

Über die alkoholische Gärung bei verschiedenen OH-Konzentrationen.

Von

Hans Euler.

Nach Versuchen von Knut Haldin.

(Aus dem biochemischen Laboratorium der Universität Stockholm.)
(Der Redaktion zugegangen am 13. April 1917.)

Vor kurzer Zeit teilten Euler und Tholin¹⁾ die Tatsache mit, daß bei der alkoholischen Gärung die Phosphatwirkung nicht nur ihrem Grade, sondern sogar dem Sinne nach von der Konzentration der H- bzw. OH-Ionen abhängig ist.

Bis dahin war über den Einfluß der alkalischen Reaktion auf die Phosphatwirkung der Hefe noch nichts veröffentlicht worden. Wie bereits in obengenannter Mitteilung angezeigt worden war, wurde im hiesigen Laboratorium die auffallende Beeinflussung der alkoholischen Gärung durch Hydroxylionen, über welche überhaupt noch sehr wenig bekannt ist, weiter verfolgt. Dabei war die Überlegung maßgebend, daß nach dem Ergebnis von Harden und Young bei jeder alkoholischen Hefegärung die Phosphate, seien sie besonders zugesetzt oder nicht, als notwendige Stoffe beteiligt sind, und daß also die von uns gefundene Beeinflussung der Phosphatwirkung durch Hydroxylionen sich bei jeder alkoholischen Hefegärung bemerkbar machen muß.

Nach einer längeren Unterbrechung meiner wissenschaftlichen Tätigkeit finde ich in der Literatur eine bemerkenswerte Mitteilung von Gerson G. Wilenko, Beitrag zur Kenntnis der glykolytischen Prozesse,²⁾ welche das gleiche Thema, Gärung

¹⁾ Euler und Tholin, Diese Zeitschr., Bd. 97, S. 269, 1916.

²⁾ Wilenko, Diese Zeitschr., Bd. 98, S. 255, 1917.

in alkalischer Lösung behandelt.¹⁾ Ich benütze einen kurzen Aufenthalt in meinem Laboratorium, um einige neuere Ergebnisse, zu denen wir hier gekommen sind, mitzuteilen.

Die Versuche bezogen sich auf ammoniakalische Lösungen mit und ohne Zusätze von Ammoniumphosphat.

Bereits die ersten Gärungsversuche zeigten einerseits die große Verschiedenheit der Hefen im Verhalten gegenüber Basen. Die Mehrzahl der Versuche haben wir mit einer untergärigen Bierhefe (7) der hiesigen St. Eriksbrauerei ausgeführt, und sind dabei zu immer höheren Ammoniakkonzentrationen übergegangen.

Die gärenden Lösungen hatten in der Regel folgende Zusammensetzung:

1,5 g abgepreßte Hefe wurden mit 5 ccm 2%igem Ammoniumphosphat verrührt und in eine Mischung von 20 ccm 20%iger Glukose und 20 ccm Ammoniaklösung eingetragen.

Bei der Konzentration von $\frac{1}{20}$ n-NH₃ war die Vergärung noch ziemlich lebhaft; $\frac{1}{40}$ n-NH₃ wurde sehr gut vertragen.

Die Messungen bezogen sich auf die entwickelte Kohlensäure, sowohl diejenige Menge, welche direkt aus der ammoniakalischen Lösung entweicht, als auch die ganze, durch die Gärung entstandene Kohlensäuremenge; letztere wurde volumetrisch ermittelt, nach Zusatz von überschüssiger Säure zu der ammoniakalischen Lösung. Die Kohlensäure wurde wie in früheren Untersuchungen in Quecksilberbüretten aufgefangen und gemessen. In Parallelversuchen wurde ferner der Drehungsrückgang der Glukoselösungen und der Alkoholgehalt untersucht. Bei den Versuchen, welche wir hier angeben, wurden organische Phosphate und andere optisch aktive Salze nur in geringem Grad gebildet, und man konnte also den Drehungsrückgang mit ziemlicher Annäherung als ein Maß für den verbrauchten Zucker nehmen. Bei Lösungen, welche

¹⁾ Auch Neuberg und Färber haben das Studium der alkalischen Gärung aufgenommen (Biochem. Zeitschr., Bd. 78, S. 238, 1917). Sie nehmen auf obige Arbeit von Euler und Tholin keinen Bezug und scheinen andere Ziele zu verfolgen als wir.

freie starke Alkalien enthalten, ist dies nicht zulässig, weil die Glukose mit diesen Salze bildet, wodurch ihre Drehung verändert wird.¹⁾

Der Alkohol wurde pyknometrisch bestimmt, nachdem er von der vergorenen Lösung abdestilliert worden war.

