

Thalliumuranyl nitrat, $\text{Tl.UO}_2(\text{NO}_3)_3$.

$\text{Tl.UO}_2(\text{NO}_3)_3$. Ber. UO_2 40.94, Tl 30.89, NO_3 28.17.
 Gef. » 41.65, » 30.91, 30.85, » 28.46, 28.23.

Von diesen fünf Doppelnitrat^{en} ist das Thalliumsalz das unbeständigste; es zerfällt schon unter dem Einflusse feuchter Luft ziemlich schnell; in wässriger Lösung zerfallen sämtliche Salze in ihre Componenten. Bei den Alkalisalzen nimmt die Löslichkeit in concentrirter Salpetersäure vom Kalium-, über das Ammonium- zum Rubidium- und Cäsium-Salze stark ab. Die krystallographischen Eigenschaften des Kalium-, Rubidium- und Cäsium-Salzes sind, wie erwähnt, von A. Sachs an den aus dem Bonner Laboratorium stammenden Präparaten studirt worden. Hr. Prof. P. Groth in München will die Güte haben, die von uns dargestellten Doppelsalze in seinem Institute krystallographisch untersuchen zu lassen.

Zum Schlusse möchten wir bemerken, dass das Kalium- sowie das Ammonium-Salz ziemlich starke radioactive Wirkungen gegenüber der photographischen Platte zeigen; es wird von Interesse sein, die Intensität dieser Wirkung im Vergleich zu der vom Uranyl nitrat selbst geäußerten bei den verschiedenen Doppelsalzen festzustellen.

Wir sind jetzt mit dem Studium der Doppelnitrate des Zirkoniums und des Titans beschäftigt.

Wissenschaftl.-chem. Laboratorium Berlin N.

687. Julius Stoklasa und F. Czerný:

Beiträge zur Kenntniss der aus der Zelle höher organisirter
 Thiere isolirten gährungsregenden Enzyme.

(Eingegangen am 19. November 1903.)

Wir haben schon in diesen Blättern Gelegenheit gehabt, eine vorläufige Mittheilung über die Isolirung gährungsregender Enzyme aus der Zelle der höheren Pflanzen und Thiere zu veröffentlichen¹⁾.

Heute wollen wir Gelegenheit nehmen, zu demonstriren, dass wir thatsächlich aus der Zelle der verschiedensten Organe höher organisirter Thiere Enzyme isolirt haben, und zwar mit einem Gährungsvermögen, das sie bei Gegenwart eines Desinficiens in einer jeden Zweifel ausschliessenden Weise bethätigt haben, d. h. also bei vollständigem Ausschluss der Wirksamkeit von Bacterien. Wir haben, wie aus meinem Vortrage auf dem internationalen Congresse

¹⁾ Diese Berichte 36, 622 [1903].

für angewandte Chemie ersichtlich ist, thatsächlich immer das Vorhandensein oder die Gegenwart von Mikroben bei unseren Gährungsversuchen mit dem Enzyme berücksichtigt. Wir haben durch dieselben auch nachgewiesen, dass bei Anwendung eines Enzyms, in einer Kohlehydratlösung, wenn demselben kein Desinficiens hinzugefügt wurde, oder nicht eine concentrirte, 30-, 40—50-procent. Zuckerlösung zur Anwendung gelangte, sich thatsächlich Bacterien entwickelten und ein gewisses Quantum von Kohlensäure und Alkohol auf Kosten der Thätigkeit dieser Bacterien entfällt. Selbstverständlich haben wir nur diejenigen Versuche ohne Desinficiens in unseren Tabellen angeführt, bei welchen die Zugabe eines Enzyms in eine Glucose- oder Saccharose-Lösung sofort eine Gährung verursacht hat, wozu natürlich die Bacterien nicht im Stande sind; diese sofortige Gährung kann nur von einem Enzym hervorgerufen werden; allein jenes durch Bacterien gebildete Quantum, in einer ganz bestimmten Beobachtungsdauer, gestattet absolut keine Verwechslung mit der Menge, welche durch die glykolytische Thätigkeit des Enzyms entsteht.

