

diesen beiden Daten nach der Mischungsregel das Drehungsvermögen des reinen *d*-Amylamins, so kommt man auf die beiden, schon unter sich sehr abweichenden Werthe -2.1° und -1.2° , während von uns $[\alpha]_D = -5.86^{\circ}$ gefunden wurde.

160. Arthur Harden und William John Young:
Gährversuche mit Presssaft aus obergähriger Hefe.

(Eingegangen am 8. Februar 1904.)

Die bisher über die alkoholische Gärung mit dem ausgepressten Saft obergähriger Hefe angestellten Versuche schienen zu zeigen, dass zwischen diesem Material und den aus untergährigen Hefen gewonnenen Presssäften gewisse Unterschiede bestehen, und liessen auch einige interessante Fragen bezüglich des Verlaufs der Gärung noch unbeantwortet. Die wichtigste Untersuchung über den Presssaft aus obergähriger Hefe ist die von Macfadyen, Morris und Rowland¹⁾; die Hauptpunkte, in welchen ihre Resultate von denen Buchner's²⁾ abweichen, der mit dem Presssaft aus untergähriger Hefe arbeitete, lassen sich etwa wie folgt kurz zusammenfassen: 1) Die Selbstgärung des Presssaftes war häufig, aber nicht durchgängig, grösser als die Gärung bei Zusatz von Zucker, während nach Buchner die Selbstgärung nur etwa 10 pCt. der Zuckergärung ausmacht. — 2) Mässige Verdünnung mit Wasser oder physiologischer Kochsalzlösung vernichtete die Gährkraft des Presssaftes [nahezu völlig. — 3) Nur bei einer sehr lebhaften Gärung wurden $\frac{1}{2}$ Kohlendioxyd und $\frac{1}{2}$ Alkohol in dem für die gewöhnliche alkoholische Gärung charakteristischem Verhältniss aus dem Zucker $\frac{1}{2}$ erzeugt.

Zu diesen Abweichungen trat noch die später von Buchner bestätigte Eigenthümlichkeit hinzu, dass wenn man den Presssaft auf Zucker einwirken liess, der Verlust an diesem Kohlehydrat grösser war, als dem Betrag an entstehendem Kohlendioxyd und Alkohol entsprochen hätte.

Die vorliegende Arbeit wurde in erster Linie in der Absicht unternommen, unsere Kenntnisse bezüglich des Presssaftes aus der obergährigen Hefe zu erweitern, unter specieller Berücksichtigung der-

¹⁾ Proc. Roy. Soc. 64, 280 [1900]; diese Berichte 33, 2764 [1900].

²⁾ Die Zymasegärung. München und Berlin, 1903.

jenigen Punkte, in welchen dieses Material sich von dem Presssaft aus untergähriger Hefe zu unterscheiden schien; ausserdem aber bemühten wir uns, eine bessere Einsicht in jene chemischen Veränderungen zu gewinnen, welche die Zersetzung des Zuckers durch Hefepresssaft begleiten, bzw. durch diese veranlasst werden.

I. Darstellung des Hefepresssaftes.

Die aus der Brauerei kommende Hefe wurde abgesaugt und in einer kleinen Filterpresse gut mit verdünnter Salzlösung ausgewaschen; dann wurde sie in einer hydraulischen Presse trocken gepresst. Nach dem Vermischen mit dem gleichen Gewicht reinen weissen Sandes wurden hierauf die Zellwände durch 2—3-stündiges Zerreiben in dem von Rowland¹⁾ beschriebenen Desintegrator zerrissen. Schliesslich wurde die zerriebene Masse mit gut ausgeglühter Kieselguhr zu einer dicken Paste angerieben, die in ein Tuch eingehüllt und in einer hydraulischen Presse (Rowland, l. c.) ausgedrückt wurde. Der herausquellende Saft wurde alsdann behufs Entfernung von Zellen, welche beim Pressen durch das Tuch gegangen waren, centrifugirt.

Während des Zerreibens wurde die Masse kühl erhalten durch Umgeben des Gefässes mit einem Schlangenrohr, durch welches flüssiges Kohlendioxyd hindurch verdampfte; in anderen Fällen wurde die Kühlung mittels eines Stromes von kaltem Wasser bewirkt.

II. Inactive Presssäfte.

Im Laufe unserer Versuche wurden gelegentlich — gewöhnlich in den Sommermonaten — auch ganz inactive Presssäfte erhalten, obwohl weder im Material noch in den angewendeten Methoden irgend eine Veränderung vorgenommen wurde. So erwies sich z. B. ein am 25. Juni 1903 dargestellter Presssaft als inactiv, während unter anscheinend völlig identischen Bedingungen am 29. des gleichen Monats ein normal wirksamer Presssaft gewonnen wurde.

III. Versuchsanordnung.

Das sich bei der Selbstgärung des Presssaftes oder bei seiner Einwirkung auf Zucker entwickelnde Kohlendioxyd wurde auf einem der beiden folgenden Wege ermittelt:

1. *Gravimetrische Methode.* Die Gärung vollzog sich in einem kleinen Erlenmeyer'schen Kölbchen; dasselbe trug ein gebogenes Rohr, welches in concentrirte Schwefelsäure eintauchte, die sich

¹⁾ Journ. Physiol. 27, 53 [1901].

in einem zweiten ähnlichen Kölbchen befand. Das Ganze wurde dann gewogen, der Apparat mit einem Chlorcalciumrohr verbunden und die Kölbchen in einem Brutschrank die erforderliche Zeit auf 25° erwärmt. Hierauf wurde ein von Feuchtigkeit und Kohlendioxyd befreiter Luftstrom 20 Minuten über die Flüssigkeit und durch die Schwefelsäure geleitet und das Ganze wiederum gewogen. Der sich hierbei ergebende Gewichtsverlust entsprach der bei der Gährung in Freiheit gesetzten Menge Kohlendioxyd.

