

# ОТЧЕТЪ

## о заграничной командировкѣ въ 1900 году.

Профессора Императорскаго Томскаго Университета

**В. В. Сапожникова.**

По инициативѣ Томскаго Технологическаго Института я былъ командированъ на осенній семестръ 1900 г. за границу для практическаго ознакомленія съ современными методами цимотехники и преимущественно съ методами чистыхъ культуръ. По совѣту Директора Института Е. Л. Зубашева я остановился на институтахъ д-ра Йоргенсена въ Копенгагенѣ и проф. Вортмана въ Гейсенгеймѣ. Въ виду ограниченности срока командировки я не задавался цѣлью предпринимать какія-нибудь спеціальныя работы, а ограничилъ свою задачу именно только основательнымъ ознакомленіемъ съ выработанными уже приемами. Поэтому, сосредоточивъ главное вниманіе на двухъ упомянутыхъ институтахъ и отдавъ имъ большую часть времени, которое было въ моемъ распоряженіи, я лишь мимоходомъ осматрѣлъ нѣкоторыя лабораторіи Парижа, Берлина, Мюнхена, Нанси и др. Предлагаемая статья представляетъ отчетъ о моихъ занятіяхъ во время заграничной командировки и главнымъ образомъ—описаніе двухъ упомянутыхъ станцій.

### I. Цимотехническая лабораторія д. Йоргенсена въ Копенгагенѣ.

Въ Копенгагенѣ существуютъ двѣ цимотехническихъ лабораторіи; одна находится при громадномъ пивоваренномъ заводѣ Carlsberg подъ управленіемъ Д-ра Ганзена; другая завѣдуется Д-ромъ Йоргенсономъ. Первая представляетъ собою одно изъ самыхъ обширныхъ и богатыхъ учрежденій этого рода, снабженное новѣйшими приспособленіями для спеціальныхъ работъ по цимотехникѣ; но эта лабораторія не принимаетъ начинающихъ, давая мѣсто лишь специалистамъ, уже владѣющимъ необходимыми методами для самостоятельныхъ изслѣдованій; поэтому и практикантовъ здѣсь очень немного. Лабораторія Йоргенсона преслѣдуетъ двоякую цѣль и состоитъ изъ двухъ существенно различныхъ отдѣленій. Въ техническомъ отдѣленіи

приготавливаются чистыя культуры дрожжей (преимущественно-пивныхъ) на продажу и для разсылки на различные заводы. Въ учебномъ отдѣленіи практикуются пивовары (и вообще всѣ интересующіеся) въ методахъ изслѣдованія низшихъ организмовъ и приготовленія чистыхъ культуръ. Въ лѣтнее время здѣсь можно найти разноплеменную толпу молодыхъ людей, численностью до 18 человекъ, размѣщенныхъ въ трехъ небольшихъ комнатахъ. Но тѣснота помѣщенія значительно искупается хорошо выработанной программой занятій, приспособленной для различныхъ запросовъ практика-пивовара, по скольку это касается дрожжей. Для людей, совершенно неопытныхъ въ микроскопическихъ изслѣдованіяхъ, продолжительность курса опредѣляется въ 2½ мѣсяца, но для знакомыхъ съ микроскопомъ курсъ безъ особеннаго ущерба можетъ быть сокращенъ до 1½ мѣсяцевъ. Гонораръ въ пользу лабораторіи 100 кронъ въ мѣсяцъ и 10 кр. за микроскопъ, если у практиканта не имѣется своего.

Подъ непосредственнымъ руководствомъ заведующаго учебнымъ отдѣленіемъ и ассистента (въ 1900 году таковыми были Д-ръ Гольмъ и г. Бриксфельдъ) практиканты продѣлываютъ слѣдующую программу \*).

Дѣло начинается съ знакомства съ обыкновеннѣйшими плѣсневыми грибами (*Oidium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Thamnidium*, *Botrytis*, *Dematium*, *Cladosporium* и др.). Цѣль этихъ изслѣдованій—умѣнье разбираться въ грибкахъ, которые нерѣдко засоряютъ дрожжи и могутъ вызвать нежелательныя измѣненія въ продуктахъ броженія. Обыкновенно устанавливаются три рода культуръ: въ пивномъ суслѣ въ фрейденрейховской колбочкѣ, въ влажной камерѣ и на желатинѣ съ сусломъ для макроскопическаго наблюденія развивающихся колоній. Всѣ работы по перевиванію культуръ производятся въ особомъ стеклянномъ шкафу, куда ставятся необходимые приборы. Шкафъ съ внутренней стороны стерилизуется растворомъ сулемы (1 на 500). Немного приподнявъ переднюю стѣнку шкафа и просунувъ въ него руки, можно довольно удобно манипулировать съ культурами. Стеклянные палочки и другіе вспомогательные инструменты стерилизуются пламенемъ газовой горѣлки.

Познакомившись съ развитіемъ вегетативныхъ клѣтокъ и отчлененіемъ конидіевъ у перечисленныхъ формъ, переходятъ къ грибкамъ, которые по формѣ клѣтокъ стоятъ ближе къ дрожжамъ и неопытнымъ глазомъ могутъ быть смѣшаны съ послѣдними; таковы *Monillia*, *Chalara*, *Mycoderma*, *Torula* и *Saccharomyces apiculatus*. За ними слѣдуютъ настоящіе виды *Saccharomyces*, сначала дикіе (*cerevisiae*, *pastorianus*, *elipsoideus*, *fragilis*, *Ludwigii*, *membranifaciens*, *anomalus*, *exiguus* и др.), а потомъ и расы культурныхъ дрожжей (винокуренныя, верхнія и нижнія пивныя, виды дрожжей винограднаго вина).

\*) Объясняться въ лабораторіи можно на языкахъ: датскомъ, шведскомъ, нѣмецкомъ и англійскомъ, а д-ръ Юргенсонъ понимаетъ также и по французски.