Es sei mir nun erlaubt, nochmals kurz unsere Methode, betreffend die Herstellung von Presssäften, der Enzyme aus denselben, sowie ihre Verwendungsart zu wiederholen.

Behufs Isolirung der Enzyme aus diversen Thierorganen haben wir folgende Methode angewendet:

Die betreffenden Organe wurden sofort nach deren Entnahme aus dem Cadaver in einen feinen Brei zerrieben und dieser im Gewichte von 2—3 kg mit einem kleinen Quantum ausgeglühten, scharfkantigen Sandes und mit Eis gemischt.

Diese Mischung wurde in Portionen von je 300 g in einer Zerreibungs-vorrichtung gut zerrieben, sodass die Zellen der Thierorgane gründlich zerrissen wurden, wovon wir uns durch mikroskopische Untersuchung überzeugt haben. Der so erhaltene Brei wurde sofort bei einem Drucke bis zu 350 Atmosphären ausgepresst. Der auf diese Weise aus den verschiedenen Organen (und zwar eines jeden separat!) gewonnene Presssaft, also z. B. der Saft aus Muskelsubstanz, der Leber, der Lunge u. s. w. wurde (und zwar wieder jeder der genannten Säfte nach seiner Provenienz separat für sich) auch auf das eigene glykolytische Vermögen studirt.

Wir konnten thatsächlich nachweisen, dass, wenn der frisch bereitete Presssaft mit Glucose oder Saccharose gemischt wurde, und zwar in einer Concentration, dass die Lösung 10—15 pCt. Glucose oder Saccharose enthielt, sich ein schwaches glykolytisches Vermögen nachweisen liess; niemals wurde jedoch eine in ihrer Erscheinung bekanntlich charakteristische, alkoholische Gährung (bei deutlicher Schaumbildung) constatirt. Wenn diese Mischung von Presssaft und Zucker mehr als 12 Stunden im Thermostaten bei 35—37° aufbewahrt wurde, so konnte sogar eine faulnissartige Zersetzung sichergestellt werden.

Diese Zersetzung wurde jedoch nicht wahrgenommen, sobald der Flüssigkeit ein Antisepticum hinzugesetzt worden war. Nebenbei wurde eine schwache Glykolyse constatirt.

Es ist interessant, dabei wahrzunehmen, dass ohne Zusatz eines Antisepticums die proteolytischen Enzyme und die fäulnisserregenden Bacterien die gährungserregenden Enzyme vollständig vernichten. War aber ein Antisepticum vorhanden, so war nur eine schwache Glykolyse wahrnehmbar, jedoch eine Gährung niemals zu constatiren.

Zu dem Saft, welcher von Gewebetheilen und Zellen vollständig frei war, werden absoluter Alkohol und Aether so lange hinzugefügt, als die Bildung eines Niederschlages wahrzunehmen ist. Gewöhnlich wird hier etwas mehr Alkohol verwendet als Saft zu den betreffenden Experimenten genommen wurde, worauf man sofort Aether hinzufügt. Auf 300 ccm Saft setzt man 350—500 ccm Alkohol und dann unmittelbar 300—500 ccm Aether hinzu. Die Fällung des das Enzym enthaltenden Niederschlages erfolgt in hohen Glaszylindern. Nach der Ausscheidung des Niederschlages und folgendem Abgiessen des grössten Theiles der über demselben stehenden Flüssigkeit wird ebenso viel Aether, als wir vorher Alkohol und Aether zur Fällung verwendet, aufgegossen. Sodann wird die über demselben stehen bleibende Flüssigkeit rasch abgehebert und der Niederschlag selbst sofort mittels Saugpumpe filtrirt. Die ganze Operation muss in wenigen Minuten beendet sein, da insbesondere durch eine über einige Minuten dauernde Wirkung des Alkohols und Aethers das isolirte Enzym an Gährkraft ungemein einbüsst. Je schneller wir arbeiten, eine desto grössere Gährungsenergie zeigt uns das Enzym. Nach der Filtration wird der Niederschlag im Vacuumtrockenapparate bei einer Temperatur von 25—30° getrocknet. Hierauf wird die trockne hornartige Substanz zu einem feinen Pulver zerrieben und sofort zum Studium der Gährung verwendet.

