie negará que semejante resultado negativo demuestra más que dos resultados positivos<sup>34</sup>. Para completar, cito aquí algunos ejemplos:

---

organizados.

<sup>33</sup> *Sprossende* en el original (*N. del T.*).

<sup>34</sup> „es wird wohl Niemand bestreiten, daß ein derartiges negatives Ergebnis viel mehr beweist, als zwei entgegengesetzte positive“ En el original (*N. del T.*).

El 25 de noviembre de 1870, durante 30 minutos, calenté 2,0 gramos de levadura secada al aire hasta 245° C y luego, la mantuve durante media hora de 250° C hasta 258° C. Después apagué la lámpara y en 20 minutos la temperatura bajó a 100° C. El experimento se realizó de forma usual con todas las precauciones antes mencionadas. Al tercer día se produjo una débil evolución visible de gas que duró siete días. El licor de fermentación (solución de azúcar 10%) era de color amarillento y se mantuvo todo el tiempo completamente claro. A los 56 días se abrió el recipiente del experimento. En el destilado, el alcohol fue detectado mediante las dos reacciones mencionadas. Después de un lapso de 2 a 5 minutos, se formó un abundante precipitado de cristales de yodoformo. Bajo el microscopio vimos células de levadura carbonizada, muertas y gránulos individuales.

El 17 de octubre de 1870: calenté 2,0 gramos de levadura secada al aire durante 2 horas 15 minutos hasta alcanzar 250 ° C y luego la mantuve durante 15 minutos a 250° – 256° C. La levadura quedó tan intensamente carbonizada, que la mayor parte de ella quedó en la superficie del líquido de fermentación (fluido de Pasteur). El licor de fermentación se mantuvo todo el tiempo completamente claro e incoloro. Nueve días después de la destilación, en los destilados no se pudo obtener aldehído mediante el uso de ácido sulfúrico y dicromato de potasio. Sólo después de dos horas aparecieron cristales de yodoformo en forma de estrellas de seis puntas, que estaban presentes en cantidades tan pequeñas que sólo fueron perceptibles con la ayuda del microscopio. Las células de levadura estaban completamente carbonizadas. No se veían cuerpos de forma extraña y rara vez encontré gránulos individuales y cuerpos puntuales que, como siempre, tenían un movimiento molecular animado<sup>35</sup>.

Comparemos con el siguiente experimento:

El 17 de enero de 1871, calenté 2,0 gramos de levadura secada al aire durante 3 horas hasta alcanzar los 295° C y luego la mantuve durante 15 minutos entre 295° y 305° C. La levadura quedó completamente carbonizada y la mayor parte de ella permaneció sobrenadando la superficie del líquido de fermentación (líquido de Pasteur). El líquido en sí se mantuvo, todo el tiempo, claro e incoloro. Después de un período de 9 días, se destiló y no se formó aldehído. Después de 3 horas aparecieron cristales de yodoformo, pero en cantidades tan pequeñas que sólo se pudieron detectar con el microscopio. El examen microscópico encontró que la capa de color blanquecino que estaba por encima de la capa de células de levadura carbonizadas, consistía en pequeñas células parecidas a los brotes de las células de levadura (las del tamaño más grande de 0,0016 *mm* y las más pequeñas de 0,0008 *mm* de diámetro) Las células de levadura verdaderas al carbonizarse quedaron irreconocibles. En el último experimento, la cantidad de alcohol fue también grande a pesar de la presencia de pequeñas células brote no mayores que las presentes en otros experimentos anteriores y en aquellos experimentos en los que no se encontraron células semejantes a las de levadura. — La temperatura más alta que dejé actuar sobre la levadura secada al aire fue de 308° C y, en este caso tardó 3 horas y 5 minutos en alcanzarse y, durante 15 minutos la temperatura fue mantenida entre 300° y 308° C. Incluso en este caso, con el refinado método de Lieben se detectaron rastros de alcohol en el destilado. Por cierto, la cantidad de cristales de yodoformo era tan

---

<sup>35</sup> Huxley, On the relations of penicillium torula and Bacterium. *Quarterly Journal of Microscopical Science*. 1870. En la página. 360 dice: que el movimiento "independiente" de la bacteria debe considerarse un signo de vida válido.

extraordinariamente baja que, aún bajo el microscopio, se tuvo que esperar bastante tiempo para poder encontrar esos cristales. Las células de levadura estaban tan carbonizadas que impedían su reconocimiento y de las otras estructuras no se veía ningún rastro; Se detectaron unos pocos gránulos y corpúsculos puntuales. En 19 experimentos, con la levadura secada al aire he utilizado como licor de fermentación una solución de sacarosa al 10%, y en otros 10 ensayos utilicé fluido de Pasteur. No he notado ninguna diferencia entre ellas<sup>36</sup>.

Realicé mis experimentos sobre el efecto de temperaturas más altas en diferentes intervalos para establecer en cada caso, cuánto tiempo necesita el fermento para iniciar la escisión del azúcar para formar una cantidad detectable de alcohol. Descubrí que aún después de 12, 16, 24 y 36 horas todavía se puede tener resultado negativo sin rastro de alcohol en los destilados; pero que después de 48 horas, con el uso de yodo e hidróxido de potasio, se obtienen cristales de yodoformo de los destilados.

Además de dichas células pequeñas semejantes a las de levadura y de las bacterias, en algunos experimentos, incluso los realizados a temperaturas muy altas, aparecieron hechos muy perturbadores, como la formación de micelas en el fondo del tubo de ensayos. Dado que los experimentos de control se mantuvieron libres de cualquier estructura, tuve que asumir que cualquiera de las esporas de hongos que se incrustan en la levadura puede soportar altas temperaturas con vida o que en el corto tiempo que me tomó poner la levadura caliente en el tubo de ensayos, las esporas de los hongos presentes en el aire atmosférico cayeron sobre la levadura. En cualquier caso, estos hechos demuestran las grandes dificultades con las que uno tiene que lidiar con este tipo de investigaciones. Además de las micelas, que a veces se formaron en el licor de fermentación, en algunos casos se desarrollaron *Rhizopus nigricans*, en otros *Mucor mucedo* y en otros *Penicillium glaucum* L. k.

Con los sedimentos en los cuales, mediante investigaciones microscópicas, encontré bacterias (con estructuras con forma de bastón), gránulos y cuerpos puntuales inconmensurables o pequeñas células de apariencia levaduriforme (¿sería *Penicillium*?), hice los siguientes experimentos: Herví y enfrié fluido de Pasteur o solución de azúcar al 10% y lo vertí sobre los sedimentos y lo cerré cuidadosamente con un tapón de algodón dejándolo en reposo durante 5 – 14 días. A continuación, filtré el líquido, lo destilé y probé la presencia de alcohol (lo que siempre fue probado) y sometí tanto al líquido como al sedimento a un examen microscópico preciso. Inmediatamente después agregué líquido de fermentación fresco sobre el sedimento, habiendo tomado todas las precauciones necesarias para la observación. Repetí el vertido de líquido de fermentación fresco dos, tres y hasta cuatro veces y siempre observé los siguientes fenómenos: en aquellos casos en que por el vertido de líquido de fermentación fresco, el sedimento no contenía bacterias, ni cuerpos puntuales, ni gránulos, siempre había pequeñas células ovaladas como brotes levaduriformes que se incrementaban notablemente con el repetido vertido de líquido de fermentación fresco y después de

---

<sup>36</sup> No hay duda de que estos gránulos y cuerpos puntuales están formados por cuerpos muy distintos. Esto queda también demostrado por el hecho de que reaccionan de manera muy diferente ante la tintura de yodo, algunos no provocan ningún cambio en la coloración amarillo dorada mientras que otros tiñen de color azul. Estas formas son tan pequeñas que a la fuerza provocan confusión. Aquí cabe mencionar que con yodo, las bacterias se tiñen de color amarillo dorado. (Ver. Ueber Bacterien *Botan. Zeitung*. 1869. pag. 253)

7 y hasta 14 días desde la aparición de estas células detecté en el sedimento unas pocas células de levadura, grandes y normalmente vacuolizadas, encontrando que el conjunto tenía la apariencia de *Saccharomyces cerevisiae*. La evolución visible de gas fue siempre mucho más intensa durante el surgimiento de estas células de levadura vacuolizadas normalmente y, en algunos casos, incluso turbulenta. En aquellos casos en que, antes del primer vertido de líquido de fermentación fresco ya estaban presentes esas pequeñas células levaduriformes, la aparición de células de levadura normalmente vacuolizadas ocurrió más rápidamente. En los sedimentos en que se encontraron esas pequeñas células ovaladas levaduriformes (la más grande tenía 0,0016 mm de largo y 0,0008 mm de diámetro) se hallaron células brote de levadura<sup>37</sup>, por otra parte, todavía ensayé sembrar con los sedimentos varios sustratos previamente hervidos, tomando todas las precauciones necesarias para la exclusión de los gérmenes atmosféricos. Para control, se separó inmediatamente el sedimento de la levadura fresca de los sustratos. En total hice 9 ensayos de ese tipo y los resultados obtenidos fueron los siguientes: Cuando coloqué sedimento sobre un trozo de higo cocido se cubrió con pequeñas células levaduriformes. Lo dejé en reposo bajo un tapón de algodón y al cabo de un par de días se fue desarrollando un exuberante césped de *penicillium* con una hermosa fructificación. Sobre los pedazos de higo que se habían cubierto con el sedimento de la fermentación de la levadura fresca se observó una evolución bastante enérgica de gas y sobre el trozo de higo se formó una cubierta de color amarillo – blanquecino. En estos casos, el examen microscópico mostró abundantes y animadas células de levadura en desarrollo. Este último trozo de higo se secó y no mostró ningún tipo de crecimiento de moho.

En experimentos en los que el sedimento con células levaduriformes se sembró con pequeños trozos de papa, limón o zanahoria sobrecocidos, se desarrollaron, en todos los casos sin excepción, hermosas vegetaciones de *Penicillium* con abundante fructificación. Al sembrar el sedimento de levadura fresca (no calentada) con este tipo de sustratos siempre tuve las mismas formaciones de mohos (*Rhizopus nigricans*, *Mucor mucedo*, *Penicillium glaucum* y diversos *Aspergillus*). Naturalmente, estos experimentos no son lo suficiente como para extraer de ello alguna conclusión, pero la similitud de los resultados es, en todo caso, digna de mención.<sup>38</sup>

Todos los experimentos anteriores sirvieron para reforzar mi conjetura de que la escisión del azúcar en alcohol y dióxido de carbono puede proceder sin células de levadura vivas; pero como en mis experimentos con levadura calentada, las cantidades de alcohol que se formaban eran muy pequeñas y, como es bien sabido, bajo la influencia de las altas temperaturas los fermentos no organizados pierden su capacidad para inducir las descomposiciones de los sustratos<sup>39</sup>, de modo que estaba particularmente ansiosa por encontrar algún medio para obtener células de levadura muertas por completo sin exponer el contenido de sus fermentos a la acción enérgica de las altas

---

<sup>37</sup> De Bary, *Ueber Schimmel und Hefe*, l. c. pág. 67.