При изученіи дрожжей, кромѣ наблюденій за развитіемъ вегетативныхъ клѣтокъ, опредѣляются условія спорообразованія, для чего культура въ пивномъ суслѣ, послѣ сливанія избытка жидкости, переносится на гипсовую пластинку, помѣщенную въ чашкѣ Петри. Быстрота образованія споръ положена въ основу аналитической таблицы для опредѣленія расы дрожжей, а именно:

#### Дикія дрожжи

|                                 |                  |       |
|---------------------------------|------------------|-------|
| При $t^{\circ}$ 25 $^{\circ}$ C | черезъ 40 часовъ | споры |
| „ 15 $^{\circ}$                 | „ 72 „           | споры |

#### Культурныя дрожжи

|    |                               |                  |       |                                   |
|----|-------------------------------|------------------|-------|-----------------------------------|
| а) | При $t^{\circ}$ 25 $^{\circ}$ | черезъ 40 часовъ | споры | } Винокурен.                      |
|    | „ 15 $^{\circ}$               | „ 72 „           | споры |                                   |
| б) | „ 25 $^{\circ}$               | „ 40 „           | споры | } Пивныя<br>Верхняго<br>Броженія. |
|    | „ 15 $^{\circ}$               | „ 72 „           | нѣтъ  |                                   |
| в) | „ 25 $^{\circ}$               | „ 40 „           | нѣтъ  | } Пивныя<br>Нижняго<br>Броженія.  |
|    | „ 15 $^{\circ}$               | „ 72 „           | нѣтъ  |                                   |

Примѣчаніе. Пивныя дрожжи нижняго броженія образуютъ споры черезъ 5—7 дней культуры на гипсовой пластинкѣ.

Кромѣ дрожжей и плѣсневыхъ грибовъ въ программу практикантовъ входитъ ознакомленіе съ нѣкоторыми видами бактерій, имѣющими значеніе въ технику, каковы *Bacterium aceti*, *Posteurianum*, *Kutzingianum*, виды *Sarcina*, *Pediosoccus* и др.

Когда практикантъ достаточно ознакомится съ перечисленными организмами, ему предлагаютъ несложные анализы, содержащіе 2—3 вида, которые онъ и долженъ опредѣлить. Всего дается до 50 анализовъ, а если позволить время, то и больше.

Важный отдѣлъ практическихъ занятій въ лабораторіи Йоргенсена представляетъ знакомство съ методами чистыхъ культуръ дрожжей.

Чистыя культуры составляютъ необходимое условіе раціональной техники броженія; безъ нихъ иногда еще можно обходиться въ винодѣліи, но для правильнаго пивоваренія онѣ обязательны. Пастеръ впервые доказалъ важное значеніе чистоты культуры дрожжей въ классическомъ трудѣ *Etude sur la biere*; изслѣдуя заболѣванія вина и пива, онъ находилъ ихъ причину въ присутствіи въ продуктахъ броженія постороннихъ организмовъ, а именно бактерій; но имъ была раскрыта только половина условій заболѣванія; отъ него ускользнуло весьма важное обстоятельство, что нѣкоторыя расы дикихъ

дрожжей также оказываютъ весьма неблагоприятное вліяніе на качество продукта, таковы виды *ariculatus*, *pastorianus* и др. Честь этого открытія принадлежитъ датскому ученому Ганзену. Слѣдовательно, подѣ чистой культурой дрожжей въ современномъ смыслѣ нужно разумѣть культуру опредѣленной расы безъ примѣси не только бактерій и плѣсней, но и дрожжей какой вибудь другой расы. Только при употребленіи въ дѣло дрожжей опредѣленной и подходящей къ данному частному случаю расы техникъ можетъ быть увѣренъ въ доброкачественности производимаго имъ продукта.

Основное требованіе при изготовленіи чистыхъ культуръ состоитъ въ томъ, чтобы получить потомство дрожжей отъ одной единственной клѣтки. Этому требованію исполнѣ отвѣчаетъ наиболѣе употребительный методъ Ганзена, извѣстный подѣ названіемъ метода разжиженія \*) (*Verdünnungsmethode*). Начинаютъ съ того, что данную культуру подвергаютъ фракціонированію; для этой цѣли берутъ платиновымъ ушкомъ каплю культуры и переносятъ ее на покрывное стекло съ выгравированной на немъ сѣткой въ 25 дѣленій и, помѣстивъ въ влажную камеру, подсчитываютъ число дрожжевыхъ клѣтокъ въ одной каплѣ. Послѣ этого одну или нѣсколько капель той же культуры настолько разбавляютъ стерилизованной водой, чтобы имѣть въ разбавленной культурѣ по одной клѣткѣ въ каждой второй каплѣ воды. Для болѣе правильнаго распредѣленія клѣтокъ въ жидкости, послѣдняя подвергается взбалтыванію въ теченіе десяти минутъ. Взболтаная жидкость распредѣляется посредствомъ пипеты по одной каплѣ въ фрейденрейховскія колбы съ стерилизованнымъ сусломъ \*\*) (до 60). Колбы оставляются въ покоѣ на 48 часовъ, чтобы дать развиваться колоніямъ дрожжей, видимымъ простымъ глазомъ. При внимательномъ осмотрѣ легко замѣтить, что на днѣ колбъ появились бѣлыя пятнышки колоній; въ однихъ колбахъ по одному, въ другихъ по два (рѣдко больше); есть и такія, которыя остались не инфицированными. Отбирая именно тѣ колбы, въ которыхъ развилось по одной колоніи и размножая культуру перевиваніемъ въ большіе сосуды съ стерилизованнымъ сусломъ, мы и получаемъ чистыя культуры путемъ фракціонированія.

Однако этотъ методъ еще далекъ отъ совершенства; здѣсь можно говорить о чистотѣ культуры лишь съ большей или меньшей вѣроятностью, потому что и въ томъ случаѣ, когда мы находимъ одну колонію въ колбѣ, трудно поручиться, что она развилась отъ одной клѣтки, а не отъ двухъ.

Дальнѣйшимъ усовершенствованіемъ метода чистыхъ культуръ явилось примѣненіе твердыхъ субстратовъ, гдѣ клѣтки фиксированы на опредѣленномъ мѣстѣ, что позволяетъ наблюдать за развитіемъ одной и той же клѣтки и за разростаніемъ ея въ колонію въ теченіе нѣсколькихъ дней.

