

# Über Alkoholgärung.

Von

S. Kostytschew.

X. Mitteilung.

Gärung ist Leben ohne Sauerstoff.

Von

S. Kostytschew und Paul Eliasberg.

---

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

---

Die Frage nach dem Einfluß des Sauerstoffs auf die alkoholische Gärung lebender Hefe ist noch nicht endgültig gelöst, obgleich bereits zahlreiche Untersuchungen über diesen Gegenstand vorliegen. Es wurden die drei folgenden Meinungen über das Verhalten der Hefe bei Sauerstoffabschluß ausgesprochen.

1. Die „klassische“ Anschauung Pasteurs: „Gärung ist Leben ohne Sauerstoff.“ Nach Pasteurs Ansicht ist bei Sauerstoffzutritt normale Atmung als Energiequelle der Hefe anzusehen; alkoholische Gärung dient nur als Ersatz für Sauerstoffatmung bei Sauerstoffabschluß.

Pasteur<sup>1)</sup> erhielt in seinen Versuchen einen sehr hohen Wert (1:4) des Verhältnisses vom Hefegewicht zum verbrauchten Zucker, doch waren diese Ergebnisse nur in ganz kurzdauernden Versuchen, also während der primären starken Vermehrung der Hefezellen ermittelt. Im Verlaufe dieser Periode ist die alkoholische Gärung in der Tat sehr schwach<sup>2)</sup>, doch sind wir durchaus nicht berechtigt, solche Ergebnisse auf die Gärung bereits ausgewachsener Hefe anzuwenden.

---

<sup>1)</sup> L. Pasteur, Comptes rendus Bd. 52, S. 1260 (1861); Etudes sur la bière S. 243 (1872).

<sup>2)</sup> A. Richter, Centralbl. f. Bakter., Abt. II, Bd. 8, S. 795 (1902).

Späterhin wurden auch derartige Resultate mit ausgebildeten Hefen nicht erhalten.

Pedersen und Hansen<sup>1)</sup> haben zwar behauptet, daß sie eine hemmende Wirkung von Sauerstoff auf die Gärung wahrgenommen haben, doch wies Iwanovsky<sup>2)</sup> mit Recht darauf hin, daß dieses Resultat lediglich auf eine unrichtige Berechnung der experimentellen Daten zurückzuführen ist.

Auch Hoppe-Seyler<sup>3)</sup> glaubte eine Hemmung der alkoholischen Gärung durch Sauerstoffzufuhr beobachtet zu haben, doch wurde in seinen Versuchen eine ausgiebige Entwicklung verschiedenartiger Bakterien nicht vermieden; unter diesen befanden sich auch Essigbakterien, deren Tätigkeit die Alkoholausbeuten bedeutend herabdrücken mußte.

Auch neuere Versuche Chudiakows<sup>4)</sup> waren nicht richtig ausgeführt, indem das erhaltene Resultat durch Nebenumstände, die bei Sauerstoffzutritt und bei anaeroben Verhältnissen nicht die gleichen waren, bedingt ist<sup>5)</sup>.

2. Zweifellos unrichtig sind die Auseinandersetzungen derjenigen Forscher, die eine stimulierende Wirkung des Sauerstoffs auf alkoholische Gärung annehmen. Da auf eine Besprechung der wohl vollkommen veralteten Arbeit Nägelis<sup>6)</sup> verzichtet werden darf, so bleibt als einzige Grundlage obiger Anschauung nur die Untersuchung von A. Brown<sup>7)</sup>, die aber ebenfalls nicht stichhaltig ist, da der Verfasser den Einfluß von Sauerstoff auf die Hefevermehrung nicht gebührend gewürdigt hat.

---

<sup>1)</sup> Pedersen, Meddel. Carlsberg Laborat. Bd. 1, S. 72 (1878); Hansen, ebenda Bd. 2, S. 133 (1879).

<sup>2)</sup> D. Iwanovsky, Untersuchungen über alkoholische Gärung S. 30 (1894). Russisch.

<sup>3)</sup> Hoppe-Seyler, Über Einwirkungen des Sauerstoffs auf Gärungen (1881).

<sup>4)</sup> Chudiakow, Landwirtsch. Jahrb. Bd. 23, S. 391 (1894).

<sup>5)</sup> Rapp, Chem. Ber. Bd. 29, S. 1983 (1896); Zymasegärung S. 350 (1903).

<sup>6)</sup> Nägeli, Theorie der Gärung S. 18 (1879).

<sup>7)</sup> A. Brown, Journ. of the Chem. Sec. Bd. 1, S. 369 (1892).