Für diese Versuche diente Thymol als Antisepticum, da sich Toluol in Folge seiner Flüchtigkeit nicht verwenden liess. Hierbei stellte sich jedoch heraus, dass Thymol nicht so gut antiseptisch wirkt wie Toluol, denn in einigen wenigen Fällen zeigte es sich, dass Hefezellen und andere Mikroorganismen in der Flüssigkeit selbst bei Gegenwart von Thymol zur Entwicklung gelangt waren. In Folge dessen wurde der Presssaft nach der Gährung bei jedem Versuch mikroskopisch geprüft und das Resultat verworfen, sobald sich irgend welches Wachstum von Mikroorganismen erkennen liess.

2. *Volumetrische Methode.* Das in diesem Falle angewendete Verfahren war das von Macfadyen, Morris und Rowland (loc. cit.) beschriebene. Als Antisepticum diente stets Toluol. Das sich entwickelnde Kohlendioxyd strich durch 50 ccm Natronlauge. Nach beendigter Gährung wurde 20 Min. lang kohlenstofffreie Luft über die Flüssigkeit und durch das Alkali geleitet. Das die Natronlauge enthaltende Gefäss wurde dann in ein 100 ccm-Kölbchen entleert und mit kohlenstofffreiem Wasser gut ausgespült; hierauf wurde bis zur Marke aufgefüllt. Schliesslich wurde die alkalische Flüssigkeit zunächst mit Normalsäure bis zur Neutralität gegen Phenolphthalein und dann mit $\frac{1}{10}$ -Normalsäure bis zur Neutralität gegen Methylorange titriert. Aus der Differenz zwischen den Resultaten dieser beiden Titrationen ergab sich der Gehalt an Kohlendioxyd.

Es liess sich feststellen, dass praktisch die Gesamtmenge des Kohlendioxydes durch 20 Min. langes Ueberleiten von Luft über die Oberfläche der kalten Flüssigkeit in das Alkali übergeführt wurde. Bei einem Versuch ergaben sich auf diesem Wege 0.229 g Kohlendioxyd, während 0.235 g erhalten wurden, als man die Luft über die Oberfläche der auf 100° erwärmten Flüssigkeit leitete.

IV. Zusatz von verschiedenen Zuckerarten.

Bei allen Versuchen wurde Glucose als zu vergärender Zucker gewählt. Auf Grund einer gewissen Zahl von Experimenten (Tabelle I) liess sich feststellen, dass Glucose und die äquivalente Menge Rohrzucker praktisch die gleichen Resultate ergaben.

Tabelle I.

Vergleich der Rohrzucker- und Glucose-Vergärung.

(25 ccm Presssaft, 25°.)

(No. 1—6 wurden mit Toluol, No. 7—10 mit Thymol ausgeführt.)

No.	Datum	Hinzugefügter Zucker	Kohlendioxyd in g	
			24 Stdn.	48 Stdn.
1	17. IV. 03	2.5 g Glucose	—	0.31
2	do.	2.3 g Rohrzucker	—	0.31
3	16. V. 03	2.5 g Glucose	—	0.30
4	do.	2.3 g Rohrzucker	—	0.29
5	17. V. 03	2.5 g Glucose	—	0.44
6	do.	2.3 g Rohrzucker	—	0.45
7	25. XI. 02	10 g Glucose	0.16	0.20
8	do.	9.3 g Rohrzucker	0.14	0.19
9	25. II. 03	10 g Glucose	0.47	0.49
10	do.	9.3 g Rohrzucker	0.49	0.51

V. Selbstgärung und Glucose-Vergärung.

Behufs Feststellung des allgemeinen Charakters der Selbstgärung und der Glucose-Vergärung wurde eine Reihe von Versuchen mit wechselnden Mengen Glucose durchgeführt, deren Resultate in den Tabellen II—IV niedergelegt sind.

Tabelle II.

Vergleich der Selbstgärung mit der Glucose-Vergärung.

(25 ccm Presssaft, Thymol, 25°.)

No.	Datum	Aus 25 ccm Presssaft entwickeltes Kohlendioxyd in g							
		Selbstgärung nach Stdn.				+ 2.2 g Glucose nach Stdn.			
		24	48	72	96	24	48	72	96
11	30. IV. 01	0.17	0.21	0.21	—	0.25	0.30	0.32	—
12	8. V. 01	0.06	0.09	0.13	—	0.08	0.10	0.19	—
13	6. XI. 02	—	0.14	—	0.16	—	0.61	—	0.66
14	13. XI. 02	—	0.04	—	0.06	—	0.42	—	0.46
15	25. XI. 02	—	—	0.10	—	—	—	0.48	—
	do.	—	—	0.11	—	—	—	0.49	—
16	13. I. 03	—	—	0.09	—	—	—	0.25	—
17	21. I. 03	—	—	0.10	—	—	—	0.29	—

Tabelle III.

Vergleich der Selbstgärung mit der Glucose-Vergärung.
(25 ccm Presssaft, Toluol, 25°.)

No.	Datum	Kohlendioxyd in g			
		Selbstgärung nach Stdn.		+ 2.5 g Glucose nach Stdn.	
		48	72	48	72
18	7. V. 03	0.04	—	0.31	—
19	11. V. 03	0.18	—	0.30	—
20	13. V. 03	0.25	—	0.44	—
21	15. V. 03	—	0.32	—	0.49
22	18. V. 03	0.19	—	0.37	—
23	19. V. 03	0.23	—	0.75	—
24	20. V. 03	0.29	—	0.50	—
25	25. V. 03	0.11	—	0.48	—
26	27. V. 03	0.09	—	0.50	—
27	3. VI. 03	0.06	—	0.20	—
28	5. VI. 03	—	0.29	—	0.60
29	9. VI. 03	0.04	—	0.35	—
30	29. VI. 03	0.04	—	0.31	—
31	6. VII. 03	0.31	—	0.26	—

Tabelle IV.

