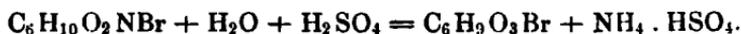


Der Bromaminocrotonsäureester kann auch durch Einwirkung von Natriumhypobromit auf Aminocrotonsäureester in guter Ausbeute erhalten werden.

Uebergießt man den Ester mit verdünnter Schwefelsäure, so verflüssigt er sich schon in der Kälte unter fast glatter Bildung von Ammoniak und Bromacetessigester.



$\text{C}_6\text{H}_9\text{O}_3\text{Br}$ . Ber. C 34.88, H 4.29, Br 38.27.

Gef. » 34.63, » 3.95, » 38.11.

Bei der Reaction entsteht nur  $\alpha$ -Bromacetessigester und keine  $\gamma$ -Verbindung. Behandelt man den Ester in wässriger Lösung mit Thioharnstoff, so erhält man in reichlicher Menge den bei 175° schmelzenden Methylamidothiazolcarbonsäureester (Ber. S 17.50. Gef. S 17.08). Von dem isomeren  $\mu$ -Amidothiazylessigester konnte keine Spur aufgefunden werden.

Der Vorgang steht in völliger Analogie zu der von Chattaway und Orton beobachteten Umwandlung der Stickstoffbromide in im Kern bromirte Körper, indem sich wohl zunächst  $\beta$ -Amino- $\alpha$ -Bromcrotonsäureester bildet, welcher dann weiter in Ammoniak und  $\alpha$ -Bromacetessigester zerfällt.

Durch Einwirkung von Acetylchlorid oder Natriumhypochlorit auf Aminocrotonsäureester haben wir auch den bei 53° schmelzenden Chloraminocrotonsäureester erhalten. Von einer Ausdehnung der Untersuchung auf andere Stickstoffverbindungen sehen wir mit Rücksicht auf die Arbeiten von Chattaway und Orton ab.

Organ.-Chem. Laborat. der Technischen Hochschule Hannover.

#### 34. R. Albert und Ed. Buchner: Hefepresssaft und Fällungsmittel.

[Aus dem chem. Laboratorium der Landwirtschaftl. Hochschule zu Berlin.]

(Vorgetragen in der Sitzung vom 8. Januar von Hrn. Ed. Buchner.)

Ueber die Natur des gährwirksamen Agens im Hefepresssaft konnte das Verhalten desselben gegen gewisse Fällungsmittel, insbesondere gegen Alkohol, vielleicht Aufschluss geben. Lebende Protoplasmasplitter müssten durch Alkohol auf's Schwerste geschädigt werden. Dagegen haben Payen und Persoz bereits 1832 aus wässrigem Malzauszug durch Zusatz von Alkohol wirksame Diastase gefällt. Auch die anderen Enzyme verhalten sich ähnlich; die

Vollständigkeit der Fällung hängt dabei nicht allein von der Alkoholmenge, sondern besonders auch von der Quantität im wässrigen Auszug vorhandener, durch Alkohol fällbarer Beimengungen ab, sodass die Enzyme, selbst in verdünntem Alkohol nicht unlöslich, zum Theil durch die übrigen gefällten Stoffe mechanisch niedergerissen zu werden scheinen; längere Berührung des Niederschlages mit dem Alkohol ist zu vermeiden, da sie die Wirksamkeit der Fällung und ihre Löslichkeit in Wasser vermindert<sup>1)</sup>.

Wie schon früher erwähnt, gelingt es, durch zwölf Volumina Alkohol ein gährwirksames Product aus Hefepresssaft auszufällen<sup>2)</sup>; ausführliche Versuche haben nun gezeigt, dass es auf diesem Wege, insbesondere wenn an Stelle von Alkohol eine Alkohol-Aether-Mischung angewandt wird, möglich ist, die gesammte Zymase ohne Verlust an Gährkraft in trocknen Zustand überzuführen; sie geht nach dieser Behandlung allerdings in Wasser nur langsam wieder in Lösung, sodass die volle Wirkung nur erhalten wird, wenn man den Niederschlag in Wasser suspendirt, ohne zu filtriren. Die Zymase verhält sich demnach gegenüber Alkohol genau wie die übrigen Enzyme<sup>3)</sup>.

