

859750

# MIKROBIOLOGIA

## FERMENTACYJNA.

NAPISAL

WIKTOR SYNIEWSKI.

~~~~~  
Z 114 RYSUNKAMI W TEKŚCIE.  
~~~~~

LWOW.  
NAKŁADEM AUTORA.

1900





58593

WSZELKIE PRAWA ZASTRZEŻONE.

Z Drukarni Ludowej we Lwowie.



# WSTĘP.

---

## Historyczny zarys początków badań mikrobiologicznych.

Ciała roślin i zwierząt po śmierci ulegają w pewnych okolicznościach rozkładowi, psuciu się, przyczem następuje przemiana pierwotnych, złożonych składników organizmu na inne, prostsze i bardziej stałe ciała, nie ulegające łatwej, w zwykłych warunkach, przemianie.

Takie procesy samowolnego napozór rozkładu ciał roślinnych lub zwierzęcych zwą pospolicie gniciem, fermentacją, albo też butwieniem, stosownie do tego, jakie im towarzyszą zewnętrzne objawy.

Jeżeli proces rozkładu ciała organicznego odbywa się z wydzielaniem cuchnących gazów i płynnych lub półpłynnych, również cuchnących substancyj, nazywamy go gniciem. Tak gniją n. p. mięso, skóra, wydzieliny zwierzęce i t. p.

Jeżeli podczas rozkładu wydziela się burzliwie znaczna ilość bezwonno, lub też do pewnego stopnia nieodrażająco pachnącego gazu, a część produktów rozkładu jest płynna, nazywamy ten proces fermentacją. Tak fermentują wszelkie soki owocowe, jak wogóle płyny, zawierające mniej lub więcej cukru.

Jeżeli zaś rozkład organicznego ciała roślinnego, odbywa się tak, że nie widzimy przytem objawów wydzielania się gazów ani też jakichkolwiek płynnych produktów rozkładu, a odbywanie się rozkładu poznajemy jedynie po zmianie fizycznych własności ciała, mianowicie po zmianie koloru, zapachu, wytrzymałości mechanicznej, oraz po zmniejszeniu się jego



ciężaru, to wtedy nazywamy ten proces butwieniem. Tak butwieje n. p. wszelkie drewno, pozostające dłuższy czas na wilgotnem powietrzu.

Dawno już spostrzeżono, że przy wszystkich takich procesach zachodzi chemiczna przemiana ciał, składających organizm roślinny lub zwierzęcy, wskutek czego już alchemicy zwrócili na nie swoją uwagę.

Szczególnie zaciekał ich proces przemiany słodkich soków owocowych na odurzające napoje, z których bardzo dawno już nauczono się wydzielać upajające ciało, alkohol.

Długi czas nie znano przyczyny zmian chemicznych w ciałach, ulegających gniciu, fermentacyi lub butwieniu, a znać ich nie można było, gdyż nie miano wówczas tego przyrządu, bez którego wszelkie badania w tym kierunku musiały być, jak to zobaczymy, bezowocne, mianowicie nie znano jeszcze mikroskopu.

Jeżeli drobną cząsteczkę gnijącego lub fermentującego ciała będziemy oglądać przez mikroskop, odpowiednio powiększający, to zobaczymy, że w tem stałem lub płynnem ciele znajdują się drobne utwory kształtu kulek lub mniej albo więcej wydłużonych pałeczek. Jeżeli taką kulkę lub pałeczkę wprowadzimy do nowej ilości niegnijącego lub niefermentującego ciała, wtedy spostrzeżemy, że w niem rozmnożą się te kulki, względnie pałeczki, któreśmy wprowadzili i że ciało to będzie także gniło lub fermentowało. Tak przekonamy się, że w gnijącym lub fermentującym płynie zawsze się znajdują kulkowate lub pałeczkowate utwory i że, gdy ich niema, niema też gnicia lub fermentacyi, jednym słowem przekonamy się, że utwory te są przyczyną owych procesów rozkładu. Kulki te lub pałeczki rozmnażają się, są więc organizmami, a że przy tem są tak małe, że je dopiero przez mikroskop zobaczyć możemy, nazywamy je organizmami mikroskopowo małymi, mikroorganizmami albo drobnoustrojami.

Drobnoustroje odkrył Antoni van Leeuwenhoeck, Holenderczyk, urodzony w Delft w r. 1632.

Był on początkowo chłopcem kupieckim w sklepie sukiennym w Amsterdamie, gdzie w wolnych chwilach ćwiczył się w modnym podówczas sporcie szlifowania szkieł i nadawania im kształtu soczewki. Po pewnym czasie nabył w tym



kunszcie takiej wprawy, że z łatwością sporządzał soczewki szklane, powiększające do stu razy. Po powrocie do swego rodzinnego miasta, w którym osiadł na stałe, począł przy pomocy swych szkieł przypatrywać się rozmaitym drobnym przedmiotom, pomiędzy innymi także rozmaitym fermentującym wyciągom i sokom roślinnym. Wtedy spostrzegł, że w płynach takich znajdują się zawsze nadzwyczaj drobne jestestwa, które w nich bardzo szybko się poruszają. Wskutek tego zaliczył je Leeuwenhoeck do zwierząt i nazwał infuzoryami (od infusum = wyciąg).

Po Leeuwenhoecku zaczęto częściej zajmować się badaniami takich jestestw.

Organizmami, występującymi podczas fermentacji właściwej lub podczas gnicia, zajął się dopiero wiedeński lekarz Marek Plenčic, zdaje się Słowniec z pochodzenia i w swoim dziele: „Opera medico physica“ z r. 1762 pierwszy raz jasno wypowiedział zdanie, że „ciało dane wtedy ulega gniciu lub fermentacji, gdy w niem rozwina się zarodki istot robaczkowatych i zaczęną się rozmnażać; zwierzątka te wydzielają przytem lotne sole, z powodu których płyny mętnieją i cuchną“.

Nie prędko po Plenčicu zajęli się uczeni bliższem zbadaniem istoty procesów fermentacyjnych i gnilnych, gdyż cała ich uwaga była zajęta sporem o pochodzeniu tych jestestw mikroskopowych, które ukazują się w wyciągach roślinnych. Spór ten powstał w połowie zeszłego stulecia, a toczył się około pytania, czy organizmy te powstają przez t. zw. samorodztwo (generatio spontanea), czy też powstają wtedy, gdy w wyciągu znajdują się ich zarodki organizowane. Celem rozstrzygnięcia tego sporu, zajmował się stosownemi badaniami cały szereg uczonych, pomiędzy innymi także sławny chemik Van Helmont, który był zwolennikiem teorii o samorodztwie i posiadał nawet przepis na „sztuczne wytwarzanie myszy“.

Najsłynniejszym przedstawicielem teorii o samorodztwie był anglikański duchowny Needham, znakomitym jego przeciwnikiem zaś Włoch Spallanzani. Spallanzani oraz jego następcy, głównie Schulze i berliński lekarz Schwann wykazali, że w wyciągach roślinnych lub zwierzęcych, wygotowanych i zamkniętych w szklanych naczyniach tak, aby dostępujące powietrze było wprzód poddane działaniu wysokiej temperatury



lub działaniu zgęszczonego kwasu siarkowego, drobnoustroje nie rozwijają się wcale. Wykazali oni także, że drobnoustroje nie rozwijają się w takich wyciągach także wtedy, gdy je w otwartych naczyniach pozostawimy, dodawszy do nich wprzód pewnych ciał jak n. p. arseninu potasowego.

Doświadczenia, że w wygotowanym wyciągu roślinnym, do którego dopuszczono powietrze, ogrzane poprzednio do wysokiej temperatury, organizmy się nie rozwijają, nie zawsze się udawały. Wskutek tego zwolennicy teorii o samorodztwie niezupełnie byli pokonani, a nauka ich ciągle jeszcze grasowała. Dopiero w r. 1862 ukazała się rozprawa młodego podówczas francuskiego chemika, sławnego później Pasteura, w której on wykazał, że we wszelkich wyciągach i innych płynach rozwój drobnoustrojów ustaje, jeżeli się wyciągi te długo gotuje i w jakikolwiek sposób o to postara, aby zarodki tych drobnoustrojów nie dostały się z powietrzem do wnętrza użytych naczyń. Zarzut zwolenników teorii o samorodztwie, że przez długie gotowanie płyn odżywczy tak się zmienia, że staje się wogóle nieprzydatny dla rozwoju w nim organizmów, zbił on w bardzo prosty sposób; wysiał mianowicie zarodki drobnoustrojów w wygotowanym płynie i okazał, że i w nim one bardzo pięknie się rozwijają.

Zanim spór o pochodzenie drobnoustrojów został ostatecznie przez Pasteura zakończony, zaczęto bliżej zajmować się mechanizmem procesów gnilnych, a głównie fermentacyjnych, jako najbardziej zaciekawiających ze względu na powstający przytem alkohol.

Teorye o procesach fermentacyjnych są bardzo stare, może tak stare, jak alchemia, a wyraz *fermentatio* znajdujemy w najstarszych dziełach alchemików. Spostrzegli oni, że osad, powstały na dnie naczyń po przefermentowaniu wina lub piwa, może nową ilość moszczu winnego lub brzezki pobudzić do fermentacji. To było powodem, że alchemicy nazwali „fermentem“ wszelkie ciała, które były zdolne do wywołania pewnej zmiany chemicznej w innem ciecie. Uniwersalnym fermentem, którego alchemicy bezskutecznie poszukiwali, miał być „kamień filozoficzny“.

Jedną z pierwszych teoryj fermentacyjnych była teorya sławnego Stahla, który dowodził, że „fermentacja jest spo-



wodowana wewnętrznym ruchem ciał fermentujących“ i że „ciało, posiadające taki ruch, może inne, w spokoju będące do ruchu czyli fermentacyi pobudzić“.

Następną teorię postawił chemik francuski Gay-Lussac w r. 1810.

Twierdził on, że właściwym powodem jest tlen powietrza, który pobudza ciała do fermentacyi. Teorya Gay-Lussaca panowała do roku 1837, w którym została obalona przez Francuza Cagniard-Latoura i Niemców Schwanna i Kützinga. Badacze ci rozpoznali drożdże jako zbiór istot żyjących i pierwsi twierdzili, że przemiana cukru w alkohol i kwas węglowy odbywa się wskutek życia drożdży, które spożywają cukier, a alkohol i kwas węglowy z siebie wydzielają. Schwann rozpoznał drożdże jako roślinę, a prof. Meyen, przyjaciel jego, zaliczył je do grzybków; otrzymały one przytem nazwę *saccharomyces Meyen*.

Teoryi Cagniard-Latoura i Schwanna nie uznawała znaczna część ówczesnych uczonych, pomiędzy innymi także Liebig, który przez długi czas nie poczytywał grzybków drożdżowych za organizmy. Dopiero po klasycznych doświadczeniach Pasteura znikły wszelkie wątpliwości i dziś wszyscy godzą się na twierdzenie, że fermentacyę powodują organizmy, składające drożdże.

Po bliższem poznaniu rozmaitych procesów fermentacyjnych i gnilnych, jakim ulegają wyciągi lub soki roślinne, przekonano się, że istnieje wielka ilość rozmaitych rodzajów drobnoustrojów, różniących się między sobą rozmaitemi własnościami.

Ponieważ drobnoustroje są roślinami, zajęli się ich badaniem botanicy; gdy jednak interesują one wskutek swych własności także z jednej strony chemików-technologów, a z drugiej lekarzy, zajęli się i ci badaniem tych jestestw.

Naukę o grzybach w ogóle nazywamy *mykologią*. Botanicy zajmują się mykologią ogólną, chemicy-technologowie mykologią techniczną, a lekarze mykologią lekarską.

My zajmujemy się mykologią techniczną i to tylko o tyle, o ile drobnoustroje mają jakieś znaczenie dla przemysłu fermentacyjnego w ogólności, a gorzelniczego w szczególności.



## Metody badań.

Każdy grzybek, żyjący na odpowiedniej płynnej lub stałej glebie odżywczej, rozrasta się i rozradza; przyjmuje pokarm z tej gleby i wydziela inne ciała, które go już odżywiać nie mogą. Tak zmienia się chemiczny skład gleby pod wpływem działalności grzybka.

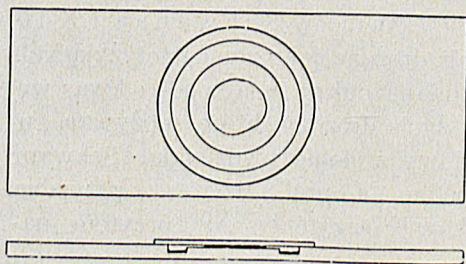


Fig. 1. Komora Ranviera

Jeżeli nam idzie tylko o zmiany, jakie dadzą się spostrzedz przy rozrastaniu się grzybka i jego rozmnażaniu się, możemy przeprowadzić to badanie w następujący sposób:

Po środku zwykłego szkiełka przedmiotowego (dla preparatów mikroskopowych) (fig 1.) wyszlifowano zagłębienie okrągłe, a na około niego

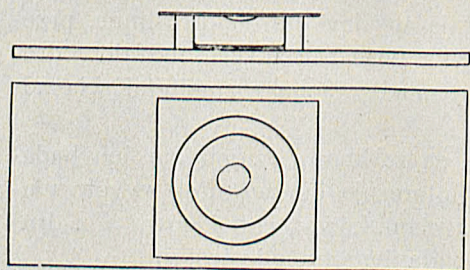


Fig. 2. Komora Böttchera.

Jeżeli nam idzie tylko o zmiany, jakie dadzą się spostrzedz przy rozrastaniu się grzybka i jego rozmnażaniu się, możemy przeprowadzić to badanie w następujący sposób: Po środku zwykłego szkiełka przedmiotowego (dla preparatów mikroskopowych) (fig 1.) wyszlifowano zagłębienie okrągłe, a na około niego jeszcze głębszy rowek w kształcie pierścienia. Do tego rowka wpuszcza się wodę, a na sam środek płytszego zagłębienia kładzie się kroplę płynu odżywczego, zawierającego grzybki, które mamy badać. Całe to zagłębienie przykrywa się szkiełkiem pokrywkowym, które przymocowuje się do przedmiotowego szkiełka wazeliną. W ten sposób kropla płynu odżywczego jest zamknięta pomiędzy obydwoma szklami, a woda w rowku chroni ją od wyschnięcia. To urządzenie nazywa się wilgotną komorą Ranviera.

Celem poznania, w jaki sposób grzybek pewien się rozwija i jaką zmianę chemiczną w danej glebie odżywczej wywołuje, musimy go hodować i w ciągu hodowli wszelkie zmiany badać. Badanie takie jest zatem zupełnie analogiczne do badania innych roślin.

głę, a na około niego jeszcze głębszy rowek w kształcie pierścienia. Do tego rowka wpuszcza się wodę, a na sam środek płytszego zagłębienia kładzie się kroplę płynu odżywczego, zawierającego grzybki, które mamy badać. Całe to zagłębienie przykrywa



Inną taką komorą, służącą do tego samego celu, co powyższa, jest komora Böttchera (fig. 2).

Do szkiełka przedmiotowego przytwierdza się szklany pierścień. Na spód tak powstałej komory wpuszcza się kilka kropli wody i przykrywa szkiełkiem pokrywowym, na którym wprzód od strony wewnętrznej umieszczono kroplę odżywczego płynu, zawierającego te organizmy, które mamy badać. Szkiełko pokrywowe przytwierdza się do pierścienia wazeliną.

Tak przygotowaną jedną lub drugą komorę wstawia się pod mikroskop i od czasu do czasu bada wszelkie zmiany.

Te komory służą do czysto botanicznych badań mikroskopowych.

Jeżeli jednak zamierzamy śledzić zmiany w chemicznym składzie gleby odżywczej, w której grzybek się rozwija, musimy takie badania przeprowadzić z wielką ilością grzybka, w wielkiej ilości tej gleby i to tak wielkiej, aby po ukończeniu procesu, który badamy, można było wykonać chemiczną analizę.

Musimy tu przytem baczyć na to, aby wyhodować w danym środowisku odżywczem rzeczywiście tylko ten gatunek grzybka, o którego zbadanie idzie, bez równoczesnego wyhodowania w niem innych drobnoustrojów; w przeciwnym razie bowiem doświadczenie nie dałoby nam pożądanego wyjaśnienia, gdyż nie moglibyśmy wiedzieć, który z organizmów w środowisku odżywczem jest tym, co daną zmianę spowodował.

Taką hodowlę, w której tylko jeden gatunek organizmu się rozwija, nazywamy hodowlą czystą.

Aby taką hodowlę można przeprowadzić, musimy mieć sposoby do usuwania wszelkich, niepożądanych drobnoustrojów. Sposoby takie rzeczywiście posiadamy, a są nimi t. zw. wyjałowienie (sterylizacya) oraz odkażenie (dezynfekcyja). Przy czystych hodowlach nie możemy się ograniczać na wyjałowieniu samych tylko środowisk odżywczych; operacyom wyjałowienia albo też odkażenia trzeba poddawać także naczynia i przyrządy, które nam służą do wykonywania rozmaitych manipulacyj przy czystej hodowli; na wszelkich przedmiotach bowiem, które przez dłuższą chwilę leżą na powietrzu, osiadają zarodki najrozmaitszych drobnoustrojów i mogą czystą hodowlę zakazić.



## Wyjaławianie (Sterylizacja).

Pod wyjaławianiem rozumiemy niszczenie lub usuwanie wszelkich drobnoustrojów i ich zarodników za pomocą sposobów fizycznych. Takimi sposobami są głównie ogrzanie do pewnej temperatury i filtrowanie.

Organizmy, chociażby mikroskopowo małe, posiadają w swem ciele rozmaite narządy, które służą im do wykonywania funkcji życiowych. Te narządy znowu są złożone z mnóstwa rozmaitych istot chemicznych. Przy działaniu wyższych temperatur na drobnoustroje rozkładają się niektóre istoty chemiczne, składające pojedyncze narządy, wskutek czego one niszczą, stają się nieprzydatne do wykonywania swoich czynności, a gdy czynność ta ustaje, ustaje też życie całego organizmu, on ginie. Na tej właściwości ciała organizmów opiera się wyjaławienie przez ogrzanie.

Drobnoustroje posiadają pewne rozmiary. Jeżeli płyn jakiś lub powietrze, w których znajdują się drobnoustroje, będziemy przepuszczali przez jakieś porowate ciało i to takie, którego pory mają mniejsze wymiary aniżeli te organizmy, wtedy płyn przechodzi przez pory swobodnie, drobnoustroje zaś zostają zatrzymane. Istnienie pewnych ciał o mikroskopowo małych porach umożliwia nam zatem wyjaławienie przez filtrowanie.

**Wyjaławianie powierzchni naczyń i przyrządów szklanych i metalowych.** Zwykle przyrządy, jakich używamy przy pracy w naszych laboratoriach, jak n. p. łopatkę, druty, igły, noże i t. d., wyjaławia się przez bezpośrednie ogrzanie w płomieniu. Trzeba je tylko zaraz po wyjęciu z płomienia stawiać do ostygnięcia w takim miejscu, w którym nie ma żadnych zarodków. Większych przedmiotów jednak nie możnaby w ten sposób wyjałwić. Te przyrządy wstawia się do zamkniętej przestrzeni, w której krąży para wodna, ogrzana pod zwykłym ciśnieniem do 100°, albo też pod większym ciśnieniem do wyższej temperatury. Szklane lub metalowe przedmioty wyjaławia się zazwyczaj też w powietrzu, ogrzanem w zamkniętej przestrzeni do 150—160° C; w tej temperaturze trzeba przedmioty trzymać przez 1—2 godzin.

Do ogrzewania przedmiotów w parze o 100° C służy t. zw. wyjaławiacz Kocha (Fig. 3 i 4.). Fig. 3. przedstawia nam



wyjaławiacz w widoku, fig. 4. w przekroju. Jest to mniejszy lub większy kociołek blaszany, którego dno sporządzono z blachy miedzianej. W pewnym odstępnie od dna właściwego jest umieszczone dno dziurkowane, na które stawia się blaszany kosz, zawierający te przedmioty, które mamy wyjałować. U dołu kotła znajduje się wodowskaz, u góry w pokrywie umieszczony termometr. Boki kotła jak też pokrywa są obłożone złym przewodnikiem ciepła (wojłokiem), aby para, wydobywająca się u spodu z wody, nie skraplała się zbyt szybko

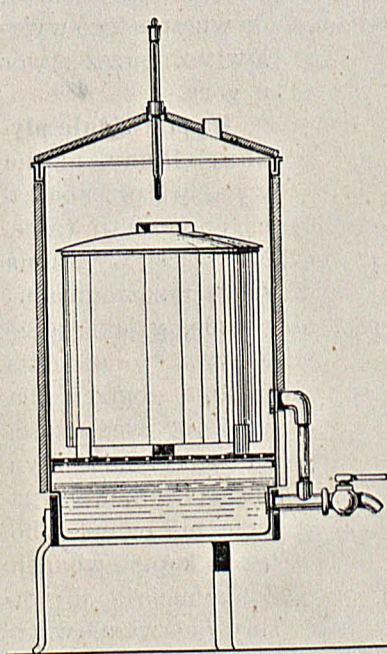


Fig. 4. Wyjaławiacz Kocha: Przekrój.

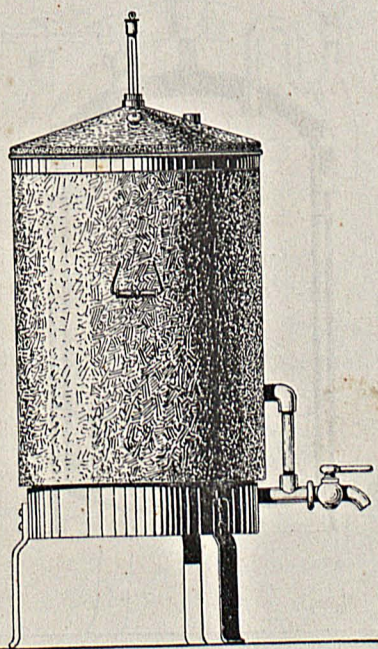


Fig. 3. Wyjaławiacz Kocha: Widok.

na ścianach, gdyż wtedy nie mogłaby przedmiotów wewnątrz kotła należycie wyjałować.

Do wyjaławiania parą przy wyższem ciśnieniu służą hermetycznie zamykane kotły parowe t. zw. autoklawy. Fig. 5 przedstawia taki kocioł w przekroju. Urządzenie jego jest o tyle odmienne od urządzenia wyjaławiacza Kocha, że jest sporządzony z odpowiednio silnej blachy, posiada pokrywę, dającą się silnie przycisnąć do krawędzi bocznych ścian kotła, oraz, że



jest zaopatrzony w manometr i wentyl bezpieczeństwa. Izolacyjnej warstwy tu niepotrzeba.

Jeżeli chcemy wyjaławić jakikolwiek przedmiot w suchym powietrzu, to umieszczamy go w t. z. wyjaławiaczu powietrznym (fig. 6.). Jest to szafka z blachy żelaznej lub miedzianej; ściany jej są podwójne, a pomiędzy niemi krążą gorące gazy spalania, ogrzewające wewnętrzne powietrze do pożądanej temperatury.

Temperaturę można odczytać na termometrze, wpuszczonym do wnętrza tego wyjaławiacza przez otwór u góry.

**Wyjaławianie płynów.** Płyny można wyjaławić przez ogrzanie i przez filtrowanie. Najczęściej wyjaławia się je przez ogrzanie. Sposób, w jaki to się odbywa, oraz czas trwania ogrzewania zależą od właściwości danego płynu. Płyn można ogrzewać na wolnym ogniu albo też na kąpeli wodnej. Znakomicie odbywa się wyjaławianie w parze, posiadającej temperaturę  $100^{\circ}$ , w wy-

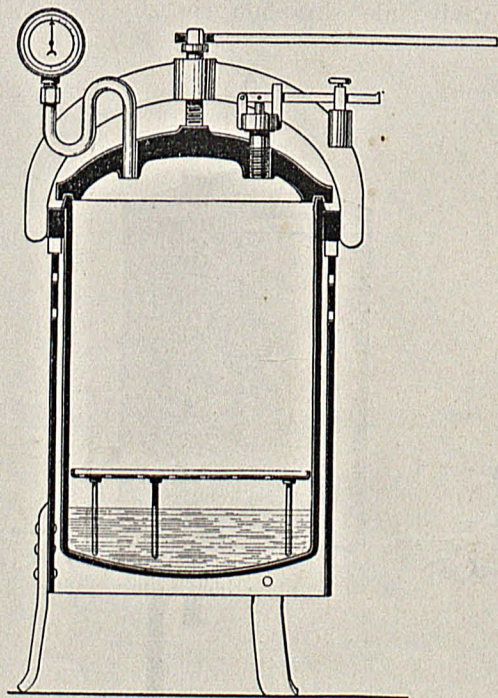


Fig. 5. Kocioł parowy dla wyjaławiania parą pod ciśnieniem.

jaławiaczu Kocha, albo też w parze pod ciśnieniem, posiadającej temperaturę  $100-120^{\circ}$  C, w autoklawach.

Są jednak płyny, któreby wskutek ogrzania do  $100$  lub więcej stopni niekorzystnie zmieniły swój skład i któreby się wskutek tego stały nieprzydatne do naszych celów. Takie płyny można często w ten sposób wyjaławić, że się je ogrzewa do pewnej niskiej temperatury, przy której, co prawda, zarodniki organizmów nie giną, lecz giną natomiast wegetatywne komórki



tych drobnoustrojów. Raz ogrzany płyn, w którym vegetatywne komórki wyginęły, pozostawia się na pewien czas w spokoju i pozwala przez to zarodnikom wykiełkować i przemienić się w komórki vegetatywne. Wtedy ogrzewa się płyn po raz wtóry do tej samej niskiej temperatury i niszczy rozwinięte organizmy. Takie ogrzewanie i pozostawianie płynu w spokoju celem wykiełkowania zarodników powtarza się dla bezpieczeństwa kilka

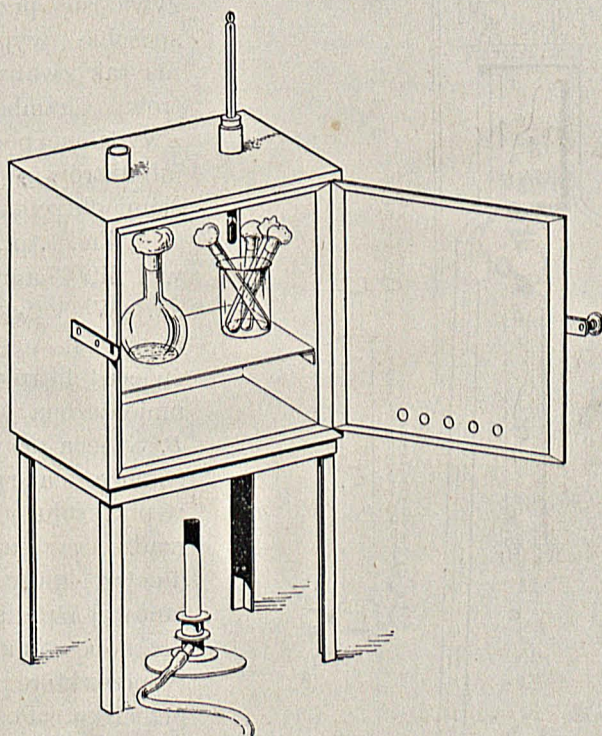


Fig. 6. Wyjaławiacz powietrzny.

razy, aż wkońcu nie pozostanie w płynie żaden zarodnik. Ten sposób wyjaławiania, wynaleziony przez Tyndalla, nazywa się wyjaławianiem cząsteczkowym. Używa go się dość często w praktyce technicznej n. p. do wyjaławienia mleka. Skuteczności takiego wyjaławienia nie można poznać zaraz po ukończeniu tego procesu; płyn musimy odstawić na dłuższy czas i jeżeli



po tym czasie żaden organizm w nim się nie rozwinię, możemy go uważać za wyjąłowany.

Wyjąławianie płynów przez filtrowanie jest o tyle korzystne, że się nie zmienia ich chemiczny skład i przez to nadają

się lepiej do hodowania niektórych gatunków drobnoustrojów. Najczęściej używa się przy tym sposobie wyjąławiania tak zwanych filtrów Chamberlanda z wypalanej porcelany lub filtrów z palonej ziemi okrzemkowej.

Fig. 7. przedstawia filtr Chamberlanda. Właściwym filtrem jest tu t. zw. świeca filtrująca *C*, umieszczona w rurze *B*. Świeca ta, uwidoczniiona na rysunku w przekroju, jest sporządzona z najprzeźnistejszej gliny porcelanowej i posiada mikroskopowo małe pory, przez które płyn się przeciska. Postępuje się przy użyciu tego przyrządu w następujący sposób: Świecę wraz z nałożoną u spodu śrubą *D* oraz przydłużaczem *c*, wpu-

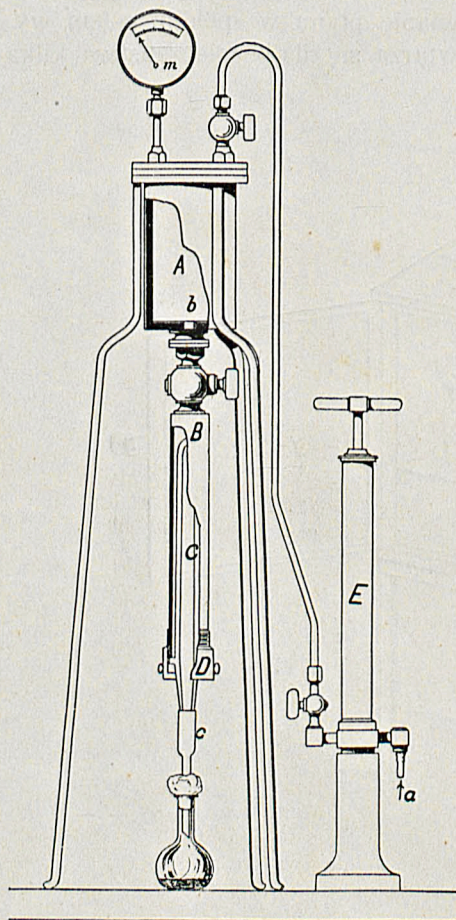


Fig. 7. Filtr Chamberlanda. *A* Zbiornik płynu. *B* Pochwa na świecę *C* Świeca Chamberlanda. *D* Śruba do przyciskania świecy. *E* Pompa do wciskania płynu do zbiornika.

szczonym przez zatyczkę z waty do kolbki szklanej, wstawia się do powietrznego wyjąławiacza i ogrzewa przez 2 godziny do 150 160° C. Po tym czasie, gdy przedmioty te są już wy-



jałowione, wyjmuje się je w całości bez rozbijania na pojedyncze części, świecę wstawia do pochwy *B* i śrubą *D* do niej u spodu przytwierdza. Do tak przygotowanego urządzenia wciąga się pompą *E* płyn, który ma być filtrowany i wciska do zbiornika *A*, skąd on się przedostaje otworem *b* do rury *B*. Gdy wskutek wciągania przez *a* coraz to nowych ilości płynu ciśnienie w *A* i *B* wzmoże się do pewnego stopnia, wówczas płyn, zakażony drobnoustrojami, zacznie się przeciskać przez pory porcelanowej świecy *C* i wchodzić do jej wnętrza, a stąd ściekać przez *c* do podstawionej kolbki. Przy przeciskaniu się płynu przez ściany świecy zatrzymują się drobnoustroje na jej powierzchni zewnętrznej tak, że płyn wewnątrz świecy jest już zupełnie wolny od organizmów, a więc wyjałowiony.

**Wyjaławianie powietrza.** Jeżeli płyn lub stałe ciało, znajdujące się w jakimś naczyniu, poddamy działaniu wyższej temperatury celem wyjałowienia, to wywiąże się w nim para wodna, która wypchnie powietrze całkowicie i sama zajmie w nim jego

miejsce. Po ukończeniu wyjałowienia musi się naczynie wraz z zawartością ochłodzić; wtedy skrapla się para, która wypełnia wolną przestrzeń w naczyniu, a do jego wnętrza dostaje się na jej miejsce powietrze z zewnątrz. W powietrzu unoszą się zawsze zarodki drobnoustrojów i mogą się z nim dostać do wnętrza naczynia i do płynu; płyn mógłby tym sposobem znowu się zakazić. Ażeby takiemu zakażeniu zapobiedz, musimy powietrze, dostające się do wnętrza naczyń, wyjałować.

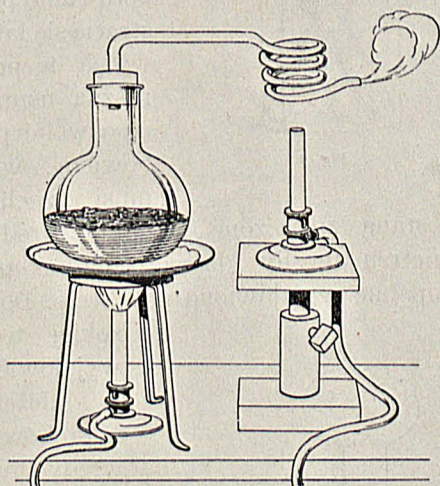


Fig. 8. Wyjaławianie powietrza przez ogrzanie.



Można je wyjałowić tak samo jak płyny działaniem wyższej temperatury, albo też filtrowaniem.

W naczyniu (fig. 8.) mamy płyn, który ma być wyjałowiony; w tym celu gotujemy go jakiś czas. Aby działaniem temperatury wyjałowić powietrze, wchodzące do wnętrza naczynia po jego ostudzeniu, nasadzamy

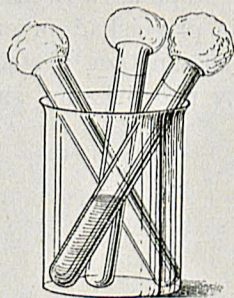


Fig. 9.

na szyję naczynia przed rozpoczęciem gotowania szczelny korek z rurką, zgiętą na końcu w węzownicę. Para, wydobywająca się z naczynia, musi przechodzić przez rurkę i wyjaławia ją. Zanim się gotowanie płynu w kolbce ukończy, podstawia się lampkę pod węzownicę i ogrzewa ją do pewnej temperatury. Wtedy można usunąć płomień z pod kolbki i pozwolić płynowi ostygnąć. Powietrze bowiem, wciskające się do wnętrza, musi przechodzić przez węzownicę, a tu zostaną zniszczone wszelkie zarodki, któreby się w tem powietrzu unosiły; do naczynia szklanego przedostanie się tylko zupełnie wyjałowione powietrze. Do wyjałowienia użyto tu wysokiej temperatury, można jednak wyjałowić powietrze filtrowaniem.

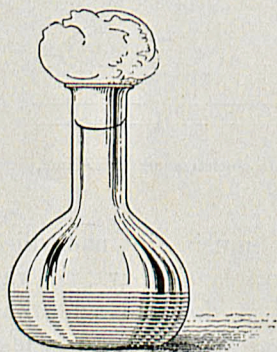


Fig. 10.

Jeżeli mamy wyjałowić płyn w próbkówkach lub kolbce (fig. 9 i 10), wtedy dorabiamy do kolbki lub próbek zatycki z waty i niemi naczynia zatykamy. Zatycki te wraz z naczyniami musimy wyjałowić przed waniem płynów do naczyń. W tym celu wstawia się je do wyjaławiacza powietrznego (zob. fig. 6, na str. 11), gdzie przez 1—2 godzin działa na nie temperatura 150—160°.

Po wyjęciu i ostudzeniu tych naczyń wlewa się do nich płyn, który ma być wyjałowiony, ponownie zatyka je temi samemi zatyckami z waty i wkłada do wyjaławiacza Kocha lub też do autoklawu i poddaje działaniu pary. Po pewnym czasie wyjmuje się naczynia z wyjaławiacza



i odstawia do ostudzenia. Wtedy skrapla się para, wypełniająca wnętrze, a powietrze, które się na jej miejsce wciska, musi przechodzić przez watę i na niej pozostawić wszelkie organizmy, któreby zawierało. Do wnętrza przechodzi powietrze, uwolnione od organizmów, wyjałowione filtrowaniem.

Powyższa zasada filtrowania powietrza przez watę lub grubą warstwę gęstego wołoku znalazła zastosowanie na wielką skalę przy budowie filtrów dla oczyszczania powietrza, którym się wysyca fermentujące płyny.

Stosownie do gatunku drobnoustroju, który ma być zniszczony, i stosownie do tego, czy na dany przedmiot działa para, czy też tylko samo powietrze, wystarcza dla dokładnego wyjałowienia niższa lub też dopiero wyższa temperatura.

Dla zniszczenia organizmu powietrzem ogrzanem potrzeba znacznie wyższej temperatury, niż przy użyciu do tego celu pary wodnej.

W ogólności można powiedzieć, że wegetatywne komórki organizmów giną już w parze o  $100^{\circ}\text{C}$ , jeżeli ta para na nie dłuższy czas działa.

W suchych preparatach jednak, poddanych wyjałowieniu przez działanie suchego, gorącego powietrza, wszelkie organizmy giną na pewno dopiero przy  $160^{\circ}\text{C}$ . Należy przytem zawsze ogrzewać przez 1—2 godzin.

Tak n. p. zarodniki zielonej pleśni, występującej na chlebie, zbożu i t. d. giną w parze już przy  $100^{\circ}\text{C}$ , w suchem powietrzu zaś na pewno dopiero przy  $127\text{—}132^{\circ}\text{C}$ .

Według Mayera grzybki drożdżowe w płynie giną już przy  $53^{\circ}\text{C}$ , na powietrzu wysuszone drożdże jednak giną według Manasseina dopiero przy  $115\text{—}120^{\circ}\text{C}$ , jeżeli je się w suchem powietrzu ogrzewa. Według badań W. Zopfa można wegetatywne komórki grzybka *saccharomyces Hansenii* ogrzewać w wilgotnem powietrzu tylko do  $75\text{—}80^{\circ}\text{C}$ , gdyż przy wyższej temperaturze komórki tego drobnoustroju giną; jeżeli je się jednak ogrzewać będzie w suchem powietrzu, giną one dopiero między  $100$  a  $105^{\circ}\text{C}$ .

Oprócz wysokości temperatury, ma przy wyjałowieniu znaczenie także czas działania temperatury.

Globig badał n. p. zachowanie się zarodników pewnego drobnoustroju, znajdującego się w ziemi, i stwierdził, co do ich



wytrzymałości wobec rozmaicie długo trwającego działania rozmaicie gorącej pary, co następuje:

W parze o temperaturze  $100^{\circ}$  C ginęły zarodki dopiero po  $5\frac{1}{2}$  do 6 godzinach, w parze zaś pod ciśnieniem:

przy temperat.  $109-113^{\circ}$  C żyły zarodki jeszcze po 45 min.

"	$114-116^{\circ}$ C	ginęły one po	25	"
"	$122-123^{\circ}$ C	" " "	10	"
"	$126^{\circ}$ C	" " "	3	"
"	$127^{\circ}$ C	" " "	2	"
"	$130^{\circ}$ C	" " natychmiast.		

### Odkazanie (dezynfekcja.)

Pod odkazaniem czyli dezynfekcją rozumiemy niszczenie drobnoustrojów za pomocą odczynników chemicznych. Te odczynniki, które niszczą organizmy, nazywamy środkami odkazającymi, przeciwnilnymi albo dezynfekcyjnymi. Już w r. 1839 wykazał Schwann, że grzybki drożdżowe giną pod wpływem pewnych środków chemicznych, tem samem dał on początek pojęciu o odkazaniu czyli dezynfekcyi. W miarę tego, jak odkrywano nowe mikroorganizmy, badano też wpływ rozmaitych odczynników na nie, i tak zebrano dość znaczny zasób wiadomości o rozmaitych środkach odkazających. Główne zarysy tego, co dziś o tym przedmiocie wiemy, podane są niżej; bliższe szczegóły, w miarę potrzeby, umieszczamy przy opisie odnośnych drobnoustrojów.

Najważniejszymi środkami odkazającymi czyli truciznami na drobnoustroje są następujące ciała:

1) Kwas siarkowy. Już w małych ilościach działa on szkodliwie na grzybki drożdżowe, a według badań Hayducka ustaje fermentacya w roztworze cukru, zawierającym  $1.2\%$  tego kwasu. Coraz silniejsze dawki szkodzą grzybkom drożdżowym i innym organizmom coraz więcej, a w końcu je niszczą.

2) Kwas solny. Według badań Hayducka działa kwas solny na grzybki drożdżowe jeszcze szkodliwiej, aniżeli kwas siarkowy. Fermentacya ustaje już w takich płynach cukrowych, które zawierają  $0.1\%$  tego odczynnika.



3) Kwas siarkawy. Bezwodnik tego kwasu tworzy się przy paleniu siarki na powietrzu. On też jest środkiem działającym przy odkażaniu rozmaitych naczyń palącą się siarką. Według A. Mayera kwas siarkawy działa silnie trująco na drożdże.

4) Kwas borowy. Kwas ten jest dobrym środkiem dezynfekcyjnym. Działa łagodniej, niż powyżej wymienione kwasy. Fermentację wstrzymuje on dopiero w 0·9—1% owych roztworach. Roztwory cukrowe, zawierające 0·7—0·8% tego środka, fermentują znacznie wolniej; zawartość 0·2% kwasu wcale nie wpływa na fermentację.

5) Kwas mrówkowy działa na wiele drobnoustrojów silnie trująco. Na fermentację wpływa szkodliwie już wtedy, gdy 0·2% znajduje się w roztworze.

6) Kwas octowy. Według badań Maerckera kwas octowy jest silną trucizną dla grzybków drożdżowych. Już zawartość 0·6% tego kwasu w płynie cukrowym wstrzymuje fermentację. Według badań Hayducka jednak, trzeba obecności znacznie większej ilości tego odczynnika a mianowicie 2·5%, aby fermentację wstrzymać. Środek powyższy jest szkodliwy w gorzelnictwie, a obecności jego w fermentujących płynach trzeba unikać ze względu na jego trujące własności.

7) Kwas propionowy działa według Maerckera szkodliwie na drożdże już wtedy, gdy płyn zawiera jego 0·1%.

8) Kwas masłowy działa na wiele organizmów jeszcze bardziej zabójczo, aniżeli kwas propionowy. Według Maerckera wystarczy już zawartość 0·05% tego kwasu, aby wstrzymać rozwój drożdży, a 0·1% wystarcza, aby fermentację wstrzymać.

9) Kwas kapronowy. Środek ten działa na rozmaite organizmy rozmaicie. Jego ślady w płynach cukrowych wystarczają, aby fermentacji szkodzić.

10) Kwas mlekowy działa na rozmaite organizmy niezawsze jednakowo trująco. Podczas gdy niektóre organizmy giną w jednoprocetowych roztworach tego kwasu, to inne w takich roztworach rozwijają się w najlepsze. Na drożdże działa to ciało szkodliwie dopiero w 3·5 procentowych roztworach, podczas gdy na niektóre bakterie taki roztwór działa już zupełnie zabójczo.



11) Kwas salicylowy. W wodzie rozpuszcza się to ciało bardzo mało (w 300 częściach wody o zwykłej temperaturze zaledwie 1 cz. kwasu), wskutek czego takie roztwory wywierają bardzo słaby wpływ na organizmy. W alkoholu jest to ciało rozpuszczalne. Czteroprocentowe roztwory alkoholowe zabijają zarodniki rozmaitych organizmów. W gorzelnictwie używano tego środka, lecz z bardzo małym skutkiem.

12) Kwas karbolowy. Jest to ciało, używane w lecznictwie do odkażania rozmaitych przedmiotów. Grzybki drożdżowe i pleśń niszczy on dopiero wtedy, gdy się znajduje w płynie w ilości 1—3 procentów. Według badań Kocha nie zasługuje ten środek na takie wzięcie, jakie dotychczas posiadał, zarodniki bowiem niektórych organizmów niszczy on dopiero w pięcioprocentowym roztworze i to po 48 godzinem działaniu. Dla gorzelnictwa nie ma ten środek w czystym stanie żadnego znaczenia.

13) Alkohol. Środek ten działa zabójczo na drobnoustroje dopiero w znacznych dawkach. Fermentację wstrzymuje on n. p. dopiero wtedy, gdy w płynie znajduje się w ilości 14—16 %.

14) Chlorek rtęciowy (sublimat). Środek ten działa już w bardzo małych dawkach, bo 0.1 procentowych roztworach, absolutnie zabójczo na wszystkie prawie organizmy.

15) Kwaśny siarczyn wapniowy. Jest to środek często używany w gorzelni do zewnętrznego odkażania ścian kadzi fermentacyjnych, podłóg, posadzek oraz ścian poszczególnych lokalów. Do zniszczenia pleśni na ścianach i posadzkach wystarczy roztwór o 11° Bé.

16. Wodnik wapniowy. Jest to główny składnik mleka wapiennego i on to mleku temu nadaje słabo odkażające własności

17. Węglan sodowy (soda). Jako ciało o reakcyi alkalicznej nadaje się w postaci gorącego roztworu do częściowego odkażania chłodnika, kadzi zaciernych i kadzi fermentacyjnych na początku kampanii. Działa on przytem rozpuszczająco na niektóre ciała organiczne, wskutek czego przydatność jego do czyszczenia powyższych naczyń jest tem większa.

18. Antinonnina. Środek ten, złożony z rozmaitych ciał, pokrewnych z kwasem karbolowym, z mydła, oraz innych



ciał, według badań prof. Aubry'ego nadaje się bardzo dobrze do dezynfekcyi ścian i posadzek w browarach i gorzelniach. Nie można go jednak użyć do odkażania naczyń fermentacyjnych z powodu jego wielce trującego działania na drożdże.

19. Maż p o g a z o w a. Maż zawiera dość znaczne ilości kwasu karbolowego i jemu pokrewnych ciał i wskutek tej wartości działa na drobnoustroje niszcząco. Środka tego używa się do odkażania powierzchni drewnianych, oraz do nasycania słupów i t. d., które w ten sposób chroni się od gnicia.

W ostatnich kilku latach zwrócono uwagę na silnie odkażające własności dwóch środków, a mianowicie kwasu fluorowodorowego i formaldehydu.

20. K w a s f l u o r o w o d o r o w y. Kwas ten już w bardzo słabych roztworach wodnych jest silnie odkażającym środkiem. Mógłby też być korzystnie użyty do odkażania naczyń fermentacyjnych, gdyby był nieco mniej niebezpieczny dla ludzi; po dotknięciu bowiem gołego ciała wytwarza bolesne rany, a może nawet śmierć spowodować.

Łatwiej jest obchodzić się z solami kwasu fluorowodorowego, które mają również odkażające własności, jakkolwiek w znacznie mniejszym stopniu aniżeli sam kwas.

21. F o r m a l d e h y d. Ciało to jest gazem. W handlu znajduje się w 40 procentowym roztworze wodnym i nosi wtedy nazwę formaliny albo też formolu. Posiada on wysoce odkażające własności, takie same jak sublimat, nie ma zaś złych stron tego środka, gdyż w takim rozcieńczeniu, w jakim drobnoustroje zabija, ludziom wcale nie szkodzi.

0.03% formolu, a więc 0.012% samego formaldehydu wstrzymuje w płynach rozwój bakteryj.

Autor zadał zimny wyciąg słodowy, zawierający, jak wiadomo, zwykle olbrzymie ilości zarodników drobnoustrojów, powyższą dawką formolu i przekonał się, że po 83 dniach jeszcze drobnoustroje nie rozwinęły się w wyciągu, a diastaz był po tym czasie tak samo czynny jak na początku doświadczenia. Działanie tego środka na rozmaite organizmy jeszcze nie jest dostatecznie zbadane, jednak już dziś nie ulega wątpliwości, że może on oddać gorzelnictwu znakomite usługi.



## Czysta hodowla.

Wspomniano już wyżej, że hodowlę możemy wtedy tylko uważać za czystą, jeżeli pojedyncze istoty w tej hodowli należą do jednego i tego samego gatunku drobnoustrojów.

Do czystej hodowli prowadzą dwa rodzaje metod, metody mechaniczne i metody fizyologiczne.

Metody mechaniczne polegają na tem, że się przy zakładaniu czystej hodowli mechanicznie oddziela jeden jedyny osobnik danego drobnoustroju i rozmnaża go tak, aby inne organizmy nie miały do hodowli dostępu. Tylko te metody prowadzą pewnie do absolutnie czystej hodowli, a w laboratoriach używamy prawie wyłącznie tylko ich przy zakładaniu czystej hodowli.

Metody fizyologiczne polegają na tem, że się przy zakładaniu czystej hodowli wychodzi z mieszaniny większej ilości osobników rozmaitych organizmów i przy ich hodowaniu dobiera takie warunki życia, w których tylko jeden jedyny gatunek może istnieć, a wszelkie inne muszą wyginąć. Te metody używane są dotychczas przeważnie przy hodowaniu rozmaitych drobnoustrojów na wielką skalę, w rozmaitych działach przemysłu fermentacyjnego.

**Metody mechaniczne.** Lister był pierwszym, który użył mechanicznej metody do czystej hodowli pewnego drobnoustroju, znajdującego się w kwaśnem mleku. Pod mikroskopem policzył on, wiele osobników danego organizmu znajduje się w jednej kropli mleka, poczem rozcieńczył ją taką ilością wyjałowionej wody, aby przeciętnie nie na każdą kroplę przypadał jeden osobnik. Po jednej kropli tak rozcieńczonego mleka wpuścił on do pięciu kolbek z wygotowanym mlekiem. Okazało się, że tylko w jednej z tych pięciu kolbek mleko skwaśniało, w czterech innych pozostało ono jałowe. Lister wnosił z tego, że organizm rozwinał się tylko w jednej kolbce i to w czystej hodowli, gdyż w tej kolbce pochodziła ona niewątpliwie od jednego jedynego tylko osobnika. Tej samej lub podobnych metod używali Nägeli, Fitz i Pasteur.

Pasteur zmodyfikował tę metodę w następujący sposób: Małą ilość wysuszonych drobnoustrojów (grzybków drożdżowych) roztarł ze sproszkowanym gipsem i wyrzucił tę mie-



szaninę wysoko w powietrze, skąd napowrót opadała w postaci delikatnego i powietrzem rozrzedzonego pyłu. W miejscu opadania pyłu poustawiał Pasteur szereg kolb o bardzo wąziutkich szyjkach; w kolbach znajdował się odżywczy płyn.

Po pewnym czasie zafermentował płyn w niektórych kolbach, co było oznaką, że grzybki dostały się do ich wnętrza; w innych kolbach pozostał płyn jałowy. Przy tem postępowaniu mogło się zdarzyć, że do każdej z kolb, w których ukazała się fermentacya, wpadł tylko jeden osobnik grzybka drożdżowego, że zatem hodowla, która w kolbie powstała, była

WSK

B. OL

W powyższe sposoby czystej hodowli nie wytrzymują krytyki, nie można bowiem być pewnym, że do kolby wprowadzono przy takim postępowaniu tylko jeden osobnik drobnoustroju. Ani Lister ani też Pasteur nie podali sposobu poznawania, czy hodowla w danej kolbie pochodziła od jednego, czy też od więcej osobników. Sposób taki podał dopiero Hansen, co prawda, tylko dla grzybków drożdżowych. Dla innych organizmów nie ma przy tych metodach czystej hodowli żadnego sposobu do rozpoznania czystości.

Sposób Hansena poznawania, do których kolb wprowadzono tylko jeden osobnik, a do których więcej, polega na tej własności rozmnażających się drożdży, że każdy nowo powstały osobnik pozostaje w łączności z osobnikiem pierwotnym, zarodowym lub w jego pobliżu, tak, że z jednego osobnika powstaje z czasem cała kolonia osobników młodszych pokoleń, i że taka kolonia jest już widzialna nieuzbrojonym okiem.

Po zadaniu kolb kroplami płynu, z których to kropli nie każda ma zawierać po jednym osobniku drobnoustroju (grzybka drożdżowego), wstrząsa niemi Hansen silnie, celem rozdzielenia szczepionych, być może, ze sobą dwóch lub więcej osobników i pozostawia kolby przez pewien czas w zupełnym spokoju. Każdy osobnik opada na dno kolby i to każdy odrębnie, poczem tworzy z czasem kolonię osobników, widzialną gołym okiem na dnie po podniesieniu kolb do góry.

Jeżeli znajdziemy kilka kolonij w postaci plam na dnie kolby, będzie to oznaką, że do jej wnętrza dostało się więcej osobników, aniżeli jeden, że zatem hodowla nie pochodzi od



jednego osobnika, a tem samem nie jest czystą. Jeżeli zaś spostrzeżemy tylko jedną plamę, wtedy będziemy mogli wności, że ona pochodzi od jednego osobnika i przedstawia wskutek tego czystą hodowlę.

Tego to sposobu rozpoznawania czystości hodowli użył Hansen przy pierwszych swoich badaniach nad drożdżami (w r. 1881).

Sposób ten można jednak tylko wtedy zastosować, jeżeli hodowane przez nas mikroorganizmy nie poruszają się, lecz pozostają na tem miejscu, na którem powstały przy rozmnażaniu się pierwotnego osobnika; nie wszystkie zaś drobno-

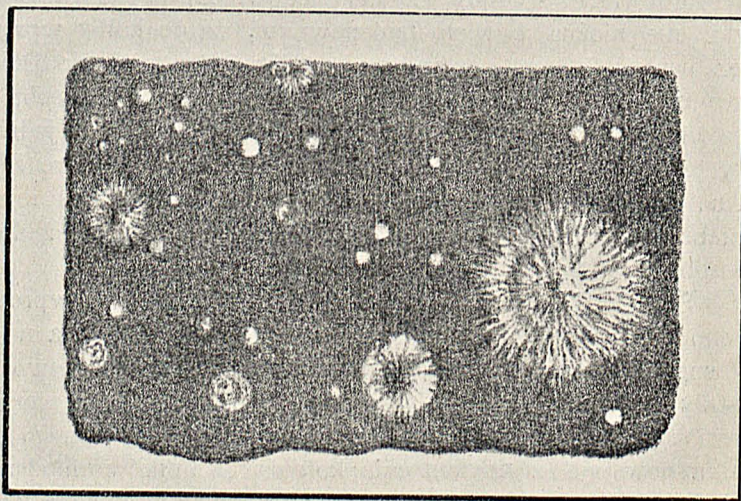


Fig. 11. Płyta Kocha z rozwiniętymi na niej koloniami rozmaitych drobnoustrojów.

ustroje tak się zachowują. Istnieją takie organizmy, które się w płynach same poruszają, wskutek czego o utworzeniu przez nich kolonij w postaci plam na dnie naczynia mowy być nie może.

Dla takich drobnoustrojów wymyślił w r. 1883. R. Koch inną metodę, t. zw. metodę stałej gleby odżywczej.