<sup>38</sup> En algunos aspectos, esto está de acuerdo con las observaciones hechas por el profesor Hoffmann. Ver Hofmann, *Zur Naturgeschichte der Hefe*, l. c. pág. 348 a.

Sin embargo, no he tomado decisión sobre la cuestión de en qué medida los hechos expuestos y las opiniones de la señora Johanna Lüders (*Ueber Abstammung und Entwicklung des Bacterium termo* Duj. = *Vibrio lineola* Ehrb en los *Archiv. für mikroskop. Anatomie*, 1867. T. III. pág 317 - 341) y los del Prof. Hallier (*Gährungserscheinungen*, 1867. pag 44 - 69), son concordantes.

<sup>39</sup> Berthelot, l.c. pags. 580, 594 y 600.

temperaturas. Para este propósito, repetí los experimentos del Sr. Luderdorf<sup>40</sup> mediante el rallado de la levadura; pero desafortunadamente tuve que convencerme demasiado rápidamente que de esta manera nada podría ser alcanzado.

En un mortero de vidrio, un hombre fuerte trituró levadura secada al aire con cristal de roca en polvo, en unos casos durante 6 horas y en otros durante 15 horas.

Mediante el examen microscópico de estas levaduras molidas, encontré que la mayoría de las células fueron completamente destruidas, mientras que unas pocas conservaban aún la forma de célula de levadura, pero en ellas no se podían ver vacuolas de plasma ni de grano fino. En ellas parecía como si de la célula de levadura, sólo hubiese quedado la membrana vacía. Después de estar unos días sumergida en el líquido de fermentación, la levadura molida mostró, no sólo una fermentación animada, sino también abundantes retoños de células de levadura de vacuolización normal.

Como con los experimentos con la levadura pulverizada no podía tener éxito total, otra vez me vi obligada a aplicar elevadas temperaturas como medio de aniquilación. Pero las células de levadura mueren, incluso a 84° y, como es sabido, cuando se las calienta en fluidos de fermentación en ebullición, las esporas de hongos no sobreviven; por lo que decidí hacer algunos experimentos con levadura cocida.

En mi primer intento de trabajar con levadura hervida, vertí una cierta cantidad de levadura (4 – 6 gramos) en el licor de fermentación (solución de azúcar al 10%) sobrecalentado y enfriado. Luego calenté a ebullición en una lámpara de alcohol, dejé que hierva durante un período más o menos corto y lo dejé reposar en un tubo de ensayos bajo un tapón de algodón.

En estos experimentos, pude ver que al inicio del calentamiento siempre se producía un fuerte desprendimiento de gas, la levadura rompía en hervor y fue muy difícil impedir el desbordamiento del líquido. Después de un lapso de 14 días, se hizo la destilación y se llevaron a cabo las reacciones anteriores. Sólo después de un lapso de 12 horas se formaron algunos cristales de yodoformo aunque su tamaño era tan insignificante que sólo podían ser vistos con el microscopio. En el destilado no se pudo detectar aldehído.

Dado que en estos experimentos (cuatro en total) al calentar siempre se constató el fermento, supuse que el leve rastro de alcohol se debía a que en la fermentación turbulenta el fermento pierde casi completamente su capacidad para inducir la escisión y que el alcohol formado se volatiliza durante la cocción. En consecuencia, en los restantes ensayos (17 en total) tuve que introducir una pequeña modificación consistente en partir de la levadura directamente enfriada y rociarla con licor de fermentación hirviente e, inmediatamente después, hervir todo en una lámpara de alcohol durante un tiempo más o menos largo. En tales experimentos de cocción se debe asegurar que: 1) la levadura debe estar bastante dividida; 2) Al colocar la levadura en el tubo de ensayos o en el matraz, la misma debe caer directamente sobre la base sin atascarse en las paredes de la vasija y 3) que en el primer hervor no desborde el líquido y que no haya células adheridas a las paredes de la

---

<sup>40</sup> Hofmann, *Zur Naturgeschichte der Hefe*, l. c. pág. 352.

vasija. Regulando cuidadosamente la lámpara, es siempre posible impedir el desborde de líquido y si durante la cocción algunas células de levadura quedan adheridas a las paredes del recipiente se pueden lavar agregando licor de fermentación hirviendo. De esta manera mantuve levadura hirviendo durante 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 y 45 minutos y en los destilados siempre detecté aldehído y un precipitado abundante de cristales de yodoformo. Pero también es de señalar que después de lapsos de 12 e incluso 24 horas no se podía localizar ningún rastro de alcohol en los destilados, mientras que después de 48 horas, la presencia de alcohol en el destilado fue detectada mediante las dos reacciones anteriores. En estos experimentos, en ninguno de los casos he observado la aparición de pequeñas células levaduriformes. Bajo el microscopio sólo se podían ver células de levadura muertas, bacterias inmóviles e innumerables puntos y gránulos en animado movimiento molecular.<sup>41</sup> En algunos casos, sobre la superficie del licor de fermentación se formó una ligera película, que mostró un delicado tinte rojizo. Esta película consistía en pequeños puntos y gránulos y algunas escasas bacterias en reposo (¿muertas?), en estos experimentos nunca se ha observado una evolución visible de gas, tal vez porque el líquido era tan turbio y opaco que las burbujas de gas pasaron inadvertidas.

Para finalizar, quiero mencionar mis experimentos con esporas puras de *Penicillium*. A una solución hervida y enfriada de azúcar al 10% le agregué esporas puras de *Penicillium glaucum* y agité continuamente hasta que las esporas se hundieron. Después de un lapso de 18 días, los ensayos (6 en total) fueron interrumpidos; en el destilado, por medio de las reacciones anteriores siempre se comprobó la existencia de alcohol<sup>42</sup>. También en los casos en que no se veían células de *penicillium* se podía apreciar abundante formación de micelios<sup>43</sup>. Sin embargo, cuanto más abundante fuera la formación de levaduras de *Penicillium*, (a juzgar por el ensayo de Lieben) tanto mayor eran las cantidades de alcohol.

Sobre la base de todos estos experimentos, me considero con derecho a afirmar que para la fermentación alcohólica no son necesarias células de levadura vivas. Es más que probable que el fermento específico de la fermentación alcohólica en la levadura viviente, se encuentre del mismo modo, en algunos tipos de mohos, en la emulsina y en las almendras dulces<sup>44</sup>.

Pero lo que muestran mis experimentos es el hecho de que la presencia de alcohol sólo puede ser detectada en el destilado cuando la masa de levadura muerta permanece con el licor de

---

<sup>41</sup> Hallier, *Die pflanzlichen Parasiten*. 1866. pág. 53. — Pasteur, *Mém. sur les corps. Organisés*, etc. en la obra citada, pág. 60. — En los experimentos del Dr. Manassein las esporas de *Penicillium glaucum*, *Aspergillus macrosporus* y *Mucor stolonifer* murieron a lo largo de cinco minutos de cocción.

<sup>42</sup> Para control, herví levadura en agua destilada (20, 30, 35 y 45 minutos), luego la dejé bajo tapón de algodón durante un tiempo más o menos largo y finalmente destilé como siempre el líquido de fermentación. En el destilado no se pudo detectar el menor rastro de alcohol. Del mismo modo, las dos reacciones mencionadas anteriormente no fueron capaces de detectar el menor rastro de alcohol en los destilados de la solución de azúcar puro al 10% o del líquido de Pasteur que había sido hervido durante 45 minutos y había quedado durante varios días debajo del tapón de algodón.

<sup>43</sup> M. Reetz, *Botanische Untersuchungen über die Alkoholgärungspitze*. Leipzig. 1870. pág. 52 – 53: „Sumergidas en soluciones para fermentación alcohólica, no sólo se desarrollan las esporas de las formas *Mucor*, sino aquellos brotes de vegetación dotados del efecto de los fermentos alcohólicos. El mismo efecto se logra bajo las correspondientes modificaciones del entrecruzamiento entre *Mucor mucedo* y *racemosus*.”

<sup>44</sup> Liebig, *I. c.* pág. 6. — Berthelot, *I. c.* pág. 655.

fermentación, al menos, después de 48 horas de contacto y esto no es difícil de explicar. En primer lugar, es bastante comprensible que la cantidad del alcohol formado al principio pueda ser tan pequeña que la misma no pueda ser detectada por la reacción anterior. En segundo lugar, para formar el alcohol, probablemente, es necesario el contacto directo del fermento contenido en las células de levadura con el licor de fermentación; pero los procesos endo y exoosmóticos en la levadura muerta y aun en la cocida o calentada son mucho más lentos que en una célula normal de levadura.

Este mi trabajo, que se llevó a cabo en el Laboratorio del profesor Wiesner, a quien por este medio expreso mi sincera gratitud tanto para la recepción amistosa en su laboratorio como por su extremadamente útil y continua asistencia con palabras y hechos.

Viena, 9 de abril de 1871.



#### **1 – 4. Eduard Buchner.**

Los orígenes de la familia Buchner (originalmente Buechner) se remontan a fines del siglo XVI. Vivían en un pequeño pueblo llamado Schongau, al sudoeste de Múnich, en las estribaciones de los Alpes de Ammergau.

Ernst Buchner el padre de Eduard fue un médico especializado en obstetricia recibido en 1834 que demostró tales conocimientos que en 1838 fue nombrado integrante del personal médico de la Corte Real. En 1838, se casó con Amalie Mayler, originaria de Munich y al año siguiente nació su hijo August, que falleció a los 10 años. En 1842, nació su segundo hijo, Antón, pero sólo sobrevivió tres días y cuatro días después falleció su madre de fiebre puerperal, lo que constituyó un doble golpe para un padre obstetra. En 1843, Ernst se volvió a casar y su nueva esposa, Caroline Sprengler, en 1844 dio a luz una hija, Amalie, que luego se convertiría en la hermanastra preferida de Eduard Buchner. De manera similar a lo ocurrido con el primer matrimonio, en diciembre de 1845, Caroline tuvo un niño, Joseph, que falleció a las pocas horas y a principios de 1846 falleció la madre. En 1849, Ernst se casó por tercera vez con Friederica Martin. En 1850 nació Hans el primer hijo de ambos y el 20 de mayo de 1860, Eduard Alois Buchner.