Für den Verlauf der Gärung in mittelstarken ammoniakalischen Lösungen ist folgender Versuch charakteristisch:

1,5 g Hefe,

20 ccm 20%ige Glukoselösung,

20 ccm 0,05 n-Ammoniaklösung,

10 ccm Wasser resp. 10 ccm 10%ige Ammoniumphosphatlösung.

Drehung der Lösung im 10 ccm-Rohr. 18°.

Stunden	Mit Phosphat	Ohne Phosphat
0	4,40	4,40
2	3,65	3,85
3	3,39	3,38
4	3,08	3,05

Der Alkoholgehalt betrug nach 4 stündiger Gärung sowohl beim Versuch mit Phosphat als beim Versuch ohne Phosphat übereinstimmend 1,12%.

In einer anderen Versuchsreihe mit der gleichen Ammoniakkonzentration, aber nur dem 4. Teil der obigen Ammoniumphosphatmenge wurde erhalten:

Drehung der Lösung im 10 ccm-Rohr. 18°.

Stunden	Mit Phosphat	Ohne Phosphat
0	4,40	4,40
2	3,60	3,60
3	3,20	3,30
4	2,90	3,00

Alkoholgehalt nach 4 stündiger Gärung mit Phosphat 1,20%, ohne Phosphat 1,15%.

¹⁾ Euler, Ber. d. deutsch. chem. Ges., Bd. 39, S. 348 u. ff., 1906.

Entwickelte Kohlensäure. Kubikzentimeter CO₂ bei 18°.

Stunden	Mit Phosphat	Ohne Phosphat
0	101	99
3	180	151
4	255	176
Gesamt-CO ₂ nach 4 Stunden	280	186

Geht man an die Grenze der Ammoniakkonzentrationen, bei welchen noch eine einigermaßen lebhafte Gärung eintritt, so wird die Wirkung des Ammoniumphosphates bedeutend stärker. Dies zeigt sich z. B. in folgendem Versuch:

Drehung im 10 ccm-Rohr. 18°.

Stunden	Mit Phosphat	Ohne Phosphat
0	4,40	4,40
2	3,85	4,15
3	3,40	3,95
4	3,02	3,85

Alkoholgehalt nach 4stündiger Gärung mit Phosphat 0,90%, ohne Phosphat 0,15%. Parallelversuch ohne Ammoniak und Phosphat 1,51%.

Die Kohlensäure-Entwicklung in Kubikzentimeter war folgende: (18°).

Stunden	Mit Phosphat	Ohne Phosphat
2	67	9,5
3	105	16,5
4	160	37,0
Gesamt-CO ₂ in 4 Std.	170	85

Bei diesen Versuchen war durch die Gärung Säuerung eingetreten.

Das Phosphat beschleunigt also dann die alkalische Hefegärung.

Hält man dagegen die Reaktion durch kontinuierlichen Zusatz von Ammoniak alkalisch, so entwickelt sich bei gleicher OH-Konzentration in Gegenwart von Phosphat viel weniger CO_2 als ohne Phosphat.

Es wurde erhalten in 4 Stunden: mit Phosphat 55 ccm, ohne Phosphat 245 ccm CO_2 .

Mit der gleichen Hefe wurden die Versuche von Euler und Tholin wiederholt und zwar durchaus mit den früher angegebenen Resultaten, Verzögerung der Gärung. Der ganze Verlauf der alkalischen Hefegärung hängt nicht nur quantitativ, sondern qualitativ von Konzentration und Dissoziationsgrad der zugesetzten Base und des anwesenden Phosphates ab.

In dieser Hinsicht stimmen unsere Resultate durchaus mit dem Ergebnis von G. Wilenko überein, welcher bezüglich der Unterdrückung der Kohlensäureentwicklung, auf die ich übrigens bald zurückzukommen hoffe, schreibt: «Wir sehen weiter, daß der zum Zustandekommen dieser Erscheinung nötige Phosphatzusatz sich in bestimmten Grenzen bewegt. Ein Mehr schädigt die Hefefermente und die Flüssigkeit zeigt wieder Reduktionsfähigkeit . . . ; ein Weniger an den alkalischen Phosphaten hat zur Folge, daß die CO_2 -Entwicklung nicht vollständig gehemmt wird . . . Die Wichtigkeit des Alkalitätsgrades des Phosphatgemisches muß besonders betont werden.»