Die das gährungserregende Enzym enthaltenden Niederschläge sind von zweierlei Art, je nachdem sie aus dem unter einem Drucke bis 200 oder von 200—300 Atmosphären gewonnenen Presssaft ausgechieden wurden.

Der Presssaft der ersten Art liefert wenig active Enzyme und zwar solche, die erst nach zwölf Stunden eine alkoholische Gährung hervorrufen; aus dem Letzteren und namentlich aus dem, unter einem Drucke von 250—300 Atmosphären erzeugten Presssaft lassen sich Enzyme gewinnen, welche eine rasche und energische, alkoholische Gährung in einer Glucoselösung verursachen.

Ein wichtiges Moment ist hierbei zu beachten; dass nämlich die Enzyme nach 14 Tagen ihr Gährungsvermögen fast vollständig verlieren. Die alten Enzyme rufen nach 8—12 Stunden eine Gährung nicht hervor. Das ist der beste Beweis, dass die energische Gährung binnen 8 Stunden nur durch Enzyme und nicht durch Bacterien hervorgerufen wird. Der pulverförmige Niederschlag wird behufs Studiums der Gährung in eine 10—15-procentige, sterilisirte Glucose- oder Fructose-, Galactose-, Saccharose-, Maltose-, Lactose- etc. Lösung gethan.

Die Experimente führten wir in folgender Weise durch:

Es wurden zunächst mehrere Kolben mit Lösungen von Glucose, Saccharose u. s. w. arrangirt, welche ebenso wie der sie verschliessende Stöpsel, durch welchen ein Liebig'scher Kühler, ein Thermometer und eine, bis in die Lösung reichende Röhre gingen, sterilisirt wurden.

Mit Hilfe der in die Flüssigkeit reichenden Röhre wurde durch den Kolben keim- und kohlen säure-freie Luft hindurchgetrieben. Der Liebig'sche Kühler stand mit zwei geräumigen U-Röhren in Verbindung, von denen die eine mit Kupfervitriol-Bimstein und die zweite mit wasserfreiem Chlorcalcium gefüllt war, welch' Letzteres häufig erneuert wurde.

Die U-Röhren standen mit Absorptionsapparaten in Verbindung, welche wie folgt zusammengesetzt waren:

1. Aus einer U-Röhre, die geglühten Natronkalk enthält;
2. Aus einem Geisler'schen Apparate, welcher eine Lösung von Kalilauge (2:3) enthält, und
3. aus einer Röhre, gefüllt mit wasserfreiem Chlorcalcium. Die Absorptionsapparate waren mit einem Aspirator verbunden, vor welchen eine geräumige Röhre mit wasserfreiem Chlorcalcium gelegt war.

Die Kolben wurden in ein Kupferwasserbad getaucht, in welchem mit Hilfe eines empfindlichen Thermoregulators eine Temperatur von 36—37° ständig erhalten wurde. Sie enthielten 50 ccm einer 10—15-procentigen Lösung von Hexosen oder Disacchariden, und es gelangten jedesmal 10 g des Enzyms zur Anwendung, welch' Letzteres stets unter allen Cautelen der möglichsten Beschränkung von Mikrobeninvasionen in dieselben eingetragen wurde.

Es muss bemerkt werden, dass in der Röhre, durch welche die Luft hindurchgetrieben wurde, eine Schicht Thymol enthalten war, welche die durchstreichende Luft passiren musste. In den Kolben wurden in zahlreichen Fällen Thymol (0.4 pCt.), Toluol (1 pCt.) u. s. w. gethan.