3. Die moderne Ansicht wurde zuerst von Ad. Mayer<sup>1)</sup> ausgesprochen und durch die in methodischer Hinsicht glänzenden Untersuchungen von D. Iwanovsky<sup>2)</sup> scheinbar stark unterstützt. Mayer hat die Ansicht entwickelt, daß Hefe dem Luftsauerstoff gegenüber indifferent ist. Iwanovsky hat durch überzeugende Versuche dargetan, daß Hefe sowohl bei Sauerstoffzutritt als bei Sauerstoffabschluß gleiche Zuckermengen vergärt. Dieses Resultat wurde seitdem so interpretiert, daß Hefe sowohl bei aeroben als bei anaeroben Verhältnissen nur alkoholische Gärung als Energiequelle benutzt. Doch sind derartige Schlußfolgerungen durchaus nicht gerechtfertigt.

Es ist gegenwärtig anerkannt, daß nicht nur alkoholische Gärung, sondern auch Sauerstoffatmung auf Kosten von Zucker zustande kommt. Nehmen wir der Einfachheit wegen an, daß in gleichzeitigen Versuchen eine und dieselbe Zuckermenge verbraucht worden war. Im einen Versuche hat aber eine vollkommene Vergärung der gesamten Zuckermenge stattgefunden, indes im anderen Versuche  $\frac{19}{20}$  der Zuckermenge vergoren,  $\frac{1}{20}$  aber zu  $\text{CO}_2$  und Wasser oxydiert worden war. Im ersteren Falle ist die gesamte Betriebsenergie der Hefe auf den Gärungsvorgang zurückzuführen, im anderen Falle lieferte aber die Sauerstoffatmung mindestens die Hälfte der Betriebsenergie<sup>3)</sup>.

Als einziges Verfahren, welches eine gleichzeitige Bestimmung der alkoholischen Gärung und der Sauerstoffatmung der Hefe gestattet, betrachten wir simultane  $\text{CO}_2$ - und Alkoholbestimmungen.  $\text{CO}_2$  der Alkoholgärung berechnet man auf Grund der Gleichung der alkoholischen Gärung nach der Menge des gebildeten Alkohols und subtrahiert die gefundene Zahl von

<sup>1)</sup> Ad. Mayer, Chem. Ber. Bd. 13, S. 1163 (1880); Landw. Vers. Bd. 25, S. 301 (1880).

<sup>2)</sup> D. Iwanovsky a. a. O.

<sup>3)</sup> Die Verbrennungswärme von 1 Mol. Traubenzucker ist nach Stohmann gleich 674 Kal., die Wärmetönung der alkoholischen Gärung ist nach Bouffard gleich 23,7 Kal., nach Rubner gleich 24 Kal. auf je 1 Mol. Traubenzucker. Theoretisch ist dieser Wert nach Euler gleich 28,1 Kal. auf 1 Mol. Traubenzucker, was bloß  $\frac{1}{24}$  der Verbrennungswärme von Zucker ausmacht.

der Gesamtmenge von  $\text{CO}_2$ . Die Differenz ergibt die Menge von Atmungskohlensäure. Durch analoges Verfahren ist es auch möglich, vergorenen nebst veratmetem Zucker zu bestimmen.

Derartige Versuche haben schon längst Giltay und Aberson<sup>1)</sup> ausgeführt. In der einen Versuchsserie haben die Verfasser gefunden, daß etwa 20% des verbrauchten Zuckers veratmet und 80% vergoren wurde. In der anderen Versuchsserie ergab sich eine Veratmung von etwa 5% bis 6,5% der gesamten Zuckermenge. Die Zuckeroxydation war stärker im reinen Sauerstoffe, als in der atmosphärischen Luft.

Diese Versuche sind jedoch nicht ausschlaggebend, da die Verfasser bei unvollkommener Aeration und nicht mit reinen Kulturen experimentierten. Die Bedeutung des letzten Umstandes soll allerdings nicht überschätzt werden, um so mehr, als Iwanovsky<sup>2)</sup> auch bei reinen Heferassen eine bedeutende Sauerstoffabsorption bei Luftzutritt beobachtete.

Nun ist die betreffende Frage, unserer Meinung nach, durch sorgfältige Untersuchungen von H. Buchner und Rapp<sup>3)</sup> vollkommen gelöst. Die Verfasser haben  $\text{CO}_2$ - und Alkoholbestimmungen sowohl in Oberflächenkulturen reiner Heferassen auf Zuckergelatine, als unter üblichen Verhältnissen in flüssigen Medien ausgeführt und erhielten ganz eindeutige Resultate. Zwar ist die Größe von  $\text{CO}_2$  : Alkohol in der Mitteilung nicht angegeben, doch läßt sie sich auf Grund der Tab. XII<sup>4)</sup> berechnen, was wir auch ausgeführt haben. Es ergab sich, daß bei tadelloser Aeration eine bedeutende  $\text{CO}_2$ -Menge auf die Sauerstoffatmung zurückzuführen ist:

$\text{CO}_2$  :  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  bei vollkommenem Sauerstoffzutritt.

1. 100 : 66; 2. 100 : 68; 3. 100 : 67; 4. 100 : 59; 5. 100 : 68;
6. 100 : 66; 7. 100 : 68; 8. 100 : 65; 9. 100 : 69; 10. 100 : 75.