Voran seien noch zwei Versuche über Fällung des Hefepresssaftes durch Aceton gestellt, welche Hr. Dr. Rudolf Rapp in München ausgeführt und uns zur Veröffentlichung freundlichst überlassen hat; nach dem günstigeren derselben ist etwas mehr als die Hälfte des Agens bei der Acetonfällung gährwirksam geblieben. Ueber die Fällbarkeit der Zymase mit Hülfe anorganischer Niederschläge im Presssaft soll später berichtet werden.

### Fällung durch Aceton.

Je 100 ccm Presssaft wurden in 200 bzw. 400 ccm Aceton (Kahlbaum) eingetragen, der Niederschlag sofort abgesaugt und im Vacuumexsiccator über Schwefelsäure getrocknet; die Ausbeute betrug 10.4 bzw. 11.0 g. Zur Bestimmung der Gährkraft wurden 2.1 bzw. 2.2 g Trockensubstanz suspendirt in 18 ccm Wasser unter Zusatz von 8 g Rohrzucker und 0.2 ccm Toluol. Temperatur 13—14°. Als Controlle kam die entsprechende Menge (je 20 ccm) des frischen Hefepresssaftes unter Zusatz von 8 g Rohrzucker und 0.2 ccm Toluol zur Aufstellung.

<sup>1)</sup> Vgl. Duclaux, *Traité de Mikrobiologie*, Paris 1899, II, 100.

<sup>2)</sup> Buchner, *diese Berichte* 30, 1112; Buchner und Rapp, ebenda 30, 2671.

<sup>3)</sup> Dass im Presssaft erzeugte Niederschläge die Zymase mit niederreißen, hat auch J. Reynolds Green, *Annals of Botany* 12 (1898), 497 beobachtet.

Datum		gebildetes Kohlendioxyd in g nach Stunden			
		16	40	64	88
28. IV. 99	100 ccm Presssaft eingetragen in 200 ccm Aceton . . . . .	0.10	—	0.36	—
»	Hefepresssaft vor Acetonzusatz	0.31	—	0.90	—
5. XII. 99	100 ccm Presssaft eingetragen in 400 ccm Aceton . . . . .	0.10	0.20	0.35	0.40
»	Hefepresssaft vor Acetonzusatz	0.10	0.25	0.50	0.70

### Fällung durch Alkohol und durch Alkohol-Aether.

Nach mehreren Versuchen<sup>1)</sup> hat es sich am vorteilhaftesten erwiesen, 50 ccm Presssaft unter starkem Umrühren mittels Rührwerks einfließen zu lassen in 600 ccm Alkohol abs. (nicht in Spirit) oder noch besser in 400 ccm Alkohol + 200 ccm Aether; der Niederschlag wird sofort abgesaugt, mit Alkohol und schliesslich mit Aether gründlich gewaschen und möglichst rasch (6 Min. nach Beginn des Eintragens) in einen Vacuumexsiccator über Schwefelsäure gebracht. Man erhält eine fast weisse, krümelig-poröse Masse (5—7 g), die in Wasser nur mehr zum Theil löslich ist. Um die Auflösung zu erleichtern, zerreibt man das Pulver mit der 4—5-fachen Gewichtsmenge Quarzsand. Die Löslichkeitsverhältnisse des Niederschlags in Glycerin sollen noch geprüft werden.

Zur Bestimmung der Gährkraft wurde in einigen Fällen die 20 ccm Presssaftentsprechende Menge Trockensubstanz (2.6 bzw. 2.9 g), nachdem sie mit Sand zerrieben war, direct in 18 ccm Wasser suspendirt und 8 g Rohrzucker zugesetzt. Bei den übrigen Versuchen dagegen zerrieb man die ganze, 50 ccm Saft entsprechende Trockensubstanz mit 20 g Quarzsand und 20 g Saccharose im Mörser, gab hierauf 45 ccm Wasser zu und filtrirte nach  $\frac{1}{2}$  Stunde durch mehrere Faltenfilter; es ist merkwürdig, dass die Gährwirkung hier so langsam einsetzt und noch Zeit zum Filtriren bleibt, gerade als ob das Enzym durch die Alkoholbehandlung in eine Art von Anhydrid übergegangen wäre, welches sich erst allmählich unter Wasseraufnahme in die wirksame Form zurückverwandelt. Vom klaren, gelblich gefärbten Filtrat kamen 25 ccm in einen der auch sonst verwendeten kleinen Erlenmeyer-Kolben mit Schwefelsäurewaschfläschchen und Bunsen-Ventil zur Bestimmung des Gewichtsverlustes (es gelangten dabei 25 ccm zur Anwendung, statt wie sonst 20 ccm, weil die bei der Auflösung der Saccharose eintretende Volumzunahme zu berücksichtigen war).

