

46. F. König: Ueber Gährung der Weinsäure.

(Eingegangen am 27. Januar.)

Die Produkte, welche die Weinsäure unter dem Einfluss von Fermenten liefert, sind bis jetzt nur wenig Gegenstand eingehenderen Studiums gewesen. Es ist allbekannt, dass in Lösungen von Weinsäure und weinsauren Salzen sehr leicht Schimmelpilze sich ansiedeln, und dass die Weinsäure durch dieselben nach und nach unter Kohlensäurebildung zerstört wird. Neubauer (Annalen der Oenologie) hat über das Verhalten des Weinstein in Lösung gegen Schimmelpilze mehrere Versuche angestellt und fand, dass mit der Entwicklung der Pilzflocken der Weinsteingehalt der Lösung abnimmt und zuletzt ganz verschwindet, so dass nur kohlensaures Kali zurückbleibt; er fand ferner, dass bei Luftabschluss die Vegetation der Schimmelpilze und damit die Zersetzung des Weinstein nur äusserst langsam fortschreitet. Bersch (die Krankheiten des Weins) will als intermediäres Glied der Zersetzung Essigsäure aufgefunden haben und hält den Pilz (*Penicillium*), der in Weinsäurelösungen wuchert, für das Ferment des Umschlagens der Weine. Als eigentlicher Gährungsprozess ist ferner die von Noellner zuerst beobachtete Zersetzung des rohen weinsauren Kalkes zu erwähnen, der noch 20 pCt. hefiger Theile enthält. Wird derselbe mit einer hinreichenden Menge Wasser bei Sommertemperatur sich selbst überlassen, so tritt Gährung unter Kohlensäureentwicklung ein, und es bildet sich das Kalksalz der sogenannten Pseudoessigsäure oder Butteressigsäure (offenbar ein Gemenge). Reiner Weinstein soll dagegen nur Essigsäure geben.

Pasteur fand ferner, dass gewöhnliches Ammoniumtartrat mit Proteïnsubstanzen leicht unter Gährung zersetzt wird; während von traubensaurem Ammon die linksdrehende Weinsäure unangegriffen bleibt. Ueber die Produkte der Zersetzung ist nichts angegeben.

Eine verdünnte Lösung von weinsaurem Ammon, mit geringen Mengen Kaliumphosphat, Magnesiumsulfat und Chlorcalcium bildet ein treffliches Medium zur Züchtung von Bakterien. Versetzt man eine solche Lösung mit einem Tröpfchen faulender Flüssigkeit, und setzt sie darauf einer Temperatur von 30 — 35° C. aus, so wimmelt die Flüssigkeit nach wenigen Tagen von Bakterien. Die Weinsäure wird dabei zersetzt, aber bis jetzt war über die dabei entstehenden Produkte nichts veröffentlicht. Da die Zersetzungen der Weinsäure durch den Einfluss niederer Organismen für das Studium gewisser Weinkrankheiten von hoher Wichtigkeit sind, und die über diesen Gegenstand bis jetzt veröffentlichten Abhandlungen häufige Widersprüche enthalten, so machte ich es mir zur Aufgabe, hierüber eingehende Studien zu machen, die zwar noch nicht beendigt sind, aber doch bis

jetzt Resultate geliefert haben, die für die Chemie von Interesse sein können, weshalb ich auch nicht mehr zögere, sie zu veröffentlichen.