$\text{CO}_2$  :  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  bei Sauerstoffmangel.

1. 100 : 105; 2. 100 : 108; 3. 100 : 90; 4. 100 : 86; 5. 100 : 97;
6. 100 : 100; 7. 100 : 97; 8. 100 : 107.

<sup>1)</sup> Giltay und Aberson, Jahrb. f. Wiss. Bot. Bd. 26, S. 543 (1894).

<sup>2)</sup> Iwanovsky l. c. S. 28, 46, 47, 48.

<sup>3)</sup> H. Buchner und Rapp, Zymasegärung S. 379 (1903).

<sup>4)</sup> Zymasegärung S. 407.

Es ist also ersichtlich, daß bei guter Aeration etwa ein Drittel des abgeschiedenen  $\text{CO}_2$  auf Sauerstoffatmung zu beziehen ist. Die Veratmung von  $\frac{1}{6}$  <sup>1)</sup> der Zuckermenge liefert aber bedeutend mehr Energie, als eine Vergärung der Gesamtmenge von Zucker bei Sauerstoffmangel.

Auf Grund dieser Erwägungen können wir uns der Schlußfolgerung der Verfasser durchaus nicht anschließen. Hans Buchner und Rapp schreiben: „Wir haben also unsere Absicht, der Hefe zu aerobischer Existenz zu verhelfen, dieselbe trotz Anwesenheit von Gärmaterial von der Gärtätigkeit abzulenken und ihre vitale Tätigkeit auf den Prozeß der Respiration zu konzentrieren, zwar im Prinzip erreicht. Aber der erzielte Erfolg ist verhältnismäßig ein staunenswert geringer.“

Die Verfasser haben jedoch außer acht gelassen, daß eine Veratmung derselben Zuckermenge, die bei Sauerstoffmangel vergoren wird, nur in dem Falle zweckmäßig wäre, wenn Hefe bei Sauerstoffzutritt eine 24 mal größere Energiemenge verbrauchte als bei Sauerstoffmangel, was gewiß ganz unwahrscheinlich ist. Es kann kaum bezweifelt werden, daß sämtliche vitalen Vorgänge der Hefe, mit Einschluß der stark gesteigerten Vermehrung, bei Sauerstoffzutritt durch normale Atmung als Energiequelle vollkommen befriedigt sein können. Die Frage nach dem Verhalten der Hefe bei Sauerstoffzutritt muß also ganz anders präzisiert werden. Es ist zu erklären: Weshalb wird bei Sauerstoffzutritt Alkoholbildung nicht eingestellt? Ist sie doch für Hefe bei aerober Lebensweise vollkommen überflüssig.

Die Antwort wird durch die in neuerer Zeit entwickelten Vorstellungen über die Anteilnahme der Zymase am Atmungsvorgange gegeben <sup>2)</sup>.

<sup>1)</sup> Bei Sauerstoffatmung entstehen aus 1 Mol. Zucker 6 Mol., bei Alkoholgärung aber bloß 2 Mol. Kohlendioxyd.

<sup>2)</sup> S. Kostytschew, Biochem. Zeitschr. Bd. 15, S. 164 (1908); Bot. Ber. Bd. 26a, S. 565 (1908); Diese Zeitschr. Bd. 67, S. 116 (1910).

Auf Grund der von S. Kostytschew dargestellten Theorie sind Zuckermoleküle nicht direkt oxydiert, sondern zuerst durch Zymase gespalten; die intermediären Produkte der alkoholischen Gärung werden alsdann durch Eingreifen oxydierender Fermente zu den Endprodukten der Sauerstoffatmung verbrannt. Für eine vollkommene und restlose Zuckerveratmung muß also ein ganz bestimmtes Verhältnis zwischen den Mengen von oxydierenden und Gärungsfermenten bestehen.

Nun ist leicht einzusehen, daß Zymase in Hefezellen für spezielle Bedürfnisse des anaerobiotischen Lebens in sehr großer Menge erzeugt wird und also im Vergleich zu den aeroben Organismen in Überschuß vorhanden ist. Durch Sauerstoffzutritt wird aber Zymasewirkung, wie bekannt, nicht gehemmt; infolgedessen ist die Geschwindigkeit der Zuckerspaltung in Hefezellen auch bei Sauerstoffzutritt eine so bedeutende, daß sie von Oxydationsvorgängen nicht eingehalten werden kann; ein beträchtlicher Teil der entstandenen Spaltungsprodukte wird also nicht oxydiert und das chemische Gleichgewicht durch Alkohol- und Kohlendioxydbildung hergestellt<sup>1)</sup>, was aber für Hefe von keinem Nutzen ist. Bei Sauerstoffzutritt ist Alkoholbildung bei Hefe nur ein physiologisches Überbleibsel.

Auf diese Weise ist der Widerspruch der Resultate von Ad. Mayer, Iwanovsky und Hans Buchner mit der Pasteurschen Theorie nur ein scheinbarer.