Antes de cumplir los seis años, el padre de Eduard contrató a un Profesor para que el niño practicara la lectura y la escritura con tinta, de modo que al cursar sus estudios primarios tuvo cierta

ventaja sobre sus compañeros. Su hermano Hans fue una especie de tutor y se encargó de formarlo en diversos temas, desde enseñarle a jugar al ajedrez hasta hacer experimentos químicos en su casa. En 1868 Hans comenzó a estudiar Medicina en la Universidad de Munich donde asistió a clases y conferencias de Justus von Liebig, Jacob Volhard, Karl Wilhelm von Nägeli, Philipp von Jolly y otros. Los relatos que Hans le hacía a su hermano sobre los temas que aprendía fueron despertando el interés de Eduard por las ciencias naturales.

El estallido de la guerra franco-prusiana y el apoyo de la comunidad bávara y, en particular de su padre y hermano, al ejército de Otto von Bismark, despertaron en Eduard el deseo de seguir una carrera militar, especialmente a partir de la captura de Napoleón III por las tropas prusianas y la capitulación francesa, el 18 de enero de 1871, ante el asedio a París.

En 1871, Eduard era estudiante en el *Königlichen Maximilian Gymnasium*. Ese año terminó octavo entre 35 estudiantes con la calificación general "II". Ese año hubo varios casos de meningitis en la escuela a raíz de los cuales fallecieron varios de sus compañeros y algunos profesores.

En enero de 1872, falleció Ernst, el padre de Eduard. El tío August Buchner fue nombrado tutor del joven y convenció a la madre para que Eduard abandonase los estudios secundarios y fuese a trabajar a su comercio como aprendiz. La familia logró que la madre recibiera una pensión, así como medicamentos gratuitos por haber sido Ernst médico de la Corte real.

Por influencia de Hans Martin, hermano mayor de Friederica, se le permitió a Eduard Buchner asistir a un curso preliminar en la escuela de oficios el 23 de abril de 1872. El plan de estudios incluía alemán, francés, historia natural, historia bávara, geografía, caligrafía, aritmética, gimnasia y religión. En octubre de 1872, Eduard aprobó con éxito el examen de ingreso a la escuela comercial y pronto se convirtió en el primero de su clase. También logró mantener esta posición en los exámenes en la primavera de 1873.

Por la insistencia del Hans Buchner, que ya era un "médico con licencia", la madre aceptó que Eduard dejara la escuela comercial y, en octubre de 1873, se inscribiera nuevamente en el *Königlichen Maximilian Gymnasium*. Eduard tuvo que tomar lecciones privadas para cerrar las brechas en su formación, especialmente en latín y griego.

En marzo de 1874 Hans Buchner obtuvo su doctorado con el fisiólogo Carl von Voit con la calificación "*cum nota eminentiæ*" y luego trabajó junto a Karl von Nägeli en el Instituto de Fisiología Vegetal de la Universidad de München.

En el verano de 1877, Eduard se graduó en el *Königlichen Realgymnasium München*. Después de un breve viaje de vacaciones, con Hans, a Salzburg, para visitar a la familia de Max von Frey, con quien Hans tenía una estrecha amistad, se unió como voluntario durante un año al III. Regimiento de artillería "Príncipe Leopoldo", batería de campo 2 bajo las órdenes del Capitán Merkl.

Las informaciones biográficas de Buchner, aún las suministradas por él mismo al Comité Nobel, sobre su vida entre 1878 y 1884, son contradictorias. Se ha afirmado que, en 1878, se matriculó en Química en el Politécnico de München (*Technische Hochschule*, hoy *Technische Universität*

München) donde estudió en el laboratorio de Emil Erlenmeyer.<sup>45</sup> Lo que se ha comprobado es que Eduard se matriculó en la Universidad Ludwig Maximilian de Munich desde el semestre de invierno de 1877/78 hasta el semestre de invierno de 1882/83. También se afirmó que, por dificultades económicas, tuvo que abandonar sus estudios para trabajar en una fábrica de conservas. En realidad esa fábrica de conservas era de Walter Nägeli, el hijo de Karl Wilhelm von Nägeli e íntimo amigo de Hans Buchner, que luego invirtió bastante dinero en ella, quien lo entusiasmó para poner la fábrica y convocar a Eduard para hacer todos los estudios químicos para la conservación de los alimentos envasados. Trabajando en la fábrica de conservas fue donde Eduard Buchner hizo algo de experiencia sobre los procesos de fermentación. Cuando la fábrica se mudó de München a Mombach, Eduard Buchner habría considerado que trabajar en un lugar tan alejado no le convenía y en 1884, retomó sus estudios en la Universidad.

En 1884, en la Universidad de München, estudió Química con Adolf von Bayer y, bajo la tutoría del hermano, hizo algunas investigaciones en el Instituto de Fisiología Vegetal del doctor Karl Wilhelm von Nägeli. Al año siguiente, y con la supervisión de su hermano, publicó *Der Einfluss des Sauerstoffs auf Gärungen* (La influencia del oxígeno en las fermentaciones)

En el curso de sus investigaciones en Química Orgánica, recibió asistencia especial de los que, en esa época, eran ayudantes de von Bayer en el Laboratorio, Theodor Curtius y Hans von Peckmann. Adolf von Bayer solicitó para él la beca Lamont, que otorgaba la Facultad de Filosofía de la Universidad. Por la presentación de su trabajo "*Über Gelantine*" (Acerca de la gelatina) la beca le fue concedida por tres años, para el período 1887 – 1889. Esa beca le permitió dedicarse por completo al estudio y la investigación.

En 1888 obtuvo su doctorado bajo la supervisión práctica de Theodor Curtius. Su tesis doctoral llevaba por título "*Eine neue Synthese von Derivaten des Trimethylens*", (Una nueva síntesis de derivados de los trimetilenos) en la que demostró la estructura cíclica de varios derivados del ciclopropano. En 1891, obtuvo la *Habilitation* con sus trabajos de síntesis del heterociclo pirazol ( $C_3H_4N_2$ ).

Al pedido de su hermano Hans, Eduard comenzó a investigar la posibilidad de obtener extractos de levadura sin las células. Adolf von Bayer se interesó en el tema y proveyó a Buchner de un laboratorio bien equipado. Pero por problemas laborales, en 1893, Eduard debió interrumpir sus investigaciones sobre ese tema. Ese año, se trasladó a Kiel, para trabajar en la Universidad local como supervisor de Química Analítica con Theodor Curtius. En 1895, fue nombrado Profesor de esa Universidad. En el Laboratorio de Curtius sintetizó un compuesto diazo organometálico.

En 1896, Eduard Buchner fue nombrado Profesor Asociado en la Universidad de Tübingen. Recién entonces pudo continuar con las investigaciones sobre los extractos de levadura que le había pedido el hermano.

El 11 de enero de 1897, Buchner presentó ante la *Deutsche Chemische Gesellschaft* su trabajo

---

<sup>45</sup> Otras versiones, incluyendo la del hijo Robert, afirman que tuvo que abandonar los estudios debido a la estrechez económica causada por la muerte del padre.

"*Alkoholische Gahrung ohne Hefezellen*" (Fermentaci3n alcoh3lica sin c3lulas de levadura), trabajo por el cual, en 1907, le fue otorgado el Premio Nobel de Qu3mica. La prioridad del descubrimiento de la fermentaci3n sin necesidad de la presencia de c3lulas vivas, fue reclamada, en 1898, por Marie von Manassein ante la DCG. Ella bas3 su reclamo sobre la base de haber publicado sus investigaciones sobre ese tema en 1872, en el libro *Mikroskopische Untersuchungen* del Profesor Julius Wiesner. El reclamo de la Dra. von Manassein fue girado por esa sociedad a Buchner quien contest3 que en 1870 hab3a un desconocimiento notorio sobre los cuerpos que pod3an efectuar la fermentaci3n y como en algunos de los ensayos de ella, hab3an quedado micrococos activos, era probable que la fermentaci3n hubiese ocurrido por intermedio de esos cuerpos. La *Deutsche Chemische Gesellschaft*, rechaz3 el reclamo de Marie von Manassein sin someter a prueba de confirmaci3n los experimentos detallados por ella.

En 1898, Buchner se traslad3 a Berlin, donde logr3 sintetizar el compuesto bic3clico norcarano [bicyclo (4.1.0) heptano]. En octubre de ese a3o, fue nombrado Profesor Titular de Qu3mica General en la *K3niglichen Landwirtschaftlichen Hochschule*, (Real Escuela Superior de Agricultura) en Berlin. All3 dio conferencias sobre Qu3mica agr3cola y realiz3 investigaciones experimentales sobre fermentaci3n para la industria azucarera. En esa instituci3n trabaj3 hasta 1909.

En 1900, se cas3 con Lotte Stahl, con quien tuvo cuatro hijos, Friedel, Luise, Hans y Rudolf.

Con su hermano Hans, en 1903 publicaron las investigaciones sobre la fermentaci3n alcoh3lica del az3car en un libro titulado "*Die Zymasegahrung*" (Fermentaci3n enzim3tica)

En 1907, obtuvo el Premio Nobel de Qu3mica, "Por sus investigaciones bioqu3micas y su descubrimiento de la fermentaci3n libre de c3lulas".

En 1909, fue Profesor en la Universidad de Breslau y en 1911 en la Universidad de W3rtzburg.

Durante la Primera Guerra, en 1915 se enrol3 como voluntario y, con el grado de Mayor, sirvi3 al ej3rcito alem3n atendiendo a los heridos. Estando en un hospital de campaa en Folkschani, en Rumania, el 3 de agosto de 1917 fue herido y trasladado a Munich donde falleci3 el 13 de agosto a consecuencia de las heridas recibidas.

## **1 – 5. El trabajo de Buchner sobre la fermentaci3n alcoh3lica libre de c3lulas de levadura.**

### **FERMENTACI3N ALCOH3LICA SIN C3LULAS DE LEVADURA**

**por Eduard Buchner**

*Ber. Dt. Chem.Ges.* **30**, 117 – 124 (1897)

Hasta ahora no ha sido posible separar la actividad de fermentaci3n de las c3lulas de levadura

vivas; A continuación se describe un procedimiento que resuelve este problema.

Mil gramos de levadura de cerveza<sup>1</sup> que, como requisito previo, se habían limpiado para la preparación de la levadura comprimida, pero a la que no se había agregado almidón de papa, se mezclan cuidadosamente con el mismo peso de arena de cuarzo<sup>2</sup> y 250 g de Kieselguhr. Luego se tritura hasta que la masa se vuelve húmeda y flexible. Ahora se agregan a la pasta 100 g de agua, se envuelve en tela de filtro y se somete gradualmente a una presión de 400 a 500 atmósferas: obteniéndose 350 cm<sup>3</sup> de jugo de prensa. La torta residual se tritura nuevamente, se tamiza y se le añaden 100 g de agua. Cuando la torta se somete nuevamente a la misma presión en la prensa hidráulica, se obtienen 150 cm<sup>3</sup> adicionales de jugo de prensa. Por lo tanto, un kg de levadura produce 500 cm<sup>3</sup> de jugo de prensa, que contiene aproximadamente 300 cm<sup>3</sup> de sustancias celulares. Ahora se eliminan los rastros de turbidez agitando el jugo de la prensa con 4 g de Kieselguhr y filtrándolo a través de papel haciendo refiltración repetida de las primeras porciones.