\*) Впервые этотъ методъ былъ примѣненъ Листеромъ для бактерій молочнаго броженія.

\*\*) Пипеты послѣ 4—5 капель нужно переминыть.

Методъ, предложенный Шретеромъ и улучшенный Р. Кохомъ (Plattenkultur), былъ усовершенствованъ и примѣненъ Ганзеномъ къ чистымъ культурамъ дрожжей. Для этого можно воспользоваться культурой, уже очищенной методомъ фракціонированія и подвергнуть ее окончательному очищенію. Капля культуры, разбавленной стерилизованной водой, переносится въ распущенную смѣсь желатины съ сусломъ; послѣдняя слегка взбалтывается (отъ сильнаго взбалтыванія нужно воздержаться, чтобы не вызвать въ желатинѣ обильнаго образованія пузырьковъ воздуха). Капля желатины съ культурой осторожно размазывается тупымъ концомъ стеклянной палочки на покровномъ стеклѣ съ сѣткой въ 16 дѣленій. Для удобства сосчитыванія и маркированія внутри cadaго дѣленія выгравированы цифры\*). Покровное стекло помещается на влажную камеру; затвердѣвшая капля желатины изслѣдуется подъ микроскопомъ, и на разграфленномъ листѣ бумаги отмѣчаются всѣ клѣтки, размѣщенные въ различныхъ дѣленіяхъ сѣтки.

Наиболѣе благоприятны условія, когда въ каждомъ квадратѣ сѣтки имѣется по одной клѣткѣ, хотя можно имѣть и большее число клѣтокъ, лишь бы онѣ не лежали слишкомъ близко одна около другой. Для того чтобы замѣтить всѣ клѣтки, лежащія въ полѣ микроскопа, требуется нѣкоторый навыкъ и большая внимательность, иначе можно пропустить много клѣтокъ, которыя заявятъ о себѣ на другой же день, когда начнутъ развиваться въ колоніи.

Черезъ нѣсколько дней (2—3) въ влажной камерѣ на желатинѣ разовьются небольшія колоніи въ видѣ бѣлыхъ крапинокъ, замѣтныхъ простымъ глазомъ. Теперь уже по крайней мѣрѣ за нѣкоторыя изъ нихъ можно вполне поручиться, что онѣ развились изъ одной единственной клѣточки. Далѣе слѣдуетъ нѣкоторыя изъ отмѣченныхъ колоній перевести въ жидкое сусло; для этого осторожно снимаютъ покровное стекло съ камеры; не перевертывая его, прикасаются къ избранной колоніи концомъ мѣдной проволоки, зажатой въ пинцетъ, и бросаютъ ее въ колбочку съ сусломъ. Образовавшіеся осадки чистой культуры изслѣдуются подъ микроскопомъ и переводятся для размноженія сначала въ малыя, а потомъ и въ большія пастеровскія колбы.

Таковъ наиболѣе совершенный и распространенный методъ чистыхъ культуръ Ганзена.

Рядомъ съ этимъ методомъ слѣдуетъ упомянуть о другомъ менѣ хлопотливомъ, но и менѣ точномъ методѣ; это такъ называемый капельный методъ (Tropfschenmethode) Берлинскаго профессора Линднера. Методъ Линднера состоитъ въ томъ, что разбавленная водой культура берется на обыкновенное писчее стальное перо и наносится имъ на покровное стекло въ видѣ маленькихъ капелекъ (16—20) на нѣкоторомъ разстояніи одна

\*) См. Jørgensen. Die Mikroorganismen d. Gärungsindustrie. 1898.

отъ другой. При этомъ необходима такая степень разбавленія, чтобъ въ каждой капелькѣ находилось по одной клѣткѣ,—по крайней мѣрѣ только такія капельки можно потомъ пустить въ дѣло. Покровное стекло помещается на влажную камеру, и развивающіяся колоніи контролируются нѣкоторое время подъ микроскопомъ. Черезъ 2—3 дня капелька вмѣстѣ съ колоніей посредствомъ кусочка пропускной бумаги можетъ быть перенесена въ колбочку съ сусломъ и т. д. Кромѣ быстроты и несложности манипуляцій этотъ методъ имѣетъ и то преимущество, что по формѣ и характеру свободно развивающихся колоній уже можно бываетъ заключить, имѣемъ ли мы дѣло съ однимъ или нѣсколькими видами дрожжей. Но методъ не лишенъ и существеннаго недостатка, а именно: капельки воды съ развивающимися колоніями увеличиваются за счетъ паровъ воды влажной камеры, нѣрѣдко сливаются вѣстѣ, и въ этомъ случаѣ трудно поручиться за то, что клѣтки не перекочевали изъ одной капельки въ другую. Впрочемъ засоренія культуры можно избѣжать, совершенно отбрасывая тѣ капельки, которыя слились между собой или слишкомъ близко придвинулись одна къ другой.

Курсъ практическихъ работъ въ институтѣ Йоргенсена заканчивается обыкновенно опытами броженія пивного сусла на чистыхъ культурахъ дрожжей, приготовленныхъ самимъ практикантомъ (дрожжи верхнія, нижнія и *ariculatus*), для сравнительной оцѣнки вкуса и букета полученнаго пива. Рядомъ съ этимъ опредѣляется содержаніе алкоголя въ различныхъ продуктахъ помощью эбуліоскопа.

Какъ я уже упоминалъ выше, техническое отдѣленіе института Йоргенсена изготовляетъ дрожжи для разсылки, и не только пивныя, но также винокуренныя и для броженія плодоваго и ягоднаго сока. Для этого культура размножается въ Пастѣровскихъ и Карлсбергскихъ колбахъ, а изъ послѣднихъ, послѣ сливанія избытка жидкости, переводится въ металлическіе сосуды до 2 литровъ емкости съ дистиллированной водой. Хорошо закрытые металлическимъ краномъ, сосуды съ дрожжами пересылаются на значительныя разстоянія и остаются въ хорошемъ состояніи нѣсколько недѣль (5—6).

