

Mitteilungen.

8. S. Kostytschew: Über die Alkoholgärung von *Aspergillus niger*.

Eingegangen am 25. Januar 1907.

In meiner Abhandlung „Über die normale und die anaerobe Atmung bei Abwesenheit von Zucker“¹⁾ habe ich dargetan, dass die anaerobe Atmung ebenso wie die normale bei verschiedener Art der Ernährung möglich ist. Durch diesen Befund wurden die bekannten DIAKONOW'schen²⁾ Resultate widerlegt, die mit der Theorie des genetischen Zusammenhanges der anaeroben mit der normalen Atmung nicht in Einklang zu bringen waren. Der genannte Forscher hat gefunden, dass Schimmelpilze nur bei Zuckerernährung anaerobe CO₂-Produktion bewirken; daraus ist der Schluss zu ziehen, dass bei Abwesenheit des Zuckers die Sauerstoffatmung allerdings ohne Mitwirkung anaerober Vorgänge zustande kommt; dies beweist aber, dass zwischen der normalen und der anaeroben Atmung kein kausaler Zusammenhang besteht. Durch meine Versuche hat sich jedoch herausgestellt, dass die Resultate DIAKONOW's fehlerhaft sind und zwar aus folgenden Gründen:

1. Es ergab sich, dass im Verlauf der anfänglichen zwei bis drei Stunden der Anaerobiose die CO₂-Produktion von *Aspergillus niger* bei Zuckerausschluss ausserordentlich schwach ist. In DIAKONOW'schen Versuchen wurde aber die Anaerobiose der Pilzkulturen eben nur auf eine oder zwei Stunden beschränkt.

2. Die Resultate meiner bei Chinasäureernährung ausgeführten Versuche zeigen, dass die geringe Intensität der anaeroben Atmung von *Aspergillus niger* eine Folge der Vergiftung durch die Produkte des anaeroben Stoffwechsels ist. Diese Vergiftung ist aber gewiss eine sekundäre Erscheinung, die mit den Grundursachen des Atmungsprozesses nichts zu tun hat. Den Einfluss dieser sekundären Erscheinung hat DIAKONOW nicht in Betracht gezogen.

1) KOSTYTSCHEW, Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik, Bd. 40, 1904, S. 563.

2) DIAKONOW, diese Berichte, Bd. 4, 1886, S. 1. — DIAKONOW, Archives slaves de biologic, t. 4, 1887, p. 31 und 121.

— Durch die Widerlegung der Resultate DIAKONOW's ist der wichtigste Einwand gegen die Theorie des genetischen Zusammenhanges der anaëroben mit der normalen Atmung hinfällig geworden; obschon der Chemismus der anaëroben Atmung bei Abwesenheit des Zuckers durch meine Versuche nicht erläutert wurde, ist es nunmehr klar geworden, dass die obige Schlussfolgerung: „Die Sauerstoffatmung kommt unter gewissen Umständen ohne Mitwirkung anaërober Vorgänge zustande“, auf unrichtigen Beobachtungen gegründet ist und daher keine theoretische Bedeutung haben kann.¹⁾

Die in der vorliegenden Abhandlung beschriebenen Versuche wurden bereits vor zwei Jahren ausgeführt und haben den Zweck, den Einfluss der Vergiftung auf die anaërobe Atmung von *Aspergillus niger* in anschaulicher Weise zu illustrieren. Sämtliche Kulturen wurden auf Traubenzucker gezogen; betreffs der allgemeinen Methodik sei auf meine oben zitierte Abhandlung hingewiesen; die eventuellen Modifikationen der Versuchsanstellung werden in den Versuchsprotokollen ausführlich besprochen.

Versuch 1.

Nährlösung: 50 *ccm* RAULIN'scher Flüssigkeit ohne K_2SiO_3 und $ZnSO_4$ und unter Ersatz des Rohrzuckers durch Traubenzucker (2,5 *g* in 50 *ccm* Lösung).

