

Sitzungsberichte

der

mathematisch - physikalischen Classe

der

k. b. Akademie der Wissenschaften

zu **München.**

Band IX. Jahrgang 1879.

München.

Akademische Buchdruckerei von F. Straub.

1879.

In Commission bei G. Franz.

Sitzungsberichte

der
königl. bayer. Akademie der Wissenschaften.

Sitzung vom 3. Mai 1879.

Mathematisch-physikalische Classe.

Herr Professor v. Nägeli legt eine Abhandlung vor:
Ueber die Fettbildung bei den niederen
Pilzen.¹⁾

In der Thierphysiologie besteht noch Streit darüber, ob die Fette aus Albuminaten oder Kohlenhydraten entstehen. In der Pflanzenphysiologie ist diese Frage noch kaum erörtert worden. Wir sehen zwar, dass Fette und Kohlenhydrate einander oft vertreten, dass die einen Gewächse Fett anhäufen, wo verwandte Arten, Gattungen oder Ordnungen Stärkemehl aufspeichern, ferner dass Stärkemehl in einem Gewebe verschwindet, worauf Fett an dessen Stelle tritt, oder auch umgekehrt. So sind die Reppsamensamen, aus denen im reifen Zustande Oel gepresst wird, vor vollständiger Reife mit Stärkekörnern erfüllt.

Doch geben uns solche Beobachtungen noch nicht die unbestreitbare Gewissheit, dass wirklich die Substanz der einen Verbindung in die andere Verbindung umgewandelt wird. Es wäre ja beispielsweise möglich, wenn auch nicht wahrscheinlich, dass Stärkemehl als Zucker gelöst und fortgeführt, und dass dafür die fettbildenden Baumaterialien aus andern Geweben herbeigeführt würden.

1) Die am Schlusse beschriebenen Versuche wurden von O. Loew ausgeführt.

Für die Entscheidung der vorliegenden Frage eignen sich offenbar einzellige und wenigzellige Pflanzen besser als die höher organisirten, aus verschiedenen Organen und Geweben bestehenden, weil der Ursprung einer Substanz besser controlirt werden kann, — und besonders erweisen sich die niederen Pilze als günstige Objecte für solche Untersuchungen, weil bei ihnen der Ernährungsschemismus viel einfacher verläuft, als bei den morphologisch gleich gebauten niederen Algen.

Bei den niederen Pilzen nun lässt sich die Entstehung der Fette mit Leichtigkeit und vollkommener Sicherheit einerseits aus Albuminaten und anderen Stickstoffkohlenstoffverbindungen, andererseits aus Kohlenhydraten und anderen stickstofffreien Kohlenstoffverbindungen darthun. Was zuerst die stickstoffhaltigen Verbindungen betrifft, so ist ein doppeltes Beweisverfahren möglich, indem entweder gezeigt wird, dass dieselben in einer Zelle zersetzt werden und das Material für die Fettbildung liefern, oder indem nachgewiesen wird, dass eine Zelle nur solche Nährstoffe aufnimmt und daraus Fett erzeugt.

Es ist eine allgemeine Erscheinung, dass in Pilzzellen, die in der Jugend bloss plasmatischen (aus Albuminaten bestehenden) Inhalt besitzen, späterhin mehr oder weniger Fett auftritt. Diess ist auch dann der Fall, wenn dieselben in reinem Wasser sich befinden und somit keine fettbildenden Stoffe aufnehmen können, denn das kohlensäure Ammoniak, das sich nicht abhalten lässt, vermögen sie nicht zu assimiliren. Man beobachtet daher auch, dass das Plasma mit dem Erscheinen des Fettes sich vermindert. Dass letzteres hier nicht von stickstofffreien Kohlenstoffverbindungen abgeleitet werden kann, ergiebt sich aus dem Umstande, dass solche nur in sehr geringen Mengen im Zelleninhalte vorkommen, und dass die aus Cellulose bestehende Membran während der Fettbildung an Substanz oft deutlich zunimmt.

Eine solche Beobachtung ist nun unmittelbar entscheidend, wenn es sich um einzellige Pilze und zwar um solche handelt, wo die Zellen nicht mit anderen Zellen in Berührung sind und nur mit dem umgebenden Wasser in gegenseitigem diosmotischen Austausch stehen. Bei den mehrzelligen Schimmelpilzen lässt sich der allfällige Einwurf, es könnten die fettbildenden Zellen Stoffe aus andern Theilen des Fadens erhalten haben, mit der Thatsache widerlegen, dass alle Zellen sich gleichverhalten, dass jede einzelne und somit auch die Gesammtheit der miteinander in Verbindung stehenden Zellen an Albuminaten ärmer, dagegen an Fett und an Cellulose reicher wird.

Für derartige Beobachtungen sind die Schimmelpilze am brauchbarsten, weil sie viel Fett erzeugen. Allein auch bei den Sprosspilzen, welche alle verhältnissmässig arm an Fett sind (die Unterbierhefe enthält davon nur 5 Procent ihrer Trockensubstanz), kann nach der mikroskopischen Untersuchung kein Zweifel bestehen. Ich habe einige Flaschen mit Bierhefe und phosphorsäurehaltigem Wasser zwei Jahre lang (1870—1872) stehen lassen und hin und wieder umgeschüttelt. Es stellten sich weder Schimmel noch Spaltpilze ein. Die Hefenzellen vegetirten langsam fort. Beim Beginne des Versuches waren die dünnwandigen Zellen bloss mit Plasma erfüllt. Zuletzt erschien die Membran etwas stärker, und der feste Zelleninhalt war auf ein kleines sehr stark lichtbrechendes Körnchen zusammengegangen, welches offenbar aus Fett und den noch ungelösten Albuminaten bestand. Die quantitative Fettbestimmung konnte bei dieser Hefe nicht ausgeführt werden.

Dass Albuminate und andere stickstoffhaltige Kohlenstoffverbindungen Material zur Fettbildung abgeben können, lässt sich aber viel anschaulicher auf dem anderen Wege darthun, indem man nämlich diese Substanzen ausschliesslich zur Ernährung benutzt. Die Spaltpilze gedeihen sehr gut

in einer Lösung von Eiweiss oder besser von Peptonen aus Eiweiss und den nothwendigen Mineralstoffen (enthaltend Phosphor, Kalium, Magnesium, Calcium); die Schimmel wachsen darin mit Ausschluss der Spaltpilze, wenn die Lösung etwas freie Phosphorsäure enthält. Wenn bloss eine Spur von Sporen oder Pilzen zur Aussaat verwendet wird, so erhält man eine mehr als millionenfache Vermehrung der Pilze und ihrer Bestandtheile, also auch von Fett und Cellulose. — Das Eiweiss kann mit ähnlichem Erfolge durch eine andere Stickstoffkohlenstoffverbindung von einfacherer Zusammensetzung und neutraler Reaction (z. B. durch Asparagin, Leucin) ersetzt werden.

Da bei diesen Versuchen alle organischen Substanzen der Ernte bis auf die unendlich geringe Menge der anfänglichen Aussaat aus den Nährstoffen gebildet wurden, so ist auch alles Fett aus den Bestandtheilen des Eiweisses, Leucin's, Asparagin's entstanden.

Ganz die gleiche Schlussfolgerung gilt für eine Reihe von stickstofflosen Verbindungen, welche zugleich mit Ammoniak oder Salpetersäure als Nährstoffe angewendet werden. Zucker mit Ammoniak, ebenso weinsaures Ammoniak ist für sich allein zur Ernährung genügend, wenn die Aschenbestandtheile zugegen sind. Statt Zucker kann Mannit, Glycerin oder eine andere neutrale ternäre Kohlenstoffverbindung, statt Weinsäure kann Essigsäure, Salicylsäure oder eine andere organische Säure benutzt werden. In den meisten Fällen lässt sich ferner das Ammoniak als Stickstoffquelle durch Salpetersäure ersetzen. Bei geringer anfänglicher Aussaat erfolgt auch bei diesen Versuchen eine millionenfache Vermehrung der Vegetation. Die Pilzzellen entnehmen dem Ammoniak oder der Salpetersäure und einer der genannten Kohlenstoffverbindungen die Elemente für die Bildung der Albuminate und der Kohlenstoffverbindung die Elemente für die Bildung von Fett und Cellulose.

