



## Alkohol als Endprodukt

Für den Menschen sehr erwünscht,  
für die Hefe ein notwendiges Übel  
und toxisch

**BrauLabor  
32  
Ethanol  
toxisches  
energiereiches  
Endprodukt**

<b>Aufwand:</b> klein	<b>Material:</b> mässig	<b>Zeit:</b> gering	<b>Experimenttyp:</b> Grundlagenversuch	<b>Anspruch:</b> gering
--------------------------	----------------------------	------------------------	--	----------------------------

### Einführung

Kohlenhydrate wie Haushaltszucker (Saccharose, Doppelzucker aus Glukose-Fruktose), Traubenzucker (Glukose) und Fruchtzucker (Fruktose) wird von Hefezellen bei Fehlen von Sauerstoff  $O_2$  (anaerob) zu Kohlenstoffdioxid  $CO_2$  und Ethanol (trinkfähiger Alkohol,  $C_2H_5OH$ ) abgebaut. Der Energiegewinn für die Hefe ist im Vergleich zu einer vollständigen Oxidation des Zuckers zu  $CO_2$  und  $H_2O$  (aerob, Zellatmung in den zellulären "Atmungszentren" der Mitochondrien) relativ gering: nur gerade 2 ATP anstelle von 38 ATP pro Molekül Traubenzucker. Ein Grossteil der "Nahrungsenergie Glukose" ( $2'808 \text{ kJ/mol}^*$ ) steckt also im Ausscheidungsprodukt Ethanol ( $1'409 \text{ kJ/mol}^*$ ). Um trotzdem zu genügend Energie zu kommen, zeigen Gärer einen umso höheren Stoffdurchsatz, also hohe Stoffwechselumsätze, was für den Menschen natürlich bei interessanten Endprodukten wie Alkohol wünschenswert ist!

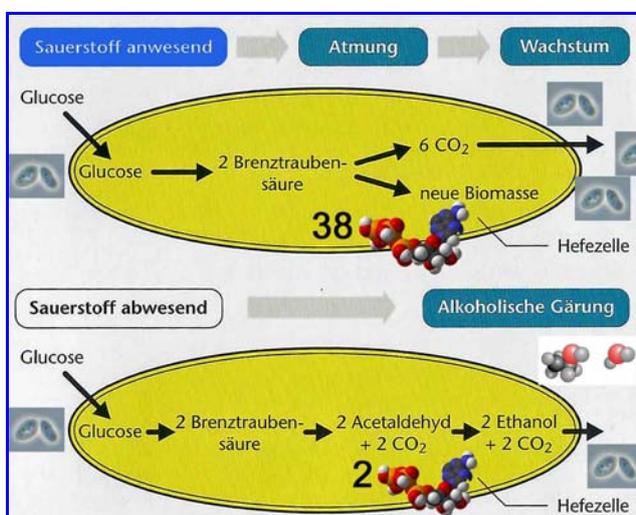


Abb. 1. Aerober und anaerober Stoffwechsel der Hefe, je nach Vorhandensein von Sauerstoff  $O_2$ .

Der aerobe Stoffwechsel ist die energieeffiziente Atmung  $\rightarrow$  Vermehrung der Hefezellen. Der anaerobe Stoffwechsel ist die energieineffiziente alkoholische Gärung. Der Hefestoffwechsel wird als **fakultativ anaerob** bezeichnet. [Quelle: [Keweloh](#), 2016, mod.]

Die Summengleichung der Gärung lautet:



Das gasig freigesetzte **Kohlenstoffdioxid** lässt sich mit Calciumhydroxid  $Ca(OH)_2$  als Calciumcarbonatniederschlag  $CaCO_3$  (= Kalk) nachweisen, während der gebildete **Alkohol (= Ethanol)** verbrannt werden kann.

