

Über Alkoholgärung.

Von

S. Kostytschew.

VIII. Mitteilung.

Der Einfluss von Chlorzink auf die alkoholische Gärung lebender und getöteter Hefe.

Von

S. Kostytschew und L. Frey.

(Aus dem pflanzenphysiologischen Laboratorium der Universität St. Petersburg.)
(Der Redaktion zugegangen am 28. August 1920.)

In früher publizierten Mitteilungen über Alkoholgärung¹⁾ wurde die eigentümliche Wirkung hervorgehoben, die Chlorzink auf die Zuckervergärung durch Hefanol und Trockenhefe ausübt. Hierbei sind zwei Punkte besonders auffallend: erstens das Auftreten von Acetaldehyd unter den Gärungsprodukten, zweitens die Ungleichheit zwischen den Mengen des vergorenen Zuckers und der entstandenen Gärungsprodukte; es scheint, daß ein bedeutender Teil des Zuckers in unbekannte Stoffe übergeht. Die noch nicht veröffentlichten Versuche zeigen außerdem, daß Chlorzink auf die Bildung der sogenannten Hexosephosphorsäure ebenfalls einen großen Einfluß hat.

In der vorliegenden Mitteilung sind neuere Versuche beschrieben, in denen genaue Bestimmungen des Acetaldehyds nach der von einem von uns ausgearbeiteten und verschärften Methode²⁾ ausgeführt sind. Außerdem haben wir mit aller möglichen Sorgfalt wiederum parallele Versuche in Gegenwart und bei Abwesenheit von Zucker angestellt und das Verhältnis

¹⁾ S. Kostytschew, Diese Zeitschr. Bd. 79, S. 130 (1912); Bd. 83, S. 93 (1913); Bd. 85, S. 493 (1913); Chem. Ber. Bd. 45, S. 1289.

²⁾ S. Kostytschew, Biochem. Zeitschr. Bd. 64, S. 237 (1914).

zwischen den gesamten Gärungsprodukten und dem vergorenen Zucker ermittelt. Schließlich haben wir noch das Verhalten der lebenden Preßhefe in Gegenwart von Chlorzink studiert.

Die Zuckerbestimmungen wurden teils nach der Methode von Lehmann¹⁾, teils nach derjenigen von G. Bertrand²⁾ ausgeführt. In einigen Versuchen wurden zuerst Aminosäuren nach dem Verfahren von Neuberg und Kerb³⁾ abgeschieden, wodurch aber die Resultate der Zuckerbestimmungen nicht verändert waren.

Die Gärkölbchen wurden mit Meißelschem Gärverschluß⁴⁾ versetzt und die CO₂-Bestimmungen durch direkte Wägung ausgeführt. Den Alkohol haben wir im Destillate nach Nicloux⁵⁾, den Acetaldehyd nach Ripper⁶⁾ bestimmt. Als Antiseptikum verwendeten wir immer Toluol.

Die Resultate einiger Versuche sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Es ist ersichtlich, daß in Gegenwart von Chlorzink die Menge des vergorenen Zuckers immer bedeutend größer ist, als die Menge der Gärungsprodukte, Acetaldehyd eingeschlossen. Die Bearbeitung der Lösung mit 1%iger Salzsäure während einer Stunde bei Siedehitze hatte keine Zunahme der CuO reduzierenden Stoffe zur Folge⁷⁾. Selbst ein dauerndes Kochen mit 5%iger Salzsäure bewirkte nichts anderes, als nur einen unbedeutenden Zuckerverlust. Es sind also bei unseren Versuchsverhältnissen gar keine mit verdünnter Salzsäure hydrolysierbaren Polysaccharide in der Lösung vorhanden. Zwei Versuche wurden unter konstanter Luftdurchleitung ausgeführt; in diesen Versuchen war die Differenz zwischen vergorenem Zucker und Summe der

¹⁾ F. Lehmann, Über maßanalytische Methoden zur Bestimmung von Zuckerarten, Habilitationsschrift, Marburg (1908).

²⁾ G. Bertrand, Bull. soc. chim. Bd. 35, S. 1285 (1906).

³⁾ C. Neuberg und J. Kerb, Biochem. Zeitschr. Bd. 40, S. 498 (1912).

⁴⁾ „Zymasegärung“, S. 80 (1903).