Ślad płynu lub w ogóle środowiska, zawierającego te drobnoustroje, które zamierzamy otrzymać w czystej hodowli, wprowadza Koch do wielkiej ilości wyjałowionej wody i małą ilość jej wpuszcza do kolbki, zawierającej mieszaninę żelatyny



i płynu odżywczego, ogrzaną do 30° C. Kolbką wstrząsa się jakiś czas celem dokładnego rozdzielenia w płynie pojedynczych osobników. Po takim rozdzieleniu wylewa się płyn na zimną, wyjałowioną taflę szklaną, na której on szybko krzepnie i wskutek zawartości żelatyny tworzy stałą galaretową powłokę. W tej żelatynowej warstwie nie mogą się już drobnoustroje wolno poruszać, lecz muszą pozostać w tem miejscu, na które się dostały przy wylaniu rozgrzanej masy. Każdy z tak utrwalonych osobników tworzy z czasem kolonię, widzialną gołym okiem (fig. 11.). Kolonia taka przedstawia już czystą hodowlę, jeżeli pochodzi od jednego jedyne go osobnika. Pierwsza kolonia jednak nie daje nam gwarancyi, że pochodzi od jednego osobnika, gdyż na tem miejscu mogły dwa, trzy osobniki utworzyć kolonię wspólną.

Z takiej niepewnej kolonii wyjmujemy drobną ilość i z tej ilości zakładamy znowu kolonie na nowej płycie szklanej. Otrzymujemy kolonie już tylko dwóch lub trzech gatunków organizmów; z takiej nowej kolonii wyjmujemy znowu część i zakładamy po raz trzeci kolonie. Wtedy mamy już pewność, że pomiędzy koloniami na płycie będziemy mieli większość takich, które składają się tylko z jednego gatunku drobnoustrojów. Z takiej dopiero kolonii wprowadzamy część do większej ilości płynu odżywczego i otrzymujemy czystą hodowlę.

Ta metoda dała Kochowi możność wykonania swoich znanych doświadczeń nad rozmaitymi drobnoustrojami chorobotwórczymi.

Przy badaniach lekarskich używa się dotychczas tej metody powszechnie. W praktyce daje ona bardzo dobre rezultaty, lecz nie jest teoretycznie ścisła, gdyż nie daje nam absolutnej pewności, że przy jej pomocy otrzymana hodowla jest w istocie czystą. Taką absolutną pewność daje nam dopiero modyfikacja tej metody, obmyślona przez Hansena.

Według Hansena przyrządza się płytkę żelatynową tak, aby ją można było wstawić pod mikroskop, celem naocznego przekonania się, gdzie leżą w żelatynie pojedyncze osobniki. Położenie tych osobników oznacza się ściśle i tylko z nich powstałe później kolonie używa do założenia czystych hodowli.



Na okrągłym szkiełku pokrywkowym (fig. 12) jest wyryta siatka, której poszczególne pola czworoboczne są oznaczone liczbami. Na szkiełko to wypuszcza się kropelkę płynu z drobnoustrojami, a ta nie powinna zawierać więcej niż 20—30 osobników. Do tej kropelki dodaje się kilka kropli wyjałowionego, żelatynowego płynu odżywczego, miesza dobrze drutem platynowym, a w końcu rozprzestrzenia ją w postaci cieniuchnej warstwy na środku szkiełka. Tak przygotowaną, miniaturową płytkę kładzie się warstwą żelatynową do spodu na pierścień komory Böttchera i wstawia pod mikroskop. Pod mikroskopem przeszukuje się całą płytkę i zaznacza te miejsca (pola siatki), na których leżą pojedyncze osobniki drobnoustrojów. Potem pozostawia się te płytki na komorach w spokoju i pozwala tym osobnikom wytworzyć kolonie. Z takiej kolonii wyjmuje się wtedy końcem wyżarzonego drutu platynowe-

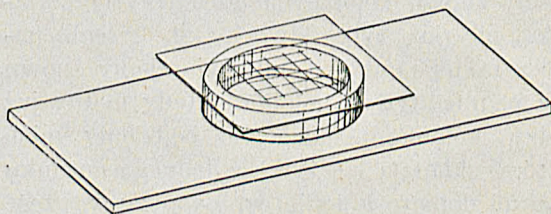


Fig. 12. Komora Böttchera z żelatynową płytką Hansena.

go drobną cząstkę i wprowadza ją do większej ilości wyjałowionego płynu odżywczego. Hodowla w tym płynie będzie czystą, jeżeli się

przy przenoszeniu kolonii z płytki do płynu postępowało tak, aby się podczas tej czynności nie przedostał do niego jaki drobnoustroj. Aby uniknąć takiego zakażenia czystej hodowli, trzeba wykonywać tę czynność w pokoju możliwie wolnym od pyłu, albo też w oszklonej skrzyni, której ściany zwilża się wprzód wodą celem zatrzymania zarodków rozmaitych organizmów tak na powierzchni tych ścian, jak i na powierzchni dna.

Zamiast płytki szklanej z wyrytą na niej siatką, można użyć także zwykłych szkiełek pokrywkowych do hodowania kolonij na komorze Böttchera. Wtedy trzeba miejsca, na którym znajduje się tylko jeden osobnik organizmu, oznaczyć atramentem, aby po rozwinięciu się kolonij wiedzieć, która z nich pochodzi od tego jednego organizmu i która jest zatem czystą hodowlą.



Wygodną i łatwą mechaniczną metodę czystej hodowli podał Lindner. Jest ona znana pod nazwą metody kropelkowej.

Płyn, zawierający rozmaite drobnoustroje rozcieńcza się wyjąłowym płynem odżywczym do tego stopnia, aby nie w każdej kropelce, wyjmowanej z niego, znajdował się jeden osobnik drobnoustroju. W tak rozcieńczonym płynie zanurza się stalowo pióro, wyjąłowane w płomieniu i przy pomocy tego pióra pozostawia na szkiełku pokrywkowym cały szereg kropelek lub kresek. Szkiełko to kładzie się na pierścieniu komory Böttchera lub na szkiełku przedmiotowe z wyszlifowanym zagłębieniem (fig. 13.) i przeszukuje teraz pod mikroskopem każdą kropelkę lub kreskę. W niektórych kropelkach znajdzie się tylko jeden osobnik, w niektórych dwa lub wię-

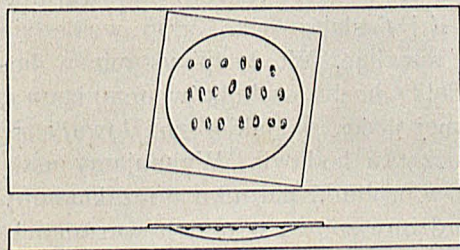


Fig. 13. Hodowle w kropelkach według Lindnera.

cej, a we wielu nie znajdzie się wcale żadnego organizmu. Kropelki z jednym tylko osobnikiem oznacza się atramentem po drugiej stronie szkiełka i pozwala tym osobnikom rozmnożyć się i wytworzyć kolonię. Kolonie te przedstawiają czyste hodowle.

Celem przeszczepienia takiej hodowli z kropelki do większej ilości płynu, nabiera się na koniec wyżarzonego drutu platynowego odrobinę żelatyny i dotyka nią kolonię. Drobnoustroje, tworzące kolonię, przyczepiają się do żelatyny i można je wtedy łatwo przenieść do kolby z płynem odżywczym celem dalszej hodowli.

Metoda ta nie nadaje się do czystej hodowli bardzo drobnych, lub bardzo ruchliwych drobnoustrojów, których trudno dostrzedz w kropelce.

**Metody fizyologiczne.** Wynalazcą fizyologicznych metod czystej hodowli jest Pasteur. On to zastosował taką metodę do hodowli grzybków drożdżowych.

Według tych metod przeprowadza się czystą hodowlę ogólnie w sposób następujący. Hodowlę drobnoustrojów (płyn



fermentujący lub tp.), zawierającą najrozmaitsze ich gatunki, poddaje się działaniu takich czynników, które całemu szeregowi rozmaitych gatunków uniemożliwiają rozwój lub życie, a tylko jednemu gatunkowi nie szkodzą, mianowicie temu, który zamierzamy otrzymać w czystej hodowli.

W praktyce nie posiadamy takiego ogólnego środka, od któregoby pewne organizmy zupełnie ginęły wtedy, gdy inne pozostają przy życiu; najczęściej posługujemy się tu takimi środkami, które na pewne organizmy działają tylko mniej lub więcej osłabiająco, a innym mało lub wcale nie szkodzą. Można wtedy przy pomocy tego środka i systematycznej hodowli dojść wreszcie do praktycznie czystej hodowli.

Jeżeli mamy np. mieszaninę pięciu gatunków drobno-ustrojów *a*, *b*, *c*, *d*, i *f* i chcemy fizyologiczną metodą dojść do czystej hodowli gatunku *c*, to dobieramy takie warunki rozwoju, przy których *a*, *b*, *d* i *f* słabo tylko, albo wcale się nie rozwijają, a *c* może się rozwijać. Wtedy powstanie w hodowli po pewnym czasie wielka liczba osobników organizmu *c*, a inne pozostaną w tej samej ilości, w jakiej znajdowały się w płynie odżywczym na początku hodowli. Wyjmujemy małą ilość z tej hodowli, bogatej w osobniki gatunku *c* i zakładamy hodowlę nową, którą prowadzimy znowu w takich warunkach, aby tylko organizm *c* mógł się rozwinąć, a inne gatunki pozostały nieczynne. Wtedy liczba osobników *c* w stosunku do liczby osobników innych gatunków jeszcze bardziej się zwiększy, czyli je, jak to w praktyce mówią, przygłuszy. Prowadząc taką systematyczną hodowlę przez dłuższy czas, można ilość obcych organizmów doprowadzić do minimum, albo je w sprzyjających warunkach nawet zupełnie wygubić.

Środkami, stosowanymi przy fizyologicznych metodach czystej hodowli, mogą być wpływy chemiczne gleby odżywczej i warunki klimatu. Przez użycie pewnych środków odżywczych lub dodanie do nich pewnych ciał, albo też odjęcie innych, można rozmaicie zmieniać warunki odżywiania się i przez nie wpływać na rozwój organizmów.

Ten sam cel możemy osiągnąć przez dobór pewnych temperatur, przy których się hodowlę przeprowadza.

Przykład 1. Wiadomo np., że gatunek *c* (np. gorzel-niane grzybki drożdżowe) rozwija się także w płynach nieco



zakwaszonych i że w tak kwaśnych płynach gatunki *a*, *b*, *d* i *f* (np. rozmaite gatunki bakteryj) trudno lub wcale się nie rozwijają. Wtedy dodajemy do wyjałowionego płynu odżywczego odpowiednią ilość kwasu i wprowadzamy do niego mieszaninę powyższych organizmów. Po pewnym czasie organizm *c* (np. grzybki drożdżowe) rozwinię się, inne zaś organizmy (bakterye) rozwinię się słabo albo wcale się nie rozwinię. Z tej hodowli przenosimy małą ilość do świeżo przygotowanego, zakwaszonego płynu odżywczego i w nim prowadzimy hodowlę dalej. Ilość organizmu *c* zwiększy się jeszcze bardziej. — Jeżeli takie hodowanie w zakwaszonym płynie i przeszczepianie powtórzymy kilkakrotnie, dojdziemy w końcu do żądanej czystej hodowli.

Przykład 2. Mamy np. dwa gatunki drobnoustrojów, gatunek *A* (np. bakterye kwasu mlekowego), który przy temperaturze 40° R. jest

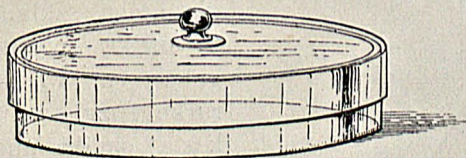


Fig. 14. Kłosz dla hodowli na płytach Kocha.

nieco osłabiony, lecz zawsze jeszcze się rozwija, oraz gatunek *B* (np. bakterye kwasu masłowego), który przy tej temperaturze rozwinię się nie może.

Jeżeli z mieszaniny obu tych gatunków chcemy otrzymać czystą hodowlę gatunku *A*, to hodujemy obydwie w płynie odżywczym przy temperaturze 40° R. i hodowlę systematycznie kilkakrotnie przeszczepiamy z jednego płynu do drugiego; otrzymujemy w końcu hodowlę, zawierającą sam tylko gatunek *A*.

**Naczynia dla czystej hodowli** muszą być tak urządzone, aby uniemożliwiały zakażenie hodowli z zewnątrz.

Płyty Kocha, na których mają się rozwijać pojedyncze kolonie bakteryj w czystej hodowli, wstawia się do płaskiego, szklanego naczynia, przykrytego pokrywą o opuszczonych krawędziach (fig. 14). Na dno tego naczynia kładzie się kilka płatów sterylizowanej bibuły i zwilża wodą. Na to stawia się niskie ławeczki szklane, a na nie dopiero płyty i przykrywa nakrywką. Wilgotna bibuła sprawia to, że warstwa żelatyny na płytce szklanej nie wysycha przed należytem rozwinięciem się w niej mikroorganizmów. Jeżeli się takie naczynie wraz



z płytami Kocha pozostawi na kilka dni w miejscu niezakurzonem, to niema obawy, aby się na płytę dostały w tym czasie z zewnątrz obce organizmy.

Czyste hodowle na większą nieco skalę przeprowadza się w płynach odżywczych, zamkniętych w naczyniach, przystosowanych do tego celu, tak, że przy jakiejś takiej uwadze eksperymentatora zakażenie płynu z zewnątrz jest wykluczone.

Pierwsze praktyczne naczynie dla tego celu obmyślił Pasteur. W laboratoriach znajduje się ono w użyciu w kształcie,

zmienionym nieco przez Hansena, pod nazwą kolby pasteurowskiej lub kolby Pasteura (też Pasteur-Hansena).

Jest to okrągła kolba szklana z szyjką wyciągniętą w wąską rurkę i zgiętą na kształt szyjki łabędziej (fig. 15). Z boku ma kolba tubus *t*. Na tubus nakłada się kawałek węża gumowego, zatkanego szklanym pręcikiem. Kolbę tej używa się przy

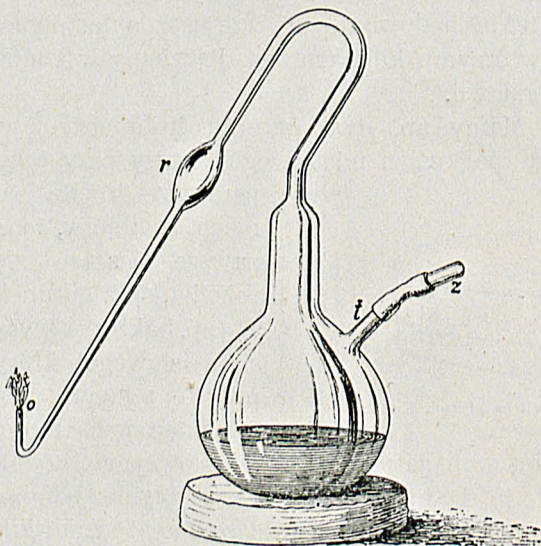


Fig. 15. Kolba Pasteura zmodyfikowana przez Hansena.  
*t* tubus, *r* rozszerzenie szyjki, *o* zatyczka azbestowa.

zakładaniu czystej hodowli mikroorganizmów w sposób następujący: Przez tubulaturę *t* wprowadza się do oczyszczonej kolby wyjałowiony płyn odżywczy, nakłada wąż gumowy na *t* i stawia na kąpiel piaskową. Na tej kąpeli ogrzewa się kolbę tak, aby płyn w niej wrzał około 15 minut. Pary, wydobywające się podczas wrzenia, wyjaławiają wewnętrzne ściany kolbki, oraz płyn, gdyby ten przypadkowo podczas wlewania został zakażony, poczem, przechodząc przez *t*, wyjaławiają też wąż kauczukowy. Po upływie kwadransa zatyka się *t* za pomocą szklanej zatyczki, wyjałowionej bezpośrednio



przedtem w płomieniu lampki gazowej lub spirytusowej. Po zatkaniu otworu przy  $t$  musi się para przecisnąć przez szyjkę i wyjałowić ją dokładnie. Po dziesięciu minutach takiego przechodzenia pary przez szyjkę, odstawia się płomień z pod kąpieli piaskowej i pozwala kolbce ostygnąć. Wprzód jednak wkłada się w otwór przy  $o$  zatyczkę z włókien azbestowych, wyżarzonych w płomieniu. Powietrze, wchodzące do wnętrza kolby podczas ochładzania się jej, przechodzi przez ten filtr azbestowy i pozostawia w nim część organizmów, które zawiera; reszta drobnoustrojów osadza się w dolnym zgięciu szyjki. Rozszerzenie tej szyjki przy  $r$  służy na to, aby się w niem zatrzymały jeszcze te drobnoustroje, względnie ich zarodniki,

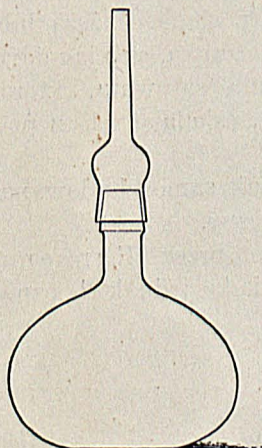


Fig. 16. Kolbka Chamberlanda.

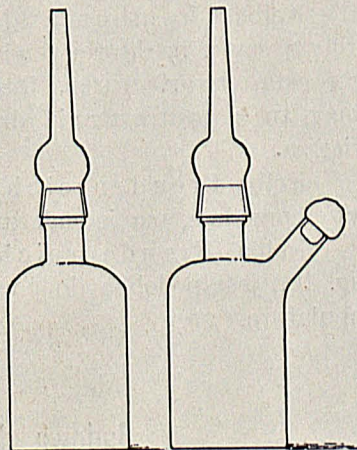


Fig. 17. Kolbka Freudenreicha.

Fig. 18. Kolbka Freudenreich-Hansena.

któreby się pomimo azbestowej zatyczki i wody w dolnym zgięciu szyjki w to wyżej położone miejsce dostały. Jeżeli w tak wyjałowionym i ochłodzonym płynie chcemy zaszczyć czystą hodowlę jakiegoś drobnoustroju, to zapalamy lampkę spirytusową lub gazową, bierzemy do lewej ręki kolbkę z płynem i zbliżamy ją do płomienia tak, aby zatyczka i koniec węża gumowego znalazły się przez chwilę w płomieniu. Wtedy giną w nim wszelkie organizmy, któreby się były w tem miejscu na wężu i zatyczce usadowiły. Prawą ręką wówczas wyjmujemy szybko w płomieniu zatyczkę szklaną i trzymamy





kolbę tak, aby otwór węża był jak najbliżej płomienia; równocześnie wyjmujemy końcem kawałeczka wyżarzonego drutu platynowego, trzymanego jałowemi szczypeczykami, część kolonii, z której mamy założyć czystą hodowlę, odsuwamy otwór węża od płomienia na chwilę, wrzucamy drut wraz z przyczepioną do jego końca częścią kolonii organizmów, przysuwamy znowu otwór węża do płomienia i równocześnie wkładamy zatyczkę szklaną, która przy tem ponownie się w płomieniu wyjaławia. Lekkim poruszeniem kolby powodujemy ocieranie się drutu o wewnętrzne ściany kolby, a tem samem rozmieszczamy równomiernie pojedyncze zarodki w płynie.

Oprócz kolby Pasteura, używa się w laboratoriach także kolb Chamberlanda, Freudenreicha oraz Freudenreich-Hansena.

Kolba Chamberlanda (fig. 16.)\*) posiada dłuższą lub krótszą szyję, na której tkwi doszlifowana czapka, wyciągnięta w prostą, otwartą rurkę. Rurkę tę wypełnia się watą, która służy tu do zatrzymania drobnoustrojów, osiadających z powietrza.

Kolba Freudenreicha (fig. 17.), tak samo zbudowana jak poprzednia, ma jednak tułów cylindryczny.

Kolba Freudenreicha, ulepszona przez Hansena (fig. 18.) jest podobna do poprzedniej, posiada jednak boczną tubulaturę.

## Budowa drobnoustrojów.

Drobnoustroje, które mamy poznać, są złożone z t. zw. komórek. Komórki (fig. 19) utworzone są z cienkiej błonki, otaczającej w kształcie pęcherzyka treść komórki, zwanej pierwotnym protoplazmą. Z takich komórek składa się każda roślina. W roślinach o wyższym ustroju znajdujemy w protoplazmie zawsze jeszcze okrągławe ciała, zwane jądrem. W komórkach wielkiej liczby drobnoustrojów nie zdołano do-

---

\*) Ma ona nazwę kolby Chamberlanda w Niemczech, Danii itd., we Francji zaś, n. p. w Instytucie Pasteura, nazywają ją kolbą Pasteura (matras Pasteur).



strzedz takiego jądra, wskutek czego przyjmujemy na razie, że go niektóre z tych organizmów nie posiadają.

Każda z powyżej wymienionych trzech składowych części komórki ma pewną budowę, każda jest uorganizowana, nie zaś jakąś jednostajną, bezkształtną masą.

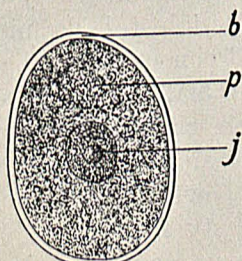


Fig. 19. Schematyczny obraz komórki.

Zewnętrzny kształt komórki drobnoustrojów jest wielce rozmaity, zależnie od gatunków organizmu i innych warunków. Figura 20 przedstawia nam kilka typowych kształtów, pomiędzy którymi istnieją kształty przejściowe.

Rozmiary tych komórek są rozmaite. Wogóle jednak komórki drobnoustrojów są przeważnie mniejsze, aniżeli komórki roślin wyższych. Są komórki, których średnica wynosi zaledwie 0,0007 mm., ale są i takie, które mają 0,001 mm. średnicy\*), albo też jeszcze większą.

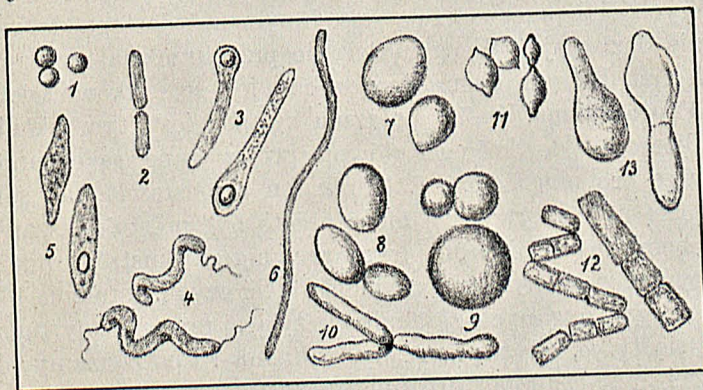


Fig. 20. Typowe kształty komórek drobnoustrojów. 1 i 9 kulisty, 2 pałeczkowaty, 3 maczugowaty, 4 śrubowy, 5 wrzecionowaty, 6 nitkowaty, 7 owalny, 8 eliptyczny, 10 kielbaskowaty, 11 cytrynowaty, 12 cylindryczny, 13 flaszkowaty.

**Błona komórkowa** jest początkowo cieniuchną, przezroczystą, najczęściej bezbarwną powłoką, która na żywej komórce może przybierać większe rozmiary tak w płaszczyźnie

\*) Jedną tysięczną część milimetra = 0,001 mm. nazywamy mikromilimetrem i oznaczamy przez *mikrom.* lub  $\mu$ .



jak też na grubość, a więc może rosnać; jest ona zatem żyjącym składnikiem komórki. W młodych komórkach nie widać, aby błona składała się z kilku warstw, w starszych jednak komórkach niektórych mikroorganizmów można spostrzedz uwarstwienie.

Pod względem chemicznym błona wielu drobnoustrojów składa się w przeważnej części z cellulozy, lub też do niej wielce podobnego ciała; błony zaś innych drobnoustrojów (bakterye, wywołujące procesy gnilne) z ciała białkowego, zwanego *mykoproteiną*. W pewnych wypadkach, ciało składające błonę niektórych drobnoustrojów, przemienia się na ciało, inne co do swej istoty chemicznej; z cellulozy powstają ciała pokrewne, tworzące najczęściej galaretę lub gęsty śluz.

Błona jest elastyczna, ciągliwa i przepuszczalna dla płynów i roztworów niektórych ciał. Nie jest zatem jednostajna, lecz musi posiadać otworki, pory, przez które płyn może się przedostać. Błony komórkowe rozmaitych drobnoustrojów zachowują się rozmaicie wobec roztworów różnych ciał; roztwory niektórych ciał przepuszczają one, innym zaś dostępu do wnętrza nie pozwalają. W ogólności nie przepuszczają roztworów takich ciał, których chemiczna drobina jest stosunkowo wielka.

**Protoplasma**, krótko **plazma** zwana, jest tym składnikiem komórki, do którego głównie przywiązane są czynności odżywcze drobnoustrojów. Składnik ten przedstawia, tak samo jak błona, utwór żywy, nie może przeto być prostą mieszaniną istot chemicznych. Ma on pewny wewnętrzny ustroj, umożliwiający mu wykonywanie czynności życiowych. Istnienia bliższych uorganizowanych składników żyjącej protoplazmy domyślamy się tylko, gdyż przyrządy, jakimi rozporządzamy dotychczas przy badaniu drobnych jestestw, są niedostateczne, aby dojrzeć te składowe części wewnętrznego jej ustroju. W niektórych tylko wypadkach można było stwierdzić istnienie w protoplazmie nitek, tworzących gęstą siatkę, której oczka są wypełnione płynem. W nitkach tych znajdują się malutkie ziarenka.

Zazwyczaj protoplasma przedstawia się pod mikroskopem jako ziarnista masa, która jednak w pewnych okresach życia komórki ma wygląd masy jednolitej. Często występują w protoplazmie mniejsze lub większe krople płynu, zwane



wodniczkami lub wakuolami (fig. 21 *w*). Płyn wodniczków zwiemy soki komórkowym.

Obok wodniczków występują w protoplazmie czasem krople tłuszczu. Sama protoplazma składa się z ciał białkowych; w soku komórkowym stwierdzono obecność rozmaitych ciał, o których jeszcze później będziemy mówili.

**Jądro komórkowe** spostrzeżono, jak powiedzieliśmy wyżej, u niektórych tylko drobnoustrojów. W tych wypadkach, w których istnienie tego składnika stwierdzono, nie zawsze można było dojrzeć bliższego jego ustroju; że jednak jądro nie jest ciałem jednolitem, wnosimy z analogii z jądrem komórek roślin o wyższym ustroju.

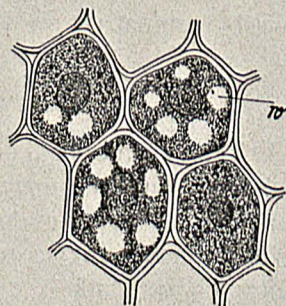


Fig. 21. Schematyczny obraz kilku komórek tkanki roślinnej z wodniczkami *w*.

## Rozmnażanie się komórek.

Wskutek przyjmowania pokarmów przez komórkę i przeróbki ich w jej wnętrzu zwiększają się rozmiary powierzchni

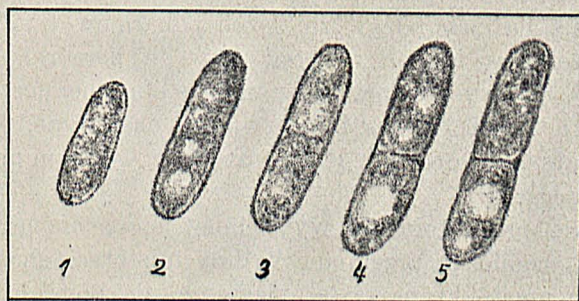


Fig. 22. Schematyczny obraz rozmnażania się komórek. 1) Komórka pierwotna. 2) Komórka rozrośnięta. 3) Pierwsze zaczątki ścianki działowej. 4) Rozszczenie się ścianki na dwie warstwy. 5) Ukończony podział komórki.

błony komórkowej, a równocześnie zwiększa się odpowiednio także jej zawartość. Komórka rośnie. Po jakimś czasie, wskutek pewnego procesu powstaje wewnątrz komórki poprzeczna



błona (fig. 22.), która dzieli ją na dwie części. Błona ta dzieli się w płaszczyźnie na dwie warstwy, z których jedna tworzy nową część błony jednej z tak powstałych dwóch komórek, druga zaś taką samą część błony drugiej nowej komórki. W ten sposób rozmnażają się komórki drobnoustrojów.

## Odżywianie się komórek.

Odżywianie się komórki odbywa się w ten sposób, że ciała pokarmowe, rozpuszczone w wodzie, przenikają błonę komórki, dostają się do jej wnętrza, tu zostają chemicznie przemienione i zużyte na utrzymanie funkcji życiowych pojedynczych składników ustroju komórki.

Aby ciała organiczne mogły służyć komórkom do odżywiania muszą być rozpuszczalne w wodzie i być zdolne do przenikania błony komórkowej, gdyż tylko wewnątrz komórki może się odbywać proces przemiany nieżyjących substancji w składniki uorganizowane żyjącego jej ustroju. Nie zawsze jednak napotykają komórki drobnoustrojów organiczne ciała odżywcze w takim stanie, aby one powyższym warunkom odpowiadały. Wówczas to najczęściej mogą one zrobić te ciała przydatnymi dla swego odżywiania. Komórki wydzielają z siebie pewne istoty chemiczne, które powodują odpowiednią chemiczną przemianę pokarmu, nieprzydatnego do ich odżywiania, na ciała odżywcze. Jeżeli pokarmowe ciała są nierozpuszczalne w wodzie i z tego powodu komórki odżywiać nie mogą, to wydzielana przez nią istota chemiczna powoduje rozkład tych ciał na inne związki chemiczne, które posiadają tak małą drobinę, że w roztworze wodnym przez błonę przejść mogą.

Takie, przez komórki wydzielane istoty chemiczne, wywołujące chemiczną przemianę w innych istotach chemicznych, celem ich przeróbki na ciała odżywcze dla komórki, zwiemy enzymami. Ponieważ w tych wypadkach przemiana chemiczna polega na procesie t. zw. hydrolizy, t. j. na przybieraniu wody i rozpadaniu się wskutek tego, nazywamy te enzymy ogólnie enzymami hydrolitycznymi.

Enzymy, przemieniające wskutek hydrolizy ciała azotowe czyli proteinowe, zwiemy enzymami proteolitycznymi,



a proces ten proteolizą, enzymy zaś, hydrolizujące ciała bezazotowe, najczęściej węglowodany, zwiemy enzymami diastatycznymi według najpierw poznanego takiego ciała, nazwanego przez swoich odkrywców diastazem.

Enzymy te wytwarza komórka w swoim wnętrzu i wydziela je na zewnątrz, gdzie one swoje działanie na ciała pokarmowe wyrzeć mają.

## O systematyce drobnoustrojów.

Za mało jeszcze znamy drobnoustroje, abyśmy je mogli należycie ułożyć w system naturalny. Botanicy są dotychczas pod tym względem w niezgodzie. Tak n. p. niektórzy zaliczają bakterye do grzybów (*fungi* albo *mycetes*), inni do glonów czyli wodorostów (*algae*), a znowu inni tworzą dla najniżej uorganizowanych glonów i dla bakteryj odrębny dział, t. z. rozprątków (*schizophytae*).

Jeżeli zgodzimy się na to, że do grzybów zaliczyć należy te rośliny, które nie posiadają chloroflu i które dlatego nie mogą asymilować wolnego kwasu węglowego pod wpływem promieni światła słonecznego, to musimy te drobnoustroje, o których później szczegółowo mówić będziemy, zaliczyć do grzybów.

Według sposobu rozrastania się wegetatywnych komórek grzybów, dzielimy je na dwa działy:

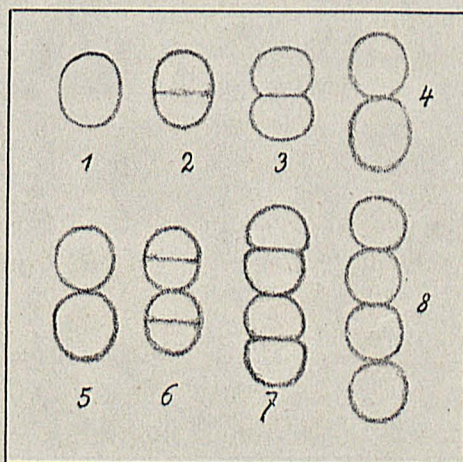


Fig. 23. Schematyczny obraz rozszczepkowego rozmnażania się. 1) Komórka pierwotna. 2) Ukazanie się ścianki działowej. 3) Rozrost obydwu połów. 4-5) Ukończony rozrost. 6) Ukazanie się ścianki działowej w każdej z obydwu nowych komórek. 7-8) Rozrost dalszy.



Grzybki rozszczepkowe (*schizomycetes*),  
Grzyby właściwe (*eumycetes*).

Komórka grzybków rozszczepkowych rozmnaża się w ten sposób, że w pewnym okresie rozwoju powstaje wewnątrz niej ścianka, prostopadła do kierunku rozrastania, dzieląca ją na dwie nowe komórki. Każda z tych młodszych komórek rozrasta się i po pewnym czasie dzieli się w ten sam sposób znowu na nowe dwie komórki; tak postępuje ten proces rozmnażania się dalej (fig 23.).

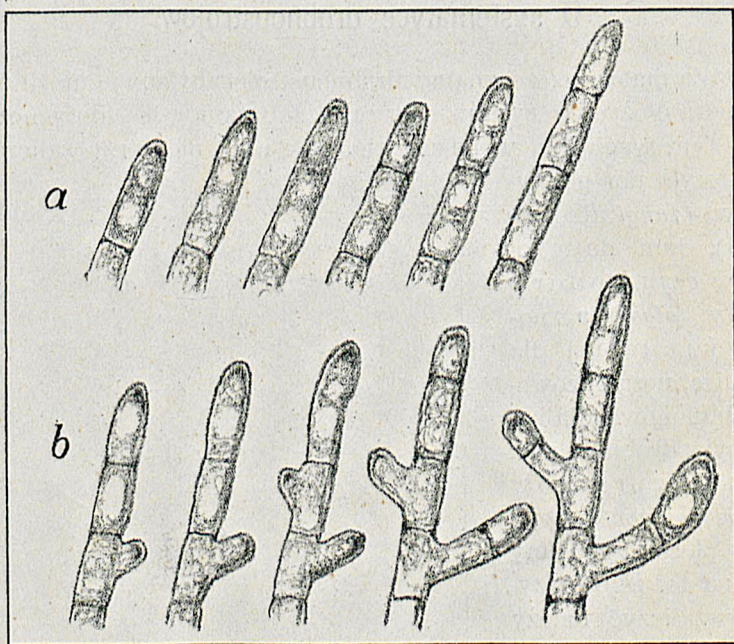


Fig. 24. Schematyczny obraz końcowego rozrostu. a) Tworzenie się nitki. b) Powstawanie bocznych rozgałęzień.

Ponieważ każda komórka przy rozmnażaniu dzieli się na dwie komórki równego wieku, czyli się rozszczepia, nazwano grzybki te grzybkami rozszczepkowymi

Wegetatywne komórki grzybów właściwych rosną w pewnym kierunku, wydłużają się kielbaskowato lub nitkowato, poczem po jakimś czasie powstaje wewnątrz, na poprzek komórki ścianka działowa, która oddziela nowo wyrosniętą część od pozostałej dawniejszej. Tak powstają z jednej komórki dwie.



Z tych dwóch komórek rozrasta się zazwyczaj jedna tylko komórka dalej, a mianowicie młodsza. W ten sposób powstaje cały szereg komórek, pozostających zazwyczaj ze sobą w ustrojowym związku i tworzących krótszą lub dłuższą, nitkę (fig. 24). Każda komórka takiej nitki może wypuścić jeden lub też więcej bocznych pączków, które się wydłużają i są zaczątkiem nowego, bocznego szeregu komórek, tworzących boczną nitkę. Mówimy, że grzybki te rozrastają się kończynowo.

W niniejszej książce zajmiemy się tymi grzybkami, które z jakiegobądź powodu mają znaczenie w przemyśle fermentacyjnym, dlatego nie będziemy się trzymali ściśle naukowej i, jak powiedziano, niedostatecznej jeszcze systematyki botanicznej, lecz podzielimy drobnoustroje, dla lepszego ich rozpatrzenia, według praktycznych punktów widzenia.

Wszystkie drobnoustroje, mające znaczenie w przemyśle fermentacyjnym, podzielimy na trzy grupy:

- I. Bakterye (grzybki rozszczepkowe, *schizomycetes*),
- II. Drożdżaki (grzybki pączkujące, *blastomycetes*),
- III. Pleśniaki (grzybki plechowe, *phycomycetes*, *hyphomycetes*).





# Szczegółowa mikrobiologia.

## I. Bakterye.

### Wiadomości ogólne.

Drobnoustroje, zwane bakteryami, składają się zawsze z jednej tylko komórki; nie zawierają one chlorofilu, a wskutek tego nie mogą użyć tak, jak to czynią wyższe rośliny, kwasu węglowego z powietrza do budowy składników swego ciała.

Pokarm organiczny muszą czerpać z wyższych związków węgla, przygotowanych z kwasu węglowego przez rośliny o doskonalszym ustroju. Jeżeli bakterye czerpią swe pożywienie z żyjącego jeszcze organizmu, to nazywamy je pasożytami, jeżeli zaś pożywienie ich pochodzi z nieżyjącej substancji organicznej, to nazywamy je saprofitami.

Pasożyty, przebywające na żywym organizmie zwierzęcym lub roślinnym, wpływają na normalny rozwój tych organizmów i wywołują mniej lub więcej szkodliwe zboczenia w tym rozwoju, choroby organizmów. Takie pasożytujące bakterye zwiemy chorobotwórczemi lub patologicznemi, a naukę o nich patologiczną bakteryologią. Naukę tę nazywamy zwierzęco-patologiczną bakteryologią, gdy się zajmuje bakteryami, wywołującemi choroby u ludzi lub zwierząt, zaś roślinno-patologiczną, jeżeli się zajmuje bakteryami, powodującemi choroby roślin.

Saprofity nie żyją, jak wyżej powiedziano, na organizmie żywym, nie powodują przeto chorób w tem znaczeniu, co



pasożyty. Zjawiska, wywoływane przez ten dział bakteryj, są czysto biernego charakteru; są to zmiany w składzie chemicznym ciał, na którym one żyją, a że te chemiczne procesy nauczono się zużytkowywać dla celów technicznych, nazwano naukę o tych bakterjach techniczną bakteriologią. Działem bakteriologii technicznej jest bakteriologia fermentacyjna, zajmująca się tylko bakteriami, odgrywającymi rolę w przemyśle fermentacyjnym.

## Kształt i rozmiary bakteryj.

Typowym kształtem komórek, stanowiących pojedyncze osobniki tych drobnoustrojów, jest pałeczka, po grecku *bacterion*, wskutek czego nazwano je bakteriami. Z czasem poznano także inne kształty komórek tych ustrojów (fig. 25.).

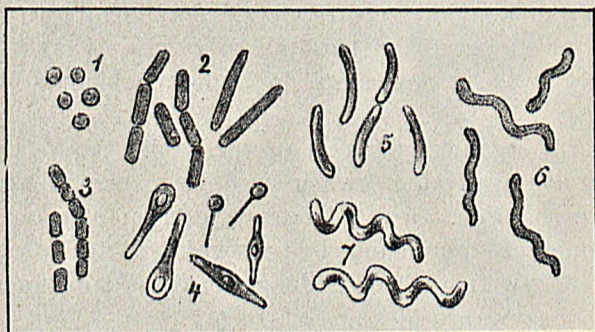


Fig. 25. Kształty bakteryj. 1 coccus, 2 bacillus, 3 bacterium, 4 clostridium, 5 vibrio, 6 spirochaete, 7 spirillum

Jeżeli komórka bakteryi ma we wszystkich kierunkach jednakowe, w przybliżeniu, rozmiary, wówczas nazywamy ten organizm *coccus*, *micrococcus*, *monas* albo *coccobacteria*.

Gdy bakteria ma kształt pałeczki lub nitki, to nazywamy ją *bacillus* albo *bacterium*. Bacillus wówczas, gdy długość jest conajmniej równa podwójnej szerokości, bacterium zaś wtedy, gdy wymiar ten jest mniejszy. Bakteryę o kształcie bacyllosowym zwiemy *clostridium* wówczas, gdy ona w pewnym okresie swego życia przybiera kształt wrzecionowaty lub maczugowaty.



Gdy pałeczkowata komórka bakterii jest zgięta w kabłąk, nazywamy ją *vibrio*, gdy jest zgięta kilkakrotnie, jednak w płaszczyźnie, zwiemy ją *spirochaete*, jeśli zaś jest zgięta kilkakrotnie w przestrzeni, a więc śrubowato, to nazywa się *spirillum*.

Bakterie są najmniejszymi istotami żywymi, jakie dotychczas spostrzeżono w przyrodzie. Najmniejsze z nich mają średnicę 0,0006 do 0,001 mm (czyli 0,6—1,0  $\mu$ ), największe zaś pomiędzy dotychczas znanymi mają długość 0,01—0,02 mm (10—20  $\mu$ ).

Kształty powyższe i rozmiary nie są czemś we wszystkich warunkach stałym u danych bakterij; pod wpływem rozmaitych czynników może komórka danego gatunku bakterij zmienić swój kształt, pozostając przytem i nadal w posiadaniu pełni swych sił życiowych.

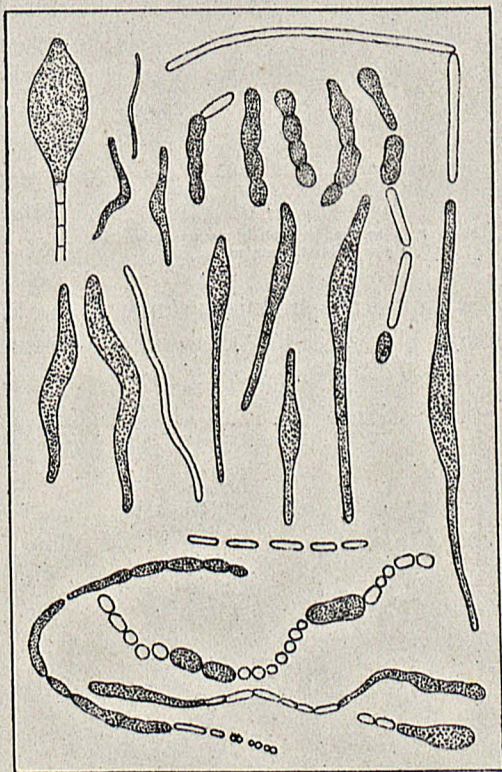


Fig. 26. Kształty inwolucyjne. Części jasno przedstawiają komórki normalne.

Czasem, gdy środowisko odżywcze zostanie zupełnie wyzyskane i stanie się nieprzydatne do dalszego rozwoju w niem bakterij, występują chorobliwe zmiany ich kształtu, zwane kształtami inwolucyjnymi. Są to wogóle kształty nieregularne, dziwaczne; komórki wyglądają miejscami jakby wy-



brzuszone lub spuchnięte i są już niezdolne do wykonywania niektórych czynności życiowych, o których później będzie mowa;

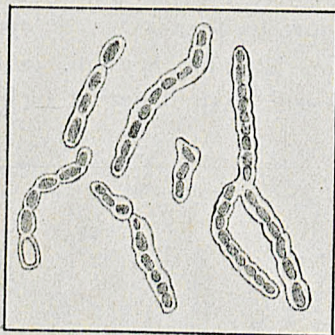


Fig. 27. Bakterio, których błona przemieniła się w galaretowatą masę.

raz wielokrotnie średnicę samej komórki. W tym wypadku zlepiają się ze sobą i tworzą większe lub mniejsze bryły

wogóle te kształty są oznaką chorobowego stanu drobnoustroju, przed zupełną jego śmiercią (fig. 26).

Błona komórkowa bakteryj składa się z cellulozy, albo też z tak zwanej mykocellulozy, zawierającej azot. U wielu bakteryj pęcznieje ona często i zamienia się w grubą, galaretowatą lub śluzowatą masę (fig. 27); grubość błony przewyższa nie-

raz wielokrotnie średnicę samej komórki. W tym wypadku zlepiają się ze sobą i tworzą większe lub mniejsze bryły galarety lub śluzu. Bryły takie nazywamy zooglegają. (fig. 28).

O ustroju protoplazmy niewiele można powiedzieć. Pozornie wydaje się jednorodna i nigdy nie zawiera wodniczków.

Czasem spostrzegamy w plazmie silnie błyszczące ziarenka tak zwane ziarenka celulinowe.

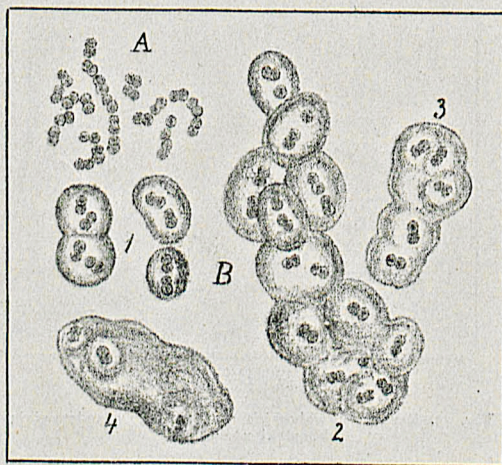


Fig. 28. Zoogleja. W A widzimy komórki normalne, w B rozmaite okresy tworzenia się zooglei (1, 2, 3, 4)



## Skład chemiczny ciała bakteryj.

Kappes badał bakterję *micrococcus prodigiosus* co do jej składu chemicznego i znalazł:

Wody	85·5%
substancyi suchej	14·5 „

Nishimura badał skład innej bakteryi i wykrył w substancyi suchej następujące związki chemiczne:

Białka	63· 5%
węglowodanów	12· 2 „
ciał rozp. w alkoholu	3· 2 „
„ „ „ eterze	5· 2 „
popiołu	11· 2 „
lecytyny	0·68 „
ksantyny	0·17 „
guaniny	0·14 „
adeniny	0·08 „

## Wegetatywne rozmnażanie się bakteryj.

Wiemy już, że komórka bakteryi, żyjąca w sprzyjających warunkach, rośnie w pewnym kierunku, a kiedy zwiększenie się jej wymiarów osiągnie pewne maximum, wówczas powstaje wewnątrz niej przepona, prostopadła do kierunku rozrostu i dzieli ją na dwie części. Przepona ta rozszczepia się w płaszczyźnie na dwie warstwy (fig. 23 i 29.), które się ku sobie wypuklają i tak powstają z pierwotnej komórki macierzystej dwie nowe komórki.

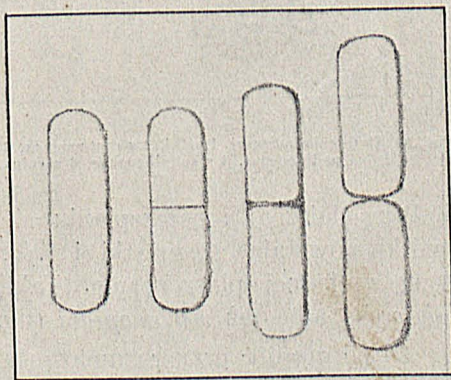


Fig. 29. Schematyczny obraz rozszczepienia się pałecz-  
kowatej komórki bakteryi.

Ponieważ bakterye są organizmami jednokomórkowymi, przeto każda z tak powstałych komórek przedstawia nowy



osobnik; bakterye zatem przez powyżej opisane rozradzanie się komórek rozmnażają się zarazem.

Przy takim ciągle rozszczepianiu się, może kilka pokoleń osobników pozostać w pozornym związku z sobą. Jeżeli rozrost komórek odbywa się w jednym i tym samym kierunku, to powstają wtedy długie nitki lub sznurki, złożone z większej liczby pojedynczych osobników (fig. 30.). Jeżeli pojedyncze komórki takiego sznurka są kokkami, czyli ziarnikami, wtedy przybiera on wygląd sznurka paciorków. Bakterye zwiemy wówczas często *streptococcus* czyli paciorkowcem. (fig. 30, 2.)

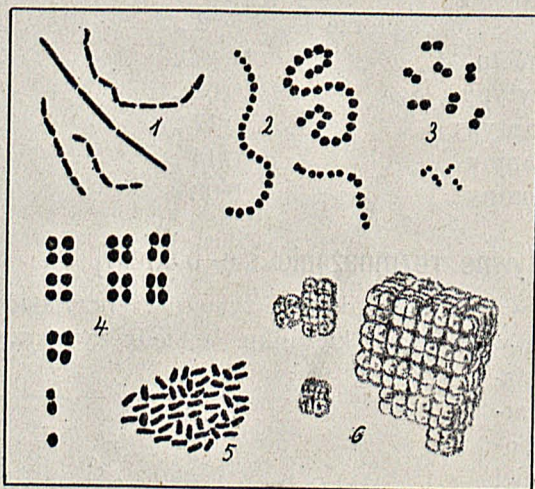


Fig. 30. Skupienia bakteryj. 1 nitki, 2 streptococcus, 3 diplococcus, 4 pedicoccus, 5 staphylococcus, 6 sarcina.

Jeżeli tylko dwa ziarniki są ze sobą zetknięte, to nazywamy takie złączenie *diplococcus* czyli dwójnikiem. (fig. 30, 3.).

Gdy rozszczepianie ziarników odbywa się w dwóch kierunkach, wtedy powstają cztery ze sobą złączone komórki zwane tetradami czyli czwórnika-

mi. Przy dalszem rozszczepianiu się każdego ziarnika takiej czwórki powstają szesnastki i t. d.; wszystkie ziarniki leżą wtedy w jednej płaszczyźnie. Takie bakterye zwiemy często *pedicoccus* albo też *merismopedia* (fig. 30, 4.)

Jeżeli ziarnik przy rozmnażaniu rozszczepia się w trzech kierunkach, a nowopowstałe osobniki pozostają ze sobą zetknięte, to powstałe złączenia mają wygląd grudek, złożonych co najmniej z ośmiu ziarników, wskutek tego podobnych do pakietów. Bakterye, które się w ten sposób rozmnażają, zwiemy *sarcina*. (fig. 30, 6.)



Nie zawsze bakterye po rozszczepieniu się pozostają ze sobą w zetknięciu; najczęściej układają się obok siebie w dowolnych położeniach. Gdy bakterye są ziarnikami, lub krótkimi pałeczkami, to nieregularnie obok siebie ułożone, mają niekiedy wygląd gron; nazywamy je też dlatego *staphylococcus* czyli gronkowcami (fig. 30, 5).

Szybkość, z jaką się komórki bakteryj rozrastają i rozmnażają, zależy nietylko od gatunku, lecz także od jakości ich pożywienia i od temperatury. Czas, w którym powstaje nowe pokolenie, oznaczał Prażmowski u bakteryi *bacillus subtilis*. Stwierdził on, że:

przy	temperat.	35	°C	wytwarza	się	nowe	pokolenie	po	20	min.
"	"	30	"	"	"	"	"	"	30	"
"	"	25	"	"	"	"	"	"	45	"
"	"	18 <sup>3</sup> / <sub>4</sub>	"	"	"	"	"	"	90	"
"	"	12 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	"	"	"	"	"	"	4—5	go-
										dzinach.

Przypuszczając, że w sprzyjających warunkach wytwarza się nowe pokolenie po 30 minutach, obliczył Kohn, że z jednej bakteryi może powstać po dwóch dniach 281 bilionów osobników bakteryi. Jeżeliby jeden osobnik posiadał długość  $2\ \mu$  ( $= 0,002\ mm$ ) i szerokość  $1\ \mu$  ( $= 0,001\ mm$ ), to cała masa tych bakteryj mogłaby urosć w dalszych trzech dniach tak, że wypełniłaby wszystkie morza na kuli ziemskiej.

Obliczenie to okazuje obrazowo, jak niezmiernie szybkim jest rozrost bakteryj. Że taki rozrost w świecie teraz się nie wydarza, pochodzi stąd, że bakterye żyjące wydzielają z siebie pewne ciała, które powstrzymują je w dalszem rozmnażaniu się, chociażby pożywienia było jeszcze dla nich podstatkiem.

## Rozmnażanie się bakteryj za pomocą zarodników.

Oprócz powyżej opisanego sposobu wytwarzania nowych pokoleń bakteryj przez rozradzanie się pojedynczych komórek-osobników, istnieje jeszcze inny sposób rozmnażania się. Bakterye tworzą nowe pokolenia także przy pomocy t. zw. zarodników.



**Tworzenie się zarodników** odbywa się tak, że plazma komórki skupia się w jednym miejscu, poczem się zgęszcza i zaokrągla, a w końcu otacza grubą, gładką i bezbarwną błoną. Zarodniki takie nazywamy także zarodnikami wewnętrznymi, a że na rozmaite wpływy niekorzystne, są

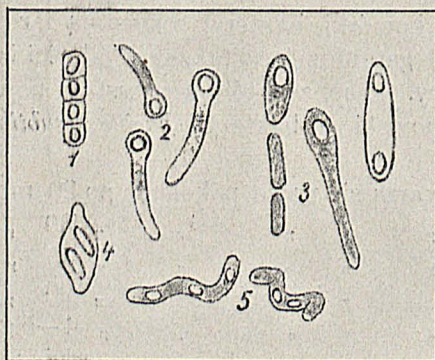


Fig. 31. Zarodniki wewnętrzne. 1 *Bacillus Megaterium*, 2 *Vibrio Rugula*, 3 *Clostridium butyricum*, 4 *Bacillus inflatus*, 5 *Spirillum endoparagoticum*.

trwalszymi od komórek wegetatywnych, noszą one też nazwę zarodników trwałych (fig. 31).

Zwykle tworzy się w komórce tylko jeden zarodnik, rzadko dwa, a tylko u jednego gatunku bakteryj spostrzeżono większą liczbę tych utworów.

Zarodnik zajmuje tylko  $\frac{1}{3}$  albo nawet  $\frac{1}{10}$  pojemności komórki macierzystej.

Nie wszystkie bakterye wytwarzają zarodniki wewnętrzne; przynajmniej dotychczas u wielu gatunków nie stwierdzono tych utworów. U niektórych bakteryj zarodniki powstają w ten sposób, że błona samej komórki grubieje, za-

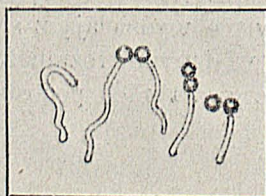


Fig. 32. Zarodniki członkowe.

wartość się nieco zgęszcza, a całość przedstawia utwór, trwalszy na niekorzystne wpływy, aniżeli komórka wegetatywna. Odgrywa on taką samą rolę, jak zarodnik wewnętrzny. Spostrzeżono, że niektóre bakterye rozszczepiają się przed tworzeniem tego rodzaju zarodników na szereg kulkowatych komórek i że u tych to dopiero błona grubieje, poczem się one zupełnie od siebie oddzielają. Takie zarodniki, powstające przez rozczłonkowanie się komórki wegetatywnej, nazywamy zarodnikami członkowymi (fig. 32) i do nich zaliczamy także te zarodniki, które powstały bezpośrednio z całej komórki przez zgrubienie jej błony.



Zarodniki powstają zazwyczaj wówczas, gdy bakteriom zabraknie pożywienia i dalsze rozradzanie się komórek wegetatywnych, a więc tem samem tworzenie się nowych pokoleń tych drobnoustrojów, nie może się odbywać.

**Kielkowanie zarodników** następuje wtedy, gdy warunki sprzyjają rozwijaniu się komórek wegetatywnych; odbywa się ono w sposób dwojaki. Przy jednym sposobie zarodnik pęcznieje, zwiększa swą objętość tak długo, póki nie osiągnie rozmiarów i kształtu komórki wegetatywnej.