1) Da diese Auseinandersetzungen in meiner oben zitierten Abhandlung leider zu kurz abgefasst worden sind, so wurde dadurch Anlass zu Missverständnissen geschaffen. Prof. CZAPEK (Botanische Zeitung, Abt. II, 1905, S. 59) behauptet z. B., dass die Theorie des genetischen Zusammenhanges der anaëroben mit der normalen Atmung durch meine Versuche nicht unterstützt wird, da die Möglichkeit der Identität der bei Zuckerausschluss stattfindenden anaëroben Atmung mit der Alkoholgärung durch meine Resultate nicht ausgeschlossen erscheint: bei jeder Art der Ernährung könnten vorübergehend Kohlenhydrate entstehen. Aus obiger Darlegung ist einleuchtend, dass dieser Einwand lediglich auf einem Missverständnis beruht: der Ursprung der CO_2 ist für die uns interessierende theoretische Frage ganz und gar belanglos; dies habe ich auch in meiner oben zitierten Abhandlung folgendermassen erläutert: „Es bleibt noch einstweilen unentschieden, welche Stoffumwandlungen in verschiedenen Fällen der anaëroben Atmung bei Abwesenheit des Zuckers vorliegen, ob die sich dabei abspielenden Prozesse in keinem Zusammenhange mit der Alkoholgärung stehen, oder ob durch eventuelle Vorbereitungsakte zunächst bei jeder Art der Ernährung Kohlenhydrate entstehen, welche dann sofort vergärt werden. Wenn letzteres der Fall ist, so muss allerdings eine Anhäufung von Nebenstoffen stattfinden, die bei der Alkoholgärung der Hefe nicht auftreten. Die Bearbeitung dieser Fragen möchte ich mir vorbehalten: die Resultate einer solchen Untersuchung werden jedoch gewiss ohne Einfluss bleiben auf die folgende zweite Schlussfolgerung: die Anschauung von dem genetischen Zusammenhange der Sauerstoffatmung mit der anaëroben Atmung wird noch dadurch bekräftigt, dass die anaërobe Atmung ebenso wie die normale, bei verschiedener Art von Ernährung möglich ist“ (l. c. S. 591). Diese meine Schlussfolgerung hat Prof. CZAPEK wahrscheinlich übersehen.

Dreitägige Kultur von *Aspergillus niger* ohne Sporenbildung. Gesamtgasvolumen 185 *ccm*, Temperatur 17—18°. 1 Stunde im Luftstrom; alsdann mit Luft eingesperrt.

I. Luftperiode: 50 Minuten.

Gasanalyse: $\text{CO}_2 = 4,38 \text{ pCt.}$, $\text{O}_2 = 16,43 \text{ pCt.}$, $\text{N}_2 = 79,19 \text{ pCt.}$
 $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = 1,00.$

Gebildete $\text{CO}_2 = 7,2 \text{ ccm}$ bei 0° und 760 *mm*.

1 Stunde im Stickstoffstrom; alsdann mit Stickstoff eingesperrt.

II. Stickstoffperiode:

a) 2 Stunden.

Gasanalyse: $\text{CO}_2 = 0,81 \text{ pCt.}$, $\text{N}_2 = 99,19 \text{ pCt.}$

Gebildete $\text{CO}_2 = 1,3 \text{ ccm}$ bei 0° und 760 *mm*.

b) Weitere 19 Stunden.

Gasanalyse: $\text{CO}_2 = 1,32 \text{ pCt.}$, $\text{N}_2 = 98,68 \text{ pCt.}$

Gebildete $\text{CO}_2 = 2,0 \text{ ccm}$ bei 0° und 760 *mm*.

c) Weitere 18 Stunden.

Gasanalyse: $\text{CO}_2 = 1,42 \text{ pCt.}$, $\text{N}_2 = 98,58 \text{ pCt.}$

Gebildete $\text{CO}_2 = 2,2 \text{ ccm}$ bei 0° und 760 *mm*.

21 Stunden im Luftstrom; alsdann mit Luft eingesperrt.

III. Luftperiode: 4 Stunden.

Gasanalyse: $\text{CO}_2 = 0,60 \text{ pCt.}$, $\text{O}_2 = 20,08 \text{ pCt.}$, $\text{N}_2 = 79,32 \text{ pCt.}$

$$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = 0,80.$$

Gebildete $\text{CO}_2 = 1,00 \text{ ccm}$ bei 0° und 760 *mm*.