⁵⁾ M. Nicloux, Bull. de la soc. chim. Bd. 35, S. 330 (1906).

⁶⁾ M. Ripper, Monatsh. f. Chemie Bd. 21, S. 1079; O. v. Fürth und D. Charnass, Biochem. Zeitschr. Bd. 26, S. 199 (1910).

⁷⁾ Dasselbe Ergebnis wurde bereits früher von S. Kostytschew und A. Scheloumow erhalten, aber in ihrer Mitteilung nicht erwähnt.

Gärungsprodukte ganz besonders auffallend. Sämtliche Versuche haben die bereits früher wahrgenommene Tatsache endgültig festgestellt: in Gegenwart von Chlorzink wird ein bedeutender Teil (etwa 50%) des verschwundenen Zuckers in den Gärungsprodukten nicht wiedergefunden.

Unsere Versuche beweisen außerdem ganz bestimmt, daß Acetaldehyd nur in Gegenwart von Zucker entsteht. Wir haben zahlreiche Versuche auch bei 37° ausgeführt; die Versuchsgefäße waren luftdicht verschlossen. Keinmal war eine Bildung von Acetaldehyd aus Nichtzuckerstoffen zu verzeichnen. Es ist nicht leicht, die Divergenz unserer Resultate mit denjenigen von Neuberg und Kerb¹⁾ in befriedigender Weise zu erklären. Da beiderseits zahlreiche, mit aller Sorgfalt ausgeführte Versuche vorliegen, so sind experimentelle Fehler wohl ausgeschlossen. Möglicherweise ist das Verhalten verschiedener Heferasen ein ganz ungleiches; bei anderweitigen Gelegenheiten haben wir mehrmals beobachtet, daß verschiedene Heferasen ganz enorme biochemische Unterschiede aufweisen.

Bei Abwesenheit von Chlorzink hat die von uns verwendete Trockenhefe selbst nach Vergärung von 20 g Zucker nicht die geringste Spur von Acetaldehyd erzeugt.

Auch Versuche mit Hefanol ergaben große Differenzen zwischen den Mengen des vergorenen Zuckers und der gebildeten Gärungsprodukte, wie es z. B. aus folgendem Versuche zu ersehen ist.

20 g Hefanol, 18,25 g Traubenzucker, 100 ccm Wasser und 0,4 g Chlorzink wurden 4 Tage in aller Ruhe belassen.

CO₂ = 0,24 g; Alkohol = 0,31 g; Acetaldehyd = 22 mg.

Zucker vergoren 1,407 g

Summe der Gärungsprodukte . 0,565 g

Differenz . . 0,842 g.

Es wurden also rund 60% des verschwundenen Zuckers in unbekannte Produkte verwandelt. Die gleichzeitig bei

¹⁾ C. Neuberg und J. Kerb, Biochem. Zeitschr. Bd. 58, S. 158 (1913); Bd. 64, S. 251 (1914).

Abwesenheit von Zucker belassene Portion hat nur eine Spur von Acetaldehyd geliefert.

In Tab. 2 sind Versuche mit lebender Hefe zusammengestellt. Wichtig scheint uns der Umstand zu sein, daß lebende Preßhefe in Gegenwart von Chlorzink keine Aldehydbildung aufweist. Nachdem Versuche mit geringen Hefemengen negative Resultate ergaben, haben wir beträchtliche Hefemengen mit einem entsprechenden Quantum von Chlorzink versetzt. Wo CO_2 - und Alkoholbestimmungen nicht vorgenommen wurden, haben wir besondere Maßregeln gegen die Verflüchtigung von Acetaldehyd getroffen. Der Versuchskolben wurde mit Rückflußkühler versetzt und letzterer kommunizierte mit einer Waschflasche, die mit konzentrierter Bisulfitlösung versetzt war. CO_2 -Bestimmungen wurden durch grobe Wägung, Alkoholbestimmungen pyknometrisch ausgeführt.

Aus der Tab. 2 ist ersichtlich, daß die Aldehydausbeuten immer sehr gering waren. Sie übersteigen nicht die bei der Alkoholgärung übliche Norm, und Chlorzink hat gar keine Steigerung der Aldehydbildung hervorgerufen. Wäre hier die Aldehydausbeute relativ ebenso groß gewesen, wie sie in Versuchen mit Trockenhefe war, so sollte in je einem Versuch etwa 0,5 g Aldehyd entstanden sein.