Wtedy zaczyna się ta komórka rozszczepiać i zachowuje się dalej tak, jak komórka wegetatywna.

Przy drugim, częstszym sposobie kielkowania początkowo zarodnik pęcznieje tak samo, jak przy sposobie pierwszym, lecz później tworzy się z jego zawartości pałeczka, otoczona własną, nowo powstałą błoną. Wskutek rozrastania się tej pałeczki pęka w końcu stara błona zarodnika i dozwala jej wydostać się na zewnątrz. Pałeczka ta przedstawia

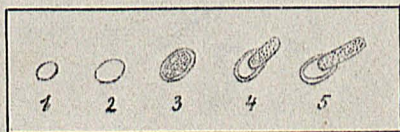


Fig. 33. Kielkowanie zarodnika u *Clostridium butyricum*.

Pałeczka ta przedstawia wtedy komórkę wegetatywną, która rozradza się dalej przez rozszczepianie się. Pierwotna błona zarodnika pozostaje nieraz dłuższy czas przyczepiona do pierwszej pałeczki i tworzy na jednym jej końcu czapeczkę (fig. 33).

Czas wykielkowania zarodników jest różny. Według Prążmowskiego kiełkuje n. p. zarodnik gatunku *bacillus subtilis* przy 30—35° zwykle 3—4½ godzin.

## Samoistny ruch bakteryj.

U bardzo wielu gatunków bakteryj można w pewnym okresie rozwoju spostrzedz ruch samoistny. Zaznaczyć tu należy, że jest to objaw odmienny od t. zw. ruchu molekularnego Browna, przy którym bakterye, jak wogóle wszelkie drobnutki, w jakimś płynie zawieszone, martwe ciała, wskutek sił wyłącznie fizykalnych, poruszają się regularnie, tańcząc lub wirując około jednego punktu. Ruch ten postępowy



wykonywują one przy pomocy właściwych im narządów t. zw. migawek czyli rzęs (fig. 34)

Migawki występują najczęściej na jednym lub obydwu końcach komórki; są jednak bakterye, które posiadają te narządy także po bokach. Migawki kończynowe są zwykle pojedyncze, czasem jednak przedstawiają się one jako wiązki

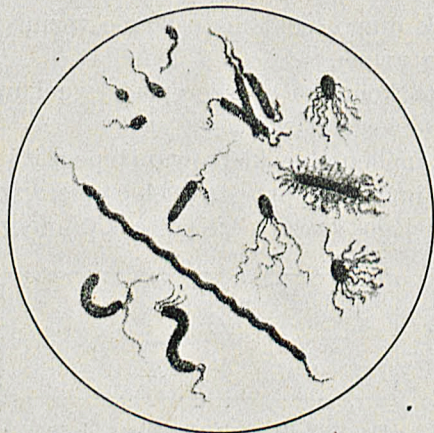


Fig. 34. Migawki bakteryj.

3—4, lub nawet 8 do 12 nitok. Nitki te u bakteryi żywej są nadzwyczaj cieniutkie i trudno dostrzegalne. Celem dostrzeżenia tego narządu potrzeba zazwyczaj bakterję w odpowiedni sposób uśmiercić i zabarwić. Wtedy zabarwia się też migawka i może być widziana przez mikroskop. Co do budowy migawek, nie wiemy jeszcze nic pe-

wnego. Według Zopfa mają to być wypustki plazmy z wnętrza komórki, które wydostają się na zewnątrz przez odpowiednie otworki w błonie; Fischer zaś twierdzi, że są to tylko wyrostki błony, wypełnione, co prawda, plazmatyczną substancją. — Komórki bakteryj, zaopatrzone w migawki czyli rzęsy, mogące się przeto w płynach poruszać, zwiemy pływkami, a okres życia, w którym ruch ten występuje, nazywamy się.

## Życie bakteryj.

**Odżywianie się bakteryj.** Ciało bakteryj zawiera zawsze następujące pierwiastki:

1. Wodór,
2. Węgiel,
3. Tlen,



4. Azot,
5. Siarkę,
6. Fosfor,
7. Jeden lub więcej z następujących metalów jednowartościowych: potas, rubid, cez,
8. Jeden lub więcej z następujących metalów dwuwartościowych: wapń, magn, bar, stront.

Wodoru i tlenu zawiera ciało bakteryj wielkie ilości w postaci wody. Oprócz tego znajduje się w nich tak wodór jak też tlen w połączeniu z węglem w postaci organicznych związków chemicznych; w skład tych związków wchodzi też azot, siarka i część zawartego fosforu. Metale, jak też siarka i fosfor, wchodzi w skład ciała bakteryj najprawdopodobniej w postaci soli.

Aby z powyżej wyliczonych pierwiastków utworzyć swoje ciało, muszą bakterye oczywiście czerpać pożywienie z takich pokarmów, które się z tych pierwiastków składają.

Niektóre z powyższych pierwiastków czerpią one ze związków mineralnych, niektóre zaś z organicznych.

Ze związków mineralnych czerpią one siarkę, fosfor, potas (albo rubid lub cez) i wapń (względnie magn, bar lub stront), z takich związków mogą one czerpać też azot.

Siarkę mogą pobierać z soli kwasów siarkowego lub podsiarkowego, fosfor z soli kwasu fosforowego, azot z niektórych soli amonowych, a metale z odpowiednich soli.

Do nieorganicznych pokarmów należy zaliczyć także wodę i tlen wolny (z powietrza), jeżeli dany gatunek bakteryi tlenu do swego odżywiania wymaga.

Organiczne pokarmy możemy podzielić na dwie grupy:

1. Ciała azotowe, składające się z azotu, węgla, tlenu, wodoru a często i siarki.

2. Ciała bezazotowe, składające się z węgla, tlenu i wodoru.

Do azotowych, organicznych ciał pokarmowych, należą ciała proteinowe (speptonizowane), amidy lub aminy oraz organiczne sole amonowe.

Do bezazotowych takichże ciał odżywczych można zaliczyć bardzo wiele substancyj, gdyż przeważna część organicznych związków węgla może bakterjom służyć za pokarm, jeżeli tylko ciała te rozpuszczają się w wodzie i nie są dla



nich trującą. — Nawet niektóre takie ciała, które w skoncentrowanym stanie są truciznami, mogą po odpowiednim rozcieńczeniu służyć bakterjom za pożywienie, jak n. p. alkohol, kwas octowy, kwas karbolowy, kwas salicylowy itp.

**Oddziaływanie bakterij na glebę odżywczą.** Przy omawianiu sposobu odżywiania się komórek drobnoustrojowych wspomniano o tem, że wydzielają one często enzymy hydrolityczne i przy ich pomocy przysposabiają sobie pokarm z ciał, nieprzydatnych w stanie pierwotnym, niezmienionych do ich odżywiania. To, co tam wogóle o komórkach powiedziano, dotyczy się, naturalnie, także bakterij; i one wydzielają hydrolityczne enzymy celem stosownego przysposobienia sobie środowiska odżywczego.

Wywoływanie procesów hydrolitycznych nie jest jedynym oddziaływaniem bakterij na glebę odżywczą; powodują one w niej inne jeszcze procesy chemiczne bardziej skomplikowanej natury. Powstają przytem najczęściej ciała, które nietylko, że nie są odżywcami dla bakterij, lecz są nawet truciznami w pewnej koncentracji.

Takim procesom rozkładowym mogą w glebie odżywczej ulegać pod wpływem bakterij tak ciała azotowe jak też bezazotowe; najczęściej ulegają im oba rodzaje tych ciał równocześnie, a zachodzą tu różnice o tyle, że pewne gatunki tych drobnoustrojów rozkładają przeważnie ciała azotowe, inne przeważnie bezazotowe.

Jeżeli pod wpływem bakterij rozkładają się przeważnie ciała azotowe, to zazwyczaj powstają wtedy produkty rozkładowe o nieprzyjemnej woni; mówimy wówczas, że się odbywa gnicie. Jeżeli zaś w glebie odżywczej rozkładają się przeważnie ciała bezazotowe, to powstałe przytem produkty albo prawie żadnego zapachu nie posiadają, albo też ten zapach nie jest odrażający. Proces rozkładu tych ciał bezazotowych zwiemy fermentacją.

Co jest bezpośrednim powodem rozkładu ciał tak przy gniciu jak też fermentacji, tego nie wiemy. Domyslamy się jeno, że i tu enzymy odgrywają rolę, a domysł ten nabrał wielkiego prawdopodobieństwa, odkąd odkryto enzym, zamieniający cukier na alkohol i kwas węglowy. Enzymem tym jest zymaza, wydzielona przez Buchnera z grzybków drożdzo-



wych. Różni ona się pod pewnymi względami od enzymów hydrolitycznych. Te ostatnie mianowicie dadzą się wydzielić z organizmów przez wytrawianie ich za pomocą wody i po wydzieleniu działają na rozmaite ciała zupełnie tak, jak sam drobnoustroj; zymaza zaś jest ściślej złączona z zawartością komórek, z ich protoplazmą, gdyż jej z drożdży za pomocą wody wyciągnąć nie można, a daje się z nich wydobyć dopiero po rozdarciu błon komórkowych. Jeżeli istnieją podobne enzymy także w innych drobnoustrojach i tak samo się zachowują jak zymaza, to nie dziwnego, że ich dotychczas używanymi sposobami, przy których komórek nie rozdzielano, jeszcze nie wykryto. Zymaza i przypuszczalnie istniejące inne pokrewne enzymy różnią się od enzymów hydrolitycznych także tem, że podczas gdy procesy chemiczne, wywoływane przez te ostatnie, są wcale proste, mianowicie, że są zwykłymi hydrolizami, to procesy chemiczne, odbywające się przy gniciu i fermentacji są bardziej złożone; zachodzi w tym wypadku nie tylko rozkład, lecz także redukcja i utlenianie. Ogólnie wzięwszy, tak gnilne jak i fermentacyjne procesy należą do jednej kategorii procesów, które możnaby nazwać ogólnie procesami fermentacyjnymi lub fermentacjami dla odróżnienia ich od hydrolitycznych rozkładów czyli hydroliz. Domniemane enzymy, wywołujące te fermentacje, należałoby wraz ze znaną już zymazą nazwać enzymami fermentacyjnymi.

**Zachowanie się bakterij przy rozmaitych temperaturach.** Dla życia i rozwoju bakterij niezbędny jest pewien stopień ciepła. Temperaturę, przy której pewien organizm najlepiej się rozwija, nazywamy temperaturą optymalną jego rozwoju, czyli *optimum* temperatury. Każdy gatunek bakterij ma, naturalnie, swoje optimum, które jest zresztą nieco zmienne i zależne od chemicznego składu, koncentracji i innych własności gleby odżywczej.

Jeżeli temperaturę gleby odżywczej będziemy podnosić powyżej *optimum*, wtedy czynności życiowe bakterij będą się objawiały coraz słabiej; w końcu dojdziemy do temperatury, przy której bakteria staje się nieczynną, chociaż jest jeszcze żywą. Ten stopień ciepła nazywamy temperaturą zamierania. Przy dalszem podgrzewaniu dojdziemy do pewnego *maximum* temperatury, przy której bakteria ginie. Analogicznie



mamy poniżej optymalnej temperatury, temperaturę zamierania oraz *minimum*, poniżej którego bakteria ginie.

Tak temperatury zamierania, jak też maxima i minima, przy których bakteria ginie, są dla rozmaitych gatunków rozmaite. W ogólności można powiedzieć, że wegetatywne komórki giną zazwyczaj poniżej 100° C, lub co najwyżej przy 100°, zarodniki zaś czasem dopiero przy znacznie wyższych temperaturach. Co do minimum, to bakterie wytrzymują temperatury nawet poniżej 0° leżące, bez doznawania najmniejszego uszczerbku w swej sile życiowej.

**Zachowanie się bakterij wobec tlenu powietrza.** Niektóre bakterie wymagają dla swego rozwoju obecności powietrza, którego tlen jest im potrzebny do życia, inne znowu bakterie mogą się tylko wtedy rozwinąć, jeżeli powietrza, względnie tlenu nie ma. Bakterie pierwszego rodzaju zwiemy, według Pasteura, bakteriami aerobijnymi czyli aerobami, drugiego rodzaju zaś bakteriami anaerobijnymi czyli anaerobami. Oprócz powyższych dwóch rodzajów mamy także takie, które mogą żyć tak w powietrzu jak też bez niego.

**Wpływ światła na bakterie.** Długo czas mniemano, że światło nie odgrywa w życiu bakterij żadnej roli, gdyż one nie zawierają chlorofilu, który, jak wiadomo, jest pośrednikiem u roślin, budujących swe tkanki z kwasu węglowego pod wpływem promieni słonecznych. Z czasem przekonano się jednak, że wpływ światła na bakterie i na ich objawy życiowe istnieje. Już w r. 1877 i 1878 stwierdzili Downes i Blunt, że rozprószone światło dzienne znacznie opóźnia rozwój bakterij, a bezpośrednie działanie promieni słonecznych rozwój ten nawet wstrzymuje. Późniejsze badania wykazały, że dostatecznie długie działanie światła słonecznego niszczy bakterie oraz najbardziej odporne zarodniki tych organizmów.

Co do wrażliwości na działanie tego czynnika istnieją jednak różnice, stosownie do gatunku bakterij, do okresu ich rozwoju i do chemicznego składu gleby odżywczej, na której przebywają.

**Wpływ prądu elektrycznego na bakterie.** Rozmaici uczeni wykonywali badania nad wpływem elektryczności na bakterie i stwierdzili, że wpływ prądu elektrycznego jest mniejszy lub większy, stosownie do jego napięcia. Przy pomocy



prądu można bakteryę zniszczyć. Przyczyny tego objawu mogą być dwojakiego rodzaju; prąd elektryczny, przechodzący przez glebę, w której bakteryę się znajdują, może w niej wytworzyć ciała rozkładowe, działające zabójczo na drobnoustroje, a więc może na bakteryę działać pośrednio, albo też sam prąd może wpływać na nie bezpośrednio, a wtedy sama istota prądu bakteryom szkodzi, względnie je uśmierca.

**Wpływ mechanicznych wstrząszeń na bakteryę.** Badania w tym kierunku są jeszcze niedostateczne, lecz wyniki tych, które dotąd wykonano, są tak interesujące, że przytoczymy je na tem miejscu. Dalsze badania pod tym względem niewątpliwie przyniosą praktyce w przemysłach fermentacyjnych wielkie korzyści.

Pierwszym, co rozpoczął badania nad wpływem mechanicznych wstrząszeń na bakteryę, był Horwath. Przekonał on się, że gdy poddać hodowlę bakteryj w płynie ciągłemu wstrząsaniu przez 24 godzin, to one w tym płynie wcale się nie rozwijają. Tą samą sprawą zajmowali się później Nägeli, Hansen, Reinke, H. Buchner i wielu innych; otrzymali oni rozmaite, nieraz bardzo sprzeczne rezultaty. W końcu okazał Meltzer niewątpliwie, że długo trwające drgania w płynie odżywczym zupełnie niszczą znajdujące się w nim bakteryę. Doświadczenie swoje wykonał Meltzer w sali maszynowej jednego z dużych browarów Nowego-Yorku, w której wskutek bezustannego ruchu maszyny parowej objawiały się ciągle drgania wszystkich przedmiotów. Postawił on w tej sali kilka flaszek z hodowlami bakteryj i przekonał się, że po czterech dniach bakteryę w tych flaszkach były zniszczone, podczas gdy w takich samych flaszkach pozostawione poza obrębem fabryki rozmnożyły się w normalny sposób.

**Wpływ odczynników chemicznych na bakteryę.** Naturalne gleby odżywcze reagują alkalicznie, obojętnie, albo kwaśno. Stosownie też do tej reakcyi mogą się w tych glebach jedne gatunki bakteryj rozwijać, a inne nie, gdyż jednym sprzyja reakcyja słabo alkaliczna lub obojętna, innym zaś tylko kwaśna. Stopień takiej reakcyi odgrywa tu także niepoślednią rolę. Tak n. p. bakteryę gnilne w kwaśnych płynach rozwijać się nie mogą, podczas gdy takie płyny wielu bakteryom fermentacyjnym sprzyjają; z tych ostatnich znowu n. p. bakteryę kwasu



mlekowego będą się dobrze rozwijały jeszcze w płynie, który zawiera 1.5% kwasu mlekowego, gdy bakteriom kwasu masłowego ta ilość kwasu mlekowego rozwijać się już nie pozwalała. -- Niemniej ważną rolę odgrywa tu też jakość odczynnika, który tę lub ową reakcję wywołuje. Doskonały dowód na to mamy w tem, że bakterie kwasu mlekowego, które znoszą 1.5% tego kwasu w płynie odżywczym, giną przy znacznie mniejszej zawartości kwasu masłowego w tej glebie. Kwas masłowy bowiem jest dla nich już w bardzo małej ilości trującą.

Takich trucizn przeciw bakteriom znamy wielką liczbę. Przytoczyliśmy najgłówniejsze z nich na wstępie, gdy była mowa ogólnie o dezynfekcyi. Tu należy nam wspomnieć o tem, że, stosownie do ilości tych trucizn w glebie odżywczej, działają one na jeden i ten sam gatunek bakteryj rozmaicie.

W słabych dawkach mogą te środki nie wstrzymywać rozwoju bakteryj, lecz tylko hamować je w działaniu na glebę odżywczą. Nazywamy to działanie osłabianiem.

W dawkach większych wstrzymują one rozmnażanie się bakteryj, jednokowoż nie niszczą ich. Mówimy wtedy o asepsyi.

Przy dalszem wzmożeniu dawki środki dezynfekcyjne zabijają wegetatywne komórki bakteryj, lecz nie niszczą ich zarodników trwałych. Mówimy wówczas o antysepsyi.

W końcu mogą one w odpowiednich dawkach zniszczyć tak wegetatywne komórki jak i trwałe zarodniki, a wtedy zachodzi właściwa dezynfekcyja.

## Szczegółowy opis bakteryj.

**Bakterie fermentacyjne i procesy przez nie wywoływane.**

### Bakterie kwasu mlekowego.

Od niepamiętnych zapewne czasów znają ludzie objaw kwaśnienia mleka, lecz dopiero w r. 1780 udało się sławnemu chemikowi szwedzkiemu, Scheele'emu wydzielić z takiego mleka kwas i poznać nieco bliżej jego własności.



Pierwszym, co drobnoustroje spostrzegł w kwaśnem mleku, był Audry. Spostrzeżenie to zrobił około 1701 r., jednakowoż nie wiedział, że widziane przez niego jestestwa są przyczyną powstawania kwasu. To poznał dopiero Pasteur, który w r. 1857 opisał drobnoustrój, wytwarzający kwas mlekowy (fig. 35).

Jakkolwiek więc Pasteur jak najdokładniej zdawał sobie sprawę z przyczyn powstawania kwasu mlekowego, nie umiał jeszcze wydzielić w czystej hodowli drożdżami mlekowemi (*levure lactique*), a odgrywającego tu rolę, nie było bowiem wówczas jeszcze odpowiedniej metody. Pierwszą czystą hodowlę tego organizmu otrzymał dopiero Lister w r. 1877 i nadał mu nazwę *bacterium lactis*. Po Pasteurze i Listerze wielu innych uczonych odkryło inne organizmy mikroskopowe, wytwarzające kwas mlekowy.

Najważniejsze z nich przytaczamy poniżej.

**Bacillus acidi lactici.** Hueppe wydzielił w r. 1884. w czystej hodowli bakterję powyższą z kwaśnego mleka i zakaził nią mleko wyjałowione. Mleko zakażone skwaśniało, przytem cukier mlekowy tego płynu odżywczego zamienił się na kwas mlekowy i kwas węglowy.

Według Hueppego grzybek ten tworzy dwójki lub czwórki złożone z pojedynczych, stykających się ze sobą pałeczek dłuższych lub krótszych. Te pałeczki mają 1—2·5 mikrom długości i 0·3—0·4 mikrom grubości (fig. 36) W żadnym okre-

sie swego rozwoju nie okazują samoistnego ruchu i tworzą w niesprzyjających warunkach zarodniki. Najlepiej rozwija się ten grzybek, według Hueppego, przy temperaturach pomiędzy

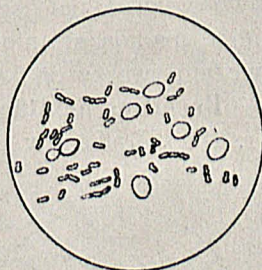


Fig. 35. Bakterie kwasu mlekowego (wedł. Pasteura). Aby uwidocznić wielkość ich, wrysowano kilka komórek drożdżaków.

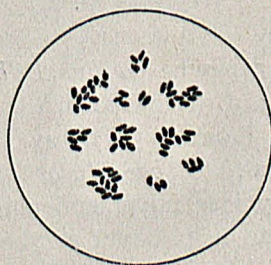


Fig. 36. *Bacillus acidi lactici* (wedł. Lehmann). Powiększenie 800.



34 i 42°C. Poniżej 10° przestaje się rozmnażać, a powyżej 45°C ustają też inne objawy życiowe, zwłaszcza tworzenie się kwasu. *Bacillus* ten jest aerobem i wydziela enzym diastatyczny.

**Bacterium acidilactici.** Zopf wydzielił grzybek ten z zacieru, sporządzonego z 200 gr. suchego słodu i 100 cc. wody, a ukwaszonego przy temperaturze 50°C. Rozwija on się też w roztworach cukru mlekowego i tworzy na ich powierzchni ciekłą powłokę. Osobniki tego grzyba mają początkowo wygląd pałeczek, ułożonych w nitkowate szeregi, później rozpadają się niektóre pałeczki na kokki. W płynie odżywczym tworzy on kwas mlekowy.

**Bacillus acidificans longissimus.** Bakteryę tę wydzielił w r. 1896. Lafar w czystej hodowli z ukwaszonego zacieru drożdżowego gorzelni w Lietzen, a w gorzelni w Hohenheim pierwszy raz zastosował do zakwaszania takich zacierków (fig. 37).

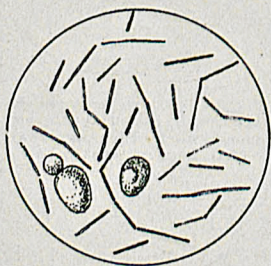


Fig. 37 *Bacillus acidificans longissimus* (w zacierku drożdżowym). Powiększenie 650.

Ma ona zwykle 2,5 mikrom długości, nieraz jednak nawet dziesięć razy większą. Grubość pałeczek wynosi zawsze około 1 mikrom. Grzybek ten wytwarza w zacierach gorzelnianych szybko wielką ilość kwasu, w mleku zaś się nie rozwija.

Identyczny z tym grzybkiem jest zapewne *bacillus Delbrückii*, otrzymany w czystej hodowli przez Leichmanna prawie w tym samym czasie, w którym Lafar wykrył swój *bac. acidif. longissimus*. Leichmann zbadał, że *bac. Delbrückii* wytwarza lewoskrętny kwas mlekowy i że nie przemienia cukru mlekowego na kwas mlekowy, jak to n. p. czyni grzybek, wykryty przez Pasteura i *bacillus acidilactici* Hueppego.

**Pediococcus acidilactici.** Lindner wykrył ten grzybek w wyciągu słodowym. Drobnoustrój ten, hodowany w takim wyciągu przy 41°C. wytwarza znaczne ilości kwasu mlekowego. W niewyjałowionym wyciągu słodowym rozwija on się przy tej temperaturze tak silnie i szybko, że zagłusza wszel-



kie inne bakterye. Stwierdzono, że wobec niego znikają pałeczkowate bakterye kwasu mlekowego, hodowane przez nas w gorzelnianych zacierkach drożdżowych. Zdaje się, że ten grzybek rozwija się bez przystępu powietrza lepiej, aniżeli przy jego dostępie. Jego wegetatywne, kulkowate komórki rozmnażają się przez rozszczepianie w dwóch kierunkach, wskutek czego nierzadko można spostrzedz cztery komórki, związane w czwórkę (fig. 38).

**Saccharobacillus Pastorianus**, wykryty przez van Lamera, przedstawia rozmaicie długie nitki. Jest to grzybek, wywołujący choroby piwa.

Obok przemiany cukru na kwas mlekowy wywołuje też rozkład ciał proteinowych na ciała cuchnące, wskutek czego piwo mętniejąc przybiera nieprzyjemny smak i zapach.

Z powyższego widzimy już, że można rozróżnić dwie grupy bakteryj, wytwarzających kwas mlekowy: bakterye, które wytwarzają ten kwas tak z maltozy jak i z cukru mlekowego, oraz bakterye, które kwasu mlekowego z tego drugiego cukru nie wytwarzają. Stosunki te nie są dotychczas u wszystkich gatunków bliżej zbadane.

Jak już na wstępie wspomiano, kwas mlekowy szkodzi bakterjom, które go wytwarzają i gdy pewien procent w glebie odżywczej powstanie, wstrzymuje się dalszy ich rozwój i działalność. Otóż niektóre gatunki znoszą większą ilość kwasu w płynie odżywczym i wskutek tego więcej kwasu wytwarzają, inne znów niezdolne są do znoszenia tych ilości kwasu, mniej go też wytwarzają.

Te i tym podobne fakta, spostrzeżone w praktyce fermentacyjnej, dowodzą jasno, że w naszych gorzelniach i innych zakładach, gdzie się odbywa fermentacja, mamy do czynienia z rozmaitymi gatunkami bakteryj kwasu mlekowego i ich odmianami. Badania bakteriologiczne, w tym kierunku przeprowadzone, zgotują nam zapewne jeszcze niejedną niespodziankę.

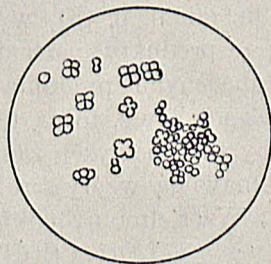


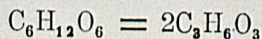
Fig. 38. *Pediococcus acidilactici* (wedł. Lindnera).



Wszystkie powyżej wymienione i inne, jeszcze tu nie przytoczone bakterye wytwarzają z rozmaitych cukrów kwas mlekowy.

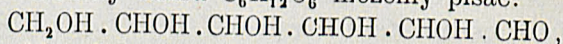
Proces ten nazywamy fermentacją mlekowo-kwasową.

Ponieważ cukry, o których tu może być mowa, dadzą się sprowadzić do cukrów o wzorze  $C_6H_{12}O_6$ , a kwas mlekowy m wzór  $C_3H_6O_3$ , piszemy zazwyczaj równanie, według którego ma się cukier rozkładać na kwas mlekowy, następująco:

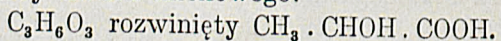


Równanie to jest jednak bardzo problematyczne i może tylko w przybliżeniu dać nam obraz procesu, jaki się rzeczywiście odbywa. Pominąwszy bowiem już to, że przy fermentacji mlekowo-kwasowej powstają inne jeszcze produkty rozkładu, jak n. p.  $CO_2$  w małej ilości, a my wcale nie wiemy, czy te produkty pochodzą z ubocznych fermentacyj, czy też są ubocznymi produktami przy procesie rozkładu cukru na kwas mlekowy, to za tem, że proces ten nie jest tak prostym, jakby to z powyżej zamieszczonego równania wnosić można, przemawiają wzory strukturalne cukru i kwasu mlekowego.

Wzór drobin cukru  $C_6H_{12}O_6$  możemy pisać:



a wzór drobin kwasu mlekowego:



Widzimy z tych wzorów, że nie można otrzymać dwóch drobin kwasu mlekowego przez proste rozszczepienie drobin cukru i że przeto przy powstawaniu tego kwasu muszą zachodzić procesy z jednej strony utleniające, z drugiej zaś redukujące.

Proces powyższy był od dawna przedmiotem badań praktyków i teoretyków. Główne wiadomości pod tym względem zawdzięczamy Hayduckowi.

Co do czasowego przebiegu ukwaszania zacierku drożdżowego w gorzelnii stwierdził Hayduck, że:

po godzinach	powstało kwasu mlekowego w gr. na litr.
11	0,675
12	1,575



po godzinach	powstało kwasu mlekowego w gr. na litr.
13	2,835
14	4,255
16	6,075
18	7,065
48	11,340

W jednej godzinie powstało zatem kwasu mlekowego przeciętnie:

Od początku do 11 godziny	0,061 gr. w litrze
" 11 " 12 "	0,900 " " "
" 12 " 13 "	1,260 " " "
" 13 " 14 "	1,420 " " "
" 14 " 16 "	0,910 " " "
" 16 " 18 "	0,495 " " "
" 18 " 48 "	0,142 " " "

Z powyższych liczb widzimy, że fermentacja jest na początku słaba, później się wznaga, między 13 a 14 godziną osiąga swój szczyt, aby potem opadać. Hayduck porównał ten objaw nierównomiernego przebiegu tej fermentacji z podobnymi objawami przy fermentacji alkoholowej, t. zw. fermentacją wstępną czyli wznagającą się, główną czyli pełną i końcową czyli opadającą.

Tlen powietrza nie wpływa według Hayducka na normalny przebieg fermentacji powyższej. Ona odbywa się prawidłowo tak w przystępie powietrza, jak też bez jego przystępu.

Zawartość 2% alkoholu w płynie odżywczym nie szkodzi fermentacji mlekowo-kwasowej, przy 4% jednak tworzy się kwas mlekowy znacznie wolniej, a przy zawartości 6% alkoholu dalsze jego tworzenie się ustaje.

Odkazujące środki w niewielkich ilościach szkodzą bakteriom kwasu mlekowego. Hayduck badał specjalnie zachowanie się tych bakterij wobec kwasu mlekowego i kwasu siarkowego. Okazało się przytem, co następuje:

Zawartość kwasu mlekowego w płynie odżywcym.	Wytworzyło się po 48 godzinach gr. kwasu mlekow. w 1 litrze.
0,0%	9,99 gr.
0,5 "	3,83 "
1,0 "	0,99 "
1,5 "	0,45 "



Jak z tego widzimy, to bakterye te nie mogą znieść wiele ponad 1·5% kwasu w płynie odżywcym; w takim płynie rozwijają się już nieznacznie. Potwierdza się tu zatem reguła, że produkty, wytwarzane przez bakterye są, ponad pewną koncentrację, dla nich trującą.

Co do wpływu kwasu siarkowego na przebieg fermentacyi mlekowo-kwasowej stwierdził Hayduck, że 0,03% kwasu siarkowego w płynie odżywcym działa już szkodliwie, lecz fermentacyi nie powstrzymuje, że jednak już 0,04% tego kwasu uniemożliwia dalsze powstawanie kwasu mlekowego.

## Bakterye kwasu masłowego.

Kwas masłowy został wykryty przez Chevreula w roku 1814, a to w masle, skąd pochodzi jego nazwa. Że kwas ten można otrzymać także przez fermentację, odkrył Marchand w r. 1840. Przyczyn powstawania tego kwasu wówczas nie znano.

Znowu był to Pasteur, który przyczynę tę poznał, odkrywając w r. 1861 organizmy, wytwarzające ten kwas przy fermentacyi. Drobnoustrój przez siebie wykryty, stanowiący jego „*ferment butirique*“ nazwał on *vibron butirique* i uważał go za wymoczek, spostrzegł bowiem, że w płynie odżywcym szybko się porusza. Spostrzegł także, że jego *vibron butirique* żyje tylko bez przystępu powietrza, skutkiem czego było to, że Pasteur podzielił drobnoustroje fermentacyjne na aeroby i anaeroby.

Pierwszą, obszerniejszą i poniekąd klasyczną pracę nad własnościami bakteryj kwasu masłowego, nad sposobem ich rozmnażania się i t. d. wykonał A. Prażmowski. Opisy też rozmaitych gatunków tych drobnoustrojów zaczynamy od bakteryi, wykrytej przez naszego badacza.

**Clostridium butyricum** (Prażmowski). Badanie swe wykonał Prażmowski w czasie od 1877—1880 r. Według niego grzybek ten jest bardzo rozpowszechniony. Znajduje się często w mięsistych korzeniach rozmaitych roślin, w bulwach kartofli, gdzie powoduje znaną mokrą zgniliznę, w kwaśnej kapuście, w kiszonych ogórkach, w zacierach gorzelnianych, w rozmaitych sokach cukrowych jak n. p. w soku burakowym fabryk cukru, w starym serze i t. d.



Wzmianki godnym jest fakt, że według Van Tieghema znaleziono w skamieniałych drzewach z epoki węglowej ślady istnienia tego grzybka w drzewie już w tej epoce.

Bakterya ta występuje w rozmaitych postaciach; znamy krótkie pałeczki, długie utwory albo też nitki (fig. 39.). Czasem te pałeczki są lekko

wygięte. Przed tworzeniem się zarodników, powstających tak w dłuższych, jak też krótszych pałeczkach, grubieją komórki tego grzybka w jednym miejscu wskutek gromadzenia się tam plazmy. Jeżeli to zgrubienie odbyło się po środku komórki, to powstają kształty wrzecionowate albo elipsoidalne, jeżeli zaś to zgrubienie odbyło się na jednym końcu, wówczas przybiera ona wygląd maczugi. W miejscach zgrubienia powstają zarodniki. Zazwyczaj powstaje jeden zarodnik, czasami dwa; wtedy znajdują się na przeciwległych końcach komórki.

Zarodniki tego grzybka rozwijają się w ten sposób, że w sprzyjających warunkach pęcznieją, poczem komórka, rozwijająca się we wnętrzu zarodnika, rozsadza jego błonę w jednym miejscu i wysuwa się na zewnątrz. Tu rozrasta się ona jak zwykła komórka wegetatywna i rozmnaża się dalej przez rozszczepianie się.

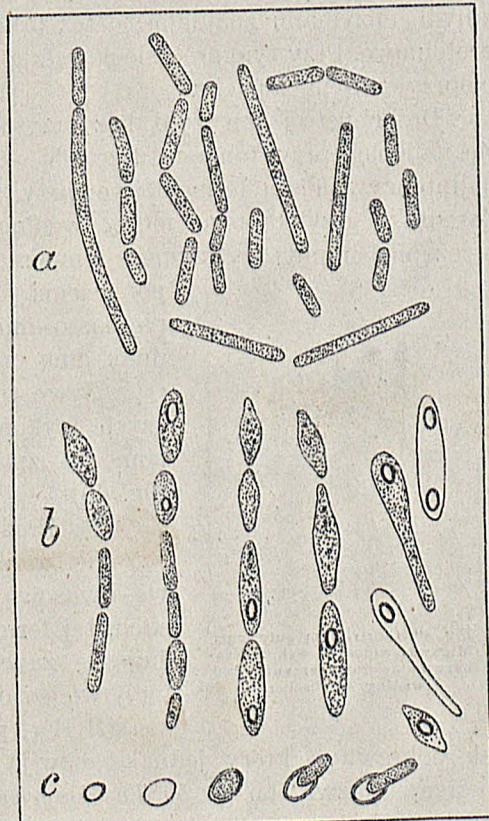


Fig. 39. *Clostridium butyricum* (wedł. Prażmowskiego). Powiększ. 1020. a) Komórki wegetatywne. b) Tworzenie się zarodników. c) Kielkowanie zarodników.



W płynach, zawierających cukier lub też inne pokrewne ciała, wywołuje *Clostridium butyricum* fermentację masłowo-kwasową. Węglowodany (cukier i t. p.) zamieniają się na kwas masłowy, przyczem powstaje wodór i kwas węglowy. Komórki tego grzybka wydzielają rozmaite enzymy, z których jeden rozpuszcza cellulozę (drzewnik), inny skrobię. Pomiedzy wydzielanymi enzymami znajduje się też taki, który peptonizuje ciała proteinowe. Przy tym procesie powstają też ciała gorzkie, o wielce nieprzyjemnym zapachu.

Drobnoustrój ten żyje bez przystępu powietrza. Rozwija się najlepiej przy temperaturze 35–40° C i wywołuje wtedy najintensywniejszą fermentację; przy 30° jest ona już słabsza. Zarodniki grzybka tego mogą, według badań Prażmowskiego, przez pięć minut wytrzymać temperaturę wrzącej wody bez poniesienia jakiegokolwiek szkody, po piętnasto-minutowem gotowaniu jednak giną one.

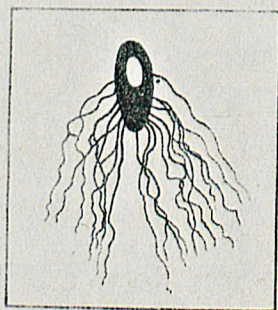


Fig. 40. *Clostridium butyricum*  
Migawki widoczne wskutek za-  
barwienia Powiększenie 2000.  
(według A. Fischera).

Zywe ruchy w płynach odżywczych wykonywa ten grzybek przy pomocy znacznej ilości migawek (fig. 40).

Po Prażmowskim zajmowali się rozmaici badacze fermentacją masłowo-kwasową i wykazali, że w płynach, tej fermentacji uległych, znajduje się zawsze kilka gatunków bakterij wielce do siebie podobnych. Tak znalazł Hueppe w roku 1884 grzy-

bek pokrewny, który jednak rozwija się w przystępie powietrza. Nazwał on go *bacillus butyricus*. Liborius wykrył podobny drobnoustrój w starym serze; wytwarza on obok kwasu masłowego nadzwyczaj cuchnące ciała. Nazwany został wskutek tego przez Liboriusa *clostridium foetidum*.

**Bacillus mesentericus vulgaris.** Bakteryę tę odkrył Flügge na kartoflach, na których tworzy brudno-białe kolonie i rozwija się dobrze tak w zwykłej temperaturze, jak też w temperaturach od 30–40° C. Wydziela kilka enzymów, pomiędzy innymi enzym peptonizujący i enzym diastatyczny. W odpowiednich warunkach tworzy zarodniki. W płynach od-



żywych porusza się dość szybko przy pomocy wielkiej ilości migawek.

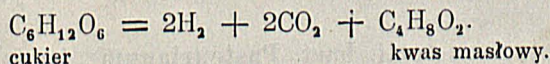
**Bacillus mesentericus fuscus**, podobny do poprzedniego, wytwarza na kartoflach żółtawe kolonie, które z czasem mniej lub więcej brunatnieją. Wydziela również rozmaite enzymy, pomiędzy innymi także peptonizujący.

**Bacillus mesentericus ruber**, wykryty przez Globiga, zupełnie podobny do poprzednich dwóch, tak co do kształtu, jak też swych własności enzymatycznych, różni się od nich tylko tem, że kolonie jego na kartoflach mają kolor różowy. Zarodniki tego grzybka odznaczają się wielką wytrzymałością na wpływ środków odkażających i wysokiej temperatury. Według Globiga giną one w jednoprocentowym roztworze sublimatu dopiero po  $1\frac{1}{2}$  godziny, w pięcioprocentowym zaś roztworze karbolu dopiero po 14 dniach. W parze o  $100^{\circ}$  giną te zarodniki po  $5\frac{1}{2}$ —6 godzinach, w parze o  $109$ — $123^{\circ}$  nie giną po trzech kwadransach nawet. Przy temperaturze  $113$  do  $116^{\circ}$  giną w 25 minutach, przy  $122$ — $123^{\circ}$  w dziesięciu minutach, przy  $127^{\circ}$  w 2 minutach, przy  $130^{\circ}$  natychmiast.

Powyższe trzy gatunki bakteryj, obok innych, znane są pod nazwą bakteryj kartoflowych. Przebywają one na polach w ziemi, a stąd przechodzą ich zarodniki z pyłem na ziarna zbożowe, z którymi dostają się do słodu gorzelnii, fabryk drożdży i browarów.

**Bacillus amylozymus**. L. Perdrix wydzielił tę bakterję z wody. Jest to grzybek, żyjący bez przystępu powietrza i wywołujący fermentację w roztworach cukrowych, przyczem powstają wodór, kwas węglowy, kwas octowy i kwas masłowy. Wydziela on znaczne ilości enzymu diastatycznego, przy którego pomocy zamienia skrobię na cukier i tak przysposabia sobie materiał do fermentacji.

Równanie, którem wyrażamy dotychczas proces rozkładu cukru na kwas masłowy, kwas węglowy i wodór, jest dość proste, a mianowicie:





O tem równaniu da się to samo powiedzieć, cośmy powiedzieli już przy omawianiu równania fermentacyjnego rozkładu cukru na kwas mlekowy. Może ono być tylko mniej lub więcej przybliżonym obrazem tego rozkładu, który niewątpliwie jest procesem bardzo zawiłym.

## Bakterye kwasu octowego.

W latach 1837—1838 wypowiedzieli Turpin i Kützing równocześnie zdanie, że fermentację octowo-kwasową wywołuje pewien drobnoustrój. Kützing opisał go i nazwał wówczas *ulvina aceti*. Długi czas nie robiono żadnych badań w tym kierunku; dopiero Pasteur zajął się tym procesem dokładnie, a wyniki tych badań swoich ogłosił w r. 1868 w dziele „Etudes sur le vinaigre”. Badaniami temi wykazał on niezbiecie, że

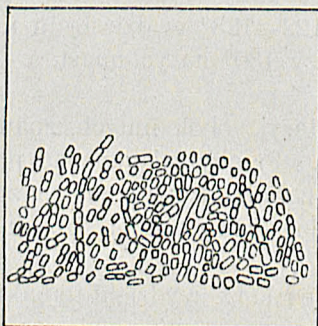


Fig. 41. Bact. Kützingianum (według Hansena). Powięk. 1000.

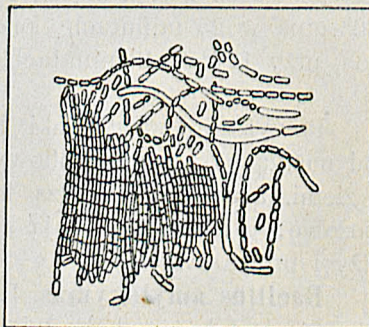


Fig. 42. Bacterium aceti (wedł. Hansena). Powiększenie 1000.

przemianę alkoholu na kwas octowy powoduje drobnoustrój, nazwany przez niego *mycoderma aceti*. W roku 1879 wykazał Hansen, że pod *mycoderma aceti* kryją się co najmniej dwa gatunki bakteryj, które on rozdzielił i nazwał *bacterium aceti* i *bacterium Pasteurianum*. Później wykrył on jeszcze trzeci gatunek, nazwany przez niego *bacterium Kützingianum*. Hansen też był pierwszym, co badał te organizmy w czystej hodowli.

**Bacterium aceti, bact. Pasteurianum, bact. Kützingianum.** Wszystkie te gatunki wykrył Hansen w piwie. Na po-



wierzchni wyjałowionego piwa tworzą te bakterye przy 34° w przeciągu 24 godzin cieniuchną powłoką. Jest ona u *bacterium aceti* wilgotna, śluzowata i gładka, u *bact. Pasteurianum* sucha, a w krótkim czasie po ukazaniu się zaczyna się fałdować. Powłoka, utworzona przez *bact. Kützingianum*, jest podobna do powłoki *bact. aceti*, a różni się od niej tylko tem, że podnosi się po ścianach naczynia ku górze. Przez mikroskop można je po tem poznać, że u *bact. Kützingianum* składa się z samych luźnych komórek (fig. 41), podczas gdy tamte dwa gatunki tworzą powłokę, złożoną z wyraźnych jeszcze sznurków.

*Bact. aceti* różni się od *bact. Pasteurianum* tem, że jego komórki w powłoce są ciensze (fig. 42) i więcej wydłużone, podczas gdy komórki drugiej bakteryi są krótsze i grubsze (fig. 43).

Powłoki, o których wyżej mowa, są zooglejami, t. zn. zewnętrzne warstwy błon komórkowych są przemienione w śluzowatą masę, która przez zlanie się tworzy całość. W niej to są ułożone pojedyncze komórki.

W zwykłych warunkach nie widać przez mikroskop masy śluzowatej, gdyż jest bezbarwna, jeżeli się jednak kawałek powłoki w odpowiedni sposób zabarwi, to można wtedy zoogleję dokładnie zobaczyć.

Wobec roztworu jodu zachowują się śluzowate zoogleje powyższych bakteryj rozmaicie. Zoogleja *bact. Pasteurianum* i *bact. Kützingianum* barwi się roztworem jodu na niebiesko, u *bact. aceti* zaś się nie barwi.

Co do chemicznego składu tej powłoki śluzowatej nie wiemy dotychczas nic.

Najniższą temperaturą, przy której te bakterye się rozwijają, jest dla *bact. aceti* 4—5°, dla *bact. Pasteurianum* 5—6°, dla *bact. Kützingianum* 6—7°, najwyższą zaś, przy której rozwój

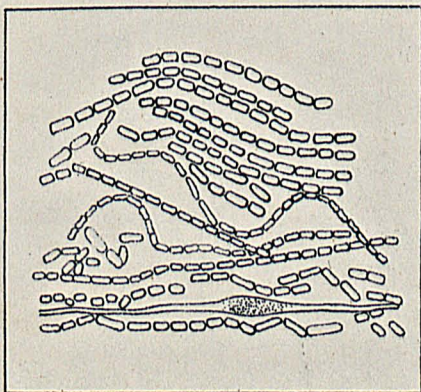


Fig. 43. *Bacterium Pasteurianum* (według Hansena). Powiększenie 1000.



jeszcze się objawia, jest dla wszystkich gatunków 42°. Optimum temperatury rozwoju jest 34°.

Jeżeli się hoduje *bact. Pasteurianum* na wyjałowionem piwie przy 34°, wtedy występują w powłoce tylko krótkie pałeczki, ułożone obok siebie w kształcie łańcuszków. Po przeniesieniu jednak małej cząstki takiej młodej powłoki do piwa, ogrzanego do 40° i stale utrzymywanego przy tej temperaturze, wydłużają się komórki i już po kilku (8—9) godzinach (fig. 44) widzimy w hodowli tylko długie pałeczki, które po

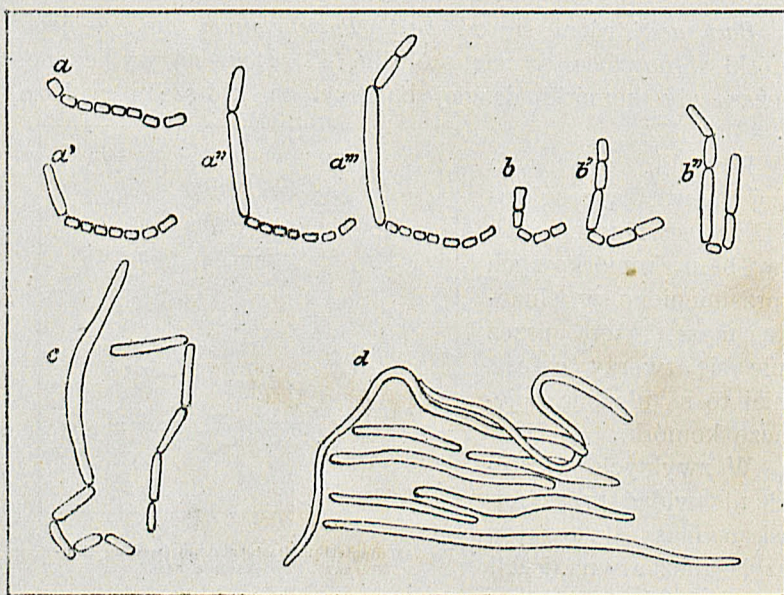


Fig. 44. *Bacterium Pasteurianum* (według Hansena). Powiększ. 1000. Przemiana krótkich pałeczek na długie nitki. *a* Szereg 8 pałeczek *a'* *a'''* po 6, 10 i 20 godzinach *b* Szereg 5 pałeczek; *b'*—*b'''* po 6 i 9 godzinach. *c* i *d* po 10 i 20 godzinach.

części porozdzielały się, po części zaś tworzą jeszcze łańcuszki. Po dalszych 4 godzinach atoli nie widać już krótkich pałeczek, lecz same długie, mające do 40 mikrom. długości. W końcu po dalszych 11—12 godzinach znajdujemy w hodowli prawie wyłącznie tylko długie nitki o 200 mikrom. długości (fig. 45).

Gdy te długie nitki wprowadzimy ponownie do płynu odżywczego (piwa), ogrzanego tylko do 34° i przy tej temperaturze dalej hodować je będziemy, spostrzeżemy już po 4 go-



dzinach silne wybrzuszenia (fig. 46) u poszczególnych komórek i równocześnie rozpadanie się tych nitek poza wybrzuszeniem na krótkie pałeczki (fig. 46 i 47) takie, jakie pierwotnie stanowiły powłokę. Po ukończeniu się tego procesu rozpadania nitek na krótkie odcinki, pozostają wybrzuszone części

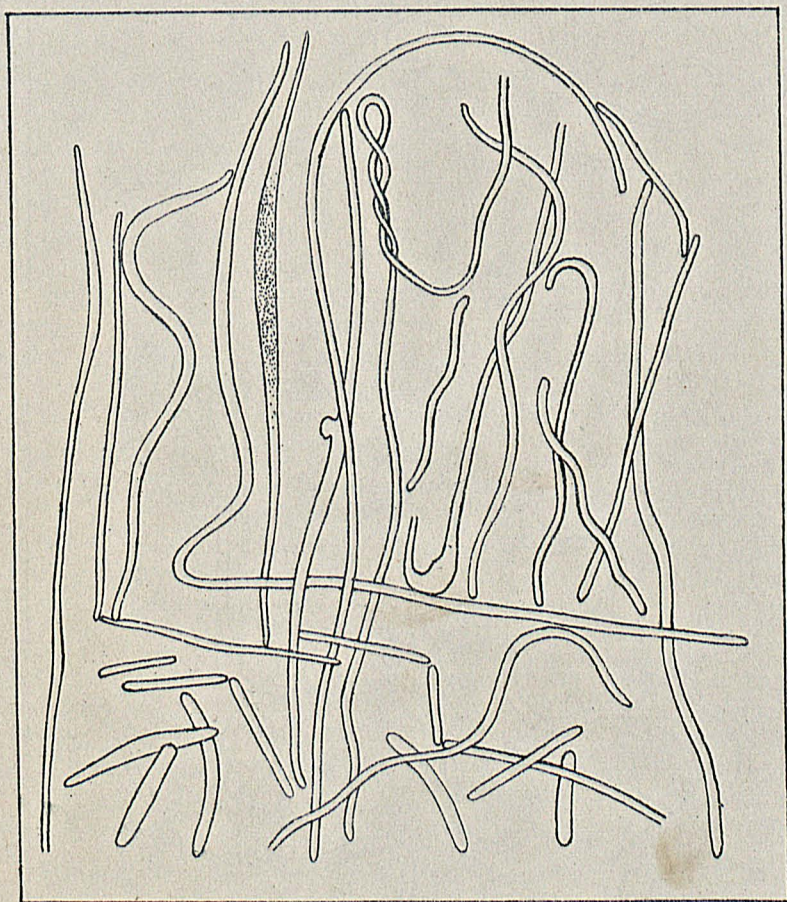


Fig. 45 *Bacterium Pasteurianum*. Nitki po 24 godzinnej hodowli przy 40° C. (według Hansena) Powiększone 1000.

początkowo bez zmiany, po jakimś czasie jednak pęcznieją i wreszcie rozpuszczają się w płynie zupełnie.

Powyższe spostrzeżenia Hansena wykazują, jaki wpływ ma temperatura na kształt komórki organizmów. Podobnie



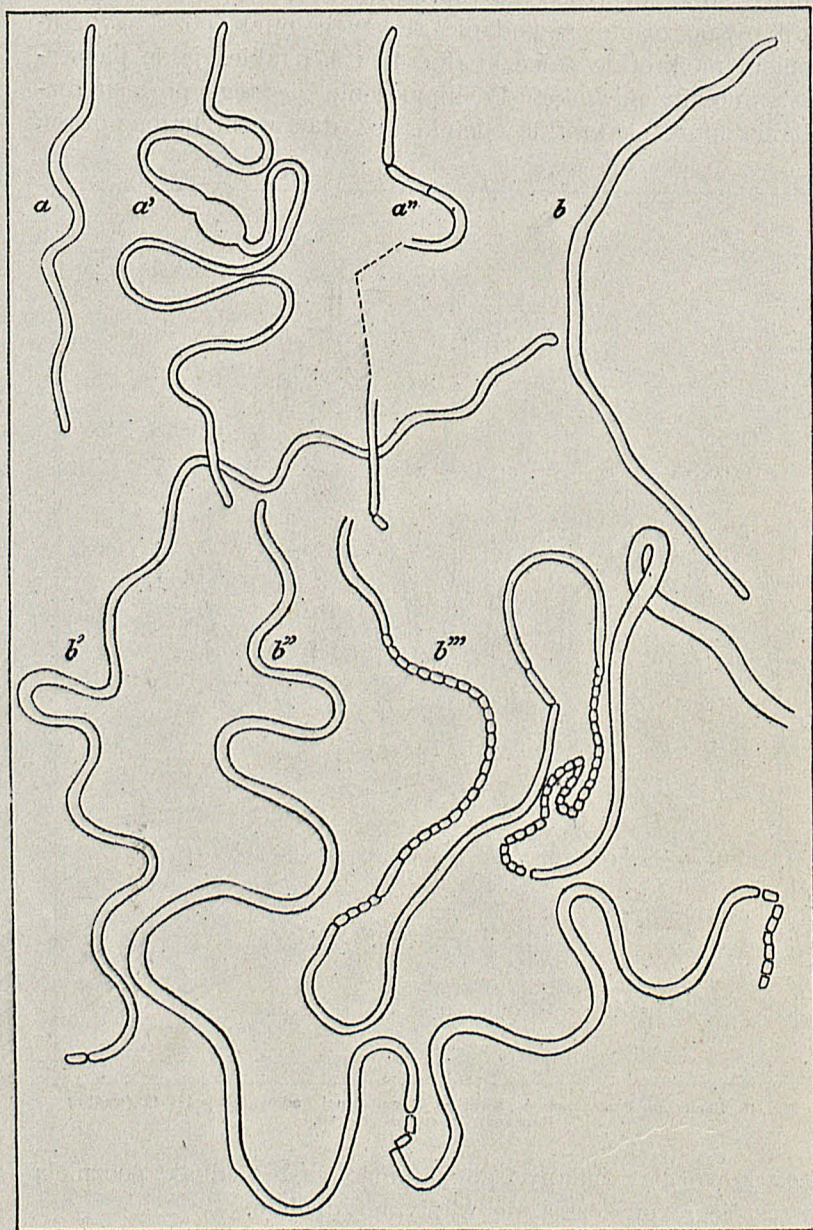


Fig. 46. *Bacterium Pasteurianum*. Przemiana nitki w szeregi pałeczek w hodowli przy 34° C. a) Nitka na początku doświadczenia. a' Ta sama nitka po 5 1/2 godzinach, a'' po 7 godzinach (silnie wybrzuszoną część środkową wypuszczono na rysunku). b) Nitka na początku doświadczenia. b' po 4 godzinach, b'' po 6 godzinach, b''' po 9 godzinach. (według Hansena). Powiększenie 1000.



jak *bact. Pasteurianum* zachowują się też *bact. aceti* i *bact. Kützingianum*.

