

## IV. Enzym aus Fleisch.

Es wurde vollkommen fettfreies Fleisch im Gewichte von 5 kg und zwar gleich nach der Schlachtung benutzt.

Das gewonnene Enzym wurde im Gewichte von 10 g in Pulverform benutzt und mit 100 ccm einer 15-procentigen Glucoselösung vermischt. Als Antisepticum wurde ein Körnchen Thymol verwendet.

Innerhalb 48 Stunden wurde an Kohlendioxyd 0.932 g gefunden.

Aus diesen wenigen Proben unserer Experimente, in welchen stetig fortgeschritten wird, ist zu ersehen, dass das gährungserregende, der Buchner'schen Zymase ähnliche Enzym in der Thierzelle existirt.

Unsere Versuche wurden auch mit verschiedenen Theilen der Organe nicht nur des Rindes, sondern auch des Hundes und der Gans durchgeführt. Unsere Beobachtungen müssen auf uns den Eindruck machen, dass es uns gelungen ist, Enzyme, und zwar sowohl in der pflanzlichen, als auch in der Thierzelle zu isoliren, welche die anaërobe Athmung hervorrufen. Die anaërobe Athmung steht somit, wie man annehmen kann, in genetischem Zusammenhange mit der normalen Athmung.

Die Versuche, betreffend die Isolirung des reinen gährungserregenden Enzyms, sowie die Versuche über die Gährthätigkeit des Enzyms in verschiedenen Kohlehydraten, verbunden mit einer vollständigen chemischen Bilanz, werden wir ehestens schildern.

(Physiologische Versuchsstation der k. k. böhmischen technischen Hochschule in Prag.)

### 119. Eduard Buchner und Jakob Meisenheimer: Enzyme bei Spaltpilzgährungen.

[Vorläufige Mittheilung

aus dem chem. Laboratorium der Landwirthschaftl. Hochschule zu Berlin.]

(Vorgetragen in der Sitzung von Hrn. E. Buchner.)

Nachdem die alkoholische Gährung des Zuckers durch Hefezellen als Wirkung eines von den Organismen producirt Enzymes erkannt war, lag die Vermuthung nahe, dass es sich auch bei den Bacteriengährungen um das Auftreten ähnlicher, von der Lebensthätigkeit abtrennbarer Stoffe handelt. Es empfiehlt sich aber, streng auf dem Boden der Thatsachen zu bleiben, und wir haben es deshalb für dringend geboten erachtet, den Nachweis von Gährungsenzymen bei Bacterien auf experimentellem Wege zu versuchen. Während von der Bierhefe unbegrenzte Mengen aus den Brauereien zur Verfügung

stehen, war es allerdings nothwendig, die Spaltpilze selbst heranzuzüchten, um so mehr, als zu befürchten stand, dass die zum Beispiel in alten, ausser Betrieb gesetzten Essigbildnern vorhandenen **Bacterienhäute** nichts mehr von dem wirksamen Stoffe enthielten. Eine für die Darstellung von Presssaft genügende Menge von Spaltpilzen zu gewinnen, ist ziemlich schwierig<sup>1)</sup>. Wir haben daher vorläufig davon abgesehen und uns des Verfahrens bedient, das der Eine von uns gemeinsam mit **R. Albert** und **R. Rapp**<sup>2)</sup> für Hefe beschrieben hat. Dasselbe gestattet, durch Eintragen in Aceton die Hefe zu töten, ohne die Enzyme zu vernichten (Herstellung sogenannter Dauerhefe).

Unsere Versuche erstreckten sich bisher nur auf Milchsäure- und Essig-Gährung, und es ist in beiden Fällen gelungen, das Auftreten eines Enzymes nachzuweisen.

Chemisch betrachtet sind diese beiden Vorgänge ausserordentlich verschieden; bei der Milchsäuregährung zerfällt z. B. Traubenzucker in zwei Moleküle Milchsäure, eine Zersetzung, die der Spaltung des Zuckers in Alkohol und Kohlensäure nahe steht. Bei der Essig-gährung wird Aethylalkohol unter Luftzutritt oxydirt, ein Vorgang, der an die Athmungserscheinungen erinnert. Es ist merkwürdig, dass die Organismen zwei so sehr verschiedene Prozesse mit Hülfe von Enzymen bewerkstelligen.