In vorliegender Mitteilung wollen wir die Richtigkeit der soeben dargestellten Auseinandersetzungen durch Versuche mit Mucoraceen erläutern. Für unsere Untersuchungen haben wir drei Mucorarten ausgewählt, namentlich *Mucor racemosus* (sehr starker Gärungserreger), *Mucor Mucedo* (mittelmäßiger Gärungserreger) und *Mucor stolonifer* (aerobe Art, die bei Sauerstoffabschluß nicht zum Wachstum zu bringen ist).

<sup>1)</sup> Auf Grund dieser Voraussetzung müssen bei Sauerstoffzutritt und Sauerstoffabschluß gleiche Zuckermengen verbraucht werden, was auch mit den Resultaten Iwanovskys übereinstimmt.

Bereits früher hat der eine von uns<sup>1)</sup> dargetan, daß einige Mucorarten wie z. B. *Mucor racemosus* sich bei ungehindertem Sauerstoffzutritt als typische Gärungspilze verhalten. Bald darauf hat Wehmer<sup>2)</sup> klargelegt, daß kräftig gärende Mucoraceen bei guter Aeration Alkohol produzieren. In nachstehend beschriebenen Versuchen haben wir Bestimmungen von  $\text{CO}_2$ , Alkohol und Zucker bei Kulturen ausgeführt, die unter vollkommenem Luftzutritt gezüchtet waren. Beiläufig haben wir uns zur Aufgabe gestellt, die physiologischen Eigentümlichkeiten der beiden Rassen + und — je einer Mucorart zu untersuchen. Es ergab sich in der Tat, daß die genannten Eigentümlichkeiten schärfer sind, als es zu erwarten war. Unsere Bestimmungen der Arten und Rassen wurden von dem Mucorkenner N. A. Naumov nachgeprüft und bestätigt; dafür sind wir ihm zu aufrichtigstem Dank verpflichtet.

Für Herstellung streng-aerober Kulturen bedienen wir uns meistens der Methode von Buchner-Rapp und haben also unsere Pilze in konischen Kolben mit großer Bodenfläche auf Zuckergelatine unter kontinuierlicher Luftdurchleitung gezogen. Einige Kulturen wurden auf Brot ausgeführt. In Versuchen, wo Zuckerbestimmungen ausgeführt wurden, haben wir Kulturen auf Quarzsand verwendet. Der Sand wurde mit zuckerhaltiger Nährlösung getränkt und mit ein paar Scheiben aus dickem Filtrierpapier überdeckt. Ebenso wie in früheren Versuchen des einen von uns, entwickelten sich in derartigen Fällen auf der Oberfläche des Papiers zusammenhängende Pilzdecken.

Sämtliche Versuche wurden bei Zimmertemperatur ausgeführt. Seit dem Momente der Impfung haben wir  $\text{CO}_2$ -freie Luft durch die Kulturkolben gezogen. Der mitgerissene Alkohol wurde in zwei nacheinander gestellten und mit Eiswasser versetzten Schlangenkühlern aufgefangen; alsdann passierte der Luftstrom eine mit konzentrierter Schwefelsäure beschickte Waschflasche.  $\text{CO}_2$  wurde im Geißlerschen Kali-

<sup>1)</sup> S. Kostytschew, Centralbl. f. Bakt. Abt. II, Bd. 13, S. 490 (1904).

<sup>2)</sup> C. Wehmer, Centralbl. f. Bakt. Abt. II, Bd. 14, S. 556 (1905); Bd. 15, S. 8 (1906).

apparate absorbiert. Nach dem Geißlerschen Apparate befand sich ein kleines Waschfläschchen mit konzentrierter Schwefelsäure<sup>1)</sup>. Kaliapparat und Waschfläschchen wurden beisammen gewogen.

Nach Beendigung je eines Versuches haben wir Alkohol nach Nicloux<sup>2)</sup> und in einigen Versuchen auch Zucker nach G. Bertrand<sup>3)</sup> bestimmt. In einigen Fällen war es auch vor der Beendigung des Versuches erwünscht, Alkohol- und Zuckerbestimmungen auszuführen. Um dies zu bewerkstelligen, haben wir unsere Kulturkolben mit einer Vorrichtung versetzt, welche die Entnahme einer bestimmten Menge der Lösung unter aseptischen Kautelen und ohne Unterbrechung des Versuches gestattet. Von einer Beschreibung der hierzu gehörigen einfachen Apparatur wollen wir Abstand nehmen.

Höchst wichtig war es, vor einem Alkoholverlust vollkommen sicher zu sein. Dies war auch tatsächlich der Fall. Kontrollbestimmungen zeigten, daß zwar 11—20% der gesamten Alkoholmenge im Verlaufe des Versuchs in den ersten Schlangenkühler aus dem Kulturkolben übergehen, doch können bereits im zweiten Kühler nur Spuren von Alkohol aufgefunden werden; eine Einschaltung des dritten Kühlers erweist sich also als vollkommen überflüssig.