Vergleich der Selbstgärung mit der Glucose-Vergärung.
(25 ccm Presssaft, Thymol, 25°.)

No.	Datum	Kohlendioxyd in g							
		Selbstgärung nach Stdn.				+ 10 g Glucose nach Stdn.			
		24	48	72	96	24	48	72	96
32	20. VI. 01	—	0.13	—	—	—	0.33	—	—
	do.	—	0.15	—	—	—	0.37	—	—
33	24. VI. 01	0.08	0.09	0.09	—	0.15	0.19	0.20	—
34	10. VII. 01	0.09	0.13	—	—	0.12	0.15	—	—
35	7. X. 01	0.08	0.11	—	—	0.22	0.26	—	—
36	15. X. 01	0.03	0.04	—	—	0.14	0.16	—	—
37	17. X. 01	0.16	0.20	—	0.21	0.16	0.22	—	0.24
38	22. X. 01	0.07	0.08	0.09	—	0.26	0.30	0.31	—
39	14. XI. 01	0.07	—	—	0.11	0.05	—	—	0.09
40	18. XI. 01	0.07	—	—	0.09	0.08	—	—	0.11
41	25. XI. 01	—	0.08	—	—	—	0.10	—	—
42	5. XII. 01	0.13	—	—	—	0.10	—	—	—
43	8. I. 02	0.10	0.13	0.15	—	0.18	0.21	0.23	—
44	27. III. 03	0.29	—	0.37	—	0.55	—	0.72	—

Auf Grund der voranstehend mitgetheilten Ziffern lassen sich folgende Schlussfolgerungen ziehen:

1. Der durchschnittliche Betrag der Zuckervergahrung ist unverkennbar geringer als der von Buchner bei den Presssäften aus untergähriger Hefe beobachtete, er entspricht aber den Angaben von Macfadyen, Morris und Rowland über den Presssaft aus obergähriger Hefe.

2. Der Betrag der Selbstgahrung ist sehr veränderlich: er schwankt zwischen 0.02—0.32 g Kohlendioxyd aus 25 ccm Presssaft. Dem absoluten Werthe nach entspricht er den von Buchner (0.10—0.45 g), wie auch den von Macfadyen, Morris und Rowland (0.06—0.495 g) gegebenen Zahlen. Da der Umfang der durch unseren Presssaft hervorgerufenen Zuckervergahrung im Vergleich zu der von Buchner beobachteten nur gering ist, macht die Selbstgahrung einen erheblichen Bruchtheil der Gesamtgahrung bei Gegenwart von Zucker aus. In zwei Fällen (vergl. Versuch Nr. 31 der Tabelle III und Versuch Nr. 39 der Tabelle IV) war die Selbstgahrung etwas grösser als die Gesamtgahrung; in mehreren anderen Fällen kam sie derselben fast gleich. Kein einziger der von uns untersuchten Presssäfte wies jedoch in dieser Richtung so grosse Differenzen auf, wie sie in einigen Fällen bei Macfadyen, Morris und Rowland zu Tage getreten sind.

Bei dem Vergleich der im Voranstehenden gegebenen Zahlen mit denen von Buchner fällt es sofort auf, dass bei dem von uns erhaltenen Presssaft der Betrag der in den ersten 24 Stunden eintretenden Gesamtgahrung erheblich grösser ist, als bei den Presssäften aus untergähriger Hefe, mit welchen Buchner arbeitete. Letzterer hat gewöhnlich gefunden, dass die Gesamtgahrung in 72—96 Stunden 1.5—3 Mal grösser war, als die in den ersten 24 Stunden eintretende; doch ergaben sich hierbei gelegentlich auch Ausnahmen (vergl. Zymasegahrung, S. 83, 94, 95). Bei den von uns benutzten Presssäften war andererseits die mit der gleichen Zuckerconcentration erhältliche Gesamtgahrung selten grösser als der 1 $\frac{1}{2}$ -fache Betrag der in den ersten 24 Stunden zu beobachtenden; gewöhnlich war er sogar erheblich kleiner. Dies ist, wie auch schon Buchner vermuthete, vielleicht dem Umstande zuzuschreiben, dass obergahrige Hefen weniger Zymase enthalten als untergahrige, oder aber auf gewisse Unterschiede zurückzuführen, welche die beiden Hefarten in ihrem Gehalt an proteolytischen Enzymen aufweisen.

VI. Ohne Verwendung von Kieselguhr dargestellte Presssäfte.

In der Absicht, festzustellen, ob die beim Auspressen des Hefepresssaftes bisher benutzte Kieselguhr vielleicht mit Vortheil durch

ein anderes Material ersetzt werden könnte, wurden einige wenige Versuche angestellt, bei welchen die zerriebene, aus Hefe und Sand bestehende Masse mit ausgepresster Hefe vermischt und dann nochmals gepresst wurde. Der so gewonnene und centrifugirte Presssaft besass ganz die gleichen Eigenschaften wie der mit Kieselguhr dargestellte, wie die in der Tabelle V zusammengestellten Resultate zeigen.

Tabelle V.

Ohne Verwendung von Kieselguhr dargestellter Presssaft.
(25 ccm Presssaft, Thymol. 25⁰.)