20 Stunden im Luftstrom; alsdann mit Luft eingesperrt.

IV. Luftperiode: 3½ Stunden.

Gasanalyse: $\text{CO}_2 = 3,10 \text{ pCt.}$, $\text{O}_2 = 17,65 \text{ pCt.}$, $\text{N}_2 = 79,25 \text{ pCt.}$

$$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = 0,98.$$

Gebildete $\text{CO}_2 = 5,2 \text{ ccm}$ bei 0° und 760 *mm*.

Trockengewicht des Myceliums 0,514 *g*.

Atmungsenergie pro 10 Stunden:

I. Luftperiode	$\text{CO}_2 = 86,4 \text{ ccm}$
II. Stickstoffperiode, a)	$\text{CO}_2 = 6,5 \text{ „}$
b)	$\text{CO}_2 = 0,4 \text{ „}$
c)	$\text{CO}_2 = \text{Spur.}$
III. Luftperiode	$\text{CO}_2 = 2,5 \text{ ccm}$
IV. „	$\text{CO}_2 = 15,2 \text{ „}$

Aus I und II, a) lässt sich berechnen:

$$\frac{J}{N} = 0,08.$$

Versuch 2.

Genauere Wiederholung des vorhergehenden. Gesamtgasvolumen 188 *ccm*, Temperatur 16,5—18°.

1 Stunde im Luftstrom; alsdann mit Luft eingesperrt.

I. Luftperiode: 1 Stunde.

Gasanalyse: $\text{CO}_2 = 7,04 \text{ pCt.}$, $\text{O}_2 = 14,14 \text{ pCt.}$, $\text{N}_2 = 78,77 \text{ pCt.}$

$$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = 1,08.$$

Gebildete $\text{CO}_2 = 11,9 \text{ ccm}$ bei 0° und 760 *mm*.

1 Stunde im Stickstoffstrom; alsdann mit Stickstoff eingesperrt.

II. Stickstoffperiode:

a) 2 Stunden.

Gasanalyse: $\text{CO}_2 = 0,78 \text{ pCt.}$, $\text{N}_2 = 99,22 \text{ pCt.}$

Gebildete $\text{CO}_2 = 1,2 \text{ ccm}$ bei 0° und 760 *mm*.

b) Weitere 19 Stunden.

Gasanalyse: $\text{CO}_2 = 1,23 \text{ pCt.}$, $\text{N}_2 = 98,77 \text{ pCt.}$

Gebildete $\text{CO}_2 = 1,9 \text{ ccm}$ bei 0° und 760 *mm*.

c) Weitere 18 Stunden.

Gasanalyse: $\text{CO}_2 = 1,37 \text{ pCt.}$, $\text{N}_2 = 98,63 \text{ pCt.}$

Gebildete $\text{CO}_2 = 2,1 \text{ ccm}$ bei 0° und 760 *mm*.

21 Stunden im Luftstrom; alsdann mit Luft eingesperrt.

III. Luftperiode: 4 Stunden.

Gasanalyse: $\text{CO}_2 = 0,62 \text{ pCt.}$, $\text{O}_2 = 20,07 \text{ pCt.}$, $\text{N}_2 = 79,31 \text{ pCt.}$

$$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = 0,81.$$

Gebildete $\text{CO}_2 = 1,1 \text{ ccm}$ bei 0° und 760 *mm*.

20 Stunden im Luftstrom; alsdann mit Luft eingesperrt.

IV. Luftperiode: $3\frac{3}{4}$ Stunden.

Gasanalyse: $\text{CO}_2 = 2,87 \text{ pCt.}$, $\text{O}_2 = 17,91 \text{ pCt.}$, $\text{N}_2 = 79,22 \text{ pCt.}$

$$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = 0,99.$$

Gebildete $\text{CO}_2 = 4,8 \text{ ccm}$ bei 0° und 760 *mm*.

Trockengewicht des Myceliums 0,481 *g*.