Im absterbenden thierischen Muskel tritt Milchsäurebildung auf, und **Dubois-Reymond**, **Nasse**, sowie **Kühne** sind geneigt, dafür ein Enzym verantwortlich zu machen<sup>3)</sup>. **Kühne** hat sogar eine spontane Milchsäurebildung im ausgepressten zellfreien Plasma aus entbluteten, fein zerriebenen Froschmuskeln constatiren können<sup>4)</sup>. Vielleicht handelt es sich im Thierkörper wie bei der Spaltpilzgährung um die Wirkung eines ähnlichen Stoffes.

Wir beabsichtigen, die oben erwähnte Methodik auch auf andere Bacterien zu übertragen, und bitten die Fachgenossen, uns dieses Arbeitsgebiet einige Zeit zu überlassen.

### Milchsäuregährung.

Zur Spaltung des Zuckers unter Bildung von Milchsäure sind sehr verschiedene Bacterien befähigt. Bei unseren Versuchen kam

<sup>1)</sup> Trotzdem ist diese Aufgabe für pathogene Mikroorganismen schon mehrfach gelöst worden; vergl. **Hans Buchner**, Gewinnung von plasmatischen Zellsäften niederer Pilze, *Münch. medic. Wochenschrift* 1897, No. 48; **Martin Hahn**, Immunisirungs- und Heil-Versuche mit den plasmatischen Zellsäften von Bacterien, ebenda 1897, No. 48.

<sup>2)</sup> Diese Berichte 35, 2376 [1902].

<sup>3)</sup> Vergl. **Oppenheimer**, *Die Fermente*, 1900, 241.

<sup>4)</sup> Vergl. **Neumeister**, diese Berichte 30, 2964 [1897].

*Bacillus Delbrücki* (Leichmann) zur Verwendung, der wahrscheinlich mit dem schon früher von Lafar isolirten *Bacillus acidificans longissimus* identisch ist<sup>1)</sup>. Derselbe wird im Brenneibetriebe zur Säuerung der Maische im grossen Maassstabe angewandt. Als Impfmateriel wurde uns mehrmals eine sogenannte natürliche Reinzucht dieses Spaltpilzes vom hiesigen Institut für Gährungsgewerbe (Hrn. Geheimrath M. Delbrück) liebenswürdigst zur Verfügung gestellt. Die Heranzüchtung in grösseren Mengen erfolgte in sterilisirten, hochprocentigen Würzen bei 40—45°. Behufs Abtrennung der Bacterien von der Flüssigkeit griffen wir, nachdem alle Filtrirversuche, auch mittels Thonfilter, ergebnisslos verlaufen waren, zur Centrifuge. Durch das gütige Entgegenkommen von Hrn. Prof. Dr. C. Lehmann konnten wir eine solche benutzen, welche bei einer Tourenzahl von 1500 in der Minute über einen Liter Flüssigkeit in einer Operation zu verarbeiten gestattete. Der ein Mal mit Wasser angerührte und nochmals centrifugirte Bodensatz wurde darauf in 20 Th. Aceton eingetragen, auf dem Filter mehrmals mit Aceton und Aether gewaschen und im Vacuum getrocknet. Aus je einem Liter Nährlösung resultirte etwas mehr als 1 g Dauerpräparat. Dasselbe stellt ein schwach gelblich-braunes Pulver dar von geringem esterartigem Geruch. Die Farbe wird wahrscheinlich auf aus der Würze niedergegrissene Farbstoffe zurückzuführen sein.