1. Versuchskolben . . .	0,7602 g Alkohol
Erster Kühler . . .	0,0848 g . . .
Zweiter Kühler . . .	0,005 g . . .
2. Versuchskolben . . .	1,2621 g Alkohol
Erster Kühler . . .	0,1636 g . . .
Zweiter Kühler . . .	0,005 g . . .

Analoge Bestimmungen haben wir wiederholt ausgeführt und sind imstande zu behaupten, daß in unseren Versuchen ein Alkoholverlust nicht möglich war. Im Folgenden wird nur ein Teil der ausgeführten Versuche wiedergegeben.

<sup>1)</sup> Die im hiesigen Laboratorium gemachten Erfahrungen zeigen, daß bei mehrtägiger Luftdurchleitung nur Schwefelsäure vor Wasserverlust sichern kann.

<sup>2)</sup> M. Nicloux, Bull. soc. chim. Bd. 35, S. 330 (1906).

<sup>3)</sup> G. Bertrand, Bull. soc. chim. Bd. 35, S. 1285 (1906).

Versuche mit *Mucor racemosus*.1. *Mucor racemosus* —.

Vorversuch. Nährlösung: 50 ccm Extrakt aus Preßhefe mit 10% Rohrzucker. Eine Kultur im Kölbchen mit Meißlschem Gärverschluß lieferte in 5 Tagen 0,54 g CO<sub>2</sub> und 0,53 g Alkohol. Bei Luftmangel hat also eine typische Alkoholgärung stattgefunden.

## Versuch 1.

Flüssiges Nährmedium<sup>1)</sup>: 100 ccm einer 10%igen Rohrzuckerlösung im Hefenextrakt. Nach 4 Tagen wurde die erste Probe der Lösung (33,3 ccm) entnommen. Nach Ablauf von weiteren 3 Tagen wurden die übrigen 66,7 ccm für die Analysen verwendet.

Zucker in 66,7 ccm nach 7 Tagen . . .	4,20 g
„ „ 66,7 ccm „ 4 „ . . .	5,669 g
Zuckerverbrauch in 3 Tagen . . .	1,469 g
Alkohol in 66,7 ccm nach 7 Tagen . . .	1,6670 g
„ „ 66,7 ccm „ 4 „ . . .	0,9795 g
„ gebildet in 3 Tagen . . .	0,6875 g
CO <sub>2</sub> „ „ 3 „ . . .	0,6960 g
CO <sub>2</sub> : C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH = 100 : 99.	

## Versuch 2.

Fester Nährboden: 5 g Traubenzucker, 3,5 g Gelatine und 50 ccm Nährsalzlösung (enthaltend 0,1% KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,1% MgSO<sub>4</sub> und Spur FeSO<sub>4</sub>). Zwei Kulturen.

Kultur A. In 9 Tagen: CO<sub>2</sub> = 1,7310 g; Alkohol = 1,2061 g.  
CO<sub>2</sub> : C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH = 100 : 69.

Kultur B. In 10 Tagen: CO<sub>2</sub> = 1,8315 g; Alkohol = 1,1907 g.  
CO<sub>2</sub> : C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH = 100 : 65.

<sup>1)</sup> Auf flüssigem Nährboden ist *Mucor racemosus* immer in Gestalt von Mucorhefe in die Flüssigkeit versenkt. Nur einzelne Flocken bestehen aus Pilzhyphen.

## Versuch 3.

Derselbe Nährboden, aber Traubenzuckermenge 6 g.  
Kohlendioxyd gebildet in g.

3 Tage	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag	8. und 9. Tag	10. Tag
A. 0,0335	0,0675	0,1190	0,1845	0,1850	0,5270	0,1860
B. 0,0430	0,0725	0,1680	0,2110	0,2860	0,5220	0,2200

A.  $\text{CO}_2$  in 10 Tagen = 1,3075 g.

B.  $\text{CO}_2$  in 10 Tagen = 1,5225 g; Alkohol = 1,1272 g.

$\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 100 : 74.$

Die Resultate obiger Versuche sind vom biologischen Standpunkte aus in der Beziehung beachtenswert, daß der Pilz auch unter konstanter Luftdurchleitung keine Oxydation des Zuckers bewirkt, wenn er in eine ganz geringe Menge der Flüssigkeit versenkt ist. Bei tadellosem Luftzutritt ist dagegen das Verhältnis  $\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  dasselbe wie bei Hefe (s. o.).

2. *Mucor racemosus* +.

Eine merkwürdige Eigenschaft dieser Rasse bildet das völlige Fehlen der Invertase in Pilzhyphen (s. nachstehende Mitteilung). Sämtliche Kulturen haben wir also auf Traubenzucker oder Invertzucker gezogen.