Henneberg badał bliżej powyższe gatunki grzybków pod względem zdolności do rozwoju w płynach alkoholowych i co do zdolności utleniania alkoholu na kwas octowy. Oka-

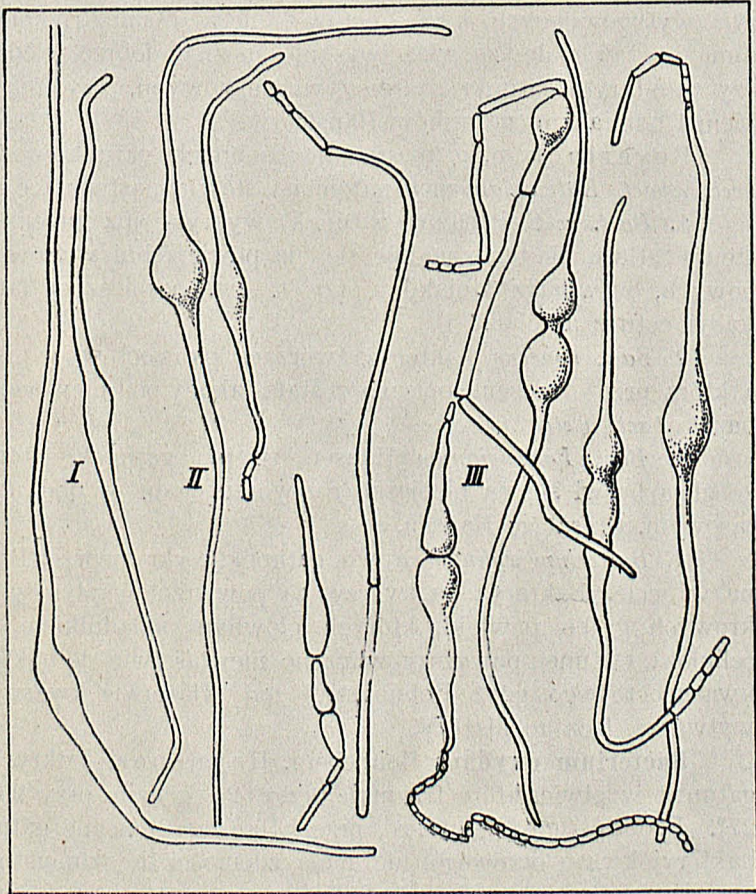


Fig. 47. *Bacterium Pasteurianum*. Przemiana nitok w kształty wybrzuszone i szeregi pałeczek w hodowli przy 34° C. (Wedł. Hansena). Powiększ. 1000.

zało się przytem, że *bact. aceti* może się rozwijać w płynie, zawierającym najwyżej 11% alkoholu, a *bact. Pasteurianum* i *bact. Kützingianum* przy najwyżej 9·5% alkoholu. Przytem wytwarzają *bact. aceti* i *bact. Kützingianum* 6·6%, a *bact. Pa-*



*steurianum* tylko 6.2% kwasu octowego. Doświadczenia Henneberga wykazały także, że wszystkie powyższe gatunki bakteryj utleniają wytworzony kwas octowy dalej, spalając go na kwas węglowy.

Po Hansenie zaczęto wykrywać więcej gatunków bakteryj, wytwarzających kwas octowy, lecz różnice pomiędzy nimi są tak małe, że właściwie nie można dobrze wiedzieć, czy te odkryte gatunki są rzeczywiście nowymi, czy też jakimiś odmianami gatunków Hansena.

Beyerinck n. p. nie uznaje osobnych gatunków *bact. aceti* i *bact. Kützingianum*, a natomiast stawia następujące:

1. *Bact. aceti* Pasteur, gatunek wykryty już przez Pasteura. Gatunek ten znajduje się na powierzchni wiórów dębowych, wewnątrz stojaków przy t. zw. pospiesznej fabrykacji octu z alkoholu.

2. *Bact. rancens*, bakteria, tworząca kwas octowy w piwie, a która przez Hansena opisana została jakoby pod niewłaściwą nazwą *bact. aceti*.

3. *Bact. Pasteurianum* Hansen, tj. ten gatunek, którego zoogleja barwi się na niebiesko roztworem jodu w jodku potasowym. Opisał go Hansen.

4. *Bacterium xylinum* Brown, gatunek, wykryty przez Browna w occie. Bakteria ta tworzy na powierzchni płynów cukrowych grube powłoki, których głównym składnikiem jest celuloza. Gatunek powyższy wliczono niewłaściwie do bakteryj kwasu octowego, gdyż drobnoustrój ten właściwie kwasu nie wytwarza, lecz go niszczy.

**Bacterium oxydans** Henneberg. Henneberg odkrył ten gatunek w piwie, które trzymał przez 24 godzin przy 25 do 27°. Podczas, gdy powyższe, przez Hansena opisane gatunki bakteryj kwasu octowego, nie mają zdolności do samoistnego poruszania się, jak to stwierdził Henneberg, to *bact. oxydans* posiada tę zdolność w wysokim stopniu. Drobnoustrój ten tworzy wprawdzie na piwie powłokę, lecz bardzo cieniutką i która po ścianach naczynia podnosi się ku górze; pod tym względem jest on podobny do *bact. Kützingianum*. Ponieważ komórki tego grzybka mogą się w płynie poruszać same, rozpierchają się w nim przeto w wielkiej ilości i płyn odżywczy



mętnieje. W młodej powłoce tego grzybka można dostrzedz szeregi komórek, czasem ze sobą zetkniętych (fig. 48), podobnie jak u *bact. Pasteurianum*. Henneberg stwierdził że takie zmiany zachodzą także pod wpływem innych czynników, jak np. zmiany jakości gleby odżywczej. Bakteria ta rozwija się jednakowo dobrze w piwie, w odwarze z drożdży, brzeczce słodowej itp. Przy badaniu co do zachowania się wobec sztucznych gleb odżywczych okazało się, że grzybek ten może

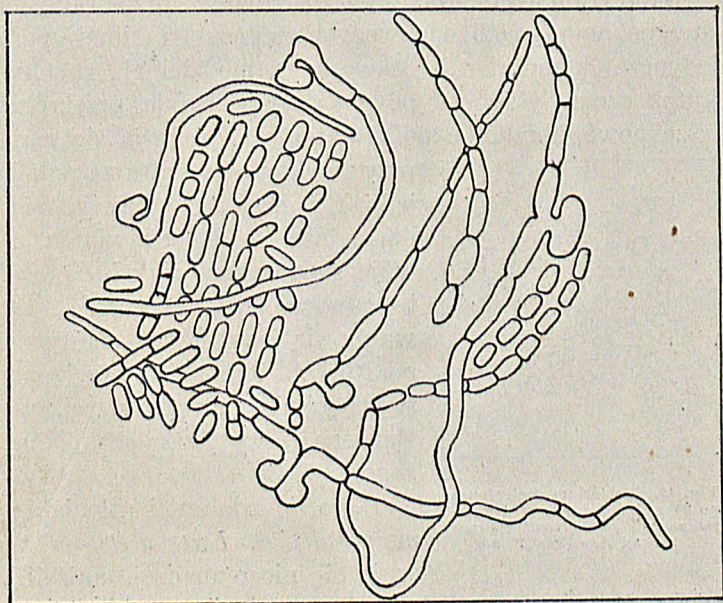


Fig. 48. *Bacterium oxydans* po dwudniowej hodowli przy 26° C (wedł. Henneberga). Powiększenie 1000.

czierać potrzebny mu azot z siarkanu amonowego, saletry, asparaginy, winianu amonowego i peptonu. Z ciał bezazotowych służył mu bardzo dobrze cukier gronowy; alkohole: metylowy, etylowy i propylowy, oraz kwas octowy nie mogły mu służyć za pokarm. Utleniająco działa ta bakteria na alkohol etylowy i propylowy, na lewulozę, dekstrozę, maltozę i na dekstrynę, przyczem z tych ciał powstają kwasy (z alkoholu etylowego kwas octowy). Temperatura optymalna, przy której najwięcej kwasu się tworzy, leży pomiędzy 26—29°.



W płynie lub parze ginie ten grzybek przy 55—60°, w suchem powietrzu ogrzany ginie dopiero przy 97—100°. *Bact. oxydans* może się rozwijać tylko w takich płynach, które nie zawierają więcej niż 7% alkoholu i wytwarzać w glebie odżywczej najwyżej około 2% kwasu octowego. Henneberg stwierdził też, że wytworzonego kwasu grzybek ten dalej nie utlenia na kwas węglowy i pod tym względem także różni się od innych grzybów pokrewnych.

**Bacterium acetosum**, wykryty również przez Henneberga, występuje na płynach odżywczych w postaci silnej powłoki. Pojedyncze komórki nie okazują samodzielnej ruchliwości, wskutek czego płyn pod powłoką jest zwykle przezroczysty. Starsze powłoki fałdują się. Bakteryja ta rozwija się najlepiej

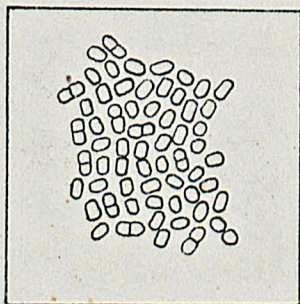


Fig. 49. *Bacterium acetigenum* po 24 godz. hodowli w temperaturze pokojowej (wedł. Henneberga). Powiększ. 1000.

przy zwykłej temperaturze pokojowej, jednak i przy 30° rozwija się ona normalnie. Co do odżywiania, zachowuje się tak samo jak *bact. oxydans*; to samo można powiedzieć o zachowaniu się jego przy rozmaitych temperaturach. Kształt komórek zmienia się podobnie, jak to wyżej, według Hansena, przy jego gatunkach opisano.

Co do zdolności utleniania rozmaitych ciał, *bact. acetosum* zachowuje się nieco inaczej, aniżeli *bact. oxydans*. Utlenia on alkohol etylowy i propylowy, oraz dekstrozę, tak jak *bact. oxydans*, nie utlenia jednak lewulozy, maltozy i dekstryn. Rozwija się w płynie alkoholowym tylko wtedy, jeżeli ten nie zawiera więcej niż 11% tego ciała i wytwarza 6.6% kwasu octowego w glebie odżywczej, a kwas ten utlenia dalej na kwas węglowy. Nadmienić tu należy, że w hodowlach drobnoustroju występuje nadzwyczaj aromatyczny zapach, pochodzący od rozmaitych estrów.

**Bacterium acetigenum** wykrył Hennberg w occie jednej z fabryk w Halli. Grzybek ten tworzy na płynach odżywczych cienką lecz silną powłokę, w której pojedyncze komórki ułożone są bezładnie, co najwyżej po dwie ze sobą

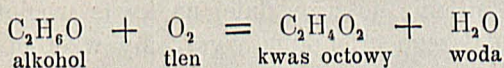


zetknięte. Pod tym względem jest to grzybek podobny do *bact. Kützingianum* (fig. 49).

Co do odżywiania zachowuje się podobnie jak oba poprzednie; jego komórki zmieniają swój kształt przy hodowaniu w wyższej temperaturze. Pojedyncze komórki w młodej hodowli są nadzwyczaj ruchliwe i pod tym względem podobne do komórek *bact. oxydans*, różniące się zaś od wszelkich dotychczas znanych bakterij kwasu octowego. Drobnoustrój ten rozwija się w płynach alkoholowych tylko wówczas, gdy te ostatnie nie zawierają więcej niż 5% alkoholu; w takich płynach może on wytworzyć do 2·7% kwasu octowego. Hodowle tej bakterij odznaczają się także przyjemnym aromatem.

Kwestya co do tożsamości niektórych gatunków bakterij jest, jak widzimy, jeszcze sporną i wymaga dalszych badań. Z dotychczasowych jednak jest pewnem to, że tych gatunków mamy znacznie więcej, aniżeli pierwotnie przypuszczano.

Kwas octowy pod względem chemicznym jest produktem utlenienia alkoholu etylowego; dlatego początkowo tłumaczono sobie jego powstawanie w płynach alkoholowych w bardzo prosty sposób, sądzono mianowicie, że wolny tlen powietrza wprost przy dłuższem działaniu w sprzyjających warunkach łączy się ze składnikami alkoholu, przyczem powstają kwas i woda, a to według równania:



Wykazano w istocie, że pod wpływem pewnego, zresztą obojętnego ciała, mianowicie gąbki platynowej, zachodzi takie połączenie się alkoholu z tlenem powietrza.

Pasteur po wykryciu przez siebie drobnoustroju, *mycoderma aceti*, sprzeciwił się powyższej teorii, gdyż wykazał niezbicie, że właśnie ten organizm jest przyczyną utleniania się alkoholu i że tam, gdzie jego niema, tam też kwas octowy z alkoholu nie powstaje. Co prawda, sądził — zdaje się — Pasteur, że *mycoderma aceti* działa tak samo mechanicznie jak gąbka platynowa, przez zgęszczanie w swych porach tlenu



powietrza i ułatwianie mu tym sposobem jego działania na alkohol.

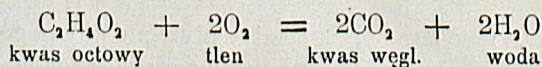
Dopiero Ad. Mayer i W. v. Knieriem wykazali w roku 1873, że proces tworzenia się kwasu octowego jest procesem czysto fizyologicznym, to zn., że odbywa się w komórce organizmu pod wpływem jej żywego ustroju wewnętrznego, a to kosztem tlenu powietrza. Nad bliższą przyczyną tego procesu nie mogli się ci badacze zastanawiać, gdyż nie było wtedy w tym kierunku żadnych danych. Dziś jednak wiemy już, że takie procesy utleniania mogą odbywać się pod wpływem pewnych enzymów.

Tak jak woda hydrolizuje węglowodany w obecności enzymów hydrolitycznych, tak też tlen powietrza w obecności enzymów oksydacyjnych czyli oksydaz utlenia pewne, w zwykłych warunkach pod jego wpływem nieutleniające ciała organiczne.

Komórki organizmów są tylko wytwórczyniami oksydaz, a enzymy te działają na dane ciała bez jakiegokolwiek dalszego udziału uorganizowanego wnętrza komórek, działają tylko chemicznie, łącząc się najprawdopodobniej z jednej strony z tlenem, a z drugiej oddając go łatwo ciałom utlenianym.

Bakterye kwasu octowego prawdopodobnie wydzielają w swem wnętrzu takie oksydazy i przy ich pośrednictwie wytwarzają z alkoholu kwas octowy.

Wiele gatunków tych bakteryj mogą wytworzony przez siebie kwas utlenić jeszcze dalej na kwas węglowy i wodę. Proces tego dalszego utleniania wyrażamy wzorem :



Te bakterye zatem są niszczyicielami kwasu octowego, a pośrednio więc też alkoholu.

## Bakterye alkoholowe.

Do niedawna mniemano, że wytwarzanie alkoholu przez fermentację jest właściwością wyłącznie grzybków drożdżowych. Liczne badania dowiodły jednak, że tak nie jest. Stwier-



dzono mianowicie, że także niektóre grzybki pleśniowe oraz bakterie mogą wytwarzać alkohol.

Pierwszą taką bakterię odkrył Fitz, a H. Buchner zbadał ją bliżej i nazwał

**Bacillus Fitzianus.** Fitz znalazł ten grzybek w wyciągu z siana, sporządzonym na zimno. W wyciągu takim znajduje on się w towarzystwie innych jeszcze bakteryj. Aby go otrzymać w czystej hodowli, zastosował H. Buchner metodę fizyologiczną. Postępuje się przytem w następujący sposób. Zimny

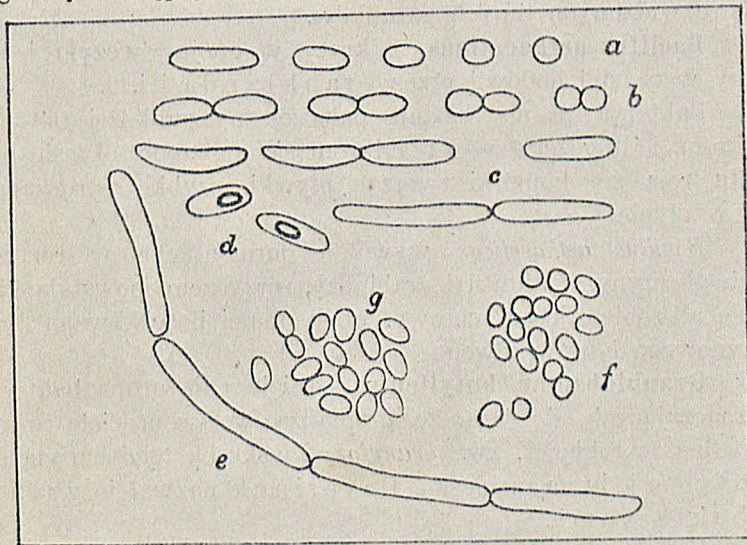


Fig. 50. *Bacillus Fitzianus*. a, b, f, g ziarenki, przemieniające się w pałeczki, c, e pałeczki dłuższe, d pałeczki z zarodnikami. (Według H. Buchnera).

wyciąg z siana pozostawia się w pokoju przy zwykłej temperaturze. Po kilku dniach tworzy się na powierzchni płynu powłoka, zawierająca obok innych bakteryj także *Bacillus Fitzianus*. Małą cząsteczkę tej powłoki wprowadzamy wtedy do wyjałowionego płynu odżywczego, zawierającego 2% bulionu, 5% gliceryny i około 10% kredy. Zakażony ten płyn trzymamy w temperaturze 36°C; wówczas objawia się żywa fermentacja, przy której powstaje obok kwasów także alkohol etylowy. Przez kilkakrotnie powtarzane przeszczepianie drobnej cząstki fermentującego płynu do świeżego, wyjałowionego płynu odżywczego o powyższym składzie ustępują obce ba-



kterye coraz bardziej, *Bacillus Fitzianus* zaś, rozmnażając się bez przeszkód, znajduje się w coraz to większej ilości, a w końcu w czystej hodowli.

Fermentacya, wywoływana przez tę bakterye w roztworze gliceryny, jest tak intensywna, że już po 24 godzinach osiąga swój najwyższy szczyt. *Bacillus Fitzianus* występuje według H. Buchnera w postaci ziarników oraz krótkich i długich pałeczek (fig. 50). Występują tu też postacie pośrednie. Zaznaczyć należy, że pałeczki nie są tak cylindryczne, jak to widzimy u innych gatunków.

**Bacillus aethaceticus**, odkryty w gnoju owczym i badany w czystej hodowli przez Franklanda i i.

Bakterya ta ma kształt pałeczek o szerokości 0·8—1,0 mikrom. i długości 1·5—5·1 mikrom. W pewnym okresie rozwoju roją się komórki tworząc pływki, szybko poruszające się w płynie.

*Bacillus aethaceticus* wywołuje fermentacyę w roztworach gliceryny, mannitu i arabinozy, przyczem powstają głównie alkohol i kwas octowy, obok małej ilości kwasu burztynowego i mrówkowego.

**Granulobacter butylicum**. Istnieje cała grupa bakteryj, odznaczających się tem, że gromadzą w swem ciele rozpuszczalną skrobię, t. zw. *granulozę* i wskutek tego barwią się roztworem jodu na niebiesko. Beyerinck nazwał je granulobakteryami.

Jeden gatunek z tej grupy, a mianowicie *granulobacter butylicum* wywołuje w roztworach maltozy fermentacyę, przyczem obok wodoru i kwasu węglowego powstaje także alkohol butylowy. Grzybek ten żyje bez powietrza i wydziela diastaz.

Fermentacyę butylo-alkoholową można wywołać w sposób następujący: Do 100 cc. wrzącej wody sypie się stopniowo taką ilość grubo zmielonej, nie przesianej mąki z nagiego jęczmienia (*hordeum distichum nudum*), aby się utworzył gąszcz. Potem schładza się do 35° tak szybko, aby ostatnia część dodanej mąki tylko kilka chwil była wystawiona na działanie temperatury wrzącej wody. Masę schłodzoną utrzymuje się stale przy temperaturze 35—37°C. Po 12 godzinach zaczynają się ukazywać bańki gazu, a po 24 godzinach postą-



piła fermentacja już tak daleko, że obecność alkoholu butylowego można poznać po zapachu.

Jeżeli się dokładnie utrzymuje powyższą temperaturę, to w płynie fermentującym występuje prawie wyłącznie *granulobacter butylicum*. Zaznaczyć należy, że przy obfitym przystępie powietrza bakteria ta nie wytwarza alkoholu butylowego.

### Bakterye fermentacji śluzowej.

Czasami występuje w piwie oraz winie choroba, objawiająca się tem, że napoje powyższe stają się gęstszymi, ciągliwymi. Nieraz ten nienormalny objaw pochodzi stąd, że w pły-

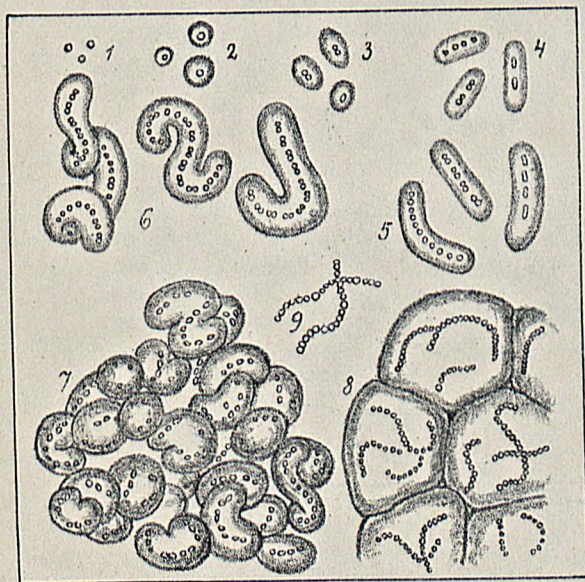


Fig. 51. *Leuconostoc mesenteroides*. 1—8 Rozmaite okresy rozwoju zooglei. Powięk. 500. (Wedł. Van Tieghema i Cienkowskiego).

nach tych rozmnożyły się bakterye, tworzące t. zw. zoogleje, czyli olbrzymie zgrubienia błon komórkowych, składające się z ciał śluzowatych. W niektórych jednak wypadkach, zdaje się, powstają śluzowate ciała nie jako takie zgrubienia, lecz wewnątrz komórki jako wytwór szczególnego rodzaju fermentacji, t. zw. fermentacji śluzowej, przy której cukier zostaje prze-



mieniony w ciała śluzowate i w tej postaci wydzielony przez normalną błonę na zewnątrz komórki.

W dziele „*Etudes sur la bière*“ opisuje Pasteur organizmy, występujące w postaci kulek, złączonych ze sobą na kształt różańca.

Organizmy te miały nadawać winu, piwu gotowemu, jak też piwnej brzeczce pewnej, mniej lub więcej silnie objawiającej się ciągliwości. Później rozmaici badacze opisywali



Fig. 52. *Leuconostoc mesenteroides*. *a, b* Komórki bez zooglei, wyhodowane na kurtoffi, *c-e* Zoogleja w rozmaitych okresach rozwoju. Powiększ. 1200. (Wedł. Liesenberga i Zopfa).

podobne organizmy. Tak odkrył Kramer bakterję, zamieniającą roztwór cukru trzcinowego na masę śluzowatą i nazwał ten grzybek *bacillus viscosus sacchari*. Później Gruber opisał podobny drobnoustrój i nazwał go *bacterium gelatinosum betae*.

W winie odkrył podobną bakterję Kramer i nazwał ją *bacillus viscosus vini*.

W piwie berlińskim odkrył Lindner takież grzybek, a w chorych piwach belgijskich znalazł van Laer kilka gatunków i nadał im ogólną nazwę *bacillus viscosus*,



Najlepiej znanym gatunkiem z pomiędzy tych bakteryj jest odkryty w r. 1878, przez Cienkowskiego, a później przez Van Tieghema dalej badany grzybek

**Leuconostoc mesenterioïdes.** Występuje on czasem w soku burakowym i melasie fabryk cukru lub gorzelni, wyrabiających alkohol z buraków lub melasy. W płynach tych tworzy on wielkie bryły gęstego śluzu, podobnego do skrzeku żabiego.

Bakterya ta ma kształt ziarników, ułożonych w śluzie w postaci sznurków różańcowych, i to zawsze po dwa ziarniki bliżej siebie (fig. 51. i 52)

Śluz, przeważnie węglowodan zwany dekstranem, tworzy się pod wpływem tych bakteryj tylko w roztworach cukru trzcinowego lub gronowego, nie powstaje zaś nigdy w roztworach cukru mlekowego, maltozy lub destryn.

Drobnoustrój ten wytrzymuje temperaturę 86—87°C przez parę minut.

## Bakterye gnilne.

Pasteur był pierwszym, co proces gnicia pojmował i tłumaczył naukowo jako proces rozkładowy, powodowany przez drobne żyjątka (*vibrions*). Spostrzegł on, że jestestwa te żyją bez przystępu powietrza i że powietrze je nawet niszczy. Później poznano, że są to rośliny, bakterye.

Charakterystyczną cechą tych bakteryj jest to, że rozkładają ciała białkowe, wytwarzając z nich produkty cuchnące i często trujące.

Od dawna wiadano, że gnijące ciała białkowe są najczęściej truciznami dla zwierząt i ludzi, lecz nie umiano sobie wytłumaczyć przyczyn tych trujących własności. W r. 1856 przekonał się duński uczony P a n u m, że gnijące ciała białkowe pomimo gotowania nie tracą swych szkodliwych własności, że zatem przyczyną objawów zatrucia nie jest jakiś żyjący organizm, lecz nieżyjąca istota chemiczna, trucizna gnilna. Te trucizny nazwano toksynami.

Długi czas mozolili się chemicy nad wydzieleniem takiej toksyny, celem bliższego zbadania jej chemicznego charakteru,



lecz dopiero w roku 1876 udało się naszemu sławnemu Nenc-kiemu wydzielenie takiego ciała i jego zbadanie. Wykrył on je w gnijącym białku; była to znana dziś kollidyna.

W gnijących ciałach proteinowych powstaje więcej takich chemicznych istot rozkładowych, a że pomiędzy innemi powstają one też w trupach (po grecku ptoma) nazwano wszystkie, przy gniciu białka powstające podobne ciała rozkładowe ptomainami. Z czasem wykryto ich wielką liczbę, jak n. p. cholinę, saprynę, putrescynę, neurydynę, kadawerynę, muskarynę, neurynę, hydrokollidynę, parwolinę i i.

Wszystkie powyższe ciała zawierają azot; przeważna ich część ma silnie trujące własności, są jednak pomiędzy nimi także ciała nietrujące, jak n. p. kadaweryna, putrescyna i i.

Oprócz tych trujących lub nietrujących ptomainów powstają wskutek gnicia także ciała azotowe o nieprzyjemnej woni. Do tych należą przedewszystkiem indol i skatol.

Pomiędzy produktami gnilnego rozkładu białkowych ciał znajdujemy także kwasy amidowe leucynę i tyrozynę, oraz rozmaite inne pochodne amoniaku o mniej lub więcej nieprzyjemnym zapachu jak metylamin i t. p.

Ciała białkowe zawierają, jak wiadomo, także siarkę i ta wydobywa się z tych ciał gnijących jako siarkowodór i merkaptan, związki chemiczne o wielce nieprzyjemnej woni.

Nietylko z białka powstaje siarkowodór, lecz także z soli kwasu siarkowego, jak n. p. siarkanu wapniowego czyli gipsu, które się w płynach gniących znajdują. Rozmaite gatunki bakteryj gnilnych mają przeważnie własności redukcyjne i te są przyczyną, że z kwasu siarkowego powstaje siarkowodór.

Podczas gnicia wydzielają się wreszcie jeszcze takie ciała, jak kwasy tłuszczowe, kwas węglowy i amoniak.

Wszystkie powyżej wyliczone ciała, a przedewszystkiem trujące ptomainy nadają gnijącym substancjom własności szkodliwe organizmowi ludzkiemu lub zwierzęcemu. W wielu wypadkach są takie ciała wytwarzane przez pewne gatunki pasożytujących bakteryj, a wtedy są one przyczyną rozmaitych chorób. Jednak nietylko pasożyty wywołują procesy gnilne, lecz także bardzo często saprofity, żyjące na martwych ciałach organicznych.



Pasożyty są już bliżej znane, gdyż jako ważniejsze, zajmują od szeregu lat liczne zastępy uczonych i lekarzy, saprofity gnilne zaś znamy mniej, gdyż nie budziły dotychczas wielkiego zajęcia. Nie ulega jednak wątpliwości, że tak jak gnilne pasożyty są często przyczyną chorób żyjącego organizmu, złożonego z wielkiej ilości komórek, tak też saprofity tego rodzaju mogą powodować szkodliwe zjawiska w przemyśle fermentacyjnym, gdzie hodujemy jednokomórkowe organizmy: bakterye lub grzybki drożdżowe.

Na tem miejscu należy nam wspomnieć o tem, że oprócz trujących ptomainów, zwanych toksynami, niektóre bakterye wydzielają trucizny o zupełnie innych własnościach. Ptomainy mianowicie przy gotowaniu nie niszczą, lecz pozostają i nadal w roztworze, i zachowują tak samo trujące własności jak przedtem, te trucizny zaś, o których mowa, niszczą przy ogrzaniu tak samo jak enzymy takie, jak diastaz, inwertyna i t. d.

Trucizny te są pokrewne enzymom, z którymi mają jeszcze tę wspólną własność, że już w małej ilości działają silnie trująco i dlatego wywierają jeszcze większy skutek niż toksyny.

Bakterye, które wytwarzają te straszne trucizny, mogą się również rozwijać w płynach, nie zawierających wcale ciał białkowych. Czerpią one wtedy azot z prostszych związków azotowych jak n. p. niektórych soli amonowych. Wnosimy z tego, że trucizny wytwarzane nie są produktami rozkładu ciał białkowych, lecz produktami asymilacji, zbudowanymi we wnętrzu komórek.

Szczęściem dla przemysłu fermentacyjnego jest to, że bakterye gnilne mogą żyć zazwyczaj tylko w obojętnych lub słabo alkalicznych płynach i że w kwaśnych płynach, z którymi mamy w tym przemyśle do czynienia, rozwijać się nie mogą. Jednak i tu mogą zająć okoliczności, które umożliwią tym bakterjom rozwój, a wówczas skutki ich procesu życiowego muszą być wielce szkodliwe.

Pierwszym, co saprofityczne bakterye gnilne otrzymał w czystej hodowli był Rosenbusch (1884), lecz dopiero Hauser (1885) zbadał je bliżej co do ich rozwoju i t. d. Bakterjom swoim nadał Hauser ogólną nazwę *proteus*.

**Proteus vulgaris.** Komórki tej bakteryi mają 0.9—1.2 mikrom długości i 0.4—0.6 mikrom. szerokości. Obok krótkich pa-



łeczek spotyka się dość często długie pręciki o 3·7 albo nawet 6 mikrom. długości (fig. 53.). Posiada ona wielką liczbę migawek, a jej komórki zmieniają swój kształt w rozmaitych warunkach; tworzą nawet kształty śrubowe.

**Proteus mirabilis.** Drobnoustrój, podobny zupełnie do poprzedniego; odznacza się jeszcze większą zmiennością kształtów, a różni się jeszcze tem od niego, że komórki osiągają nieraz długość 200 mikrom.

**Proteus Zenkeri**, podobny do poprzednich, różni się od nich tem, że nie rozpuszcza żelatyny, tak, jak to czynią tamte dwa gatunki, które wydzielają odpowiedni enzym.

Powyższe trzy gatunki, nie wytwarzają zarodników wewnętrznych. Rozwijają się tylko wtedy, gdy niema przystępu powietrza, w niem zaś zaprzestają swej czynności życiowej chociaż nie giną. Wytwarzają one ciała trujące. Najczęściej znaleźć je można w gnijących ciałach zwierzęcych.

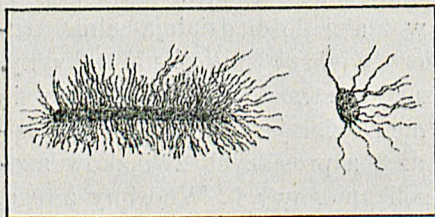


Fig. 53. *Proteus vulgaris*. Pałeczka długa i krótka, zabarwiono celem doskrzeżenia migawek. Powiększenie 1500. (Wedl. Fraenkla i Pfeiffora).

**Bacterium coli commune.** Bakteryja ta została wykryta w r. 1885 przez Eschericha. Posiada kształt krótkich pałeczek, ukazujących się często po dwie razem. Może się w płynie poruszać przy pomocy migawek. Żyje w przystępie powietrza

Początkowo mniemano, że jest to saprofit niewinny, gdyż znajdowano go zawsze tylko w kale zwierzęcym i ludzkim, lecz przekonano się później, że w pewnych warunkach może stać się chorobotwórczym.

Dla nas ten drobnoustrój jest o tyle uwagi godnym, że, jak to wykazał Paweł Gordau w r. 1897, ma odgrywać główną rolę przy gniciu ciał roślinnych.

Badania nad bakteriami gnilnemi są właściwie dopiero rozpoczęte, tak, że niewiele wiemy o ich własnościach; to jednak, co już dotychczas odkryto, wystarczy, aby zwrócić na nie uwagę technika, zajmującego się fermentacją. Pomimo to, że rozwijają się tylko w obojętnych lub słabo alkalicznych



glebach i to wtedy, gdy nie ma przystępu powietrza, i że przeto w przemyśle fermentacyjnym wskutek tego nie powinno być dla nich pola do popisu, to przecież w zakładach nieczystych, o mnóstwie kątów, gdzie rozmaite ciała mogą uleść gniciu, znajdują wiele sposobności do rozwoju. Na ciałach takich, jak rozgnieciony słód, rozpryskany zacier lub brzezka, rozlane drożdże i t. p. osiadają w pierwszym rzędzie grzybki pleśniowe, które, jak to się później dowiemy, niszczą kwasy organiczne i odbierają glebie odżywczej tlen. Na tak przygotowanej glebie osiadają zarodki bakteryj gnilnych z powietrza, które w nie obfituje wskutek pobliża stajen opasowych, gnojem zanieczyszczonych podwórz i t. d. Bakterye mogą się wówczas rozwinąć i one to wytwarzają w takich zakładach znany odór, wyraźnie przypominający woń kału ludzkiego. Woń ta pochodzi od indolu, skatolu i t. p. ciał, wytwarzanych przez nie.





## II. Drożdżaki.

### Wiadomości ogólne.

Od tak dawna, jak ludzie znają proces przemiany płynów cukrowych na napoje alkoholowe, znają i ten objaw, że po ukończeniu fermentacyi, burzenia się płynu, osiadają na dnie naczynia, w którym się ten proces odbył, męty, a płyn się wyjaśnia, staje się przeźroczystym. Męty te nazwano drożdżami. Przekonano się, że one mogą wzbudzić fermentację w świeżym płynie cukrowym, dlatego rozszerzono pojęcie słowa „drożdże” i tem mianem oznaczono wszelkie ciała tą zdolnością obdarte.

Pierwsze takie drożdże poznali ludzie niezawodnie przy wyrobie wina z soku gron winnej latorośli, gdyż wino było pierwszym naturalnym napojem wyfermentowanym. Być może jednak, że niektóre narody znały miód pitny pierwej aniżeli wino, a wtedy przypada drożdżom z miodu pierwszeństwo w tym względzie. Później dopiero poznano drożdże piwne, gdyż wyrób piwa, a raczej pierwotnie rodzaju wina z jęczmienia, mógł być dopiero wtedy znany, gdy ludzie zajęli się już rolnictwem. Najpóźniej zaś poznano drożdże gorzelnicze, jakkolwiek gorzelnictwo od dość dawna było uprawiane. Do wzbudzenia fermentacyi w zacierach gorzelnianych używano powszechnie do końca 18 wieku drożdży piwnych. Dopiero później zaczęto drożdże piwne powoli rugować z gorzelni, gdy aptekarz Westrumb z Berlina nauczył gorzelników przyrządzać drożdże w gorzelni.

Ponieważ tylko piwne drożdże uważano za naturalne, nazwano te, które zaczęto wyrabiać w gorzelni, drożdżami sztucznymi.



W pierwszej połowie 19 stulecia poznano ten składnik drożdży, który jest właściwą przyczyną fermentacji, mianowicie roślinę, grzybek, rozkładający cukier na kwas węglowy i alkohol. Wtedy to zaczęto najpierw w teoretycznych rozprawach, a później także w praktyce używać słowa „drożdże” dla oznaczenia niem tej rośliny. Takie użycie powyższej nazwy jest jednak niewłaściwe; powinno się ją zastąpić nazwą „grzybek drożdżowy”, lub „drożdżak”, a tamtą pozostawić dla oznaczania tego gąszczu zacierowego, który po bujnym rozwinieciu się w nim grzybka drożdżowego służy do zadania płynów cukrowych celem ich przefermentowania, lub też dla gąszczu, składającego się z mnóstwa komórek tych grzybków.

Grzybek drożdżowy rozkłada cukier (*saccharum*), dlatego nazwano go po łacinie *saccharomyces*, a że wykryto go w piwie (*cerevisia*) i sądzono, że ono jest jego naturalnem miejscem przebywania, nadano mu nazwę, *saccharomyces cerevisiae*.

Niebawem jednak poznano, że jest więcej gatunków takich grzybków, rozkładających cukier, a różniących się pomiędzy sobą pod pewnymi względami. Reess rozróżnił jeszcze sześć gatunków, mianowicie: *Saccharomyces ellipsoideus*, *sacch. apiculatus*, *sacch. mycoderma*, *sacch. Pastorianus*, *sacch. exiguus* i *sacch. conglomeratus*.

Zaraz przy pierwszym, bliższem przyjrzeniu się tym grzybkom drożdżowym czyli drożdżakom spostrzeżono, że one się w szczególny sposób rozrastają. Mniej więcej okrągły, eliptyczny lub owalny pęcherzyk, komórka, stanowiąca osobnik grzybka, zaczyna w pewnem miejscu na powierzchni swej błony wypuszczać wyrostek, który w pewnym okresie rozwoju przypomina swym wyglądem pączek listkowy roślin wyższych; wskutek tego nazwano ów objaw pączkowaniem.

Pączek taki zwiększa swoją objętość, a w końcu osiąga wielkość tej komórki, z której wyrósł i często oddziela się, aby pędzić żywot samoistny. Sądzono do niedawna, że wszystkie, w drożdżach spotykane gatunki grzybków cukrowych rozrastają się w powyżej opisany sposób przez pączkowanie i dlatego nazwano wszystkie drożdżaki także grzybkami pączkującymi czyli blastomycetami, jak to jednak później zobaczymy, ta nazwa dla pewnych drożdżaków nie jest właściwa, gdyż u nich pączkowania nie stwierdzono.



## Kształt i rozmiary komórek.

Kształt komórki tych grzybków jest wielce rozmaity (fig. 54). Mogą one być kuliste, eliptyczne lub jajowate; znamy komórki o kształcie kielbaskowatym, o kształcie gruszki, cytryny, flaszki, silnie wydłużone itd. Kształt ten zależy od gatunku drożdżaka, wieku komórki, od temperatury i kwasności gleby odżywczej, od jej składu chemicznego, mniejszej lub większej zawartości w niej ciał odżywczych, od obecności lub nieobecności tlenu powietrza i od innych warunków zewnętrznych. Piwne grzybki drożdżowe mają np. zazwyczaj kształt jajowaty, grzybki drożdżowe z wina kształt kulisty lub eliptyczny, t. zw. drożdże dzikie, pod których wpływem fermentacja staje się nienormalną, mają kształt eliptyczny lub wydłużony, inne drożdżaki znów kształt cytrynowaty, kielbaskowaty, flaszgowaty itd.

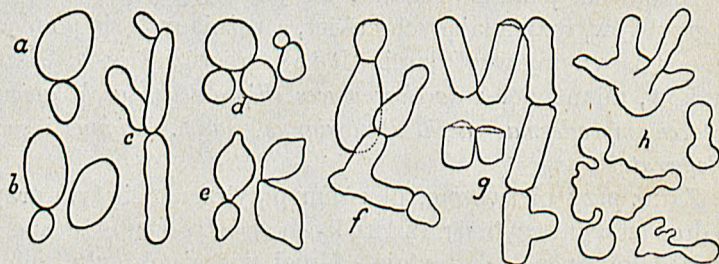


Fig. 54 Kształty komórek drożdżaków. *a*) owalny, *b*) eliptyczny, *c*) kielbaskowaty, *d*) kulisty, *e*) cytrynowaty, *f*) flaszgowaty, *g*) cylindryczny, *h*) palczasty (amoboidalny).

Zbytńia kwasność płynu odżywczego wpływa na kształt komórek drożdżaków wogóle i to tak, że one się wydłużają. Po wysyceniu płynu fermentującego tlenem powietrza, komórki tych grzybków stają się kuliste lub eliptyczne.

Z tej zmienności kształtu komórek grzybków drożdżowych wynika, że on w niewielu tylko wypadkach może służyć do rozróżnienia poszczególnych gatunków.

Jakkółwiek kształty komórki każdego gatunku tych grzybków mogą się zmieniać, to przecież pewne zjawiają się u niektórych gatunków często u innych zaś mniej często albo wcale się nie ukazują. Tak np. typowym kształtem piwnych i gorzelnianych grzybków drożdżowych — jak już wspo-



mniano — jest kształt jajowaty, grzybków z wina eliptyczny, a dzikich grzybków drożdżowych eliptyczny lub kielbaskowaty. Komórki pewnych drożdżaków, zwanych *torulami* mają najczęściej kształt kulisty, gatunku *sacch. apiculatus* kształt cytryny, gatunku *sacch. Ludwigi* kształt flaszkowaty. Niektóre gatunki drożdżaków mają komórki kształtu ameboidalnego, palczastego.

Drożdżaki są znacznie większe aniżeli bakteryje; ich średnica wynosi 10 mikrom. albo też znacznie więcej. Dlatego też łatwiej je można widzieć przez mikroskop aniżeli bakteryje.

## Budowa komórek.

Komórki tych grzybków składają się z błony, protoplazmy i jądra pośród niej.

O błonie komórkowej drożdżaków nie wiele wiemy dotychczas; zawiera ona cellulozę i ciała proteinowe i jest elastyczna, co łatwo stwierdzić można przy zgnieceniu komórki pod mikroskopem. Błona ta składa się z kilku warstw, z których zewnętrzna u niektórych gatunków zazwyczaj złazi, gdy hodowla jest już stara. Niekiedy ta zewnętrzna warstwa błony komórkowej pęcznieje tak silnie, że otacza komórkę w postaci grubej warstwy galarety. Często błona komórkowa staje się lepka, wskutek czego pewna ilość komórek zlepia się ze sobą, tworząc większe, już gołym okiem widzialne kłaczki. Objaw ten, jest charakterystycznym u grzybków t. zw. drożdży dolnych. Niekiedy jednak może się podobnie ukazywać także u grzybków drożdży górnych, lecz wtedy najczęściej komórki nie przy'egają tak silnie do siebie jak u poprzednich. Alkalia lub sole alkaliczne, np. ług sodowy, soda, potaż, węglan amonowy, a także kwasy, n. p. siarkowy lub winowy, rozpuszczają lepka powłokę błony komórkowej, tak, że po przepłukaniu drożdży wodnymi roztworami tych odczynników pojedyncze komórki już się nie zlepiają.

Jeżeli lepka powłoka komórek drożdżaków stanie się w pewnych warunkach stosunkowo bardzo gruba, wtedy ta powłoka wszystkich obok siebie leżących komórek może się zlać w jedną całość i utworzyć jednolitą galaretowatą masę,



w której pojedyncze komórki jakby w jakiej siatce spoczywają. Jeżeli się tę masę naciśnie, wtedy wysuwają się ko-

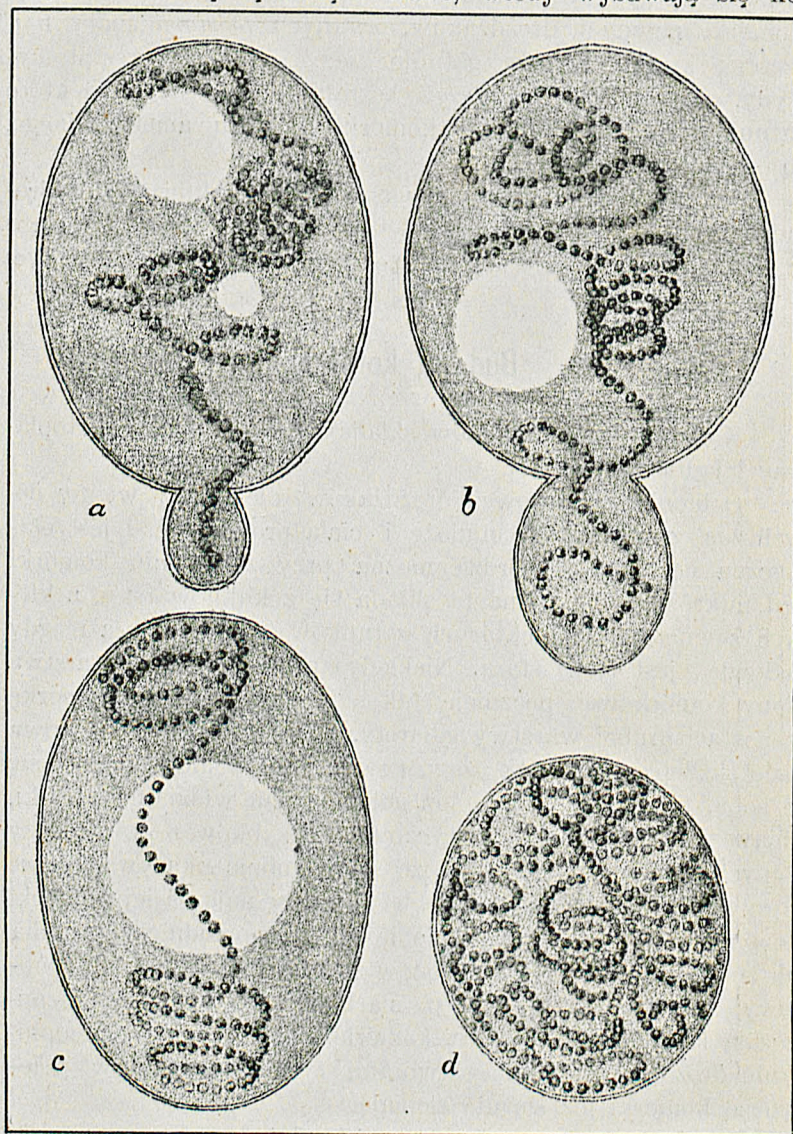


Fig. 56. Żywe komórki drożdżaka *sacchar. cerevisiae*, w przekroju optycznym z widocznymi nitkami centralnymi. Powięk. 5000. (Wedł. Hieronymusa).

mórki na zewnątrz, a pozostała galareta okazuje pod mikroskopem budowę siatkowatą.



Tworzenie się tej galaretowatej masy przypomina zoogleję bakteryj.

Protoplazma komórki drożdżaków jest złożona z ciał białkowych. W czasie najsilniejszego rozmnażania się komórek jest przeźroczysta, pozornie jednolita; z czasem, w miarę postępu czynności rozmnażania się i fermentacji, występują w plazmie drobne ziarenka i jeden duży lub kilka mniejszych wodniczków.

Hieronimus, który badał protoplazmę, wykazał, że w pewnym okresie rozwoju komórek, składa się ona z wielkiej ilości nitkowatych utworów, nitek centralnych (fig. 55), zawierających te mniejsze lub większe ziarenka, które już przy małym powiększeniu wewnątrz komórki spostrzegamy.

Niektóre z ziarn, spostrzeganych wewnątrz komórki drożdżaków, uważają jedni badacze za ziarna tłuszczu, inni zaś za ziarna, złożone z takich samych ciał białkowych, co protoplazma wogóle.

W bardzo daleko posuniętym okresie czynności fermentacyjnej, gdy komórka grzybka drożdżowego przeszła niemal w stan spoczynku, protoplazma może ściągnąć się ku błonie i utworzyć na jej wewnętrznej stronie mniej lub więcej grubą powłokę; wówczas duży wodniczek zajmuje środek komórki i zawiera liczne pojedyncze ziarna, a pomiędzy nimi wiele ziarn tłuszczu.

Jeżeli wprowadzimy taką komórkę do płynu, przydatnego do fermentacji, wtedy po krótkim już czasie, a mianowicie jeszcze przed ukazaniem się zewnętrznych oznak fermentacji, znikają w wodniczku ziarenka, a w przezroczystym soku komórkowym ukazują się liczne, delikatne nitki protoplazmy, okalające okrągłe, mniejsze wodniczki. W końcu i te wodniczki znikają, a komórka jest wypełniona przezroczystą, na pozór jednolitą protoplazmą.

Jak w każdej komórce roślinnej, tak też i w komórce drożdżaków wykryto jądro; można je zobaczyć po zabarwieniu kwasem osmowym lub mieszaniną kwasu pikrynowego i hematoksyliny. Hansen wykazał, że jądro to ma kształt kuli albo też tarczy, oraz, że w niektórych wypadkach można je dostrzedz bez poprzedniego zabarwiania.



## Wegetatywne rozmnażanie się drożdżaków.

We wstępie, gdy mówiliśmy o rozrastaniu się komórek mikroorganizmów wogóle, rozróżniliśmy dwa sposoby tego rozrastania się, mianowicie t. zw. rozszczepianie i rozrost kończynowy. Drożdżaki rozrastają się przeważnie kończynowo, gdyż pączkowanie, o którym jużśmy wspomnieli, jest szcze-

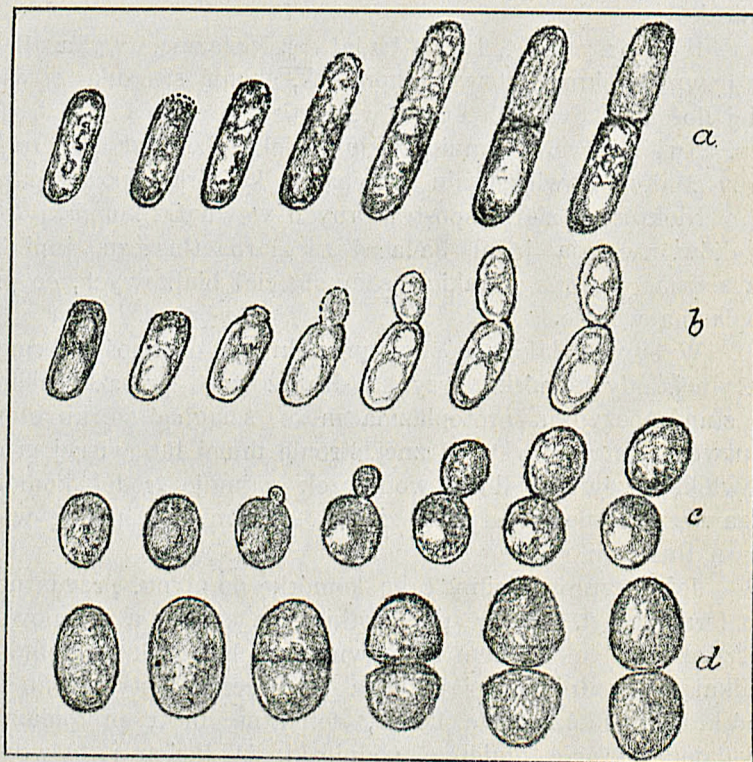


Fig. 56. Schematyczne obrazy rozrastania się komórki. a) Właściwe rozrastanie kończynowe. b) i c) Pączkowanie. d) Rozsztępowanie.

gólnym rodzajem tego rozrastania się; oprócz tego znamy gatunki tych grzybków, które się rozszczepiają, a także takie, co okazują pośredni sposób rozrastania się.

Fig. 56 a) przedstawia nam schematyczny obraz kończynowego rozrastania się komórki. Widzimy tam, że na jednym końcu rozrasta się błona na całym przekroju  $\alpha-\alpha$ , wskutek czego nowo powstająca część rozrastającej się komórki ma tę



samą szerokość, co część dawna. Jeżeli jednak błona na końcu komórki nie rozrasta się na całym przekroju  $\alpha-\alpha$ , lecz na znacznie mniejszej przestrzeni  $\beta-\beta$  (fig. 56 *b* i *c*), wówczas nowo powstała część komórki nie może być tak samo szeroka jak część dawna. Przedstawia się ona wskutek tego początkowo jako mały guziczek, następnie rosnąc, przybiera kształt pączka, który wreszcie osiąga prawie takie rozmiary, jakie ma komórka pierwotna, macierzysta i wtedy powstaje na granicy pomiędzy niemi błona, dzieląca je zupełnie. Pomiędzy pączkowaniem zatem, a właściwym rozrostem kończynowym nie ma zasadniczej różnicy.

Fig. 56 *d*) przedstawia nam schematycznie sposób rozrastania się drożdżaków przez rozszczepianie. Jest to sposób analogiczny do rozszczepiania się komórek bakteryj.

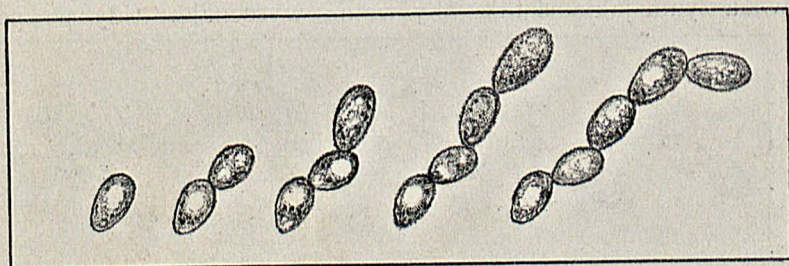


Fig. 57. Powstawanie szeregu komórek drożdżowych.

Każdy osobnik drożdżaka składa się z jednej tylko komórki; dlatego nowo powstała komórka przedstawia zarazem nowy osobnik młodszy, a wyżej opisane sposoby rozrastania się komórek są zarazem sposobami rozmnażania się drożdżaków.

Komórka macierzysta może nieraz pozostać z komórką młodszą w łączności, pomimo wytworzenia się ściany działowej. Młodsza komórka może wydać dalszą komórkę i pozostać później z nią w łączności i tak może wytworzyć się cały szereg komórek, złączonych ze sobą. Na jednym końcu tego szeregu będziemy mieli komórkę najstarszą, na przeciwnym najmłodszą (fig. 57). Każda komórka może po wydaniu pierwszego pączka jeszcze kilka razy pączkować, a każdy z tych pączków może wydać dalej coraz to nowsze pokolenia. Jeżeli wszystkie tak powstałe komórki pozostaną ze sobą w łączności, wtedy otrzymujemy całe gałązki, złożone z komórek rozmaitego wieku



(fig. 58). Gałązki takie składają się z tylu osobników, ile jest członów, komórek; tworzą one przechód do t. zw. grzybni u wyżej uorganizowanych grzybów, o których później będziemy mówili.

Szczególnie wybitnie występują takie do grzybni podobne złączenia komórek na powierzchni płynów, w dłuższy czas po ukończeniu fermentacji. Wtedy to pojedyncze, większe lub mniejsze gałązki i nitki rozrastają się tak, że tworzą z czasem mniej lub więcej grubą powłokę na całej powierzchni płynu, powłokę tę nazywamy kożuchem. Jest on podobny do błon na powierzchni płynów przy hodowli bakterij.