**Nutzung:** Alkohol ist aus menschlicher Sicht vielseitig nutzbar, als Genussmittel, Desinfektionsmittel, Lösungsmittel, Brennstoff und Ausgangsstoff zur Herstellung weiterer Chemikalien. Zunehmend wird er auch als Treibstoff (Ethanol-Kraftstoffe) verwendet.

**Wirkungscharakter:** narkotisch, toxisch (wegen seiner guten Wasser- und Fettlöslichkeit grosse Gefahr der Toxizität für den gesamten Organismus). Alkohol ist ein Nerven- und Zellgift, dessen Wirkungscharakter schon seit über 100 Jahren bekannt ist (neurotoxisch, lebertoxisch, pancreaticotoxisch, cardiotoxisch etc. [\[Info\]](#) > Tab. S.2). Die Letaldosis beim Menschen schwankt beträchtlich und kann bei Alkoholabusus erheblich höher sein.

Über 4 ‰ Blutalkohol gilt als tödlich ([Info](#)). Gemäss anerkannter Empfehlungen sollten erwachsene Männer maximal 120 Gramm und Frauen nicht mehr als 70 Gramm reinen Alkohol pro Woche zu sich nehmen, d.h. für Männer neun Flaschen Bier à 330 Milliliter (bei 5 Vol.% Alkohol), für Frauen fünfeinhalb ([Info](#)). Diese Richtlinien für einen moderaten Alkoholkonsum sind in Abb. 2 festgehalten.

**Hefen** produzieren zwar Ethanol bei  $O_2$ -Mangel, aber auch für sie gibt es eine kritische Grenze: "Die alkoholische Gärung stösst nämlich selbst bei einem hohen Zuckergehalt der Ausgangssubstanz an eine Grenze, da die Hefepilze nur eine Alkoholkonzentration von maximal 16 Volumenprozent tolerieren." ([Info](#), eine sehr lesenswerte Zusammenfassung über "Alkohol"). Aber schon vorher steht sie unter einem "Alkoholstress", der sich u.a. an einer Wachstumshemmung und vielen anderen bemerkbar macht ([Info1](#), [Info 2](#)).



Abb. 2. Empfehlungen für einen moderaten Alkoholkonsum.

[\[Quelle\]](#)

Paradox: obwohl die Hefe bei  $O_2$ -Anwesenheit einen viel effizienteren Stoffwechsel betreiben könnte, bevorzugt sie den Gärungsstoffwechsel ausser bei tiefer Zuckerkonzentration! Gründe: 1. Ethanol ist für Konkurrenz-Mikroorganismen wie andere Hefearten und Bakterien wesentlich toxischer; 2. Hefe kann als weiteren Vorteil gegenüber den anderen Mikroorganismen sogar nicht-fermentierbare Substanzen wie Ethanol (!) als C-Quelle für den Baustoffwechsel und Energiestoffwechsel benutzen, wenn keine Glukose mehr verfügbar ist ([Info](#)).



Diese beiden Eigenheiten verschaffen dem *Saccharomyces cerevisiae* -Hefestamm unschätzbare Wettbewerbsvorteile gegenüber den anderen Substrat-mitbewerbenden Organismen.



### Kernwissen für Braupraxis: Grundlagen zur alkoholische Gärung

Hefezellen können mit Sauerstoff aerob und ohne Sauerstoff anaerob Energie gewinnen, wobei die alkoholische Gärung aus dem Zuckerabbau nur wenige biologische Energieeinheiten (= 2 ATP) sowie die Abfallprodukte Kohlenstoffdioxid  $CO_2$  und Ethanol  $C_2H_5OH$  produzieren kann. Belüftung, also Zufuhr von Luftsauerstoff fördert die Zellvermehrung, während ein höherer Glukosegehalt ohne Sauerstoff die Gärung stimuliert.

