

Über Citronensäuregärung.

Von

R. O. Herzog und A. Polotzky.

Aus dem Chemischen Institut der Technischen Hochschule zu Karlsruhe.)
(Der Redaktion zugegangen am 25. Februar 1909.)

Die kürzlich erschienene Dissertation «Bildung von Citronensäure durch Citromyces» von H. Wüstenfeld¹⁾ veranlaßt uns, einiges zu demselben Thema mitzuteilen, da wir uns nach längerer Beschäftigung damit das Recht der weiteren Untersuchung wahren wollen.

Zum Unterschied von Wüstenfeld haben wir nur mit selbst isolierten Pilzen gearbeitet, die zum Teil an Wirksamkeit den besten von ihm verwandten mindestens ebenbürtig waren.

Vorausgeschickt sei ferner, daß wir in einigen Punkten völlig zu den gleichen Ergebnissen wie Wüstenfeld gelangt sind. Hier seien ohne weiteren Beleg angeführt: die Erfahrung, daß die Produktion an Citronensäure nicht im Verhältnis zur Bildung des Mycels oder der Sporen steht, daß die Ausbeute an Citronensäure mit der Form der Kulturgefäße zusammenhängt, ferner das zweifelhafte Resultat, das auch uns mit Aceton behandelte Pilze bei Gärversuchen ergaben.

Zunächst wurde die Brauchbarkeit verschiedener Nährlösungen, Pflanzenextrakte und künstlicher Gemische, wie auch fester Nährböden untersucht. Dabei ergab sich, wie schon Mazé und Perrier²⁾ gefunden haben, eine Abhängigkeit der Citronensäurebildung vom Stickstoffgehalt; ferner schien uns mitunter eine Beziehung zur Konzentration an Phosphorsäure vorzuliegen. Doch kommen bei diesen Fragen verschiedene Verhältnisse in Betracht, wie die Natur der Stickstoffquelle.

¹⁾ Inaugural-Diss., Berlin 1908 (Tag der Promotion: 12. August).

²⁾ Ann. de l'Inst. Pasteur. Bd. XVIII, 1904.

Vor allem ist aber offenbar die Gesamtzusammensetzung des Nährmediums auf die Wirkung einzelner Faktoren derselben von Einfluß: nur so lassen sich viel Unregelmäßigkeiten in der Wirkung gerade der Phosphorsäure erklären. Da die Aufhellung dieser Ernährungsfragen noch nicht abgeschlossen ist, sei hier auch auf die Wiedergabe der zugehörigen Versuche verzichtet.

Dagegen möge eine Versuchsreihe über den leicht zu übersehenden Einfluß der Konzentration des Gärsubstrates auf die Citronensäurebildung mitgeteilt sein:

Dextrosegehalt der Nährlösung	5%		10%		20%		30%	
	a	b	a	b	a	b	a	b
In 8 Wochen gebildete Citronensäure in Prozent der Dextrose	22,3	28,1	18,6	22,9	10,8	12,6	9,0	7,2

(Der Versuch ist wie alle hier mitgeteilten in saurer Lösung und ohne Zusatz eines Neutralisationsmittels für die gebildete Säure durchgeführt: a und b bezeichnen zwei verschiedene Kulturen.) Das Maximum liegt also zwischen 5—10% Dextrose.

Besonders haben wir uns mit der Frage nach dem Einfluß der Konstitution des Gärsubstrates auf die Bildung der Citronensäure beschäftigt.

Biosen:

(Substratkonzentration: 5%. Analyse 5 Wochen nach der Impfung.)

		Maltose	Rohrzucker	Milchzucker
Gebildete Citronensäure in % des Zuckers	a	44,3	23,8	wenig
	b	56,6	36,9	.

Pentosen:

(Substratkonzentration: 5%. Analyse 6 Wochen nach der Impfung.)

	Arabinose	Xylose
Gebildete Citronensäure in % des Zuckers	5,8	11,4

Hexosen und den Kohlehydraten verwandte Stoffe:
(Konzentration 5^oo. Analyse 9 Wochen nach der Impfung.)

	Dex- trose	Lävu- lose	Galak- tose	Man- nose	Man- nit	Ery- thrit	Gly- cerin
Geb. Citronensäure	24,3	13,2	7,7	12,6	2,8	0	29,4
in ^o o des Substrats	23,0	—	8,5	19,4	3,6	0	24,1

Es zeigt sich also wie ganz allgemein eine deutliche Abhängigkeit von der Konfiguration des Substrates. Auffallend ist die schlechte Angreifbarkeit des Milchzuckers (Fehlen von Laktase) und der Galaktose. Auch die Widerstandsfähigkeit von Mannit und Erythrit ist im Verhältnis zur ausgezeichneten Ausnützbarkeit des Glycerins bemerkenswert.

Mazé und Perrier haben auch im Äthylalkohol eine brauchbare Quelle der Citronensäurebildung gefunden. Mit unseren Kulturen wurde zwar gutes Wachstum, aber keine merkbare Säurebildung beobachtet. Versuche mit verwandten Stoffen (Gehalt 1—2^oo) ergaben dasselbe negative Resultat. Gelegentlich wurde das Auftreten von geringen Säuremengen, doch nicht ihre Natur festgestellt.

Substanz	Wachstum	Aussehen der Kultur
Methylalkohol	+	grün
Äthylalkohol	+++	„
Propylalkohol	+++	braun
Isobutylalkohol	++	Mycel ohne Sporen
Amylalkohol	0	—
Allylalkohol	0	—
Benzylalkohol	0	—
Äthylglykol	+++	grün
Propylenglykol	+++	„
Dulcitol	+++	graugrün
Inulin	+++	„
Aceton	+	Mycel wenig Sporen
Acetophenon	Spuren	—

Endlich wurden auch die Ammonsalze einer sehr großen Zahl von Säuren untersucht, die nicht besonders angeführt werden sollen, da sich durchwegs in bezug auf die Citronensäurebildung wieder ein negatives Resultat ergab, nur malein-

saures Ammon bewirkte unerwarteterweise eine recht erhebliche Produktion einer Säure, deren Natur bisher noch nicht festgestellt wurde.

Die außerordentlich merkwürdige Synthese der Citronensäure z. B. aus Stoffen wie Glycerin, wie sie durch die Pilze bewirkt wird, bedarf einer weiteren eingehenden Untersuchung, über deren Ergebnisse wir hoffentlich in einiger Zeit berichten können. Die Wirkungsweise der Pilze läßt sich bisher nicht übersehen, nur soviel ist gewiß, daß die Bildung der Citronensäure aus einem noch unbekanntem Zwischenprodukt ein Glied aus einer ganzen Reihe von Folgereaktionen darstellt, die sich bei der Umwandlung gewisser Stoffe wie z. B. Glycerin oder Dextrose in den Pilzen abspielen. Ob jenes Zwischenprodukt als ein Assimilationsprodukt anzusprechen ist, wie sich das Mazé und Perrier und wohl auch Wüstenfeld vorstellen, ist zum Teil Frage der Definition des Begriffes Assimilation. Erwiesen wäre dieselbe, wenn sich zeigen ließe, daß die direkte Citronensäurebildung eine Dissimilation bedeutet, die der Pilz in bestimmten Lebensumständen vollzieht.