Auch in Gegenwart von Methylenblau ist die Aldehydbildung durch Preßhefe eine sehr geringe, obgleich Methylenblau durch Preßhefe stark reduziert wird.

100 g Preßhefe wurden mit 100 g Rohrzucker und 750 ccm Wasser versetzt. Sofort wurden 5 g Methylenblau (reinstes Präparat) hinzugesetzt; nach 24 Stunden wurde wiederum dasselbe Quantum hineingetan. Versuchsdauer 3 Tage.

Alkohol gebildet . . .	3,057 g
Acetaldehyd gebildet . .	0,088 g.

Auf Grund obiger Ergebnisse sind wir geneigt anzunehmen, daß Chlorzink eine direkte Einwirkung nur auf Fermente der Hefe ausübt. Diese Voraussetzung wird noch durch die Resultate der nachstehenden Arbeit wohl bekräftigt.

Tabelle 1. Versuche mit Trockenhefe.

Ver- suchs- dauer in Tagen	Angewandt				Gebildet				Zucker ver- goren in g	Differenz zwi- schen vergor. Zucker und Summe der Gä- rungsprodukte	
	Trok- ken- hefe in g	Trau- ben- zucker in g	Zn Cl ₂ in g	Was- ser in ccm	CO ₂ in g	Alko- hol in g	Acet- al- dehyd in mg	Summe der Gä- rungs- pro- dukte in g		in g	in % des ver- schwun- denen Zuckers
3	20	18,28	0,6	100	0,38	0,437	14	0,831	1,533	0,702	46
4	20	18,27	0,6	100	0,38	0,357	20	0,757	1,252	0,495	40
3	20	18,27	0,4	100	0,92	1,012	24	1,956	3,847	1,891	49
3	20	0	0,6	100	0,14	—	2	—	—	—	—
4	20	0	0,4	100	0,24	—	2	—	—	—	—
4	20	0	0	100	0,28	—	0	—	—	—	—
3 ¹⁾	5	5,03	0,15	25	0,1223	0,0695	—	0,1918	0,893	0,7012	79
3 ¹⁾	5	5,03	0,15	25	0,1194	0,0734	—	0,1828	0,686	0,5032	73
4	20	20	0	100	9,22	—	0	—	—	—	—
4	20	20	0	100	9,34	—	0	—	—	—	—

Tabelle 2. Versuche mit Preßhefe.

Ver- suchs- dauer in Tagen	Angewandt				Gebildet			Zucker ver- goren in g
	Preß- hefe in g	Rohr- zucker in g	Zn Cl ₂ in g	Wasser in ccm	CO ₂ in g	Alko- hol in g	Acetal- dehyd in g	
6	92	150	0	750	—	—	0,009	—
6	92	150	10	750	—	—	0,009	—
3	100	100	20	750	—	—	0,002	—
3	100	100	20	750	—	15,0	0,002	35
3	100	100	0	750	43	48,5	0	100
3	100	100	0	750	—	—	0	—
3	100	35	20	750	16	18,6	0	35
3	100	0	20	750	—	1,4	0	—

¹⁾ Diese Versuche wurden bei konstanter Luftdurchleitung ausgeführt. Der Alkohol wurde in einer Kühlvorrichtung zurückgehalten, CO₂ im Geißler'schen Apparate aufgefangen. Zuckerbestimmungen haben wir sowohl vor als nach der Abscheidung der Aminosäuren vorgenommen; die Resultate wurden durch Abwesenheit der Aminosäuren nicht verändert.

Zusammenfassung der wichtigsten Resultate.

1. Chlorzink bewirkt eine Bildung von Acetaldehyd durch Hefanol und Trockenhefe, aber nicht durch lebende Preßhefe.
2. Ein bedeutender Teil des durch Hefanol und Trockenhefe angegriffenen Zuckers wird in Gegenwart von Chlorzink in unbekannte Produkte verwandelt.
3. Nur in Gegenwart von Zucker ruft Chlorzink Aldehydbildung hervor. Die Selbstgärung bei Zimmertemperatur liefert in Gegenwart von Chlorzink nur minimale Spuren von Acetaldehyd.