Въ малыхъ размѣрахъ культура можетъ быть перевозима въ еще болѣе компактной и портативной формѣ; а именно въ маленькой пробиркѣ на ватѣ (все, конечно, стерилизовано). Двѣ—три капли культуры, перенесенныя на вату постепенно высыхаютъ и могутъ быть сохраняемы въ этомъ видѣ нѣсколько мѣсяцевъ; культуры, заготовленныя мною такимъ способомъ въ сентябрѣ, были возобновлены по пріѣздѣ въ Томскъ—въ январѣ, и всѣ оказались вполне жизнеспособны. Такая стойкость культуръ въ сухомъ состояніи можетъ быть объяснена, по моему мнѣнію, тѣмъ, что при медленномъ высыханіи въ клѣткахъ образуются споры, которыя лучше сопротивляются

окончательной потерѣ воды, чѣмъ вегетативныя клѣтки. Такимъ же способомъ я запасалъ въ послѣдствіи и винныя дрожжи и съ такимъ же успѣхомъ; у меня не пропало ни одной культуры. Десять культуръ винныхъ дрожжей (дубликаты), запасенныя въ ноябрѣ, я перевелъ въ виноградное сусло въ іюлѣ слѣдующаго года, и только двѣ изъ нихъ не развились, — остальные оказались вполне жизнеспособными. Наконецъ, одна культура венгерскихъ дрожжей Menes была возобновлена черезъ годъ и оказалась вполне жизнеспособной и дѣятельной. Въ виноградномъ суслѣ культуры могутъ сохраняться живыми отъ 2—3 мѣсяцевъ до полугода, а можетъ быть и дольше. Наконецъ, для еще болѣе продолжительнаго сохраненія культуръ въ лабораторіяхъ Ганзенъ рекомендуетъ примѣнять 10% растворъ сахарозы. Такія культуры нужно возобновлять только по истеченіи года.

Въ заключеніе я посѣтилъ громаднѣйшій пивной заводъ „Ni-Caresberg“ въ Копенгагенѣ и небольшой заводъ въ Гельзингборгѣ на Шведскомъ берегу, въ которомъ введенъ новый способъ броженія при пониженномъ давленіи (Vaccinibottich), которое поддерживается обыкновенно около полатмосферы. Главное преимущество этого способа состоитъ въ сокращеніи времени, потребнаго для броженія. Процессъ заканчивается обыкновенно въ 8 дней.

## 2. Станція чистой культуры дрожжей въ Гейзенгеймѣ.

Методъ Ганзена, принесшій столь плодотворные результаты въ винокуреніи и пивовареніи, не остался безъ вліянія и въ области рациональнаго винодѣлія. Въ Германіи одна изъ первыхъ — растительно-физиологическая лабораторія при школѣ садоводства, плодоводства и винодѣлія въ Гейзенгеймѣ \*) поставила себя задачей провести методъ чистыхъ культуръ въ примѣненіи къ броженію винограднаго сока.

Но при скромности своего помѣщенія и средствъ научная лабораторія не могла съ успѣхомъ удовлетворить широкимъ и настоятельнымъ запросамъ практики, а потому въ 1894 году здѣсь въ связи въ научной лабораторіей учреждена „Станція для культуры чистыхъ дрожжей нѣмецкаго общества винодѣльцовъ \*\*“)“ при субсидіи Прусскаго Министерства Земледѣлія, помѣщиковъ и хозяевъ. Станція въ настоящее время состоитъ въ завѣдываніи директора растительно-физиологической лабораторіи Профессора Вортмана и почти слилась съ ней въ одно учрежденіе. Выборъ мѣста для станціи оказался какъ нельзя болѣе удачнымъ; она лежитъ въ центрѣ богатѣйшаго винодѣльческаго района Rheingau и поэтому можетъ тѣснѣйшимъ образомъ входить въ общеніе съ винодѣльцами практиками.

\*) Kgl. Lehranstalt für Obst, Wein- und Gartenbau zu Geisenheim am Rhein.

\*\*) Hefe-Reinzuchtstation.

Задачи станції довольно широки; съ одной стороны здѣсь ведутся чисто научныя изслѣдованія надъ явленіями броженія и работой различныхъ расъ чистыхъ дрожжей, а равно и другихъ организмовъ, участіе которыхъ необходимо принимать во вниманіе при броженіи винограднаго сока, — съ другой стороны, добытые отсюда результаты здѣсь же и переносятся въ практику винодѣлія, чтобы дать винодѣламъ, получающимъ отъ станції дрожжи, полную гарантію того, что выпускаемые отсюда дрожжи не только чисты, но и самый выборъ расы сдѣланъ примѣнительно къ даннымъ условіямъ техники и основанъ на научныхъ изслѣдованіяхъ лабораторіи\*). — Станція не ограничивается однимъ выпускомъ дрожжей по требованіямъ винодѣловъ, но постоянно сносится съ послѣдними, получая отъ нихъ различныя сообщенія изъ практики винодѣлія и подтвергая ихъ новой научной разработкѣ или подавая тѣ или другіе совѣты или указанія. Какъ велика связь станції съ населеніемъ, можно судить по тому, что въ 1898 году она получила и удовлетворила до 1500 различныхъ запросовъ. Въ самый горячій періодъ винодѣлія, т. е. въ октябрѣ и ноябрѣ, станція ежедневно получаетъ требованія на чистыя культуры дрожжей, образцы молодыхъ или неудачныхъ винъ для изслѣдованія, тѣ или другіе запросы и т. д.; такъ что два ассистента и два секретаря завалены по горло работой. Въ силу этого станція, кромѣ учениковъ школы, не охотно принимаетъ постороннихъ практикантовъ, ограничивая ихъ число однимъ или двумя одновременно \*\*).