No.	Datum	Zugesetzte Glucose in g	Kohlendioxyd in g		
			24 Stdn.	48 Stdn.	72 Stdn.
45	13. VI. 02	—	—	—	0,11
46	do.	2,2	—	—	0,20
47	20. VI. 02	—	0,03	—	0,04
48	do.	10	0,10	—	0,14
49	24. VI. 02	—	0,02	—	—
50	do.	2,5	0,10	—	—
51	27. VI. 02	—	—	—	0,11
52	do.	1	—	—	0,16
53	15. VII. 02	—	—	0,02	0,04
54	do.	1,1	—	0,09	0,10
55	30. V. 02	—	0,14	—	—
56	do.	10	0,23	—	—

VII. Glykogen-Vergärung.

Die Frage, ob das Glykogen der Hefezelle von dem Presssaft schneller vergohren wird als die Glucose, wurde durch eine Reihe von Versuchen zu lösen versucht, bei welchen unter Berücksichtigung der Selbstgärung, diejenigen Mengen von Kohlendioxyd ermittelt wurden, die sich bei der Vergärung von Glucose und der äquivalenten Menge reinen Hefe-Glykogens¹⁾ ergaben.

Aus diesen Zahlen lässt sich ersehen, dass die Glykogenvergärung sich unverkennbar weniger vollständig vollzieht als die Zuckervergärung, wenn sie Letztere auch in einem Falle (Versuch No. 77) überflügelte. Aehnliche Resultate hat übrigens auch Buchner (Zymasegärung, S. 102) mit einem von Merck bezogenen Glykogen erhalten. In allen Fällen war jedoch die Glykogenvergärung stärker als die Selbstgärung.

¹⁾ Harden und Young, Transact. chem. Soc. 81, 1224 [1902].

Tabelle VI.
Vergäherung von Glykogen.

(25 ccm Presssaft, 25°; bei den Versuchen No. 72—74 diente Toluol, bei den übrigen Thymol als Antisepticum.)

No.	Datum		Kohlendioxyd in g			
			24 Stdn.	48 Stdn.	72 Stdn.	96 Stdn.
57	13. VI. 02	Selbstgäherung	—	—	0.11	—
58	do.	+ 2.2 g Glucose	—	—	0.20	—
59	do.	+ 2 g Glykogen	—	—	0.16	—
60	6. XI. 02	Selbstgäherung	—	0.14	—	0.16
61	do.	+ 2.2 g Glucose	—	0.61	—	0.66
62	do.	+ 2 g Glykogen	—	0.29	—	0.33
63	13. XI. 02	Selbstgäherung	—	0.04	—	0.06
64	do.	+ 2.2 g Glucose	—	0.42	—	0.46
65	do.	+ 2 g Glykogen	—	0.15	—	0.18
66	13. I. 03	Selbstgäherung	—	—	0.09	—
67	do.	+ 2.2 g Glucose	—	—	0.25	—
68	do.	+ 2 g Glykogen	—	—	0.12	—
69	24. VI. 02	Selbstgäherung	0.02	—	—	—
70	do.	+ 2.5 g Glucose	0.10	—	—	—
71	do.	+ 2.25 g Glykogen	0.08	—	—	—
72	6. VII. 02	Selbstgäherung	—	0.03	—	—
73	do.	+ 2.5 g Glucose	—	0.26	—	—
74	do.	+ 2.25 g Glykogen	—	0.16	—	—
75	27. VI. 02	Selbstgäherung	—	—	0.11	—
76	do.	+ 1 g Glucose	—	—	0.16	—
77	do.	+ 0.9 g Glykogen	—	—	0.18	—

VIII. Verhältniss des sich bei der Zuckervergäherung
mittels Hefepresssaft bildenden Alkohols zum
Kohlendioxyd.

Die Bestimmung des Kohlendioxyds ist schon weiter oben beschrieben worden. Der Alkoholgehalt wurde sowohl in dem ursprünglichen Presssaft, als auch in der nach der Gäherung resultirenden Flüssigkeit ermittelt. Die Differenz entsprach dann der während der Gäherung entatehenden Menge Alkohol.

Der Versuch wurde so ausgeführt, dass 25 ccm Presssaft mit einer gewogenen Menge Glucose und etwas Thymol angesetzt wurden, und zwar in einem kleinen Erlenmeyer-Kolben, der mit Hilfe eines gebogenen Rohrs mit einem zweiten Kölbchen in Verbindung stand. Letzteres enthielt etwas Wasser, durch welches der von den entweichenden Gasen mitgeführte Alkohol zurückgehalten wurde. Nach beendigter Gäherung wurde der Apparat gut ausgewaschen und die Flüssigkeit auf 150 ccm aufgefüllt. Dann wurden 100 ccm abdestillirt;

nach Zusatz von etwas Pottasche, welche das Thymol und flüchtige Säuren zurückhalten sollte, wurden von diesem Destillat 50 ccm übergesiedet und aus dem specifischen Gewicht des so gewonnenen Condensats der Alkoholgehalt berechnet. Der ursprünglich im Presssaft vorhandene Alkohol wurde in 25 ccm Saft in genau derselben Weise ermittelt.

Die Einzelheiten eines solchen Versuchs ergaben sich beispielsweise aus Folgendem:

Versuch No. 81. 25 ccm Presssaft + 2 g Glucose (+ Thymol).			
In 25 ccm Presssaft ursprünglich vorhandener Alkohol			. . . 0.76 g
» » nach der Gärung	»	»	. . . 1.18 »
			Zunahme 0.42 g
Kohlendioxyd aus 25 ccm Presssaft + 2 g Glucose			0.46 g.

Tabelle VII.

Verhältniss des entstehenden Alkohols zum Kohlendioxyd.
(25 ccm Presssaft, Thymol, 25^o.)