In den Kolben mit den sterilisirten Lösungen der Hexosen oder Disaccharide wurde der Verlauf der Gährung beobachtet, welcher sich durch starke Bildung von Schaum in der Höhe von einigen Centimetern während einiger Tage kenntlich machte. Die aus Muskeln, der Leber und den Lungen isolirten Enzyme riefen in zahlreichen Fällen augenblickliche Gährung hervor, welche ihren Culminationspunkt in 6—8 Stunden erreicht hatte. Nach dem Versuche wurde ein solcher Kolben — nennen wir ihn den Kolben A — geöffnet und aus demselben mit einer sterilisirten Pipette ca. 5 ccm der Lösung herausgenommen, welches Quantum in einen zweiten Kolben — wir nennen ihn B — gethan wurde. Im Kolben B befanden sich wiederum jeweilig 50 ccm einer Lösung von einzelnen Hexosen oder Disacchariden und gleichzeitig 5—10 g des gährungserregenden Enzyms. Dieser Kolben, sammt dem Enzym, wurde gründlich sterilisirt und enthielt somit das Enzym in einer bereits nicht activen Form. Es muss

bemerkt werden, dass auch hier in zahlreichen Fällen 0.4 pCt. Thymol oder 1 pCt. Toluol hinzugefügt wurden. Nach dem Versuche, bei welchem Thymol (0.4 pCt.) oder Toluol (1 pCt.) zur Anwendung gelangten, wurden entweder nur belanglose oder überhaupt gar keine Bacterien gefunden. Diese Desinficientia haben, wie wir uns übrigens mit reinen Mikrobenculturen überzeugt haben, in dieser Concentration die Entwicklung der Bacterien aus den Sporen verhindert, und der Chemismus der bereits vorhandenen Mikroben beschränkte sich auf ein Minimum¹⁾.

Die Controllversuche, in welchen der Verlauf des Processes nach der Impfung mit der Lösung aus den Kolben, in welchen die energische Gährung verlief, verfolgt wurde, ergaben das untrügliche Factum, dass bei allen Versuchen, bei welchen eine Zuthat von 0.4 pCt. Thymol oder 1 pCt. Toluol verwendet wurde, die Gährung ausschliesslich durch das Enzym hervorgerufen wurde.

Aus den Controllversuchen in dem Kolben B (nach Ueberimpfung aus dem Kolben A), bei welchen nach der Gährung in dem Kolben A untersucht wurde, ob der Inhalt der Kolben bei Zugabe eines Desinficiens bacterienfrei geblieben ist oder nicht, wurden durchschnittlich 10 – 30 mg Kohlensäure gewogen und eine Gährung niemals beobachtet. Durch Giessen von Gelatineplatten und Impfung von Bouillon wurden Bacterien nicht nachgewiesen.

Weiter wurden Experimente dahin durchgeführt, ob das hinzugefügte Quantum Thymol im Ausmaasse von 0.4 – 0.5 pCt. unter den Cautelen, unter welchen die Experimente durchgeführt wurden (Sterilisation der Kolben mit der Lösung, Verhinderung der Invasion von Mikroben, so weit als möglich bei der Einschüttung des Enzyms in den Kolben, Hindurchtreiben sterilisirter Luft durch die Lösung u. s. w.) den Chemismus der Bacterien in derselben Kohlehydratlösung bei Gegenwart der gleichen Menge sterilisirten Enzyms ausschliesst.

Die Versuche wurden mit isolirten Reinculturen von Bacterien, welche nach der Gährung solcher Lösungen, bei welchen Thymol nicht zur Anwendung gelangte, gefunden wurden, angestellt.

Es waren dies gewöhnlich dieselben Species, und zwar *Bacillus coli comm.*, *Bac. fluorescens*, *Bac. subtilis* u. s. w. Zwecks Beobachtung, welche Einwirkung das Thymol auf den Chemismus der Bacterien hat, wurden Kolben arrangirt mit 50 ccm einer 10-procentigen Lösung von Hexosen und Disacchariden, zu welchen eine starke Bouilloncultur der betreffenden Mikroben zugesetzt wurde. Diese

¹⁾ Ueber diese Versuche wird an anderer Stelle referirt werden.