Согласно указанію Проф. Вортмана, мои занятія въ Гейзенгеймѣ совпали со временемъ сбора винограда, чтобы всегда имѣть подъ руками достаточное количество матеріала. Будучи знакомъ съ морфологіей дрожжей по моимъ занятіямъ въ Копенгагенѣ, здѣсь я обратилъ преимущественное вниманіе на физиологическую сторону броженія. Я хотѣлъ продѣлать рядъ элементарныхъ опытовъ, гдѣ бы въ въ миниатюрѣ можно было просмотрѣть главные моменты броженія и осязательно убѣдиться въ значеніи различныхъ факторовъ, какъ-то примѣненіи чистыхъ культуръ по сравненію съ произвольнымъ броженіемъ, вліяніи относительнаго содержанія сахара въ суслѣ, его кислотности и т. п. Такъ какъ опыты имѣли чисто программный характеръ и результаты ихъ не представляютъ ничего существенно новаго, то я сообщаю о нихъ въ самыхъ краткихъ чертахъ.

Матеріаломъ для моихъ опытовъ служило грушевое, яблочное и главнымъ образомъ виноградное сусло, обильно предоставляемое станціей. Во всѣхъ случаяхъ сусло изслѣдовалось на содержаніе сахара и кислоты, а полученное вино кромѣ того на содержаніе алкоголя. Сахаръ опредѣлялся титрованіемъ

\*) Bericht der Kgl. Lehranstalt. 1899. p. 77.

\*\*) Проф. Вортманъ убѣдительно просилъ меня сообщить при случаѣ моимъ землякамъ, собирающимся для практики въ Гейзенгеймъ, что необходимо его увѣдомлять о пріѣздѣ по крайней мѣрѣ за мѣсяцъ; иначе можно оказаться безъ мѣста въ лабораторіи.

феллиговой жидкостью, кислоты—титрованием  $1/10$  нормальным раствором фдкаго кали, а алкоголь—пикнометрически. Опыты производились въ стеклянныхъ сосудахъ отъ 1—2 литровъ емкостью съ стеклянными „бродильными затворами“, чтобъ легко можно было опредѣлять энергію броженія по убыли вѣса. Параллельно этимъ опытамъ я устанавливалъ другіе въ меньшихъ размѣрахъ съ сохраненіемъ тѣхъ же условій, специально для микроскопическихъ наблюденій, чтобы постоянно быть въ курсѣ событій въ растительномъ міркѣ, населяющемъ сусло.

Въ первой серіи опытовъ (6) я наблюдалъ броженіе яблочнаго и грушеваго сока съ чистой культурой дрожжей и безъ нихъ, при чемъ яблочное сусло бралось или натуральное или подсахаренное. Разница процесса броженія съ чистой культурой и безъ нея сводится въ общемъ къ слѣдующему.

I. Съ чистой культурой броженіе дѣлается явственнымъ черезъ 24 часа и въ концѣ вторыхъ сутокъ достигаетъ maximum'a, послѣ чего кривая броженія быстро падаетъ, и главное броженіе заканчивается въ 7 сутокъ, а затѣмъ отдѣленіе углекислаго газа дѣлается едва замѣтнымъ. Общая потеря въ вѣсѣ за 18 сутокъ больше, чѣмъ въ случаѣ произвольнаго броженія.

II. Произвольное броженіе дѣлается замѣтнымъ лишь къ концу вторыхъ сутокъ, а maximum (менѣе интенсивный) перемѣщается на 3—5 день; паденіе кривой броженія не такъ быстро и значительное отдѣленіе углекислаго газа можно замѣтить еще и на 10-е сутки.

Количество образовавшагося алкоголя въ I и II случаяхъ приблизительно одинаково; подсахариваніе въ обоихъ случаяхъ, конечно, повышаетъ содержаніе алкоголя. Кислотъ въ I случаѣ образуется больше, что должно отразиться на большей стойкости продукта, полученнаго отъ броженія съ чистыми культурами дрожжей.

Букетъ вина, полученнаго на чистой культурѣ, замѣтно лучше, даже для профана.

Въ контрольныхъ сосудахъ, предназначенныхъ для микроскопированія, можно наблюдать большую разницу, особенно замѣтную въ первые дни броженія. Въ суслѣ, бродящемъ произвольно, обильно развиваются *S. apiculatus*, виды *Torula*, *Dematium*, *Mucor* и др. грибки, внесенные въ сусло съ кожицы ягодъ, и только на 3 или 4 день настоящія дрожжи берутъ надъ всѣми перевѣсъ. Въ сосудѣ съ чистой культурой настоящія благородныя дрожжи сразу овладѣваютъ полемъ и не даютъ развиваться постороннимъ организмамъ. Въ томъ и другомъ случаѣ броженіе заканчивается настоящими дрожжами, потому что особенно распространенный и вредный *apiculatus* не выноситъ содержанія алкоголя выше 3%, но и кратковременная дѣятельность его кладетъ свой отпечатокъ на качество продукта.

Во второй серіи опытовъ я опредѣлялъ вліяніе различныхъ расъ дрожжей на качество вина.

Для опытовъ взять свѣжеотжатый виноградный сокъ сбора этого года (Rissling); содержаніе сахара 25,50/0. Содержаніе кислотъ—14.250/00. Сусло разлито въ 4 сосуда по 1,5 литра каждый.

I предоставленъ самостоятельному броженію.

II заданъ чистой культурой дрожжей Piesport.

III " " " " Gau Biekelheim Goldberg

IV " " " " Steinberg.

Броженіе наблюдалось 18 дней, но за этотъ періодъ еще не закончилось и вино не начинало высвѣтляться; тѣмъ не менѣе были взяты пробы винъ.

Кривыя энергіи броженія въ общемъ совпадали. Максимумъ отдѣленія углекислаго газа пришелся для II, III и IV на третій день, для I—на четвертый. Наибольшій подъемъ представляла кривая III-го сосуда (Gau Biekelheim Goldberg), немного ниже кривая II-го сосуда (Piesport), еще ниже IV—(Steinberg), и наконецъ всѣхъ меньше для I (Spontan). Паденіе кривыхъ находится въ обратномъ отношеніи къ высотѣ ихъ подъема. Температура во время броженія колебалась въ предѣлахъ 12—19° C.

Букеты четырехъ винъ были явственно различны, и съ чистыми культурами значительно выше.