Auf Grund der Erfahrungen bei der Dauerhefe wurde das Bacteriendauerpräparat für die Versuche mit dem gleichen Gewicht kreidefreien Quarzsandes unter Zusatz von so viel Wasser, dass die Masse nicht mehr stäubt, zerrieben, eine Operation, die nach 10 Minuten zu vollständigem Zerreißen der Zellen führt, was mikroskopisch festgestellt werden konnte. Als Gährmateriel wurde Rohrzucker zugesetzt, welcher von den lebenden Organismen leicht gespalten wird. Als Antisepticum diente Toluol. Eine Controlle der Sterilität fand bei Versuch III statt, von dem während der stärksten Säurebildung eine grosse Platinspirale voll Substanz in sterile Würze übertragen wurde, ohne dass nach fünftägigem Stehen bei 42° Wachstum von Organismen eintrat. Nachdem die ersten Versuche eine deutliche, aber geringe Säurebildung ergeben hatten, entstand die Vermuthung, dass die Säure selbst das Enzym schädigt, da auch die lebenden Organismen das Gährvermögen schon durch geringe Säuremengen (0.5—1.5 pCt.) einbüßen. In der That hat sich bei unserem letzten Versuche ein Zusatz von Calciumcarbonat ausserordentlich bewährt, und wir sind dadurch in die Lage versetzt worden, die Bildung von Milchsäure durch Analyse des Zinksalzes zu beweisen. Ob die inactive Modifi-

<sup>1)</sup> Vergl. Henneberg, Centralblatt für Bacteriologie S, 184 [1902].

cation oder einer der optischen Antipoden entstanden war, ist vorläufig nicht sicher festgestellt; nach Löslichkeit und Wassergehalt des Zinksalzes liegt vermuthlich active Säure vor.

I. 5.7 g Dauermilchsäurebakterien, 20 ccm Wasser, 4 g Saccharose, 0.2 ccm Toluol, Erlenmeyer-Kolben mit Wattestopfen, 27°. Nach 2 Tagen reagirte die Flüssigkeit sauer und verbrauchte beim Titiren so viel Natronlauge, als 0.05 g Milchsäure entspricht.

II. 4.3 g Dauermilchsäurebakterien lieferten bei gleicher Anordnung wie oben, jedoch auf 40–45° erhöhter Temperatur eine 0.07 g Milchsäure entsprechende Säuerung.

III. 6.5 g Dauermilchsäurebakterien, 35 ccm Wasser, 7.5 g Saccharose, 1 g Calciumcarbonat, 1 ccm Toluol, ergaben im Erlenmeyer-Kolben mit Meissl'schem Schwefelsäuregährverschluss bei 30° nach 4 Tagen 0.11 g, nach insgesamt 6 Tagen 0.27 g Kohlensäure. Letztere Menge entspricht 1.1 g Milchsäure. Der Versuch wurde jetzt unterbrochen, mit Schwefelsäure angesäuert und mit Aether vielfach ausgeschüttelt. Der Aetherrückstand lieferte ein leicht lösliches Bleisalz, welches in das Zinksalz übergeführt wurde. Aus der stark eingeeengten Lösung krystallisirte das Zinksalz beim Erkalten in rein weissen Prismen aus. Durch Zusatz von Alkohol wurden 0.9 g erhalten. Für die Analyse nochmals aus verdünntem Alkohol umkrystallisirt, gab es für Zinklactat stimmende Zahlen und die Uffelmann'sche Reaction.

0.1305 g Subst. (lufttrocken): 0.1163 g CO<sub>2</sub>, 0.0642 g H<sub>2</sub>O. — 0.2766 g Subst. (lufttrocken): 0.0507 g H<sub>2</sub>O (bei 120° getrocknet), 0.0756 g Zn O.

(C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>O<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Zn + 3 aq. Ber. C 24.21, H 5.38, H<sub>2</sub>O 18.16, Zn 21.99.  
Gef. » 24.31, » 5.47, » 18.33, » 21.96.