Bouillonkultur betrug 5 ccm. Der Chemismus der Bacterien binnen 36 Stunden wurde beobachtet, und es wurde eine Gesamtmenge von 0.008—0.024 g Kohlensäure gefunden. Neben diesen Versuchen mit Reinculturen wurde ein Gemisch von den oben erwähnten Bacterien bereitet und mit einer starken Bouillonkultur die verschiedenen Hexosen und Disaccharide geimpft, natürlich wieder unter Hinzugabe von Thymol, und es wurde im Laufe von 36 Stunden wieder nur eine Gesamtmenge von 0.0028—0.009 g Kohlensäure constatirt, wobei zu bemerken ist, dass abermals keine Gährung stattgefunden hat.

Mit voller Bestimmtheit können wir daher erklären, dass niemals eine von den Bacterien verursachte Gährung wahrgenommen worden ist. Wir konnten dabei ferner feststellen, dass die Bacterien den Culminationspunkt ihrer Arbeit zu einer Zeit erreicht hatten, in welcher beim Parallelversuche nach 36 Stunden das Enzym die Gährung fast schon beendet hatte.

Nach 60 Stunden war die enzymatische Gährung vollständig beendet, während, wenn sich in demselben sterilen Medium geimpfte Bacterien befanden, erst nach dieser Zeit eine intensive Zersetzung begann, was sich aus dem entwickelten Kohlendioxyd constatiren liess. In den Kolben, in welchen der Gährungsprocess in Abwesenheit eines Desinficiens vor sich ging, wurden zwar Bacterien constatirt, allein sie waren weder alle zusammen, im Gemenge, noch als einzelne Bacterienspecies im Stande, eine alkoholische Gährung in jener Intensität im sterilisirten, mit dem Enzym in nicht activer Form und den Hexosen oder den Disacchariden beschickten Kolben hervorzurufen, wie das Enzym als solches in seiner activen Form ihn hervorgebracht hat.

Weiter fällt noch ein schlagender Beweis in's Gewicht. Das sowohl aus dem Pflanzenorganismus, als auch aus dem Thierorganismus gewonnene Enzym verträgt — natürlich in trockenem Zustande — eine Temperatur von 100° durch 4--6 Stunden. Das Enzym wird durch diese Temperatur nicht vollständig zerstört und bewirkt in reiner Kohlehydratlösung selbst dann noch eine wahrnehmbare Gährung.

Nach der Gährung wurde der Inhalt des Kolbens untersucht und Bacterien nur in ganz minimalen Quantitäten gefunden. In einigen Fällen haben wir überhaupt gar keine Bacterien nachgewiesen. Es war dies immer dann der Fall, wenn die ganze Operation mit möglichster Sorgfalt ausgeführt worden war, sodass eine Invasion von Mikroben nahezu ausgeschlossen erschien.

Tabelle I. Enzym aus Muskeln. Temp. 37°. Verwendet wurden stets 10 g des Enzyms.

Art der Lösung, in der die Gärung erfolgte	Verwendetes Antisepticum	Menge des bei der Gärung entstandenen CO ₂ in g			Menge des CO ₂ in der Lösung in g	Gesamtmenge des CO ₂ in g	Menge des Alkohols in g	Menge des Alkohols für CO ₂ =100	Verlust an Hexosen oder Disacchariden in g	Anmerkungen
		Zahl der Stunden								
		12	36	60						
15 pCt. Glucose	—	0.4997	0.6431	—	0.1930	0.8361	0.9402	112.4	2.39	Es trat sofortige Gärung ein
10 pCt. Glucose	0.4 pCt. Thymol	0.2896	0.5701	0.7621	—	0.7621	—	—	—	
10 pCt. Fructose	—	0.1803	0.7963	0.9558	0.2000	1.1558	0.9982	86.4	3.03	
10 pCt. Fructose	—	0.0781	0.1886	0.2018	0.1360	0.3378	0.3386	100.4	1.27	
10 pCt. Galactose	—	0.2584	0.6804	0.9135	0.3740	1.2875	1.1930	92.6	—	
10 pCt. Saccharose	—	0.1526	0.3016	0.4254	0.2230	0.6484	0.5796	89.4	—	
10 pCt. Maltose	0.4 pCt. Thymol	0.2656	0.4188	—	0.1290	0.5478	—	—	—	
10 pCt. Lactose	—	0.2281	0.4574	0.6297	0.0480	0.6777	0.5314	78.4	—	

¹⁾ Alkohol wurde auch bestimmt nach der neuesten Methode von A. Vörley und Fr. Bölsing, diese Berichte 34, 3354 [1901]: »Ueber quantitative Esterbildung und Bestimmung von Alkoholen resp. Phenolen«.