Vorversuche auf flüssigem Nährboden ergaben, daß selbst bei nicht stark gehemmter Aeration nur ganz geringe Zuckermengen oxydiert werden. So z. B.:

$\text{CO}_2 = 0,661$  g; Alkohol = 0,579 g;  $\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 100 : 88.$

## Versuch 4.

Fester Nährboden: 7,5 g Traubenzucker, 3 g Gelatine, 50 ccm Nährsalzlösung. Zwei Kulturen, A und B.

Kohlendioxyd gebildet in g.

1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag
A. 0,0200	0,0470	0,2070	0,5815	0,8800	0,6800
B. 0,0205	0,0160	0,2170	0,6080	0,9810	0,5980

A.  $\text{CO}_2$  in 6 Tagen = 2,4155 g.

B.  $\text{CO}_2$  in 6 Tagen = 2,4405 g.

Kultur B wurde noch 2 Tage im Luftstrome belassen und hat dabei 0,7855 g CO<sub>2</sub> produziert. Im Verlaufe von 8 Tagen hat also diese Kultur 3,226 g CO<sub>2</sub> abgeschieden.

- A. Alkohol in 6 Tagen = 0,850 g.  
 B. Alkohol in 8 Tagen = 1,0669 g.  
 A. CO<sub>2</sub> : C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH = 100 : 35.  
 B. CO<sub>2</sub> : C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH = 100 : 33.

## Versuch 5.

Nährboden: Quarzsand mit 65 ccm Nährlösung getränkt. Die Lösung enthielt 0,3% NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, 0,1% KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,1% MgSO<sub>4</sub> und 7,702 g Traubenzucker (analytisch bestimmt). Zwei Kulturen, A und B.

## Kohlendioxyd gebildet in g.

2 Tage	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag	8. Tag
A. 0,0375	0,1260	0,2690	0,5250	0,6640	0,7545	0,2125
B. 0,1350	0,3530	0,6150	0,8735	0,8670	0,6550	0,1140

Kultur A wurde noch 2 Tage im Luftstrom belassen.

- A. In 10 Tagen: CO<sub>2</sub> = 3,821 g; Alkohol = 1,0588 g.  
 CO<sub>2</sub> : C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH = 100 : 28.  
 Zucker geblieben = 1,399 g; Zuckerverbrauch = 6,303 g.  
 B. In 8 Tagen: CO<sub>2</sub> = 3,6125 g; Alkohol = 1,4307 g.  
 CO<sub>2</sub> : C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH = 100 : 39.  
 Zucker geblieben = 1,27 g; Zuckerverbrauch = 6,430 g.

## Versuch 6.

Nährboden: Quarzsand mit 55 ccm Nährlösung getränkt. Die Lösung enthielt 6,27 g Traubenzucker. Zwei Kulturen, A und B.

## Kohlendioxyd gebildet in g.

2 Tage	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag	8. Tag	9. Tag
0,0265	0,0420	0,1270	0,3775	0,4575	0,7105	0,5880	0,4420
0,0380	0,0390	0,1060	0,2650	0,5080	0,5655	0,5485	0,5285

- A. In 9 Tagen: CO<sub>2</sub> = 2,771 g; Alkohol = 0,7221 g.  
 CO<sub>2</sub> : C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH = 100 : 26.  
 Zucker geblieben = 2,05 g; Zuckerverbrauch = 4,22 g.

Kultur B wurde noch im Verlaufe von 2 Tagen im Luftstrom belassen.

B. In 11 Tagen:  $\text{CO}_2 = 3,490 \text{ g}$ ; Alkohol = 0,9429 g.

$\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 100 : 27.$

Zucker geblieben = 1,40 g; Zuckerverbrauch = 4,87 g.

Obige Versuche zeigen, daß der typische Gärungserreger *Mucor racemosus* + bei tadelloser Aeration eine energische Zuckeroxydation bewirkt. Parallele Versuche von ungleicher Dauer zeigen, daß zu jeder Zeit der größte Teil des Zuckers total veratmet wird. Auf den ersten Blick scheint der Einwand möglich zu sein, daß geringe Alkoholausbeuten auf eine partielle Oxydation des Alkohols zu Acetaldehyd oder sonstigen Produkten zurückzuführen sind, doch wird diese Voraussetzung durch die Resultate der Zuckerbestimmungen widerlegt. Es ergab sich, daß der Zuckerverbrauch sehr gering ist (Vers. 5 und 6); das Gewicht des abgeschiedenen  $\text{CO}_2$  beträgt bedeutend mehr als die Hälfte der Menge des zerlegten Zuckers. Es ist also die Annahme nicht möglich, daß Alkoholproduktion ebenso ausgiebig wie die  $\text{CO}_2$ -Produktion war. Der geringe Zuckerverbrauch beteuert das Zustandekommen einer energischen Sauerstoffatmung.

