

Schliesslich bemerke ich, dass ich die Frage nach der Numerierung nicht für erledigt halte, und gern einem besseren Vorschlage zustimmen würde.

Heterobicyclische Systeme können übrigens auch in Bezug auf ihre Configuration durch eine Charakteristik ausgedrückt werden. So kommt z. B. den Substanzen der Harnsäuregruppe dieselbe Charakteristik [0, 3, 4] wie dem Inden und dem Indol zu.

Auf die Nomenclatur tricyclischer Systeme lässt sich dasselbe Princip anwenden, es scheint aber heutzutage noch kein Bedürfniss dafür vorzuliegen.

### 630. R. Albert: Einfacher Versuch zur Veranschaulichung der Zymase-Wirkung.

[Aus dem chem. Laboratorium der Landwirtschaftl. Hochschule zu Berlin.]  
(Vorgetragen in der Sitzung von Hrn. R. Albert.)

E. Buchner<sup>1)</sup> hat kürzlich ein Verfahren mitgetheilt, nach welchem es gelingt, Hefe durch geeignetes Trocknen und darauffolgendes Erhitzen abzutöden, ohne die darin enthaltene Zymase zu zerstören. Schon vor einiger Zeit habe ich ferner in Gemeinschaft mit E. Buchner festgestellt<sup>2)</sup>, dass aus Hefepresssaft das Gährung erregende Enzym mittels Alkohol-Aether ausgefällt und ohne an Gährkraft einzubüssen, in eine dauernd haltbare Form übergeführt werden kann. Es war mir daher sehr wahrscheinlich, dass auch die in frischer Hefe befindliche Zymase durch eine ähnliche Behandlung fixirt werden könne. In der That gelingt es, Hefe durch Eintragen in Alkohol-Aether zu töden, ohne ihre Gährwirkung aufzuheben, und es ist dadurch ein Verfahren gegeben, welches künftig gestattet, ohne Anwendung einer hydraulischen Presse, Zymase aus Hefe zu gewinnen. Gleichzeitig ist damit ein weiterer schwerwiegender Beweis für die Enzymnatur der Zymase erbracht und voraussichtlich auch bald die Forderung C. Wehmer's<sup>3)</sup> erfüllt, welcher nicht eher an einen enzymatischen Vorgang bei der alkoholischen Gährung glauben will, als bis ein im Handel erhältliches Product geschaffen ist, welches Jedem die Nachprüfung gestattet.

#### Experimentelles.

Frisch aus der Brauerei bezogene Hefe wird — nachdem sie mehrmals gewaschen ist — durch Coliren und Auspressen von anhaftendem Wasser möglichst befreit. 250g dieser Masse werden nun durch ein Haarsieb hin-

<sup>1)</sup> Diese Berichte 33, 3307.

<sup>2)</sup> Diese Berichte 33, 266, 971.

<sup>3)</sup> Chemikerzeitung, Cöthen, 24 (1900), 604.

durch in ein Gemenge von 3 L absolutem Alkohol und 1 L Aether eingetragenen [Die Anwendung von weniger Alkohol (2½ L) ohne Aether giebt ungünstigere Resultate]. Nach 4—5 Minuten entfernt man die Hauptmenge des Alkohol-Aethers von der sich rasch zu Boden setzenden Hefe durch Abgiessen, den Rest durch Absaugen. Durch darauffolgendes Waschen mit ca. ½ L Aether wird der noch anhaftende Alkohol völlig entfernt und der Rückstand dann sofort in dünner Schicht auf Filtrirpapier ausgebreitet. Nach Verlauf von einer Stunde hat man auf diese Weise ca. 90 g eines gelblich-weissen Pulvers erhalten, in welchem sich nicht eine einzige lebende Hefezelle mehr befindet, wie ich dies durch Ueberimpfen in sterile Bierwürze bei mehr als fünfzehn verschiedenen Versuchen mit Sicherheit feststellen konnte. Ebenso wurden mit sehr verdünnter wässriger Methylenblaulösung (1 : 50000) im mikroskopischen Präparate nach kurzer Zeit sämtliche Zellen intensiv blau gefärbt, ein sicheres Zeichen, dass sie nicht mehr lebensfähig waren. Suspendirt man auf solche Weise erhaltenes Hefepulver in der fünffachen Menge einer wässrigen 20-procentigen Rohrzuckerlösung<sup>1)</sup>, so tritt bei Zimmertemperatur nach einer Stunde, bei 38—40° dagegen schon nach ca. 30 Minuten Kohlendioxidentwicklung ein, welche rasch zunimmt und schliesslich geradezu stürmisch verläuft. Mit solcher getödteten Hefe wurden quantitative Gährkraftbestimmungen in der Weise ausgeführt, dass je 2 g Trockenhefe mit 2 resp. 4 g Rohrzucker und 10 ccm Wasser in Kölbchen mit Schwefelsäureverschluss angesetzt und die Mengen des entwickelten Kohlendioxyds durch Gewichtsverlust bestimmt wurden. Die Temperatur bei allen Bestimmungen betrug 22°; als Antisepticum diente ein Zusatz einiger Körnchen Thymol. Die in nachstehender Tabelle angeführten Zahlen geben die Mengen Kohlendioxyd in Grammen an; fünf an verschiedenen Tagen aus derselben Brauerei bezogene Unterhefen ergaben demnach:

Nach Stunden		2 g Zuckerzusatz			4 g Zuckerzusatz		
		24	48	72	24	48	72
Hefe	I	0.48	0.74	0.78	0.36	0.72	1.13
»	II	0.49	0.75	0.79	0.37	0.73	1.11
»	III	0.51	0.62	0.72	0.36	0.56	1.11
»	IV	0.56	0.72	0.75	0.44	0.76	1.19
»	V	0.58	0.72	0.74	0.39	0.68	1.07

Die so erhaltenen Zahlen zeigen zunächst eine auffallende Uebereinstimmung unter einander. Da man annehmen darf, dass hierbei die

<sup>1)</sup> In Wasser allein suspendirt, tritt ebenfalls Gasentwicklung ein, welche jedoch bald wieder aufhört und durch den Glykogengehalt der Hefezellen verursacht wird.

gesamte, in der Hefezelle im Augenblicke ihrer Tödtung vorhandene Zymase zur Wirkung kommt, so geht daraus hervor, dass der Enzymvorrath in demjenigen Stadium, in welchem sich die Hefe befindet, wenn sie aus der Brauerei bezogen wird, stets nahezu gleich gross ist. Die Schlusszahlen, welche bei 4 g Zuckerzusatz erhalten wurden, sind höher und geben den vollen Wirkungswerth der Zymase an. Der Theorie nach liefern 2 g reinen Rohrzuckers bei glattem Zerfall in Alkohol und Kohlensäure 1 g Kohlendioxyd. Bei der ausgeführten Gährkraftbestimmung sind diejenigen Mengen von Kohlendioxyd nicht berücksichtigt, welche in der Flüssigkeit gelöst blieben und welche sich an Stelle der ausgetriebenen Luft im Gährkölbchen befinden. Bei den Bestimmungen mit 2 g Zuckerzusatz ist daher anzunehmen, dass der Zucker bis auf sehr geringe Mengen, welche sich in der schliesslich allzuverdünnten Lösung der Enzymwirkung entziehen, vergohren wurde. Vergleicht man diese Zahlen ferner mit denjenigen, welche man bei Gährkraftbestimmungen mit Hefepresssaft erhält, der aus derselben Hefe in frischem Zustande gewonnen wurde, so sind sie sehr viel höher als jene. 500 g Schultheiss-Hefe liefern durchschnittlich 200 ccm Presssaft<sup>1)</sup>, welche bei 80 g Rohrzuckerzusatz im günstigsten Falle 20 g Kohlendioxyd entwickeln. 500 g frischer Hefe entsprechen 180 g Trockenhefe, welche unter denselben Umständen 99 g Kohlendioxyd liefern, woraus hervorgeht, dass durch die Presssaftgewinnung nur etwa der fünfte Theil der in der Hefe befindlichen Zymase ausgezogen wird.