<sup>1)</sup> Ueber dieselben soll in der »Wochenschrift für Brauerei« ausführlicher berichtet werden.

sichtigen ist). Bei allen in dieser Mittheilung beschriebenen Versuchen wurden als Antisepticum einige Körnchen Thymol zugesetzt<sup>1)</sup>; das in den Kölbchen befindliche Kohlendioxyd wurde vor der letzten Wägung nicht durch Luft verdrängt, da die hierdurch bedingten Fehler das Resultat nicht wesentlich beeinflussen können; die Temperatur war bei den Parallelversuchen genau dieselbe, im Allgemeinen 20°. Zur Herstellung des Presssaftes wurde untergäbrige Bierhefe, für deren Ueberlassung wir der Norddeutschen Brauerei zu Berlin (Hrn. Braumeister Rother) zu grossem Danke verpflichtet sind, verwendet, welche nach dem Verfahren von Hayduck vorher noch regenerirt worden war<sup>2)</sup>.

Gährkraft der Alkoholfällungen verglichen mit derjenigen des frischen Saftes.

Datum	50 ccm Presssaft eingetragen in ccm		gebildetes Kohlendioxyd in g nach Stunden		
			20	44	68
4. XII. 1899	600 Alkohol abs. —	Alkoholfällung in Wasser gelöst und filtrirt Hefepresssaft vor Alkoholzusatz	0.17 0.24	0.28 0.48	0.33 0.65
11. XII.	600 Alk. abs. 500 » » + 100 Aether —	Alkoholfällung in Wasser gelöst und filtrirt Hefepresssaft vor Alkoholzusatz	0.14	0.26	0.32
			0.18	0.32	0.36
12. XII.	500 Alk. abs. + 100 Aether 400 » » + 200 » —	Alkoholfällung in Wasser gelöst und filtrirt Hefepresssaft vor Alkoholzusatz	0.27	0.51	0.56
			0.32	0.64	0.75
16. XII.	600 Alk. abs. 500 » » + 100 Aether 400 » » + 200 » —	Alkoholfällung in Wasser gelöst und filtrirt Hefepresssaft vor Alkoholzusatz	0.20	0.37	0.41
			0.24	0.42	0.44
17. XII.	500 » » + 100 » 400 » » + 200 » —	Alkoholfällung in Wasser gelöst und filtrirt Hefepresssaft vor Alkoholzusatz	0.31	0.51	0.57
			0.39	0.59	0.62
31. X.	600 Alkohol abs. —	Alkoholfällung in Wasser suspendirt Hefepresssaft vor Alkoholzusatz	0.27 0.39	0.36 0.53	0.53 0.54
17. XI.	600 Alkohol abs. —	Alkoholfällung in Wasser suspendirt Hefepresssaft vor Alkoholzusatz	0.36 0.53	0.77 1.24	1.28 1.33

<sup>1)</sup> Vgl. R. Albert, Wochenschr. f. Brauerei 16 (1899), 487.

<sup>2)</sup> Vgl. R. Albert, diese Berichte 32, 2372.

Längere Berührung mit Alkohol schädigt die Gährkraft.

Zweimal je 50 ccm frischer Presssaft wurden in 600 ccm Sprit von 96 pCt. eingetragen, in einem Falle sofort abgesaugt und getrocknet (erhalten 6.5 g Trockensubstanz), im andern 15 Stunden stehen gelassen und nun erst abgesaugt und getrocknet (erhalten ebenfalls 6.5 g Trockensubstanz). Zur Ermittlung der Gährkraft suspendirte man je 2.6 g Trockensubstanz in 18 ccm Wasser unter Zusatz von einigen Körnchen Thymol und 8 g Saccharose; zum Vergleich wurde auch die Gährkraft der entsprechenden Menge des gleichen Presssaftes vor dem Alkoholzusatz (20 ccm) festgestellt. Die Gährkraft des nur rasch gefällten Niederschlags war fast unverändert gegenüber dem frischen Saft geblieben, wogegen das 15-stündige Stehen mit Sprit sehr geschädigt hatte.

Datum	50 ccm Presssaft eingetragen in 600 ccm Sprit	gebildetes Kohlendioxyd in g nach Stunden		
		20	44	68
4. XI. 99	Alkoholfällung sogleich vom Sprit befreit, dann in Wasser suspendirt	0.28	0.33	0.52
	Alkoholfällung 15 Std. mit Sprit gestanden, dann in Wasser suspendirt	0.09	0.19	0.20
	Hefepresssaft vor der Alkoholfällung	0.39	0.53	0.54

Vom Gewicht des Alkoholniederschlags entfällt nur ein verschwindender Bruchtheil auf die Zymase.

