

durch Analysen genau verfolgten Versuche in allen wesentlichen Stücken im Widerspruch mit den wenigen von den Schülern Kraut's angestellten Versuchen, wie die genaue Beschreibung derselben zeigen wird.

Positiver gestützt wird unsere Formel durch Versuche mit Strontian, aus dem wir einen dem Chlorkalk in seinem Verhalten gegen Kohlensäure völlig analogen Chlorstrontian darstellen konnten; auch hier hat man es eben mit einem zweiwerthigen Metall zu thun. Chlorbaryt darzustellen gelang uns nur in sehr unvollkommener Weise; immerhin verhielt sich auch dieser ähnlich den aus Kalk und Strontian erhaltenen Produkten.

Der Endschluss ist der: Die aus den zweiwerthigen Metallen Ca, Sr und vermuthlich auch Ba sich ableitenden Bleichsalze besitzen aller Wahrscheinlichkeit nach die Natur von Doppelsalzen der Formel $\text{Cl} \cdots \text{R} \cdots \text{OCl}$, deren sämtliches Chlor durch Kohlensäure direkt ersetzt werden kann. Die zuerst von Odling aufgestellte, übrigens nicht näher motivirte Formel des Chlorkalks = $\text{Cl} \cdots \text{Ca} \cdots \text{OCl}$, welche durch die ausführliche Arbeit von Lunge und Schaeppi als die unsere Kenntnisse am richtigsten ausdrückende nachgewiesen worden ist, muss noch immer beibehalten werden, nachdem die Einwürfe von Kraut dagegen in allen Stücken widerlegt worden sind.

Zürich, Technisch-chemisches Laboratorium des Polytechnikums.

166. Albert Fitz: Ueber Spaltpilzgährungen.

[Achte Mittheilung.]

(Eingegangen am 30. März; verlesen in der Sitzung von Hrn. A. Pinner.)

Den Ausgangspunkt zu den im Folgenden beschriebenen Versuchen bildete ein Gährversuch mit glycerinsaurem Kalk, bei welchem als Roh-Aussaat ein wenig Kuh-Exkreniente genommen worden war.

Der Spaltpilz wurde in der in der VII. Mittheilung¹⁾ beschriebenen Weise rein kultivirt.

Durch den Spaltpilz vergährbar sind Zucker, Milchzucker, Mannit, Dulcit, glycerinsaurer Kalk.

Nichtvergährbar sind Glycerin, Erythrit, Quercit, milchsaurer Kalk, äpfelsaurer Kalk, weinsaurer Kalk, citronensaurer Kalk. In Lösungen dieser Substanzen lebt und vermehrt sich der Spaltpilz nur als Aërobium.

Die Gährungsprodukte von glycerinsaurem Kalk und von Mannit wurden genauer untersucht; sie sollen zunächst beschrieben werden, um den Spaltpilz dadurch zu charakterisiren.

¹⁾ Diese Berichte XV, 868.

Es wurden 100 g glycerinsaurer Kalk verwandt (Salmiak als stickstoffhaltiger Nährstoff). Nach 9 Wochen wurde die Flüssigkeit untersucht.

Die Alkoholmenge betrug 0.23 g.

Flüchtige Säure: Die zuerst übergehende gab ein Silbersalz mit 64.5 pCt. Silber. (Essigsäures Silber verlangt 64.7.) Die ganz zuletzt übergehende gab ebenfalls krystallisiertes essigsäures Silber; in beiden Fällen wurde ein kleiner Theil des Silbersalzes beim Umkrystallisiren aus kochendem Wasser zerstört. Die flüchtige Säure besteht also aus Essigsäure mit einer kleinen Beimengung von Ameisensäure. Die Gesamtmenge der flüchtigen Säure, als Essigsäure berechnet, betrug 12.7 g.

Der Rückstand enthielt eine beträchtliche Menge Bernsteinsäure¹⁾; ein Theil derselben krystallisirte aus der abgedampften Chlorcalciumlösung nach dem Erkalten direkt aus; das Uebrige wurde durch Ausschütteln mit Aether gewonnen. Die Gesamtmenge betrug 3.66 g. Sie zeigte den richtigen Schmelzpunkt.

Von den sonderbaren Umsetzungen und Synthesen, die bei Spaltpilzgährungen vorkommen, ist der Uebergang der Glycerinsäure in Bernsteinsäure eine der interessantesten.

Von dem angewandten glycerinsauren Kalk war nur etwa 40 pCt. vergohren (berechnet nach der Menge der Gährungsprodukte und der wahrscheinlichen Gährungsleichung: $C_3H_6O_4 = C_2H_4O_2 + CO_2 + H_2$, resp. $2C_3H_6O_4 = C_4H_6O_4 + 2CO_2 + 3H_2$).

Zu der Mannitgährung wurden 200 g Mannit angewandt. Nach 6 Wochen wurde die Flüssigkeit untersucht. Es wurden erhalten 22.2 g wasserfreier Alkohol; derselbe siedete constant bis zum letzten Tropfen bei 78.6°, es ist also ganz reiner Aethylalkohol.