Atmungsenergie pro 10 Stunden:

I. Luftperiode	CO ₂ = 119,0 ccm
II. Stickstoffperiode, a) . .	CO ₂ = 6,0 „
„ b) . .	CO ₂ = 0,4 „
„ c) . .	CO ₂ = Spur.
III. Luftperiode	CO ₂ = 2,7 ccm
IV. „	CO ₂ = 12,8 „

Aus I. und II. a) lässt sich berechnen:

$$\frac{J}{N} = 0,05.$$

Es ergab sich also, der Ansicht DIAKONOW's entgegen, dass die anaerobe Atmung von *Aspergillus niger* bei Zuckernahrung ebenso schwach ist, wie bei Zuckerabschluss ($\frac{J}{N} = 0,05$ bis $0,08$).

Es wurden noch mehrere Versuche mit älteren (fünf- und sechstägigen) Kulturen auf Traubenzucker ausgeführt; die Resultate dieser Versuche mitzuteilen halte ich jedoch für überflüssig, da sie mit den hier angeführten vollkommen übereinstimmen; ältere Kulturen bildeten ebensowenig CO₂ bei Sauerstoffabschluss wie junge dreitägige Kulturen.

Dass die so geringe CO₂-Produktion eine Folge der Vergiftung ist, scheint kaum zweifelhaft zu sein: werden Mycelien von *Aspergillus niger* in eine beträchtliche Menge der Zuckerlösung total versenkt, so diffundieren die Produkte des anaeroben Stoffwechsels leichter in die umgebende Flüssigkeit, wodurch die CO₂-Produktion in so hohem Grade gesteigert wird, dass es sich für möglich erweist den Chemismus der Zuckerspaltung bei Sauerstoffabschluss zu erforschen. Folgender Versuch wurde auf die eben geschilderte Weise ausgeführt.

Versuch 3.

Nährlösung: RAULIN'sche Flüssigkeit ohne K₂SiO₃, ZnSO₄ und Weinsäure und unter Ersatz des Rohrzuckers durch Traubenzucker. Eine beträchtliche Menge dieser Lösung wurde in einen grossen konischen Kolben mit oben erweitertem Halse hineingetan, der Kolben mit Watte verschlossen, sterilisiert und mit Sporen von *Aspergillus niger* geimpft. Die drei Tage alte Kultur wurde durch reine sterilisierte Glasperlen auf den Boden des Kolbens versenkt; dann wurde mit Hilfe einer im voraus angepassten Vorrichtung eine abgemessene Menge der Flüssigkeit aus dem Kolben für die Zuckerbestimmung entnommen, wonach der Wattedropfen durch den üblich gebrauchten Kautschukstöpsel mit zwei Glasröhren ersetzt wurde.

Sämtliche hier beschriebene Operationen wurden in einem sterilisierten HANSEN'schen Glaskasten unter Beobachtung aller Kautelen der Asepsis ausgeführt; die Reinheit der Kultur wurde nach Beendigung des Versuches sorgfältig geprüft und bestätigt.

Nun wurde ein gleichmässiger Strom von reinem Stickstoff im Verlauf von drei Stunden durch den Kolben und die sich darin befindende Flüssigkeit geleitet, wonach der Kolben auf die bekannte Weise¹⁾ luftdicht abgesperrt wurde. Der mit Stickstoff gefüllte Kolben stand 14 Tage lang in einem Thermostaten bei 32°; alsdann noch 24 Stunden bei Zimmertemperatur in Dunkelheit. Nach Ablauf der 15 Tage wurde eine Gasportion für die Gasanalyse und eine abgemessene Menge der Lösung für die Zuckerbestimmung aus dem Kolben genommen; die rückständige Flüssigkeit wurde zur Alkoholbestimmung verwendet. Die Zuckerbestimmungen wurden nach ALLIHN-SOXHLET ausgeführt; zur Identifizierung des Äthylalkohols wurden die Benzoylchloridreaktion und die Jodoformprobe benutzt. Der Alkohol wurde nach mehrfaacher Destillation mit Hilfe eines genauen, mehr als 30 *ccm* fassenden Pyknometers bestimmt; es sei noch erwähnt, dass das erhaltene Destillat keine Aldehyd- und Acetonreaktionen aufwies. Die in der Flüssigkeit gelöste CO₂ wurde nach BUNSEN's Angaben auf Grund der Formel

$$v^0 = \frac{a \cdot h \cdot p \cdot v^1}{0,76 (v^1 + v^2)}$$

berechnet. In dieser Formel sind:

- v⁰ das gesuchte Volumen der gelösten CO₂ bei 0° und 0,76 *mm*,
- a der Absorptionsefficient der CO₂ für die Beobachtungstemperatur,
- h Volumen der Flüssigkeit,
- p Gasdruck im Kolben,
- v¹ Volumen der nicht absorbierten CO₂ und
- v² Volumen des nicht absorbierten Stickstoffs.