Je 50 ccm frischer Presssaft wurden in 200 ccm Sprit von 96 pCt. (Versuch A) beziehungsweise 600 ccm Sprit (B) eingetragen; es resultirten je 6.7 g getrocknete Fällung. Beide Niederschläge wurden in 45 ccm Wasser gelöst und nach Zusatz von Thymol und 8 g Rohrzucker zu 20 ccm des Filtrats die Gährkraft bestimmt. Dieselbe war doppelt so gross bei B (Fällung durch viel Sprit), als bei A (Fällung durch wenig Sprit). Der erstere Niederschlag enthielt also ungefähr zweimal soviel Zymase als der letztere; trotzdem zeigten beide Niederschläge dasselbe Gewicht; die Menge der Zymase in der Fällung ist demnach so gering, dass sie nicht in Betracht kommt gegenüber dem Gewicht der übrigen Bestandtheile. Die Versuche zeigen auch, dass mehr als vier Volumina Sprit verwendet werden müssen, falls eine annähernd vollständige Fällung der Zymase beabsichtigt ist. Zum Vergleich wurde endlich die Gährkraft der entsprechenden Menge (20 ccm) desselben Presssaftes vor dem Alkoholzusatz nach Zugabe von 8 g Rohrzucker und Thymol festgestellt; das Resultat stimmt mit den oben veröffentlichten überein.

Datum	50 ccm Presssaft eingetragen in ccm	gebildetes Kohlendioxyd in g nach Stunden		
		20	44	68
17. XI. 99	200 Sprit) Alkoholfällung in Wasser	0.09	0.13	0.26
	600 Sprit) gelöst und filtrirt	0.22	0.43	0.58
	Hefepresssaft vor Alkoholzusatz .	0.47	0.83	1.10

#### Fractionirtes Ausfällen durch Alkohol

ist bisher erfolglos versucht worden. Je 50 ccm Presssaft wurden in 100 bezw. 200 ccm absoluten Alkohol eingetragen, die entstandenen Fällungen, welche schwache Gährkraft besaßen, abfiltrirt und das Filtrat von Neuem mit 500 bezw. 400 ccm absolutem Alkohol versetzt; hierdurch kamen nur äusserst geringe Mengen eines Niederschlages zur Abscheidung, in welchem keine Gährwirkung mehr nachzuweisen war.

Nachschrift. Im letzten Heft des Centralbl. f. Bacteriologie, II. Abth., 6 (1900), 11, Anm. 1, äussert Hr. M. W. Beyerinck in Delft: »Mit Verwunderung sehe ich aus der Literatur, dass Hr. E. Buchner noch immer die unhaltbare Meinung vertheidigt, dass es sich (bei der alkoholischen Gährung) um eine Enzymwirkung handelte. Zunächst wird wohl Hr. Beyerinck sein Anrecht auf »Verwunderung« beweisen müssen, nachdem sich die auf der Münchener Naturforscherversammlung 1899 anwesenden Pflanzenphysiologen unter dem Vorsitz W. Pfeffer's zu Gunsten der Enzymtheorie ausgesprochen haben.

#### 35. Eugen Bamberger und Friedr. Brady: Ueber die Einwirkung der Alkalien auf Arylhydroxylamine.

(Eing. am 15. Januar; mitgeth. in der Sitzung von Hrn. W. Marckwald.)

Die unlängst<sup>1)</sup> erschienene Notiz von Jul. Schmidt: »Ueber die Reduction des Nitrobenzols mit Natrium«, in welcher der Verfasser ein Dinatriumsalz des Phenylhydroxylamins beschreibt, veranlasst uns, aus den im hiesigen Laboratorium ausgeführten, bisher unveröffentlichten Untersuchungen über aromatische Hydroxylaminbasen Einiges zur Mittheilung zu bringen.

Phenylhydroxylamin zeigt neben seinen basischen auch saure Eigenschaften; man kann sich von dieser Thatsache leicht überzeugen, wenn man das Präparat unter *peinlichstem Luftabschluss* in nicht zu verdünnte Natronlauge einträgt; es wird alsdann völlig klar und in

<sup>1)</sup> Diese Berichte 32, 2911. <sup>2)</sup> Näheres in seiner Dissertation.