Ich bereitete eine Lösung von 10 g Weinsäure, neutralisirte genau mit Ammoniak und verdünnte dieselbe unter Zusatz von 1 g Kaliumphosphat, 0.2 g Magnesiumsulfat und 0.2 g Chlorcalcium auf ein Liter. Dieselbe sollte zunächst zur Züchtung von Bakterien dienen; allein auch ohne jeden Zusatz faulender Flüssigkeit u. dgl. trübte sie sich schon nach 2 Tagen, und mit dem Mikroskop unterschied ich darin zahllose Bakterien von Stäbchenform, die unter einander gleich waren und in Gestalt und Grösse mit dem Bacterium Termo übereinstimmten. Sie zeigten lebhafte Bewegung und ihre Vermehrung war derartig, dass schon nach 5 bis 6 Tagen die ganze Flüssigkeit verdünnter Milch glich und sich auf dem Boden des Kolbens ein hefeartiger Absatz gebildet hatte. Die Temperatur des Lokales betrug etwa 15° C. Ich löste hierauf eine grössere Menge, 300 g Weinsäure, in Wasser, neutralisirte mit Ammoniak und verdünnte unter Zusatz von nur 10 g Kaliumphosphat, 2 g Magnesiumsulfat und 2 g Chlorcalcium auf etwa 30 L. Die Lösung wurde mit einigen Kubikcentimetern der beschriebenen Bakterienflüssigkeit versetzt, und bei mittlerer Temperatur (15°) in einem zu $\frac{3}{4}$ gefüllten Ballon sich selbst überlassen. Schon nach 30 Stunden war die Flüssigkeit undurchsichtig geworden, und die Oberfläche derselben bedeckte sich mit einer Bakterienhaut. Nach $1\frac{1}{2}$ Monaten konnte keine Weinsäure in der Flüssigkeit mehr nachgewiesen werden. Auf dem Boden hatte sich ein grauer, hefeähnlicher Schlamm abgesetzt, der aus theils lebenden, theils toten Bakterien, nebst deren Dauersporen bestand. Die Flüssigkeit war trüb, nicht filtrirbar, und von schwachem, eigenthümlichen Fäulnissgeruch. Sie wurde vom Bodenschlamm abgehoben und vorsichtig verdampft. Der verhältnissmässig geringe Rückstand wurde in Wasser gelöst und auf dem Wasserbad mit heisser Barytlösung so lange versetzt, bis eine bleibende alkalische Reaction eingetreten war. Hierbei entwickelte sich viel Ammoniak. Sobald der Geruch des letzteren verschwunden war, wurde die Masse noch heiss mit einer, der angewandten Barytmenge genau entsprechenden Quantität verdünnter Schwefelsäure versetzt; hierauf wurde filtrirt und das gefällte Baryumsulfat ausgewaschen, welches nur Spuren organischer, stickstoffhaltender Substanzen zurückhielt.

Die stark sauer reagirende und riechende Flüssigkeit wurde destillirt und der Destillationsrückstand schliesslich auf dem Wasserbad weiter concentrirt. Nach dem Erkalten bildeten sich darin reichlich Krystalle, die durch Lösen in Alkohol, Verdampfen und nachheriges Umkrystallisiren aus Wasser unter Anwendung von Thierkohle gereinigt wurden.

Die nunmehr rein weissen Krystalle gehörten dem monoklinometrischen System an, verdampften auf Platinblech erhitzt, ohne Rückstand zu lassen, in stehenden, zum Husten reizenden Nebeln. In Wasser lösten sie sich nicht sehr reichlich auf, und besaßen einen säuerlichen Geschmack. Hierin, sowie in allen Reaktionen stimmten sie mit der Bernsteinsäure überein, und die Identität wurde durch eine Elementaranalyse sowie durch eine Verbrennung des daraus dargestellten Natronsalzes festgestellt.

Die Mutterlauge der Bernsteinsäurekrystalle gab beim Verdampfen noch eine kleine Menge derselben, mit Kali- und Magnesiumsalzen gemischt; zuletzt blieb ein brauner Syrup, dessen Menge jedoch nur gering war, und der über Schwefelsäure zu einer amorphen Masse eintrocknete, welche mit Natronkalk erhitzt, reichlich Ammoniak entwickelte und somit die durch den Lebensprozess der Bakterien entstandenen stickstoffhaltigen organischen Körper enthielt. Beim Verbrennen des Syrups hinterblieb viel Asche, zum grossen Theil aus Chlorcalcium bestehend.

Die von der Bernsteinsäure abdestillirte Flüssigkeit wurde mit kohlenurem Natron neutralisirt und verdampft, der trockene Rückstand mit einer entsprechenden Menge verdünnter Schwefelsäure destillirt und das Destillat mit Silberoxyd in der Wärme gesättigt, wobei sich eine ziemliche Menge metallisches Silber absetzte. Dies, sowie der Umstand, dass einige Tropfen des Destillates mit concentrirter Schwefelsäure erhitzt, reichlich Kohlenoxyd entwickelten, liess die Gegenwart von Ameisensäure erkennen. Die heiss filtrirte Silberlösung setzte beim Erkalten die charakterisch gestalteten Krystalle von Silberacetat ab, die bei der Analyse auch genau den Silbergehalt jenes Salzes zeigten. Die Mutterlauge gab beim vorsichtigen Verdampfen bis zuletzt essigsäures Silber, ohne jede Beimengung von Silbersalzen höherer Säuren.