Wytwór błony komórkowej, odpowiadający zooglei bakteryjnej, powstaje u drożdżaków, jak to stwierdził Hansen, wówczas, gdy czystą, niezakażoną masę drożdży postawimy w naczyniu jakimś tak, aby wolno wysychała. Gdy po pe-

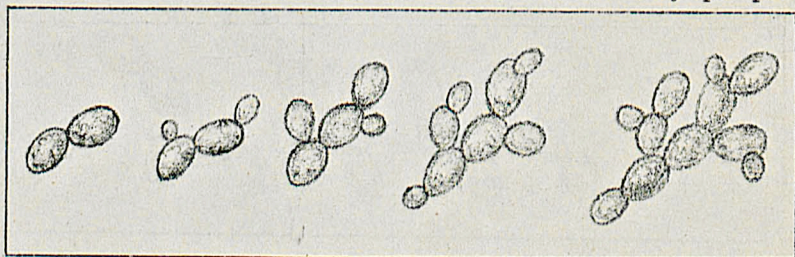


Fig. 58. Powstawanie gałązki komórek drożdżaka.

wnym czasie cząsteczkę takiej masy rozdzielimy w wodzie, to możemy zoogleję łatwo spostrzedz. Przedstawia ona nam się wtedy jako siatka śluzowa, w której oczkach siedzą poszczególne komórki. Takie utwory spostrzegał Hansen niejednokrotnie w kożuchach; aby je tam można dostrzedz, trzeba użyć barwników.

### Rozmnażanie się za pomocą zarodników.

Francuz Cagnard-Latour i Niemiec Schwann spostrzegli jeszcze w r. 1839, że grzybki drożdżowe tworzą czasem w swoim wnętrzu nowe komórki, a te po pewnym czasie i w sprzyjających warunkach rozsadzają błonę komórki macie-



rzystej i tym sposobem wydostają się na zewnątrz, aby pędzić życie samoistne.

Dokładniejszy opis tych utworów wewnątrz komórki dał J. de Seynes w r. 1868, a w r. 1870 wykazał botanik Reess, że takie utwory występują u rozmaitych gatunków drożdżaków, gdy im zabraknie pożywienia. Według tego badacza utwory te rozwijają się, gdy im się dostarczy odpowiedniego pożywienia i wtedy wydają nowe pokolenia grzybków o tych samych właściwościach, co macierzyste. Tem samem wykazał pierwszy Reess, że są to zarodniki.

**Tworzenie się zarodników.** Jeżeli się pozostawi drożdże w grubej warstwie na skrawkach marchwi lub kartofli, to po pewnym czasie (zależnym od gatunku drożdżaka, z jakiego się te drożdże składają, jak też od innych warunków) można spostrzedz, jak wewnątrz komórki protoplazma staje się ziarnista, przepełniona wielką liczbą małych wodniczzków, które jednak niebawem znikają. Równocześnie ukazują się ziarna tłuszczu i zaokrąglone ciała protoplazmatyczne. Te nagromadzenia zagęszczonej protoplazmy otaczają się błoną, która, zależnie od gatunku drożdżaka, jest mniej lub więcej wyraźna. Okrągławe

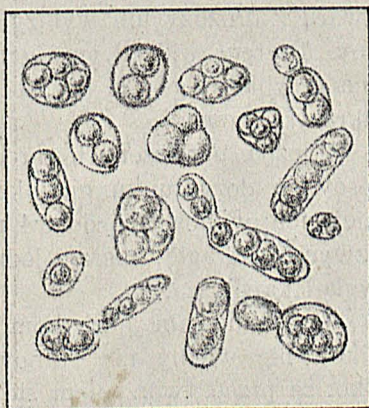


Fig. 59. Zarodniki drożdżaków.  
(Według Hansena).

te ciała powiększają swoją objętość i stają się widoczniejsze, gdyż załamują światło silniej, aniżeli reszta zawartości komórki. Takich kulek tworzy się w komórce drożdżaka więcej; są to zarodniki drożdżaków, wytrwałe na niekorzystne dla zwykłych komórek wpływy zewnętrzne, gdyż zawierają gęstą protoplazmę, a mało wody, przedstawiają zatem zarodnik trwały. (fig. 59.).

Istnieją grzybki wyższe, które tworzą zarodniki w ten sposób, że w komórce specjalnej, workowatej (*ascus*) protoplazma dzieli się na mniejszą lub większą ilość kulkowatych komórek, przedstawiających zarodniki (*spora*e). Utwory te na-



zwano zarodnikami workowymi (*ascospore*), a grzybki, tworzące w ten sposób swe zarodniki, nazwano workowcami (*ascomyces*).

Komórki drożdżaków, które wewnątrz tworzą zarodniki, porównał Reess z workami i zaliczył wskutek tego te drożdżaki do workowców, a zarodniki ich nazwał też zarodnikami workowymi.

Zarodniki można także otrzymać, jeżeli się świeże, dobrze wodą wypłukane drożdże wyłoży na powierzchnię wilgotnego słupka gipsowego. Jest to sposób, podany przez Engla. Można otrzymać zarodniki także wtedy, gdy się ciastowatą masę drożdżową wyłoży na wilgotną bibułę i pozostawi bez pożywienia, albo też, gdy się komórki drożdżaków wprowadzi do odwaru z drożdży lub wyłoży na powierzchni zakrzepłej żelatyny. Pasteur widział tworzenie się zarodników w komórkach tych grzybków, gdy je pozostawił na pewien czas w roztworze cukru trzcinowego.

Liczba utworzonych zarodników jest zmienna; waha się, stosownie do gatunku grzybka, od jednego do dziesięciu. Średnica ich wynosi 2·5 do 6·4 mikrom. Co do kształtu, są one zazwyczaj okrągłe; nieraz jednak mają kształt nerkowaty lub wygląd kapelusza.

Co do udziału jądra komórkowego w tworzeniu się zarodników nie wiemy nic stanowczego. Beyerinck spostrzegł tylko, że przed tworzeniem się ośmiu zarodników we wnętrzu komórki grzybka *schizosaccharomyces octosporus* ukazuje się w nim ośm jąder. Być może, że coś podobnego dzieje się też u innych gatunków.

Hansen spostrzegł, że młode zarodniki t. zw. szlachetnych gatunków drożdżaków piwnych posiadają wyraźną błonę i ziarnistą plazmę nieraz z drobnymi wodniczками, że zaś takie zarodniki dzikich gatunków tych drożdżaków posiadają mniej wyraźną błonę lub wcale nie dającą się spostrzedz, a plazma ich jest jednolita i silnie załamuje światło. Zarodniki dzikich gatunków są też, według Hansena, zazwyczaj mniejsze niż zarodniki gatunków szlachetnych

Hansen użył tej własności zarodników, obok innych jeszcze cech, do rozróżniania gatunków szlachetnych od dzikich.



Do czasów Hansena nie znano dokładnych prawideł tworzenia się zarodników. On to dopiero wykazał, że:

1. Aby się zarodniki mogły w komórkach utworzyć, muszą one być wysiane na wilgotnej powierzchni, a dostęp powietrza musi być obfity;

2. Tylko młode, silne komórki drożdżaków mogą wydać zarodniki;

3. Temperatura ma znaczny wpływ na tworzenie się zarodników.

Nie u wszystkich drożdżaków wykryto zarodniki. Czy te gatunki, u których nie wykryto ich dotychczas, są wogóle niezdolne do ich tworzenia, czy też mogą one je tworzyć, a my tylko nie znamy warunków tego tworzenia, tego nie wiemy.

Niektóre gatunki wydają zarodniki bardzo trudno i w bardzo małej liczbie komórek, inne zaś wydają je bardzo łatwo i obficie. Tak n. p. drożdżaki piwne wogóle wydają zarodniki trudniej aniżeli gorzelniane, a te trudniej aniżeli drożdżaki z wina, które tworzą zarodniki nawet w płynie odżywczym po ukończeniu w nim fermentacyi.

Zdolność wytwarzania zarodników zanika nieraz, zwłaszcza, gdy się pozwala komórkom starzeć; można ją jednak napowrót grzybkom przywrócić przez kilkakrotne odświeżanie w płynach odżywczych, czyli przez wytworzenie kilku nowych pokoleń.

Czas, w którym się zarodniki ukazują w komórkach, jest dla rozmaitych gatunków, hodowanych w jednakowych warunkach, rozmaity, każdemu z nich właściwy i zależny też od temperatury. Tworzenie się zarodników w niskich temperaturach jest bardzo powolne; przy wyższych, a to do pewnego *optimum*, tworzą się zarodniki szybciej, a po przekroczeniu *optimum* szybkość ich tworzenia się maleje coraz bardziej. W końcu przy pewnej temperaturze tworzenie się zarodników zupełnie ustaje, jakkolwiek komórki nie straciły ze swej siły żywotnej. Temperatury graniczne, w których obrębie tworzą się jeszcze zarodniki, leżą, według badań Hansena, pomiędzy  $\frac{1}{2}$  a  $36\frac{1}{2}$  °C. Optimum temperatury tworzenia się zarodników u przeważnej liczby gatunków leży pomiędzy 15 a 25 °C.



Z czasów, w jakich się ukazywały przy rozmaitych temperaturach zarodniki u drożdżaków i z tych temperatur wykreslił Hansen krzywe i stwierdził, że u rozmaitych gatunków były one do siebie bardzo podobne. Spostrzegł również, iż różnice w czasach mogą być przy niskich temperaturach bardzo wielkie, podczas gdy przy 24—30°C są one prawie nieznaczne. Tak n. p. dwa gatunki drożdżaków, wydających przy 25—30°C zarodniki prawie równocześnie, okazują poniżej 15°C następujące różnice:

*Sacch. cerevisiae* przy 11 $\frac{1}{2}$ °C tworzy zarodniki po 240 godz.

*Sacch. Pastorianus* „ „ „ „ „ 77 „

*Sacch. membranaefaciens* przy 32—32 $\frac{1}{2}$ °C tworzy zar. po 18 „ g.

*Sacch. Ludwigii* „ „ „ „ „ 19—21 „

Różnica zatem przy tej temperaturze jest u tych grzybków mała, staje się jednak wielką przy temperaturze niższej.

*Sacch. membranaefaciens* przy 5—7 $\frac{1}{2}$ °C tworzy zar. po 144—168 g.

*Sacch. Ludwigii* „ „ „ „ „ 312—336 „

Hansen wykazał, że gatunki dzikich drożdżaków piwnych tworzą przy pewnych temperaturach swoje zarodniki wcześniej aniżeli gatunki szlachetne.

Na tej własności tych gatunków oparł on swoją metodę analizy drożdży co do zawartości dzikich gatunków drożdżaków.

Holm i Poulsen wykazali, że tą metodą można w drożdżach wykryć 0.5%ową domieszkę dzikich gatunków drożdżaków.

**Kielkowanie zarodników.** Zarodniki, znajdujące się w sprzyjających warunkach co do swego odżywiania się, zaczynają kiełkować.

Znamy trzy typowe sposoby kiełkowania zarodników.

Sposób pierwszy: Zarodnik pęcznieje wewnątrz błony komórki macierzystej, błona ta wyciąga się i napręża, staje się coraz cięsza, w końcu pęka, a jej resztki pozostają przyczępione do zarodnika w postaci czapki, albo też zupełnie rozpuszczają się w środowisku odżywczym. Napęczniały zarodnik wypuszcza wtedy pączek, który się dalej rozwija i przedstawia już komórkę vegetatywną. Zdarza się też niekiedy, że zarodnik pączkuje jeszcze wewnątrz nierozzerwanej błony ko-



mórki macierzystej. Podczas kielkowania zarodniki są od siebie oddalone, albo też ze sobą zetknięte; w tym drugim wypadku zdarza się, że ścianki, dzielące takie dwa zarodniki, znikają i obydwie zlewają się w jedną całość. (fig. 60).

Sposób drugi: Zarodnik pęcznieje i wypuszcza pączek, wydłużony kielbaskowato. Na jednym końcu, wewnątrz tego wydłużonego pączka powstaje ściana poprzeczna i oddziela komórkę nową, która zaokrągla się z czasem. Ta komórka pączkuje już normalnie. U tak kielkujących zarodników zda-

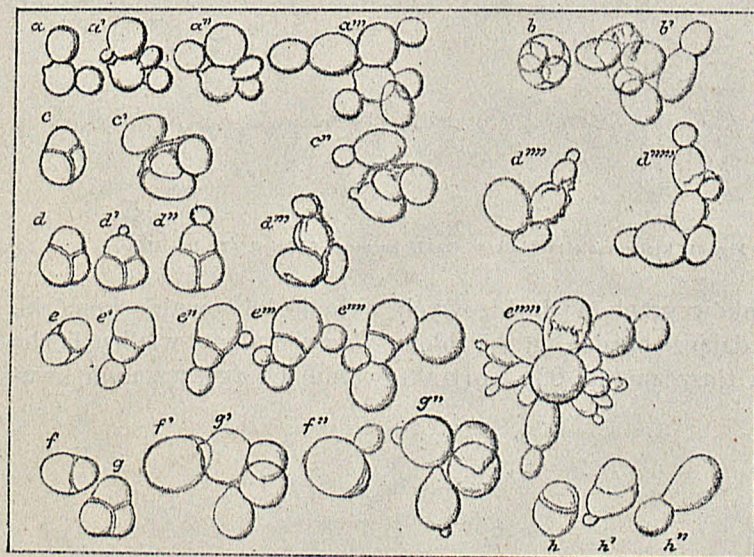


Fig. 60. Kielkowanie zarodników drożdżaka *sacch. cerev.* I. (Wedł. Hansena).

rza się, że te pierwsze, wydłużone pączki zlewają się ze sobą tak, że z kilku, pochodzących z różnych zarodników, powstaje jedna, rozgałęziona komórka i ta dopiero wydaje na swoich końcach normalne komórki wegetatywne (fig. 61)

Sposób trzeci: Zarodniki posiadają charakterystyczny kształt półkolisty i mają nabrzmiałą krawędź, podobną do krezy od kapelusza. Podczas kielkowania pęcznieje zarodnik i wypuszcza pączek na któremkolwiek miejscu swej powierzchni. Krawędź przytem znika albo też pozostaje i jest dłuższy czas jeszcze widzialna (fig. 62).



## Komórki trwałe.

Po ukończeniu fermentacji osadza się po pewnym czasie na ścianach naczynia, na granicy między płynem a wolną przestrzenią, warstwa drożdży, zwana pierścieniem drożdżowym. W tym pierścieniu spostrzeżł Will u niektórych

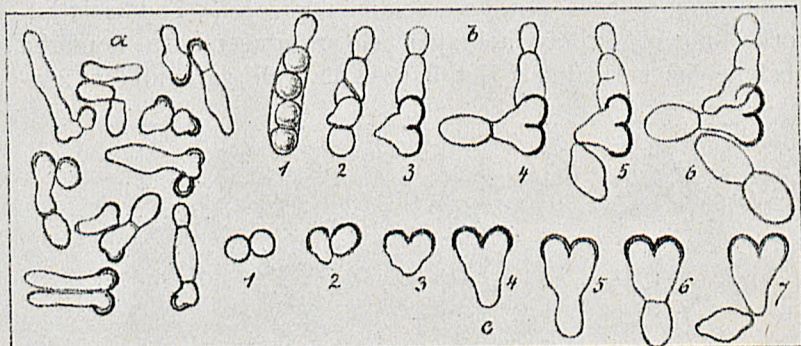


Fig. 61. Kielkowanie zarodników drożdżaka *sacch. ludwigii*. (Według Hansena.)

gatunków grzybów drożdżowych okrągłe lub owalne komórki, posiadające bardzo grubą błonę i zawierające wielką liczbę ziarn tłuszczu (fig. 63). Po traktowaniu ich zgęszczonym kwa-

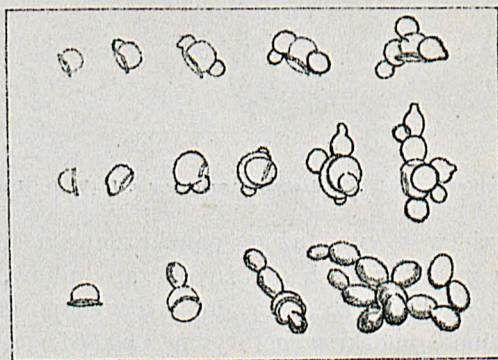


Fig. 62. Kielkowanie zarodnika drożdżaka *sacch. anomalous*. (Według Hansena.)

sem solnym, dzieli się błona na dwie warstwy. Czasami dzieli się na dwie warstwy także w hodowli, zwłaszcza na sztucznych glebach odżywczych. Często dzieje się to w ten sposób, że warstwa zewnętrzna pozostaje cała; wtedy przedstawia się



komórka tak, jakby była zamknięta w komórce większej. Zawartość tych komórek barwi się zgęszczonym kwasem siarkowym na zielono lub brunatno. Nieraz takie utwory dają także reakcję glikogenową, t. j. barwią się jodem na niebiesko.

Komórki powyższe odgrywają, zdaje się, rolę w życiu drożdży, one przedstawiają mianowicie utwory trwałe, wytrzymałe

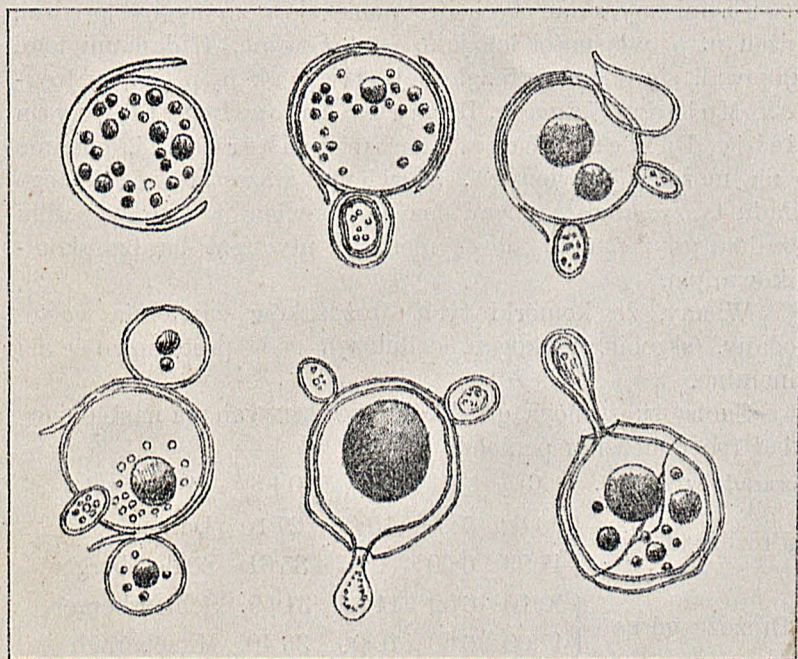


Fig. 63. Komórki trwałe. Błona oddzieliła się częściowo albo też całkowicie.  
(Według Willa).

na niekorzystne wpływy zewnętrzne, gdyż żyją jeszcze w starych hodowlach, w których już reszta komórek wegetatywnych wyginęła.

Wprowadzone do świeżych środowisk odżywczych, te komórki pączkują po krótkim czasie, wydając często od razu normalne, okrągłe lub owalne komórki wegetatywne; częściej jednak wypuszczają wprzód długie, kielbaskowate lub maczugowate wyrostki, które z czasem dopiero normalnie dalej pączkują (fig. 64).



## Chemiczny skład grzybków drożdżowych.

Z pomiędzy wszystkich grzybków, które dziś zaliczamy do drożdżaków, najwięcej zainteresowania wzbudzały te, które tworzą nasze piwne lub gorzelniane drożdże. To też one najczęściej były przedmiotem badań chemików i o nich też tylko myślimy, gdy mówimy o składzie chemicznym grzybów drożdżowych.

Chemiczny skład tych drobnoustrojów znany był prędej, aniżeli n. p. własności ich jako istot żywych. Badaniami temi zajmowali się chemicy rozgłośnej sławy jak n. p. Mitscherlich, Mulder, Wagner, Dumas, Schlossberger, Payen, Liebig, Pasteur, Nägeli, Schützenberger i i., pomimo to nie możemy powiedzieć, że wiemy wszystko, co się tego składu tyczy, analiza chemiczna jest bowiem w tym wypadku bezsilna, gdyż ma tu do czynienia z utworem bardzo skomplikowanym.

Wiemy, że komórki tych drożdżaków zawierają węgiel wodany, (skrobię, glikogen, cellulozę), ciała proteinowe ciała mineralne.

Sucha substancja grzybków drożdżowych ma następujący skład (po odliczeniu popiołu):

Zawartość w procent.	C	H	N	O+S	Analizował
Drożdże dolne	50·60	7·30	15·00	27·10	Dumas
	47·93	6·69	9·77	35·61	Schlossberger
Drożdże górne	50·10	6·52	11·84	31·59	Schlossberger
	47·00	6·60	10·00	36·40	Mitscherlich

Z tych analiz widzimy, że skład grzybków drożdżowych nie jest stały.

Błona zawiera głównie cellulozę, lub ciało podobne do cellulozy. Schlossberger znalazł 30—37% cellulozy, Pasteur zaś i Liebig wykryli tylko 17—18% tego ciała. Powstaje ono, zdaje się, z cukru.

Schützenberger wykrył w grzybkach drożdżowych ciało, podobne do gumy, a Errera odkrył w nich glikogen w ilości nieraz 10—15%. Laurent wykazał, że glikogen powstaje z rozmaitych ciał, nie mogących pod wpływem tych grzybków ulegć fermentacji.



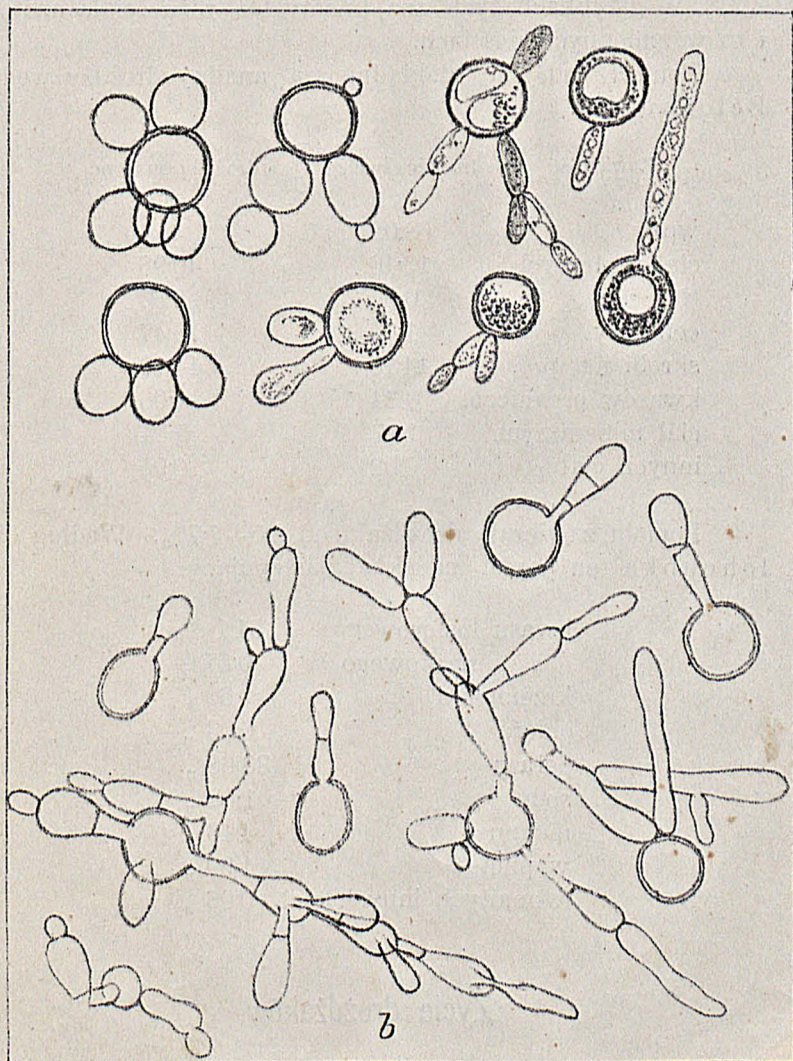


Fig. 61. Kielkowanie komórek trwałych. *a*) komórki pączkują w sposób zwykły *b*) pączki początkowe mają kształt maczugi i te dopiero oddzielają komórki, które dalej w normalny sposób pączkują.

Komórki drożdżaków zawierają też tłuszcz w ilości 5% suchej substancji. Powstaje on w nich z cukru, jak wykazał Pasteur.



W grzybkach tych znajdujemy też różne ciała azotowe i to w zmiennych ilościach.

Poniżej podajemy dokładniejszą analizę drożdży według Bělohoubka:

Zawartość	drożdże świeże %	drożdże suszone %
wody	68.02	—
ciał azotowych	13.10	40.98
tłuszczu	0.90	2.80
cellulozy	1.75	5.47
skrobi i t. p.	14.10	44.10
kwasów organiczn.	0.34	1.06
ciał mineralnych	1.77	5.54
innych ciał	0.02	0.05

Popiołu zawierają drożdżaki od 2.5—7.7%. Według Bělohoubka ten popiół ma skład następujący:

kwasu fosforowego	51.1 %
„ siarkowego	0.57 „
krzemionki	1.60 „
chloru	0.03 „
potasu	38.68 „
sodu	1.82 „
magneu	4.16 „
wapnia	1.99 „
rozmaitych innych ciał	0.06 „

## Życie drożdżaków.

**Odżywianie.** Grzybki drożdżowe, jak wszystkie rośliny, karmią pewne ciała pokarmowe i przyswajają sobie z nich części, służące im do zbudowania swego ciała, inne zaś, nie potrzebne im części wydzielają na zewnątrz. Warunki odżywiania drożdżaków są zawile i tylko pracom uczonych ludzi, a zwłaszcza Pasteura zawdzięczamy, że posiadamy w tym względzie wiadomości.



Jak to już z wyżej przytoczonego składu grzybków drożdżowych domysleć się możemy, potrzebują one do swego odżywiania ciał bezazotowych (węglowodanów), ciał azotowych czyli proteinowych i ciał mineralnych.

Bez węglowodanów lub pokrewnych istot chemicznych nie mogą się te drobnoustroje rozwijać i rozmnażać. Tych związków chemicznych dostarczają im pośrednio albo też bezpośrednio rośliny wyższe, chlorofilowe.

Laurent przeprowadził obszernie badanie nad odżywianiem się drożdżaków ciałami bezazotowymi i stwierdził, że:

1) Drobnoustrojom tym nie mogą służyć za pożywienie następujące ciała: Alkohole, aldehydy, eter, wolne kwasy tłuszczowe, celuloza i i.

2) Mogą się odżywiać następującymi ciałami bezazotowymi: Solami niektórych kwasów organicznych (n. p. octanami, mlekanami, bursztynianami, cytrynianami, winianami i jabłkanami), niektórymi wolnymi kwasami (n. p. kwasem winowym, jabłkowym, cytrynowym), cukrami, oraz pewnemi takimi ciałami, z których cukry mogą się tworzyć jak n. p. dekstrynami i glukozydami.

Najważniejszymi z powyższych ciał odżywczych są cukry. Nie wszystkie gatunki drożdżaków mogą wszystkie cukry bez wyboru asymilować; pod tym względem znajdujemy u nich wybitne różnice. Niektóre cukry mogą być przyswajane wprost, inne zaś dopiero po poprzedniej hydrolizie. Bliższe szczegóły co do tych właściwości poszczególnych gatunków podamy później przy ich opisie.

Drożdżaki mogą sobie przyswajać rozmaite ciała azotowe. Pasteur, Duclaux i A. Mayer wykazali szczegółowemi badaniami, że one mogą także czerpać azot z soli amonowych. Z pomiędzy organicznych ciał azotowych mogą im służyć za pokarm amidy i peptony, lecz białka kurzego lub nierozłożonego białka roślinnego nie mogą one sobie przyswajać. Ciała te nie przechodzą przez błony, zapewne i przez błonę komórek tych drobnoustrojów również nie dostają się do wnętrza komórki i wskutek tego nie mogą być przyswajane. Nie mogą drożdżakom służyć za pokarm azotany, które, jak to wyka-



zały doświadczenia rozmaitych uczonych, odgrywają wielką rolę przy odżywianiu roślin wyższych.

Pierwszym, co wykazał niezbędność ciał mineralnych dla odżywiania drożdżaków i dla fermentacji był Pasteur. Okazał on, że fermentacja może się odbyć w takim płynie odżywczym, który nie więcej nie zawiera prócz soli amonowej (winianu amonowego) i popiołu z drożdży, oraz że fermentacja słabnie, gdy zmniejszymy w płynie ilość fosforanów alkaliów, albo alkalia zupełnie usuniemy. Bardzo szczegółowe badania w tym kierunku wykonał A. Mayer, który dowiódł, że nieodzownie potrzebnymi są kwas fosforowy i potas; braku wapna drożdżaki nie bardzo odczuwają, a obecność magnu sprzyja ich rozwojowi.

Oprócz powyższych związków chemicznych drożdżaki wymagają do życia także wody.

**Oddychanie.** Botanik Brefeld twierdził swego czasu, że drożdżaki nie mogą żyć bez wolnego tlenu. Pasteur jednakowoż wykazał, że grzybki te żyją także w nieobecności powyższego pierwiastku.

Jeżeli wprowadzimy komórki drożdżaków do płynu, zawierającego tlen rozpuszczony, wtedy wchłaniają go one w siebie i wydzielają natomiast kwas węglowy. Drożdżaki zatem oddychają. Największą ilość tlenu pochłaniają one przy temperaturze 33—40°C.

Można przyjąć, że przy zwyczajnej temperaturze fermentacji, tj. 20—25°C, jeden gram suchych drożdży może w czystej wodzie w ciągu godziny wchłonąć 5 cc. tlenu i zużyć go do wytworzenia kwasu węglowego. Ta energia oddychania jest niezależna od ilości drożdży i ilości tlenu, rozpuszczonego w płynie, jest wszakże o wiele słabsza, jeżeli się drożdże wypłucze kilkakrotnie wodą.

Stwierdzono, że po nasyceniu się grzybków drożdżowych tlenem, ich czynność odżywiania się staje się intensywniejsza i że obecność tego pierwiastku sprzyja także ich rozmnażaniu.

Hansen wykonał porównawcze badania nad rozmnażaniem się drożdżaków piwnych w przewietrzanych i nieprzewietrzanych płynach odżywczych; poniżej zostawiono główne wyniki tych badań.



	Ilość komórek drożdżaków		
	w płynie nieprzewietrz.	w płynie przewietrzanym	w płynie przewietrzanym było więcej o
pierwszego dnia	55	55	—
drugiego dnia	279	800	521
trzeciego dnia	405	1498	1093

**Wydzielanie ciał nieprzydatnych do odżywiania.** Drożdżaki, tak jak wogóle wszelkie inne organizmy, używają wchłoniętych ciał odżywczych do budowy narządów w swym ustroju i do wytwarzania nowych pokoleń.

W ciągu życia tych drobnoustrojów zużywają się ich narządy, co się tem objawia, że grzybki, żyjąc, wydzielają pewne istoty chemiczne, nie mogące już innym osobnikom służyć za pokarm.

Wewnętrzne narządy komórki drożdżaków, to co my jako całość zwiemy protoplazmą i jądrem, składają się głównie z ciał białkowych. To też produkty, wydzielane przez komórki, wskutek zużycia się tych narządów, są przeważnie ciałami, zawierającymi azot. Badania nad jakością tych produktów są jeszcze wielce niedostateczne i mało wskutek tego wiemy o chemicznym charakterze wielu z tych ciał. Pomiedzy nimi, znajdujemy ciała śluzowe, leucynę, tyrozynę, ksantynę i guaninę, a więc te same, któreśmy poznali pomiedzy produktami rozkładu u bakteryj.

Nie jest wykluczona możliwość, że drożdżaki wydzielają także w bardzo małych ilościach jeszcze takie produkty rozkładu swej protoplazmy, które są truciznami. Morin mianowicie wykrył pomiedzy azotowymi produktami wydzielinowymi organiczną zasadę, zwaną *glykozyną*. Jest to trucizna, która znajduje się w spirytusie melasowym i rumie.

Oprócz azotowych produktów wydzielinowych stwierdzono u drożdżaków także produkty rozkładowe, nie zawierające azotu. Są to głównie lotne kwasy tłuszczowe, a mianowicie: octowy, propionowy i waleryanowy. Kwasy te



można łatwo z drożdży wyciągnąć przez wypłukanie ich wodą, lecz w kilka godzin po wypłukaniu występują one w drożdżach znowu. Tworzenie się kwasów, a szczególnie kwasu octowego wzmacnia się, gdy właściwa fermentacja już ustała. Duclaux poddał fermentacji 200 gr. cukru gronowego za pomocą 1 *klg.* drożdży prasowanych i wykrył w roztworze po ukończeniu fermentacji 1·2 gr. kwasu octowego. Gdy płyn ten pozostawił wraz z drożdżami przez dwa dni jeszcze w spokoju, to wytworzyło się 2·1 gr. tego kwasu. Ilość wytworzonych kwasów zależy także od sposobu odżywiania drożdżaków ciałami azotowymi.

Boullanger stwierdził, że w litrze brzeczki, zawierającej 3% peptonu, wytworzyło się 0·481 gr. kwasu octowego, zaś w litrze brzeczki, zawierającej 1·2% peptonu wytworzyło się 0·759 gr. kwasu octowego.

Im zatem drożdże lepiej są odżywiane, tem mniej wytwarzają kwasu i odwrotnie..

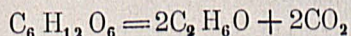
**Wydzielanie enzymów.** Dawno już spostrzeżono, że komórki wielu gatunków drożdżaków wydzielają pewne ciała, posiadające własność przemieniania saccharozy (cukru trzcinowego) na dekstrozę (cukier gronowy) i lewulozę (cukier owocowy). Proces tej przemiany jest hydrolizą, nazwaną też inwersją; ciało, powodujące ją, nazwano inwertyną. Inwertyna jest zatem enzymem hydrolitycznym. Z czasem przekonano się, że jest więcej takich enzymów, wydzielanych przez drożdżaki. Znamy mianowicie enzymy: rozszczepiający hydrolitycznie maltozę na dekstrozę, hydrolizujący laktozę (cukier mlekowy), przemieniający wskutek takiego samego procesu melibiozę na dekstrozę i galaktozę. Enzymom tym nadano nazwy według cukru, na jaki działają; i tak nazwano od dawna znaną inwertynę cukrązą, a dalsze, powyżej przytoczone enzymy maltazą, laktazą i melibiazą. Enzymy powyższe służą drożdżakom do przygotowywania środowiska dla czynności fermentacyjnej, zazwyczaj bowiem dany gatunek drożdżaka może pewien rodzaj cukru odfermentować tylko wtedy, gdy wydzieli enzym, rozkładający ten cukier hydrolitycznie na cukry niższe o drobinie  $C_6H_{12}O_6$ . Tak np. drożdżak *sacch. apiculatus*, który później bliżej poznamy, wywołuje fermentację w roztworach dekstrozy i saccharozy, gdyż nie wy-



dziela ani maltazy, ani cukrazy czyli inwertyny, któreby mogły zhydrolizować te cukry i uczynić je przydatne do fermentacji za pomocą tego drożdżaka.

**Oddziaływanie na glebę odżywcza.** Życie drożdżaków objawia się nie tylko tem, że przyjmują pokarm, budują z niego swoją protoplazmę i że się rozmnażają, lecz także tem, że wykonywują jeszcze jedną czynność życiową, mianowicie powodują w płynach odżywczych rozkład cukru, a to najczęściej głównie na alkohol i kwas węglowy, że wywołują zatem ten objaw, który od dawna zwiemy fermentacją alkoholową.

Rozkład cukru pod wpływem drożdżaków przedstawił Gay-Lussac następującem równaniem:



Według tego powinno by ze 100 cz. cukru gronowego powstać 51.1 cz. alkoholu. Pasteur wykazał jednak, że rozkład cukru nie odbywa się ściśle według powyższego równania; oprócz alkoholu bowiem i kwasu węglowego powstaje zawsze gliceryna i kwas bursztynowy. Według niego po fermentacyjnym rozkładzie otrzymujemy dopiero ze 105.65 części dekstrozy:

alkoholu	51.11 części
kwasu węglowego	49.42 „
„ bursztynowego	0.673 „
gliceryny	3.40 „

Oprócz tego zużywają drożdże 1.3 części z powyższej ilości cukru jako pożywienie, dla celów rozrastania się i rozmnażania.

Po tych pierwszych pracach nad fermentacją alkoholową wykonano cały szereg badań w tym kierunku i stwierdzono, że ilość tych rozmaitych produktów fermentacji zmienia się w dość rozległych granicach i wykryto również pomiędzy nimi wyższe alkohole, aldehydy, lotne kwasy, estry i t. p.

Claudon i Morin poddali 100 klgr. cukru fermentacji, wywołanej przez drożdżak *saccharomyces ellipsoideus* i znaleźli w odfermentowanym płynie:

aldehydu	ślady
alkoholu etylowego	50615.0 gr,



normalnego alkoholu propylowego	2·0	gr.
alkoholu izobutyłowego	1·5	"
" amyłowego	51·0	"
estru enantowego	2·0	"
izobutylennglykolu	158·0	"
gliceryny	2120·0	"
kwasu octowego	205·3	"
" bursztynowego	452·0	"

Lindet wykazał, że drożdżaki wytwarzają stosunkowo małe tylko ilości wyższych alkoholów wtedy, gdy dodamy dostateczną ilość drożdży i ciał azotowych i jeżeli nie przekroczymy pewnej temperatury, a temsamem postaramy się o możliwie żywą fermentację.

Thylmann i Hilger przekonali się, że ilość wytworzonej gliceryny jest bardzo zmienna i zależna od warunków, w których odbywa się fermentacja. Dodanie ciał odżywczych i podwyższenie temperatury sprzyja tworzeniu się większej ilości gliceryny, powolna fermentacja zaś i niska temperatura wpływają w kierunku przeciwnym

Effront stwierdził, że gliceryna i kwas bursztynowy tworzą się najwięcej w końcowym okresie fermentacji, z czego wnosi, że tworzenie się tych ciał jest w związku z osłabieniem drożdży.

Duclaux wykrył aldehyd po odfermentowaniu cukru mlekowego, a Röser stwierdził, że występuje on pomiędzy produktami fermentacji wtedy zwłaszcza, gdy powietrze ma większy przystęp do fermentującego roztworu i że różne gatunki drożdżaków rozmaicie się zachowują co do jego wytwarzania.

Drożdżaki okazują niejednakową zdolność wywoływania fermentacji w roztworach rozmaitych cukrów. Znamy takie, które wzbudzają fermentację wszystkich prawie cukrów, takie, pod których wpływem tylko pewne cukry fermentują, a wreszcie takie nawet, które wcale nie wywołują fermentacji alkoholowej.

Niektóre drożdżaki robią wybór w podanych im do fermentacji cukrach.

Gayon i Dubourg stwierdzili, że istnieją pewne gatunki, które w mieszanym roztworze dekstrozy i lewulozy wy-



wołują fermentację głównie tego pierwszego cukru, jakkolwiek w czystym roztworze lewulozy fermentację także wzbudzają. Inne znowu gatunki, jak n. p. *sacch. exiguus*, zachowują się odwrotnie, t. j. rozkładają wprzód lewulozę.

Stopień tego wybierania cukru zależy w znacznej mierze także od temperatury, przy której fermentacja się odbywa i od składu płynu odżywczego. Tak n. p. *sacch. exiguus* może przy niskiej temperaturze lewulozę zupełnie odfermentować, zanim naruszy dekstrozę, znajdującą się w tym samym roztworze. Oprócz powyższych różnic u drożdżaków spotykamy także różnice co do stopnia odfermentowania roztworów cukru. W roztworach maltozy n. p. pewien gatunek pozostawia 0·6—0·9% nieodfermentowanego cukru, inny gatunek zaś pozostawia w tym samym roztworze znacznie więcej, bo 1·86—2·54% cukru nieodfermentowanego.

**Samotrawienie** (autofagia). Jeżeli wymyte drożdże czyste, niezakażone innymi drobnoustrojami, wprowadzimy do jałowej wody i w odpowiedniej temperaturze pozostawimy w naczyniu wyjałowionem na pewien czas, to spostrzeżemy, że one będą wolno wydzielały kwas węglowy przez dłuższy czas, a w płynie stwierdzimy obecność alkoholu. Pewien rodzaj fermentacji odbył się tu więc bez obecności cukru w wodzie. Alkohol zatem mógł powstać tylko wskutek fermentacyjnego rozkładu jakiegoś ciała we wnętrzu komórek drożdżaków.

Ten sam objaw spostrzegamy wtedy, gdy do roztworu cukru damy więcej niż 40% drożdży (na ilość cukru). Wtedy fermentacja odbywa się nawet po zupełnem zniknięciu cukru z płynu, a po jej ostatecznem ukończeniu zawiera on znacznie więcej alkoholu, aniżeli się z danej ilości cukru samego wytworzyć mogło. Powstał on zatem niewątpliwie kosztem ciała komórek drożdżaków.

To zjawisko tłómaczymy sobie w ten sposób, że komórka, żyjąc bez pożywienia, wykonuje swoją czynność fermentacyjną kosztem nagromadzonych poprzednio w jej wnętrzu chemicznych istot.

Ponieważ ona swe wewnętrzne organa przy tej czynności zużywa, i nie odnawia ich z powodu braku pożywienia, czyli je po prostu sama trawi, nazwano to zjawisko samotra-



wieniem. Przytem powstają nietylko alkohol i kwas węglowy, lecz także inne ciała, a pomiędzy innemi zawierające azot, jak n. p. leucyna, tyrozyna, ksantyna i guanina, które powstały z ciał proteinowych, składających protoplazmę komórki.

## Wpływ rozmaitych czynników na objawy życiowe drożdży.

### a) Wpływ fizyczny.

**Temperatura.** Wpływ temperatury na życie drożdżaków jest różny, stosownie do tego, czy zawierają wodę, czy też są suche, czy są to komórki vegetatywne, czy też trwałe (zarodniki). Wilgotne drożdżaki giną przy  $50-60^{\circ}\text{C}$ ; ich zarodniki dopiero przy temperaturach wyższych o mniej więcej  $5^{\circ}\text{C}$ .

Wysuszone komórki tych grzybków można przez 5 minut ogrzewać do  $100$ ,  $110$  a nawet  $120^{\circ}\text{C}$  bez obawy zniszczenia ich. Na nizkie temperatury drożdżaki są bardzo wytrwałe. Według badań Picteta i Younga nie giną one nawet przy temperaturze  $130^{\circ}\text{C}$  poniżej zera.

Różne gatunki drożdżaków mają niejednakowe optymalne temperatury, przy których fermentacja odbywa się najkorzystniej. Tak n. p. piwne drożdżaki t. zw. dolnej fermentacji wzbudzają korzystną fermentację przy  $5-10^{\circ}\text{C}$ , drożdżaki górnej fermentacji w zacierach gorzelnianych wzbudzają taką samą fermentację przy  $20$ ,  $22$ ,  $25-27^{\circ}\text{C}$ . Drożdżaki moszczu winnego mogą przy  $32$ , a niektóre nawet przy  $35^{\circ}\text{C}$  wzbudzać fermentację korzystną.

Temperatura, przy której odbywa się fermentacja, wzbudzona przez pewien gatunek drożdżaka, ma wielki wpływ na t. zw. odfermentowanie, t. j. ilość cukru, jaka po ukończeniu fermentacji pozostaje w roztworze jako nierozłożona. Ogólnie można powiedzieć, że po przekroczeniu optymalnej temperatury fermentacji ilość nieodfermentowanego cukru wzrasta wraz z podnoszeniem się temperatury.

Poniżej przytoczone są wyniki prób w tym kierunku z dwoma gatunkami drożdżaków.



gatunek drożdżaka	Fermentacja odbyła się przy temperaturze.	
	25° C	35° C
	Pozostało nieodferm. cukru gr. w litrze	
pierwszy	2·70	115·00
drugi	2·89	36·66

Z tego zestawienia widzimy także, że pierwszy gatunek drożdżaków był wrażliwszy na temperaturę 35° C, aniżeli gatunek drugi, gdy bowiem drugi zostawił w litrze tylko 36·66 gr. nieodfermentowanego cukru, to gatunek pierwszy pozostawił 115·00 gr.

**Światło.** Martinaud stwierdził, że po czterogodzinnem działaniu promieni słonecznych przy 40—45° C grzybki drożdżowe ginęły. Przy 35° C ginęły one pod wpływem promieni słonecznych dopiero po trzech dniach; w cieniu zaś można drobnoustroje te bardzo długo trzymać przy 36—45° C bez obawy, aby zginęły.

Według Keya światło nie działa ani korzystnie ani szkodliwie na przebieg fermentacji i rozmnażanie się drożdżaków przy zwykłych temperaturach fermentacji.

**Ciśnienie.** Jeżeli płyn, zawierający drożdżaki, poddamy w odpowiednich przyrządach wysokiemu ciśnieniu, to one wytrzymują je bez ponoszenia jakiegokolwiek szkody. Martinaud poddawał w ten sposób grzybki drożdżowe ciśnieniu 1000 atmosfer, a Mertens nawet 8000 atmosfer i w obu próbach drożdże nic nie ucierpiały.

Jeżeli jednak poddamy grzybki te jednostronnemu ciśnieniu, n. p. drożdże suche ciśnieniu w jakiegokolwiek prasie, to wtedy ciśnienie kilku atmosfer może być szkodliwe.

#### b) Wpływ chemicznych odczynników.

Odczynniki chemiczne mogą wywierać na drożdżaki wpływ niekorzystny, niszczący lub tylko osłabiający, albo też przeci-



wnie, mogą działać korzystnie, pobudzając ich czynności życiowe.

Wchodzące tu w grę odczynniki poznaliśmy już na wstępie; na tem miejscu pokrótce zapoznamy się bliżej z ich działaniem.

**Kwasy.** Drożdżaki są wogóle dość wytrzymałe na wpływ kwasów. Kwas fosforowy dopiero wtedy osłabia czynność życiową piwnych i gorzelnianych grzybków drożdżowych, gdy się znajduje w roztworze w ilości 1·3%. Kwas siarkowy wywiera szkodliwy wpływ przy znacznie mniejszej dawce, bo przy 0·5%

Silnie trująco działa kwas siarkawy. Linossier stwierdził pod tym względem, co następuje:

1·25	gr.	kw.	siarkaw.	w	l.	niszczy	grzybki	drożdż.	po	15	min.
0·27	"	"	"	"	"	"	"	"	po	godzinie	
0·108	"	"	"	"	"	"	"	"	po	24	godz.
0·054	"	"	"	"	"	"	"	"	po	kilku	dniach.

Zawartość 0·9—1·0% kwasu borowego w roztworze cukru wstrzymuje fermentację i rozwój drożdży, dawka 0·2% jest bez wpływu.

Fermentację wstrzymuje dawka 0·2% kwasu mrówkowego, 0·5% kwasu octowego, 0·15% kwasu propionowego, 0·05% kwasu masłowego.

Kwas mlekowy działa szkodliwie dopiero w dawkach powyżej 2%.

Podobnie jak powyższe, działają też kwasy inne, w innym jednak stopniu.

**Sole.** Niektóre sole działają szkodliwie na fermentację, jak n. p. azotan potasowy (saletra), arsenin potasowy boran sodowy (boraks) i inne. Szczególnie szkodliwie działają chlorek rtęciowy, (sublimat) i inne sole ciężkich metalów, jak miedzi, ołowiu i t. p. Sublimat n. p. działa bardzo szkodliwie w dawce 0·05% a w ilości 0·1% drożdżaki już niszczy.

**Inne ciała.** Alkohol szkodzi rozwojowi drożdżaków piwarskich i gorzelnianych już w ilości 5%, fermentacja zaś ustaje dopiero przy dawce 16%.



Alkaloidy, jak chinina, nikotyna, strychnina, tylko w nieco znaczniejszych dawkach, szkodzą także grzybkom drożdżowym.

Prawie wszystkie powyższe odczynniki, niweczące fermentacyjną działalność i życie drożdżaków w pewnych dawkach, w innych, mniejszych mogą czynność życiową tych drobnoustrojów pobudzić. Tak n. p. działają pobudzająco: sublimat w dawce 0.002%, kwas arsenawy (arszenik) w dawce 0.005%,

Absolutnie pobudzająco działają w niezbyt wielkich dawkach takie ciała mineralne, które zostają asymilowane przez grzybki, a przede wszystkim fosforan potasowy, wapniowy i i.

Mniejsza lub większa intensywność tak dodatniego jak też ujemnego wpływu chemicznych odczynników na objawy życiowe drożdżaków zależy w znacznym stopniu od t. zw. fizyologicznego stanu tych grzybków, mianowicie od tego, czy są to komórki wegetatywne, czy też zarodnikowe, czy hodowla jest młoda, czy też stara, czy była dobrze lub źle odżywiana i jakimi pokarmami.

## Systematyka drożdżaków.

Nazwę „*saccharomyces*“, wprowadzoną przez Meyena, początkowo nadawano wszystkim grzybkom pączkującym, żyjącym na glebach cukrowych. Pasteur określił nieco bliżej tę nazwę i darzył nią tylko te grzybki pączkujące, które, żyjąc w płynach cukrowych, wzbudzają fermentację. To znaczenie nazwy *saccharomyces* zostało jednak dziś przeważnie zarzucone wskutek propozycji Hansena.

Uczony ten wprowadził nową systematykę drożdżaków i ta się dziś prawie zupełnie przyjęła, jakkolwiek nie można powiedzieć, aby nie pozostawiała nic do życzenia.

Drożdżaki czyli *saccharomycety* dzieli on na dwie grupy: *Saccharomycety* właściwe, t. j. takie, które wytwarzają zarodniki wewnętrzne i *pseudosaccharomycety*, nie wytwarzające tych utworów.

W tych grupach robi Hansen dalej działy i poddziały, a to według fizyologicznych cech.

System Hansena przedstawia się jak następuje:



A) *Saccharomycety* właściwe, grzybki pączkujące, wytwarzające zarodniki wewnętrzne. Dzieli się na dwie grupy:

I. *Saccharomycety*, wydzielające inwertynę i wzbudzające fermentację alkoholową. Do nich należą:

- 1) *Saccharomycety*, które wzbudzają fermentację w roztworach saccharozy, dekstrozy i maltozy. Tu należą drożdże piwowskie i gorzelnicze.
- 2) *Saccharomycety*, wzbudzające fermentację w roztworach saccharozy, dekstrozy, lewulozy, nie zaś maltozy.

II. *Saccharomycety* nie wydzielające inwertyny i nie wzbudzające fermentacji alkoholowej.

B) *Pseudosaccharomycety*, grzybki pączkujące, nie wytwarzające zarodników wewnętrznych. Do tych należą:

- 1) Grzybki wzbudzające fermentację w roztworach dekstrozy i lewulozy;
- 2) grzybki nie wydzielające inwertyny, a wzbudzające fermentację w roztworach saccharozy, maltozy i dekstrozy;
- 3) grzybki wzbudzające fermentację w roztworach saccharozy, dekstrozy, galaktozy i laktozy (cukru mlekowego).

Wszystkie powyższe drożdżaki możnaby nazwać drożdżakami pączkującymi (*blastosaccharomycetes*).

Oprócz powyższych istnieje mała grupa bardzo ciekawie się zachowujących drożdżaków, których komórki wegetatywne rozmnażają się przez rozszczepianie; te nazywają się drożdżakami rozszczepkowymi (*schizosaccharomycetes*).

## Szczegółowy opis drożdżaków.

### Drożdżaki pączkujące.

#### A. *Saccharomycety* właściwe.

##### *Saccharomyces cerevisiae*. Meyen.

Jest to drożdżak, wzbudzający fermentację alkoholową w brzeczках piwnych i zacierach gorzelnianych, stanowiąc w tych płynach główny składnik drożdży. Każdy osobnik składa się z jednej tylko komórki o kształcie kulistym, jajowatym lub



eliptycznym. Największa jej średnica wynosi 8—9 mikrom. Komórki te występują bardzo często złączone ze sobą po kilka razem na kształt szeregów lub gałązek. Nie trudno poznać, która z nich jest komórką pierwotną, początkową w gałązce, czyli macierzystą, a które komórkami młodszymi.

W odpowiednich warunkach tworzą się w komórce zarodniki, a to najczęściej 2, 3 lub 4. Średnica ich wynosi 4—5 mikrom.

Grzybek ten wywołuje fermentację w odżywczych roztworach dekstrozy, lewulozy, maltozy i saccharozy. Ten ostatni cukier nie odfermentowuje wprost, lecz po poprzednim rozłożeniu go na dekstrozę i lewulozę czyli po zinwertowaniu. Hydrolityczny proces ten odbywa się wskutek wydzielania inwertyny przez drożdżak. Dekstryn i cukru mlekowego odfermentować nie może.

Nazwa *saccharomyces cerevisiae* obejmuje wielką ilość rozmaitych odmian jednego i tego samego gatunku.

Hansen był pierwszy, który to poznał i sprawę tę klasycznymi doświadczeniami wyświecił, od tego czasu też zrobiliśmy ogromne postępy w bliższym poznaniu tych, dla przemysłu fermentacyjnego ważnych odmian.

Od dawna już umiano rozróżniać dwie odmiany drożdżaka *saccharomyces cerevisiae*, mianowicie składające t. zw. „drożdże dolne“ i „drożdże górne“.

Drożdże dolne opadają w fermentującym płynie na dno naczynia w pewnym okresie fermentacji, a mianowicie po ukończeniu t. z. fermentacji głównej; drożdże górne zaś w tym okresie podchodzą po większej części pod wierzch i tworzą tu główny składnik gęstej piany. Dokładnego wytłumaczenia tego zjawiska nikt dotychczas nie podał, przypuszczamy tylko, że wskutek pewnych, bliżej nieznanych przyczyn komórki grzybków drożdży dolnych nie tworzą podczas pączkowania większych skupień i dlatego niełatwo mogą być unoszone do góry przez bańki wywiązującego się kwasu węglowego; grzybki zaś drożdży dolnych długi czas pozostają w ciągu pączkowania złączone ze sobą, tworząc gałązki i przez to mogą być unoszone do góry przez zatrzymujące się pomiędzy nimi bańki gazu.

Drożdży dolnych używa się do odfermentowywania piwa przy niskich temperaturach (poniżej 10° C), drożdży górnych



zaś do odfermentowywania piwa przy temperaturach wyższych i do odfermentowywania zacierów gorzelnianych.

Dawniej sądzono, że grzybki drożdży dolnych, hodowane przy wyższych temperaturach, przemieniają się w grzybki drożdży górnych i na odwrót, że te ostatnie w niskich temperaturach stają się grzybkami drożdży dolnych; sądzono więc, że dolny i górny grzybek drożdżowy przedstawia tę samą roślinę, która tylko wskutek rozmaitych temperatur, przy jakich rośnie, charakter zewnętrznych objawów fermentacyi zmienia.