No.	Datum	Zugesetzte	Zeit	CO ₂	Zunahme	Alkohol:Kohlendioxyd, ber. = 1.04
		Glucose			an Alkohol	
		g	Std.	g	g	g
78	30. IV. 01	0	48	0.21	0.19	0.90
79	»	2.5	48	0.32	0.36	1.12
80	8. V. 01	2.5	72	0.19	0.18	0.95
81	2. III. 03	2	60	0.46	0.42	0.91
82	24. III. 03	2	60	0.60	0.56	0.92

Die Ziffern der Tabelle VII lassen erkennen, dass die von uns dargestellten Presssäfte sowohl bei der Selbstgärung als auch bei der Zuckervergärung stets annähernd gleiche Mengen von Kohlendioxyd und Alkohol liefern, und zwar scheint dieses Verhältniss davon unabhängig zu sein, ob die Gärung mehr oder weniger lebhaft verläuft, da es auch bei zwei Presssäften zu Tage trat, von welchen der eine nur 0.19 g Kohlendioxyd, der andere dagegen 0.6 g Kohlendioxyd (aus 25 ccm) erzeugte. Auch bei der Selbstgärung findet sich (vergl. Versuch No. 78) das gleiche Verhältniss wieder.

Buchner (Zymasegärung, S. 210) hat beim Rohrzucker ebenfalls annähernde Gleichheit in den Mengenverhältnissen zwischen Alkohol und Kohlendioxyd festgestellt; Macfadyen, Morris und Rowland erhielten ein ähnliches Resultat dagegen nur dann, wenn die Gärung eine sehr energische gewesen war.

IX. Einfluss der Verdünnung.

Die Wirkung des Verdünnens wurde in einer grossen Zahl von Fällen verfolgt, da Macfadyen, Morris und Rowland auf Grund eines kleineren Versuchsmaterials zu der Ansicht gelangt sind, dass

sowohl die Selbstgahrung wie auch die Zuckervergahrung fast vollständig durch den Zusatz von 1—2 Vol. Wasser zum Stillstand kommt. Andererseits hat Buchner nur eine geringfügige Verminderung der Zuckervergahrung feststellen können, als er seinen Presssaft mit Wasser oder Zuckerlösung verdünnte. Den Einfluss der Verdünnung auf die Selbstgahrung hat er nicht studirt.

Tabelle VIII.

Einfluss der Verdünnung mit Wasser auf die Selbstgahrung.
(25 ccm Hefepresssaft + n Vol. Wasser + Toluol; 25°).

No.	Datum	Kohlendioxyd nach 48 Stdn.			
		n = 0	n = 2	n = 3	n = 6
83	7. V. 03	0.04	0.05	0.05	—
84	11. V. 03	0.18	0.16	0.16	—
85	13. V. 03	0.25	0.21	0.19	—
86	15. V. 03	0.32	0.30	0.31	—
87	18. V. 03	0.19	0.18	—	0.15
88	19. V. 03	0.23	—	0.22	—
89	20. V. 03	0.29	0.29	0.28	—
90	25. V. 03	0.11	0.11	0.11	—
91	27. V. 03	0.09	0.09	0.09	—
92	3. VI. 03	0.06	—	0.06	—
93	5. VI. 03	0.29	—	0.29	—
94	9. VI. 03	0.04	—	0.04	—

Tabelle IX.

Einfluss der Verdünnung mit Wasser auf die
Zuckervergahrung.

(25 ccm Hefepresssaft + n Vol. Wasser + Toluol; 25°)

No.	Datum	Vol. Wasser n	Glucose g	Kohlen- dioxyd nach 72 Stdn.
95	18. II. 03	0	2	0.55
96	do.	1	2	0.23
97	do.	2	2	0.33
98	do.	3	2	0.25
99	19. III. 03	0	2	0.44
100	do.	1	2	0.35
101	do.	2	2	0.30
102	do.	3	2	0.28
103	24. III. 03	0	2	0.60
104	do.	1	2	0.43
105	do.	3	2	0.44
106	27. IV. 03	1	2.5	0.51
107	do.	3	2.5	0.38
108	31. III. 03	0	10	0.49
109	do.	1	10	0.45
110	do.	3	10	0.36

Tabelle X.

**Einfluss der Verdünnung mit Zuckerlösung auf die
Zuckervergärung.**

(25 ccm Hefepresssaft + n Vol. Wasser + 2.2 g Glucose auf je
25 ccm Flüssigkeit; bei den Versuchen No. 111—121, 124—125 diente Thymol,
bei No. 122—123 und 126—129 Toluol als Antisepticum; 25°.)

No.	Datum	Vol. Wasser n	Kohlendioxyd nach			
			48 Std.n.	72 Std.n.	96 Std.n.	108 Std.n.
111	13. XI. 02	0	0.42	—	0.46	—
112	do.	1	0.36	—	0.41	—
113	do.	2	0.26	—	0.37	—
114	6. XI. 02	0	0.61	—	0.66	—
115	do.	1	0.44	—	0.54	—
116	25. XI. 02	0	—	0.49	—	—
117	do.	1	—	0.50	—	—
118	13. I. 03	0	—	0.25	—	—
119	do.	1	—	0.25	—	—
120	21. I. 03	0	—	0.29	—	—
121	do.	1	—	0.26	—	—
122	4. II. 03	0	—	0.34	—	—
123	do.	1	—	0.35	—	—
124	do.	0	—	0.35	—	—
125	do.	1	—	0.31	—	—
126	11. II. 03	0	—	—	—	0.56
127	do.	1	—	—	—	0.45
128	do.	2	—	—	—	0.42
129	do.	3	—	—	—	0.60