Die Quantität der beschriebenen Gährungsprodukte war verhältnissmässig gering. Aus obigen 300 g Weinsäure resultirten nur etwa 25 g reine Bernsteinsäure und 20 g Natronsalze flüchtiger Säuren.

Da die Luft bei der Gährung Zutritt hatte und die Oberfläche der Flüssigkeit mit einer Bakterienhaut bedeckt war, so lag die Vermuthung nahe, dass ein grosser Theil der Weinsäure durch den Einfluss der auf der Oberfläche massenhaft angesammelten Bakterien geradezu in Kohlendioxyd und Wasser verwandelt worden sei, ähnlich wie der Alkohol durch den Kahnpilz an der Luft im Wein nach und nach vollständig verbrannt wird.

Um dies zu erfahren, löste ich 300 g Weinsäure in Wasser und stellte damit dieselbe Flüssigkeit, wie im vorigen Versuche dar, welche jedoch in einen 30 L fassenden Glasballon gebracht wurde, so dass derselbe bis zum Halse gefüllt war. Er wurde mit einem Kautschuk-

stöpsel verschlossen, in dessen Bohrung eine Gasentwicklungsöhre angebracht war, deren anderes Ende in eine Quecksilberwanne mündete. Die Trübung trat wie bei den vorigen Versuchen ein und es begann eine schwache Gasentwicklung, die, immer schwächer werdend, etwa 3 Wochen anhielt.

Die Temperatur war während dieses Versuches bedeutend höher, etwa 25° C. im Durchschnitt. Das über Quecksilber aufgefangene Gas bestand zum grossen Theil aus Kohlensäure, deren Menge darin relativ stets zunahm. Der von Kalilauge unabsorbirt gebliebene Rest gab sich als reines Stickstoffgas zu erkennen. Jedoch war seine Menge so gering, dass ich sicher vermüthe, es entstamme der in der Flüssigkeit aufgelöst gewesenen Luft, deren Sauerstoff durch die Bakterienentwicklung verzehrt wurde. Auch die Kohlensäuremenge, im Ganzen etwa 5 Liter, war im Vergleich mit der Menge der angewandten Weinsäure sehr gering. Nach 7 Wochen wurde die Gährung als beendet angesehen. Die Flüssigkeit, welche eine grosse Menge Ammoniumcarbonat aufgelöst enthielt, wurde wie im vorigen Versuch behandelt. Die Ausbeute an Produkten war fast noch geringer, und es resultirte kaum ein Gramm Bernsteinsäure, dagegen mehr jener amorphen, stickstoffhaltigen Masse und relativ etwas mehr Essigsäure und Ameisensäure. Die letztere, in das wenig lösliche Bleisalz übergeführt, gab etwa 12 g desselben.

Ein dritter Versuch wurde ebenfalls bei Abschluss der Luft, aber bei niederer Temperatur und in concentrirterer Lösung angestellt. Es wurden in einem Ballon von 30 Liter Capacität 1200 g Weinsäure in Wasser gelöst, mit Ammoniak neutralisirt, mit Nährsalzen und Bakterienflüssigkeit aus dem vorhergehenden Versuch versetzt, und der Ballon bis zum Halse damit angefüllt. Die Temperatur des Lokales betrug etwa 15° C. Nach 7 Wochen war alle Weinsäure verschwunden. Die Flüssigkeit gab beim Abdampfen und weiteren Behandeln reichliche Mengen von Bernsteinsäure (140 g), ferner Essigsäure (90 g trockenes Natronsalz), aber keine Spur Ameisensäure.

Diese auffallenden Verschiedenheiten in der relativen Menge der Produkte kann nicht wohl der Thätigkeit verschiedener Fermente zugeschrieben werden, denn unter dem Mikroskop zeigten die Bakterien stets dieselbe Länge, dieselbe Form und dieselbe charakteristische Bewegung¹⁾.