Die ausgeschiedenen Stoffe  $CO_2$  und Ethanol  $C_2H_5OH$  sind für den Menschen interessant (→ Reiz des Bieres, primär aber Alkohol), aber eigentlich auch die Hefebiomasse (Geläger nach Hauptgärung, Hefe-Ernte für → kurzfristig: erneute Anstellhefe, längerfristig: Lagern der Hefe z.B. in isotonischer Kochsalzlösung für spätere Wiederverwertung).



Grundlagenversuch: dieser Langzeitgärungsversuch dient dem Nachweis, dass eines der Endprodukte, Ethanol, noch ein sehr energiereiches Produkt ist und die alkoholische Gärung dementsprechend der Hefe nur wenig Energie liefert. Gleichzeitig kann er als einfacher Modellversuch eines Biotechnologie-Versuches Fallbeispiel Ethanolproduktion eingesetzt werden. Unter Biotechnologie werden Verfahren verstanden, die sich mit der Nutzung von Enzymen, Zellen und ganzen Organismen in technischen Anwendungen zu Produktionszwecken (z.B. Alkohole, Antibiotika u.v.m.) oder Dienstleistungen (z.B. Kläranlage) beschäftigt.

### Materialien

Glaswaren/Geräte/ andere Materialien	Bechergläser 1000 mL oder Messbecher, Messer, Schere, Spatel/ Löffel, Waage, Gärröhr (z.B. <a href="#">Info</a> , cf. Abb. 3A, mit passendem durch bohrtem Gummistopfen), evtl. Glasrohr, passend in durchbohrten Gummistopfen (cf. Abb. 3B), Glasstab/Rührstab/Löffel, 1'000 mL Erlenmeyerkolben oder hitzefeste Glasflasche (Pyrex- oder Duran-Qualität, z.B. <a href="#">Info 1</a> , <a href="#">Info 2</a> ), Heizplatte, Thermometer, Gasanzünder, kleine Aluwanne bzw Alufolie (feste Qualität)
Verbrauchsmaterial	Wasser, Haushaltspapier/Kosmetiktüchlein
Chemikalien	Haushaltszucker (Saccharose), Ammoniumsulfat $(NH_4)_2SO_4$ , Kaliumhydrogensulfat $KHSO_4$ , (oder: Hefenährstoffe wie Wyeast Hefe Nutrient Blend ( <a href="#">Info1</a> , <a href="#">Info2</a> ) oder White Labs Yeast Nutrient WLNI000 ( <a href="#">Info1</a> , <a href="#">Info2</a> )' oder Hefenährsalz, z.B. <a href="#">Info</a> ). $CO_2$ -Nachweisreagenz: Calciumhydroxid $Ca(OH)_2$ (gesättigte Lösung, auch als "Kalkwasser" bezeichnet; Herstellung: siehe <a href="#">hier</a> ), pro 1 L Wasser können ca. 1.7 g $Ca(OH)_2$ gelöst werden)
Biologische Objekte	Frischhefen, oder Trockenhefen (Backhefe [ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ])



## Durchführung

### 1. Vorbereitung Zuckerlösung und Hefesuspension:

#### 1.1. Hefekulturlösung:

zu 500 mL einer 15%igen Haushaltszuckerlösung (Saccharose) wird je eine Spatelspitze Ammoniumsulfat und Kaliumhydrogenphosphat (oder "Hefe-Nährstoffe" z.B. Wyeast Hefe Nutrient Blend oder White Labs Yeast Nutrient WLN1000, cf. [hier](#) > "Braulabor 7: Nährmedienrezepte für Hefen und Bakterien > 2.2. Nährmedien für Hefen > MI Startermedium für die Anstellwürze", oder Hefenährsalze) gegeben

#### 1.2. Hefesuspension:

etwa 5 g Frischhefe in einem Becherglas mit Leitungswasser suspendieren (bzw. ca. 3 g Trockenhefen in lauwarmes ca. 30 °C Leitungswasser einbringen, 5 min warten und dann sanft aufrühren) und zur Hefekulturlösung geben