Die Tabellen 8—11 (vergl. S. 1063) zeigen den Einfluss, welchen die Verdünnung mit Wasser auf die Selbstgärung und die Verdünnung mit Zuckerlösung oder reinem Wasser auf die Zuckervergärung ausüben. Die Wirkung des Verdünnens auf die Selbstgärung erwies sich bei allen diesen Versuchen als sehr unbedeutend: der Zusatz von 3 und selbst 6 Vol. Wasser übte nur einen sehr geringen Einfluss auf die Menge des entwickelten Kohlendioxyds aus (Tabelle VIII). Beträchtlicher ist dagegen die Wirkung des Verdünnens mit Wasser auf glucosehaltige Presssäfte; hier verringerte ein Zusatz von 3 Vol. Wasser die Gärung auf ungefähr 0.5—0.7 ihres ursprünglichen Betrages (Tabelle IX). Schliesslich sei noch darauf aufmerksam gemacht, dass Verdünnen mit Zuckerlösung, gleichgültig, ob dieselbe 2.2 g oder 10 g Glucose in 25 ccm Wasser enthält (Tabelle X und XI), regelmässig nur eine sehr geringe Verminderung, in einigen Fällen sogar eine mässige Steigerung der Gärung veranlasst.

In keinem Falle brachte das Verdünnen die Gärung zum Stillstand.

Tabelle XI.

**Einfluss der Verdünnung mit Zuckertlösung auf die
Zuckervergahrung.**

(25 ccm Hefepresssaft + n Vol. Wasser + 10 g Glucose auf je
25 ccm Flüssigkeit + Thymol; 25°.)

No.	Datum	Vol. Wasser n	Kohlendioxyd nach			
			24 Stdn.	48 Stdn.	72 Stdn.	96 Stdn.
130	7. X. 01	0	0.22	0.26	—	—
131	do.	1	0.26	0.27	—	—
132	15. X. 01	0	0.14	0.16	0.16	—
133	do.	1	0.13	0.16	0.17	—
134	do.	2	0.09	0.13	0.14	—
135	17. X. 01	0	0.16	0.22	—	0.24
136	do.	1	0.21	0.29	—	0.34
137	do.	2	0.17	0.26	—	0.32
138	do.	4	0.10	0.21	—	0.30
139	do.	6	0.07	0.17	—	—
140	22. X. 01	0	0.26	0.30	0.31	—
141	do.	1	0.29	0.32	0.34	—
142	do.	2	0.22	0.29	0.31	—
143	do.	4	0.25	0.32	0.35	—
144	do.	6	0.18	0.25	0.28	—
145	18. XI. 01	0	0.08	—	0.11	—
146	do.	2	0.07	—	0.10	—
147	do.	3	0.07	—	0.11	—
148	25. XI. 01	0	—	0.10	—	—
149	do.	1	—	0.12	—	—
150	do.	2	—	0.09	—	—
151	do.	5	—	0.11	—	—
152	8. I. 02	0	0.18	0.21	0.23	—
153	do.	1	0.15	0.15	0.19	—
154	do.	2	0.11	0.15	0.19	—
155	do.	5	0.12	0.15	0.21	—

**X. Verhältniss des verbrauchten Zuckers
zum entstehenden Alkohol und Kohlendioxyd.**

Von Macfadyen, Morris und Rowland ist beobachtet worden, dass diejenige Menge von Zucker, die im Verlauf der Gährung vom Hefepresssaft aufgebraucht wird, grösser ist als der Betrag an entstehendem Alkohol und Kohlendioxyd. Später hat dann auch Buchner gefunden, dass, wenn eine Rohrzuckerlösung so vollständig wie möglich mit »Aceton-Dauerhefe« vergohren wird, die Summe an Alkohol und Kohlendioxyd um rund 15 pCt. kleiner ist als die aus der Gesamtmenge des Zuckers sich berechnende Quantität.

Die Schwierigkeiten, denen Buchner bei der Bestimmung des Zuckers in Gegenwart von Presssaft begegnete, lassen sich durch Anwendung der Pavy'schen Methode (Titration mit ammoniakalischer

Kupferlösung) vermeiden, die zur Anwendung auf derartige Flüssigkeiten ganz besonders gut geeignet ist.

Unsere ersten Versuche dienten dazu, den Betrag der Differenz zwischen dem verbrauchten Zucker und der Summe der gefundenen Producte aufzuklären. Zu diesem Zwecke wurde folgende Versuchsanordnung inne gehalten: 25 ccm des frischen Presssaftes wurden auf 100 ccm verdünnt und das Reductionsvermögen nach der Pavy'schen Methode festgestellt. Hierbei sei bemerkt, dass der Presssaft stets reducirenden Zucker enthielt, dessen durchschnittliche Menge ungefähr 0.8 g Glucose in 100 ccm entsprach. Zu weiteren 25 ccm des ursprünglichen Presssaftes wurde dann eine gewogene Menge Glucose hinzugegeben, die Vergärung wie gewöhnlich ausgeführt und das entstehende Kohlendioxyd ermittelt. Hiernach wurde der Betrag an thatsächlich vergohrenem Zucker umgerechnet in äquimolekulare Mengen Kohlendioxyd und Alkohol. Dies ist zulässig, nachdem Buchner gezeigt hat, dass die übrigen, von lebender Hefe bei der Gärung noch erzeugten Producte hier in nennenswerthem Betrage nicht auftreten.

Der gleiche Presssaft wurde dann auf 100 ccm verdünnt und sein Reductionsvermögen wie weiter oben beschrieben bestimmt. Die Differenz zwischen dem so gewonnenen Resultat und der vor Beginn der Gärung ermittelten Zahl + dem Betrage an zugesetzter Glucose ergibt die Menge der thatsächlich vorhandenen Glucose; des weiteren entspricht die Differenz zwischen dem sich so ergebenden Werth und dem aus dem Gewicht des sich bildenden Kohlendioxyds berechneten dem Betrage an nicht in Rechnung gesetztem bzw. bei dem Versuch verlorengangenen Zucker.