Составъ винъ выражается слѣдующей таблицей.

|          | Spontan | Piesport | Gau Biek. G. | Steinberg |
|----------|---------|----------|--------------|-----------|
| Сахаръ   | —       | 1.050/0  | 1.25         | 0.45.     |
| Кислоты  | —       | 11.20/00 | 11.40/00     | 11.20/00  |
| Алкоголь | 7.660/0 | 12.420/0 | 11.310/0     | 12.420/0  |

Въ третьемъ рядѣ опытовъ я наблюдалъ броженіе при различномъ содержаніи сахара въ сокѣ.

Матеріаломъ для опытовъ послужилъ стерилизованный виноградный сокъ съ содержаніемъ сахара 12.80/0. Первая стеклянка содержала 6.40/0 сахару; къ слѣдующимъ пяти было прибавлено тростниковаго сахара такое количество, чтобъ получить сокъ съ содержаніемъ сахара въ 10, 20, 30, 40 и 500/0. Содержаніе кислоты было во всѣхъ сосудахъ одинаково—14.2 про mille. Всѣ 6 сосудовъ были заданы чистой культурой одной и той же расы дрожжей и оставлены въ броженіи 13 дней.

Кривыя броженія такъ характеризуютъ процессъ:

I. Броженіе началось на 2 день, максимумъ на 3; продержавшись на той же высотѣ четвертый день, на 5 й кривая круто упала, слѣдовательно главное броженіе прошло въ 5 сутокъ. Высвѣтленіе вина началось на 8 сутки.

II. Кривая до 4-го дня сходна съ предыдущимъ, но дальше падаетъ много постепеннѣе, и главное броженіе закончено только въ 7 сутокъ.

III. Начало броженія, какъ въ I и II, максимумъ болѣе высокій на 4 день и весьма постепенное паденіе кривой до конца опыта.

IV. Начало броженія какъ въ I, II и III, максимумъ на 4 день и вообще кривая сходна съ III.

V. Начало броженія на 3 день; постепенный подъемъ до максимума на 6 день и столь же постепенное паденіе до конца опыта.

VI. Начало броженія на 5 день; слабый подъемъ кривой до максимума на 7 день и слабое пониженіе до конца опыта.

Слѣдующая таблица даетъ главные моменты броженія и составъ полученнаго вина:

|                   | I    | II   | III    | IV   | V     | VI    |
|-------------------|------|------|--------|------|-------|-------|
| Общая потеря вѣса | 12.7 | 19.5 | 34.6   | 30.4 | 21.0  | 16.0  |
| Кислоты вина      | 14.2 | 14.2 | 14.3   | 14.2 | 16.4  | 16.4  |
| Сахаръ вина       | 0.   | 0.   | слѣды. | 6.95 | 28.60 | 35.00 |
| Алкоголь          | 3.58 | 5.01 | 8.91   | 7.37 | 5.73  | 4.41  |

Изъ таблицы видно, что наиболѣе благопріятныя условія для броженія и выхода алкоголя лежатъ между 20 и 30% сахара, при чемъ 30% лежитъ уже за предѣломъ optimum'a. Въ практикѣ рейнскаго винодѣлія наибольшее содержаніе сахара въ виноградномъ суслѣ наблюдалось въ 1893 году, знаменитомъ своими винами. Сортъ Rissling давалъ сусло съ содержаніемъ сахара выше 35%. Вино бродило очень медленно; въ первый годъ содержаніе алкоголя достигло едва 5%, и медленное броженіе продолжалось еще на второй и третій годъ, послѣ чего всетаки не весь сахаръ былъ потребленъ. Лучшія вина 1893 года доходили цѣной до 100 марокъ бутылка.

Въ послѣдней серіи опытовъ я изучалъ вліяніе кислотности винограднаго сусла на броженіе. Стерилизованный виноградный сокъ былъ распределенъ въ 6 сосудахъ по 400 cc., и при соблюденіи всѣхъ равныхъ условій была установлена постепенно возрастающая кислотность въ различныхъ сосудахъ, отъ слабо щелочного до 50 pro mille.

Броженіе продолжалось 12 сутокъ, кромѣ I сосуда (слабо щелочный), гдѣ броженія вообще не было. За это время весь сахаръ былъ потребленъ. Общая потеря въ вѣсѣ во всѣхъ сосудахъ, кромѣ второго (нейтральный), была приблизительно одинакова (24—25 gr.); второй сосудъ потерялъ только 14.3 gr.; при этомъ кислотность нейтральнаго раствора возрасла къ концу броженія (до 2.48 pro mille), что было замѣтно по измѣненію цвѣта жидкости темно-бураго въ желтый. Въ остальныхъ кислотность осталась при-

близительно первоначальная (6.4, 14.6, 25, 50).—Содержание алкоголя было въ общемъ одно и тоже, а именно около 6.9‰; только при содержаніи кислоты 25 pro mille оно убавляется до 6.6, а при 50 pro mille до 6.5

Для характеристики хода броженія можно отмѣтить слѣдующее. Въ нейтральномъ сокѣ броженіе начинается слабо и достигаетъ maximum'a только на 6 сутки, тогда какъ остальные сосуды дали крутой подъемъ кривой съ maximum'омъ на 4 сутки, и при томъ содержаніе кислоты въ 25 pro mille было особенно благопріятно и дало наибольшій подъемъ кривой. Нѣкоторый интересъ изъ приведенныхъ данныхъ представляетъ, по моему мнѣнію, значительное образованіе кислотъ въ нейтральномъ суслѣ, чѣмъ подготовлялись наиболѣе благопріятныя условія для жизнедѣятельности дрожжей. Рядомъ съ этимъ нужно отмѣтить, что при томъ же выходѣ алкоголя, какъ и въ другихъ сосудахъ (около 6.9‰) потеря на углекислоту была гораздо меньше (14.3 противъ 24—25). Недостатокъ выдѣлившейся углекислоты довольно близко покрывается другими кислотами, образовавшимися въ винѣ ( $2.48 \times 4 =$  около 10).