Wird statt des Ammoniaks oder der Salpetersäure Eiweiss (resp. Pepton) als Nahrung verwendet, so lässt sich die Entstehung von Fett und Cellulose aus Zucker oder Weinsäure u. s. w. dann nachweisen, wenn man von ersterem wenig, von der stickstofflosen Verbindung dagegen eine grössere Menge in die Nährlösung giebt. Die Analyse der Ernte ergiebt in diesem Falle, dass nur die Albuminate von dem Eiweiss der Nährlösung abgeleitet werden können und dass die Gesamtheit oder wenigstens ein grosser Theil des Fettes und der Cellulose von den Bestandtheilen des Zuckers oder der Weinsäure herkommen müssen.

Die angeführten Thatsachen beweisen unzweifelhaft, dass die Pilzzellen das Material für die Fettbildung aus den verschiedensten stickstoffhaltigen und stickstofflosen Verbindungen entnehmen können. Sie geben uns aber selbstverständlich keinen Aufschluss über den nächsten Ursprung des Fettes, da die Stoffumwandlungen in der Zelle uns verborgen bleiben, und wir daher nicht wissen können, ob und welche chemische Zwischenstufen zwischen dem aufgenommenen Nährstoff und dem Endprodukt bestehen. Es wäre einerseits möglich, aber nicht im geringsten wahrscheinlich, dass unmittelbar aus den Bestandtheilen jeder der verschiedenen Nährverbindungen die Synthese des Fettes vor sich ginge, aus Eiweiss, Asparagin, Leucin, Zucker, Weinsäure, Essigsäure, Salicylsäure u. s. w.

Es ist anderseits möglich, dass die Fettbildung immer der nämliche Vorgang ist und aus der gleichen chemischen Verbindung erfolgt. Man könnte beispielsweise vermuthen, der Zucker sei dieser Fettbildner, und dafür anführen, dass jedenfalls aus allen Nährstoffen Glycose gebildet wird, da sie in allen Pilzzellen als Material für die Membranbildung vorhanden sein muss, und wie die Analysen ergeben, tatsächlich immer in geringen Mengen vorhanden ist. In diesem Falle würde, bei ausschliesslicher Ernährung durch

Eiweiss (Pepton), der Zucker für die Fettbildung aus letzterem abgespalten.

Man könnte aber auch, und vielleicht mit grösserem Rechte, annehmen, die Eiweissbildung (Peptonbildung) müsse der Fettbildung vorausgehen. In diesem Falle würde also auch bei Ernährung mit Ammoniak und Zucker das Fett nicht aus dem Zucker sondern aus dem daraus erzeugten Pepton entstehen, und wenn eine plasmareiche Zelle, welche fast nur Zucker als Nahrung erhält, Fett bildet, so würde der Zucker nur mittelbar diesen Process begünstigen, insofern er mit dem bei der Fettbildung frei werdenden stickstoffreichen Rest des Eiweisses dasselbe wieder aufbauen hülfe. Es drängt sich überhaupt auch bei verschiedenen anderen pflanzenphysiologischen Vorgängen die Vorstellung auf, es möchte das complizirte Eiweissmolecül gleichsam das kleine chemische Laboratorium sein, welches manche Stoffumwandlungen zu Stande bringt, — eine Vorstellung, die, wenn sie richtig sein sollte, uns zwar das Räthsel nicht lösen würde, aber bei dem Versuche einer Lösung doch berücksichtigt werden müsste.

Mit Zucker und Eiweiss sind natürlich die Verbindungen nicht erschöpft, aus denen die Fettbildung abgeleitet werden kann. Möglicher Weise geht dem Fette die Entstehung einer Verbindung voraus, die überhaupt noch unbekannt, oder als Bestandtheil der lebenden Organismen noch nicht nachgewiesen ist. — Zur Entscheidung der Frage hat die organische Chemie den wichtigsten Beitrag zu leisten. Aber auch der Physiologie scheint eine nicht unwichtige Aufgabe zuzukommen. In letzterer Beziehung bot sich zunächst der Gedanke dar, auf experimentellem Wege zu entscheiden, ob die Ernährung mit der einen oder andern Verbindung die Fettbildung begünstige oder beeinträchtige. Wenn beispielsweise der Zucker den Ausgangspunkt für die Fettbildung darstellte, so könnte erwartet

werden, dass dieselbe bei zuckerreicher Nahrung reichlicher einträte. Wäre dagegen das Eiweiss der Fettbildner, so sollte Ernährung mit viel Eiweiss ein besseres Resultat geben als Ernährung mit wenig Eiweiss und viel Zucker.

Die Versuche haben diese Erwartung nicht erfüllt. Die chemische Beschaffenheit der Nährlösung scheint für die Fettbildung in den Pilzen fast ganz bedeutungslos zu sein, indem einerseits aus ganz ungleichen Nährstoffen gleiche Mengen von Fett, andererseits aus gleichen Nährstoffen unter übrigens ungleichen Verhältnissen ungleiche Mengen davon erzeugt werden. Berücksichtigt man nur die eine Versuchsreihe, so möchte man den Zucker, berücksichtigt man nur eine andere Reihe, so möchte man das Eiweiss (Pepton) als vorzugsweise Fett erzeugend betrachten. Vergleicht man aber alle Thatsachen, so kommt man zur Ueberzeugung, dass physiologische Momente bei der Fettbildung die Hauptrolle spielen und die ungleiche Wirkung der Nährstoffe, wenn dieselbe, was nicht unwahrscheinlich, vorhanden ist, verwischen. Eine grosse Reihe von passend angestellten Versuchen müsste darüber wohl Auskunft geben.

Solche Versuche sind aber desswegen meistens resultatlos, weil die Vegetationsverhältnisse, welche auf die Erzeugung der Fette so grossen Einfluss ausüben, nicht mit Sicherheit ganz gleichartig hergestellt werden können. So erhält man beispielsweise in zwei vollkommen gleich zusammengesetzten, neben einander befindlichen Nährlösungen, auf welche in gleicher Weise Schimmelsporen ausgesät werden, selten ganz gleiche Vegetationen, indem das Verhältniss der untergetauchten zu den schwimmenden Schimmelpflanzen verschieden ausfällt; und dieser Umstand allein bedingt einen ungleichen Prozentgehalt an Fett.

Es ist mir desswegen überhaupt wahrscheinlich, dass der Einfluss der chemischen Beschaffenheit der Nährstoffe auf die Fettbildung und namentlich die Frage, welche

Verbindung physiologisch derselben unmittelbar vorausgehe, nicht bei den Pilzen, die wegen ihres so energischen Chemismus fast aus jeder organischen Verbindung, wenn auch auf einem Umwege, das Material für diesen Process gewinnen können, noch überhaupt im Pflanzenreiche, sondern vielmehr im Thierreiche festzustellen ist, wo die chemische Action schwächer und die Möglichkeiten für die Erzeugung einer Verbindung beschränkter sind. Sollte es sich ergeben, dass bei höheren Thieren das Fett zunächst immer aus dem Eiweiss entsteht, so wäre dieser Vorgang auch für die niederen Thiergruppen und für das Pflanzenreich sehr wahrscheinlich.

Was die physiologischen Momente der Fettbildung betrifft, so möchte ich zunächst bemerken, dass dieselbe bei den niederen Pilzen gerade so wie bei den übrigen Pflanzen höchst wahrscheinlich bloss innerhalb der Zellen durch den gewöhnlichen Vegetationsprocess, und nicht durch Gärung (Fäulniss) vor sich geht. Die niederen Glieder der Fettsäurenreihe bis hinauf zur Capronsäure befinden sich zwar unter den Fäulnisprodukten, nicht aber die höheren Fettsäuren und die Fette. ¹⁾

1) In neuester Zeit ist unter den Fäulnisprodukten des Fleisches Palmitinsäure und Oelsäure angegeben, jedoch nicht nachgewiesen worden, dass diese Verbindungen wirklich Erzeugnisse der Gärthätigkeit seien. Das Fleisch war zwar mit Aether so gut als möglich entfettet worden; da aber Bierhefe auf diesem Wege nicht fettfrei gemacht werden kann (vgl. Mittheilung vom 4. Mai 1878), so wäre es wohl möglich, dass die ganze Menge der gefundenen Fettsäuren (etwa 3 Proc. der trockenen Eiweisssubstanz) oder doch ein Theil derselben erst bei der Zersetzung des Fleisches durch die Fäulnis physikalisch frei gemacht und damit dem Aether zugänglich geworden wäre.