Tabelle XII (S. 1065) bringt die in einer Reihe von Fällen, und zwar sowohl bei unverdünnten wie auch bei mit Zuckerlösung verdünnten Presssäften erhaltenen Resultate. Die Fehler der einzelnen Bestimmungen waren hierbei niemals grösser als 2 pCt. der Gesamtmenge des vorhandenen Zuckers, blieben aber meistens unter 1 pCt. Der Verlust an Zucker schwankte bei den einzelnen Versuchen beträchtlich und war gewöhnlich, aber nicht durchgängig, ein grösserer, wenn der Presssaft mit Zuckerlösung verdünnt wurde. Zwischen dem Gesamtbetrage an vorhandenem und an zu Kohlendioxyd und Alkohol vergohrenem Zucker liess sich keine bestimmte Beziehung feststellen. Die Versuche No. 177 und 179 wurden doppelt ausgeführt und zwar unter Verwendung von Toluol wie auch von Thymol als Antisepticum; die Resultate stimmen befriedigend überein. Bei einer kleinen Zahl von Versuchen (Tabelle XIII) wurde sowohl das Kohlendioxyd als auch der entstehende Alkohol bestimmt und die Summe dieser beiden als Gewicht des thatsächlich vergohrenen Zuckers aufgefasst. Auch hier

macht der Verlust an Zucker einen beträchtlichen Bruchtheil (14—36 pCt.) des gesammten, zur Vergärung gelangten Zuckers aus.

Tabelle XII.

Beziehung zwischen verbrauchtem Zucker und den entstehenden Producten.

(25 cem Presssaft; bei den Versuchen No. 172—177 und 179 diente To uol bei den übrigen Thymol als Antisepticum).

No.	Datum	Zeit	Vol. des zugefügten Wassers	Zusatz von Glucose in g	aus dem Kohlen-dioxyd berechneter Zucker	verbraucher Zucker	Verlust an Zucker
156	13. XI. 02	88 Std.n.	0	2.2	0.92	1.13	0.21
157	do.	do.	1	4.4	0.82	1.57	0.75
158	do.	do.	2	6.6	0.74	1.30	0.56
159	9. II. 03	108 Std.n.	0	2.2	1.12	1.24	0.12
160	do.	do.	1	4.4	0.90	1.08	0.18
161	do.	do.	2	6.6	0.84	1.05	0.21
162	do.	do.	3	8.8	1.20	2.06	0.86
163	18. II. 03	60 Std.n.	0	2	1.08	1.39	0.31
164	do.	do.	1	4	1.06	1.20	0.24
165	do.	do.	2	6	0.66	0.99	0.33
166	19. III. 03	80 Std.n.	0	2	0.88	0.97	0.09
167	do.	do.	1	4	0.70	0.88	0.18
168	do.	do.	3	8	0.56	0.82	0.26
169	24. III. 03	60 Std.n.	0	2	1.20	1.36	0.16
170	do.	do.	1	4	0.86	1.19	0.33
171	do.	do.	3	8	0.88	1.26	0.38
172	31. III. 03	60 Std.n.	0	10	0.98	2.23	1.25
173	do.	do.	1	20	0.90	3.08	2.18
174	do.	do.	3	40	0.70	3.31	2.61
175	27. IV. 03	64 Std.n.	1	5	1.02	1.37	0.35
176	do.	do.	3	10	0.76	1.31	0.55
177	4. II. 03	64 Std.n.	0	2	0.68	0.92	0.24
178	do.	do.	10	2	0.70	0.95	0.25
179	do.	do.	11	4	0.70	1.22	0.52
180	do.	do.	11	4	0.60	1.05	0.45

Tabelle XIII.

Beziehung zwischen dem verbrauchten Zucker und den entstehenden Producten.

(25 cem Presssaft, Thymol, 25^o).

No.	Datum	Zugesetzte Glucose in g	Kohlen-dioxyd + Alkohol	Verbraucher Zucker	Verlust an Zucker
181	30. IV. 01	2.2	0.68	0.93	0.25
182	8. V. 01	2.5	0.37	0.49	0.12
183	2. III. 03	2	0.88	1.02	0.14
	do.	2	0.88	1.04	0.16
184	24. III. 03	2	1.16	1.36	0.20

Da eine gewisse Menge von Zucker bei jeder Gährung verloren ging, wurden zunächst Versuche unternommen }behufs }Feststellung, ob dieser Zucker etwa in irgend eine Substanz umgewandelt würde, welche durch Hydrolyse }mittels Säuren wieder in Zucker zurückverwandelt werden }könnte.

Zu diesem Zwecke war es nothwendig, }den Presssaft vor und nach der Vergahrung zu hydrolysiren und }das Reductionsvermögen der }hydrolysirten Producte zu ermitteln. Ferner musste das Reductionsvermögen des nicht hydrolysirten Presssaftes, wie schon beschrieben, bestimmt werden. Dies gelang }mit Hülle des folgenden Verfahrens: Bei jedem Versuche wurden 25 ccm Presssaft in Arbeit genommen und auf 100 ccm verdünnt. In 20 ccm dieser Flüssigkeit wurde zunächst das Reductionsvermögen nach Pavy festgestellt; weitere 20 ccm wurden dann mit 20 ccm Normalsalzsäure vermischt, sodass }die gesammte Lösung nunmehr $\frac{1}{2}$ -n. Säure enthielt. Hierauf wurde das Kolbehen mit einem Rückflusskühler versehen und 7 Std. im siedenden Wasserbade erhitzt, nachdem frühere Versuche gezeigt }hatten, dass Glykogen behufs vollständiger Hydrolyse dieser Reactionsbedingungen bedarf.