Приготовленіе чистыхъ культуръ дрожжей въ Гейзенгеймской лабораторіи начинается съ отдѣленія дрожжей отъ аэробныхъ бактерій и др. организмовъ. Для этого бродящее виноградное сусло вливается въ эрленмейерову колбу, которая помѣщается дномъ вверхъ. Черезъ пробку пропускаютъ двѣ стеклянныхъ трубки, одна почти достигаетъ дна колбы и, выходя концомъ надъ жидкостью, служитъ для доступа воздуха, другая едва выдается надъ пробкой. Когда броженіе закончится, дрожжи осядутъ на пробку, и достаточно открыть вторую трубку, чтобъ получить каплю дрожжей, свободныхъ отъ бактерій. Дальнѣйшее отдѣленіе дрожжей ведется при помощи культуры на желатинѣ (Plattenkultur\*).

Во время винодѣльческаго періода станція постоянно поддерживаетъ культуры нѣсколькихъ наиболѣе употребительныхъ расъ въ дѣятельномъ состояніи. Дрожжи культивируются въ толстостѣнныхъ стеклянкахъ, куда вливается до 400 cc. стерилизованнаго винограднаго соку; стеклянки помѣщаются въ термостатъ, гдѣ температура поддерживается около 22° C. При поступившемъ требованіи берутся 5-дневныя культуры и переводятся въ обыкновенную полубутылку, которая раньше промыта спиртомъ и избыткомъ сусла данной культуры. Закупориваютъ обыкновенной пробкой и заливаютъ восковымъ лакомъ. Всѣ манипуляціи ведутся прямо въ комнатѣ; стерилизованные шкафы совершенно не примѣняются, и, говорятъ, зараженія культуръ до сихъ поръ не наблюдалось.

Когда программа моихъ работъ была закончена, мнѣ оставалось посѣтить одинъ изъ знаменитыхъ рейнскихъ винодѣльческихъ погребовъ; тако-

\*) См. R. Meissner. Anleitung z. mikrosk. Unters. und Reinzüchtung. Stuttgart 1901. p. 76.

вымъ я избралъ Schloss Johannisberg, находящійся въ 4—5 километрахъ отъ Гейзенгейма. Старый замокъ съ его погребами расположенъ на вершинѣ горы, отлогіе южные склоны которой покрыты виноградниками съ великолѣпной лозой. Управляющій имѣнья г. Henisch очень любезно проводилъ насъ въ подвалы, одинъ изъ которыхъ считаетъ за собой до 1000 лѣтъ существованія. На мой вопросъ съ какими расами дрожжей они работаютъ, къ моему удивленію былъ отвѣтъ, что здѣсь до сихъ поръ чистыя культуры не примѣняются, и не потому, чтобы это считалось бесполезнымъ, а просто изъ боязни, что введеніе чистыхъ культуръ вызоветъ толки объ искусственныхъ приѣмахъ, можетъ быть — фальсификаціи вина, и пошатнетъ установившееся реноме фирмы. Такъ и приходится поневолѣ, уступая косности, придерживаться стараго нераціональнаго метода. При осмотрѣ погребовъ Johannisberg'a я обратилъ вниманіе на одну частности; а именно всѣ своды и стѣны погребовъ были покрыты сплошь войлочной тканью гриба. Черныя лохмотья войлока спускались на люстры и обвивали ихъ. Главная масса мицелія уже отмерла и высохла и отъ прикосновенія зажженной свѣчки начинала тлѣть, какъ трутъ. Винодѣль дорожилъ этимъ естественнымъ покровомъ стѣнъ подвала, приписывая ему важное вліяніе на качество вина. Но, конечно, здѣсь не можетъ быть рѣчи о вліяніи непосредственномъ; споры гриба, попавъ въ вино, могли бы только испортить его. Вѣроятно, что мицелій, обладающій большой гигроскопичностью, регулируетъ влажность воздуха въ подвалѣ и, удерживая ее болѣе или менѣе постоянной, косвенно вліяетъ на вино.

За недостаткомъ времени мнѣ не удалось посѣтить другого подвала, гдѣ я могъ бы видѣть примѣненіе чистыхъ культуръ въ большомъ масштабѣ.

Въ Парижѣ я посѣтилъ цимотехническое отдѣленіе Института Пастера, руководимое д. Фербахомъ, но не нашелъ здѣсь ничего, заслуживающаго особеннаго вниманія. Можетъ быть, этому была виной перестройка лабораторіи и устройство школы пивоваренія, но кромѣ старыхъ Коховскихъ культуръ на желатинѣ да нѣсколькихъ пронагаторовъ, помѣщенныхъ во временномъ сарайчикѣ, я не нашелъ ничего. Также было замѣтно почти полное заустѣніе по части практикантовъ. Посѣтивъ кромѣ того нѣкоторыя винодѣльни Бургундіи около Дижона благодаря любезному содѣйствію Проф. Легра, я убѣдился, что здѣсь о примѣненіи чистыхъ культуръ почти ничего не слышно. Вообще судя по тому, что я видѣлъ и слышалъ, можно заключить, что введеніе раціональнаго метода въ винодѣліе во Франціи сильно отстало по сравненію съ Германіей.

Ничего мнѣ не дала и маленькая частная лабораторія Жакмена въ Нанси, куда я предпринялъ спеціальную поѣздку изъ Германіи. Въ настоящее время это просто маленькая фабрика дрожжей (преимущественно виноку-

ренныхъ), откуда культуры въ большихъ стеклянныхъ баллонахъ рассылаются по заводамъ.

Проѣздомъ я посѣтилъ лабораторіи Вейгмана въ Килѣ, Обри въ Мюнхенѣ, Коха въ Оппенгеймѣ, Мюлера-Тургау въ Вендейсвейлѣ близъ Цюриха и Линднера въ Берлинѣ.

Въ заключеніе я имѣлъ въ виду заняться изученіемъ болѣе обыкновенныхъ и распространенныхъ болѣзней культурныхъ растений, для этого я сначала намѣтилъ лабораторію Пр. Франка въ Берлинѣ (Gesundheitsamt). Но Франкъ неожиданно скончался, лабораторія его была безъ руководителя, и я устроился въ лабораторіи проф. Виттмакъ въ Высшей Сельскохозяйственной школѣ. Воспользовавшись отчасти препаратами, которые нашлись въ лабораторіи Виттмака, отчасти матеріаломъ изъ лабораторіи Франка, любезно доставленнымъ мнѣ д-ромъ Крюгеромъ, я остановился главнымъ образомъ на болѣзняхъ картофеля и свекловицы, но и въ этомъ направленіи матеріалу нашлось не особенно много.