### Essiggährung.

Nachdem schon früher einige Vorversuche zum Nachweise eines Enzymes mit *Bacterium xylinum*, das auf Würze mehrere Centimeter dicke Häute bildet, resultatlos verlaufen waren, wurden zu den neuen Versuchen Bieressig-Bakterien benutzt, welche bei Aussaat von frischem Bier (helles Bier der hiesigen Versuchs- und Lehr-Brauerei) in mit 4 pCt. Alkohol und 1 pCt. Essigsäure versetzter Würze sich bei 30° nach einigen Tagen als dünnes Häutchen auf der Oberfläche der Flüssigkeit ansiedeln. Andere Organismen sind in einer derartigen Nährlösung nicht wachstumsfähig. Eine genaue Identificirung der erhaltenen Bakterien wurde vorläufig nicht ausgeführt. Zur Isolirung kann man der Centrifuge entziehen; es wurde einfach die Nährlösung abgelaassen und die zurückbleibenden Häute in Aceton eingetragen. Auch hier zeigte sich bei den Gährversuchen der Zusatz von Calciumcarbonat ausserordentlich wichtig, da sonst die Säuerung bald stille steht.

8.7 g Daueressigbakterien wurden mit Sand und Kieselguhr zerrieben, hierauf das Ganze mit 120 ccm 4-procentigem Alkohol, 0.8 g Calciumcarbonat und 4 ccm Toluol versetzt und in einem pfahlwurzelförmigen Gefäss (Chudjakow's Gährgefäss) filtrirte Luft bei 30° durchgepresst. Bei der Unterbrechung nach

3 Tagen war noch reichlich Toluol vorhanden. Es wurde nun mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert und Wasserdampf eingeleitet. Das Destillat neutralisirte soviel Natronlauge, als 0.4 g Essigsäure entspricht. Daraus wurden 0.33 g aus Wasser krystallisirtes farbloses Silbersalz erhalten, welches sich bei der Analyse als fast reines Silberacetat herausstellte.

0.1382 g Sbst.: 0.0882 g Ag.

$C_2H_3O_2$ . Ber. Ag 64.7. Gef. Ag 63.8.

## 120. F. Mylius: Zur Kenntniss der Molybdänsäure.

[Mittheilung aus der Physikalisch-Technischen Reichsanstalt.]

(Vorgetragen in der Sitzung von Hrn. F. Mylius.)

Durch meine Arbeiten über die Salze der Schwefelsäurereihe und besonders über die Löslichkeit der Tellursäure<sup>1)</sup> bin ich zu eingehenden Versuchen über die Molybdänsäure veranlasst worden. Das Ziel derselben ist eine genauere Kenntniss der mannigfach wechselnden Modificationen dieser Säure, und namentlich die Verfolgung der Frage, inwieweit der Wassergehalt derselben mit dem Krystallwasser ihrer Salze zusammenhängt.

Die gleichzeitige wichtige Arbeit von Rosenheim und Bentheim über denselben Gegenstand ist mir durch den mündlichen Vortrag bekannt geworden; sie giebt mir willkommene Gelegenheit, in gedrängter Kürze über die von mir bisher erhaltenen Resultate zu berichten und die Gesichtspunkte für weitere Versuche anzudeuten.

Die vorwiegend qualitative Orientirung hat Folgendes ergeben.

1. Ein der Orthotellursäure,  $H_6TeO_6$ , entsprechendes festes Hydrat der Molybdänsäure ist nicht auffindbar.

Der durch Säuren in Lösungen der molybdänsauren Salze erzeugte milchig-käsige Niederschlag ist als ein Uebergangsproduct zu betrachten, entsprechend den tropfenförmigen Ausscheidungen bei der Einwirkung wasserentziehender Mittel auf Tellursäurelösungen.

2. Die in Wasser gelöste Molybdänsäure ist stets farblos und entspricht in wesentlichen Punkten der Allotellursäure. Die Aehnlichkeit beider Stoffe kommt (im Gegensatz zur Orthotellursäure) im folgenden Verhalten zum Ausdruck:

a) Amorphe Beschaffenheit und unbegrenzte Löslichkeit in kaltem Wasser, b) complexe Zusammensetzung, c) Löslichkeit in Alkohol, d) Reactionen und Geschmack einer starken Säure, e) Fällbarkeit in

<sup>1)</sup> Diese Berichte 34, 2208 [1901].