Der Gährvorgang vollzieht sich auch bei derartig getödteter Hefe innerhalb der Zelle, nachdem die Zuckerlösung durch die noch intacte Zellwand hindurchdiffundirt ist. Eine gährkräftige, wässrige Lösung kann daher durch Extrahiren mit Wasser oder verdünnter Glycerinlösung ebenso wenig erhalten werden, wie aus frischer, lebender Hefe. Erst nach vorausgegangener Zerstörung der Zellwand und in diesem Falle wahrscheinlich auch noch des geronnenen Protoplasmaschlauches, lässt sich die Zymase in Lösung bringen, jedoch mit der Vereinfachung, dass man hierbei die Anwendung der hydraulischen Presse umgehen kann. Eine völlig klare, sehr gährkräftige Lösung, welche sich namentlich zu Demonstrationszwecken besonders eignet, lässt sich auf folgende Weise erhalten: 100 g wie oben beschriebenes Hefepulver werden mit 200 g möglichst feinem Quarzsand in einem geräumigen Mörser zunächst trocken zerrieben, darauf 200 ccm Wasser zugefügt und das Zerreiben noch ca. 10 Minuten fortgesetzt. Die ganze Masse wird nun auf eine mit gehärtetem Filtrirpapier bedeckte Porzellannutsche gegeben. Vermittelst einer

<sup>1)</sup> Die bei Presssaftgewinnung aus Münchener Hefe erhaltenen Ausbeuten sind etwas günstiger.

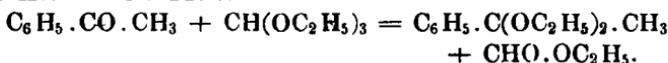
gut wirkenden Wasserstrahlpumpe lassen sich in kurzer Zeit reichlich 100 ccm eines dunkelbraun gefärbten Filtrates gewinnen. Die so erhaltene Lösung ist gährkräftig; da sie sehr verdünnt ist, tritt auf Zuckerzusatz die Gasentwicklung erst nach einiger Zeit ein; man unterwirft das Filtrat daher zweckmässig erst der Alkohol-Aether-Fällung, in der früher für Hefepresssaft beschriebenen Weise<sup>1)</sup>. Aus 50 ccm erhält man dadurch 2—3 g eines gelbweissen, pulverigen Niederschlages, welche sich in 10—15 ccm Wasser leicht auflösen und nach Zusatz von wenig Kieselguhr klar filtriren lassen. Löst man in dem Filtrate 4 g Rohrzucker auf, so tritt schon bei gewöhnlicher Temperatur fast augenblicklich eine lebhafte Gährung ein, welche viele Tage anhält, ohne dass die Lösung sich trübt.

**681. L. Claisen und E. Haase: Umlagerung der *O*-Acyl-derivate des Acetessigesters in die isomeren *C*-Acyl-derivate.**

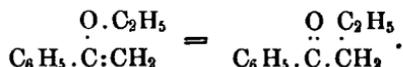
[Mittheilung aus dem chem. Institut der Universität Kiel.]

(Eingegangen am 31. December.)

Vor einigen Jahren berichtete der Eine von uns<sup>2)</sup> über eine eigenthümliche Umlagerung, welche in den folgenden Phasen verlief. *Acetophenon* wurde vermittelst Orthoameisensäureester in das zugehörige *Acetal* verwandelt:



Dem Acetal konnte leicht ein Molekül Alkohol entzogen werden, wobei der Aethyläther  $\text{C}_6\text{H}_5 \cdot \text{C}(\text{OC}_2\text{H}_5) : \text{CH}_2$  des dem Acetophenon isomeren Alkohols  $\text{C}_6\text{H}_5 \cdot \text{C}(\text{OH}) : \text{CH}_2$  entstand. Dieser *Isoacetophenon-Aethyläther* lagerte sich beim Kochen unter 2 Atmosphären Druck in *Phenylpropylketon* um, indem das Aethyl vom Sauerstoff an den Kohlenstoff wanderte:



In gleicher Weise wurde aus dem Dimethylacetal des Acetophenons Phenyläthylketon und aus dem Dipropylacetal Phenylbutylketon erhalten. Bei diesen Versuchen zeigte sich, dass die Umlagerung um so leichter stattfindet, je grösser das zu verschiebende Alkoholradical ist; bei dem Propylderivat  $\text{C}_6\text{H}_5 \cdot \text{C}(\text{OC}_3\text{H}_7) : \text{CH}_2$  erfolgte sie zu erheblichem Betrage schon dann, wenn man den Körper unter gewöhnlichem Druck einige Zeit sieden liess. Da die Erscheinungen der Desmotropie gewöhnlich dem geringen Gewicht des

<sup>1)</sup> Diese Berichte 33, 268.

<sup>2)</sup> Diese Berichte 29, 2931.