Во время пребыванія въ Берлинѣ мнѣ удалось побывать на лекціи Проф. Бухнера, гдѣ онъ излагалъ свои работы по изученію фермента дрожжей, который онъ называлъ цимазой; благодаря любезности его ассистента д-ра Альберта я познакомился въ лабораторіи съ приемами добыванія цимозы и получилъ ея препараты для демонстраціи въ Томскѣ.

Мы давно знаемъ исходное вещество для алкогольнаго броженія (сахаръ), конечные продукты (алкоголь, углекислый газъ и небольшія количества глицерина, янтарной кислоты), знаемъ дѣятельную причину—дрожжевыя клѣтки, но до послѣдняго времени оставался темнымъ самый механизмъ, или вѣрнѣе—химизмъ, этого процесса,—тѣмъ болѣе, что лабораторными средствами, безъ участія растений—дрожжей, произвести актъ броженія не удавалось.

На механику броженія различные ученые смотрѣли двояко. Одни, какъ Пастеръ, разсматривали этотъ загадочный процессъ какъ процессъ физиологическій, какъ суррогатъ дыханія, какъ жизнь безъ кислорода воздуха; это воззрѣніе отчасти подтверждалось явленіемъ такъ называемаго интрамолекулярнаго дыханія, дыханія безъ кислорода, высшихъ растений и даже нѣкоторыхъ животныхъ, при чемъ въ ихъ тканяхъ также образуется алкоголь. Другіе приравнивали дѣйствіе дрожжей ферментамъ (діастазъ, инвертинъ и др.) и въ дрожжевыхъ клѣткахъ видѣли лишь аппаратъ для приготовленія фермента, который уже производитъ химическій актъ, характерный для броженія. Строго говоря противопоставлять эти два воззрѣнія нельзя, потому что всѣ физиологическіе акты превращенія вещества въ конечной инстанціи сводятся къ химическимъ превращеніямъ, но и направленіе химическаго процесса можетъ быть неодинаково.

Такъ или иначе, но изслѣдованія послѣднихъ лѣтъ дѣлають гораздо болѣе вѣроятнымъ первоначальное предположеніе объ участіи аморфнаго фермента, фабрикуемаго дрожжевой клѣткой. Въ этомъ именно направленіи работалъ Проф. Бухнеръ и получилъ, повидимому, весьма краснорѣчивые результаты. Ему удалось получить изъ дрожжей аморфное вещество, которое безъ участія живыхъ клѣтокъ совершаетъ то же превращеніе, какое мы имѣемъ въ процессѣ броженія. Это вещество онъ называлъ цимазой.

Способъ добыванія цимазы сводится въ общемъ къ отжиманію сока изъ дрожжевыхъ клѣтокъ и осажденію изъ него цимазы въ видѣ порошка.

Нѣсколько фунтовъ чистыхъ пивныхъ дрожжей старательно отмываются отъ примѣси пива и помѣщаются въ первый разъ подъ прессъ для удаленія воды. Послѣ этого масса дрожжей помѣщается въ большую фарфоровую ступку и перетирается тяжелымъ пестомъ съ песткомъ и трепеломъ, при чемъ раздробляются самыя клѣтки и содержимое ихъ выступаетъ. Перетертая масса дрожжей, завернутая въ тряпку, вторично помѣщается подъ тотъ же прессъ, напоминающій прессъ для выжиманія винограднаго сока, и подвергается болѣе сильному давленію. Полученный сокъ можетъ быть, или прямо сгущенъ путемъ испаренія, или цимазу можно осадить спиртомъ въ видѣ аморфнаго бѣлаго порошка.

Хорошо высушенный ферментъ сохраняется мѣсяцами или даже больше года, сохраняя свои бродильныя свойства. Достаточно взять 10--20% раствора тростниковаго или свекловичнаго сахара и примѣшать приблизительно равное количество цимазы, разведенной въ водѣ, какъ сейчасъ же начинается быстрое отдѣленіе углекислаго газа; жидкость всѣмъливается, какъ при обыкновенномъ броженіи, и въ ней постепенно накапливается алкоголь.

Упомянутый опытъ показываетъ, что цимазъ представляетъ не химическій индивидуумъ, не одинъ ферментъ, а содержитъ два, или нѣсколько, ферментовъ, потому что тростниковый сахаръ сначала инвертируется въ виноградный (1-ое превращеніе), и уже этотъ послѣдній распадается на спиртъ и углекислый газъ (2-ое превращеніе). При этомъ процессѣ, обусловленномъ присутствіемъ химически-дѣятельнаго вещества, также получаются въ небольшомъ количествѣ побочные продукты, какъ глицеринъ и янтарная кислота. Это обстоятельство дѣлаетъ весьма вѣроятнымъ, что въ цимазѣ содержатся нѣсколько ферментовъ, и въ настоящее время Бухнеръ стремится къ тому, чтобы раздѣлить эти ферменты; насколько удастся это ему—покажутъ будущія изслѣдованія.

Не смотря на громадный интересъ открытій Бухнера, я полагаю, что они имѣють болѣе теоретическое значеніе, чѣмъ практическое, и едва ли когда нибудь ферментъ вытѣснитъ въ винодѣліи и пивовареніи живую клѣтку. Основной ферментъ алкогольнаго броженія, очевидно, — одинъ и тотъ же во

всѣхъ расахъ дрожжей, но какъ разнообразны продукты ихъ жизнедѣтельности! Одинъ и тотъ же виноградъ, одно и то же пивное сусло, даютъ различные напитки въ зависимости отъ расы дрожжей, съ различнымъ содержаниемъ алкоголя, неодинаково стойкіе, съ различными букетами и т. д. Причины этой разницы настолько неуловимы, что не поддаются сколько нибудь приближенному опредѣленію, и на долго сложный химизмъ клѣточки дрожжей, не разгаданный въ частностяхъ, останется въ цѣломъ единственной лабораторіей хорошаго вина и пива.

---