El jugo de prensa resultante es un líquido amarillo claro, ligeramente opalescente, con un agradable olor a levadura. Una sola determinación de la gravedad específica dio un valor de 1,0416 g/cm<sup>3</sup> (a 17 °C). Al hervir se separa una gran cantidad de coágulo, de modo que el líquido se solidifica casi por completo. Las escamas insolubles comienzan a formarse a solo 35 – 40°C; Se observa que las burbujas de gas, – que se comprueba que son dióxido de carbono,– aumentan incluso por debajo de esta temperatura. Por lo tanto, este gas satura el líquido<sup>3</sup>. El jugo de prensa contiene más del 10 por ciento de peso seco. Un jugo prensado preparado anteriormente por un procedimiento inferior contenía 6,7 por ciento de peso seco, 1,15 por ciento de cenizas y, a juzgar por el contenido de nitrógeno, 3,7 por ciento de proteínas.

La propiedad más interesante del jugo de prensa es su capacidad para producir la fermentación de carbohidratos. Al mezclar el mismo volumen de una solución concentrada de azúcar de caña, al cabo de un cuarto de hora a una hora, comienza una evolución regular de dióxido de carbono la que continúa durante días. El mismo comportamiento es provocado por la glucosa, la fructosa y la maltosa. Sin embargo, no se produce fermentación en mezclas de jugo de prensa con soluciones saturadas de lactosa o con manitol, lo que es coherente con el hecho de que estas sustancias no son fermentadas por las células vivas de levadura de cerveza. Después de fermentar durante varios días, las mezclas de jugo de prensa y solución de azúcar gradualmente se vuelven turbias al almacenarlas en la nevera, aunque no se encuentran organismos con el microscopio. Por otra parte, con un aumento de 700 veces se puede observar un montón de coágulos de proteínas, probablemente precipitadas por los ácidos formados durante la fermentación. La fermentación no se previene cuando la mezcla de jugo de prensa y solución de sacarosa está saturada con cloroformo, pero esto da como resultado una ligera separación temprana de proteínas. Del mismo modo, la actividad de fermentación no se elimina mediante la filtración del jugo de la prensa a través de un filtro Berkefeldt-Kieselguhr esterilizado, un proceso que sin duda retiene todas las células de levadura.

---

<sup>1</sup> Se ha eliminado el agua adherida a la levadura hasta el punto de que no se extrae más agua a una presión de 25 atm.

<sup>2</sup> El vidrio en polvo no es tan adecuado ya que es débilmente alcalino.

<sup>3</sup> Los fisiólogos de la planta pueden decidir si este dióxido de carbono se origina en los procesos de oxidación relacionados con la respiración.

Incluso a la temperatura de la nevera, una mezcla del filtrado absolutamente claro y la solución de azúcar de caña esterilizada comienza a fermentar, aunque después de, aproximadamente, un día de retraso. Se encuentra que cuando un tubo de papel pergamino lleno de jugo de prensa se cuelga en una solución de azúcar de caña al 37 por ciento, después de unas horas, su superficie se cubre con innumerables burbujas pequeñas de gas. Naturalmente, también se observó una formación vigorosa de gas dentro del tubo debido a la difusión de la solución de azúcar. Otros experimentos deberán decidir si el portador de la actividad de fermentación puede en realidad dializar a través de papeles de pergamino, lo que parece ser el caso<sup>\*</sup>. Con el tiempo, el jugo de prensa pierde gradualmente su actividad fermentativa. Por ello, tras el almacenamiento durante cinco días en una botella medio llena, la actividad del jugo hacia la sacarosa se había perdido. Sin embargo, es notable que si el jugo de prensado contiene azúcar de caña agregado, es decir, el jugo de prensado tiene actividad de fermentación, retiene su actividad en la nevera durante, al menos, dos semanas. A este respecto, uno probablemente debería considerar primero que el dióxido de carbono producido durante la fermentación tiene un efecto favorable, al evitar el contacto con el oxígeno atmosférico; pero el azúcar fácilmente asimilable también podría también contribuir a la preservación del agente.

Solo unos pocos experimentos se han realizado previamente para aprender algo sobre la naturaleza de la sustancia activa en el jugo de prensa. Cuando el jugo de prensa se calienta a 40 – 50°C, primero se observa la evolución de dióxido de carbono y luego una separación gradual de la proteína coagulada. Después de una hora, el material obtenido se filtró una vez y luego de un breve tiempo se filtró repetidamente. Inicialmente el filtrado transparente aún poseía un débil poder de fermentación pero luego iba perdiendo esa capacidad. Por lo tanto, el principio activo pierde actividad, incluso a baja temperatura, o se coagula y precipita. En otro experimento, se añadieron 20 cm<sup>3</sup> del jugo de prensa a tres volúmenes de alcohol absoluto, y el precipitado se filtró por succión y se secó al vacío sobre ácido sulfúrico; quedaron 2 g de sustancia seca que mostraron ser muy poco solubles al agitar con 10 cm<sup>3</sup> de agua. El filtrado obtenido no tenía actividad de fermentación hacia el azúcar de caña. Estos experimentos tendrán que repetirse; En particular, se intentará aislar el principio activo por medio de sulfato de amonio.

En cuanto a la *teoría de la fermentación*, se pueden extraer las siguientes conclusiones. Primero, se establece que no se requiere un aparato tan complicado como la célula de levadura para provocar el proceso de fermentación. Por el contrario, el portador de la actividad fermentativa del jugo de prensa debe considerarse una sustancia disuelta, sin duda una proteína. Esta se llamará *zimasa*.

Ya en 1858, Moritz Traube expresó la opinión de que la fermentación es provocada por una proteína especial derivada de las células de levadura. Más tarde, esta teoría de la enzima o teoría del fermento fue defendida en particular por Felix Hoppe-Seyler. En ese momento, sin embargo, la separación de dicha enzima de las células de levadura no se había logrado.

Incluso en esta época sigue abierta la cuestión si la zimasa puede agregarse directamente a la lista establecida de enzimas. Karl von Nägeli<sup>4</sup> enfatizó anteriormente que existen diferencias

---

<sup>\*</sup> Esta observación pronto fue retractada en Buchner y Rapp [*Ber. Dt. Chem Ges.* **31**, 209-217 (1898), pág. 213], presentado exactamente un año después (31 de enero de 1898) del presente trabajo [*N. del T.*].

<sup>4</sup> *Theorie der Gährung* (Teoría de la fermentación), Munich, 1879, p. 15.

importantes entre la actividad de fermentación y la actividad de las enzimas habituales. Estas últimas, simplemente, producen hidrolizados que pueden ser imitados por los medios químicos más simples. Aunque Adolf von Baeyer<sup>5</sup>, usando analogías con principios relativamente simples, nos ha acercado a la comprensión de la fermentación alcohólica como un proceso químico, la descomposición del azúcar en alcohol y dióxido de carbono sigue siendo una de las reacciones más complicadas. En este proceso, los enlaces de carbono se rompen en forma tan completa que hasta ahora no se había logrado por otros medios. Además, existe una diferencia significativa en el efecto térmico de la reacción.<sup>6</sup>

La invertasa se puede extraer de las células de levadura que habían sido destruidas por el calor seco (1 hora a 150 °C) y, mediante precipitación con alcohol, aisladas como un polvo que es fácilmente soluble en agua. Pero de esta manera no es posible obtener la sustancia que provoca la fermentación. Las células de levadura que se habían calentado a temperaturas tan altas probablemente no contengan más esa sustancia. Si el experimento anterior permite una conclusión, la precipitación con alcohol, la convierte en una modificación insoluble en agua. Por lo tanto, no será un error suponer que la zimasa debe considerarse como una proteína genuina, y que está mucho más cerca que la invertasa al protoplasma vivo de las células de levadura.

El bacteriólogo francés Pierre Miquel ha expresado opiniones similares sobre la urasa\*, la enzima excretada por las bacterias que llevan a cabo la llamada fermentación de urea. Él designa a esta enzima directamente como protoplasma que ha eliminado la protección de la pared celular, que además funciona fuera de la pared celular, y que en general difiere del protoplasma del contenido celular solo de esta manera<sup>7</sup>. Además, uno debe incluir aquí los experimentos de Emil Fischer y Paul Lindner<sup>8</sup> sobre el efecto sobre el azúcar de caña del hongo de levadura *Monilia candida*. Este hongo fermenta la sacarosa, pero tampoco Emil Christian Hansen ni los autores anteriores pudieron obtener un extracto acuoso del hongo fresco o del hongo seco que contenía una enzima similar a la invertina capaz de llevar a cabo la división anterior en glucosa y fructosa. El experimento se desarrolló de manera bastante diferente cuando Fischer y Lindner utilizaron *Monilia* fresca en la que una parte de las células se había abierto mediante una molienda cuidadosa con polvo de vidrio. Ahora se podía observar una actividad inversora inconfundible. "En este caso, sin embargo, el agente inversor no parece ser una enzima soluble en agua y estable, sino un componente del protoplasma vivo".

Es cierto que la fermentación del azúcar por la zimasa puede ocurrir dentro de las células de levadura<sup>9</sup>; sin embargo, es más probable que la célula de levadura haya secretado esta proteína en la

---

<sup>5</sup> Estos *Informes*, 3, 73.

<sup>6</sup> A. Bouffard ha vuelto a determinar recientemente el calor desarrollado por la levadura incipiente durante la fermentación alcohólica. *Compt. rend.* 121, 357.

\* Buchner usó este término en vez de *ureasa* [*N. del T.*]

<sup>7</sup> Sin embargo, debe tenerse en cuenta que la llamada fermentación de la urea, — la descomposición de la urea en amoníaco y ácido carbónico, — es, químicamente, extremadamente diferente de los procesos de fermentación usuales y, por lo tanto, no es considerada por muchos como una fermentación en absoluto. Es fácil lograr la hidrólisis de la urea por el agua a 120 °C.

<sup>8</sup> Estos *Informes*, 28, 3037.