Die Resultate des Versuches sind durch folgende Zahlen ausgedrückt worden:

Gesamtgasvolumen (v ¹ + v ²)	271,0 <i>ccm</i>
Volumen der Flüssigkeit	332 „

Die Gasportion wurde entnommen bei t° = 18° und p = 710 *mm*.
 Gasanalyse: CO₂ = 13,83 pCt, N₂ = 86,17 pCt.

Gasförmige CO ₂ = 37,5 <i>ccm</i> = 32,8 <i>ccm</i> bei 0° und 760 <i>mm</i>
Gelöste CO ₂ = 46,0 „ bei 0° und 760 <i>mm</i>
Summe: CO ₂ = 78,8 <i>ccm</i> bei 0° und 760 <i>mm</i> = 155,9 <i>mg</i>

1) KOSTYTSCHEW l. c.

2) BUNSEN, Gasometrische Methoden, 2. Auflage, 1877, S. 192.

Alkohol	,	142,0 mg
	$\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 100 : 91,3.$	-
Traubenzucker vor dem Versuche		10,3296 g
„ nach „ „		10,0043 „
Traubenzuckerverbrauch		0,3253 „
$\text{CO}_2 + \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$		0,2983 „
	Differenz	0,0270 g
Trockengewicht des Myceliums		0,492 „

Dieser Versuch zeigt, dass die anaërobe Atmung von *Aspergillus niger* bei Zuckerernährung mit der Alkoholgärung im wesentlichen übereinstimmt. Der genannte Pilz besitzt also die Fähigkeit den gelösten Zucker in CO_2 und Alkohol zu spalten; die Summe dieser Produkte entspricht ungefähr dem Zuckerverbrauch; der geringe Überschuss des verschwundenen Zuckers (27 mg) wurde vielleicht zur Bildung der Oxalsäure verwendet; eine kleine Menge dieser Säure liess sich in der Lösung nachweisen.

Die Ausgiebigkeit der CO_2 -Bildung war in diesem Versuche überraschend. Vergleichen wir die Mengen der in diesem und in den beiden vorhergehenden Versuchen ausgeschiedenen CO_2 , so gewinnen wir eine annähernde Vorstellung von der Bedeutung der Vergiftung. Es ist nun einleuchtend, dass die merkwürdig geringe anaërobe CO_2 -Bildung von *Aspergillus niger* nicht auf „Unfähigkeit“, sondern auf andere Ursachen zurückzuführen ist. Es sei noch erwähnt, dass ich auch bei Manniternährung ähnliche Resultate erhielt; die betreffenden Versuche werden nach kurzer Zeit veröffentlicht werden. Fassen wir die Resultate der hier beschriebenen Versuche zusammen, so ergibt sich folgendes:

Die anaërobe CO_2 -Produktion von *Aspergillus niger* bei Zuckerernährung ist unbedeutend, wenn sich der genannte Pilz in einem Gasmedium befindet. Wird dagegen *Aspergillus niger* in eine Zuckerslösung total versenkt, so bewirkt er eine Spaltung des gelösten Zuckers unter Bildung von CO_2 und $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$; dabei entspricht das Verhältnis $\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ der bekannten Gleichung der Alkoholgärung.

Herrn Prof. PALLADIN, in dessen Laboratorium meine Versuche ausgeführt worden sind, drücke ich hiermit meinen innigsten Dank aus.

St. Petersburg, Botanisches Institut der Universität.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft](#)

Jahr/Year: 1907

Band/Volume: [25](#)

Autor(en)/Author(s): Kostytschew S.

Artikel/Article: [Über die Alkoholgärung von Aspergillus niger. 44-50](#)