Auch wurde stets das Ferment aus dem vorhergehenden Versuch zur Einsaat in die neue Flüssigkeit verwendet, und gerade der mittlere Versuch wich in seinen Resultaten am meisten von den beiden anderen

¹⁾ Freilich lässt sich bei der Kleinheit der Bakterien und der Unmöglichkeit, selbst bei den stärksten Vergrösserungen nähere Details bei ihnen zu unterscheiden, nicht mit absoluter Gewissheit behaupten, dass bei den beschriebenen Gährungen nur eine Species thätig war.

ab. Ich glaube eher, dass Temperatur und Concentration einen grossen Einfluss auf die Menge der Produkte, vor allen der Bernsteinsäure ausübt. Es scheint, dass bei niedrigerer Temperatur und grösserer Concentration dieses Produkt in grösster Menge entsteht. Ich setze die Versuche fort, um zu ermitteln, ob etwa auch andere flüchtige Produkte, ausser Ammoniumcarbonat, entstehen, sowie auch, um zu erfahren, ob sich diese Gährungsart etwa zur vortheilhaften Darstellung der Bernsteinsäure eignet.

Gährung des weinsauren Kalkes.

Die Bernsteinsäure, das Hauptprodukt der Gährung des äpfel-sauren Kalkes wurde bisher bei den wenigen studirten Gährungsprozessen der so nahe verwandten Weinsäure nicht aufgefunden. Daher schien es mir von Interesse, das Verhalten anderer weinsaurer Salze gegen Bakterien zu ermitteln. Roher weinsaurer Kalk soll die sogenannte Butteressigsäure, Weinstein nur Essigsäure liefern. Es scheint daher die Art der Basis sehr starken Einfluss auf die Gährung der mit ihr verbundenen Weinsäure auszuüben. Dies hat sich bei meinen Versuchen bestätigt.

100 g Weinsäure wurden mit Ammoniak neutralisirt, mit reinem Chlorcalcium gefällt und der ausgewaschene, reine weinsaure Kalk mit 2 Liter Wasser, 2 g weinsaurem Ammon und den anderen Nährsalzen in geringen Mengen versetzt. Die Einsaat der Bakterien geschah durch einige Tropfen fermentirender Ammoniumtartratlösung. Es fand bei 20—25° C. geringe Kohlensäureentwicklung statt, die etwa 2 Monate fort dauerte. Schliesslich wurde die Flüssigkeit, die einen eigenthümlichen, nicht unangenehmen Geruch besass, vom weissen Bodensatz abgehoben und destillirt. Das Destillat wurde wiederholt über Pottasche rektificirt, jedoch konnte kein flüchtiges Produkt erhalten werden, obgleich die Destillate einen deutlichen Geruch nach Gerberlohe besaßen. Auch die Pottascherückstände enthielten keinen organischen Körper. Der Rückstand der ersten Destillation wurde zur Trockne verdampft und mit concentrirter Salzsäure destillirt. Das Destillat wurde durch vorsichtigen Zusatz von Silberoxyd von der Salzsäure befreit und mit Natriumcarbonat neutralisirt. Die Menge der nach dem Verdampfen zurückbleibenden trockenen Natronsalze war sehr beträchtlich, und betrug etwa 50 g, also die Hälfte vom Gewicht der angewandten Weinsäure. Durch Silberlösung oder Erhitzen mit Schwefelsäure konnte im Rückstand leicht Ameisensäure nachgewiesen werden.

Die flüchtigen Säuren im Rückstande wurden durch Destillation der Natronsalze mit Alkohol und Schwefelsäure in die entsprechenden

Aethylester übergeführt, und die letzteren nach den gewöhnlichen Regeln gereinigt. Bei der Destillation der reinen, trockenen Ester begann das Sieden bei etwa 60° C. und zwischen dieser Temperatur und 70° ging etwa $\frac{1}{2}$ über. Dann stieg der Siedepunkt sehr langsam, und als er 80° erreicht hatte, waren über drei Viertel übergegangen. Nun stieg der Siedepunkt rasch, und bei 105° war nur noch ein geringer Rückstand im Destillationsgefäss. Derselbe zeigte den Geruch nach Butteräther, und gab beim Verseifen, Zersetzen der Seife mit Schwefelsäure, Ausschütteln mit Aether u. s. w., in Wasser theils lösliche, theils schwer lösliche, ölförmige Säuren. Eine genaue Untersuchung derselben war wegen der geringen Menge nicht möglich, wahrscheinlich bestanden sie aus Buttersäure mit kleinen Mengen höherer Fettsäuren.

Aus der zuerst übergegangenen Portion konnte Ameisenäther gewonnen werden. Der zwischen 70° und 80° übergegangene Antheil bestand zum grössten Theil aus Essigäther mit etwas Alkohol, die dritte Fraktion dagegen enthielt neben Essigäther und Alkohol Propionsäureäther (Siedep. 100°). Das daraus durch Verseifen und Fällen mit Silberlösung erhaltene Salz zeigte den Silbergehalt des propionsauren Silbers.