<sup>9</sup> Las condiciones diosmóticas hacen que esto parezca posible. Compárese con von Nägeli, *l.c.*, p. 39)

solución de azúcar<sup>10</sup>. Por lo tanto, los eventos que ocurren durante la fermentación alcohólica pueden considerarse fisiológicos solo porque la zimasa es excretada por las células vivas. Karl von Nägeli<sup>11</sup> y O. Löw\* han demostrado que después de 15 horas a 30°C, cantidades considerables de proteínas, coagulables por ebullición, se difunden de las células de levadura en una solución nutritiva que, inicialmente era débilmente alcalina (por medio de K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>), luego se vuelve neutra. De hecho, como se muestra en el experimento anterior, aparentemente, la zimasa puede pasar por papel pergamino.

### EXPERIMENTOS DE FERMENTACIÓN

Nº	Jugo de prensa (cm <sup>3</sup> )	Solución de carbohidrato (cm <sup>3</sup> )	Contenido de azúcar (%)	Temperatura experimental	Observaciones
1	30	Sacarosa 30	37	Nevera	Después de 1 hora evolucionaron distintos gases lo que, después de 14 días, no se había completado. La capa de espuma era de 1 cm de alto.
2	50	" 50	37	"	Intenso desprendimiento de gas y espuma. Después de tres días, sin precipitado, la solución inicialmente clara se vuelve opaca.
3	150	" 150	37	"	Después de tres días, la espuma tiene $\frac{3}{4}$ cm de alto.
4	20	" 20	37	"	La evolución de gas se torna visible a las 2 horas y después de 14 días no se había completado. La solución, inicialmente clara muestra una mínima turbidez. La capa de espuma tiene $\frac{1}{2}$ cm de alto.
5	30	" 30	37	"	El desprendimiento de gas comienza después de 1 día y la solución, inicialmente clara, al final muestra mínima turbidez. Durante ese tiempo la solución es completamente clara.
6	20	" 20	37	ambiente	Después de 1 hora hay un vigoroso desprendimiento de gas; aún después

<sup>10</sup> De esta manera, uno probablemente también puede explicar los experimentos de J. de Rey-Pailhade (*Compt. Rend.* 118: 201) que preparó un extracto débilmente alcohólico (22 por ciento) de levadura fresca de panadería a la que se le había agregado algo de glucosa. Después de la eliminación de microorganismos por filtración a través de un filtro Arsonval estéril, este extracto que contiene azúcar desarrolló espontáneamente dióxido de carbono en ausencia de oxígeno.

<sup>11</sup> Sin embargo, los experimentos fueron repetidos exitosamente sólo en soluciones de sacarosa sino que se encontró que también ocurren en soluciones de lactosa. Por lo tanto, contrariando a las suposiciones de esos autores, los procesos de difusión no están vinculados a la actividad fermentativa.

\* Se trata de Oscar Loew, quien al vivir muchos años fuera de Alemania, escribía su apellido así. Décadas antes que Marie von Manassein y Eduard Buchner, sostuvo que no eran las células de levadura las que provocaban la fermentación sino las enzimas producidas por la levadura. [*N. del T.*]

					de 2 semanas hay una ligera formación de burbujas de gas con turbidez mínima.
7	20	" 20	37	40°C	Después de 2 horas, la capa de espuma es de 10 cm; al cabo de un día, fuerte separación de un coágulo; la formación de gas es completa.
8	30	" 30	12	nevera	Después de 6 días sigue la formación de gas; además la turbidez consiste en un coágulo muy delgado.
9	5	Maltosa 5	33	"	Al cabo de una hora comienza la evolución de gas que continua después de 12 días.
10	10	" 5	26	"	Al cabo de tres horas, la producción de gas es extraordinariamente fuerte.
11	10	Glucosa 10	33	"	Fuerte desprendimiento de gas sólo después de 20 horas, pero persiste después de 12 días. Capa de espuma de $\frac{3}{4}$ cm de alto.
12	10	" 5	26	"	Ya después de 1/2 hora fuerte desprendimiento de gas que dura 12 días; la solución se vuelve turbida y deposita algo de precipitado (ver más abajo)
13	10	Fructosa 10	37	"	Apenas 1/4 de hora evolución muy fuerte de gas que sigue vigorosa después de 3 días, la solución permanece clara.
14	10	" 5	25	"	Capa de espuma considerable al cabo de 15 minutos y mide 1 cm después de 3 días.
15	10	Lactosa 10	Saturada	ambiente	No hay evolución de gas, ni aún después de 6 días.
16	10	Manitol 10	"	"	Igual que con lactosa.

## NOTAS

En el experimento 1, 4 horas después de que comenzó a desarrollarse, el gas que escapa se hizo burbujear en agua de cal y se identificó como dióxido de carbono. En los experimentos 2 y 3, después de 3 días de fermentación se comprobó la formación de alcohol; en el experimento 2, estaban presentes 1,5 g de alcohol etílico y en el experimento 3, 3,3 g de alcohol etílico. En este cálculo, se dedujeron las cantidades de alcohol que estaban adheridas a la levadura de la fabricación de cerveza. En el experimento 2, la levadura se lavó 4 veces con porciones de 5 litros de agua antes

de preparar el jugo de prensa; luego se determinó la presencia de alcohol en 2/3 del total, el resto se preparó para jugo de prensa. Los resultados mostraron que la levadura contiene como máximo 0.3 g de alcohol. En el experimento 3, la levadura de cerveza comercial que se había purificado para la fabricación de levadura comprimida pero que no contenía almidón añadido se procesó directamente. El análisis demostró que la levadura requerida para preparar 150 cm<sup>3</sup> de jugo de prensa contenía 1,2 g de alcohol. Por lo tanto, se formaron 1,2 g de alcohol por fermentación en el experimento 2 y 2,1 g en el experimento 3. En todos los casos, el alcohol se identificó mediante la reacción de yodoformo y finalmente se separó de la solución acuosa por medio de potasa. El precipitado obtenido en el experimento 3 se destiló completamente entre 79 y 81 °C (a 734 torr); el destilado era incoloro, combustible y tenía olor a alcohol etílico.

En los experimentos 2 y 3, la *investigación microscópica* se realizó después de que la fermentación hubiera continuado durante 3 días, mientras que el ligero sedimento en el experimento 8 se examinó después de 6 días de fermentación, y en el experimento 12 después de 12 días; en todos los casos, la turbidez más o menos fuerte se debió, no a los organismos, sino simplemente a la proteína coagulada. Además, el experimento 3, se interrumpió después de 3 días para iniciar 6 cultivos en placa. Se inocularon porciones de 1 cm<sup>3</sup> del líquido en cada uno de los 3 tubos que contenían gelatina de especias de cerveza licuada, y porciones de 1 cm<sup>3</sup> en 3 tubos de gelatina de peptona de agua de carne licuada. Después de 6 días, una de las placas anteriores mostró 11 colonias mientras que las otras dos habían permanecido estériles; cada una de las tres placas de gelatina de peptona mostró uniformemente 50 – 100 colonias y que se había licuado. En vista de los grandes volúmenes inoculados en estos experimentos, los resultados demuestran que la actividad de fermentación no se debió a microorganismos; Esta conclusión, además, ya se deduce de la rápida aparición del proceso de fermentación.

Finalmente, en los experimentos 4 y 5, el jugo de la prensa se filtró por succión a través de filtros Berkefeldt-Kieselguhr esterilizados. Además, en el experimento 5, la solución de azúcar de caña se había esterilizado en autoclave, y los dos líquidos se mezclaron en condiciones completamente asépticas.

Se ha encontrado que el método descrito anteriormente para la preparación del jugo de prensa también se puede usar para obtener el contenido de células bacterianas. Los experimentos correspondientes continúan con bacterias patógenas en el Instituto de Higiene en Munich.

Tübingen, 9 de enero de 1897.

### **1 – 6. El reclamo de Marie von Manassein.**

El trabajo de Buchner se publicó en enero de 1897 y ya sea porque el número del *Berichte* llegó con mucho atraso a la Universidad de San Petersburgo, porque Marie von Manassein no lo consultó o porque ella no se encontraba en la Universidad cuando llegó, ella demoró más de un año en formular el reclamo ante la *Deutsche Chemische Gesellschaft*. El texto que envió decía lo siguiente.

## **SOBRE LA CUESTIÓN DE LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA SIN CÉLULAS DE LEVADURA VIVAS Y SOBRE LA FERMENTACIÓN EN GENERAL**

**de Marie von Manassein**

**Miembro honorario de la Sociedad Médica de Siberia Oriental. Miembro de la Sociedad Imperial de Amigos de la Ciencia, Antropología y Etnografía de Moscú, etc.**

Hace más de 26 años, el 9 de abril de 1871, escribí mi trabajo sobre fermentación alcohólica en alemán. El resultado principal de este trabajo fue expresado por mí con las siguientes palabras: "*Sobre la base de todos estos experimentos, me considero con derecho a afirmar que para la fermentación alcohólica no son necesarias células de levadura vivas. Es más que probable que el fermento específico de la fermentación alcohólica en la levadura viviente, se encuentre del mismo modo, en algunos tipos de mohos, en la emulsina y en las almendras dulces*".

Este trabajo se llevó a cabo en el laboratorio del Profesor Julius Wiesner en Viena y se publicó en su colección "*Mikroskopische Untersuchungen*", Stuttgart 1872 (completado el 1 de septiembre de 1871 en idioma alemán (pp. 116 – 128).

Para matar las células de levadura, he implementado lo siguiente: 1) las células de levadura se molieron en un mortero y se mezclaron con cristal de roca finamente pulverizado. Antes de moler, la levadura se dividió finamente y luego se secó cuidadosamente al aire. La trituración con el cristal de roca en polvo duró quince horas y cuando la masa se examinó con el microscopio, en la masa molida, – en la mayoría de las preparaciones, – con el examen más preciso, no se podía ver nada más que células de levadura completamente destruidas, y sólo en algunas de ellas se encontraron unas pocas células que aún conservaban la forma de célula de levadura, pero se veían bastante pálidas y no mostraban rastros de plasma o vacuolas de grano fino. De estas células de levadura pálidas parecía haber quedado solamente la membrana celular vacía. La levadura se sumergió en el líquido de fermentación y después de unos pocos días mostró, no sólo una fermentación viva, sino también un brote abundante de células de levadura normalmente vacuolizadas. Por cierto, este método de descomposición de la levadura había sido aplicado previamente por el profesor Lüdersdorff, como ya mencioné en mi primer artículo: 2) He calentado las células de levadura en el baño de aire hasta 225 °C, hasta 295 °C e, incluso, hasta 305 °C; mientras que la levadura era carbonizada en mayor o menor grado. Sin embargo, después de colocar esta sustancia carbonizada en una copa de cata esterilizada llena de líquido de fermentación esterilizado, siempre dio rastros débiles o apenas perceptibles de una fermentación alcohólica, cuya producción se pudo comprobar por la aparición de cristales de yodoformiato tras la aplicación de la reacción de Lieben.