Sąd ten opierano na często robionem spostrzeżeniu, że dolne grzybki drożdżowe dawały przy wyższych temperaturach hodowli drożdże górne, a górne przy niższych temperaturach drożdże dolne. Spostrzeżenia te były jednak błędne; nie znano

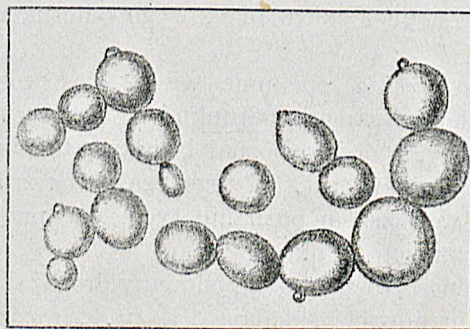


Fig. 65. *Saccharomyces cerevisiae* I. Hansen. Komórki osadowe (wedł. Hansena). Powiększ. 100<sup>x</sup>.

wówczas czystej hodowli i hodowano przy odpowiednich temperaturach nie czysto dolne, względnie górne grzybki drożdżowe, lecz równocześnie obie odmiany, zanieczyszczone jedna drugą. Przy niskiej temperaturze, sprzyjającej dolnym grzybkom drożdżowym, rozwinęły się po jakimś czasie te ostatnie i przy-

gluszyły pierwotnie w przeważnej ilości wysiane górne, a na odwrót przy wyższej temperaturze rozwinęły się górne grzybki prędzej i rozwieliłmożniły się kosztem dolnych, jakkolwiek te były na początku w przewadze. Po wprowadzeniu czystej hodowli przy badaniach stwierdzono, że dolne i górne grzybki drożdżowe stanowią dwie odrębne grupy drożdżaków wogóle i że nie tylko gatunek *saccharomyces cerevisiae*, lecz wszystkie drożdżaki na takie grupy podzielić można.

U gatunku *saccharomyces cerevisiae* różnią się te dwie grupy odmian także pod względem fizyologicznym. A. Bau wykazał mianowicie, że odmiany dolnych drożdży odfermentowują melibiozę (gatunek cukru), odmiany górne zaś cukru tego odfermentować nie mogą.



Pierwszą przez Hansena w niewątpliwie czystej hodowli badaną odmianą drożdżaka *saccharomyces cerevisiae* był.

**Saccharomyces cerevisiae** I. Hansen. Komórki wegetatywne tego grzybka w osadzie na dnie naczyń fermentacyjnych są okrągłe lub owalne; wydłużonych komórek tu niema (fig. 65).

Komórki kożuchowe tego grzybka są zazwyczaj podobne do komórek osadowych; czasami występują tu też komórki wydłużone (fig. 66)

W kożuchu starym można znaleźć komórki okrągłe, owalne i wydłużone i to nieraz takie, że długość ich jest kilkanaście razy większa od szerokości. Są one wtedy zazwyczaj tak połączone ze sobą, że przypominają grzybnie wyższych grzybów (fig. 67).

Tę odmianę drożdżaka *sacch. cerevisiae* wydzielił Hansen z drożdży, używanych po browarach londyńskich i edynburskich. Należy ona do grupy górnych grzybków drożdżowych. Wydziela inwertynę i maltazę, przemienia preto cukier trzcinowy w lewulozę i dekstrozę, a maltozę w dekstrozę. W roztworach dekstrozy, maltozy i saccharozy wzbudza fermentację alkoholową, nie wzbudza jej zaś w roztworach cukru mlekowego. W brzeczce piwnej wytwarza w przeciągu 14 dni 4-6 procentów objętości alkoholu.

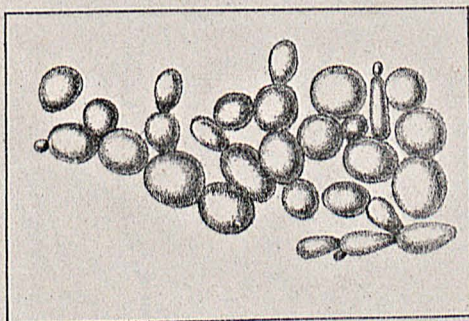


Fig. 66. *Saccharomyces cerevisiae* I. Hansen. Komórki kożuchowe przy 15–6° C. (Wedł. Hansena). Powiększ. 1009.

Zarodniki są okrągłe, o średnicy 2,5–7 mikrom. Co do czasu, w jakim one w tym grzybku się tworzą, zachodzą, według Hansena, następujące stosunki:

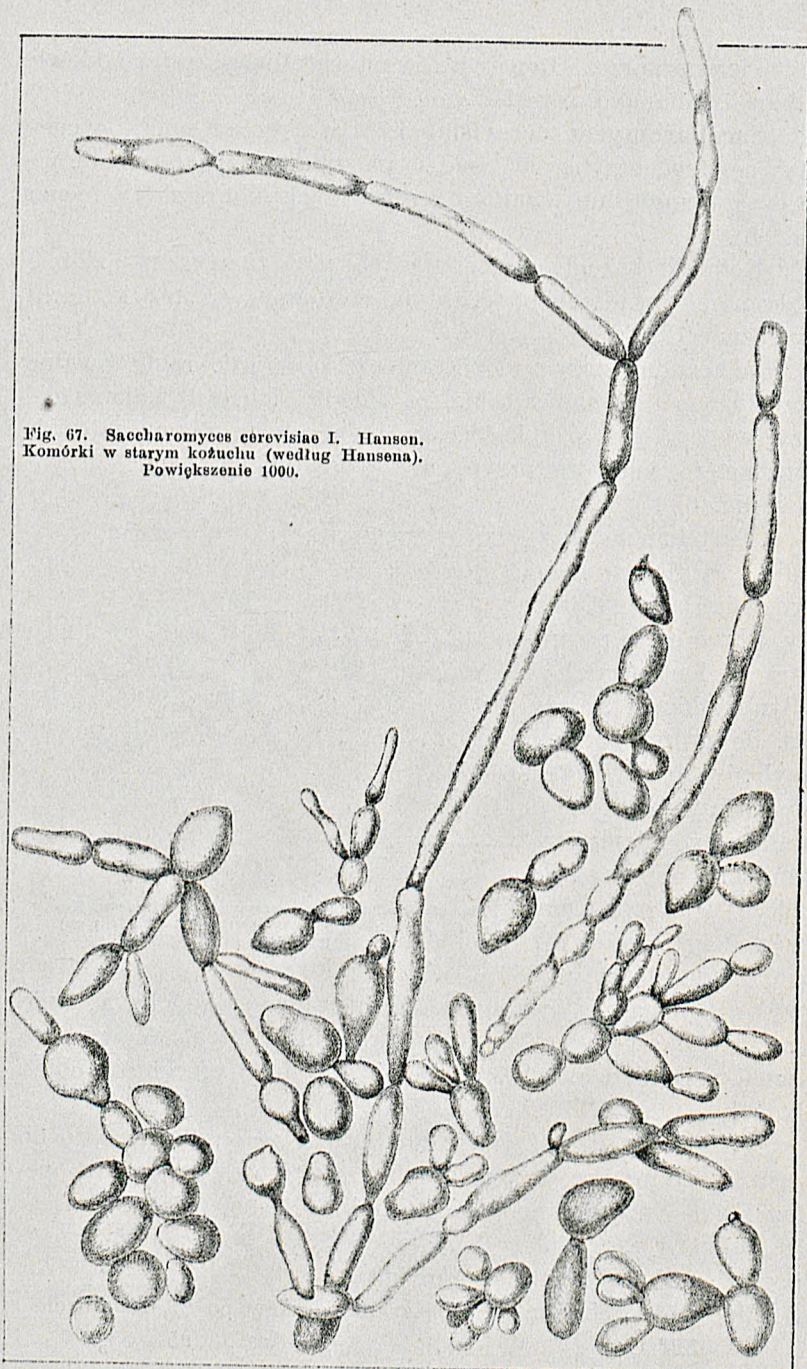
Przy 37½° C° nie tworzą się zarodniki.

„ 36–37° C° okazują się załączki zarodników po 29 godzinach

„ 35° C° „ „ „ „ 25 „



Fig. 67. *Saccharomyces cerevisiae* I. Hansen.  
Komórki w starym kożuchu (według Hansena).  
Powiększenie 1000.





przy	$33\frac{1}{2}^{\circ}\text{C}$	okazują się	załążki	zarodników	po	23	godzinach
"	$30^{\circ}\text{C}$	"	"	"	"	20	"
"	$25^{\circ}\text{C}$	"	"	"	"	23	"
"	$23^{\circ}\text{C}$	"	"	"	"	37	"
"	$17\frac{1}{2}^{\circ}\text{C}$	"	"	"	"	50	"
"	$16\frac{1}{2}^{\circ}\text{C}$	"	"	"	"	65	"
"	$11-12^{\circ}\text{C}$	"	"	"	"	10	dniach
"	$9^{\circ}\text{C}$	nie tworzą się zarodniki.					

Kożuch tworzy się przy rozmaitych temperaturach po rozmaicie długim przeciągu czasu i tak:

Przy  $38^{\circ}\text{C}$  kożuch się nie tworzy.

"	$33-34^{\circ}\text{C}$	okazują się	pierwsze	płatki	kożucha	po	9—18	dniach
"	$26-28^{\circ}\text{C}$	"	"	"	"	"	7—11	"
"	$20-22^{\circ}\text{C}$	"	"	"	"	"	7—10	"
"	$13-15^{\circ}\text{C}$	"	"	"	"	"	15—30	"
"	$6-7^{\circ}\text{C}$	"	"	"	"	"	2—3	mies.
"	$5^{\circ}\text{C}$	kożuch się nie tworzy.						

Z czasem wykryto mnóstwo odmian drożdżaków *saccharomyces cerevisiae*, tak, że gdyby chciano każdemu nadać nazwę, zabrakłoby ich. Odmiany te przechowują po rozmaitych laboratorjach i oznaczają je tylko liczbami, a w katalogach podają bliższe ich określenie.

Grzybki, składające gorzelniane drożdże, należą także do gatunku *saccharomyces cerevisiae*, a mianowicie do grupy odmian górnych. Odnaczają się one od innych odmian górnych przede wszystkim tem, że znoszą stosunkowo bardzo wielką ilość kwasu i że mogą wytworzyć znaczną ilość alkoholu. Jako górne odmiany odróżniają się one także tem od odmian dolnych, używanych w piwowarstwie, że wytwarzają szybko i obficie zarodniki. Znajdujemy w nich te utwory już po 20-godzinnej odpowiedniej hodowli, podczas gdy odmiany dolne wy-

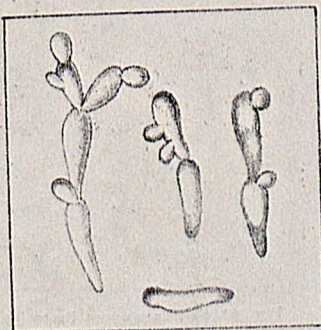


Fig. 68. *Saccharomyces Pastorianus*. Reess. (Wedl. Reessa). Powiększenie 400.



twarzają je dopiero po 30—40 godzinach w tych samych warunkach (25° C)

Fermentacja odbywa się przy użyciu górnych odmian szybciej, aniżeli przy odmianach dolnych

Najbardziej znaną z pomiędzy gorzelnianych odmian jest hodowana w berlińskiej stacji doświadczalnej pod nazwą „rasy II“. Pochodzi ona z drożdży gorzelni Gronowo (w Prusiech Zachodnich), a względnie z fabryki drożdży prasowanych w Toruniu, która dostarczyła tej gorzelni drożdży zarodowych. „Rasę II.“ wydzielił Lindner w r. 1880 w czystej hodowli.

### **Saccharomyces Pastorianus. Reess.**

Reess opisuje ten gatunek drożdżaka następująco: Komórki pączkujące są przy powolnym rozroście owalne. Przy



Fig. 69. *Saccharomyces Pastorianus* I. Hansen. Komórki osadowe (Wedl. Hansena). Pow. 1000.

bujnym rozrastaniu tworzą się silnie rozgałęzione związki maczugowatych członków pierwszorzędnych, 18—22 mikrom. długich, oddzielających owalne człony drugorzędne, 5—6 mikrom. długie (fig. 68). Zarodniki powstają w okrągłych lub owalnych komórkach w liczbie 2—4; średnica ich ma 2 mikrom.

Jest to drożdżak, wywołujący powolną fermentację alkoholową; znajduje się w drożdżach podczas końcowej fermentacji win, soków owocowych i samofermentacji poddawanych piw.

Hansen pierwszy otrzymał ten gatunek drożdżaków w czystej hodowli i pierwszy stwierdził, że istnieją rozmaite jego odmiany. Wyhodowane przez tego badacza odmiany są następujące:

**Saccharomyces Pastorianus I. Hansen.** Wegetatywne komórki, wyhodowane w brzeczce piwnej, mają w osadzie prze-



ważnie kształt wydłużony, kielbaskowaty; pomiędzy tymi znajdują się większe lub mniejsze owalne albo także okrągłe. (fig. 69).

W kożuchu mają one kształt rozmaity, stosownie do tego, przy jakiej temperaturze on powstał. Przy temperaturze 20—28° C. kształt ten jest taki sam jak u komórek w osadzie, przy temp. 13—15° C zaś jest on bardzo wydłu-

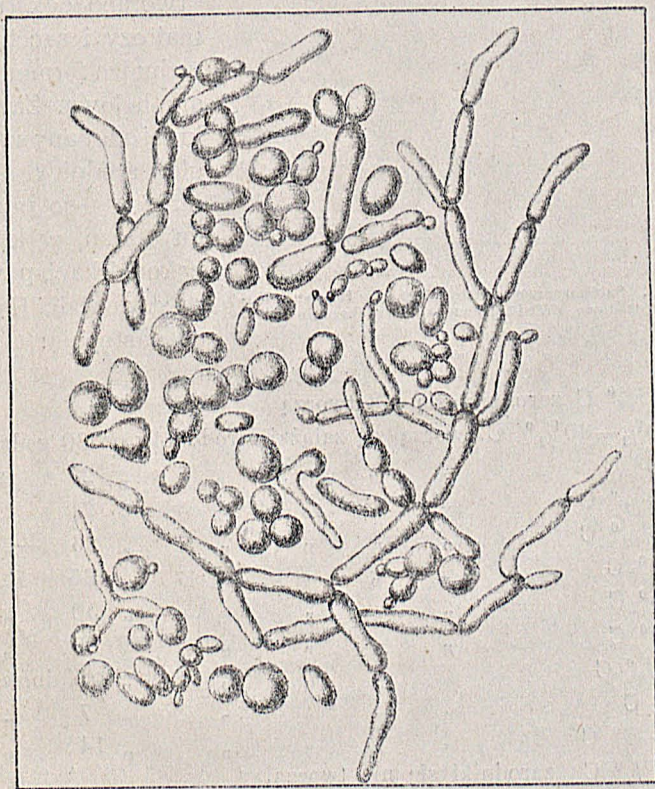


Fig. 70. *Saccharomyces Pastorianus* I. Hansen. Komórki kożuchowe przy 13—15° C. (Według Hansena). Powiększenie 1000.

żony tak, że skupienia przypominają grzybnie nitkowatych grzybków (fig. 70).

Także i u gatunku *sacch. Pastorianus* można rozróżnić odmiany dolne i górne. *Saccharomyces Pastorianus* I (Hansen) należy do odmian dolnych. Znajduje się często w lokalach fer-



mentacyjnych i nadaje piwu nieprzyjemny smak gorzki i nieprzyjemną woń.



Fig. 71. *Saccharomyces Pastorianus* II. Hansen. Komórki osadowe. (Wedł. Hansena). Powiększenie 1000.

Według badań Macha i Portelego może być użyty do odfermentowania moczku winnego. W roztworach dekstrozy, maltozy i saccharozy wzbudza fermentację alkoholową. Zarodniki tej odmiany są okrągłe, średnicy 1·5—5 mikr. Co do przeciągu czasu, w którym w komórkach powstają stwierdził Hansen co następuje:

Przy $31\frac{1}{2}^{\circ}$ C	zarodniki się nie tworzą				
" $29\frac{1}{2}$ — $30\frac{1}{2}^{\circ}$ C	tworzą się załączki zarodników	po	30	godzinach	
" $29^{\circ}$ C	"	"	"	"	27 "
" $27\frac{1}{2}^{\circ}$ C	"	"	"	"	24 "
" $23\frac{1}{2}^{\circ}$ C	"	"	"	"	26 — "
" $18^{\circ}$ C	"	"	"	"	35 "
" $15^{\circ}$ C	"	"	"	"	50 "
" $10^{\circ}$ C	"	"	"	"	89 "
" $8\frac{1}{2}^{\circ}$ C	"	"	"	"	5 dniach
" $7^{\circ}$ C	"	"	"	"	7 "
" $3$ — $4^{\circ}$ C	"	"	"	"	14 "
" $\frac{1}{2}^{\circ}$ C	zarodniki się nie tworzą.				

Kożuch wytwarza w różnych temperaturach po różnych odstępach czasu, a mianowicie:

Przy $34^{\circ}$ C	kożuch nie powstaje.				
" $26$ — $28^{\circ}$ C	tworzą się załączki zarodników	po	7—10	dniach	
" $20$ — $22^{\circ}$ C	"	"	"	"	8—15 "
" $13$ — $15^{\circ}$ C	"	"	"	"	15—30 "



przy 6—7° C ukazują się pierwsze płatki kożucha po 1—2 mies.  
 „ 3—5° C „ „ „ „ „ 5—6 „  
 „ 2—3° C kożuch nie powstaje.

**Saccharomyces Pastorianus II.** Hansen. Wegetatywne komórki w osadzie mają przeważnie kształt wydłużony, kielbasowaty; znajdują się jednak i mniejsze lub większe owalne albo okrągłe komórki (fig. 71).

W kożuchu, wytworzonym przy 20—28° C, mają prawie taki sam kształt jak w osadzie, tylko tu i owdzie znajdują się dziwaczne komórki kiszkwate, w wytworzonym zaś przy 15 do 30° C znajdują się przeważnie okrągłe lub owalne (fig. 72). Tylko w bardzo starych kożuchach są one po części bardzo wydłużone w postaci długich nitok.

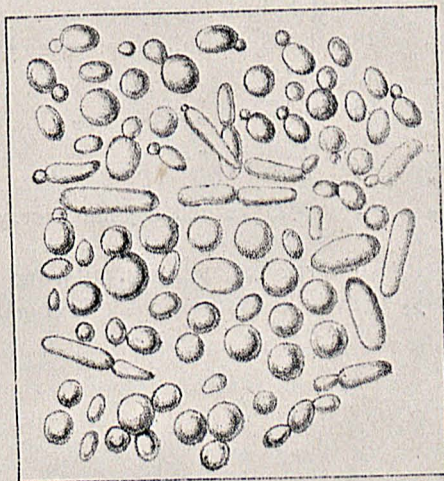


Fig. 72. *Saccharomyces Pastorianus II.* Hansen. Komórki kożuchowe przy 8—15° C. (Według Hansena). Powiększenie 1000.

Wobec cukrów zachowuje się tak samo, jak odmiana poprzednia.

Według Hansena znajduje się w powietrzu lokalów browarnianych; w piwie nie wywołuje ten grzybek żadnych chorób.

Zarodniki mają średnicę 2—5 mikrom. Powstają przy różnych temperaturach w następujących odstępach czasu:

Przy 29° C zarodniki nie tworzą się.

tworzą się pierwsze zalążki zarodn. po 34 godzin.

„	27—28° C	„	„	„	„	„	25	„
„	23° C	„	„	„	„	„	27	„
„	17° C	„	„	„	„	„	36	„
„	15° C	„	„	„	„	„	48	„
„	11 $\frac{1}{2}$ ° C	„	„	„	„	„	77	„

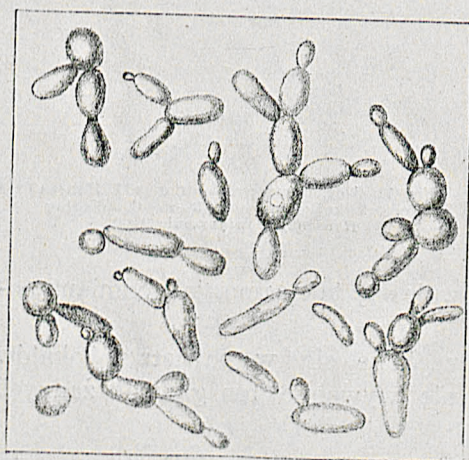


przy	7° C	tworzą się pierwsze zalążki zarodn. po 7 dniach
"	3 - 4° C	" " " " " " 17 "
"	1/2° C	zarodniki nie powstają.

Warunki tworzenia się kożucha są następujące:

Przy	34° C	kożuch się nie tworzy.
"	26—28° C	ukazują się pierwsze płatki kożucha po 7 - 10 dniach
"	20—22° C	" " " " " " 8—15 "
"	13 - 15° C	" " " " " " 10 - 25 "
"	6 - 7° C	" " " " " " 1—2 mies.
"	3 - 5° C	" " " " " " 5 - 6 "
"	2 - 3° C	kożuch się nie tworzy.

Komórki kożuchowe, utworzone przy 20—20° C, wyglądają prawie tak samo, jak komórki osadowe, przytem można



spotkać kształty kielbaskowate; przy 15 do 3° C utworzone są one przeważnie owalne i okrągłe.

**Saccharomyces Pastorianus III.** Hansen. Jest to drożdżak górny. W osadzie mają komórki kształty przeważnie wydłużone, kielbaskowate, chociaż spotyka się też większe lub mniejsze owalne i okrągłe komórki (fig. 73). Hansen wykrył go w pi-

Fig. 73. *Saccharomyces Pastorianus* III. Hansen. Komórki osadowe (Według Hansena). Powiększ. 1000.

wie dolnej fermentacji. Jest to gatunek, powodujący mętnienie piwa.

Zarodniki tworzą się w następujących okresach czasu.

Przy	29° C	zarodniki się nie tworzą.
"	27 - 28° C	" tworzą się pierwsze zalążki zarodn. po 35 godz.
"	26 1/2° C	" " " " " " 30 "



przy	25° C	tworzą się pierwsze załączki zarodn. po 28 godz.					
"	22° C	"	"	"	"	"	29 "
"	17° C	"	"	"	"	"	44 "
"	16° C	"	"	"	"	"	53 "
"	10 $\frac{1}{2}$ ° C	"	"	"	"	"	7 dniach
"	8 $\frac{1}{2}$ ° C	"	"	"	"	"	9 "
"	4° C	zarodniki się nie tworzą.					

Warunki tworzenia się kożucha są następujące:

Przy	34° C	kożuch się nie tworzy.					
"	26—28° C	ukazują się pierwsze płatki kożucha po 7—10 dniach					
"	20—22° C	"	"	"	"	"	9—12 "
"	13—15° C	"	"	"	"	"	10—20 "
"	6—7° C	"	"	"	"	"	1—2 mies.
"	3—5° C	"	"	"	"	"	5—6 "
"	2—3° C	kożuch się nie tworzy.					

Komórki kożuchowe, wytworzone przy 20—28° C mają ten sam wygląd co osadowe, przy 15—3° C jednak są one silnie wydłużone, prawie nitkowate i połączone pomiędzy sobą (fig. 74).

### **Saccharomyces ellipsoideus. Reess.**

Reess badał drożdże winne i wykrył w nich pomiędzy innymi także drożdżak o komórkach eliptycznych, długości 6 mikrom. Grzybek ten zachowuje się pod względem rozrostu i odżywiania tak samo, jak oba poprzednio opisane. Wytwarza także zarodniki i to bardzo łatwo.

Późniejsze badania wykazały, że i u tego gatunku należy różnić mnóstwo rozmaitych odmian, tak, że na pewno można przypuścić, iż Reess miał więcej niż jedną tylko odmianę pod ręką i że wyniki jego badań są dlatego dziś mniejszego znaczenia. Odmianę taką wyhodował w czystej hodowli po raz pierwszy dopiero Hansen

**Saccharomyces ellipsoideus I.** Hansen jest drożdżakiem dolnym. W osadzie mają komórki kształty przeważnie owalne i okrągłe; kielbaskowate są rzadkie (fig. 75). Hansen odkrył ten grzybek na dojrzałych winogronach.



Tworzenie się zarodników przy rozmaitych temperaturach:

Przy  $32\frac{1}{2}^{\circ}\text{C}$  zarodniki się nie tworzą.

"	$30\frac{1}{2}$ — $31\frac{1}{2}$ C	tworzą się pierwsze załączki zarodn.	po 36	godz.
"	$29\frac{1}{2}^{\circ}\text{C}$	" " "	" " "	23 "
"	$25^{\circ}\text{C}$	" " "	" " "	21 "
"	$18^{\circ}\text{C}$	" " "	" " "	33 "
"	$15^{\circ}\text{C}$	" " "	" " "	45 "
"	$10\frac{1}{2}^{\circ}\text{C}$	" " "	" " "	$4\frac{1}{2}$ dn.
"	$7\frac{1}{2}^{\circ}\text{C}$	" " "	" " "	11 dniach
"	$4^{\circ}\text{C}$	zarodniki nie powstają.		

Kożuch tworzy się następująco:

Przy  $38^{\circ}\text{C}$  kożuch się nie tworzy.

"	33— $34^{\circ}\text{C}$	ukazują się pierwsze płatki kożucha	po 8—12	dniach
"	26— $28^{\circ}\text{C}$	" " "	" " "	9—16 "
"	20— $22^{\circ}\text{C}$	" " "	" " "	10—17 "
"	13— $15^{\circ}\text{C}$	" " "	" " "	15—30 "
"	6— $7^{\circ}\text{C}$	" " "	" " "	2—3 mies.
"	$5^{\circ}\text{C}$	kożuch się nie tworzy.		

Komórki kożuchowe, utworzone przy 20— $34^{\circ}\text{C}$ , jak też 6— $7^{\circ}\text{C}$ , są mniejsze i więcej wydłużone, aniżeli osadowe, przy 13— $15^{\circ}\text{C}$  jednak są one mniej lub więcej kielbaskowato wydłużone i tworzą wielkie gałązki (fig. 76).

**Saccharomyces ellipsoideus II.** Hansen. Drożdżak dolny, którego komórki osadowe są przeważnie owalne lub okrągłe (fig. 77). Hansen wydzielił go z mętnego piwa i przekonał się, że on to właśnie zmętnienie sprowadza.

Warunki tworzenia się zarodników:

Przy  $35^{\circ}\text{C}$  zarodniki się nie tworzą.

"	33— $34^{\circ}\text{C}$	tworzą się pierwsze załączki zarodn.	po 31	godzin.
"	$33^{\circ}\text{C}$	" " "	" " "	27 "
"	$31\frac{1}{2}^{\circ}\text{C}$	" " "	" " "	23 "
"	$29^{\circ}\text{C}$	" " "	" " "	22 "
"	$25^{\circ}\text{C}$	" " "	" " "	27 "
"	$18^{\circ}\text{C}$	" " "	" " "	42 "
"	$11^{\circ}\text{C}$	" " "	" " "	$5\frac{1}{2}$ dniach
"	$8^{\circ}\text{C}$	" " "	" " "	9 "
"	$4^{\circ}\text{C}$	zarodniki się nie tworzą.		



Tworzenie się kożucha.

Przy 40° C kożuch się nie tworzy.

"	36—38° C	ukazują się pierwsze płatki kożucha po 8—12 dniach
"	33—34° C	" " " " " " 3—4 "
"	26—27° C	" " " " " " 4—5 "
"	29—22° C	" " " " " " 4—6 "
"	13—15° C	" " " " " " 9—10 "
"	6—7° C	" " " " " " 1—2 mies.
"	3—5° C	" " " " " " 5—6 "
"	2—3° C	kożuch się nie tworzy.

Komórki kożuchowe mają te same kształty, co osadowe (fig. 78), powstałe jednak poniżej 15° C są nieco wydłużone.

### **Saccharomyces Marxianus. Hansen.**

Marx odkrył ten drożdżak na winogronach, a Hansen bliżej zbadał i opisał. W brzeczce tworzy on początkowo małe owalne komórki, podobne do komórek *sacch. ellipsoideus*, rychło jednak powstają także komórki kielbaskowate, złączone ze sobą w pulchne kolonie, zawieszone w płynie lub osadzone na dnie. Zarodniki tego drożdżaka mają kształt nerkowaty, kulisty lub jajowaty. Maltozy nie odfermentowuje a saccharozę dopiero po zinwertowaniu za pomocą inwertyny. W roztworach dekstrozy wytwarza alkohol w znaczniejszych ilościach. Optymalną temperaturą tworzenia zarodników jest 22—25° C.

### **Saccharomyces membranaefaciens. Hansen.**

Jest to drożdżak, który po wprowadzeniu do brzeczki tworzy szybko na całej powierzchni płynu gęsty, szary kożuch, składający się przeważnie z wydłużonych, owalnych lub kielbaskowatych komórek, które zawierają wielkie wodniczki (fig. 79).

Grzybek ten tworzy zarodniki bardzo łatwo i to nie tylko przy hodowli bez pożywienia, lecz także już w samym kożuchu. W żadnym z cukrów nie może on wywołać fermentacji i nie wydziela inwertyny. Optimum temperatury dla tworzenia zarodników jest 30° C.



Hansen wykrył ten gatunek w soku, wyciekającym z korney wiązu; w laboratorium Jörgensena wykryto go raz w jasnym winie.



Fig 74. *Saccharomyces Pastorianus* III. Hansen.  
Komórki kożuchowe przy 3–15° C.

Podobne do powyższego gatunku wykrył Lindner: Są to gatunki *Sacch. hyalosporus* i *sacch. farinosus* (fig. 80 i 81).

### **Saccharomyces Ludwigii Hansen.**

Ludwig wykrył ten gatunek w soku, wyciekającym z dębów. Jest to drożdżak, który łatwo można poznać po dziwacznych kształtach jego komórek. Są one rozmaitych rozmiarów, kształtu eliptycznego, flaszkiowatego, kielbasowatego, a często cytrynowatego. W złączeniach komórek występują często ściany działowe, co wskazuje na to, że wegetatywne komórki jego rozmnażają się nie tylko przez pączkowanie, lecz także przez rozszczepianie (fig. 82).

Wywołuje fermentację w roztworach dekstrozy, w których wy-

tworza do 10% alkoholu; inwertuje saccharozę. Maltozy i laktozy odfermentować nie może.

Wytwarza bardzo łatwo zarodniki już nawet w osadzie po odfermentowaniu roztworu cukru. Ciekawym jest ten objaw



zrastania się dwóch wykiełkowanych zarodników. Optimum temperatury dla wytwarzania zarodników leży przy 30-31° C.

### **Saccharomyces anomalus. Hansen.**

Hansen wykrył ten grzybek w nieczystych drożdżach piwnych, pochodzących z Bawarii. Wywołuje on łatwo i szybko żywą fermentację w brzezce i tworzy szary kożuch na powierzchni płynu nawet w ciągu tego procesu. Płyny, odfermentowane tym drożdżakiem, mają przyjemny zapach owocowy. Komórki jego są w brzezce bardzo drobne, podobne do komórek t. zw. *torul*, które na innym miejscu opisujemy. Różni się jednak od *torul* tem, że wytwarza zarodniki i może być łatwo poznany po ich kształcie, który jest wyraźnie podobny do kształtu kapelusza (fig. 83).

Optimum temperatury tworzenia się zarodników leży pomiędzy 28-31° C.

W jakiś czas po wykryciu powyższego gatunku przez Hansena, Holm, Lindner i Will wykryli w nieczystych drożdżach rozmaite jego odmiany. Wszystkie odznaczają się tem, że tworzą zarodniki kształtu kapelusza i że podczas fermentacji wytwarzają estry, nadające płynom przyjemny aromat.

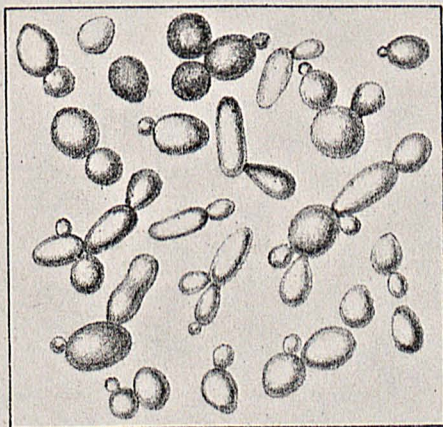


Fig. 76. *Saccharomyces ellipsoideus* I. Hansen.  
Komórki osadowe (Wedt. Hansena). Pow. 1000.

## **B) Pseudosaccharomycety.**

### **Saccharomyces apiculatus. Reess.**

Reess wykrył ten grzybek w drożdżach winnych. W przyrodzie znajduje on się bardzo często na słodkich owocach, a w przemyśle znajdujemy go oprócz w drożdżach winnych



na początku fermentacji, także w belgijskich piwach, poddawanych samofermentacji.

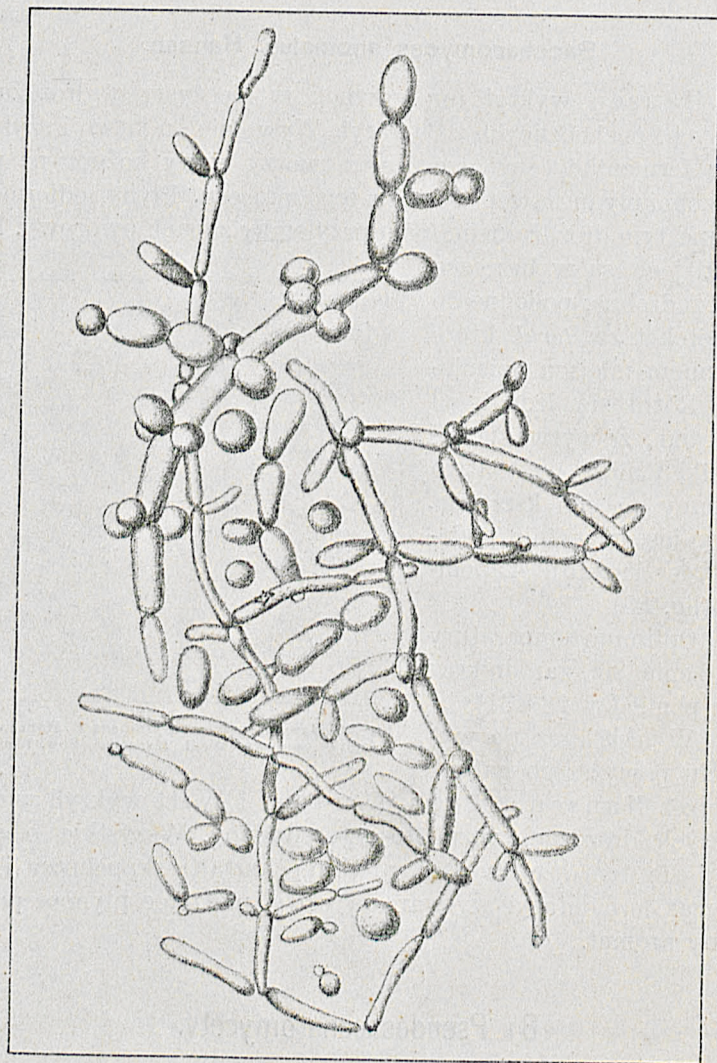


Fig. 76. *Saccharomyces ellipsoideus* I. Hansen. Komórki kożuchowe przy 13--15° C.  
(Według Hansena). Powiększenie 1000.

Jest to drożdżak dolny, który wywołuje silną fermentację w roztworach dekstrozy, gdzie wytwarza do 3% alko-



holu. Maltozy odfermentować on nie może i nie wydziela inwertyny.

Komórki tego drożdżaka mają typowy kształt cytrynowaty (fig. 74). Pączki powstają także na obydwu końcach komórki macierzystej i mogą być od razu cytrynowate, albo też tylko owalne. Te owalne komórki muszą wydać dopiero jeden lub więcej nowych pączków, zanim się ukażą znowu cytrynowate. W pewnych warunkach przybierają one kształty wydłużone, podobne nawet do kształtu bakteryj.

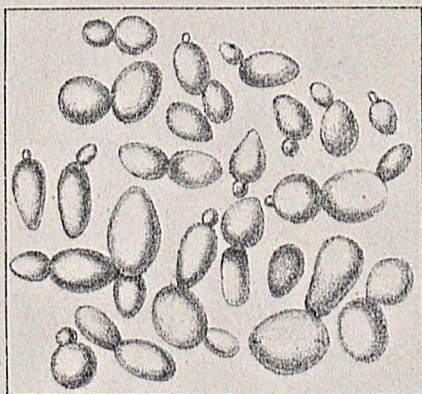


Fig. 77. *Sach. ellipsoideus* II. Hansen. Komórki osadowe. (Wedł. Hansena). Powiększ. 1000.

Hansen wykonał obszernie badania nad tym grzybkim i wykazał, że jego naturalnymi miejscami przebywania są, jak już wyżej powiedziano, dojrzałe owoce. Na niedojrzałych, kwaśnych owocach nie znaleziono go. Hansen stwierdził także, że *sacch. apiculatus* przezimowuje w ziemi pod krzewami i drzewami owocowymi, i że stamtąd dopiero następnego lata roznoszą go wiatr i owady po owocach.

Grzybek ten nie wytwarza zarodników i wskutek tego w suchem powietrzu ginie szybko, bo już po 24 godzinach.

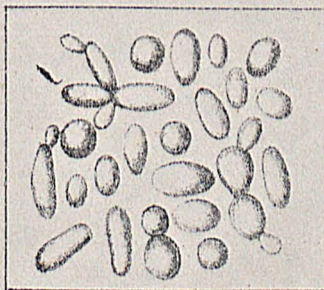


Fig. 78. *Sacch. ellipsoideus* II Hansen. Komórki kożuchowe przy 3 do 28° C. (Wedł. Hansena). Pow. 1000.

Nie ulega wątpliwości, że istnieje więcej odmian powyższego gatunku, lecz trudno je scharakteryzować wobec tego, że nie wytwarzają zarodników. Domniemane takie odmiany wykryto przy fermentacji miodu, sliwek i t. p.



### Torula. Hansen.

Pod nazwą torula kryje się dużo gatunków i odmian drożdżaków pączkujących, których komórki są zazwyczaj bar-



Fig. 79. *Saccharomyces membranaefaciens*. Hansen. (Z natury rys. Syniewski). Powiększenie 650.

dzo drobne (1,5—4,5 mikrom.), kształtu zwykle kulistego. Pączki powstają najczęściej na całym obwodzie komórki macierzystej i tworzą tak na około niej

koronę. Pączkowanie może się także tak odbywać, że powstają całe szeregi kulkowatych komórek (fig. 85 i 86).

Grzybki te nie wytwarzają zarodników. Posiadają wielki wodni-  
czek, w którego soku

pływa ziarnko, silnie załamujące światło. Ziarnko to nieraz wykonywa szybkie ruchy. W płynach odżywczych tworzą niektóre torule tylko osad, inne znowu bardzo łatwo kożuch szary, matowy. Pod względem fizyologicznym różnią się poszczególne gatunki bardzo wybitnie.

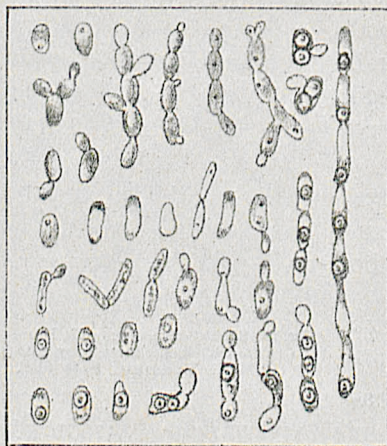


Fig. 80. *Saccharomyces hyalosporus*. (Wedł. Lindnera). Powiększenie 600.

Niektóre z nich nie wydzielają inwertyny i wskutek tego nie naruszają sacharozy, inne znowu odfermentowują ten cukier i wytwarzają 6—7% alkoholu. Niektóre mogą wywołać fermentację w roztworach dekstrozy i maltozy, inne znowu tego zdziałać nie mogą.

Hansen odkrył siedm takich odmian, Jörgensen wykrył odmianę, która w mączce fabryk cukru ogromne nieraz



robi spustoszenia, inwertując saccharozę. Grönlund wykrył w piwie torulę, która nadawała temu napojowi nadzwyczaj nieprzyjemny smak gorzki.

Do tego gatunku pseudosaccharomycetów należy zaliczyć także tak zwane drożdże czerwone. Jest to torula, wytwarzająca czerwony barwnik, rozpuszczalny w wodzie. Wywołuje fermentację w roztworach dekstrozy i wytwarza do 4·5% alkoholu. Inwertuje saccharozę i odfermentowuje maltozę. Laktozy odfermentować nie potrafi.

Wszystkie torule znajdują się często w pyłach atmosferycznym.

### **Mycoderma cerevisiae.**

Pod tą nazwą kryje się więcej gatunków drożdżaków pączkujących, które wszystkie mają tę wspólną własność, że na płynach alkoholowych, jak na piwie i winie lub też odfermentowanym zacierze gorzelnianym, tworzą szybko i bardzo łatwo kożuch, podobny do powłok w hodowlach ba-

kteryj. Grzybki te pączkują jak wszystkie drożdżaki i posiadają w swej komórce jeden lub dwa duże wodniczki (fig. 87). W soku tych wodniczek spotyka się prawie zawsze 1—3 błyszczące ziarna, wykonywujące szybko ruchy wahadłowe.

Drobnoustroje te nie odfermentowują saccharozy, maltozy ani dekstrozy, niektóre jednak odmiany mogą, zdaje się, w roztworach tych cukrów wytworzyć po długim czasie do 2·5% alkoholu. Rozwijają się silnie tylko przy obfitym dostępie powietrza.

Fig. 87 przedstawia odmianę *mycoderma cerevisiae*, którą Hansen wykrył w browarach kopenhaskich. Ukazuje się ona

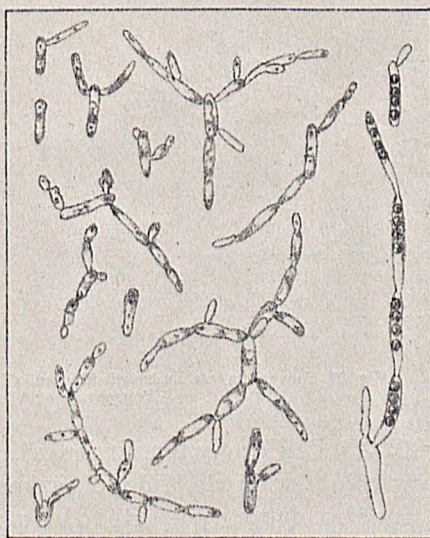


Fig. 81. *Saccharomyces farinosus*. (Wed. Lindnera).  
Powiększenie 600.



w tamtejszych piwach zawsze w postaci delikatnego kożucha, gdy piwo zostawi się w otwartych naczyniach na powietrzu

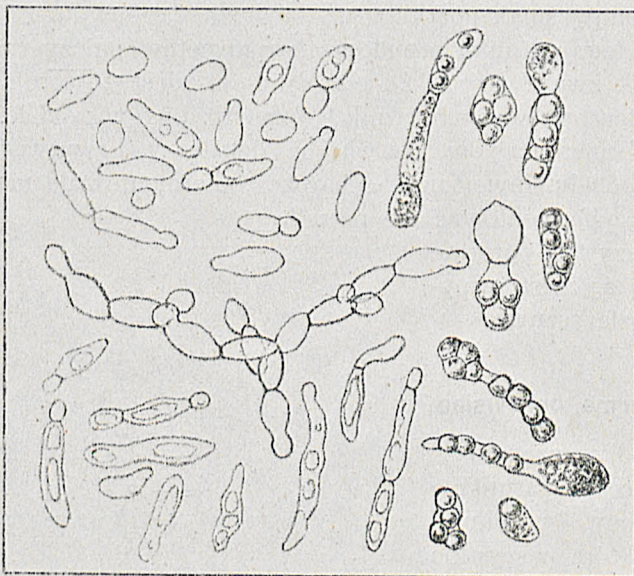


Fig. 82. *Saccharomyces Ludwigi* Hansen. (Z natury rysował Syniewski). Powiększenie 1000.

przy 2—15° C. Uczony ten stwierdził, że drobnoustrój powyższy nie wywołuje w piwie żadnych szkodliwych zmian.

Inni badacze jak Bělohoubek i Kukla wykryli atoli także takie odmiany tego grzybka, które w piwie spowodowały zmętnienie i inne objawy.

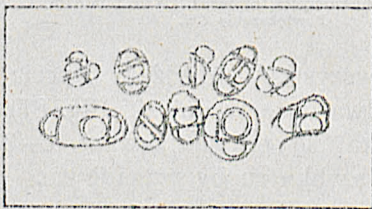


Fig. 83. Zarodniki drożdżka *sacchar. anomalous* Hansen. (Wedł. Hansena). Powiększenie 1000.

Wspomnieć tu należy jeszcze o odmianie, wykrytej przez Lafara w mętach po spuszczeniu piwa z beczki; jest ona o tyle interesująca, że z alkoholu wytwarza kwas octowy, wskutek czego może wyrządzić wielką szkodę w tym

przemśle fermentacyjnym, którego celem jest osiągnięcie jak największego wydatku alkoholu.



## Drożdżaki rozszczepkowe.

### Schizosaccharomyces octosporus. Beyerinck.

Beyerinck odkrył ten interesujący drożdżak na rodnynkach korynekich. Komórka wegetatywna jest eliptyczna lub jajowata, o zmiennej wielkości, średnica bowiem wynosi 2 do



Fig. 81. *Saccharomyces apiculatus* Reess. (Wedl. Hansena). Powiększ. 1000.

20 mikrom. Rozrastanie komórki odbywa się u tego grzybka w sposób normalny, po pewnym jednak czasie powstaje w jej wnętrzu ścianka poprzeczna, która dzieli się w płaszczyźnie na



dwie warstwy i tak pierwotna komórka rozszczepia się na dwie nowe komórki równego wieku. Drożdżak ten rozmnaża się zatem wegetatywnie przez rozszczepianie; pączkowania on

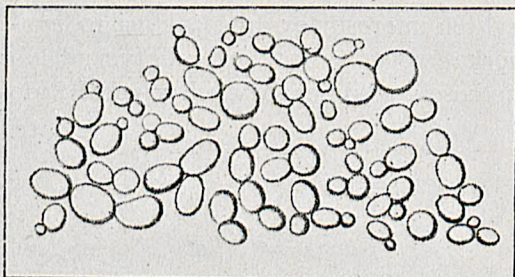


Fig. 85. Torula. Komórki osadowe. (Wedl. Hansena).  
Powiększenie 1000.

nie okazuje (fig. 88). Każda komórka ma wyraźne jądro. Interesującym jest u tego drożdżaka powstawanie zarodników. Odbywa się ten proces według Schiöninga następująco:

Pierwotna komórka rozrasta się nieco, poczem dzieli się na dwie komórki nowe, z których każda się zaokrągla (fig. 89). Nowo powstałe komórki pozostają przez jakiś czas zetknięte ze sobą, a potem zaczynają się zlewać, aby wreszcie utworzyć

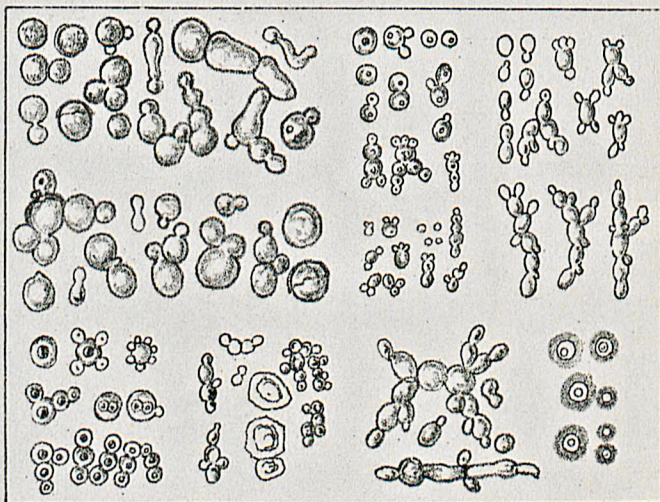


Fig. 86. Rozmaite torule. (Według Lindnera).

jedną komórkę wielką. W tej dużej komórce ukazuje się w krótkim czasie najczęściej ośm okrągłych lub eliptycznych zarodników. Jakiś czas pozostają one w komórce, wkrótce



jednak błona jej rozpuszcza się lub pęka, a zarodniki wolne przechodzą w płyn otaczający. Błona zarodników odznacza się tem, że się barwi na niebiesko roztworem jodu. Wprowadzone do płynu odżywczego zarodniki pęcznieją, zwiększają się i przemieniają wprost w komórki wegetatywne, które rozmnażają się przez rozszczepianie tak, jak to wyżej opisano.

Gatunek ten wywołuje fermentację w roztworach maltozy i dekstrozy, saccharozy jednak odfermentować nie może. Nie wydziela inwertyny, wydziela jednak, jak to wykazał E. Fischer, inny enzym hydrolityczny, który rozkłada maltozę.

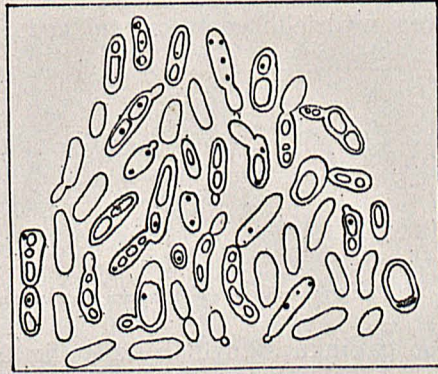


Fig. 87. *Mycodermis cerevisiae*, wydzielony z piw kopenhaskich przez Hansena. (Z natury rys. Holm).

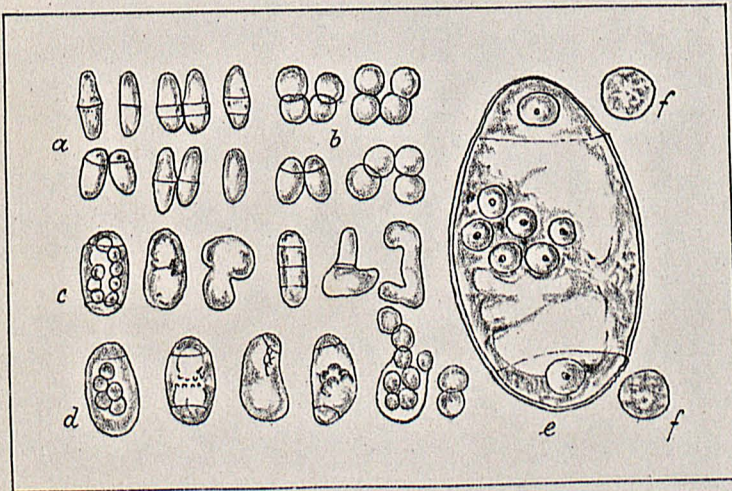


Fig. 88. *Schizosaccharomyces octosporus*. Beyerinck. e) i f) powiększ. 2000, reszta 600. (Według Beyerincka). a) i b) młode komórki, c) komórki z fermentującego, silnie kwaśnego płynu, d) rozmaite okresy tworzenia zarodników, e) komórki z zarodnikami, f) zarodnik wolny.



### Schizosaccharomyces Pombe. Lindner.

Saare pierwszy spostrzegł ten grzybek w t. zw. piwie murzyńskim, sporządzanem w Afryce z prosa. Lindner i Zeidler wydzielili go w czystej hodowli i zbadali bliżej. Komórki

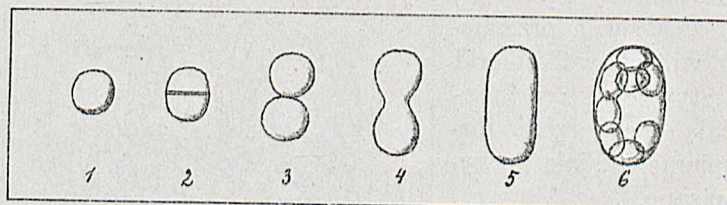


Fig. 89. Tworzenie się zarodników u schizosacch. octoporus. (Według Schönnunga).

tego gatunku są cylindryczne (fig. 90), na końcach zaokrąglone. Rosną na długość, poczem w pewnym okresie powstaje wewnątrz nich ścianka działowa, która się zaraz dzieli na



Fig. 90. Schizosaccharomyces Pombe. (Według Lindnera). Rozmaite okresy rozwoju.

dwie warstwy, wypuklające się ku sobie, tak, że pierwotny osobnik rozszczepia się na dwa młodsze. Po rozszczepieniu jest nowo powstała część błony na końcu komórki cie-



niutka, mniej wytrzymała na ciśnienie plazmy z wnętrza, wskutek czego zaczyna się wypuklać coraz bardziej, aby w krótkim już czasie przemienić się w nieco węższe przedłużenie komórki pierwotnej, która potem znowu się rozszczepia i t. d. Po rozszczepieniu się mogą powstałe komórki rozejść się, albo też pozostać zetknięte. Wówczas tworzą one nieraz dłuższą nitkę prostą albo też połamaną.

Protoplasma jest delikatnie ziarnista, miejscami, a zwłaszcza na obu końcach komórki, jakby silniej zbita.

Drożdżak ten, tak samo jak poprzedni, tworzy bardzo łatwo zarodniki, gdyż nawet w płynie fermentującym i to już pod koniec fermentacji głównej. Ilość zarodników waha się pomiędzy 1—4.

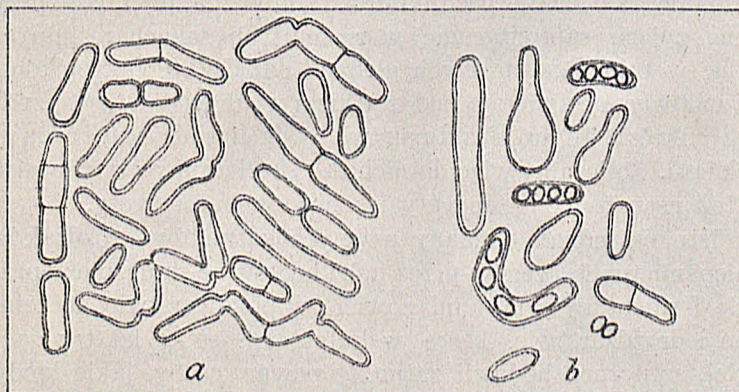


Fig. 91. *Schizosaccharomyces mellacei*. (Według Holma). a) Komórki młode.  
b) Komórki w pierścieniu drożdżowym. Niektóre wytworzyły zarodniki.

Zarodniki kiełkują w ten sposób, że pęcznieją wprzód, nieco, poczem się wydłużają, a w końcu jak komórki wegetatywne rozmnażają.

Grzybek powyższy wywołuje w brzeczce i zacierze gorzelnianym silną fermentację i jest w stanie część dekstryn odfermentować. Robiono próby co do zastosowania go w gorzelnictwie, lecz próby te się nie udały, tak z tego powodu, że jest on bardzo mało odporny przeciw najazdowi drożdży dzikich, jak też dlatego, że wymaga wysokiej temperatury fermentacji ( $35-38^{\circ}\text{C}$ ), przy której zbyt wielkie ilości alkoholu z kwasem węglowym się ulatniają.



Dział drożdżaków rozszczepkowych jest, zdaje się, dość obszerny; zwłaszcza w ciepłych krajach odgrywają one tę samą rolę w przyrodzie, co u nas drożdżaki pączkujące. Do takich podzwrotnikowych drożdżaków rozszczepkowych należy także *schizosaccharomyces mellacei* (fig. 91), wykryty przez P. Grega w fermentującej melasie przy wyrobie rumu na Jamajce.

Podobny drożdżak spotykali Vordermann i Eykman w fermentującej malasie przy wyrobie araku na Jawie.