Ein anderer bei obiger Angabe, wie es scheint, unberücksichtigt gebliebener Punkt ist der, dass die faulende Flüssigkeit nicht bloss die Fäulnisprodukte sondern auch Fäulnispilze und zwar in sehr grosser Menge enthält, dass beide sich mechanisch nicht trennen lassen und dass man sich daher immer die Frage vorzulegen hat, ob eine gefundene

Betreffend das physiologische Verhältniss des Fettbildungsprocesses zu der Gesamternährung lassen sich zur Zeit zwei Regeln aufstellen: 1) dass verhältnissmässig um so mehr Fett gebildet wird, je lebhafter das Wachsthum vor sich geht, dass also bei n facher Gesamtzunahme der Trockensubstanz in gleicher Zeit und übrigens gleichen Umständen die Vermehrung der

Verbindung aus dem Gärmaterial oder aus den Gärpilzen komme. In dem vorliegenden Falle konnte immerhin ein erheblicher Theil und unter günstigen Bedingungen für die Fettbildung sogar die ganze Menge der Fettsäuren in den Fäulnispilzen enthalten sein. Wollte man alle in einer faulenden Flüssigkeit vorhandenen Verbindungen als Produkte des Fäulnisprocesses betrachten, so müsste man Albuminate und Cellulose unter den Fäulnisprodukten des Harnstoffes aufzählen. Es wäre dies ebenso unstatthaft, als wenn man ein Guanolager mitsammt den darauf sitzenden Vögeln der Analyse unterwürfe.

Dass höhere Fettsäuren durch faulige Gärung entstehen, ist zwar an und für sich nicht unmöglich, aber schon aus dem Grunde sehr unwahrscheinlich, weil alle bis jetzt bekannten Gärprodukte entweder flüchtig, oder in der Flüssigkeit, in der sie sich bilden, löslich sind. Die Bildung einer unlöslichen Verbindung und noch dazu von so zusammengesetzter Constitution durch die Bewegung des Gärvorganges dürfte in mechanischer Beziehung schwer zu erklären sein.

Wenn in dem Roquefort-Käse wirklich, wie es behauptet wird, beim Reifen das Casein sich vermindert und das Fett sich vermehrt, so kann dieser Vorgang nicht von einer Gärthätigkeit abgeleitet werden, welche in diesem Stadium aufgehört hat, sondern nur von der jetzt reichlichen Schimmelvegetation, welche das Casein als Nahrung verwendet und in ihren Zellen viel Fett anhäuft.

Unmittelbar aus Albuminaten scheint dagegen das Leichenfett (Adipocire) zu entstehen. Dasselbe ist zwar nicht eigentliches Fett, sondern besteht fast bloss aus festen Fettsäuren. Es muss wohl durch einen noch unbekannten chemischen Process gebildet werden, da es nur bei Ausschluss der Fäulnis auftritt und da an eine vorausgehende Schimmelvegetation ebenfalls nicht gedacht werden kann; denn diese würde eine vollständige Verbrennung bedingen, welche beim Roquefortkäse nur durch rechtzeitige Unterbrechung des Verschimmelungsprocesses verhütet wird.

Fettmenge mehr als den n fachen Betrag zeigt; 2) dass unter gleichen Umständen um so mehr Fett gebildet wird, je lebhafter die Respiration (Oxydation durch freien Sauerstoff) vor sich geht. Es bedarf kaum der Erwähnung, dass dies in aller Strenge nur für jede einzelne Pilzform gilt und dass bei der Vergleichung verschiedener Formen ein neuer Factor, die spezifische Neigung zur Fettbildung, hinzukommt.

Man könnte geneigt sein, die beiden Regeln unter einen gemeinsamen Gesichtspunkt und in eine einzige Regel zusammenzufassen, weil die beiden physiologischen Momente meistens zusammentreffen und jeder Pilz um so lebhafter wächst, je mehr der freie Sauerstoff auf ihn einwirken kann. Dennoch scheint es mir vorsichtiger, sie vorläufig noch aus einander zu halten, bis durch weitere Versuche sich mehr Licht über die so complicirten Beziehungen der Ernährungsvorgänge verbreitet.

Was die Beziehung der Fettbildung zur Respiration betrifft, so tritt uns dieselbe im Allgemeinen bei einem Ueberblick über die niederen Pilze sehr deutlich entgegen. Die Schimmelpilze wachsen bloss bei Zutritt von freiem Sauerstoff und sind fettreich.. Die Bierhefe entwickelt sich bei sehr mangelhaftem Sauerstoffgenuss und ist fettarm; das Gleiche gilt für die Spaltpilze. Die an der Oberfläche der Nährflüssigkeit lebenden Schimmelpilze sind fettreicher als ihre eigenen untergetauchten Sprossformen. Zur Bildung der Sporen, welche viel Fett enthalten, ist freier Luftzutritt nothwendig. Die Sprosspilze bringen, wie bekannt, nur dann Sporen hervor, wenn sie, auf einem Substrat ausgebreitet, halb trocken liegen; selten fand ich sporentragende Sprosspilze, wenn dieselben als Häute auf den (gegorenen) Nährflüssigkeiten schwammen, wobei die obere (cuticularisirte) Seite trocken ist. Die Spaltpilze erzeugen, wie es scheint, ihre Sporen ebenfalls nie innerhalb einer Flüssigkeit, sondern nur in den oberflächlichen Decken, und zwar beobachtete

ich einige Male ganz bestimmt, dass in einer mehrschichtigen Decke bloss die Stäbchen und Fäden der obersten (unmittelbar an Luft grenzenden) Schicht sporentragend waren. In Flüssigkeiten lebende Schimmelpilze bilden nur an den in die Luft sich erhebenden Hyphen fettreiche Dauersporen.²⁾

Warum die Pilze zur Erzeugung von Fett gerade Sauerstoff bedürfen, bleibt vorerst noch eine offene Frage. Es giebt noch andere Beispiele, wo die Umwandlung von sauerstoffreicheren in sauerstoffärmere Verbindungen in der organischen Welt nur unter der Einwirkung von Oxydation vor sich geht. So entsteht beim Cuticularisierungs- oder Verkorkungsprocess der Wachsüberzug an der Oberfläche der Pflanzengewebe aus Cellulose (Zucker) nur bei Luftzutritt. So ist ferner der freie Sauerstoff für die Ernährung der niederen Pilze gerade bei sauerstoffreichen Nährstoffen unentbehrlich.

Mit diesen in lebenden Organismen stattfindenden Processen können wir auch die ausserhalb derselben vor sich gehende Humification vergleichen, bei welcher Cellulose und andere Verbindungen nur unter dem Einflusse der Oxydation durch freien Sauerstoff in eine Reihe immer kohlenstoffreicherer Substanzen übergehen.