Flüchtige Säure: Die zuerst übergehende gab ein Silbersalz mit 64.4 pCt. Silber, die zuletzt übergehende ein Silbersalz, das beim Kochen vollständig zerstört wurde; die flüchtige Säure bestand somit aus Essigsäure und Ameisensäure; die Gesamtmenge, als Essigsäure berechnet, betrug 13.5 g.

Der Rückstand enthielt eine beträchtliche Menge von unvergohren gebliebenem Mannit, eine kleine Menge Bernsteinsäure und eine kleine Menge einer flüssigen nichtflüchtigen Säure.

¹⁾ Ich habe mich davon überzeugt, dass der angewandte glycerinsaurer Kalk keinen bernsteinsaurer Kalk enthält: 5.7 g glycerinsaurer Kalk wurden mit ein wenig mehr als der berechneten Menge Salzsäure versetzt und mit Aether ausgeschüttelt. Nach dem Abdestilliren des Aethers hinterblieb nichts. (Glycerinsäure ist unlöslich in Aether.) Bei einem früheren Gährversuch mit glycerinsaurer Kalk wurde ebenfalls Bernsteinsäure erhalten, jedoch nur 0.11 g bei Anwendung von 50 g glycerinsaurer Kalk. Bei drei anderen älteren Gährversuchen wurde keine Bernsteinsäure gebildet.

Mit Zucker wurde kein grösserer Gährversuch angestellt. Die Gährungsprodukte sind mit grosser Wahrscheinlichkeit die nämlichen wie bei Mannit, nur in anderem Verhältniss, nämlich flüchtige Säure vorherrschend und Alkoholmenge minimal.

Der Spaltpilz ist 0.9—1 Mikromm. breit; die Länge ist im Durchschnitt 2—2.5 Mikromm; ausnahmsweise geht die Länge bis zu 3 Mikromm; und andererseits geht sie zuweilen herunter bis zu 1 Mikromm. An den längsten Zellen lässt sich auch nach Zusatz von Jodlösung und bei Anwendung der besten optischen Hilfsmittel (Zeiss hom. Imm. $\frac{1}{12}$ und $\frac{1}{18}$) keine Scheidewand sehen; die kürzesten Zellen haben in der Regel Andeutungen von vier abgerundeten Ecken; doch könnte man zuweilen diese Form anstandslos Micrococcusform nennen. Die Bacteriumform der langen Zellen und die Micrococcusform der kürzesten Zellen gehören hier zweifellos zusammen. Der Spaltpilz zeigt Eigenbewegung; er bildet keine Haut auf der Oberfläche; er geht nicht in Dauersporen über.

Das Temperaturoptimum scheint bei 37—40° zu liegen.

Die Grenze der Vermehrungsfähigkeit liegt zwischen 45.0 und 45.5°.¹⁾ Zwischen 45.5 und 55.5° befindet sich der Spaltpilz in einer Art Wärmestarre. Die Tödtungstemperatur liegt zwischen 55.5 und 56.1°.

Bei diesen Versuchen wurden die sterilisirten Kölbchen längere Zeit (circa 6 Stunden) in die betreffenden Thermostate eingesetzt, dann zur Beschickung mit Pilzmaterial einen Moment herausgenommen und sogleich wieder eingesetzt. Von den zahlreichen Versuchen (mehrere Dutzende) führe ich nur einige der wichtigeren an.

Bei 56.1° ist der Pilz nach $\frac{1}{4}$ Stunde todt. Die Tödtung wird daran erkannt, dass das Kölbchen, in ein Thermostat von 38° gebracht, im Laufe der nächsten drei Wochen keine Trübung und Pilzentwicklung zeigt.

Bei 55.5° ist der Pilz nach $\frac{1}{4}$ Stunde noch lebend, nach $\frac{1}{2}$ Stunde todt.

Bei 54.8° desgleichen.

Bei 54.4° ist der Pilz nach 1 Stunde noch lebend, nach 2 Stunden todt.

Bei 54.0° ist er nach 1 Stunde noch lebend, nach 3 Stunden todt.

Der Spaltpilz vergäht Milchzucker; er scheint also ein Enzym auszuscheiden, das den Milchzucker hydratisirt; dagegen scheidet er

¹⁾ Die Thermostate zeigen bei monatelangem Betrieb eine Temperaturschwankung von 0.1°. Ich benutze Reichert'sche Regulatoren mit enorm grossem Quecksilbergefäss und bei äusserst kleinen Unterhaltungsflämmchen Brenner ohne Luftzutritt.

kein eiweissverdauendes Enzym aus, kein Harnstoff-Enzym, kein Stärke-Enzym, kein Cellulose-Enzym.¹⁾

Die Fähigkeit, Gährung zu erregen, wird bei dem Spaltpilz ganz ebenso wie bei dem *Bacillus butylicus* in der auffallendsten Weise abgeschwächt durch Kultur bei sehr reichlichem Sauerstoffzutritt, sowie durch hohe Temperatur.