## Drożdżaki dzikie i szlachetne.

Wszystkie znane gatunki drożdżaków znajdujemy w przyrodzie, żyjące saprofitycznie w rozmaitych sokach roślinnych, a więc w takich naturalnych glebach odżywczych, które obok ciał azotowych zawierają podostatkami węglowodanów, a zwłaszcza cukrów. Te drożdżaki nazywamy ogólnie drożdżakami dzikimi. Zaliczamy więc do nich tak saccharomycety właściwe jak też pseudosaccharomycety i schizosaccharomycety.

Istnieją jednak odmiany pewnych gatunków drożdżaków, od niepamiętnych czasów przez ludzi hodowane sztucznie w przemysle fermentacyjnym, a mianowicie w piwowarstwie, gorzelnictwie i drożdżarstwie, które wskutek tej, setki lat trwającej ciągłej, sztucznej hodowli zatraciły pewne cechy, jakie kiedyś niewątpliwie posiadały, żyjąc w stanie dzikim, a natomiast nabyły wiele takich właściwości, jakie dzikie drożdżaki nie posiadają. Te nabyte własności robią je szczególnie przydatnymi do celów technicznych, wskutek czego zostały nazwane odmianami szlachetnymi.

Tak mamy szlachetne odmiany drożdżaków piwowarskich, gorzelnicznych i drożdżarskich. Pierwsze odznaczają się przed dzikimi, w piwie spotykanymi drożdżakami tem, że nadają temu napojowi smak przyjemny i nie wywołują w nim żadnych chorobliwych objawów, gorzelniczne szlachetne tem, że odfermentowują szybko i dokładnie zacierz gorzelniane, a drożdżarskie tem, że się silnie rozmnażają i dają drożdże prasowane o pożądanых własnościach.



Szlachetne odmiany należą do saccharomycetów właściwych; inne drożdżaki nie znalazły zastosowania w przemyśle i dlatego niema pomiędzy nimi takich odmian.

Rozróżnianie odmian szlachetnych i dzikich pochodzi od Hansena. Zajmował on się głównie tymi gatunkami, które odgrywają rolę w piwowarstwie i wykrył po mozolnych badaniach metodę rozróżniania odmian szlachetnych i dzikich. Metoda ta polega na różnicy co do tworzenia się w nich zarodników w rozmaitych warunkach. Wspomnieć tu należy, że Hansen, rozróżniając drożdżaki szlachetne i dzikie miał na myśli tylko saccharomycety właściwe, a więc te, które zarodniki wytwarzają.

Badania jego wykazały, że szlachetne odmiany piwowarskich drożdżaków wytwarzają zarodniki przy pewnych temperaturach później, aniżeli drożdżaki dzikie i że wygląd zarodników u obu tych grup jest różny.

Jeżeli mamy n. p. dolne drożdże piwowarskie i chcemy zbadać, czy nie zawierają odmian dzikich, to wstawiamy je wtedy na płytkach gipsowych do termostatu, t. j. przyrządu, w którym panuje ciągle pewna, jednostajna temperatura, a to w tym celu, aby się w komórkach drożdżaków utworzyły zarodniki.

Jedną próbkę wstawiamy do termostatu o temperaturze 25° C, drugą zaś do takiego samego przyrządu, w którym panuje temperatura 15° C. Dolne drożdżaki szlachetne dzielą się bowiem na dwie grupy: jedne wytwarzają swe zarodniki przy 25° C później aniżeli drożdżaki dzikie, drugie zaś przy tej temperaturze wytwarzają zarodniki tak samo prędko, jak dzikie, a dopiero przy 15° C okazują się u nich różnice.

Zarodnikowe hodowle przy 25° C badamy po 40 godzinach od chwili wstawienia ich do termostatu, hodowle przy 15° C zaś dopiero po 3 dniach. Jeżeli po tym czasie zdołamy przy pomocy mikroskopu wykryć w nich komórki z zarodnikami, wtedy będzie to oznaką, że komórki te należą do odmian dzikich, gdyż szlachetne nie wytworzyłyby w tym czasie zarodników.

Górne drożdże piwowarskie można tak samo badać, co wykazał Jørgensen, lecz hodowle zarodnikowe trzeba trzymać w termostatach zwykle przy 10—12° C.



Gorzelniane drożdże bada się, według Jörgensena, w ten sam sposób, co piwowarskie drożdże górne, mianowicie przy niskich temperaturach; tutaj jednak trzeba uwzględnić także wygląd zarodników, gdyż różnice co do czasu ich tworzenia się są nieznaczne.

Młode zarodniki odmian szlachetnych posiadają wyraźną błonę, a zawartość ich jest ziarnista i pełna drobniutkich wodniczaków, tak samo zaś młode zarodniki odmian dzikich mają błonę niewyraźną, a zawartość jednolitą i błyszczącą z powodu silniejszego załamывania światła. Zarodniki odmian szlachetnych są także zazwyczaj większe od zarodników drożdżaków dzikich.

Szlachetne drożdżaki, używane w piwowarstwie, gorzelnictwie i drożdżarstwie, są wszystkie odmianami jednego i tego samego gatunku, mianowicie *saccharomyces cerevisiae*. Zachowują się one w zacierach i brzeczkach niejednakowo co do ich odfermentowania. Niektóre dają odfermentowanie słabsze, inne silniejsze.

Poniżej umieszczona tabelka wykazuje, jak różnie zachowują się one w jednej i tej samej brzeczce piwnej.

Nazwa odmiany	piwo zawierało w litrze				Atenuacya
	ekstraktu gr.	maltozy gr.	dekstryn gr.	alkoholu gr.	
Saaz	56,85	17,50	30,24	41,40	66,9
Frohberg	40,37	9,32	20,93	52,72	76,5

Odmianę pierwszą wydzielił Lindner w czystej hodowli z drożdży browaru w Saaz, odmianę drugą zaś z drożdży browaru Frohberga w Grimmie (w Saksonii). Pierwsza odfermentowuje brzeczke znacznie słabiej, aniżeli druga.

Około tych dwóch odmian ugrupowano wszystkie szlachetne drożdżaki i nazwano grupę pierwszą zbiorem typu Saaz, drugą zaś typu Frohberg. Należące do typu Saaz oznacza się znakiem (S), drugie zaś znakiem (F).



A. Bau wykazał, że można każdą z obu powyższych dwóch grup rozdzielić według pewnych cech fizyologicznych na dwie mniejsze, mianowicie na odmiany dolne i górne. Badacz ten wykazał, że dolne odmiany obydwu typów odfermentowują roztwór melibiozy zupełnie, górne zaś tego zdziałać nie mogą.

## Fermentacja alkoholowa.

Pod fermentacją alkoholową rozumiemy ogólnie rozkład cukru ( $C_6H_{12}O_6$ ) na alkohol ( $C_2H_6O$ ) i kwas węglowy ( $CO_2$ ) pod wpływem drobnoustrojów.

W ściślejszem znaczeniu rozumiemy pod tą fermentacją rozkład powyższy, wywołany przez drożdżaki.

Na wstępie już wspomnieliśmy o pierwszych teoriach co do przyczyn powyższego procesu rozkładowego, mówiliśmy o teorii Stahla, Gay-Lussaca, Cagniard-Latoura oraz Schwanna i Kützinga, a w końcu Liebiga.

Wspomnieliśmy, że Cagniard-Latour oraz Kützing wykazali naturę roślinną drożdży, wywołujących fermentację i że teoria Liebiga, nie stosująca się do tej prawdy została wreszcie przez Pasteura obalona, a wszyscy uznali w grzybkach drożdżowych przyczynę powstawania alkoholu.

Poznaniem tego faktu jednak nie została ostatecznie załatwiona kwestya przyczyn procesu fermentacyjnego. Wiedzano wprawdzie że drożdżaki przerabiają cukier na alkohol i kwas węglowy, nie wiedzano jednak wskutek jakiej bliższej przyczyny wewnętrznej to się dzieje. Pasteur zadał sobie to pytanie i po długich badaniach postawił teorię fermentacji, która do niedawna jeszcze panowała. Twierdził on, że w zwykłych warunkach żyjące drożdżaki oddychają t. j. wchłaniają w siebie tlen, a ten łącząc się z niektórymi składnikami plazmy, wytwarza ciepło, które drożdżom jest potrzebne przy wykonywaniu innych swoich czynności życiowych. Jeżeli im jednak zabraknie tego pierwiastka, a tem samem zabraknie potrzebnego im ciepła, to rozpoczynają życie bez niego, a potrzebne ciepło uzyskują innym, wówczas przez nie wywoływanym procesem chemicznym, mianowicie rozkładem cukru na alkohol i kwas węglowy.



Fermentacja jest zatem, według Pasteura, życiem komórki drożdżaka bez dostępu powietrza.

Tej genialnej, dłuższy czas panującej teorii, sprzeciwili się z czasem rozmaici uczeni, a przedewszystkiem Nägeli, który wykazał, że dostęp powietrza do fermentującego płynu nawet sprzyja fermentacji alkoholowej. Po poznaniu innych podobnych, z powyższą teorią sprzecznych faktów nie można jej było uznać zupełnie; przyznawano tylko to, co nie było dotąd obalone, t. j. że fermentacja odbywa się w komórkach drożdżaków pod wpływem ich procesu życiowego.

Ten stan naszych wiadomości o przyczynach fermentacji trwał dłuższy czas; dopiero w r. 1897 wykazał Ed. Buchner, że rozkład cukru na alkohol i kwas węglowy wewnątrz komórki drożdżaków odbywa się pod wpływem pewnego enzymu, nazwanego przez niego *zymazą*.

Już w r. 1858 przypuszczał Traube, że fermentacja jest procesem enzymatycznym, że drożdże mianowicie, tak jak wydzielają inwertynę, mogącą saccharozę rozłożyć na dekstrozę i lewulozę, tak też wydzielają inny enzym, rozkładający cukier na alkohol i kwas węglowy. Starał on się też enzym taki wydzielić, lecz pomimo wielu usiłowań tak jego jak i innych uczonych, eksperymenty te się nie udawały, a przypuszczenia jego pozostały hipotetyczne aż do odkrycia Buchnera.

Buchner miesza drożdże z piaskiem i ziemią okrzemkową i masę tę rozciera w moździerzu tak dokładnie, aby pojedyncze komórki zostały rozdarte, a sok z nich wydostał się na zewnątrz. Po roztarciu Buchner poddaje tę masę ciśnieniu 500 atmosfer i otrzymuje sok, który pomimo to, że nie zawiera żywych komórek, odfermentowuje roztwór cukru tak, jakby to one były uczyniły. Wykazał on tym eksperymentem istnienie ciała chemicznego, powodującego rozkład cukru, wykazał istnienie enzymu fermentacji alkoholowej.

Dowiodł zatem, że fermentacja jest procesem czysto chemicznym, że może się odbywać bez udziału żywych komórek, a one są potrzebne tylko do wytwarzania enzymu. Odkryciem swoim pogodził Buchner teorię Liebiga, według której fermentacja jest procesem czysto chemicznym, z teorią Pasteura, tłumaczącą rozkład cukru procesem życiowym drożdży.



### III. Pleśniaki.

#### Wiadomości ogólne.

Od niepamiętnych czasów niewątpliwie znają ludzie zjawisko pleśnienia rozmaitych przedmiotów, a przedewszystkiem stałych lub płynnych pokarmów, jeżeli one składają się głównie z węglowodanów lub pokrewnych ciał. Przy tem zjawisku pokrywają się przedmioty delikatnie włóknistą, początkowo białą powłoką, wyglądającą nieraz jak najdelikatniejszy puch. Po jakimś czasie zmienia się jej barwa, staje się brudno zieloną lub niebieskawą, żółtawą, rdzawo czerwoną, szarą lub czarną.

Wcześniej poznano istotę tego objawu; przekonano się, że każda powłoka pleśniowa jest bujnie rozwiniętą mikroskopową rośliną, grzybkim, czerpiącym pokarm z gleby, na której przebywa, rozrastającym się i wytwarzającym wkońcu pewne organa, służące do jego rozmnażania się. Poznano już dawno, że istnieją różne gatunki tych grzybków, które wszystkie mają wspólnie to, że w pewnym okresie swego rozwoju tworzą na podłożu odżywczem powyżej wspomnianą białą powłokę, pleśń, i dlatego nazwano je wszystkie pleśniakami; zewnętrzną powłokę, wraz z tą jej częścią, która jest zapuszczona w głębie odżywczej, i złożona z mnóstwa cieniutkich, pogmatwanych nitek, nazwano plechą albo grzybnią.

Przekonano się, że każdy z takich grzybków składa się w pewnym okresie swego rozwoju z wielu, połączonych ze sobą komórek, rozrastających się kończynowo.

W przemyśle fermentacyjnym spotykamy pleśniaki zawsze; znajdujemy je na materiałach surowych t. j. na zbożu, kartoflach, burakach i t. d., spotykamy je wszędzie na ścianach



wszystkich lokalów, na rozmaitych drewnianych naczyniach, w powietrzu, a nawet na powierzchni odfermentowanych płynów i na prasowanych drożdżach.

Do niedawna sądzono, że one w tym przemyśle nie odgrywają żadnej roli, a zapoznawano się z nimi z prostej ciekawości.

Dziś nietylko wiemy, że grzybkom tym w stanie dzikim już należy przypisać pewien wpływ na przebieg procesów w przemyśle fermentacyjnym, lecz wiemy też, że mogą one tu być zastosowane z korzyścią tak jak inne, dotychczas poznane drobnoustroje, mianowicie bakterye i drożdżaki. Zapoznajemy się przeto z pleśniakami nie z ciekawości tylko, lecz także ze względów na praktykę techniczną, chcemy wiedzieć, które z pomiędzy nich i o ile mogą nam być szkodliwe, a które możemy zaprządz do korzystnej pracy dla naszych celów.

Charakterystycznym u pleśniaków jest ich wegetatywne rozrastanie się.

Komórki bakteryj rozszczepiają się i każda z nowopowstałych jest osobnikiem odrębnym; komórki drożdżaków pączkujących rozrastają się kończynowo, lecz każda z nowych komórek może się oddzielić od matki i jest także osobnikiem dla siebie. Komórki pleśniaków rozrastają się kończynowo i dzielą się przez tworzenie w swem wnętrzu ścian najczęściej prostopadłych do kierunku rozrastania się, lecz te nowopowstałe komórki nie odszczepiają się od dawniejszych; wszystkie pozostają ze sobą w ścisłej łączności, tworząc całość, długą nitkę. Każda z komórek tej nitki może z boku pączkować, a każdy pączek wyrastać w nitkę nową, boczną, której komórki mogą znowu tworzyć boczne pączki i drugorzędne gałązki i t. d. Ta zdolność prawie nieograniczonego rozgałęziania się jest u pleśniaków cechą charakterystyczną, której bakterye nie posiadają, a drożdżaki okazują tylko w słabym stopniu.

Pojedyncze komórki wegetatywne w nitce są cylindryczne lub kielbaskowate, krótsze lub dłuższe i tak jak u wszystkich roślin składają się z błony, protoplazmy i jądra. W początkowym okresie rozwoju organizmu nitki plechy czyli grzybni przebywają wewnątrz gleby odżywczej lub też tak na jej powierzchni, że pokarm z tej gleby czerpać mogą, później jednak wypuszczają one u niektórych pleśniaków prostopadle w górę ponad po-



wierzchnię gleby krótkie gałązki, t. zw. trzonki. Nitki grzybni mogą, jak to powiedziano wyżej, w sprzyjających warunkach rozrastać się ciągle, trzonki zaś szybko zaprzestają swój rozrost kończynowy i oddzielają utwory, odgrywające tę samą rolę, co zarodniki u poprzednio opisanych drobnoustrojów (fig. 92). Jest to najpospolitszy sposób tworzenia zarodników u niektórych gatunków. Te zarodniki zwiemy zarodnikami członkowymi albo też konidiami. Niektóre pleśniaki tworzą na trzonkach inne jeszcze zarodniki; o nich będziemy mówili przy opisie poszczególnych gatunków.

Niekiedy jednak odbywa się tworzenie tych organów w sposób odmienny. Kilka nitek grzybni wegetatywnej skłąbia się i gmatwa tak, że w końcu powstaje okrągławy, twardy,

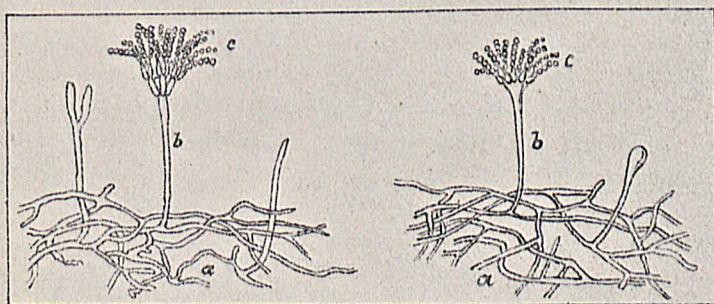


Fig. 92. Oddzielanie zarodników na trzonkach. *a* grzybnia, *b* trzonek, *c* zarodniki.

z wielu komórek złożony utwór t. zw. grzybnia trwała (*sklerotium*); wewnątrz niej wytwarza jedna, pierwotnie wegetatywna komórka t. zw. worki i w nich tworzą się z plazmy zarodniki tak, jak to poznaliśmy u drożdżaków (fig. 93). Takie zarodniki nazywamy zarodnikami workowymi.

Oprócz powyższych dwóch sposobów tworzenia się zarodników znamy u niektórych pleśniaków jeszcze sposób trzeci. Dwie gałązki grzybni jednego i tego samego osobnika rosną ku sobie (fig. 94) tak, że się w końcu stykają. Wówczas oddziela każda z obu gałązek na końcu po jednej komórce i te się z czasem ze sobą zlewają w jedną. Ten, przez to zlanie się powstały utwór otacza się bardzo grubą błoną i staje się wskutek tego nadzwyczaj wytrzymały na zewnętrzne, niekorzystne wpływy.



W sprzyjających warunkach kielkuje on i rozrasta się w grzybnię. Jest to także zarodnik trwały; nazywamy go zygotą.

Tworzenie się zarodników u pleśniaków następuje, zdaje się, wtedy, gdy odżywianie grzybni jest utrudnione lub niedostateczne. Wprowadzony do gleby odżywczej, kielkuje każdy

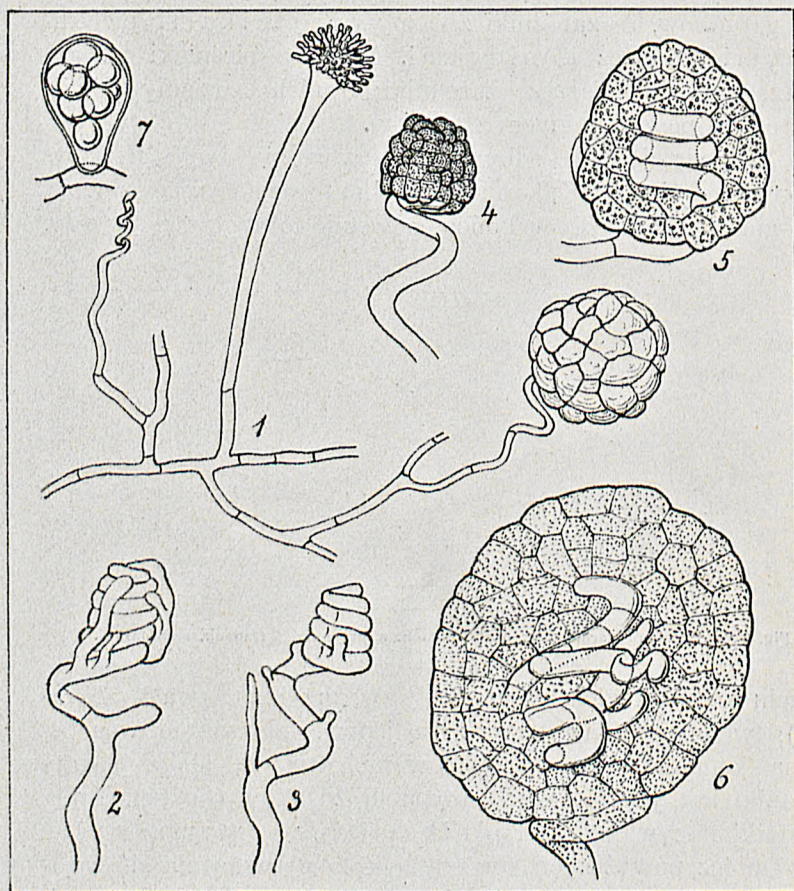


Fig. 93. Tworzenie sklerocyów i worków wewnątrz nich z zarodnikami. 1. Grzybnia. 2. i 3. Ta sama gałązka w późniejszych okresach. 4. Utworzony owoc 5. Przekrój tego utworu; wewnątrz komórka zwinięta w śrubę. 6. Owoc w którym komórka śrubowa tworzy worki 7. Pojedynczy worek z zarodnikami wewnętrznymi.

zarodnik w krótkim czasie. Wnętrze jego pęcznieje, błona pęka, poczem wysuwa się pałeczka, która rosnąc kończynowo, przemienia się w nitkę już wcześniej się rozgałęziającą (fig. 95).



Niektóre grzybki pleśniowe nie tworzą takich zarodników, jakie wyżej opisano. U nich odgrywają rolę tych utworów komórki, powstałe przez rozczłonkowanie się poszczególnych nitek

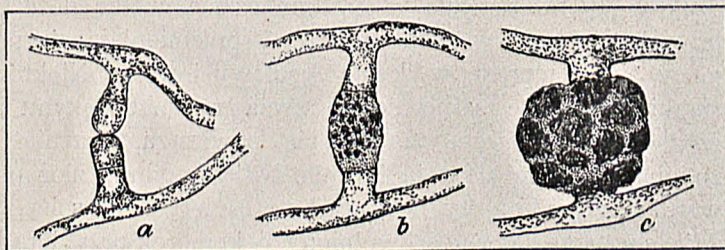


Fig. 94. Tworzenie zygot. a, b, c, rozmaite okresy tego sposobu zarodnikowania.

grzybni (fig. 96). Utwory te są czemś podobnem do t. zw. zarodników członkowych u bakteryj i komórek trwałych u drożdżaków. Nazywamy je także zarodnikami członkowymi albo konidiami.

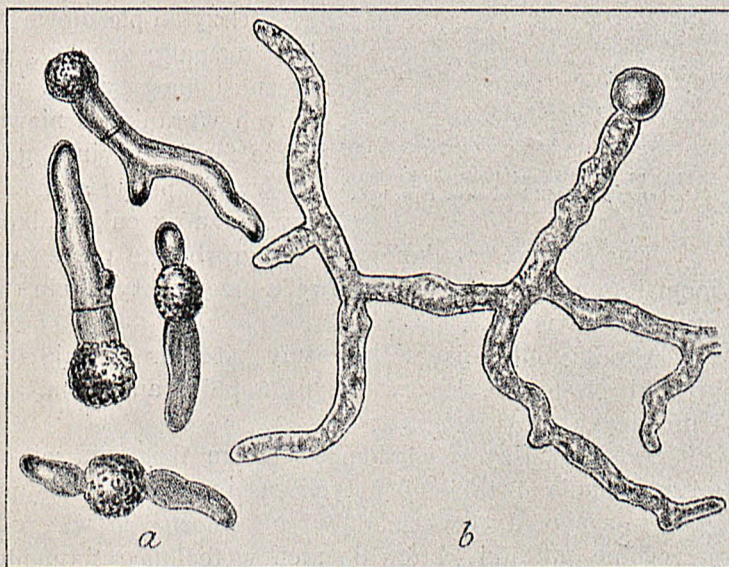


Fig. 95. Kielkowanie zarodników. a) *Asp. glaucus*. b) *Mucor stolonifer*.

Pleśniaki odżywiają się, tak samo jak drożdżaki, ciałami azotowymi, bezazotowymi i ciałami mineralnymi. Potrzebną



jest też woda, a przede wszystkim tlen powietrza, gdyż bez niego one istnieć nie mogą.

Oddychanie ich jest bardziej intensywne, aniżeli u drożdżaków; to też potrafią w krótkim czasie wielką ilość bezazotowych ciał odżywczych zniszczyć, przemieniając je przy pomocy tlenu wprost w kwas węglowy i wodę. Niektóre pleśniaki, zmuszone sztucznie do życia wewnątrz płynu odżywczego przy ograniczonym dostępie powietrza, okazują dziwną zmianę w swym rozwoju i życiu. Nitki grzybni, złożone pierwotnie z komórek cylindrycznych, zrosniętych ze sobą, rozpadają się, a każda z tak uwolnionych komórek przybiera kształt jajowaty, albo też kulisty i rozmnaża się przez pączkowanie. Każdy z tych pączków jest osobnikiem odrębnym. W płynie,

zawierającym cukier, powstaje alkohol i kwas węglowy wskutek fermentacyjnej działalności tych komórek grzybka pleśniowego.

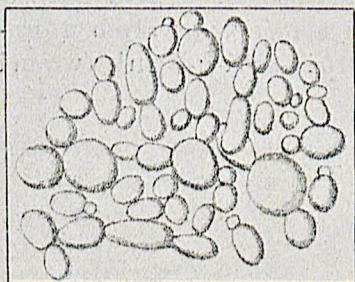


Fig. 96. *Monilia candida*. Młode komórki z brzeźki. (Wedł. Hansena). Pow. 1000.

Grzybki pleśniowe wydzielają rozmaite enzymy, proteolityczne i diastatyczne, a w pewnych warunkach niewątpliwie także fermentacyjne, gdyż, jak to wyżej powiedziano, mogą wytwarzać z cukru alkohol.

Oprócz węglowodanów mogą grzybki te przyswajać najrozmaitsze inne ciała bezazotowe, a przede wszystkim rozmaite organiczne kwasy.

Środki odkażające, któreśmy poznali, działają także na grzybki pleśniowe, lecz w innym stopniu, aniżeli na bakterye i drożdżaki.

Dokładniejszych wiadomości o tem działaniu nie mamy, gdyż badaniami takimi dotychczas niewiele się zajmowano.

O systematyce pleśniaków nie można mówić, gdyż poszczególne gatunki, które do nich w technice fermentacyjnej zaliczamy, nie tworzą jakiejś samoistnej, odrębnej grupy w botanice, lecz są wyjęte z rozmaitych miejsc systemu wszystkich grzybów. Musimy je przeto opisywać bez uwzględnienia systemu botanicznego; ułożymy je w takim porządku, że na



czele umieścimy gatunki, podobne do drożdżaków, a więc najniżej stojące co do swego ustroju, a skończymy gatunkami najdoskonalszymi.

## Szczegółowy opis pleśniaków.

### *Monilia*.

Pod tą nazwą należy rozumieć więcej odmian grzybków pleśniowych, których grzybnia ma prostą budowę, składa się bowiem z nitek, oddzielających w płynach pojedyncze komórki, kształtu komórek drożdżaków. Komórki te są konidiami. Do tego gatunku należą także odmiany chorobotwórcze. Najlepiej zbadaną odmianą jest:

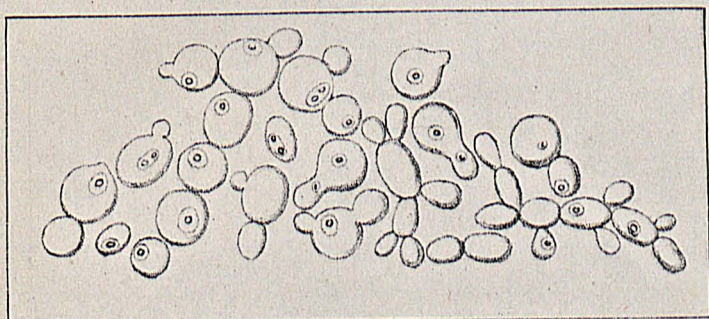


Fig. 97. *Monilia candida*. Komórki młodego kożucha. (Wedł. Hansena). Pow. 1000.

***Monilia candida*. Hansen.** Znajduje się często na świeżym gnoju krowim, oraz na słodkich, soczystych owocach; tworzy tu białą powłokę pleśniową. Hodowany w brzeczce lub zacierze, oraz w czystych roztworach saccharozy lub dekstrozy z dodatkiem odwaru z drożdży, wydaje ten grzybek komórki zupełnie podobne do komórek drożdżaków (fig. 96). W wodniczках znajduje się często ziarnko żywo się poruszające i silnie błyszczące. Na powierzchni płynów odżywczych tworzy on szary kożuch, który początkowo zawiera tylko pojedyncze komórki lub krótkie gałązki (fig. 97), z czasem jednak przemienia się w prawdziwą grzybnię, taką, jaką tworzy na owocach





Fig. 98. *Monilia candida*. Grzybnia rozwinięta silnie; oddzielanie konidyj, podobnych do komórek drożdżaków.



(fig. 98). Nitki tej grzybni rozrastają się wyraźnie końcowo, a tylko po bokach wydają konidye kształtu komórek drożdżaków.

Hansen wykazał, że *monilia candida* nie wydziela inwertyny, a pomimo to może odfermentowywać sacharozę, może zatem cukier ten rozkładać bezpośrednio na alkohol i kwas węglowy.

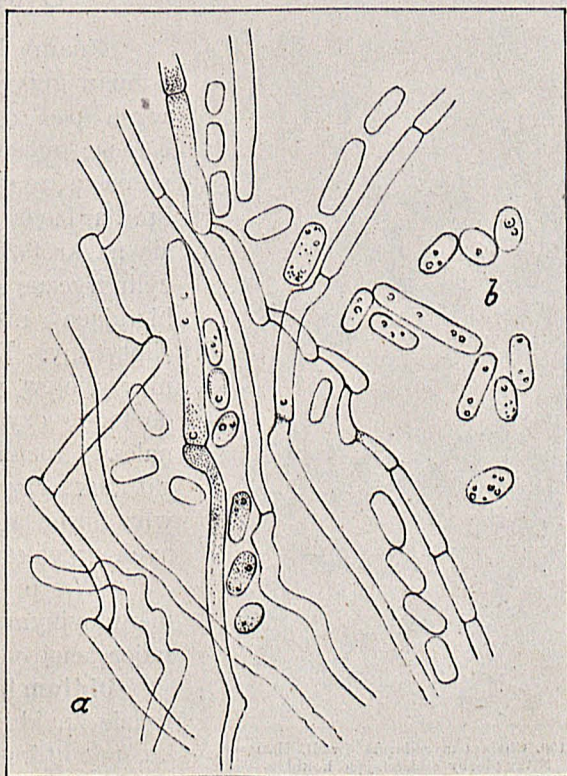


Fig. 99. *Oidium lactis*. a nitki grzybni, b konidye. Powiększenie 650.

Fischer i Lindner także nie mogli otrzymać inwertyny z tego grzybka, lecz wykazali, że pomimo nieobecności tego w wodzie rozpuszczalnego enzymu, muszą ich komórki zawierać inny jakiś enzym inwertujący, gdyż można rozdartemi, a więc nieżywymi komórkami tego grzybka sacharozę zinvertować.



Drobnoustrój powyższy odznacza się tem, że jest wytrzymały na wpływ wysokiej temperatury, gdyż przy 40° C jeszcze rozwija się w brzeczce bardzo silnie. W niej, jak i w innych płynach cukrowych wywołuje on fermentację i może po dłuższym, co prawda, czasie wytworzyć do 5 procentów objętościowych alkoholu.

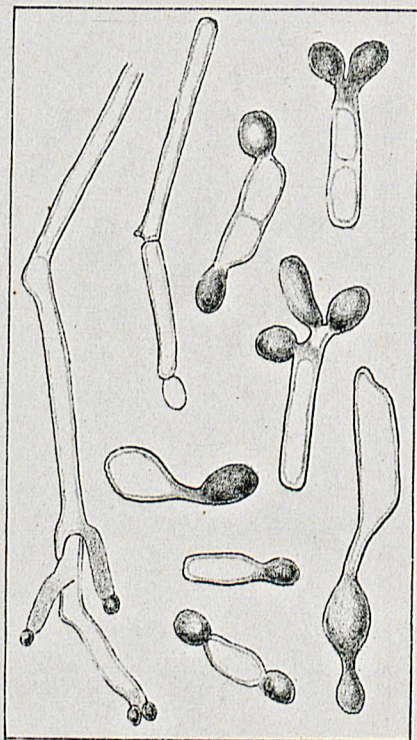


Fig. 100. *Chalara mycoderma* (wedł. Hansena).  
Nitki plechy oddzielające konidy.

szym czasie znany, biały kożuch. Z tego powodu otrzymał grzybek ten nazwę *lactis*. W zakładach przemysłu fermentacyjnego spotykamy go na słodzie, na wilgotnych ścianach naczyń fermentacyjnych i wogóle tam, gdzie brzeczka lub zacier dłuższy czas zwilżały jakąś powierzchnię. Spotyka go się także często na prasowanych drożdżach, na których tworzy grubą, białą powłokę pleśniową.

## Oidium.

Znamy bardzo wiele odmian grzybków pleśniowych pod ogólną nazwą *oidium*; mają one tę wspólną cechę, że nitki ich grzybni bardzo łatwo rozpadają się na krótsze lub dłuższe cylindryczne człony, przybierające nieraz kształt eliptyczny. Do dziś botanicy nie są w zgodzie co do tego, czy pod *oidium* należy rozumieć osobny gatunek, czy też tylko pewną formę rozwojową innych grzybków wyższych.

W przemyśle fermentacyjnym spotykamy najczęściej odmianę

***Oidium lactis*.** W przyrodzie znajduje się na mleku, na którym po skwaszeniu tworzy po dłuż-



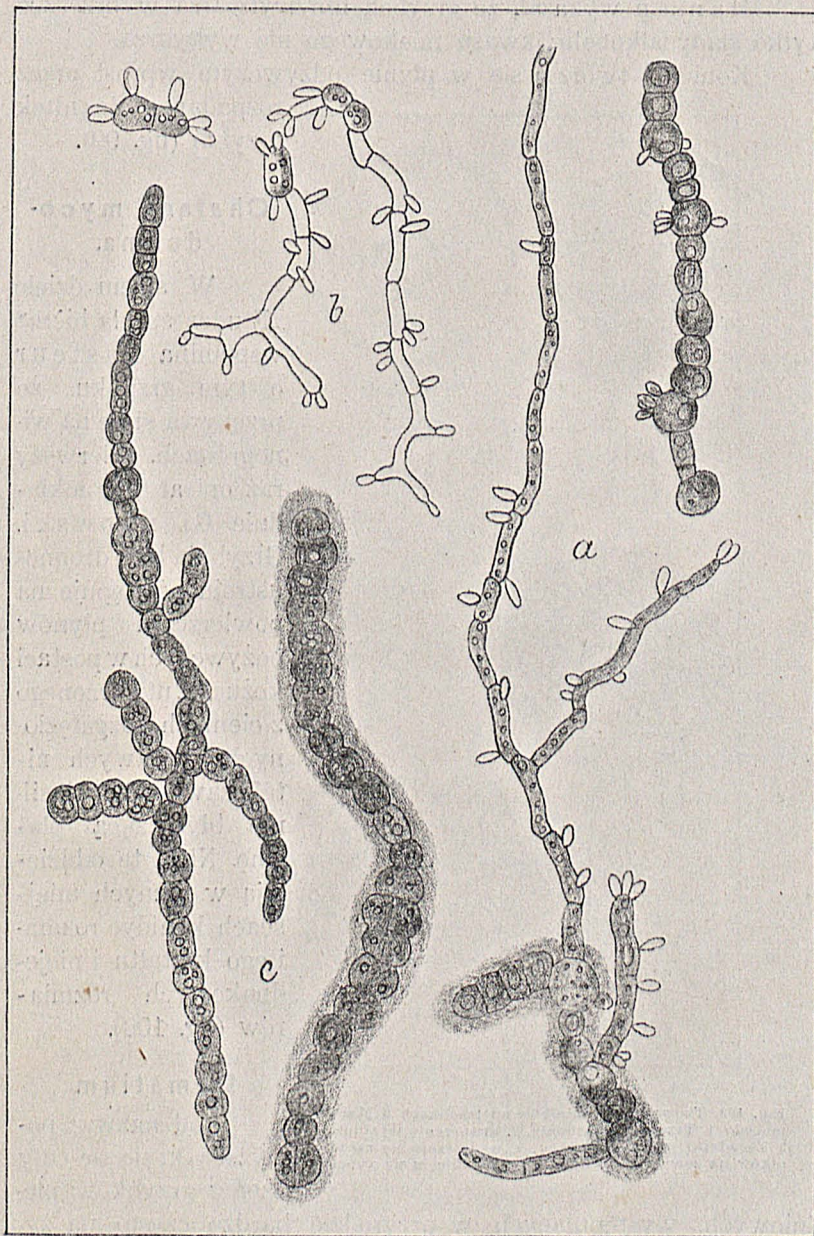


Fig. 101. *Dematium pullulans* (według De Bary'ego). *a* Nitka grzybni oddzielająca konidy. *b* Konidy kielkujące. *c* Nitki rozpadające się na szereg beczkowatych konidyj.



Hansen wykazał, że grzybek ten wytwarza w brzeczce tylko ślady alkoholu; kwasu mlekowego nie wytwarza.

Konidye tworzą się w płynie odżywczym wprost przez rozpadanie się nitek grzybni (fig. 99).

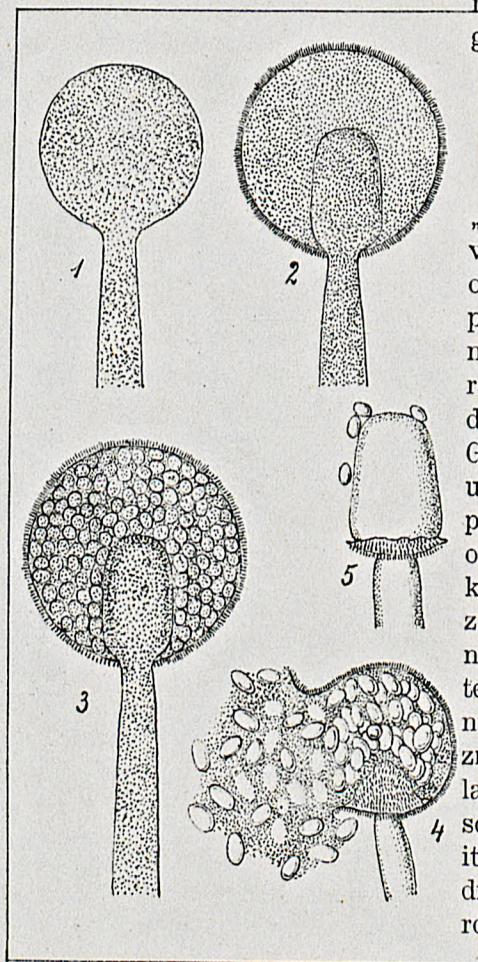


Fig. 102. Tworzenie zarodników na trzonkach u *Mucor mucedo*. 1. Trzonek nabrzmiały, 2. utworzenie się słupki, 3. Zarodniki wewnątrz owocu, 4. wydostanie się zarodników na zewnątrz, 5. słupki po rozpadnięciu się owocu.

śniowych, występujących w przyrodzie bardzo często na żywych listkach wyższych roślin i na słodkich owocach; przebywają one jednak także na obumarłych roślinach. — Najdawniej

### **Chalara myco- derma.**

W swem dziele „Etudes sur la bière“ wspomina Pasteur o tym grzybku, że przebywa stale na winogronach. Pierwszy raz opisał go dokładnie Cienkowski. Grzybnia tego drobnoustroju występuje na powierzchni płynów odżywczych w postaci kożucha, utworzonego z cienkich, rozgałęzionych, szarawych nitek, zawierających silnie błyszczącą plazmę. Nitki te oddzielają w różnych miejscach konidye rozmaitego kształtu i niejednokowych rozmiarów (fig. 100).

### **Dematium.**

Pod nazwą powyższą kryje się cały szereg grzybków pleśniowych,



znanym grzybkim tego gatunku i najdokładniej zbadanym jest **Dematium pullulans**. De Bary. W brzeczce hodowany tworzy on rozgałęzioną grzybnię, której nitki oddzielają po bokach lub na końcach konidye (fig. 101 a). Konidye te, wprowadzone do płynów takich, które je źle odżywiać mogą, jak n. p. rozwodnione roztwory cukrowe lub nawet woda, pęcznieją i wypuszczają zaraz pączki albo tylko krótkie nitki (fig. 101 b), a te zaraz wypuszczają boczne lub kończynowe pączki. Utwory

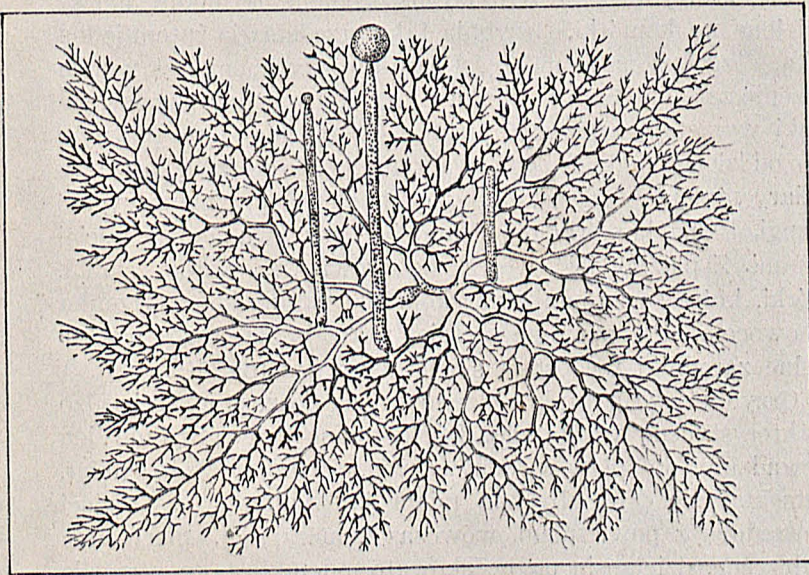


Fig. 103. *Mucor Mucedo* (według Brefelda).

te oddzielają się łatwo i rozmnażają w płynach powyższych dalej przez pączkowanie. Nitki grzybni, odżywianej dobrze lub źle rozpadają się po pewnym czasie, gdy dostęp powietrza jest obfity, na krótkie, beczkowato wybrzuszone komórki, których błona grubiej znacznie i przybiera kolor ciemno-oliwkowy lub brunatny. Wewnątrz komórek staje się plazma silnie ziarnista i zawiera większe lub mniejsze krople i ziarna tłuszczu (fig. 101 c). Często dzielą się nitki grzybni nie tylko poprzecznie, lecz także i podłużnie. Błony beczkowatych komórek nie-raz galaretowacieją, tak, że nitki otoczone są grubą powłoką.



Te beczkowate komórki przedstawiają utwory trwalsze na niekorzystne wpływy zewnętrzne; są to konidy.

Lindner wykrył odmianę, u której występuje nadzwyczaj silnie powyżej wspomniana przemiana błony w galaretę, wskutek czego płyny odżywcze mogą stać się ciągliwe.

### **Mucor. Micheli.**

Wszystkie grzybki tego gatunku mają bujnie rozgałęzioną grzybnię, której nitki przed wypuszczeniem trzoneków nie są podzielone na komórki. Grzybnia taka przedstawia zatem jedną wielką, rozgałęzioną komórkę. Charakterystycznym jest u nich tworzenie zarodników na trzonkach. Pojedyncze lub rozgałęzione trzonki wyrastają z grzybni prostopadle do góry i po pewnym czasie oddzielają na końcu okrągłą komórkę, która zwiększa swe rozmiary mniej lub więcej, tak że cały trzonek przybiera wygląd maczugi. Błona komórki tej ciemnieje, i pokrywa się najczęściej igielkami. Z plazmy jej tworzą się wewnątrz owalne ciała, komórki, które są zarodnikami; komórka zaś na końcu trzonka jest owocem. Po pewnym czasie pęka błona tego owocu, a wolne zarodniki wydostają się na zewnątrz (fig. 102).

Grzybki tego gatunku odznaczają się jeszcze jedną bardzo charakterystyczną własnością. Jeżeli mianowicie grzybnię ich wprowadzimy do płynów odżywczych, zawierających cukier, i postaramy się o to, aby ona miała jak najmniej styczności bezpośredniej z powietrzem, wówczas komórki jej, pierwotnie cylindryczne, dzielą się na beczkowate odcinki, a te wreszcie odszczepiają się i zaokrąglają zupełnie. Takie kuliste komórki przedstawiają każda dla siebie osobnik samoistny, rozmnażający się wegetatywnie dalej już tylko przez pączkowanie, jak długo istnieją te same warunki, przy których powstał. Wtedy mają te komórki wygląd drożdżaków, a co najważniejsza mogą w płynach cukrowych wywołać fermentację alkoholową.

**Mucor mucedo.** Jest to jeden z najbardziej rozpowszechnionych grzybków pleśniowych; znajduje się zawsze na gnoju. Tworzy białą, lśniąca się grzybnię, bujnie rozgałęzioną, która wypuszcza po pewnym czasie grube trzonki (fig. 103). Końce ich grubieją maczugowato, poczem oddzielają się od trzonka



za pomocą ścianki działowej. Ścianka ta wypukła się z czasem ku górze i tworzy wewnątrz okrągłej komórki końcowej słupek (*columella*).

Protoplasma naokoło tego słupka zamienia się po pewnym czasie w zarodniki, które po pęknięciu błony owocu wydostają się na zewnątrz. Wtedy tworzą resztki tej błony kołnierzyk u spodu słupka. Zarodniki, wprowadzone do odpowiednich środowisk odżywczych, pęcznieją i wypuszczają nitkę, szybko rozgałęziającą się, jednak nie rozdzielającą na pojedyncze ko-

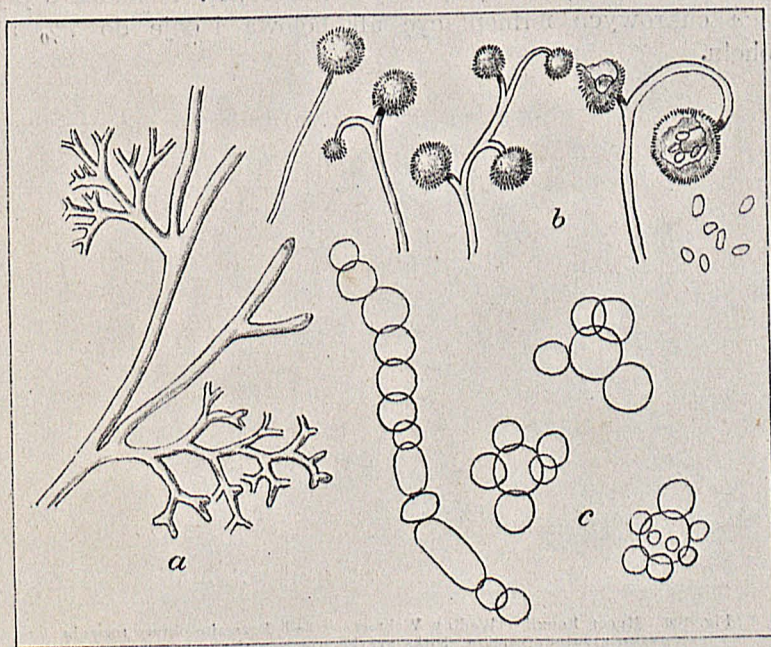


Fig. 105, *Mucor circinelloides*. (Według Van Tieghema i Gayona). a grzybnia, b trzonki z owocami, c grzybnia rozpadła się na komórki pęczkujące.

mórki; to następuje dopiero wtedy, gdy z grzybni powstałej mają wyrastać trzonki.

U tego grzybka jak też wszystkich innych odmian tego gatunku istnieje jeszcze sposób rozmnażania się za pomocą zygot. Dwie gałązki grzybni (fig. 94.) rosną ku sobie, a po zetknięciu oddzielają na swych końcach komórki, które się zlewają i wytwarzają zarodnik. Zarodnik ten zwiększa swoją objętość



otacza się grubą błoną, wytrzymałą, na działanie kwasów; może on zazwyczaj kiełkować po pewnym czasie, a wtedy wypuszcza nitkę, z której niebawem wyrasta trzonek i wydaje zarodniki pierwszego rodzaju.

**Mucor racemosus**, znajduje się często na spleśniałym chlebie i na psujących się substancjach roślinnych. Z wyglądu jest on zupełnie podobny do poprzedniego i odznacza się tem że tworzy bardzo łatwo w płynie odżywczym kuliste komórki, które się przez pączkowanie rozmnażają (fig. 104). Wydziela rozmaite enzymy, pomiędzy innymi inwertynę. Wzbudza w płynach cukrowych fermentację alkoholową i daje do 7% alkoholu.

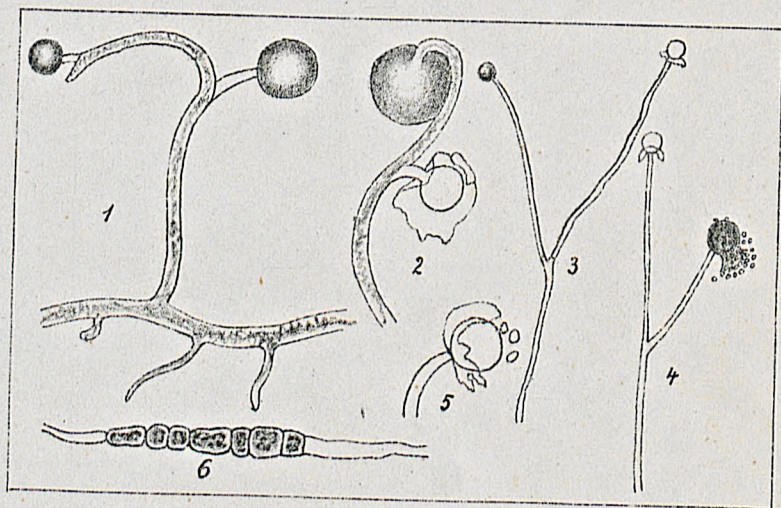


Fig. 106. *Mucor Rouxii*. (Według Wehmara). 1—5 Rozmaite okresy rozwoju owocu z zarodnikami. 6, Nitka grzybni rozpada się na konidy.

**Mucor circinelloides**. Grzybnia jego jest tak samo silnie rozgałęziona jak u innych. Odznacza się tem, że trzonki owocowe są u góry rozgałęzione i w dół zgięte (fig. 105). Tworzenie kulistych komórek z grzybni, zanurzonej w płynie odżywczym, odbywa się i u niego. Według Gayona nie wzbudza on fermentacji w roztworach saccharozy, podczas gdy cukier zwinwertowany fermentuje pod jego wpływem, przyczem powstaje 5.5% alkoholu. Badacz ten proponował, aby na tej własności oprzeć przeróbkę melasy na cukier; przy jego pomocy możnaby



mianowicie z melasy usunąć cukier zwinwertowany i niektóre ciała azotowe, a pozostała saccharoza mogłaby krystalizować i być potem oddzielona.

**Mucor Rouxii.** (Znany dotychczas pod nazwą *Amylomyces Rouxii*. Calmette). Jest to grzybek, wydzielony przez Calmette'a z t. zw. chińskich drożdży. Tworzy on na glebach odżywczych żółtawą lub szarawą grzybnie, złożoną z nitek.

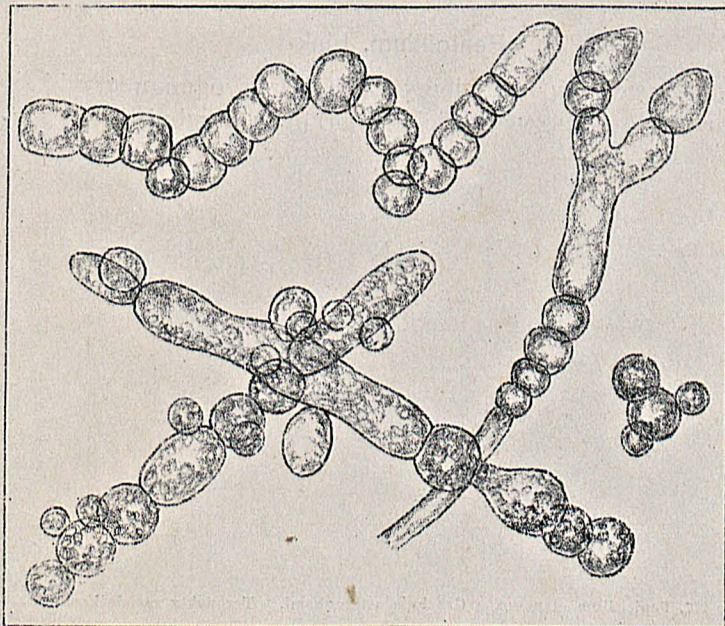


Fig 104. *Mucor racemosus*. Rozpadnięcie się nitek grzybni na komórki pączkujące. (Powiększenie 650).

Najlepiej rozwija się na gotowanym ryżu przy temperaturach 30—40° C.

Trzonki są długie, niekiedy rozgałęzione (fig. 106), a owoce zarodnikowe okrągłe, jasne o średnicy 50 mikrom. Słupek jest kulisty.

Nitki wewnątrz płynów rozpadają się na beczkowate, pojedyncze komórki, lecz pączkowania u nich dotychczas nie stwierdzono.



Pod względem fizyologicznym zachowuje on się nadzwyczaj ciekawie. Wydziela mianowicie znaczne ilości diastazu i przy pomocy tego enzymu bardzo energicznie scukrza sklejstowaną skrobię, poczem wytworzony cukier rozkłada na alkohole i kwas węglowy. Oprócz tego wydziela on rozmaite inne enzymy, pomiędzy nimi też inwertynę.

Grzybek ten był pierwszym, który został użyty na wielką skalę do scukrzania skrobi w gorzelnictwie, dziś jednak używają już do tego celu także innych odmian gatunku *mucor*.

### Penicillium. Link.

Pod *penicillium* rozumiemy cały szereg odmian grzybków pleśniowych o delikatnej, wielokomórkowej grzybni, która wy-

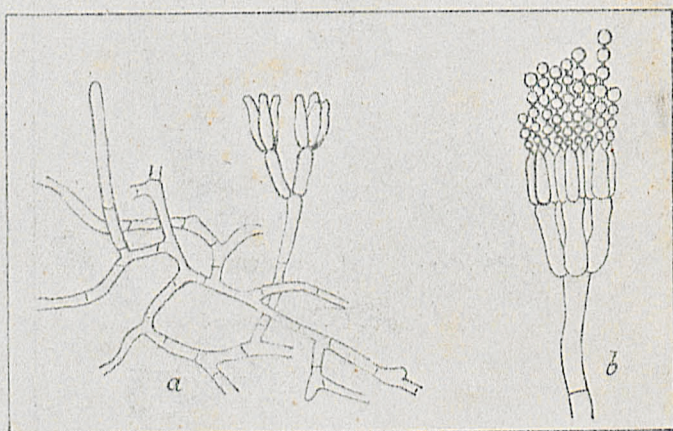


Fig. 107. *Penicillium glaucum*. a Grzybnia z trzonkami, b Trzonek z zarodnikami.

syła w górę wielokomórkowe trzonki szczególnego kształtu. Trzonki te są pojedyncze lub rozgałęzione, a każda ich komórka końcowa wypuszcza u góry kilka lub kilkanaście krótkich, flaszkowatych komórek, oddzielających kuliste zarodniki (fig. 107). Zarodniki te pozostają jakiś czas ze sobą złączone i tworzą szeregi, wskutek czego całość przedstawia utwór podobny do pędzla. Grzybki te nazwano też dlatego pędzlakami.