Tabelle II. Enzym aus Rindsleber. Temp. 37°. Verwendet wurden stets 10 g des Enzyms.

Art der Lösung, in der die Gärung erfolgte	Verwendetes Antisepticum	Menge des bei der Gärung entstandenen CO ₂ in g			Menge des CO ₂ in der Lösung in g	Gesamtmenge des CO ₂ in g	Menge des Alkohols in g	Menge des Alkohols für CO ₂ == 100	Anmerkungen
		Zahl der Stunden							
		12	36	60					
10 pCt. Glucose	0.4 pCt. Thymol	0.4262	0.7428	0.8200	—	0.8200	—	—	Verlust an Glucose == 2.52 g es trat sofortige Gärung ein, Verlust an Glucose == 4.86 g
15 pCt. Glucose	0.4 pCt. Thymol	1.3785	1.5189	—	0.1530	1.6719	—	—	
15 pCt. Glucose	—	0.8984	1.5115	—	0.0668	1.5783	2.4646	—	es trat sofortige Gärung ein
10 pCt. Rhannose	—	0.2678	1.1806	1.5552	0.0330	1.5882	0.4184	—	
5 pCt. Stärke	—	0.8804	1.3102	1.3446	0.0054	1.3500	0.9234	—	es trat sofortige Gärung ein
5 pCt. Stärke	0.4 pCt. Thymol	0.1484	0.2270	0.2496	0.0186	0.2682	—	—	
10 pCt. Galactose	0.4 pCt. Thymol	0.6118	0.7904	0.8648	0.0148	0.8796	—	—	es trat sofortige Gärung ein
10 pCt. Saccharose	0.4 pCt. Thymol	0.0758	0.2270	0.2762	0.0131	0.2893	—	—	
10 pCt. Lactose	—	0.6282	0.9422	1.0490	0.0190	1.0680	0.8996	84.2	es trat sofortige Gärung ein
10 pCt. Lactose	0.4 pCt. Thymol	0.2316	0.4756	0.6194	0.0254	0.6448	—	—	

Tabelle III. Enzym aus Rindslunge. Temp. 37°.
Verwendet wurden stets 10 g des Enzyms.

Art der Lösung, in der die Gährung erfolgte	Verwendetes Anti- septicum	Menge des bei der Gährung entstandenen CO ₂ in g			Menge des CO ₂ in der Lösung in g	Gesamt- menge des CO ₂ in g	Menge des Alkohols in g	Menge des Alkohols für CO ₂ = 100	Verlust an Hexosen oder Disaccha- riden in g	Anmerkungen
		Zahl der Stunden								
		12	36	60						
15 pCt. Glucose	—	1.1157	1.2404	—	0.0200	1.3304	1.8702	140.5	4.17	Es trat sofortige Gährung ein
10 pCt. Glucose	0.4 pCt. Thymol	0.1450	0.2572	—	0.0660	0.3232	—	—	—	—
30 pCt. Glucose	—	0.1444	0.1980	0.2100	0.0150	0.2250	—	—	—	Es trat sofortige Gährung ein
10 pCt. Lactose	0.4 pCt. Thymol	0.4974	1.1107	1.2660	—	1.2660	—	—	—	—
10 pCt. Fructose	0.4 pCt. Thymol	0.2036	0.2636	—	0.0102	0.2738	—	—	—	—
10 pCt. Galactose	0.4 pCt. Thymol	0.1364	0.1860	—	—	0.1800	—	—	—	—

Aus den vorstehenden Tabellen I, II, III¹⁾ ist das Gährungsvermögen der isolirten Enzyme aus Muskeln, aus Rindsleber und aus Rindslunge ersichtlich.