Mit Rücksicht auf die Rolle, welche die Oxydation beim Lebensprocess überhaupt spielt, möchten wir geneigt

2) In Nährflüssigkeiten, die mit einer Schicht von fettem Oel bedeckt waren, und in denen *Penicillium* spärlich wuchs, sah ich Schimmelfäden in die Oelschicht hinaufwachsen und daselbst schöne Sporenketten bilden, welche, beiläufig bemerkt, zwischen Objectträger und Deckglas vollkommen erhalten blieben, während dieselben sonst bei der Präparation für die mikroskopische Untersuchung gewöhnlich zerfallen. Die angeführte Erscheinung erklärt sich dadurch, dass das flüssige Fett ein schlechter Abschluss gegen Sauerstoff ist, welcher dasselbe ranzig macht und auch in die unterliegende Flüssigkeit eindringt; jedenfalls ist aber seine Wirkung an der Oberfläche der letzteren und in der Oelschicht selbst am intensivsten.

sein anzunehmen, dass sie auch bei der Fettbildung die für die chemische Umsetzung nothwendige Kraft liefere. Dies wäre unzweifelhaft, wenn das Fett und seine Nebenprodukte zusammen eine grössere Menge von gebundener Wärme enthielten, als das Material (Eiweis, Zucker), von dem sie abstammen; der Ueberschuss müsste dann von der nebenher gehenden Verbrennung erzeugt werden. Doch wissen wir darüber experimentell nichts, und dürfen selbstverständlich auch aus der hohen Verbrennungswärme des Fettes keinen Schluss ziehen.

Aber auch für den möglichen Fall, dass der Fettbildner eine grössere Menge von Spannkraft besitzen sollte als das aus demselben hervorgehende Fett sammt den übrigen Zersetzungsprodukten, bleibt jene Annahme noch immer wahrscheinlich. Wir müssen uns dann an die Analogie der Gärung erinnern, wo die Hefenzelle ebenfalls für den Zerfall jedes einzelnen Zuckermoleküls eine gewisse Kraft aufwenden muss, obgleich bei diesem Zerfall eine viel grössere Kraft frei und für physiologische Zwecke (nur nicht unmittelbar für den Gärprocess) verwendbar wird (vgl. Theorie der Gärung in den Abhandl. d. k. b. Akad. d. W. II. Cl. XIII. Bd. II. Abth.)

Die andere physiologische Beziehung der Fettbildung, nämlich zu der Intensität der Ernährung, wird uns besonders dann nahe gelegt, wenn wir die Ernten aus analog zusammengesetzten Nährflüssigkeiten von verschiedenem Concentrationsgrad mit einander vergleichen. Wir beobachten dann, dass in sehr armen Nährlösungen auch ein sehr fettarmer Schimmel wächst, und dass in reicheren Nährlösungen bis zu einem bestimmten Concentrationsgrad das Wachstum lebhafter und der Procentgehalt an Fett grösser wird, sodass das Optimum für die Ernährung und für die Fettbildung zusammenzufallen scheinen.

Man möchte vielleicht für diese Erscheinung darin

eine Erklärung finden, dass die ersten Nährstoffmengen zur Bildung des Plasmas und der Zellmembran verwendet werden, und dass die ärmeren Nährlösungen zur Fettbildung nicht mehr ausreichen. Doch wird bei genauerer Ueberlegung sogleich deutlich, dass damit nichts erklärt wäre; denn man könnte ja mit Recht fragen, warum nicht 10 oder 15 Proc. Albuminate und Cellulose weniger und dafür Fett erzeugt werde, oder man könnte erwidern, dass die Pilzzelle in einer entsprechend längeren Zeit der armen Nährlösung so viel Stoffe zu entziehen vermöge, um sich ganz mit Fett anzufüllen. — Wir hätten aber eine ausreichende Erklärung, wenn wir annehmen dürften, was auch gar nicht unwahrscheinlich ist, dass die Pilzzelle ihre Vegetation in jeder Nährlösung nicht über eine bestimmte Zeit ausdehnen kann, und dass, wenn sie in dieser Zeit nicht ein gewisses Mass von Nährstoffen findet, die Involution beginnt, ehe die Ernährung ihre Stadien vollständig durchlaufen hat, wobei die Fettbildung als das letzte Produkt derselben die grösste Einbusse erleidet.

Wir können die Nährstoffe, die zu den Versuchen gedient haben, nach dem Grade der Fettbildung, den sie gestatten, in eine Reihe bringen, welche zugleich eine Skala für ihre Ernährungsfähigkeit darstellt. Es werden dabei möglichst gleiche Umstände vorausgesetzt, wozu auch die Ausschlussung der Gärthätigkeit gehört. Indem wir von den ungünstigsten zu den günstigsten Nährverbindungen fortschreiten, erhalten wir folgende Stufenreihe: 1) essigsaures Ammoniak, 2) weinsaures Ammoniak, bernsteinsaures Ammoniak, Asparagin (?), 3) Leucin, 4) Eiweiss (Pepton), 5) weinsaures Ammoniak und Zucker, 6) Leucin und Zucker, 7) Eiweiss (Pepton) und Zucker. Was Eiweiss und Pepton betrifft, so ist zu bemerken, dass letzteres allerdings besser, d. h. rascher ernährt, dass aber Eiweiss in löslicher Form demselben wenig nachsteht, wenn der Pilz kräftig pepto-

nisirt, und dass nur das ungelöste Eiweiss sich entschieden ungünstig erweist, weil die Lösung durch die Fermente des Pilzes und die Vertheilung in der Nährflüssigkeit allzu langsam erfolgt.

Ich habe bereits bemerkt, dass lebhaftes Wachsthum und intensive Respiration meistens zusammentreffen. In solchen Fällen bleibt es zweifelhaft, ob man die reichlichere Fettbildung mehr der einen oder anderen Ursache zuschreiben soll. Ein bemerkenswerthes Beispiel geben uns die Versuche mit Bierhefe. Die natürliche Hefe, welche in der besten Nährlösung (Pepton und Zucker) bei niedriger Temperatur und spärlicher Respiration wächst, enthält nur 5 Proc. Fett. Kunsthefe, welche mit weinsaurem Ammoniak und Zucker im Brütkasten unter Durchleitung von Luft gezogen wurde, hatte bis $12\frac{1}{2}$ Proc. Fett. Dass das weinsaure Ammoniak nicht etwa die Ursache der reichlicheren Fettbildung sein konnte, ergiebt sich aus anderen Versuchen, bei denen unter übrigens gleichen Umständen weinsaures Ammoniak sich ungünstiger verhält als Eiweiss, und weinsaures Ammoniak mit Zucker ungünstiger als Eiweiss mit Zucker. Der grössere Fettgehalt der Kunsthefe hängt damit zusammen, dass dieselbe trotz der ungünstigeren Nahrung wegen der höheren Temperatur, der vermehrten Respiration und der gesteigerten Gärung auch ein viel lebhafteres Wachsthum zeigte. In 24 Stunden wurden von einem Gramm Hefe (Trockengewicht) 40 Gramm Rohrzucker vergoren; es ist dies die lebhafteste bis jetzt beobachtete Vergärung von Zucker. In 64 Stunden vermehrte sich die Trockensubstanz der Hefe auf das 12fache; es ist dies ebenfalls die lebhafteste bis jetzt beobachtete Vermehrung.

Ich mache schliesslich noch einige Bemerkungen betreffend die Beurtheilung der Versuche überhaupt und auch der nachher beschriebenen.

Man ist im Allgemeinen geneigt, der chemischen Be-

beschaffenheit der Nährstoffe einen viel grösseren Einfluss auf die Ernährung zuzuschreiben, als ihr wirklich zukommt. Diess gilt für die Pilze noch viel mehr als für alle anderen Organismen. Bezüglich der Fettbildung würde man einen Fehler begehen, wenn man aus irgend welchen einmaligen oder auch mehrmaligen Versuchen schliessen wollte, dass dieselbe durch eine bestimmte chemische Verbindung begünstigt werde. Man wäre dazu erst berechtigt, wenn auch alle übrigen inneren und äusseren Umstände gleich gesetzt, und einzig die chemische Beschaffenheit in den Versuchen verschieden wäre. Wir müssen in der Beurtheilung um so vorsichtiger sein, als die grosse Mehrzahl der sicheren Thatsachen uns beweist, dass die chemische Zusammensetzung der Nährsubstanzen gegenüber den anderen inneren u äusseren Umständen eine verschwindend kleine Wirkung ausübt.