#### 1.3. Gäransatz:

die Hefesuspension zusammen mit der Zuckerlösung in einen 1'000 mL-Erlenmeyerkolben bzw. 1'000 mL hitzefeste Pyrex- oder Duran-Flasche einbringen und verschliessen:

- ▶ entweder nur einem Gärrohr in einem passenden durchbohrten Gummizapfen (Abb. 3A)
- ▶ entweder nur mit einem längeren Glasrohr (Abb. 3B)

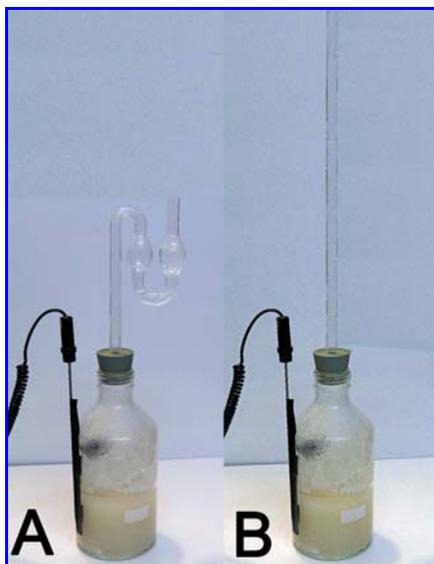


Abb. 3. Gäransätze (vgl. auch Abb. 8)

**A:** Hitzefestes Glasgefäß mit Gärrohr (geeignet für CO<sub>2</sub>-Nachweis und für Alkohol-Test) und angeklebtem Temperaturfühler.

**B:** Hitzefestes Glasgefäß mit Glasrohr (nur für Alkoholtest geeignet).



Abb. 4. Gärrohr für CO<sub>2</sub>-Nachweis.

Links: Gärrohr wird mit glasklarer Calciumhydroxidlösung beschickt, sodass beide Glaskugeln etwa zur Hälfte gefüllt sind.

Rechts: durch Gärung gebildetes Gas kann nur durch das CO<sub>2</sub>-Nachweisreagenz entweichen; handelt es sich um CO<sub>2</sub>, so entsteht eine milchig-weiße Trübung (= "Kalkwasser", da sich Kalk CaCO<sub>3</sub> gebildet hat).

## 2. Versuchsdurchführung Gärung:

### 2.1. Produktbildung I - CO<sub>2</sub>: nachweisbar nur mit Gärrohr (Gäransatz 3A)

- Das Gärrohr wird mit einer gesättigten Calciumhydroxidlösung ("Kalkwasser") soweit gefüllt, dass beide Glaskugeln gerade zur Hälfte gefüllt sind (Abb. 4)
- entstehendes Gas kann nun nur durch das CO<sub>2</sub>-Nachweisreagenz Ca(OH)<sub>2</sub> entweichen
- Produktnachweis I: CO<sub>2</sub> reagiert mit Kalkwasser zu **Kalk**, das zunächst eine milchig-weiße Trübung verursacht und dann schlussendlich als fester Niederschlag ausfällt gemäss der Reaktionsgleichung:  $\text{CO}_2 + \text{Ca(OH)}_2 \rightarrow \text{CaCO}_3 \downarrow + \text{H}_2\text{O}$ .



- Beim längeren Durchleiten von Kohlenstoffdioxid durch Kalkwasser verschwindet die Trübung wieder: dies hängt damit zusammen, dass das Kohlenstoffdioxid mit dem Calciumcarbonat zu löslichem Calciumhydrogencarbonat reagiert:  $\text{CaCO}_3 + \text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2 \rightarrow \text{Ca}(\text{HCO}_3)_2 \cdot \text{aq}$
- Kalk kann mit dem "Geologentest auf Kalk" als Kalk bestätigt werden: **Salzsäure**zugabe löst sowohl die Trübung als auch den festen Niederschlag auf (cf. Abb. 5):  $\text{CaCO}_3 + \text{HCl} \rightarrow \text{CaCl}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2$

**Hinweis:** eine Kalktrübung auf durch alkoholische Gärung produziertes  $\text{CO}_2$  tritt relativ rasch auf (wenige Stunden), während die Bildung von Ethanol deutlich mehr Zeit beansprucht (mehrere Tage bis 1 Woche), damit der Brennbarkeits-Nachweis gelingt!