Aus diesen Tabellen ist ferner zu ersehen, dass die Gährung *in vitro* bei Gegenwart eines Desinficiens verlaufen ist, und zwar hervorgerufen durch ein Enzym, das aus den Zellen von Muskeln, der Leber und der Lunge isolirt worden ist.

Wir erfahren weiter aus den Tabellen, dass die Gährung augenblicklich auftrat, und zwar in zahlreichen Fällen. Schliesslich wurde eine durch das bei 100° getrocknete Enzym bewirkte alkoholische Gährung nach 9 Stunden constatirt. Eine sofortige Gährung trat insbesondere immer dann nicht ein (sondern manchmal erst nach Verlauf von 6–8 Stunden), wenn die ganze Manipulation²⁾ längere Zeit in Anspruch nahm oder das Enzym nicht bei hinreichend niedriger Temperatur hergestellt worden war. Durch die längere Erfahrung wurde überhaupt das interessante Factum festgestellt, dass das Enzym, sobald es in eine Kohlehydratlösung getaucht worden war, in welcher dasselbe nicht ein für die alkoholische Gährung günstiges Milieu vorfand, und ein Desinficiens nicht hinzugefügt worden war, die enzymatische Thätigkeit durch Bacterien eingeschränkt wurde.

Ueberhaupt nimmt man wahr, dass die Bacterienwirkung sorgfältig im Auge zu behalten ist, da, wenn das Enzym nicht in voller Gährkraft vorhanden ist, die Bacterien sich bei Abwesenheit eines Desinficiens nach 36 Stunden ungemein vermehren, und der chemische Process dann in ganz anderer Richtung verläuft. Die alkoholische Gährung selbst ist in solchen Fällen sehr beschränkt.

Bei Betrachtung der Tabellen Nr. I, II und III, sehen wir dann weiter, dass die Verluste an Glucose grösser sind als die Gesamtmenge von Alkohol und Kohlendioxyd. Hierzu sei bemerkt, dass die Verluste an Glucose auf die Weise constatirt wurden, dass zuerst die Glucose (respective auch andere geringere Quantitäten von Hexosen, welche im Enzyme vorhanden sind) im blinden Kolben und dann nach 36–60 Stunden in dem Inhalte des Gährungskolbens bestimmt wurden. Die Bestimmung der Glucose erfolgte nach der Methode von Allihn.

¹⁾ Die Analysen wurden ausgeführt von den Assistenten Ing. Chem. J. Czerny, Johann Jelinek, Dr. Eugen Šimáček und Eugen Vitek. Die hierbei angewendeten Methoden sind per extensum angeführt in unserer Arbeit: »Der anaerobe Stoffwechsel der höheren Pflanzen und seine Beziehungen zur alkoholischen Gährung.« (Hofmeister's Beiträge Bd. III, Heft 4).

²⁾ Beim Auspressen und Fällen.

Ueberhaupt haben wir beim Studium der chemischen Bilanz der alkoholischen Gährung, welche ausschliesslich durch ein Enzym hervorgerufen wird, d. i. also in Abwesenheit von Mikroben, in einer Reihe von Fällen, wo es sich um grössere Quantitäten handelte, einen merklicheren Verlust an Glucose gefunden als zur Entstehung von Kohlendioxyd und Alkohol nach der Formel $C_6H_{12}O_6 = 2 C_2H_5.OH + 2CO_2$ erforderlich gewesen wäre.

Die Glucoseprobe zeigte, sobald die alkoholische Gährung länger als 24 Stunden dauerte, stets eine saure Reaction. Durch einen Versuch, welcher mit einer grössere Menge des das Enzym enthaltenden Niederschlages, und zwar in einem Gewichte von 30 g bei dem aus dem Muskel und 800 g bei dem aus Blut gewonnenen Roh-Enzym angestellt wurde, haben wir uns nach der Gährung der Glucose überzeugt, dass die Säure, welche sich abspaltet, zum grossen Theile aus Milchsäure besteht¹⁾.