La cantidad de alcohol en estos casos extremos, esto es, cuando la levadura se calentó a 294°C y a 305 °C, tuvo que ser muy insignificante, ya que los cristales de yodoformiato que se obtuvieron en el destilado fueron solo en cantidades extremadamente insignificantes, y cuando se usó ácido sulfúrico y dicromato de potasio, no se pudieron obtener cantidades apreciables de aldehído. En cambio, cuando la levadura se calentó hasta 140 – 250 °C, siempre observé una evolución más o menos débil de burbujas de dióxido de carbono, y tanto la reacción al aldehído como la producción de cristales de yodoformio indicaron la presencia de cantidades considerables de alcohol en el

destilado. 3) He estado usando levadura para cocinar. La cocción de la levadura puede considerarse indudablemente un *experimentum crucis*, ya que es bien sabido (Hoffmann) que las células de levadura y las esporas de moho no pueden tolerar la cocción.

En la realización de estos experimentos, para la ebullición de las células de levadura se debe cumplir muy estrictamente que las células de levadura no deben colocarse en la solución de azúcar esterilizada al 10%, sino que se introducen en la solución solo durante la ebullición. De lo contrario, durante las primeras etapas del calentamiento, se desarrolla una fuerte fermentación y las burbujas de dióxido de carbono que se forman en el proceso se rompen con racimos enteros de levadura que son empujados hasta la superficie del líquido. Con una fermentación tan fuerte, por supuesto, es fácil entender que cuando el calentamiento se lleva a ebullición, la fermentación del azúcar será casi completa, y en el experimento posterior con un líquido tan cocido y fermentado, en el mejor de los casos, solo se obtienen rastros bastante débiles de alcohol porque, evidentemente, la fermentación presente sólo puede realizarse con la parte que quedó sin fermentar de la precedente. Como resultado, siempre tomé la masa de levadura para la prueba, que se determinó con precisión, en forma directa con una solución de azúcar al 10% en ebullición, e inmediatamente después continué la cocción durante 10 - 15 - 20 - 25 - 30 - 35 - 40 y un máximo de 45 minutos; después de lo cual, el tubo de ensayo se cubrió con algodón esterilizado y se dejó en reposo. En todos estos experimentos, al cabo de 48 horas, en la solución hervida de azúcar al 10% se detectó, junto con la levadura, una cantidad de alcohol. La presencia de alcohol en los destilados se determinó tanto por la reacción al aldehído como por la reacción de Lieben al yodoformo. Un examen microscópico cuidadoso del sedimento no pudo encontrar ninguna estructura viva en él: todas las células de levadura estaban muertas. Las bacterias existentes se veían completamente inmóviles y no eran pequeñas, como las células de levadura. No se encontraron células germinadas (¿fermento de *Penicillium*?). En todos estos experimentos, he observado una descomposición del azúcar en dióxido de carbono y alcohol. Entonces una se pregunta: ¿bajo qué influencia se produjo la fermentación alcohólica en estos casos? Evidentemente, en estos casos sólo es posible una explicación, a saber: debemos suponer que el fermento de la fermentación alcohólica, aunque se forma en la célula de levadura viva, es, sin embargo, completamente independiente de esa célula de levadura en su efecto sobre el azúcar. La exactitud de esta conclusión se demostró, por un lado, mediante experimentos de control, y por otro mediante cuidadosas investigaciones microscópicas de cada sedimento y por los resultados de los cultivos intentados con el sedimento. Tanto como por un método como por el otro, en todos estos experimentos siempre se ha demostrado la ausencia total de células de levadura vivas.

Si me permito llamar la atención de la venerada sociedad sobre este trabajo, que apareció impreso hace más de 26 años, es solo consecuencia de la invitación que me hizo nuestro estimado presidente, el profesor L. Morochowetz. Además, el siguiente incidente inesperado me motivó a la presente comunicación: en el 30 aniversario de los *Berichte* de la Sociedad Química Alemana (1896), el Prof. Buchner en un informe provisional en el que afirma, sin más preámbulos: "*la separación de las células de levadura vivas en la fermentación, ha fallado hasta ahora*" y que él es el primero en tener éxito en encontrar un método por el cual se puede lograr dicha separación.

Este método, que el profesor Buchner utiliza para separar el fermento de la fermentación alcohólica de la célula de levadura viva, consistió en lo siguiente: 1000 gramos de levadura de cerveza que, como requisito previo, se habían limpiado para la preparación de la levadura

comprimida, pero a la que no se había agregado almidón de papa, se mezclan cuidadosamente con el mismo peso de arena de cuarzo y 250 g de Kieselguhr. Luego se tritura hasta que la masa se vuelve húmeda y flexible. Ahora se agregan a la pasta 100 g de agua, se envuelve en tela de filtro y se somete gradualmente a una presión de 400 a 500 atmósferas: obteniéndose 350 cm<sup>3</sup> de jugo de prensa. La torta residual se tritura nuevamente, se tamiza y se le añaden 100 g de agua. Cuando la torta se somete nuevamente a la misma presión en la prensa hidráulica, se obtienen 150 cm<sup>3</sup> adicionales de jugo de prensa. Por lo tanto, 1 kg de levadura produce 500 cm<sup>3</sup> de jugo de prensa, que contiene aproximadamente 300 cm<sup>3</sup> de sustancias celulares. Ahora se eliminan los rastros de turbidez agitando el jugo de la prensa con 4 g de Kieselguhr y filtrándolo a través de papel haciendo refiltración repetida de las primeras porciones. El Sr. Buchner usó el jugo prensado obtenido de esta manera como un fermento, por lo que en algunos casos el jugo prensado se filtró a través de un filtro Berkefeldt-Kieselguhr esterilizado, mientras que en otros se usó sin filtración. Podemos ver de lo anterior, que el método supuestamente nuevo utilizado por el profesor Buchner es en realidad solo una modificación del método de molienda de la levadura aplicada por el profesor Lüdersdorf y por mí. Si uno también desea considerar la extracción de la levadura molida como una idea afortunada, no puede dejar de observar, en la comunicación del Sr. Buchner, también otras omisiones muy esenciales, a saber, la ausencia, por un lado, de cuidadosas investigaciones microscópicas del jugo de la prensa y, por otro lado la ausencia de cuidadosos experimentos de cultivo del fondo del jugo prensado. Dado que las células de levadura se multiplican en un grado muy alto, los experimentos de cultivo en un líquido capaz de fermentar (solución de azúcar al 10%, o mejor el llamado "líquido de Pasteur") constituyen un buen medio para convencernos si realmente hemos eliminado todas las células de levadura de cualquier masa o líquido dado por cualquier método de remoción. Esta brecha parece aún más lamentable en el trabajo del profesor Buchner, ya que su informe contiene un pasaje interesante: *"Con el tiempo, el jugo de prensa pierde gradualmente su actividad fermentativa. Por ello, tras el almacenamiento durante cinco días en una botella medio llena, la actividad del jugo hacia la sacarosa se había perdido. Sin embargo, es notable que si el jugo de prensado contiene azúcar de caña agregado, es decir, el jugo de prensado tiene actividad de fermentación, retiene su actividad en la nevera durante, al menos, dos semanas. A este respecto, uno probablemente debería considerar primero que el dióxido de carbono producido durante la fermentación tiene un efecto favorable, al evitar el contacto con el oxígeno atmosférico; pero el azúcar fácilmente asimilable también podría también contribuir a la preservación del agente."*

Todos deben notar que el jugo de prensa de Buchner, en presencia de azúcar, ha conservado sus propiedades beneficiosas durante mucho más tiempo que su composición natural, y cualquiera que haya trabajado con levadura no podrá resistir la duda de si el jugo prensado mencionado no estaba completamente libre de células de levadura vivas, porque se sabe que la presencia de una cierta cantidad de azúcar en el líquido que contiene las células de levadura constituye el mejor medio alimenticio para las células de levadura, de modo que inician un proceso de germinación activa y, por lo tanto, muestran rápida proliferación. En consecuencia, suponiendo que el jugo prensado, además del fermento alcohólico del profesor Buchner, también contenía algunas células de levadura que habían pasado a través de la tela o el filtro, el *efecto supuestamente conservador* del azúcar se vuelve bastante comprensible, ya que el azúcar agregado al jugo prensado proporcionaría a las células de levadura individuales una alimentación abundante y, por lo tanto, les daría la oportunidad de vivir, multiplicarse y, por lo tanto, formar constantemente cantidades nuevas y nuevas del

fermento alcohólico, y de esta manera el jugo de la prensa del Sr. Buchner podría durar al menos dos semanas, sin que pierda las cualidades fermentativas características. Si el efecto del azúcar agregado a la prensa fuera solo conservador, como dice el Sr. Buchner, no solo tendría que durar dos o tres semanas, sino que tendría que durar indefinidamente más tiempo. Además, tenemos la premisa que es muy poco probable que un fermento desorganizado sea conservado por la sustancia que está llamada a dividir y transformar y, más aún, porque en los experimentos del Sr. Buchner se anunció el efecto conservante del azúcar sobre la fermentación alcohólica en solución acuosa, es decir, especialmente en tal medio, en el cual la acción de división del fermento podría desarrollarse por el medio acuoso. El hecho de que la composición del fluido en el que se lleva a cabo la fermentación debe tener una influencia muy significativa en el curso del proceso de fermentación es ahora uno de los hechos establecidos, por el trabajo de Scherer, Alex Schmidt, Nasse, Heidenreich, Grützner y Liebig ha demostrado que la adición de cantidades más grandes o más pequeñas de sal de cocina a la solución que se somete a fermentación tiene un efecto de aceleración o desaceleración en los procesos de fermentación.

Estas diferencias en el efecto del NaCl sobre la fermentación dependen directamente de la cantidad de solución salina utilizada, y lo que encontramos particularmente notable es el hecho de que esta capacidad del NaCl tanto para acelerar, como para ralentizar, afecta los procesos de fermentación tanto en fermentos organizados como en fermentos no organizados y sin forma. Así, por ejemplo, ya en 1844, Scherer<sup>1</sup> demostró la capacidad del NaCl para detener la coagulación de la leche y en 1876 Alex. Schmidt<sup>2</sup> por sus experimentos con la leche dializada finalmente confirma la capacidad del NaCl para detener la coagulación de la leche, y al mismo tiempo se aseguró de que la sal común también actúa sobre la pepsina. A su vez, Nasse<sup>3</sup>, Haidenreich<sup>4</sup>, Grützner<sup>5</sup>, han determinado la capacidad del NaCl para alterar la ptialina, el fermento diastásico del páncreas y la pepsina, mientras que Justus von Liebig<sup>6</sup> también ha observado una influencia cambiante del cloruro de sodio en la fermentación alcohólica inducida por las células de levadura. Este efecto acelerador, – o a veces más lento,– del NaCl en los procesos de fermentación puede explicarse de manera bastante natural si suponemos que la esencia de cada fermentación consiste en un movimiento producido en cada molécula de la sustancia sujeta al proceso de fermentación, como lo hice en el año 1876 en mi artículo "*Über die Bedeutung der unorganischen Nahrungsmittel*"\*. Pequeñas cantidades de NaCl tienen un efecto acelerador o creciente en los procesos de fermentación, debido a su capacidad para desempeñar un papel activo en los fenómenos de difusión y ósmosis, Vierordt<sup>7</sup>, Ludwig<sup>8</sup>, Liebig<sup>9</sup>, Graham<sup>10</sup>, Zabelin<sup>11</sup> y And<sup>12</sup>. Por lo tanto, la pregunta

---

<sup>1</sup> **Scherer**, "Chemisch-physiologische Untersuchungen",. *Liebig's Annalen der Chemie und Pharmacie*. 1841. Bd. 40.