Abb. 5. Kalktest mit Salzsäure.  
Links: zwei identische  $\text{CO}_2$ -Nachweisproben mit dem typisch milchig-weisslichen Kalkniederschlag.  
Rechts: Salzsäure HCl löst den Kalk auf.

- der Versuchsansatz wird nun für die Alkoholbildung bei möglichst warmer Umgebungstemperatur mehrere Tage bis 1 Woche stehen gelassen

## 2.2. Produktbildung 2 - Alkohol (Ethanol $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ): nachweisbar mit Gäransatz 3A und 3B (cf. Abb. 6 + 7)

- je nach Zuckerkonzentration und Hefequalität dauert die Gärung mehrere Tage bis etwa 1 Woche, bis ausreichend Alkohol nachgewiesen werden kann
- sensorische Kontrolle: periodisch Gärgefäss kurz öffnen und mit Nase "beprobieren"  $\rightarrow$  typischer Alkoholduft?
- am Ende der Gärung:

### Vorbereitung:

- Gärgefäss mit der Gärlösung und den Aufsätzen (Gärrohr, Glasrohr) auf eine Heizplatte stellen
- zur Verhinderung eines evtl. Siedeverzugs wenige kleine gereinigte Steinchen (ideal: Siedesteinchen) in Gärlösung hinzu fügen
- Glasrohr evtl. sichern

### "Destillation":

- der Inhalt des Gärgefässes wird nun langsam auf der Heizplatte erhitzt (Abb. 6, Abb. 7A)
- die entweichenden Dämpfe werden beobachtet, wie sie zunächst am Gärgefäss hochkriechen und wieder kondensierend zurückfließen, bis sie dann endlich an den erwärmten Glaswänden des Gärrohrs bzw. Glasrohrs emporkriechend kondensieren

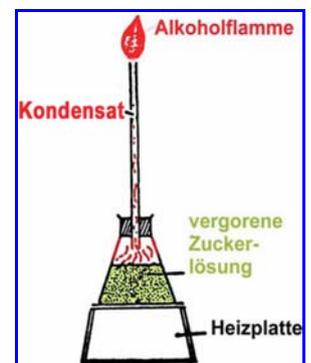


Abb. 6. Alkoholnachweis

- **Ansatz mit Glasrohr 3B:** Abb. 6  
sobald die Dämpfe aus dem Glasrohr entweichen, werden sie mit einem Gasanzünder auf Entzündbarkeit getestet (evtl. muss die Hitze der Heizplatte stark zurück genommen werden, damit die Dämpfe nicht zu rasch entweichen bzw. nicht zuviel Wasserdampf entsteht und die Alkoholf Flamme ausblasen bzw. zum Erlöschen bringen. Evtl. Im abgedunkelten Raum Brennbarkeitstest durchführen, da eindrücklicher!)
- **Ansatz mit Gärrohr 3A:** Abb. 7BC
- die Alkoholdämpfe solange aufsteigen lassen, bis sich in den Glaskugeln eine ausreichende Menge Flüssigkeit kondensiert hat
- Flüssigkeit in eine hitzefeste Schale (z.B. Aluschale, gefaltete Alufolie) auf nicht brennbarer Unterlage sammeln
- im halbdunklen/dunklen Raum mit einem Gasanzünder entflammen (Abb. 7D)