Der erste Versuch mit der Roh-Aussaat war eine stürmische Gährung; hiervon wurde verdünntes Pilzmaterial²⁾ in eine Serie von sterilisirten Kölbchen ausgesät; zufälligerweise war die Verdünnung nicht stark genug, so dass sämtliche Kölbchen Pilzentwicklung zeigten; es waren also in jedes Kölbchen mehrere Zellen ausgesät worden; in den Kölbchen trat schöne Gährung ein; sie war indess viel weniger intensiv als die ursprüngliche Rohgährung. Es wurde nun verdünntes Pilzmaterial, herrührend von einem Kölbchen der ersten Serie, in eine zweite Serie von Kölbchen ausgesät. Diesmal zeigte nur der dritte Theil der Kölbchen Pilzentwicklung; es war also mit grösster Wahrscheinlichkeit in jedes dieser letzteren nur Eine Pilzzelle ausgesät worden. In den Kölbchen trat Gährung ein, sie war jedoch ausserordentlich schwach und hörte schon nach wenigen Tagen auf.

Wir haben hier also eine stufenweise Abschwächung der Gährfähigkeit.

Der im Anfang dieser Mittheilung beschriebene Gährversuch mit 100 g glycerinsaurem Kalk war nur unvollständig verlaufen; es war dabei der reine Spaltpilz verwendet worden, der in Folge der Methode der Reinkultur von seiner Gährfähigkeit eingebüsst hatte. Die in einer früheren Mittheilung beschriebenen Gährversuche mit glycerinsaurem Kalk, bei denen das Pilzmaterial zwar nicht völlig rein war, aber seine volle Gährkraft besass, waren viel vollständiger und rascher verlaufen.

Die Gährfähigkeit wird auch abgeschwächt, wenn man das Pilzmaterial mehrere Tage lang der Temperatur von 45°, oder kurze Zeit der Temperatur von 55° aussetzt.

Die Abschwächung der Gährfähigkeit durch die bezeichneten Einflüsse findet sich wie es scheint ganz allgemein bei den gährungs-erregenden Spaltpilzen.

¹⁾ Bei dem *Bacillus butylicus* habe ich nachträglich constatirt, dass er kein Cellulose-Enzym ausscheidet. Zu dem Versuche wurde schwedisches Filtrirpapier genommen.

²⁾ Als Verdünnungsflüssigkeit nimmt man anstatt destillirten Wassers besser Gährflüssigkeit.

Eine Anzahl von verschiedenartigen Versuchen, die Gährfähigkeit des abgeschwächten Spaltpilzes wieder zu erhöhen, ergab bis jetzt keine recht befriedigende Resultate.

Es wäre möglich, dass der Spaltpilz von einem gewissen Grad der Abschwächung gewisse Substanzen nicht zu vergähren vermag, die der Spaltpilz im Vollbesitz seiner Gährfähigkeit bezwingen kann, ganz ebenso wie der Milzbrandbacillus von einem gewissen Grad der Abschwächung eine gewisse Thierspecies tödtet, eine andere dagegen nicht, die dem ungeschwächten Milzbrandbacillus unterliegt. Es wäre nicht unmöglich, dass von den oben aufgezählten Substanzen, die durch den reinen, aber geschwächten Spaltpilz nicht vergährbar sind, die eine oder andere von dem ungeschwächten Spaltpilz bezwungen würde.

Strassburg. Privatlaboratorium.

167. Paul Friedlaender und J. Mähly: Ueber Dinitrozimmtsäure.

[Mittheilung aus dem chem. Laboratorium der Kgl. B. Akademie der Wissenschaften zu München.]

(Eingegangen am 30. März; verlesen in der Sitzung von Hrn. A. Pinner.)

In einer früheren Mittheilung¹⁾ wurde auf die Bildung einer Verbindung aufmerksam gemacht, welche sich beim Nitriren von Paranitrozimmtsäureäther mittelst Salpeterschwefelsäure bildet und die Zusammensetzung eines Dinitrozimmtsäureäthers, $C_{11}H_{10}N_2O_6$, besitzt. Aus der glatten Bildung von Paranitrobenzaldehyd resp. Paranitrobenzoësäure bei der Oxydation durfte man schliessen, dass beim Nitriren die Stickstoffgruppe NO_2 in die Seitenkette des Paranitrozimmtsäureäthers getreten sei, und es galt nun zunächst die Frage zu beantworten, in welcher Weise diese Substitution vor sich gehe. War die Substanz als wahres Dinitroderivat der Zimmtsäure zu betrachten, so konnte man bei der Reduktion die Entstehung einer Diamidoverbindung erwarten, war sie dagegen als Salpetrigsäureäther ($---O---NO$) aufzufassen, so musste ein Stickstoffatom bei der Reduktion als Ammoniak austreten.

Es gelang uns nun bei sehr vorsichtiger Reduktion die Bildung einer Diamidohydrozimmtsäure nachzuweisen, welche sich als identisch mit dem von Erlenmeyer und Lipp²⁾ dargestellten Paramidophenylalanin erwies, und wie dieses bei der Einwirkung von salpetriger Säure in Tyrosin übergeführt wurde. Da letzteres nach

¹⁾ P. Friedlaender. Diese Berichte XIV, 2575.

²⁾ Diese Berichte XV, 1544.