<sup>2</sup> **Alex Schmidt**, "Ueber die Beziehung des Kochsalzes zu eiueigen thierschen Fermentationsprocessen", *Pflüger's Archiv für Physiologie*, 1876, Bd. XI.

<sup>3</sup> **Nasse**, "Untersuch. über die ungeformten Fermente", *Ibidem*, 1875, Bd. XI.

<sup>4</sup> **Haidenreich**, "Beitrage zur Kenntniss des Pankreas", *Ibidem*, 1875, Bd. X.

<sup>5</sup> **Grützner**, "Notizen über einige ungeformte Fermente", *Ibidem*, 1876, Bd. XII.

<sup>6</sup> **Liebig**, *Über Gährung. Quelle der Muskelkraft und Erpährung*. 1870.

\* "Sobre la importancia de la nutrición inorgánica". [*N. del T.*]

<sup>7</sup> **Vierordt**, "Transsudation und Endosmose", *Wagner's Handwörterbuch der Physiologie*, B. III.

<sup>8</sup> **Ludwig**, *Lehrbuch der Physiologie des Menschen*, 1852.

<sup>9</sup> **Liebig**, *Untersuchungen über einige Ursachen der Saftbewegung im thierischen Organismus*, 1848.

no se agota, porque sabemos, que incluso la adición de pequeñas cantidades de sal común cambia las proporciones de hidratación más o menos, y que Carl Schmidt ya ha demostrado a través de sus hermosas investigaciones que una parte del NaCl une 8 –10 veces más agua que una parte de albúmina y tiene importancia porque sabemos que la hidratación juega un papel importante en varios procesos de fermentación. El efecto de desaceleración de grandes cantidades de NaCl en los diversos procesos de fermentación es perfectamente natural. 1) Por el hecho de que la sal común se une a grandes cantidades de agua, evita algunos procesos de descomposición, y 2) porque el NaCl proporciona cambios en los coeficientes de elasticidad de los diferentes cuerpos, haciéndolos más resistentes.

De esta manera, suponemos que el doble papel del NaCl en varios procesos de fermentación se explica por el hecho de que cantidades más pequeñas de este inducen movimientos nuevos y más fuertes de difusión, ósmosis e hidratación, mientras que, por el contrario, las cantidades más grandes de NaCl, ralentizan y frenan los mismos movimientos. En este hecho, ya tenemos una prueba indirecta del hecho de que cada fermentación básicamente se funda en un movimiento, y que diferentes fermentos solo son necesarios en la medida en que proporcionan el impulso para un movimiento. Como son necesarios varios estímulos para inducir movimientos en tejidos y organismos vivos organizados, también son necesarios varios fermentos esenciales para inducir movimientos moleculares en sustancias orgánicas no organizadas. Justus von Liebig <sup>13</sup> trató de demostrar que todos los fenómenos de la nutrición, del metabolismo y de la vida, tanto en el reino animal como en el de las plantas, se pueden reducir fundamentalmente a procesos químicos; sin embargo, dado que ningún proceso químico es posible sin un movimiento, la afirmación de J. von Liebig se puede cambiar por la afirmación que todos los procesos vitales de los organismos dependen de los movimientos moleculares.

Es bien sabido que los procesos de fermentación juegan un papel tan importante y extendido en la vida de todos los organismos que algunos fisiólogos incluso trataron de demostrar que la vida no es más que una fermentación (Claude Bernard, el Príncipe Tarchanoff y otros) y dado que la fermentación puede proceder solo en presencia de una cantidad considerable de agua, también la intensidad de las funciones vitales solo es posible en presencia de una cantidad definida de agua intracelular. Es bien sabido que todas las funciones de la vida durante la infancia y la adolescencia son mucho más rápidas y más intensas, y al mismo tiempo se demuestra por experimentos directos (Bezold <sup>14</sup>) que la cantidad de agua en el cuerpo disminuye en paralelo con la edad. y lo que parece ser particularmente notable es el hecho de que no solo los tejidos del cuerpo sino también la sangre del feto tiene un contenido por ciento de agua mayor que la sangre del organismo madre (Nasse <sup>15</sup>).

---

<sup>10</sup> **Graham**, "Flüssigkeits-Diffusion angewandt auf Analyse", *Annalen der Physik und Chemie von Poggendorff*, 1861.

<sup>11</sup> **Zabelin**, *Medicinsky Westnik* 1866 – 1867 p. 427 y 329.

<sup>12</sup> **Carl Schmidt & Bidder**, *Die Verdauungssäfte und der Stoffwechsel*. 1852. De los mismos autores, *Charakteristik der epidemischen Cholera gegenüber verwandten Transsudations anomalien*, 1850

<sup>13</sup> **J. von Liebig**, *Die organische Chemie in ihrer Anwendung auf Physiologie und Pathologie*, 1842.

<sup>14</sup> **Bezold** "Über die Vertheilung von Wasser, organischer Substanzen und Salzen im Thierreiche", *Verhandlungen der physikalisch-medicinischen Gesellschaft in Würzburg*, 1857, Bd. VII

<sup>15</sup> **Nasse**, *Blut, Wagner's Handwörterbuch*, Bd. I.

El Dr. Warner<sup>16</sup> señaló la analogía de los movimientos de las plantas y la movilidad mórbida de los niños que sufren de corea<sup>\*</sup>, y al mismo tiempo la relación de esta movilidad de una dieta pobre, con una prevalencia desproporcionadamente alta de la cantidad de agua, tanto en los tejidos de los niños con corea como en las células de movimiento de la planta (los llamados *pulvinus*<sup>†</sup> en *mimosa pudica*, *oxalis corniculata* y otras plantas). Si uno considera el trabajo del Dr. Warner inevitablemente concluye que los casos de mayor movilidad, que se desarrollan en personas adultas simultáneamente con una mayor irritabilidad bajo la influencia de varios momentos agotadores. No hace falta decir que todos esos movimientos exhaustivos crean simultáneamente una hidremia más o menos importante<sup>17</sup>.

Si en la fermentación vemos solo el movimiento, nos resultará bastante comprensible que varias formas orgánicas inferiores puedan producir, dependiendo del carácter del medio alimentario circundante, a veces el fermento de una especie y a veces de otra, por ejemplo, lo que ha sido probado por el Dr. médico Julius Wortmann<sup>18</sup> con las bacterias. En sus experimentos, cada vez que las bacterias podían obtener su material carbonoso solo del almidón, producían un fermento diastásico mientras que las mismas bacterias, en presencia de albúmina, sabemos, producen un fermento peptonizante. Al mismo tiempo, el Profesor Rauschenbach<sup>19</sup> ha demostrado que las células de levadura que hacen de fermentación alcohólica, en condiciones normales, no contienen los más mínimos rastros de los fermentos de la fibrina; pero solo es necesario sumergir las células de levadura en un plasma sanguíneo filtrado y en frío, para producir la formación inmediata de fermento de fibrina en las células de levadura y, en consecuencia, obtener una aceleración pronunciada de la coagulación.

Por cierto, incluso la vida cotidiana puede proporcionarnos ejemplos que prueban una conexión directa de los procesos de fermentación con algún movimiento. Así por ejemplo, se sabe que los truenos tan fuertes que parecen bombas, provocan la coagulación de una leche muy fresca y un gran refuerzo de la fermentación alcohólica, de modo que las botellas llenas de bebidas fermentadas (kvas, cerveza, sidra y otras) no pueden soportar el impacto del dióxido de carbono que se produce turbulentamente y se descorchan o incluso se rompen.

En cualquier caso, uno no debe olvidar que hay bastantes preguntas importantes relacionadas con la cuestión de la fermentación, y es por eso que debemos dar la bienvenida a la publicación del trabajo de Buchner, ya que nos demuestra que la moda general que se basa en la doctrina del absoluto de Pasteur y la necesidad de la célula de levadura viva para la realización de la fermentación alcohólica se acerca a su fin, y que la pregunta sobre el papel real de las células de levadura pronto disfrutará de una nueva investigación versátil e imparcial en beneficio de la verdad y la ciencia.

---

<sup>16</sup> Warner, *British Medical Journal* 1882, N. 1101

<sup>\*</sup> Enfermedad de Huntington, disquinesia, mal de San Vito. [*N. del T.*]

<sup>†</sup> Engrosamiento en la base de la hoja de ciertas especies que por variaciones en la turgencia de los tejidos suele provocar movimientos de las hojas que pueden ser casi horizontales durante el día y verticales a la noche. [*N. del T.*]

<sup>17</sup> M Marie v. Manassein, *Woienno-Medicinsky Journal*, Bd. CXLIII.

<sup>18</sup> *Zeitschrift für physiologische Chemie*, 1882, Bd. VI.

<sup>19</sup> Friedrich Rauschenbach, "Ueber die Wechselbeziehungen zwischen dem Protoplasma, dem Blutserum und den Bizozeren Blutplättchen.", 1882. Diss.

St. Petersburg.

1898

### **1 – 7. La respuesta de Eduard Buchner al reclamo de Marie von Manassein**

A raíz de la carta enviada por Marie von Manassein al Deutsche Chemische Gesellschaft y publicada en los *Berichte*, esa institución se la giró a Eduard Buchner para que diera una contestación fundada. La respuesta de Buchner fue la siguiente.