Bezüglich dieser Umstände sind 4 Gruppen zu unterscheiden: 1) die spezifische (systematische) Natur des Pilzes, 2) der biologische und Entwicklungszustand, in dem er sich befindet, 3) die Beschaffenheit der Umgebung, namentlich die Temperatur, der Feuchtigkeitszustand, der Zutritt von Sauerstoff, 4) die physiologischen Vorgänge der Ernährung, soweit dieselben von den aufgenommenen chemischen Verbindungen unabhängig sind. Wir haben somit für die Beurtheilung der Kulturresultate folgende 4 Regeln festzuhalten.

1) Nur Vegetationen der gleichen Species und Varietät von Pilzen dürfen mit einander verglichen werden. Eine weitere Bemerkung hiezu ist überflüssig.

2) Nur gleiche Zustände eines Pilzes dürfen mit einander verglichen werden, — also beispielsweise nicht die Hyphenform und die Sprosshefenform eines *Mucor*, ferner nicht der vegetative und der reproduktive Zustand, nicht das Evolutions- und das Involutionsstadium eines Pilzes. Aus

diesem Grunde giebt es kaum zwei Versuche, die in aller Strenge einen Schluss auf die Wirkung der Nährstoffe bezüglich der Fettbildung gestatten, weil in jedem Versuch junge Zellen, ausgewachsene Zellen, altersschwache Zellen und abgestorbene Zellen, solche die keine Sporen bilden und solche, die sich in irgend einem Stadium der Sporenbildung befinden, mit einander gemengt sind und weil das Verhältniss der Gemengtheile jedes Mal ein anderes ist.

3. Nur wenn die äusseren Umstände, unter denen eine Kultur stattfindet, ganz dieselben sind, ist ein Vergleich gestattet. Es lassen sich nun zwar die Verhältnisse in verschiedenen Beziehungen ganz gleich machen, so bezüglich der Temperatur, ferner, wenn eine Nährlösung angewendet wird, bezüglich der Form und Grösse des Gefässes, der Oberfläche und der Tiefe der Flüssigkeit, bezüglich des Umschüttelns, — alles Dinge, die unter Umständen sehr wichtig sein können. Aber es giebt andere Beziehungen, in denen es ausser der Macht des Experimentators liegt, eine vollkommene Gleichheit herzustellen. Schon der Zutritt des Sauerstoffs kann nicht gleichartig geregelt werden, weil derselbe bei der nämlichen Vorrichtung durch den ungleichen Verbrauch bestimmt wird.

Noch viel grössere Störungen erfolgen durch die ungleiche räumliche Vertheilung der Pilze. Um dieselben möglichst zu beschränken, ist die Anwendung von Nährlösungen unbedingt geboten, weil die Diffusion, unterstützt durch periodisches Umschütteln, eine gleichmässige Vertheilung der Nährstoffe bewirkt. Aber auch in diesem günstigsten Falle sind immer Verschiedenheiten zwischen sonst zwei ganz gleichen Kulturen vorhanden und können selbst zu einer den Versuch ganz unbrauchbar machenden Grösse anwachsen, weil die Pilze theils an der Oberfläche der Flüssigkeit theils untergetaucht leben. Jene erhalten reichlicheren Sauerstoff, diese fast gar keinen. Die Ernährung

und auch die Fettbildung geschieht daher bei den einen und anderen in ungleicher Weise; die an der Oberfläche schwimmenden sind die fettreicheren. Da nun das Mengenverhältniss der oberflächlichen und untergetauchten Individuen nie übereinstimmt und oft sehr grosse Verschiedenheiten zeigt, so ist auch in dieser Beziehung die Möglichkeit des Vorhandenseins von Fehlerquellen bei der Beurtheilung der Versuche immer ins Auge zu fassen.

4. Nur wenn die physiologischen Processe in zwei Pilzvegetationen gleichartig verlaufen, darf auch die Fettbildung zu einer unmittelbaren Vergleichung benutzt werden. Diese physiologischen Vorgänge sind uns vorerst nur in ihrer allgemeinsten Form bekannt, bieten aber in dieser allgemeinen Form schon sehr grosse Verschiedenheiten dar.

Von dem Nährmaterial, das der Pilzzelle zur Verfügung steht, verwendet sie einen Theil zur Nahrung, einen anderen Theil verbrennt sie. Beide Mengen lassen sich quantitativ genau feststellen aus dem Gesamtverbrauch der Nährstoffmenge und aus der Zunahme der Pilzsubstanz. Das Verhältniss der beiden Processe übt einen Einfluss auf jeden einzelnen Vorgang des vitalen Chemismus und namentlich auch auf die Fettbildung aus. Wenn es in zwei Versuchen nicht gleich ausfällt, so liegt möglicher Weise abermals eine Fehlerquelle vor, welche die strenge Beurtheilung des Einflusses der chemischen Beschaffenheit der Nährstoffe auf die Fettbildung unsicher macht. Es hängt nämlich die Intensität der Oxydation nicht bloss von dieser chemischen Beschaffenheit ab, sondern auch von der Menge des zutretenden Sauerstoffs, ferner von dem Entwicklungsstadium der Zelle und von anderen noch unbekannten Eigenthümlichkeiten der morphologischen und physiologischen Verhältnisse.

Berücksichtigt man die 4 genannten Bedingungen, so ist leicht einzusehen, dass aus wenigen Versuchen kein Schluss auf die Wirkung der verschiedenen Nährstoffe be-

züglich der Fettbildung gezogen werden darf, und dass es nur durch zahlreiche Versuchsreihen möglich würde, die Fehlerquellen aufzudecken und die Fehler in den Schlussfolgerungen zu beseitigen. Es unterliegt keinem Zweifel, dass eine Versuchsreihe (wie beispielsweise I unter den nachher aufgeführten), zum zweiten Mal in ganz gleicher Weise wiederholt, im Einzelnen andere Zahlen ergeben und die Resultate verwandter Nährlösungen vielleicht geradezu umkehren würde.

Um das Gesagte zu erläutern und thatsächlich zu belegen, mache ich auf einige Beispiele aufmerksam. In der Versuchsreihe I enthielt der in weinsauerem Ammoniak gewachsene Schimmel (a) 6,7 Proc. derjenige in bernsteinsaurem Ammoniak (c) 11,1 Proc. Fettsäuren. Bei einem gleichen Gesamtverbrauch gab letztere Nährlösung eine fast doppelt so grosse Ernte (nämlich 0,53 gegen 0,31 g.) und dem entsprechend einen fettreicheren Schimmel. Ob aber dieser Erfolg der chemischen Verbindung zuzuschreiben sei, ist aus sonstigen Beobachtungen sehr fraglich; wahrscheinlich rührte er von irgend einem anderen Umstande her.

In der Versuchsreihe II gaben 100 g. Nährlösung mit 1 Proc. weinsaurem Ammoniak und 1 Proc. Weinsäure (a) 0,108 g. Ernte und 8,08 Proc. Fettsäuren, — dagegen 100 g. Nährlösung mit 1 Proc. Pepton (d) 0,175 g. Ernte und 7,32 Proc. Fettsäuren. Man könnte daraus schliessen wollen, dass das Ammoniaksalz zwar auf die Ernährung überhaupt weniger günstig, dagegen gerade auf die Fettbildung günstig wirke. Auch bei einem andern Versuch war die Ernte des weinsauren Ammoniaks fettreich. Dass eine solche Schlussfolgerung aber unrichtig wäre, zeigt der Zusammenhalt mit folgenden Ergebnissen. Bei der Versuchsreihe I betrug die Ernte des mit 1 Proc. weinsaurem Ammoniak und 1 Proc. Weinsäure ernährten Schimmels (d) auf 100 g. Nährlösung

0,106 g. und der Gehalt an Fettsäuren 7,58 Proc., — die Ernte des in 1 proc. Eiweisslösung gewachsenen Schimmels dagegen (k) auf 100 g. Nährlösung 0,172 g. und der Gehalt an Fettsäuren 11,25 proc. Ferner ergaben 100 g. Nährflüssigkeit mit 1 proc. weinsaurem Ammoniak, 1 Proc. Weinsäure und 5 Proc. Rohrzucker (II, c) 0,767 g. Ernte mit 12,35 Proc. Fettsäuren, — dagegen 100 g. Nährflüssigkeit mit 1 Proc. Eiweis und nur 2 Proc. Rohrzucker (I, p) 0,597 g. Ernte mit 18.10 Proc. Fettsäuren (es war dies der höchste in den Versuchen erreichte Fettgehalt). Ich bemerke hiezu, dass Pepton und lösliches Eiweiss sich als Nährstoffe für Schimmel im Allgemeinen gleich verhalten.