Ob rechtsdrehende oder linksdrehende Milchsäure oder die racemische Form dieser beiden Modificationen, d. i. die inactive Milchsäure, entsteht, darüber können wir uns heute noch nicht äussern.

Wir gehen nun zur Anführung einzelner Beispiele über.

1. Enzym aus der Lunge.

Es wurden 9.8 g des das Enzym enthaltenden Niederschlages abgewogen und mit 50 ccm einer 15-procentigen, sterilisirten Glucose-lösung vermischt. Als Antisepticum wurde 1 g Toluol hinzugefügt. Die Gährung stellte sich nach 12 Stunden bei 40^o ein.

Nach 62 Stunden wurden 0.84 g Kohlensäure gefunden.

Die Acidität, ausgedrückt durch die Formel $C_3H_6O_3$, betrug 2.2 g. Die Milchsäure wurde qualitativ constatirt (Uffelmann'sche Reaction) dann quantitativ als Zinklactat bestimmt und mit 1.73 g gefunden.

Von ganz besonderem Interesse ist, dass wir bei der anaeroben Athmung der Thierorgane die Ueberzeugung gewinnen konnten, dass sich stets eine gewisse Menge Milchsäure bildet. Dafür, dass dies thatsächlich nur durch den Chemismus der Zelle von Muskeln, der Lunge etc. stattgefunden hat, spricht der Umstand, dass in Wirklichkeit keine anaeroben Bacterien vorhanden waren, wovon wir uns nach der Methode Frankl-Hueppe (Cultur der anaeroben Bacterien in einer Wasserstoffatmosphäre) überzeugt haben. Wir haben auch bei Verfolgung der Milchsäuregährung die Milchsäure nach

¹⁾ Diese Versuche sind natürlich bei Abwesenheit von Bacterien ausgeführt worden.

der Methode von Partheil bestimmt¹⁾ und etwas grössere Mengen von Milchsäure gefunden, als uns die Methode, welche auf der Ausscheidung des Salzes $(C_3H_5O_3)_2Zn + 3 aq$ beruht, bietet.

In einem der nächsten Hefte werden wir über die Bildung der Milch- und Butter-Säure in der thierischen Zelle noch näher berichten.

Physiologisch-chemische Versuchsstation der k. k. böhmischen technischen Hochschule in Prag.

688. P. Jacobson, G. Franz und F. Hönigsberger: Ueber die saure Reduction des Ortho-Aethoxy- und Meta-Methoxy-Azobenzols.

(11. Mittheilung über Reductionsproducte von Azoverbindungen.)

[Mitgetheilt von P. Jacobson].

(Eingegangen am 24. November 1903.)

Dass die Umlagerung von Hydrazokörpern zur Entstehung von Semidinen in nennenswerthem Betrage führt, ist bislang nur bei solchen Hydrazoverbindungen beobachtet, welche einen bzw. zwei Parasubstituenten enthalten. Für Semidinbildung in nebensächlichem Betrage sind auch bei nicht parasubstituirten Hydrazokörpern Anhaltspunkte gewonnen²⁾.

Die Frage, ob Substituenten auch von einer anderen Stelle, als von der Para-Stelle, unter Umständen den Umlagerungsverlauf derart beeinflussen können, dass reichlichere Semidinbildung eintritt, war die Veranlassung zu den Versuchen, welche in dieser Mittheilung beschrieben werden.

Bei einer systematischen Untersuchung über den Einfluss der verschiedenen Parasubstituenten³⁾ hatte sich die Aethoxy-Gruppe als diejenige erwiesen, welche am stärksten zur Semidinuumlagerung disponirt⁴⁾: das *p*-Aethoxyazobenzol erleidet zum weitaus grössten Theil

¹⁾ Zeitschr. f. Untersuchungen der Nahrungs- und Genuss-Mittel, 5. Jahrg., Heft 21.

²⁾ Vergl. Noelting und A. Meyer, Chem.-Ztg. 18, 1095 [1894]; Jacobson, diese Berichte 28, 2557 [1895].

³⁾ Jacobson, Ann. d. Chem. 303, 290 [1898].

⁴⁾ Vergl. die Tabelle, ebenda S. 296.