Der bei der Gährung des weinsauren Kalkes gebildete weisse Bodensatz enthielt sehr viel Kalkcarbonat. Er wurde der bei der Destillation der flüchtigen Säuren zurückbleibenden salzsauren Lösung hinzugefügt, worauf dieselbe auf dem Wasserbad weiter concentrirt und mit einer dem ursprünglich angewandten weinsauren Kalk entsprechenden Menge Schwefelsäure zersetzt wurde. Nach völligem Verjagen der Salzsäure und Eintrocknen wurde die zerriebene Masse mit heissem, verdünnten Weingeist ausgezogen. Der zurückbleibende Gyps enthielt keine organischen Substanzen mehr. Die weingeistige Lösung hinterliess nach dem Verdampfen einen braunen Syrup, in welchem sich nach dem Erkalten Krystalle bildeten, die theils aus unorganischen Salzen, theils aus unzersetzter Weinsäure bestanden, während die geringe Menge syrupartiger Masse reich an stickstoffhaltigen Körpern war; Bernsteinsäure konnte nicht aufgefunden werden.

Die Produkte der Bakteriengährung des weinsauren Kalkes sind also wesentlich verschieden von denen des Ammoniumtartrates. Mit Kalk verbunden liefert die Weinsäure als Hauptprodukte Essigsäure, neben Kohlensäure, Propionsäure und geringen Mengen höherer Säuren und keine Bernsteinsäure, während die letztere neben Kohlensäure das Hauptprodukt der Ammoniumtartratgährung ist, bei welcher ausserdem nur Essigsäure, mit oder ohne Ameisensäure, jedoch keine höheren Säuren entstehen.

Formeln für die Zersetzungen lassen sich vorerst nicht aufstellen, und ich behalte mir zu diesem Zweck die Verfolgung jener interessanten Gährungsprocesse vor.

Asti, Oenologische Versuchsstation, im November 1880.

47. W. Müller-Erbach: Die Volumverhältnisse bei der Bildung und Umsetzung von Sauerstoffsalzen im Vergleich mit den dabei entwickelten Wärmemengen.

(Eingegangen am 31. Januar.)

Nachdem ich in mehreren Abhandlungen¹⁾ Beweise dafür gebracht hatte, dass bei ähnlich constituirten starren Körpern derjenige die Bestandtheile fester gebunden hält, bei dessen Bildung die grössere Verdichtung stattfand und dass die chemischen Umsetzungen stets von einer Verringerung des Gesamtvolums der sich zersetzenden Stoffe begleitet sind, konnte ich diese Sätze unter bestimmten Einschränkungen auch an einer grösseren Zahl von Flüssigkeiten nachweisen. Die grösste Schwierigkeit verursachte in vielen Fällen die Bestimmung der relativen Grösse der chemischen Verwandtschaft und in Folge davon konnte oft eine bestimmte Entscheidung nicht getroffen werden. Aus den in den letzten Jahren zahlreich publicirten Versuchen über die bei den chemischen Verbindungen stattfindenden Wärmetönungen habe ich nun Material gesammelt, um die Volumveränderungen mit denselben zu vergleichen. Ein absolutes Mass für die Verwandtschaft können die freiwerdenden Wärmemengen zwar nicht abgeben²⁾, aber sie sind als erster Anhalt dafür von hervorragender Wichtigkeit. Es ist deshalb nachstehend zunächst die bei der Bildung einiger Sauerstoffsalze beobachtete Volumveränderung mit der gefundenen Bildungswärme zusammengestellt, und es ist kein Fall ausgeschlossen, für welchen die geeigneten Angaben gefunden wurden. Die Zahlen für die Bildungswärme sind dem *Essai de mécanique chimique* von Berthelot I, 389 entnommen und die Reihenfolge der Salze ist nach steigenden Werthen der Bildungswärmen bestimmt. Was als Mehrbetrag der Bildungswärme bei den verschiedenen Gruppierungen bezeichnet ist, ergibt sich einfach aus dem Unterschied in der Bildungswärme der Salze.

¹⁾ U. a. Pogg. Ann. 189, p. 299, 154, p. 206 u. Programm der Hauptschule in Bremen 1879.

²⁾ Diese Berichte XIII, 1659.