Wir haben also bei den eben angeführten Versuchen bezüglich des Vergleiches von Weinsäure und Ammoniak mit löslichem Eiweiss (oder Pepton) drei sich widersprechende Ergebnisse. Ein Mal gibt Weinsäure und Ammoniak ein geringeres Erntegewicht und einen grösseren procentigen Fettgehalt, ein anderes Mal ein geringeres Erntegewicht und einen geringeren Fettgehalt und ein drittes Mal ein grösseres Erntegewicht und einen geringeren Procentgehalt an Fetten. Ohne Zweifel ist in dem zweiten Ergebniss (schwächere Ernährung mit geringerer Fettbildung) die Norm für diejenigen Fälle ausgesprochen, in denen die übrigen Umstände sich gleich verhalten.

In der Versuchsreihe III enthielten die 6 Lösungen bei gleichen und zwar geringen Mengen stickstoffhaltiger Nahrung ungleiche Mengen von Zucker. Da alle anderen Verhältnisse, so weit es in der Macht des Experimentators liegt, gleich waren, so sollte auch, mag der Zucker auf die Fettbildung irgend welchen Einfluss haben, eine seiner Menge entsprechende stätige Aenderung in den Resultaten gefunden werden. Dies war aber nicht der Fall; schon die Erntemenge zeigte die zu erwartende Progression nicht, indem ausnahmsweise die 1,0 procentige Zuckerlösung (c) weniger

Schimmel bildete als die 0,5 procentige (b) und ebenso die 10 procentige (c) weniger als die 5 procentige (d). Ebenso enthielt der vereinigte Schimmel der 0,1 und 0,5 proc. Zuckerlösung (a und b) 15,84 Proc. Fettsäuren, derjenige der 5 proc. Lösung (d) 14,36 und derjenige der 15 proc. Lösung (f) 23,13 Proc. Fettsäuren, während unter gleichen äusseren und inneren Umständen die 5 proc. Lösung nothwendig einen Schimmel mit mittlerem Fettgehalt erzeugen müsste.

Indessen hatten sich schon, während die Versuche dieser Reihe im Gange waren, Störungen, wenn auch nicht in dem Masse wie es wirklich der Fall war, voraus sehen lassen, indem in den Kolben c und e eine verhältnissmässig grössere Menge untergetauchter und eine kleinere Menge schwimmender Schimmelrasen sich befanden als in a, b, d und f. — Diese Versuchsreihe lehrt deutlich, wie vorsichtig man überhaupt bei der Beurtheilung von Pilzkulturen sein muss, und wie nöthig es ist, dass man sich jedes Mal die Frage stelle, ob ein bestimmtes Resultat wirklich von der chemischen Mischung der Nährlösung oder von irgend einer anderen Ursache bedingt wurde. In dem vorliegenden Falle ist es ja unzweifelhaft, dass bei gleichartigem Verlauf der Vegetation das Gewicht der Ernte und der procentige Fettgehalt von a bis zu f stätig hätten zunehmen müssen.

Die nachstehenden Versuche sind von Herrn Dr. O. Löw, Adjunct am pflanzenphysiologischen Institut, beschrieben.

I.

Es ist wohl eine längst beobachtete Thatsache, dass Schimmelvegetation sich auf den verschiedenartigsten organischen Substanzen zu entwickeln vermag, aber über das Verhältnisse in welchem der Verbrauch an organischer Materie zu einer gegebenen Menge der gebildeten Pilzmasse steht, über die relativen Mengen, welche in einer gewissen

Zeit von einem Schimmelrasen von bestimmter Grösse verbrannt und über die Mengen Fett, welche aus verschiedenen Materien hiebei gebildet werden, ist noch nichts Näheres bekannt.

Um über diese Fragen Aufschluss zu erhalten, wurden folgende Versuchsreihen angestellt. Die mit Schimmelsporen besäten Nährlösungen enthielten 1 — 3 pC. verschiedener organischer Stoffe und von unorganischen Nährsalzen: 0,1 pC. Dikaliumphosphat, 0,032 pC. schwefelsaure Magnesia und 0,004 pC. Chlorcalcium.

Zur Verhinderung von störender Spaltpilz-Entwicklung diente ein Zusatz von Phosphorsäure und zwar erhielten die Nährlösungen mit weinsaurem und bernsteinsaurem Ammon je 1 pC., die übrigen 0,5 pC.; nur die aus Albumin mit Weinsäure, weinsaurem Ammon mit Weinsäure, und die aus essigsaurem Ammon mit Weinsäure bestehenden erhielten keinen Zusatz, da hier die freie Weinsäure den Spaltpilzen gegenüber hinreichende antiseptische Dienste that.

Die Kolben wurden mit Baumwollpfropf nur locker verschlossen, um Eintritt von Luft und Austritt gebildeter Kohlensäure zu gestatten und waren nur zur Hälfte mit der Nährlösung — von welcher stets 500 cc. angewendet wurden — gefüllt. Sie wurden von Zeit zu Zeit umgeschwenkt um neuem Schimmelrasen Platz zu geben und die obere durch die Schimmelentwicklung verdünnter gewordene Schichte der Nährlösung mit den unteren noch weniger angegriffenen Schichten gleichmässig zu mischen. Die Bewegungen der Schichten verschiedener Concentration machten sich dabei deutlich dem Auge bemerkbar.

Die Ernte wurde nach Ablauf mehrerer Wochen abfiltrirt und bei 100° getrocknet; vom Filtrat wurde behufs Bestimmung des Verbrauchs ein Theil verdunstet und ebenfalls bei 100° getrocknet. Bei der aus essigsaurem Ammon

bestehenden Nährlösung wurde die unverbrauchte Essigsäure in das Bariumsalz übergeführt und aus dem daraus erhaltenen Bariumsulfat die Essigsäure berechnet.

Da durch die Oxydationstüchtigkeit des Schimmels stets ein sehr erheblicher Antheil Kohlenstoff und Wasserstoff oxydirt wurde, der Stickstoff aber zum grössten Theile als Ammoniak in der Flüssigkeit verblieb, so musste die ursprünglich saure Reaction allmählig in eine neutrale übergehen und dieser Fall trat in der That häufig ein. Bei der Asparagin-Nährlösung war sogar die Reaction schwach alkalisch geworden. Wo die Reaction noch in mässigem Grade sauer war, wurde mit titrirter Natronlösung nahezu neutralisirt und am Trockengewicht die nöthige Correctur angebracht.

Da der Schimmel keine organischen Ausscheidungsprodukte liefert, die er nicht wieder verwenden könnte, und das aus stickstoffhaltigen Körpern vom Schimmel abgespaltene Ammoniak selbst wieder ein guter Baustoff ist, so lange eine verwendbare Kohlenstoff und Wasserstoff enthaltende Substanz anwesend ist, so konnte wohl ohne erheblichen Fehler das Trockengewicht des Filtrats nach Abzug der Nährsalze und Phosphorsäure als unverbrauchte organische Nährsubstanz angesehen werden.

Unter „Verbrauch“ ist hier also die Menge der aus der Nährlösung verschwundenen Substanz verstanden, somit die Summe der Schimmelernte und der durch Oxydation in die Form von Kohlensäure und Wasser (mit einer kleinen Beimengung von Stickstoff) übergegangenen Materie.

Die Fettbestimmung in den Ernten geschah nach der früher erwähnten Methode, welche ich bei der Hefe anwandte ³⁾, nämlich durch Wägung der Fettsäuren (im

³⁾ Sitzungsberichte der k. bayr. Academie der Wissenschaften. 4. Mai 1878.

Wesentlichen aus Oelsäure bestehend) nach vorausgegangener Zerstörung der Zellmembran mittelst Salzsäure.