**Penicillium glaucum.** Znany powszechnie, gdyż znajduje się wszędzie, gdzie jest tylko trochę ciał organicznych do jego odżywiania i dostateczna ilość wilgoci. Tworzy bujną grzybnię białą, która wypuszcza prostopadle trzonki. Na nich tworzą się



zarodniki koloru zielonawo niebieskiego, wskutek czego pleśń, początkowo biała, szybko niebieszczeje. Według badań Cramera, zarodniki te są bardzo wytrzymałe na działanie wyższej temperatury.

U tego grzybka spostrzegł Brefeld inny jeszcze sposób wytwarzania zarodników. Na grzybni występują po dwie krótkie, grube gałązki, które okręcają się około siebie (fig. 108), poczem najbliższe gałązki plechy rozrastają się bujnie i skłębiają na około nich tak, że tworzą z czasem okrągłe

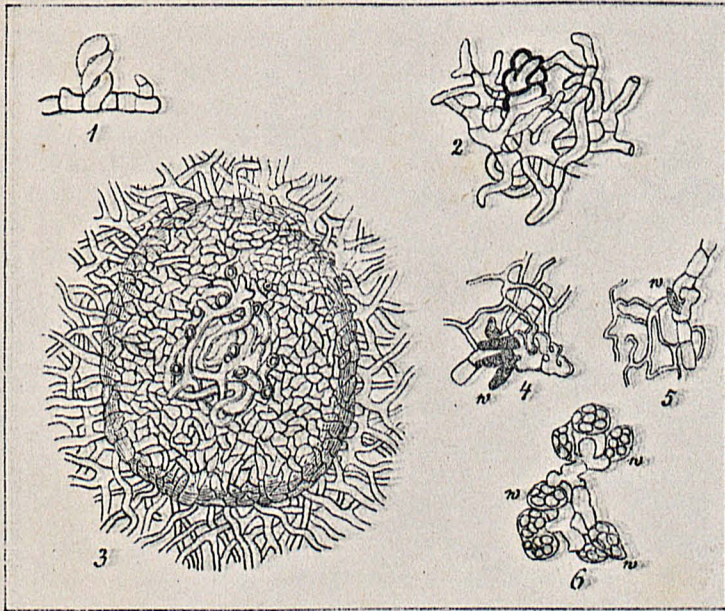


Fig. 108. *Penicillium glaucum*. (Według Brefelda). Tworzenie się sklerocyów z workam  
1-3 Różne okresy tworzenia się sklerocyów. 4-5. Powikłane nitki wewnątrz sklero-  
cyów wypuszczają worki *u*. 6. Worki z zarodnikami.

ziarno wielokomórkowe o żółtej barwie. Wewnątrz znajdujące się skręcone komórki wypuszczają pączki, worki, w których powstaje po ośm zarodników. Błony worków po pewnym czasie zanikają, a wewnątrz żółtego ziarnka owocu znajdują się zarodniki wolne. Po rozpadnięciu się komórek owocu wydostają się one na zewnątrz i mogą zaraz kiełkować.

Grzybek ten wydziela inwertynę, oraz diastaz i maltazę.



Znane są grzybki pleśniowe tego gatunku, które wytwarzają z dekstrozy kwas cytrynowy.

### **Aspergillus. Micheli.**

Grzybki pleśniowe należące do tego gatunku, tworzą plechę tak, jak poprzednio opisane, a odznaczają się kształtem trzoneków, na których powstają konidyje. Trzonki składają się z jednej tylko komórki, nabrzmiałej na końcu maczugowato

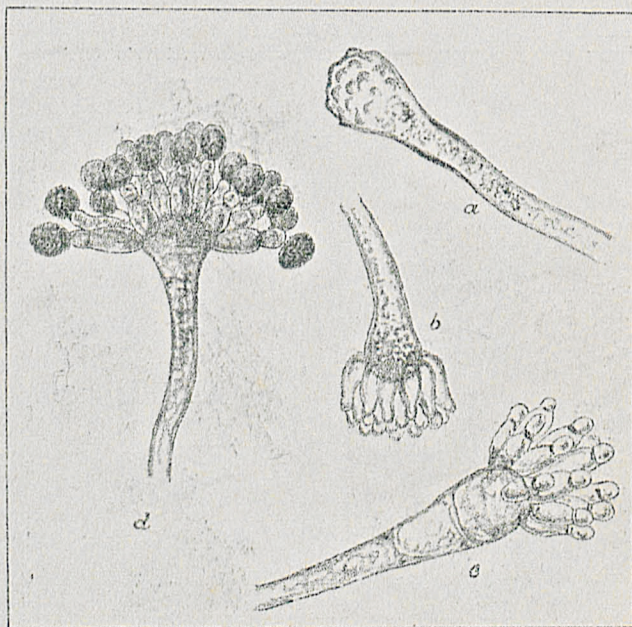


Fig. 109. Powstanie konidyj na końcu trzonka grzybka.  
*Aspergillus glaucus*. (Rysował z natury W. Syniewski).  
Powiększenie 650.

(fig. 109 *a*). Na tem zgrubieniu wyrasta kilkanaście do kilkudziesięciu komórek flaszkowatych (*sterigmæ*) (fig. 109 *b* i *c*), z których każda później oddziela na końcu okrągły lub owalny zarodnik. Maczugowaty trzonek wygląda wówczas (fig. 109 *d*) jak kropidło, wskutek czego nazwano grzybki tego gatunku także kropidlakami. Najbardziej rozpowszechnionym jest

***Aspergillus glaucus*** De Bary. Występuje on prawie zawsze na słodzie zielonym, w postaci delikatnej, początkowo białej,



później szarej lub zielonawej powłoki. Grzybnia ta składa się z delikatnych, przezroczystych, rozgałęzionych nitek, podzielonych na pojedyncze komórki. Z niej wyrastają z czasem grube, zwykle jednokomórkowe trzonki (fig. 110 *a*), zgrubiałe maczugowato, na których ukazują się później zarodniki w ten sposób, jak to wyżej opisano. Zarodek powstały nie odpada zaraz, lecz pozostaje złączony z komórką, która go od-

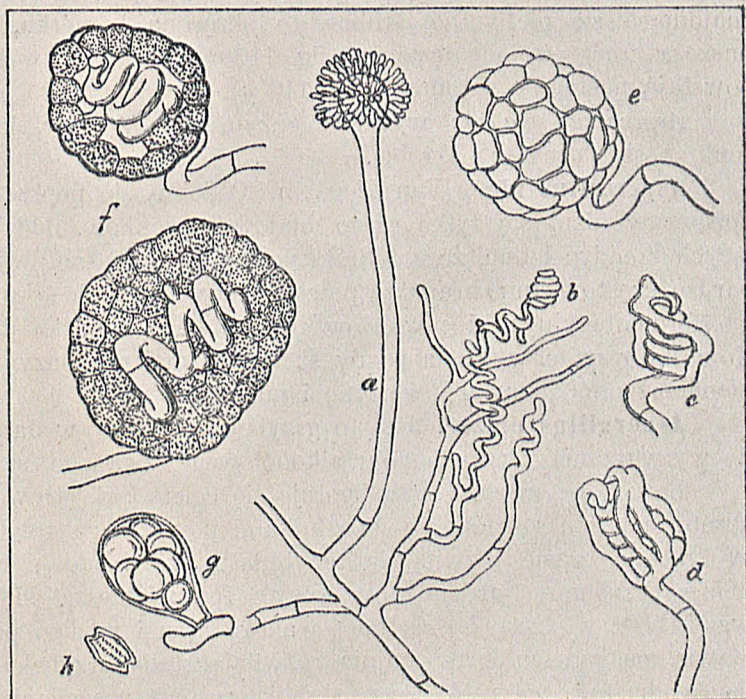


Fig. 110. *Aspergillus glaucus*. Według de Bary'ego. *a* Trzonek z konidiami. (Powiększenie 500). *b*, *c*, *d* Różne okresy tworzenia się owocu workowego. *e* Dojrzały owoc w widoku. *f* Owoc w przekroju z widoczną wewnątrz komórką oddzielającą worki. *g* Work z zarodnikami. *h* Zarodek. (Pow. 600).

dzieliła; komórka ta oddziela potem zarodek drugi, trzeci itd., które wszystkie tworzą w ten sposób cały szereg, co trzonkowi wraz z zarodnikami nadaje charakterystyczny wygląd. Zarodniki stanowią ten szary lub zielony pył, jakim się grzybnia z czasem pokrywa. Mogą one kielkować natychmiast po oddzieleniu się i to jest przyczyną tego, że *aspergillus glaucus* bardzo szybko się rozplenia.



W warunkach nieznanych nam dotychczas bliżej, rozmnaża się grzybek powyższy za pomocą zarodników workowych.

Gałązka grzybni zaprzestaje rozrastać się kończynowo, zwija się śrubowato (fig. 110 *b, c i d*), a na około niej wyrastają gałązki drobne, które wikłając się, tworzą z czasem gęsty kłębek grzybni trwałej (fig. 110 *e*). Wewnątrz tego owocu znajdująca się pierwotnie śrubowato skręcona komórka, wypuszcza z czasem odgałęzienia (fig 110 *f*), worki, a w tych powstają następnie zarodniki (fig. 110 *g*).

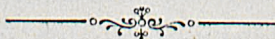
*Aspergillus glaucus* wydziela enzym diastatyczny, który scukrza sklejstrowaną skrobię.

***Aspergillus niger*** Van Tieghem. Podobny do poprzednio opisanego, różni się tylko nieco budową trzonek, oddzielających konidye i tem, że zarodniki są ciemno brunatne. Tworzy bardzo często ciemno brunatną powłokę na wilgotnych ścianach izb fermentacyjnych i piwnic w browarach i t. p. lokalach. Komórki grzybni wydzielają cały szereg rozmaitych enzymów, pomiędzy nimi diastaz, inwertynę i maltazę.

***Aspergillus orizae*.** Jest to grzybek, używany w Japonii do wytwarzania z ryżu napoju alkoholowego, zwanego „saké“.

Łuszczone ziarnka ryżu gotuje się celem sklejstrowania skrobi, poczem zakaża się zarodnikami powyższego grzybka. W krótkim czasie rozwija się grzybnia bujnie i nadaje całej masie przyjemny aromat owocowy. Teraz miesza się to wszystko z większą ilością ugotowanego ryżu i wodą i pozostawia na pewien czas; bujnie rozwijający się grzybek wydziela diastaz, wskutek czego skrobia ryżowa przemienia się w cukier, a ten niebawem ulega fermentacji, gdyż w nieczystej takiej masie nie brak też rozmaitych drożdżaków. Po kilku tygodniach przemiana skrobi w cukier jest ukończona i niebawem też ustaje fermentacja. Płyn filtrują, poczem jest on już gotowy do konsumeyi. Zawiera 13 - 14% alkoholu.

*Aspergillus oryzae* służy w Japonii także do wyrobu wielu innych napojów alkoholowych z materiałów skrobiowych.





## Wpływ badań mikrobiologicznych na praktykę fermentacyjną.

W gorzelnictwie, drożdżarstwie i piwowarstwie hodujemy na wielkie rozmiary głównie jeden z poprzednio poznanych drobnoustrojów, mianowicie drożdżak *saccharomyces cerevisiae* i dlatego w każdej z powyższych trzech gałęzi przemysłu fermentacyjnego rozchodzi nam się o to, by w naszych hodowlach nie było obok niego organizmów innych; okazało się bowiem, że byłoby to niekorzystnem dla naszych celów.

Unikanie organizmów obcych jest zatem jednym z warunków normalnego przebiegu fabrykacji spirytusu, drożdży prasowanych lub piwa i staramy się przeto postępować tak, aby to unikanie było możliwe.

Dawniej postępowano tylko empirycznie, opierano się na długoletnich doświadczeniach, nie mogąc sobie oczywiście bliżej zdawać sprawę z przyczyn, dla których robiono coś tak lub owak; empiryzm był chodzeniem po omacku, to też nie mogło się obejść bez częstego popełnienia mniejszych lub większych błędów, a to odbijało się, naturalnie, na kosztach wyrobu.

Drobnoustroje są ogromnie rozpowszechnione w przyrodzie, tak, że niema materiałów surowych do wyrobu spirytusu, drożdży lub piwa, któreby były wolne od tych organizmów. Wprowadzamy je zatem wraz z materiałami surowymi w ogromnych ilościach do fabryki i tu musimy zaraz rozpocząć z nimi walkę.

Ułatwia nam ją to, że roztwory cukrowe, jakie mamy poddawać fermentacji, sporządzamy z materiałów surowych przy takiej temperaturze, która działa na organizmy i ich za-



rodki jeżeli nie niszcząco, to co najmniej osłabiająco. Takie częściowe wyjałowienie płynów cukrowych, stosowano zatem w przemyśle fermentacyjnym od dawna, zanim jego potrzebę naukowo stwierdzono. Po rozwinięciu się mikrobiologii zaczęto wyjaławianie stosować w przemyśle umiejętnie i celowo, poznano, co, kiedy i do jak wysokiej temperatury mały ogrzewać, aby cel możliwie dokładnie osiągnąć.

Oprócz tego mimowolnego, bezwiednego wyjaławiania gleb odżywczych, miała dawna empiryczna technika fermentacyjna tylko jeden jeszcze sposób zwalczania niepożądanych organizmów, a mianowicie środkami odkażającymi; były nimi chmiel, względnie ciała wyciągowe w nim zawarte oraz kwas mlekowy. I te środki stosowano bezwiednie, nie domyślając się nawet istoty ich działania.

Na tem głównie kończyły się sposoby, jakimi technik dawniej rozporządzał, gdy fermentację przeprowadzał tak, że się tylko grzybek *saccharomyces cerevisiae* rozrastał.

Dopiero po ukazaniu się prac Pasteura, nastąpiła zmiana na lepsze, zaczął się postęp prawdziwy, bo oparty na badaniach naukowych; dzięki impulsowi, jaki dał ten uczony, doszliśmy do tych pięknych wyników w przemyśle fermentacyjnym, jakimi się dziś cieszymy.

Pasteur pierwszy poznał szkodliwy wpływ bakterij na przebieg procesu fermentacyjnego, zwrócił na niego uwagę i podał sposoby zwalczania tych organizmów; wyjaławianie i odkażanie celowe, oto zalecane przez niego środki, prowadzące niezawodnie do celu, gdy się rozchodzi o usunięcie powyższych drobnoustrojów.

Wpływowi bakterij przypisywano rozmaite nienormalne objawy podczas fermentacji, a szczególnie rozmaite t. zw. choroby piwa, z których najgroźniejszymi były: mętnienie piwa gotowego i niekorzystna zmiana smaku i zapachu. Tym objawom miały środki powyższe zapobiedz. Rychło jednak okazało się, że pomimo usunięcia bakterij sposobem pasteurowskim choroby się pojawiały. Musiały zatem oprócz bakterij istnieć jeszcze inne ich przyczyny, których Pasteur nie znał. Poznał je dopiero Hansen i wykrył sposób na ich usunięcie. Od tego czasu rozpoczyna się najnowsza doba rozwoju techniki fermentacyjnej.



W roku 1883 wykazał ten uczony, że mętnienie i zmiana smaku i zapachu piwa nie pochodzi od bakteryj, wody, słodu, szczególnego sposobu warzenia brzezki lub t. p. przyczyn, lecz od samych grzybków drożdżowych, które w brzezce hodujemy. Okazał on, że w drożdżach istnieje nie tylko grzybek *sacchar. cerevisiae*, lecz także inne gatunki, a co więcej, rozmaite jego odmiany czyli „rasy“, które mogą nadać piwu różne pożądane i niepożądane własności.

Hansen pierwszy wykrył drożdżaki, wywołujące w piwie owe groźne choroby, wykrył mianowicie *sacch. Pastorianus I i III* oraz *sacch. ellipsoideus II*; to było powodem, że po raz pierwszy zalecił zaprowadzenie w piwowarstwie nowego sposobu fermentacyi brzezki, mianowicie za pomocą drożdżaków czystej hodowli.

Gdyby nawet usunięto z drożdży szkodliwe bakterye i inne drobnoustroje sposobem Pasteura, to nie osiągnięto by celu, jeżeliby drożdże zawierały nie jedną lecz kilka odmian drożdżaka *sacch. cerevisiae*, co w zwykłych warunkach zawsze się zdarza; wtedy bowiem w nieznanym nam bliżej okolicznościach odmiany szkodliwe mogą się rozwinąć tak, że przygłuszą odmianę szlachetną i fermentacja przebiegnie niekorzystnie. Oczyszczenie zatem drożdży zarodowych tylko z bakteryj nie usunie niepewności roboty w izbie fermentacyjnej; co chwila może się wydarzyć coś nieprzewidzianego.

Inaczej ma się rzecz jednak, gdy do fermentacyi użyjemy tylko jednej odmiany drożdżaka w czystej hodowli. Wówczas mogą, co prawda, także zajść pewne, przez nas nieprzewidziane okoliczności, które na proces życiowy tego drobnoustroju także w pewien sposób wpłyną i nieprawidłowe objawy fermentacyjne wywołają, lecz objawy te znikną rychło wraz z nastaniem stosunków normalnych, a to dlatego, że drożdże nie były zanieczyszczone gatunkami szkodliwymi, któreby były mogły osłabienie odmiany szlachetnej wykorzystać i ją przygłuszyć.

Po zaleceniu przez Hansena czystej hodowli dla piwowarstwa powstałi liczni przeciwnicy, którzy podnosili przeciw jej wprowadzeniu zarzut następujący: Twierdzili, że pewne piwa są wytwarzane przez dwie odmiany drożdżaków i że właśnie ta okoliczność przyczynia się do nadawania tym



napojom szczególnego, przez konsumentów lubianego smaku i aromatu, że zatem jedna tylko z takich dwóch, wspólnie działających odmian nie może wytworzyć piwa normalnego. Wprowadzenie czystej hodowli do praktyki jest przeto niedopuszczalne.

Zarzut ten nie miał atoli racjonalnej podstawy; Hansen wykazał bowiem nietylko, że piwo odfermentowane jedną tylko odmianą drożdżaków nie było gorsze od tego, które przez dwie odmiany zostało odfermentowane, lecz, co więcej, wykazał, że dwie odmiany szlachetne, z których każda dawała piwo normalne, zmieszane i potem użyte do odfermentowania brzezki dawały piwo złe, skłonne do mętnienia; wykazał zatem, że użycie dwóch, chociażby nawet szlachetnych odmian drożdżaków może wywołać chorobę piwa, najprawdopodobniej wskutek tego, że wpływają na siebie niekorzystnie.

Przypuszczamy, że wszystkie szlachetne odmiany gatunku *sacch. cerevisiae* pochodzą od jednego, kiedyś dziko żyjącego grzybka, że zatem odmiany te powstały w ciągu wielu stuleci przez hodowlę jego w różnych warunkach. Nasunęło się tu przeto także przypuszczenie, że takie zmienianie charakteru odbywa się u tych grzybków i teraz, że zatem pewna, szlachetna odmiana, utrzymywana dłuższy czas w czystej hodowli, wyrodzi się z czasem i to nie zawsze na odmianę lepszą, lecz może gorszą, taką, która wywoływać będzie objawy chorobliwe. Jeżeli zaś istnieje taka niestałość charakteru hodowanych przez nas drożdżaków, to ich czysta hodowla jest dla praktyki przedsięwzięciem bezcelowem.

Zwolennicy czystej hodowli byliby, dlatego jeszcze niełatwo zwyciężyli jej przeciwników, gdyby dalsze badania Hansena nie wykazały, że w jednakowych warunkach w przemyśle hodowane odmiany drożdżaków nie zmieniają swego charakteru, a wszelkie, niekiedy spostrzegane takie zmiany są małoznaczne i szybko przemijające.

Te badania zaprowadziły Hansena jeszcze dalej w dziedzinę nadzwyczaj interesujących doświadczeń nad sztucznem wytwarzaniem odmian, albo nawet gatunków.

Pierwsze sztuczne odmiany wytworzył Hansen z drożdżaka *sacch. Ludwigii*. Przez systematyczny wybór pojedynczych komórek udało mu się rozdzielić ten gatunek na trzy odmiany.



Różniły się one pomiędzy sobą tem, że jedna dawała w normalnej hodowli zarodnikowej wielką ilość zarodników, druga bardzo małą, a trzecia ich wcale nie wytwarzała. Gdy tę ostatnią odmianę hodowano w brzeczce piwnej przy zwykłej temperaturze pokojowej, lub przy 25° C, to i po wytworzeniu licznych pokoleń nie występowało tworzenie zarodników. Dopiero, gdy taką hodowlę prowadzono bardzo długo, powstawały pokolenia, wytwarzające zarodniki, lecz bardzo trudno. Jeżeli jednak tę bezzarodnikową odmianę hodowano w roztworze dekstrozy (10"/<sub>o</sub>), to otrzymano zaraz pokolenie, bardzo łatwo wytwarzające zarodniki

Podobne rezultaty co do sztucznego wytwarzania słabo zarodnikujących odmian, otrzymał Hansen także z drożdżakami piwowarskimi.

Ta zmiana charakteru, jakkolwiek wybitna, jest, jak widzimy, nietrwała, gdyż w pewnych warunkach odżywczych zanika.

Udało się jednak badaczowi duńskiemu wytworzyć także takie odmiany, którym sztucznie nabyty charakter pozostał na zawsze. Hansen hodował drożdżak *sacch. Pastorianus I.* przez dłuższy czas w brzeczce przy maksymalnej temperaturze, przy jakiej jeszcze jego komórki żyć mogą i spostrzegł, że drożdżak powyższy zupełnie zatracił możność zarodnikowania. Nie wytwarzał on zarodników nawet wtedy, gdy go dłuższy czas hodowano w normalnych warunkach w brzeczce. Równocześnie z zatraceniem powyższego charakteru zanikła też zdolność tworzenia kożucha.

W tym wypadku zmieniła się pewna charakterystyczna cecha drożdżaka tak, że musiał być uważany za nowy gatunek.

Taką stałą zmianę pewnych cech wywołał Hansen jeszcze u kilku szlachetnych drożdżaków piwnych, które się potem od pierwotnych różniły także tem, że się odmiennie zachowywały podczas fermentacji.

Doświadczeniami swemi nad sztucznem tworzeniem odmian i gatunków wzbudził Hansen nadzieję, że po bliższem poznaniu innych jeszcze warunków, będziemy może mogli w technice fermentacyjnej wytwarzać także takie odmiany drożdżaków, jakich właśnie dla naszych poszczególnych celów



potrzebujemy. Ostatniego słowa w tym względzie Hansen jeszcze nie wyrzekł; o ile wiemy, przygotowuje on obecnie obszerne sprawozdanie o swoich długoletnich badaniach w tym kierunku.

Znacznie później, po wyżej przytoczonych badaniach nad zmianą charakteru drożdżaków zaczęli się rozmaici inni badacze zajmować podobnymi objawami u tych drobnoustrojów, mianowicie t. zw. aklimatyzacją czyli przystosowaniem.

Jeżeli wprowadzimy grzybek drożdżowy do jakiegokolwiek płynu odżywczego, który jest albo zbyt kwaśny, albo też zawiera nieco większą dawkę jakiegoś innego środka odkażającego, wtedy spostrzeżemy, że gdy drożdżak w tych warunkach w ogóle żyć może, rozwój jego będzie bardzo słaby. Skład gleby jest tego przyczyną. Można jednak nieraz grzybek taki przyzwyczaić do pierwotnie nieodpowiadającej mu gleby, po czem on już w niej bez przeszkód rozwijać się będzie. Mówimy wtedy, że grzybek się do gleby przystosował, czyli się zaaklimatyzował. Okazało się także, że drożdżaki mogą się przyzwyczajać do pewnych dawek środków odkażających, jak też do pokarmów, które ich początkowo odżywiać nie mogły. Tę zdolność aklimatyzacji staramy się w przemyśle fermentacyjnym, a szczególnie w gorzelnictwie wyzyskać.

Zacierzy gorzelniane sporządzamy w taki sposób, że o absolutnem wyniszczeniu bakterij podczas zacierania nie może być mowy, wskutek czego musimy pogodzić się z tem, że one w zacierze się rozwijają, zużywając pewną ilość cukru dla swego procesu życiowego, zmniejszą pośrednio wydatek alkoholu, oraz że wydzieliwszy rozmaite produkty rozkładowe, zaszkodzą normalnemu przebiegowi procesu fermentacyjnego, i także tem się przyczynią do obniżenia wydatku. Staramy się przeto usuwać bakterye lub zmniejszać ich wpływ przez dodawanie rozmaitych środków odkażających. Znakomitym środkiem jest kwas fluorowodorowy, wprowadzony do przemysłu gorzelniczego przez Effronta. W małych dawkach już niszczy bakterye zupełnie, ma jednak tę wadę, że najkorzystniejsze dawki dla tego niszczenia, szkodzą już także szlachetnym drożdżakom. Zdawało się przeto, że ta własność uniemożliwi obszerniejsze jego zastosowanie, lecz Effront wykorzystał tu zdolność aklimatyzacyjną drożdżaków, i przez stopniowe hodowanie roz-



maitych odmian w glebach, zawierających coraz to większą dawkę kwasu fluorowodorowego, otrzymał wreszcie odmiany, rozwijające się bardzo dobrze także w zacierach, odkężonych kwasem fluorowodorowym, i wywołujące w nich normalną fermentację.

Różne odmiany hodowanego w gorzelniach drożdżaka *sacch. cerevisiae* niejednakowo dokładnie odfermentowują zacierę głównie z tego powodu, że nie mogą rozłożyć fermentacyjnie wszystkich dekstryn. Wynikiem tego jest to, że z jednej i tej samej ilości skrobi surowego materiału, otrzymujemy rozmaite ilości alkoholu, nigdy zaś tej, jakąby otrzymać można, gdyby dekstryny doszczętnie zostały rozłożone.

I tej wadzie drożdżaków można zaradzić według Effronta przez wykorzystanie ich zdolności aklimatyzacyjnej.

Effront hoduje daną odmianę drożdżaka gorzelniczego początkowo w odżywczym roztworze cukru, potem przenosi go do roztworów, zawierających coraz mniej cukru, a coraz więcej dekstryn, a w końcu do roztworów nie zawierających wcale cukru, lecz same dekstryny.

Drożdżak, który początkowo nie rozkładał dekstryn, miał czas i sposobność przystosować się do nich tak, że je w końcu odfermentowywał tak gładko, jak przedtem cukier.

Podobne próby aklimatyzacyjne robią teraz z drożdżakami w obecności rozmaitych środków odkażających, w glebach rozmaitego składu i jest uzasadniona nadzieja, że wydadzą pożyteczne rezultaty. Wszystko to zostało umożliwione przez wprowadzenie czystej hodowli na wielkie rozmiary do przemysłu.

Do takiej czystej hodowli służą odpowiednie aparaty, zwane aparatami propagacyjnymi.

Pierwszy aparat do tego celu zbudował Hansen do spółki z Kühlem, dyrektorem browaru Gamle-Carlsberg w Kopenhadze; wszystkie inne, późniejsze takie przyrządy zbudowali rozmaici według zasad, podanych przez powyższych konstruktorów.

**Aparat propagacyjny Hansena i Kühlego.** Aparat ten jest przedstawiony na fig. 111. Pierwszą wzmiankę o nim zrobił Hansen na zebraniu austriackich piwowarów w Gracu w roku 1887, dokładny jego opis zaś umieścił on w swem dziełku „Untersuchungen aus der Praxis der Gährungsindustrie



I. Heft". Aparat składa się z czterech części: pompy powietrznej, zbiornika dla zgęszczonego powietrza (nieuwid. na rysunku), cylindra fermentacyjnego *A* i cylindra na brzeczke *B*.

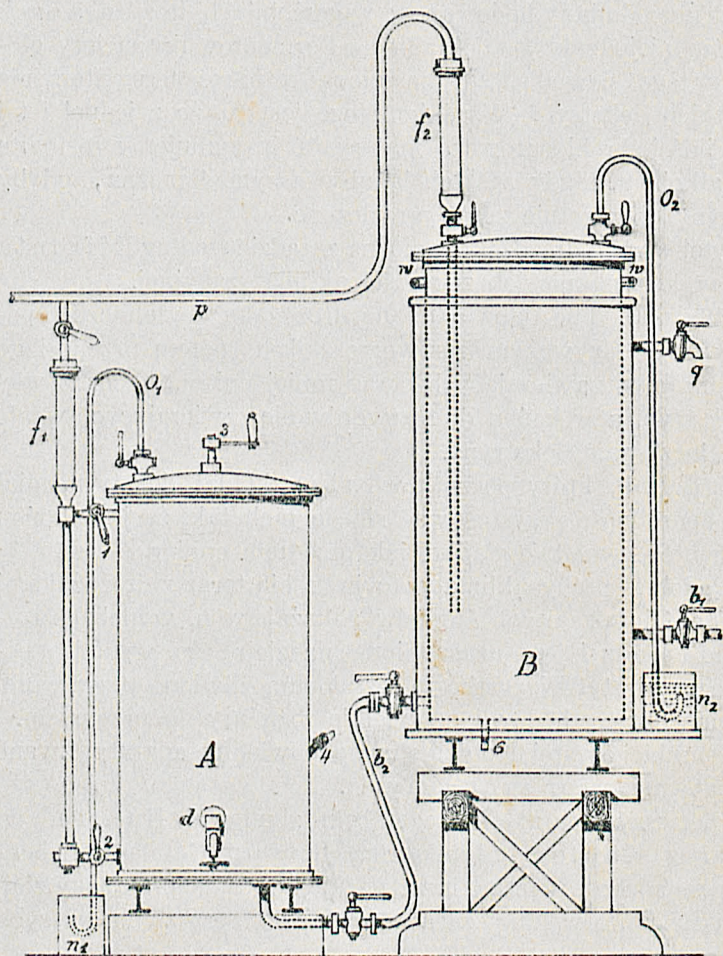


Fig. 111. Aparat propagacyjny Hansena i Kühlego.

Powietrze, które pompa wciąga, przechodzi wprzód przez filtr wstępny, w którym zostają zatrzymane grubsze zanieczyszczenia, poczem zostają wciskane do zbiornika, zaopatrzo-



nego w manometr. W zbiorniku zebrane powietrze ma prężność od 2—4 atmosfer. Ze zbiornika rura  $p$ , zaopatrzona w wentyl bezpieczeństwa, prowadzi powietrze do  $A$  i  $B$ . Zanim jednak powietrze może się dostać do jednego z tych cylindrów, musi przechodzić przez filtry  $f_1$  lub  $f_2$ . Filtry te są to rurki metalowe, wypełnione ściśniętą watą; służą do zatrzymania wszelkich mikroorganizmów z powietrza. Cylinder fermentacyjny  $A$  jest zaopatrzony w mieszadło 3, rurkę boczną 4, rurkę  $o_1$  dla odprowadzania kwasu węglowego i powietrza, oraz wentyl  $d$  do odpuszczania drożdży.

Cylinder na brzeczkę  $B$  jest zaopatrzony w rurę  $b$ , dla doprowadzania brzeczek, rurę  $b_2$  dla przepuszczania brzeczek z  $B$  do  $A$ , rurę doprowadzającą powietrze, rurę  $o_2$  odprowadzającą powietrze, kruczek 6 do odpuszczania mętów z breczki i kruczek  $g$ . Naokoło cylindra  $B$  u samej góry jest umieszczona pierścieniowa rura  $ww$ , zaopatrzona od wewnętrznej strony w rząd małych otworków. Rura ta połączona jest z rurą wodną fabryki i służy do rozprowadzania wody po ścianach cylindra celem chłodzenia znajdującej się w nim breczki. Ażeby woda, ściągająca po ścianie cylindra nie rozpryskiwała się, jest on otoczony płaszczem blaszanym. Odpływu wody z wnętrza tego płaszcza nie uwidocznilo na rysunku.

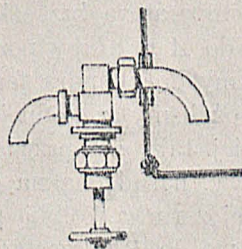


Fig. 112 Wentyl do odpuszczania drożdży z aparatu Hansena i Kühlego.

Puszczenie aparatu w ruch odbywa się następująco: Przed rozpoczęciem właściwego hodowania drożdżaków, trzeba oczywiście aparat należyście wyjałowić. W tym celu odśrubowuje się obydwie filtry  $f_1$  i  $f_2$  i umieszcza je w suszarkach, ogrzewa do temperatury  $160^{\circ}\text{C}$ , a przez obydwie cylindry przepuszcza się parę rurą, połączoną z  $b_2$ , niewidoczną na rysunku. Przytem otwiera się wszystkie kurki, aby je także wyjałowić. Przepuszczanie pary trwa pół godziny. Przed ukończeniem wyjałowienia, przyśrubowuje się filtry  $f_1$  i  $f_2$  i przepuszcza przez nie i przez aparat powietrze. Dopiero, gdy powietrze zacznie przechodzić przez obydwie cylindry, zamyka się kurki, z wyjątkiem przy  $o_1$  i  $o_2$



i coraz bardziej zmniejsza dopływ pary, a w końcu zupełnie przestaje ją wpuszczać. Należy przytem postępować ostrożnie, aby nie nastąpiło gwałtowne oziębienie się cylindrów, gdyż mogłoby się wtedy nieczyste powietrze dostać przez  $O_1$  lub  $O_2$  do ich wnętrza. Celem dostrzegania tego, czy istnieje ciśnienie powietrza wewnątrz cylindra, końce rur  $O_1$  i  $O_2$  zanurzone są w naczyniach  $n_1$  i  $n_2$ , w wodzie. Powietrze, wydostające się przez owe rury na zewnątrz, przechodzi przez wodę i pozwala nam bieg swój obserwować. Gdy aparat jest wyjałowiony i wszystkie kurki, z wyjątkiem przy  $O_1$  i  $O_2$  zamknięte, wpuszcza się do cylindra  $B$  wrzącą brzeczkę tak, aby ona sięgała do  $g$ . Gdy przez ten kurek brzeczka zacznie wypływać na zewnątrz, zamyka się  $b_1$  i zaczyna przepuszczać przez  $f_2$  powietrze. Powietrze to chłodzi brzeczkę i przewietrza ją. Równocześnie chłodzi się ściany cylindra zewnętrznie wodą. Gdy temperatura brzeczki obniży się do  $12^\circ \text{C}$ , przepuszczamy część do  $A$  tak, aby poziom jej nie sięgał do 4. Teraz wprowadzamy do cylindra fermentacyjnego zaród drożdżaków, które rozmnożyliśmy z jednej jedynej komórki w kolbie pasteurowskiej, tak, że przedstawia nam hodowlę czystą. Rurkę gumową, nasadzoną na 4, łączymy w płomieniu lampki spirytusowej z rurką kolbki pasteurowskiej i przelewamy drożdże zarodowe do  $B$ . Przestrzegając takich samych ostrożności, odłączamy kolbkę i zamykamy rurkę zatyczką szklaną a w dodatku gumą ściskamy. Teraz wpuszczamy resztę brzeczki do  $B$  i stan jej obserwujemy na płynowskazie, zamykanym kurkami 1 i 2. Kurek 1 zamykamy, a przez 2 przepuszczamy przez brzeczkę powietrze, które potem uchodzi wraz z bezwodnikiem węglowym przez  $O_1$  i naczynko  $n_1$ . Drożdżaki rozmnażają się szybko, a czas ich rozwoju można regulować pierwotną temperaturą brzeczki i stosownem przewietrzaniem. Gdy drożdże są w pełnym rozwoju, miesza się brzeczkę za pomocą mieszadła 3 i odpuszcza przez  $d$  celem użycia tych drożdży jako zarodowych w fabryce. Wentyl  $d$  jest przedstawiony w większych rozmiarach na fig. 112. Jest on umieszczony w takiej wysokości ponad dnem, aby część brzeczki w  $A$  została; ta ilość służy do dalszego rozmnażania drożdżaków w tymczasem w  $B$  świeżo przygotowanej brzeczce.



Przy należytej uwadze robotnika, obsługującego ten aparat, można prowadzić w nim czystą hodowlę bardzo długo (kilka lat) bez obawy zakażenia drożdży. Po kilku latach osiada jednak we wnętrzu na ścianach cylindrów osad, pochodzący z brzezki i należy wtedy aparat na nowo wymyć i wyjałowić.

### Aparat propagacyjny Bergha i Jörgensena.

Jest on przedstawiony na fig. 113. Składa się podobnie jak aparat Hansena z pompy powietrznej, zbiornika na powietrze (niewidzialnych na rysunku) i cylindrów *A* i *B*. Cylindry *A* i *B* są sporządzone z blachy miedzianej, dna zaś zrobione z mosiądzu. Cylinder *A* jest zaopatrzony w mieszadło *m*<sub>1</sub>, rurkę 4 do wprowadzania pierwszych

drożdży zarodowych, rurkę *O*<sub>1</sub> odprowadzającą powietrze i kwas węglowy i rurkę 6 do odpuszczania wody przy myciu aparatu. Cylinder *B*, połączony z *A* rurą, zamykaną kurkiem 5, posiada mieszadło *m*<sub>2</sub>,

poruszane zapomocą koła trybowego, obracanego ręcznie lub przy pomocy pasu z transmisji. Z cylindra tego uchodzi powietrze i kwas węglowy rurą *O*<sub>2</sub>. Jest on otoczony płaszczem

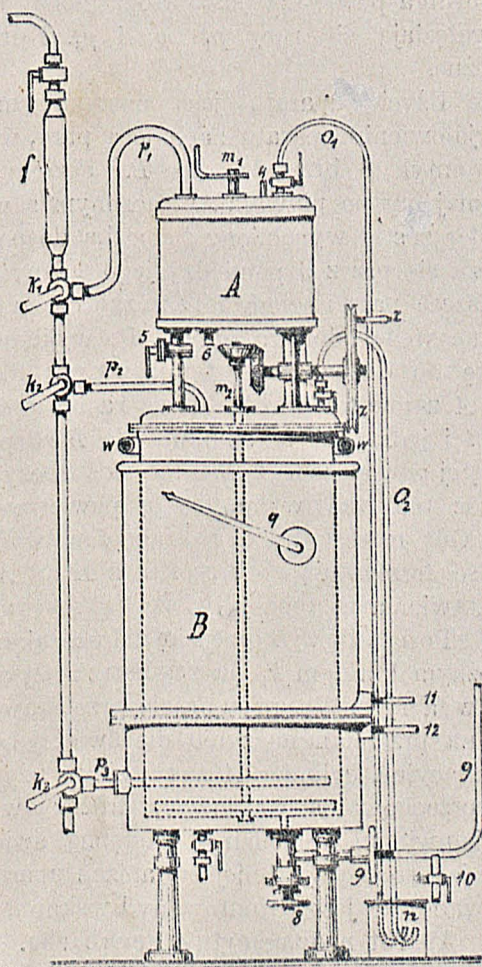


Fig. 113. Aparat propagacyjny Jörgensena i Bergha.



z żelaza lanego. Płaszcz ten tworzy dwie przestrzenie. W górnej krąży woda, wydobywająca się z pierścieniowej rury *w*, w dolnej przestrzeni zaś krąży para. Rura 3, wychodząca ze zbiornika powietrza jest zaopatrzona w filtr *f*. Poniżej filtru odgałęziają się rury  $p_1$ ,  $p_2$  i  $p_3$ . Kurki  $k_1$ ,  $k_2$  i  $k_3$  są trójdrożne.

Użycie aparatu jest następujące: Po uskutecznionem wyjałowieniu aparatu zapomocą pary, wpuszcza się przez rurę 9 i wentyl 8 brzeczkę do *B*. Poziom jej w cylindrze tym poznajemy po pływaku, połączonym z wskazówką *q*. Gdy cylinder został wypełniony brzeczką do pewnej wysokości, wpuszcza się przez *n* pomiędzy jego ściany a ściany dolnej części płaszcza parę i ogrzewa brzeczkę celem jej wyjałowieniu. Skroplona woda odpływa przy 7. Po wyjałowieniu chłodzi się brzeczkę do odpowiedniej temperatury. Przez 4 wlewa się teraz do *A* zarodowe drożdże, przy zachowaniu odpowiedniej ostrożności i drożdże te spłukuje do *B* za pomocą breczki wyciśniętej powietrzem z *B*. Breczka zaczyna w *B* fermentować; przez ten czas wysycamy ją powietrzem, wpuszczanem przez  $p_3$ . Gdy rozrost drożdży osiągnął najwyższy okres, wyciskamy część fermentującej breczki z *B* do *A*, celem użycia jej do nastawienia następnej świeżej.

Pozostałą w *B* brzeczkę z drożdżakami wypuszcza się trójdrożnym kurkiem  $k_1$  na zewnątrz i używa jako drożdże zarodowe w fabryce. W tym aparacie przedstawia nam zatem cylinder *B* na przemian naczynie dla świeżej breczki i naczynie fermentacyjne, cylinder *A* zaś jest tu użyty tylko jako zbiornik do przechowania zarodowych drożdży w tym czasie, gdy w *B* wyjaławiamy i chłodzimy następną świeżą brzeczkę. Aparat ten jest trochę zgrabniejszy, aniżeli aparat Hansena, ma jednak tę wadę, że jest patentowany i wskutek tego znacznie droższy.

**Aparat propagacyjny Fernbacha.** Aparat ten składa się z trzech cylindrycznych naczyń, dwóch większych *A* i *B* i jednego mniejszego *C* (fig 114). Naczynia *A* i *B* mają nakrywy, w których osadzone są wszystkie potrzebne rury. Nakrywy przytwierdza się za pomocą śrub. *A* i *B* zaopatrzone są w plynowskazy  $p$  i  $p_1$ , które u dołu mają otwór, zamykany węzłem kauczukowym ( $s$  i  $s_1$ ) i ściskaczem.



Naczynie *A* jest zbiornikiem wyjąłowanej brzezki, *B* właściwym naczyniem propagacyjnym, w którym się drożdżaki hoduje, a *C* zbiornikiem gotowych drożdży.

Spółób użycia tego przyrządu jest następujący: Rurą *a*, sięgającą do dna zbiornika *A*, wpuszcza się do niego gorącą

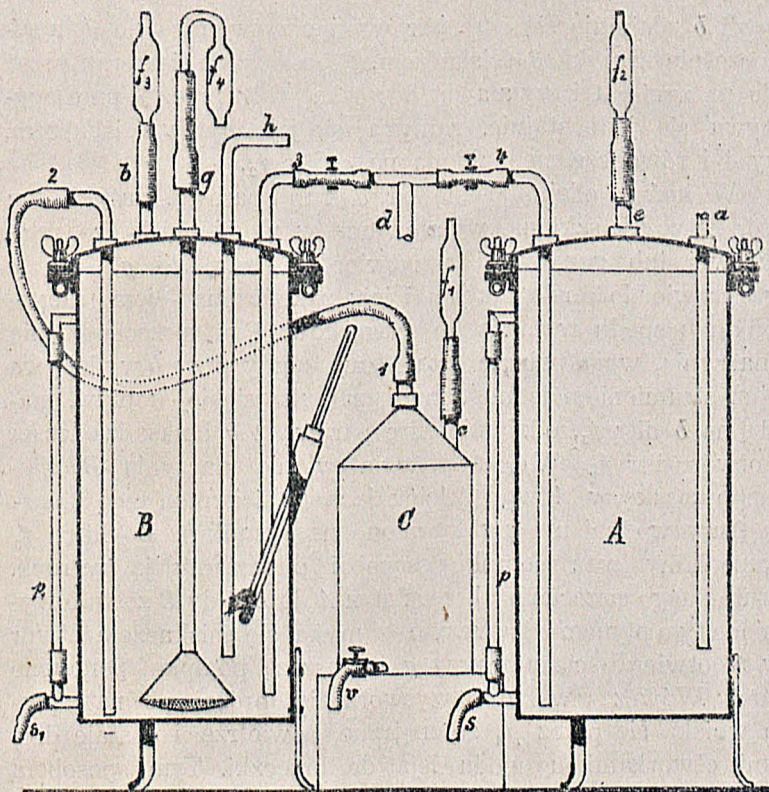


Fig. 114. Aparat propagacyjny Fernbacha.

brzezkę, poczem się otwór przy *a* zamyka. Gdy zbiornik *A* został tak do  $\frac{2}{3}$  swej pojemności wypełniony płynem odżywczym dla drożdży, trzeba cały aparat wraz z brzezką wyjąłować. W tym celu łączy się otwór rurki *b*, na nakrywie naczynia *B*, z rurą kotła, dostarczającego parę i wpuszcza ją do aparatu,

\*



nałożywszy wprzód na 1 i 2 oraz 3 i 4 węże kauczukowe celem połączenia wszystkich naczyń. Inne otwory pozostawiono otwarte. Para skrapla się początkowo w naczyniu *B*, potem przechodzi do *C* i to naczynie wyjąławia. Gdy już stałym strumieniem wchodzi przy *c*, zamyka się wentyl *v* u spodu tego naczynia, nakłada na *c* filtr  $f_1$  i zamyka dopływ pary do tego naczynia przez nałożenie ściskacza na węży przy *a*.

Z *b* zdejmuje się rurę parową i przytwierdza do *d* a równocześnie zamyka 3 ściskaczem. Para dostaje się teraz przez 4 do naczynia *A* i wyjąławia brzeczkę. Gdy przez *e* para wydobywa się jednostajnie, zamyka się jej dopływ ściskaczem, przy 4 i równocześnie nakłada na *e* filtr  $f_2$ .

W końcu odejmuje się od *d* rurę parową, zatyka ten otwór zatyczką szklaną, wyjąłowioną w płomieniu lampki spirytusowej lub gazowej, i przytwierdza rurę do *g*. Rura *g* sięga prawie do dna naczynia i jest zakończona lejem, zaopatrzonym u spodu w mnóstwo otworków. Para przechodzi nią do naczynia, wyjąławia je ostatecznie, a gdy przy *b* wydobywa się już strumieniem jednostajnym, zamyka się jej dopływ, nakłada na *b* filtr  $f_3$ , odejmuje rurę parową z *g* i nasadza też na ten otwór filtr  $f_4$ . W czasie wyjąławiania naczynia *B* chłodzono brzeczkę w *A* wodą, ściekającą po ścianach tego zbiornika (rury wodnej nie uwidoczniiono na rysunku). Do filtru  $f_3$  przyczepiamy wąż pompki ssącej i puszczamy ją w ruch. Wskutek tego przechodzi brzeczką z *A* do *B*. Gdy *B* zostało wypełnione tym płynem odżywczym, zamyka się ściskaczem otwór przy 3, otwiera ściskacz przy *g* i puszcza pompkę ponownie w ruch. Wówczas wskutek wytworzenia próżni po nad płynem wciska się przez  $f_4$  zewnętrzne powietrze i dostaje drobnymi otworkami u spodu leja do breczki. Tym sposobem breczka się przewietrza. Po przewietrzeniu zamyka się *g* ściskaczem i wprowadza przez *b* zarodowe drożdże czystej hodowli, które w brzeczce się rozwijają i wywołują fermentację. Gdy po jej ustaniu drożdże opadną na dno naczynia, odciąga się płyn odfermentowany rurą *h*, nie sięgającą do samego dna, a drożdże osadzone wciąga się przy pomocy ssącej pompki do *C*, skąd otworem *v* odpuszcza się je na zewnątrz.



Po odpuszczeniu drożdży wprowadza się do *B* świeżą wyjałowioną i ochłodzoną brzeczkę i tak prowadzi hodowlę czystą bez przerwy.

Hansena sposób czystej hodowli coraz bardziej rozszerza się tak po browarach, jak też od niedawna po większych gorzelniach i fabrykach drożdży. Tylko małe zakłady nie wprowadziły dotychczas u siebie aparatów propagacyjnych. Korzystają one jednak także z wynalazku sławnego uczonego duńskiego, gdyż sprowadzają sobie drożdże zarodowe czystej hodowli, wytwarzane w stacyach doświadczalnych.





## TREŚĆ.

	Str.
<b>Wstęp.</b>	
Historyczny zarys początków badań mikrobiologicznych . . . . .	1
Metody badań . . . . .	6
Wyjaławianie (Sterylizacya) . . . . .	8
Wyjaławianie powierzchni naczyń i przyrządów szkla- nych i metalowych . . . . .	8
Wyjaławianie płynów . . . . .	10
Wyjaławianie powietrza . . . . .	13
Odkażanie (Dezynfekcyja) . . . . .	16
Czysta hodowla . . . . .	20
Metody mechaniczne . . . . .	20
Metody fizyologiczne . . . . .	25
Naczynia dla czystej hodowli . . . . .	27
Budowa drobnoustrojów . . . . .	30
Błona komórkowa . . . . .	31
Protoplazma . . . . .	32
Jądro komórkowe . . . . .	33
Rozmnażanie się komórek . . . . .	33
Odżywianie się komórek . . . . .	34
O systematyce drobnoustrojów . . . . .	35

## Szczegółowa mikrobiologia.

### I. BAKTERYE.

#### Wiadomości ogólne.

Kształt i rozmiary bakteryj . . . . .	40
Skład chemiczny ciała bakteryj . . . . .	43
Wegetatywne rozmnażanie się bakteryj . . . . .	43
Rozmnażanie się bakteryj zapomocą zarodników . . . . .	45
Tworzenie się zarodników . . . . .	46
Kiełkowanie zarodników . . . . .	47



Samoistny ruch bakteryj . . . . .	Str. 47
Życie bakteryj . . . . .	48
Odżywianie się bakteryj . . . . .	48
Oddziaływanie bakteryj na glebę odżywczą . . . . .	50
Zachowanie się przy rozmaitych temperaturach . . . . .	51
Zachowanie się wobec tlenu powietrza . . . . .	52
Wpływ światła na bakterye . . . . .	52
Wpływ prądu elektrycznego na bakterye . . . . .	52
Wpływ mechanicznych wstrząśnień na bakterye . . . . .	53
Wpływ odczynników chemicznych na bakterye . . . . .	53

## Szczegółowy opis bakteryj.

### *Bakterye fermentacyjne.*

Bakterye kwasu mlekowego . . . . .	54
<i>Bacillus acidi lactici</i> . . . . .	55
<i>Bacterium acidi lactici</i> . . . . .	56
<i>Bacillus acidificans longissimus</i> . . . . .	56
<i>Pediococcus acidi lactici</i> . . . . .	56
<i>Saccharobacillus Pastorianus</i> . . . . .	57
Bakterye kwasu masłowego . . . . .	60
<i>Clostridium butyricum</i> . . . . .	60
<i>Bacillus mesentericus vulgatus</i> . . . . .	62
<i>Bacillus mesentericus fuscus</i> . . . . .	63
<i>Bacillus mesentericus ruber</i> . . . . .	63
<i>Bacillus amylozymus</i> . . . . .	63
Bakterye kwasu octowego . . . . .	64
<i>Bacterium aceti</i> , <i>bact. Pasteurianum</i> , <i>bact. Kützingianum</i> . . . . .	64
<i>Bacterium oxydans</i> . . . . .	70
<i>Bacterium acetosum</i> . . . . .	72
<i>Bacterium acetigenum</i> . . . . .	72
Bakterye alkoholowe . . . . .	74
<i>Bacillus Fitzianus</i> . . . . .	75
<i>Bacillus aethaceticus</i> . . . . .	76
<i>Granulobacter butylicum</i> . . . . .	76
Bakterye fermentacyi słazowej . . . . .	77
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> . . . . .	79

### *Bakterye gnilne.*

<i>Proteus vulgaris</i> . . . . .	81
<i>Proteus mirabilis</i> . . . . .	82
<i>Proteus Zenkeri</i> . . . . .	82
<i>Bact. coli commune</i> . . . . .	82



## II. DROŻDŻAKI.

## Wiadomości ogólne.

Kształt i rozmiary komórek . . . . .	86
Budowa komórek . . . . .	87
Wegetatywne rozmnażanie się drożdżaków . . . . .	90
Rozmnażanie się za pomocą zarodników . . . . .	92
Tworzenie się zarodników . . . . .	93
Kielkowanie zarodników . . . . .	96
Komórki trwałe . . . . .	98
Chemiczny skład grzybków drożdżowych . . . . .	100
Życie drożdżaków . . . . .	102
Odżywianie . . . . .	102
Oddychanie . . . . .	104
Wydzielanie ciał nieprzydatnych do odżywiania . . . . .	105
Wydzielanie enzymów . . . . .	106
Oddziaływanie na glebę odżywczą . . . . .	107
Samotrawienie . . . . .	109
Wpływ rozmaitych czynników na objawy życia drożdży . . . . .	110
Temperatura . . . . .	110
Światło . . . . .	111
Ciśnienie . . . . .	111
Kwasy . . . . .	112
Sole . . . . .	112
Inne ciała . . . . .	112
Systematyka drożdżaków . . . . .	113

## Szczegółowy opis drożdżaków.

*Drożdżaki pączkujące.*

## A. Saccharomycety właściwe.

Saccharomyces cerevisiae. Meyen . . . . .	114
Saccharomyces cerevisiae I. Hansen . . . . .	117
Saccharomyces Pastorianus. Reess. . . . .	120
Saccharomyces Pastorianus I. Hansen . . . . .	120
Saccharomyces Pastorianus II. Hansen . . . . .	123
Saccharomyces Pastorianus III. Hansen . . . . .	124
Saccharomyces ellipsoideus. Reess . . . . .	125
Saccharomyces ellipsoideus I. Hansen . . . . .	125



	Str.
Saccharomyces ellipsoideus II. Hansen . . . . .	126
Saccharomyces Marxianus. Hansen . . . . .	127
Saccharomyces membranaefaciens. Hansen . . . . .	127
Saccharomyces Ludwigii. Hansen . . . . .	128
Saccharomyces anomalus. Hansen . . . . .	129

#### B. Pseudosaccharomycety.

Saccharomyces apiculatus. Reess . . . . .	129
Torula. Hansen . . . . .	132
Mycoderma cerevisiae . . . . .	133

#### *Drożdżaki rozszczepkowe.*

Schizosaccharomyces octosporus. Beyerinck . . . . .	135
Schizosaccharomyces Pombe. Lindner . . . . .	138
Drożdżaki dzikie i szlachetne . . . . .	140
Fermentacya alkoholowa . . . . .	143

### III. PLEŚNIAKI.

#### Wiadomości ogólne.

#### *Szczegółowy opis pleśniaków.*

Monilia . . . . .	155
Monilia candida . . . . .	155
Oidium . . . . .	156
Oidium lactis . . . . .	156
Chalara mycoderma . . . . .	157
Dematium . . . . .	157
Dematium pullulans . . . . .	157
Mucor. Micheli . . . . .	158
Mucor mucedo . . . . .	158
Mucor racemosus . . . . .	160
Mucor circinelloides . . . . .	160
Mucor Rouxii . . . . .	161
Penicillium. Link . . . . .	162
Penicillium glaucum . . . . .	162



	Str.
Aspergillus. Micheli . . . . .	164
Aspergillus glaucus. De Bary . . . . .	164
Aspergillus niger . . . . .	165
Aspergillus oryzae . . . . .	165

### Wpływ badań mikrobiologicznych na praktykę fermentacyjną.

Aparat propagacyjny Hansena i Kühlego . . . . .	173
Aparat propagacyjny Bergha i Jörgensena . . . . .	177
Aparat propagacyjny Fernbacha . . . . .	178