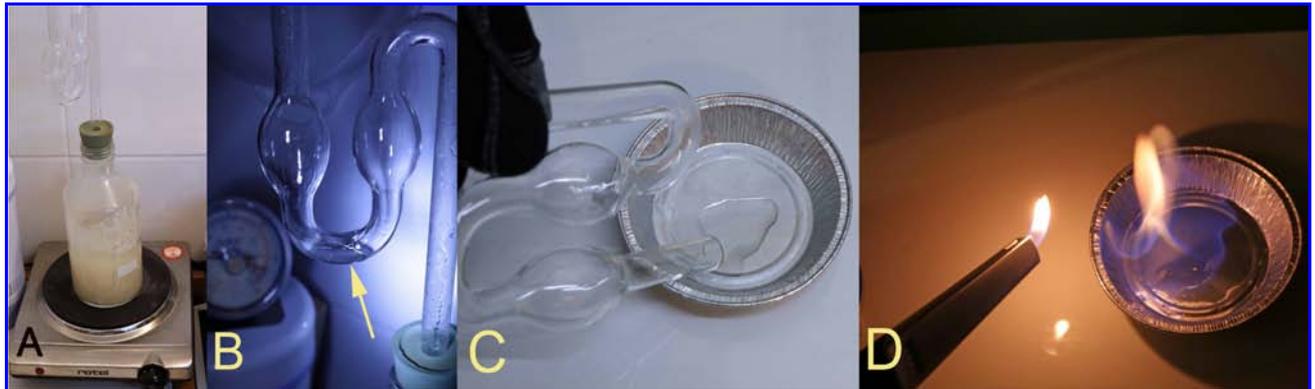


Abb. 7. Produktbildung alkoholische Gärung: Ethanol ("Alkohol").

- A:** Der Gäransatz wird nach 4 Tagen bis 1 Woche in der Wärme stehen gelassen, dann das hitzefeste Glas (hier: Pyrexflasche) auf eine Heizplatte gestellt und vorsichtig erhitzt, bis die Hefesuspension sanft kocht. Die aufsteigenden Dämpfe kondensieren immer wieder an den noch kalten Glaswänden und kriechen dann langsam nach oben weiter.
- B:** Im Gärrohr sammelt sich dann eine glasklare Flüssigkeit (cf. Pfeil).
- C:** Mit einem Handschuh bestückt wird der Inhalt des noch heissen Gärrohrs in eine Aluwanne gekippt.
- D:** Mit einem Gasanzünder wirft im Dunkeln die Flüssigkeit angezündet: das zweite Gärprodukt ist ein Energieträger und brennt → es muss sich dabei um das brennbare **Ethanol** handeln!

### Schlussfolgerungen/ Erkenntnisse aus Gär-Grundversuchen mit Bezug zum Bierbrauen:

- 1. Produkte:** Die alkoholische Gärung mit Hefestämmen des Typus *Saccharomyces cerevisiae* liefert als leicht nachweisbare Produkte das Gas Kohlenstoffdioxid  $\text{CO}_2$  und die Flüssigkeit Alkohol.
- 2. Kohlenstoffdioxid:** Das Gas  $\text{CO}_2$ , gebildet als sichtbare Gasbläschen, ist für die Rezenz des Bieres (erfrischendes Prickelgefühl im Mund) verantwortlich.
- 3. Ethanol als Energieträger - aus der Sicht der Hefe:** Ethanol ist leicht brennbar und daher energiereich. Die Hefe kann also energetisch gesehen die vergärten Zuckerarten nur schlecht verwerten.
- 4. Ethanolproduktion - aus der Sicht des Menschen:** Ethanol in Getränken liefert auch dem Menschen Energie, das er zu speicherfähigen Stoffen im Körper umwandeln kann ([Info](#)) und auch destilliert als lagerfähige Energieträger (Bioethanol) nutzen kann ([Info](#)).



Abb. 8. Gäransätze isoliert und auf Magnetrührer. Zur schnelleren Gärung können die Gärgefässe auch mit Verpackungsmaterial isoliert und sanft gerührt werden.