Statt jeden Fall speciell zu beschreiben, wurde der Uebersicht halber die beigefügte Tabelle hergestellt, aus welcher das Erntegewicht, der Verbrauch und Fettgehalt ⁴⁾ bei verschiedener Ernährung des Schimmelpilzes ersichtlich ist. Die Unterschiede, welche sich aus dem Vergleich zwischen der Menge verbrannter Materie — welche im Allgemeinen um so grösser ist, je sauerstoffreicher die Nährsubstanz bereits ist — und dem Erntegewicht in den verschiedenen Fällen ergeben, sind sehr in die Augen fallend und selbst in dem günstigsten Falle, nämlich der Ernährung mit Eiweiss und Zucker übertrifft die Menge der durch Oxydation verschwundenen Substanz das Gewicht des gebildeten Schimmels um das Doppelte.

Das Verhältniss der Schimmelernte zur verbrannten Substanz ist kein völlig unveränderliches, sondern schwankt zwischen gewissen Gränzwerten, welche durch Concentration der Nährlösung, stärkeren oder geringeren Luftzutritt, Temperatur, Grad der Ansäuerung, Ruhe oder öfteres Bewegtwerden und andre Factoren bestimmt werden. Indessen dürfen unsere Zahlen — besonders da wo die Concentration der Nährlösung die gleiche war — wohl einen allgemeinen Vergleichswerth beanspruchen, da die wichtigeren Factoren (Temperatur, Luftzutritt) möglichst gleich hergestellt wurden.

4) Das Fett erwies sich stets von einer kleinen Menge Cholesterin begleitet. Es scheint als ob die Bildung beider Substanzen unter denselben Bedingungen zu Stande komme, nämlich durch Zusammentreten von bei der Oxydation übrig bleibenden Resten. Möglicherweise hängt auch im Thierkörper die Entstehung beider aus fettfreien Nahrungsmitteln aufs Innigste zusammen und vielleicht von einander ab. —

Tabelle über den Verbrauch und die Fettbildung des Schimmelpilzes. (Penicillium.)

Angewandte Nährlösung	Tage der Vegetationszeit	Verbrauch in grm	Gesamt-Verbrauch in Procenten der angewendeten Nährsubstanz	Ernte in grm	Ernte in Procenten des Gesamt-Verbrauchs	Verbraucht, grm	Verhältnis des Erntegew. zur verbrannten Substanz	Fettakturen in Procenten des Schimmels	Fettakturen in Procenten des Total-Verbrauchs
a. Weinsaures Ammon 1%	56	2,82	56,4	0,308	10,9	2,51	1:8,2	6,67	0,727
b. Essigsaures Ammon 1,23%	17	1,96	31,8	0,284	14,5	1,68	1:5,8	nicht best.	—
c. Bernsteinsaures Ammon 1%	48	2,70	54,0	0,534	19,8	1,17	1:4,5	11,11	2,199
d. Weinsaures Ammon 1% und Weinsäure 1%	60	5,19	51,9	0,518	10,0	4,57	1:9,0	7,58	0,758
e. Essigsaures Ammon 0,6% und Weinsäure 1,2%	34	4,42	49,1	0,940	21,2	3,48	1:3,7	nicht best.	—
f. Zucker 4,8% und Salmiak 0,8%	34	7,40	26,4	1,496	20,2	5,91	1:4,0	6,69	1,351
g. Asparagin 1%	56	3,48	69,6	0,795	22,8	2,69	1:3,4	7,06	1,609
h. Leucin 1%	28	3,05	61,0	0,905	29,7	2,15	1:2,3	11,50	3,415
i. Leucin 3%	28	5,25	35,0	1,130	21,5	4,12	1:3,6	nicht best.	—
k. Albumin 1%	52	3,72	74,4	0,861	23,2	2,86	1:3,3	11,25	6,610
l. Albumin 1% u. Weinsäure 1%	52	4,58	45,8	1,124	24,5	3,46	1:3,1	12,22	2,994
m. Albumin 1% und Leucin 1%	48	2,20	22,0	0,563	25,6	1,64	1:2,9	14,92	3,819
n. Pepton 1% und Leucin 1%	55	4,54	44,5	1,101	24,9	3,35	1:3,0	14,83	3,698
o. Leucin 1% und Zucker 2%	51	11,52	76,8	2,873	24,9	8,65	1:3,0	17,66	4,397
p. Eiweiss 1% und Zucker 2%	52	9,08	60,5	2,984	32,8	6,10	1:2,0	18,10	5,937

II.

Bei seiner andern, früheren Versuchsreihe wurden Weinsäure und Zucker mit Albumin und Pepton bezüglich der Fettbildung in dem darauf gewachsenen Schimmel verglichen. Die Versuche⁵⁾ waren folgende:

- a) 500 g. Wasser, 5 weinsaures Ammon, 5 Weinsäure,
- b) 500 g. Wasser, 50 Rohrzucker, 0,5 Phosphorsäure, 5 salpetersaures Kali; nach mehreren Wochen wurden noch 2 g. Salpetersäure zugesetzt,
- c) 300 g. Wasser, 15 Rohrzucker, 3 weinsaures Ammon, 3 Weinsäure,
- d) 300 g. Wasser, 3 Pepton, 2 Phosphorsäure,
- e) 300 g. Wasser, 3 Albumin, 2 Phosphorsäure,
- f) wie e, aber statt des gelösten, wurde hier unlösliches Eiweiss verwendet.

Nach Ablauf von zwei Monaten wurde der gebildete Schimmel bei 100° getrocknet gewogen und der Gehalt an Fettsäuren bestimmt. Was Versuch c betrifft, so wurde eine Bestimmung der noch vorhandenen Weinsäure und des Zuckers angeführt, um festzustellen, von welchem Material in dieser Mischung mehr verbraucht wurde. Die Titration ergab, dass noch 0,80 g. Zucker vorhanden waren. Von Gärungs- und organischen Oxydationsprodukten wurde nichts vorgefunden, wenigstens wurde auf Ameisensäure, Oxalsäure, Essigsäure, Buttersäure und Milchsäure vergeblich geprüft. Durch Ausschütteln einer angesäuerten eingedampften Portion mit Aether wurde eine sehr geringe Menge einer öligen, in Wasser schwerlöslichen Substanz erhalten. Eine andere Probe des Filtrats zur Trockne ver-

5) Als Nährsalze dienten hiebei:

- 0,1 pC. Dikaliumphosphat,
- 0,016 pC. Magnesiumsulphat,
- 0,005 pC. Chlorcalcium,
- 0,017 pC. Ammonsulphat.

dunstet hinterliess beim Behandeln mit Wasser wenig einer bräunlichen unlöslich gewordenen N-haltigen Materie.

Bei Bestimmung der noch vorhandenen Weinsäure wurde ein Theil ($\frac{1}{4}$ des Filtrats) mit etwas Kalilösung behufs der Entfernung des Ammoniaks zur Trockne verdunstet, dann die wässrige Lösung mit Essigsäure genau neutralisirt und mit Chlorcalcium gefällt. Aus der erhaltenen Menge des bei 100° getrockneten weinsäuren Kalks (0,242 g) berechnete sich, dass die angewandte Weinsäure bis auf 0,767 g. theils zum Aufbau der Vegetation gedient, theils zu Kohlensäure und Wasser verbrannt worden war. Vergleicht man diese Menge mit den ursprünglich vorhandenen 5,49 g. (3 g. als freie Säure und 2,49 g. im Ammontartrat) so ergibt sich, dass von der Weinsäure noch 13,9 proc. vorhanden waren. Der Zucker aber war, obwohl anfangs in viel grösserer Menge vorhanden, bis auf 6 proc. verzehrt worden.

Was Versuch f betrifft, so hatte sich in Folge der nur äusserst langsam vor sich gehenden Peptonisirung des unlöslichen Eiweisses nach 2 Monaten nicht mehr als 0,2 g. Schimmel gebildet. Dieser erwies sich äusserst fettarm. Ungelöstes Eiweiss war noch vorhanden 2,1 g.