Berechnet man die Energiemengen, die von *Mucor racemosus* + bei tadelloser Aeration aus Sauerstoffatmung einerseits, andererseits aber aus Zymasegärung gewonnen werden können, so gelangt man zum Ergebnis, daß normale Atmung etwa 24mal mehr Energie liefert als der Gärungsvorgang<sup>1)</sup>. Hieraus ist wohl der Schluß zu ziehen, daß alkoholische Gärung für den Pilz bei vollem Luftzutritt gar nicht notwendig ist. Diese Schlußfolgerung ist hier noch viel anschaulicher als bei der Beurteilung der Betriebsvorgänge von Hefe und von *Mucor racemosus* —. Das ungleiche Verhalten beider Rassen bei Sauerstoffzutritt ist eine biologisch merkwürdige Tatsache.

<sup>1)</sup> Nimmt man als Rundzahl  $\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 100 : 33$  an, so ist leicht zu berechnen, daß auf je 1 Mol. des vergorenen Zuckers 1 Mol. Zucker veratmet wird. Dies bedeutet, daß durch Sauerstoffatmung etwa 24mal mehr Energie gewonnen wird als durch den Gärungsakt.

Auf Brot kultiviert, zeigt *Mucor racemosus* + eine weniger kräftige oxydierende Tätigkeit, wie es durch folgende Versuche erläutert wird.

## Versuch 7.

Nährboden: Weizenbrotpulver mit 100 ccm 10%iger Traubenzuckerlösung getränkt.

In 4 Tagen:  $\text{CO}_2 = 1,479$  g; Alkohol = 0,980 g.

$\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 100 : 63.$

## Versuch 8.

Dasselbe Substrat. Zwei Kulturen, A und B.

Kohlendioxyd gebildet in g.

1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag
A. 0,0260	0,1790	0,5455	0,5745	0,4115
B. 0,0300	0,1830	0,5430	—	—

A. In 5 Tagen:  $\text{CO}_2 = 1,7365$  g; Alkohol = 0,8176 g.

$\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 100 : 47.$

B. In 3 Tagen:  $\text{CO}_2 = 0,7560$  g; Alkohol = 0,4584 g.

$\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 100 : 60,5.$

Auf Brot gezogene Kulturen wachsen in den Nährboden hinein, was bereits eine unvollkommene Aeration zur Folge hat. Dieses Beispiel ist lehrreich, da es zeigt, wie leicht durch scheinbar unbedeutende Umstände die Sauerstoffatmung der Gärungspilze gestört wird. Streng aerobe Pilze, wie z. B. *Aspergillus niger*, erzeugen selbst bei Eintauchen in die Flüssigkeit gar keine Spur Alkohol bei Sauerstoffzutritt, indem sie mit dem gelösten Sauerstoff auskommen<sup>1)</sup>.

Versuche mit *Mucor Mucedo*.1. *Mucor Mucedo* —.

## Versuch 9.

Fester Nährboden: 50 ccm Nährsalzlösung, 0,3% Pepton, 10% Traubenzucker, 7% Gelatine. Zwei Kulturen, A und B.

<sup>1)</sup> Darüber wird in der noch nicht veröffentlichten Mitteilung von S. Kostytschew und M. Afanassjewa ausführlicher gesprochen werden.

A. In 11 Tagen:  $\text{CO}_2 = 1,8155 \text{ g}$ ; Alkohol = 1,0669 g.

$\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 100 : 59.$

B. In 11 Tagen:  $\text{CO}_2 = 1,7385 \text{ g}$ ; Alkohol = 1,0220 g.

$\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 100 : 59.$

#### Versuch 10.

Wiederholung des vorstehenden. Versuchsdauer 10 Tage.

A.  $\text{CO}_2 = 1,7845 \text{ g}$ ; Alkohol = 0,9106 g.

$\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 100 : 51.$

B.  $\text{CO}_2 = 1,7370 \text{ g}$ ; Alkohol = 0,8986 g.

$\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 100 : 52.$

#### Versuch 11.

Derselbe Nährboden. Eine Kultur. Versuchsdauer 10 Tage.

$\text{CO}_2 = 1,7400 \text{ g}$ ; Alkohol = 0,9287 g.

$\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 100 : 53.$

### 2. *Mucor Mucedo* +.

#### Versuch 12.

Fester Nährboden: 50 ccm Nährsalzlösung, 0,3% Pepton, 10% Invertzucker, 7% Gelatine. Zwei Kulturen, A und B.

A. In 10 Tagen:  $\text{CO}_2 = 1,7380 \text{ g}$ ; Alkohol = 0,8216 g.

$\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 100 : 47.$

B. In 10 Tagen:  $\text{CO}_2 = 1,6830 \text{ g}$ ; Alkohol = 0,7573 g.

$\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 100 : 45.$

#### Versuch 13.

Fester Nährboden: 50 ccm Nährsalzlösung, 0,3% Pepton, 15% Traubenzucker, 7% Gelatine. Eine Kultur.

In 11 Tagen:  $\text{CO}_2 = 1,636 \text{ g}$ ; Alkohol = 0,6986 g.