#### **Respuesta a la Sra. Marie von Manassein**

En la anteúltima edición de estos Informes la Señora von Manassein reclamó para sí el descubrimiento de que no se necesitan células de levadura vivas para la fermentación alcohólica, sobre la base de una investigación llevada a cabo por ella en 1871 y conocida desde hace mucho tiempo. No es nuestra culpa si, lamentablemente, ahora en estas circunstancias tiene que ser explícitamente constatada: Este trabajo, meritorio para aquellos tiempos, muestra también que la autora estaba subjetivamente convencida de la existencia de enzimas de fermentación como antes lo habían hecho el Sr. Traube (en 1858) y el Sr. Berthelot (en 1860). Pero carece de la prueba objetiva de la exactitud de la suposición, que difícilmente podría comprobado con el conocimiento previo y la metodología en ese momento. Esta situación se demuestra por lo siguiente:

Casi todos los intentos de la autora se llevaron a cabo con levadura prensada, calentada o hervida y luego secada y solución de azúcar al 10% manteniéndolos entre 2 y 56 días. A continuación, se separaba por destilación y en el destilado se probaba (la fermentación) mediante la reacción de yodoformo, extremadamente sensible al alcohol.

Desde hace mucho tiempo se ha demostrado que hervir durante 10 minutos una solución de azúcar para esterilizarla nunca es suficiente. De hecho, tras la finalización de los experimentos, el examen microscópico reveló la presencia de "estructuras en forma de puntos y granos inconmensurables", que en esa época se consideraban inocuos. Al parecer no se sabía nada de micrococos, no se sabía que algunos esquizomicetos fermentan azúcar produciendo alcohol.

2. De acuerdo con la autora, calentó levadura secada al aire, durante 3 horas y 20 minutos pero el calentamiento para llevar a 308 llevó 3 horas 5 minutos, por lo que mantuvo la temperatura entre 300 y 308° durante 15 minutos. Que mantuvo durante 45 minutos levadura hervida la que aún tenía capacidad fermentativa. Debe haber ocurrido algún error experimental porque si se calienta durante una hora la levadura seca a 140 – 145° C la zímasa se destruye y por calentamiento en solución acuosa a 40 – 50° sufre un daño significativo.

Recibida esta breve contestación, la D.C.G. archivó las actuaciones. Marie von Manassein recibió la respuesta en San Petersburgo y no tuvo opción para continuar el reclamo.

Marie von Manassein falleció el 17 de marzo de 1903. Cuatro años más tarde el Comité Nobel

le adjudicaba el Premio Nobel de Química 1907, "Por sus investigaciones bioquímicas y su descubrimiento de la fermentación alcohólica libre de células"

### 1 – 8. Conclusiones.

Actualmente se sabe que manteniendo células durante 15 minutos entre 300°C y 308°C las proteínas celulares se desnaturalizan, por lo que resulta imposible que, a esas temperaturas, las células cumplan una función biológica.

De la lectura de la respuesta de Buchner al reclamo de Marie von Manassein, se deduce que escribió unas líneas sin leer detenidamente el trabajo de ella. Si lo hubiese hecho habría notado dos cosas: en primer lugar que ella no usó levadura de cerveza sino que, en todos sus experimentos, siempre usó *levadura prensada de Viena* (levadura de aguardiente) que es la que produce la fermentación de cereales para la obtención de bebidas alcohólicas. En segundo término que el objeto de la experimentación era lograr la fermentación alcohólica aún con *células muertas*. Para este objetivo era completamente irrelevante que la fermentación se hubiese debido a *Saccharomyces cerevisiae*, esquizomicetos o cualquier otro tipo de hongos.

El resultado de que la fermentación procede aún con células muertas, le hubiese requerido a Buchner, repetir los experimentos de María von Manassein para demostrar que producida la fermentación *quedaban células de levaduras vivas* con lo cual demostraría que su trabajo era el único que comprobó que no se requieren células vivas para producir la fermentación.

Dado que el resultado invalidaba una teoría aceptada por gran parte de la comunidad científica desde principios del siglo XVIII, la rapidez y superficialidad de la respuesta de Buchner se debieron a una idea preconcebida acerca de la poca capacidad científica del género femenino. Mi idea está avalada por lo siguiente:

Toda Sociedad científica que publica trabajos de investigación de sus asociados, tiene uno o varios "curadores" encargados de verificar si, en los trabajos que presentan los asociados, hay coincidencia entre lo que se ha redactado y los resultados experimentales. Si alguna Sociedad científica, no muy valorada en el ambiente de la investigación sobre la que se ocupa, no tiene curador y se produce en su ámbito alguna controversia importante corresponde el nombramiento de un curador *imparcial* para dirimir la controversia. Resulta extraño que la *Deutsche Chemische Gesellschaft*, no haya hecho comprobar los experimentos de Marie von Manassein para dirimir si fue ella o Eduard Buchner la primera persona en refutar la teoría vitalista, una comprobación tan importante que merecería un Premio Nobel.

## ÍNDICE ALFABÉTICO

### A

Academia de Ciencias de San Petersburgo, 5

alcohol etílico, 27

Alex Schmidt, 32

And, 32

Aspergillus, 16, 18

azúcar Candy, 10

### B

beca Lamont, 21

Berkefeldt-Kieselguhr, 28

Bernard, Claude, 6, 33

Berzelius, Jöns Jacob 4

Berthelot, Marcellin, 6

Bezold, 33

Biología, 1

Buchner, August, 20

Buchner, Eduard, 15, 7, 19, 20, 21, 22, 24, 25, 26, 28, 30, 31, 34, 36

Buchner, Ernst, 19

Buchner, Hans, 20, 21

### C

Caignard de Latour y Schwann, 7

Calor, 6

células de levadura, 15, 6, 7, 8, 9, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 28, 29, 30, 31, 32, 34, 35

Curtius, Theodor 21

### D

Des Cartes, R., 1

Deutsche Chemische Gesellschaft, 21

Dostoevskaya, Ekaterina, 6

Eritrozima de Schunck, 8

esquizomicetos, 35

experimentum crucis, 29

### F

fibrina, 8, 34

filtro Berkefeldt-Kieselguhr, 23, 31

Fischer, Emil, 25

Folkschani, 22

Fructosa, 27

### G

Glucosa, 27

Gómez Pereira, 1

Graham, 32

gránulos, 11, 12, 13, 14, 15, 18

Grützner, 32

**H**

Hansen, Emil Christian, 25

Heidenreich, 32

Herder, 8

hidremia, 34

**I**

invertasa, 25

**J**

jugo de prensa, 23, 24, 27, 28, 30, 31

**K**

Kieselguhr, 23, 30

Königlichen Landwirtschaftlichen  
Hochschule, 22

Königlichen Maximilian Gymnasium, 20

Königlichen Realgymnasium München, 20

Korkunov, Mikhail Andreevich, 5

**L**

Lactosa, 27

Leibniz, G. W., 3

Lieben, 11, 14, 18, 29, 30

Lindner, Paul, 25

líquido Pasteur, 10

Luderdorf, 16

Ludwig, 20, 32

**M**

Maltosa, 26

Manassein, Vyacheslav Avksentievich, 5

Manitol, 27

Marcellin Berthelot, 6

Martin, Hans, 20

Microscopía, 5

Mikroskopische Untersuchungen, 6, 7, 21, 29

mimosa pudica, 33

Miquel, Pierre, 25

Mombach, 21

Monilia candida, 25

Morochowetz, Lev, 30

*Mucor mucedo*, 15, 16, 18

**N**

Nasse, 32, 33

Nägeli, Walter, 21

**O**

oxalis corniculata, 33

**P**

Pasteur, Louis 4, 6

Penicillium, 15, 16, 18, 30

Pierre Miquel, 25

Poniatowski, 5

pulvinus, 33

puntos, 7, 11, 12, 18, 35

## Q

Química Biológica, 5

Química Fisiológica, 5

## R

Rauschenbach, 34

Rhizopus nigricans, 15, 16

## S

Saccharomyces cerevisiae, 7

Saccharomyces cerevisiae, 15

San Petersburgo, 6, 7, 28, 35

Scherer, 32

Schmidt, Carl, 32

Sprengler, Caroline, 19

Stahl, 3

Stahl, Lotte, 22

## T

Tarchanoff, Príncipe, 33

Tarkhanov, Ivan Romanovich, 6

Technische Universität München, 20

Theodor Curtius, 21

Traube, Moritz, 24, 35

Tübingen, 28

## U

Universidad de Breslau, 22

Universidad de Tübingen, 21

Universidad Ludwig Maximilian, 20

## V

vibriones, 11, 12, 13

Vierodt, 32

Vitalismo, 1

von Bayer, Adolf, 21

von Bismark, Otto, 20

von Jolly, Philipp, 19

von Liebig, Justus, 6, 8, 10, 11, 18, 19, 32, 33

von Manassein, Marie, 15, 5, 21, 26, 28, 34, 35, 36

von Nägeli, Karl Wilhelm, 19, 21

von Peckmann, Hans, 21

Volhard, Jacob, 19

## W

Warner, Dr., 33

Wiesner, Julius, 5, 6, 7, 9, 10, 12, 15, 19, 21, 29

Wöhler, Friedrich, 4

Wortmann, Julius, 34

## Z

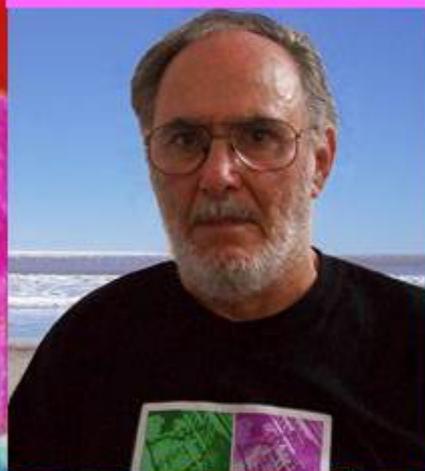
Zabelin, 32

zimasa, 24, 25, 35





En esta obra el autor nos presenta el caso de Marie von Manassein, quien en 1872 realizó una exhaustiva investigación para comprobar que no se requieren células de levadura vivas para producir la fermentación alcohólica. Entre los múltiples experimentos que realizó, a lo largo de seis meses, podemos mencionar que calentó durante 3 horas y 20 minutos una masa de levadura hasta alcanzar la temperatura de 308 °C y no obstante que a esa temperatura las células habían muerto, el líquido que había en su interior produjo la fermentación alcohólica. 26 años después, un químico trituró células de levadura, las filtró y con el filtrado también produjo la fermentación. Enterada de este experimento, ella reclamó el derecho de haber sido la primera en comprobarlo, pero su reclamo fue rechazado sin verificar la corrección de su trabajo. Hasta la actualidad ella es, prácticamente, desconocida y el otro químico obtuvo el Premio Nobel por su trabajo.



Miguel Katz, además de ser Profesor en Química y Licenciado en la Enseñanza de la Química es Doctor en Epistemología e Historia de la Ciencia. Ha sido docente de estas especialidades en varias universidades e institutos terciarios y Consultor del Programa de la Naciones Unidas para el Desarrollo. También fue galardonado con el Premio "Educación en Química" de la AQA.

ISBN 978-987-47159-2-0



9 789874 715920