Die bei diesen Versuchen erhaltenen Resultate sind aus folgender Tabelle ersichtlich.

Nährstoffe	Erntegewicht	Procentgehalt an Fettsäuren
a. Weinsaures Ammoniak und Weinsäure . .	0,540	8,08
b. Zucker und Kaliumnitrat	1,448	7,12
c. Zucker, Weinsäure und Ammontartrat . . .	2,301	12,35
d. Pepton	0,524	7,32
e. Albumin (gelöst) . .	0,531	8,79
f. Albumin (unlösliches)	0,200	0,53

III.

Um über den Grad der Fettbildung bei geringem Stickstoff- und steigendem Zuckergehalte der Nährlösung Aufschluss zu erhalten, wurden 6 Nährlösungen à 1 Liter mit gleichem Stickstoff- und Nährgehalt aber steigenden Mengen Rohrzucker (1, 5, 10, 50, 100 und 150 g. auf 1 Liter) mit Schimmelsporen besät. Als Stickstoffquelle diente schwefelsaures Ammoniak und zwar 0,3 g. per Liter; die übrigen Nährsalze waren 2,0 g. Dicalciumphosphat 0,3 g. Schwefelsaure Magnesia und 0,1 g. Chlorcalcium. Ferner erhielt jede Flasche 0,9 g. Phosphorsäure zur Verhinderung der Spaltpilzentwicklung. Die nach 6 Wochen gewogenen Ernten bildeten keineswegs eine mit den Zuckermengen wachsende Reihe, sondern eine ziemlich unregelmässige; nämlich:

Procente Zucker in der Nährlösung	Erntegewicht
a) 0,1	0,210
b) 0,5	0,305
c) 1,0	0,230
d) 5,0	0,772
e) 10,0	2,700
f) 15,0	2,215

Bei c und e ergab sich also eine viel geringere Ernte, als der wachsende Zuckergehalt erwarten liess, was davon herrührte, dass die Vegetation in den verschiedenen Kolben einen ungleichen Verlauf nahm. Diese beiden Ernten wurden auch weiter nicht berücksichtigt.

Was das Verhältniss des Erntegewichts zum verbrauchten Zucker betrifft, so betrug bei a jenes Gewicht 34,3 Proc. des Totalverbrauchs,⁶⁾ bei f. aber nur 8,8 pC. Hier wurde also

6) Bei a wurde der Zuckergehalt durch Titration bestimmt, bei f durch Verdunstung von $\frac{1}{100}$ des Volums. Die Inversion des Rohrzuckers durch den Schimmelpilz geht verhältnissmässig sehr rasch vor sich. Eine 0,5 g Trockensubstanz entsprechende Menge Schimmelrasen invertierte bei gewöhnlicher Temperatur in 18 Stunden 0,3 g Rohrzucker (in einer 1procentigen Lösung.)

bei grösserer Concentration auch mehr Substanz für die Einheit des Erntegewichts verbrannt.

Bei der Bestimmung der Fettsäuren wurden die Ernten a und b vereinigt, da sonst die einzelnen Mengen für eine genaue Bestimmung etwas zu gering gewesen wären. Die Resultate waren:

0,505 g. (a+b)	gaben	0,080	Fettsäuren	15,84 pC.
0,710 g. (d)	„	0,102	„	= 14,36 pC.
1,228 g. (f)	„	0,284	„	= 23,13 pC.

Der an Fett reiche Schimmel f war auch verhältnissmässig reich an Cellulose, denn der Stickstoffgehalt betrug nur 2,55 pC., entsprechend 16 pC. Eiweiss. Wenn der Gehalt an Aschenbestandtheilen und „Extractivstoffen“ hoch angeschlagen wird, so muss die Cellulose hier noch an 50 pC. betragen haben.

IV.

Um das Verhalten des Schimmels nach völligem Verbrauch der Nährlösung kennen zu lernen, wurden 3 Kolben mit 500 cc. einer 1 procentigen Albuminlösung⁷⁾ beschickt und die Untersuchung nach verschiedenen langen Perioden vorgenommen. Die Ernte betrug nach 52 Tagen bei der ersten Flasche 0,861 g.⁸⁾ In der Flüssigkeit fanden sich noch circa 15 pC. des angewandten Albumins vor, welches in Pepton übergegangen war, ferner eine erhebliche Menge Ammoniak. Weder Harnstoff noch Harnsäure liessen sich nachweisen, dagegen schienen geringe Spuren von Xanthin vorhanden zu sein.

7) Das verwendete lösliche Hühnereiweiss wurde stets vor seiner Verwendung im feingepulverten Zustande mit Chloroform behandelt um es von Lecithin und Fett zu befreien.

8) Dieser Schimmel enthielt 7,57 pC. Stickstoff, während ein auf einer aus Zucker (5 pC.) und saurem Ammontartrat (6 pC.) bestehenden Nährlösung gezogener nur 5,51 pC. gab.

Der Inhalt der zweiten Flasche wurde nach 86 Tagen abfiltrirt, das Erntegewicht betrug 0,864 g und das Eiweiss, respective das daraus gebildete Pepton war nun so gut wie völlig aus der Lösung verschwunden.

Die dritte Flasche wurde 106 Tage nach der Aussaat geprüft. Das Erntegewicht betrug nur 0,708 g, woraus sich im Vergleich mit der zweiten Flasche eine Abnahme ergibt, welche wahrscheinlich der bereits eingetretenen Involution zuzuschreiben ist. Eine Bildung von salpetriger oder Salpetersäure aus dem Ammoniak liess sich nicht nachweisen, ein Process, den nach Schlösing und Müntz manche Spaltpilzarten (wohl nur in neutraler oder alkalischer Flüssigkeit) zu Stande bringen. Es wäre möglich, dass die Schimmelpilze in geringem Maasse die Fähigkeit der Nitritbildung auch besässen, dann aber würde in den sauren Lösungen die gebildete salpetrige Säure auf das Ammoniak unter Zersetzung einwirken. Vielleicht beruht auf diesem Vorgang die Oxydation des Ammoniaks zu Stickstoff und Wasser, welche in geringem Grade bei den Schimmelpilzen statt hat.

V.

Um die bei der Involution vor sich gehende Aenderung der Zusammensetzung des Schimmels genauer zu verfolgen, wurde frischer, auf einer aus Eiweiss (1 pC.) und Zucker (2 pC.) bestehenden Nährlösung gewachsener Schimmelrasen in kleine Stücke zerschnitten und $\frac{3}{4}$ der Masse in verdünnte Phosphorsäurelösung von 1 pC. Gehalt gelegt, während $\frac{1}{4}$ getrocknet und zur Analyse verwendet wurde; letzteres wog 1,456 g. 0,982 g gaben 0,158 Fettsäure = 16,09%. Da diese Fettsäure im Wesentlichen Oelsäure ist, so berechnet sich hieraus = 18,50% neutrales Fett. — 0,474 g. gaben 0,228 Pt = 6,84% N.

Nach 4 Wochen war der der Involution überlassene Schimmel in eine lockere weisse Masse verwandelt, der

frühere compacte Rasen war in einzelne Fäden zerfallen und hatte nicht unerhebliche Mengen von Stoffen an die Flüssigkeit abgegeben, was aus der Bildung eines neuen Schimmelrasens an der Oberfläche hervorging. Dieser wurde abgenommen und vom alten Schimmel getrennt; letzterer abfiltrirt, gewaschen und getrocknet wog nur noch 0,7475 g

0,521 g gaben 0,229 Fettsäure = 43,9%, oder
50,54% neutrales Fett.

0,2265 g gaben 0,043 Pt = 2,69% N.

Es ergibt sich also hieraus unter Verlust von Eiweiss eine starke Anhäufung von Fett. — Der Schimmel hatte $\frac{5}{6}$ seines Gewichtes verloren und zeigte im Wesentlichen folgende Zusammensetzung:

	Vor der Involution		Nach
Albumin .	42,7		16,5
Fett . . .	18,5		50,5
Cellulose*) .	38,8		33,0

*) incl. Extractiv- und Mineralstoffe.