$\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 100 : 43.$

Es ergab sich, daß auch *Mucor Mucedo* bei gutem Sauerstoffzutritt eine energische Sauerstoffatmung entwickelt, aber gleichzeitig auch Alkoholbildung hervorruft. Obgleich *Mucor Mucedo* ein weit schwächerer Gärungserreger ist als *Mucor racemosus* +, ist das Verhältnis  $\text{CO}_2$  : Alkohol größer bei dem letztgenannten Pilz. Es ist also einleuchtend, daß bei ungehindertem Sauerstoffzutritt die alkoholische Gärung der *Mucoraceen* in keinem Verhältnis zu ihrer tatsächlichen Gärungstüchtigkeit steht und als physiologisches Überbleibsel anzusehen ist.

Versuche mit *Mucor stolonifer*.

Zu unserem großen Bedauern verfügten wir nur über eine gemischte Rasse  $\pm$ . Auf diesen Umstand sind wohl die schwankenden Werte von  $\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  zurückzuführen, und eine Untersuchung der getrennten Rassen wäre also sehr wünschenswert.

## Versuch 14.

Fester Nährboden: 50 ccm Nährsalzlösung, 0,3% Pepton, 10% Traubenzucker, 7% Gelatine. Zwei Kulturen, A und B.

A. In 10 Tagen:  $\text{CO}_2 = 0,5125$  g; Alkohol = 0,2620 g.  
 $\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 100 : 51.$

B. In 10 Tagen:  $\text{CO}_2 = 0,5420$  g; Alkohol = 0,2800 g.  
 $\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 100 : 51.$

## Versuch 15.

Derselbe Nährboden. Eine Kultur.

In 8 Tagen:  $\text{CO}_2 = 0,8735$  g; Alkohol = 0,3572 g.  
 $\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 100 : 41.$

## Versuch 16.

Derselbe Nährboden. Zwei Kulturen, A und B.

A. In 8 Tagen:  $\text{CO}_2 = 0,764$  g; Alkohol = 0,1905 g.  
 $\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 100 : 25.$

B. In 8 Tagen:  $\text{CO}_2 = 0,698$  g; Alkohol = 0,1746 g.  
 $\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 100 : 25.$

In einigen Versuchen waren die Alkoholausbeuten sehr gering (einmal erhielten wir  $\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 100 : 12$ ), in anderen Versuchen (s. Vers. 13) erreicht aber das Verhältnis von  $\text{CO}_2$  zu Alkohol beinahe dieselbe Größe wie bei Hefe. Sehr beachtenswert ist der Umstand, daß *Mucor stolonifer* bei Sauerstoffabschluß nur während kurzer Zeit sein Leben fristen kann, aber bei Sauerstoffzutritt verhältnismäßig mehr Alkohol produziert als der typische Gärungspilz *Mucor racemosus* +. Es wäre ja offenbar unlogisch zu behaupten, daß *Mucor stolonifer*, ebenso wie Hefe, den größten Teil der Betriebsenergie bei Luftzutritt aus dem Gärungsvorgange gewinnt; wissen wir doch ganz bestimmt, daß derselbe Gärungsvorgang gar nicht imstande ist, das Leben des Pilzes bei Sauerstoffabschluß zu unterhalten. Die Alkoholproduktion bei

Sauerstoffzutritt ist vielmehr eine gelegentliche Erscheinung, deren Umfang von dem jeweiligen Verhältnis zwischen den Mengen der oxydierenden und zuckerspaltenden Fermente abhängt.

Überblicken wir die vorstehend dargelegten Tatsachen und Auseinandersetzungen, so gelangen wir zu folgendem Schluß:

Sämtliche Organismen, die bei Sauerstoffabschluß alkoholische Gärung hervorrufen, und zwar sowohl starke Gärungserreger wie Hefepilze, als schwache Gärungserreger wie *Aspergillus niger*, können bei Sauerstoffzutritt ihre gesamte vitale Energie mit Sauerstoffatmung decken. Ist aber die Zymasemenge eine verhältnismäßig beträchtliche, so können Produkte der Alkoholgärung auch bei vollem Luftzutritt zum Vorschein kommen, wenn nur oxydierende Vorgänge verhältnismäßig langsam verlaufen. Versuche mit Mucoraceen zeigen, daß zwischen Hefepilzen, die etwa  $\frac{2}{3}$  der gesamten  $\text{CO}_2$ -Menge bei Luftzutritt im Vorgange der Zymasegärung erzeugen, und aeroben Pilzen, wie *Aspergillus* und *Penicillium*, die bei Sauerstoffzutritt eine vollkommene Zuckerverbrennung bewirken, allmähliche Übergänge existieren. Es ist eine experimentell festgestellte Tatsache, daß die bei Luftzutritt produzierten Alkoholmengen in keinem Verhältnis zu der Gärungskraft der betreffenden Pilze stehen.

Die Pasteursche Theorie: „Gärung ist Leben ohne Sauerstoff“, entspricht also dem wahren Sachverhalt und ist somit als noch immer modern anzusehen.

---