{ }Zu einem }dritten Quantum von wiederum 20 }ccm wurde soviel concentrirte Salzsäure hinzugegeben, dass die Concentration der }Säure dreifachnormal wurde, und das Ganze dann in derselben Weise 3 Std. erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde in jedem Fall mit }Ammoniak neutralisirt, in geeigneter Weise verdünnt und nunmehr das Reductionsvermögen ermittelt. Da Glucose beim Erhitzen mit Salzsäure in }gewissem Grade zersetzt wird, wurden Controllversuche mit dem reinen Zucker ausgeführt behufs Ermittelung der Höhe des Verlustes, den man bei einer derartigen Behandlung verschiedener Zuckermengen erleidet. Gewogene, zwischen 0.1 und 1.2 g schwankende Quantitäten Glucose wurden in je 20 ccm Wasser aufgenommen, diese Lösungen genau wie oben beschrieben mit Salzsäure behandelt und auf ihr Reductionsvermögen geprüft.

Die so erhaltenen Zahlen wurden nebst den ursprünglich verwendeten Zuckermengen in ein Coordinatensystem eingetragen. Hierbei zeigte es sich, dass sowohl die mit $\frac{1}{2}$ -normaler als auch die mit 3-fach normaler Säure gewonnenen Resultate eine gerade Linie bildeten. Mit anderen Worten: Der Umfang }der Zersetzung ist direct proportional der verwendeten Menge Glucose. Es war deshalb möglich, aus den gezeichneten Curven diejenige Quantität Glucose zu entnehmen, welche dem Reductionsvermögen entsprach, das nach der Hydrolyse durch Titration gefunden wurde.

Die Curven wurden auf ihre Richtigkeit geprüft durch Verwendung bekannter Mengen Glucose, Erhitzen mit Salzsäure, wie oben beschrieben, Bestimmen der Reductionswirkung und Berechnen des wirklich vorhandenen Zuckerquantums, dem das gefundene Reductionsvermögen entsprach, mit Hilfe der Curve. Hierbei wurden, wie Tabelle XIV zeigt, sowohl mit reiner Glucose als auch mit Glucose bei Gegenwart von Presssaft zufriedenstellende Resultate erhalten.

Tabelle XIV. Reine Glucose.

Angewandte Glucose:	$\frac{1}{2}$ -normale Säure.	
	Gefunden:	Correctur aus der Curve:
0.15	0.146	0.15
0.35	0.340	0.348
0.65	0.643	0.655
0.9	0.85	0.87
	$\frac{3}{1}$ -normale Säure.	
0.15	0.142	0.16
0.3	0.261	0.295
0.7	0.61	0.71

Bei Gegenwart von Presssaft.

Gefunden nach Correctur:		
	$\frac{1}{2}$ -normale Säure:	$\frac{3}{1}$ -normale Säure:
Glucose 2.2	2.19	2.15
4.4	4.31	4.43
Glykogen 2.0	1.93	1.85

Die in Tabelle XV (S. 1068) zusammengestellten Ergebnisse lassen erkennen, dass der scheinbar verloren gehende Zucker in Wirklichkeit in der Lösung in einer Form vorhanden ist, welche durch Hydrolyse mit Salzsäure wieder in Zucker zurückverwandelt werden kann. Diese Umwandlung scheint eine vollständige zu sein, wenn der Presssaft mit $\frac{3}{1}$ -normaler Säure 3 Stunden erwärmt wird; andererseits erwies sich 7-stündiges Erhitzen mit $\frac{1}{2}$ -normaler Säure in gewissen Fällen (vergl. z. B. die Versuche No. 192, 193, 196, 197 und 198) als nicht ausreichend zu vollständiger Zurückverwandlung der veränderten Substanz in Zucker.

Es scheint demnach, als ob die Differenz zwischen dem verbrauchten Zucker und der Summe von entstehendem Kohlendioxyd + Alkohol auf die Umwandlung eines Theiles des Zuckers in eine nicht reducirende, aber durch Hydrolyse mit Säuren wieder in reducirenden Zucker überführbare Substanz bedingt ist. Ob diese Substanz kohlehydratartiger Natur ist, konnte noch nicht ermittelt werden, da alle Versuche, sie zu isoliren, scheiterten. Ihre Bildung ist wahr-

scheinlich der Wirkung eines spezifischen, von der Zymase verschiedenen Enzyms zurückzuführen, da das Phänomen sowohl in Presssäften von hoher fermentativer Kraft, wie auch in solchen (vergl. die Versuche No. 186—188 in Tabelle XV) von nur geringer Gährwirkung eintritt.

Tabelle XV.

Beziehungen zwischen dem verbrauchten Zucker und den entstehenden Producten.

(Diese Versuche No. 186, 199 und 200 wurden mit Toluol, die übrigen mit Thymol angesetzt; 25°.)

No.	Datum	Zeit in Stunden	Vol. des zuge- setzten Wassers	Zugesetzte Glucose in g	Aus dem Kohlen- dioxid berechneter Zucker in g	Bestimmung des Zuckers						
						nach der Hydrolyse						
						direct						
						mit $\frac{1}{2}$ -n. Säure			mit $\frac{3}{1}$ -n. Säure			
Zucker ver- braucht	Ver- lust an Zucker	Zucker ver- braucht	Ver- lust an Zucker	Zucker ver- braucht	Ver- lust an Zucker							
185	6. XI. 02	84	0	2.2	1.31	1.42	0.11	1.40	0.09	—	—	
186	18. IV. 02	72	0	2	0.07	0.43	0.36	0.03	-0.04	—	—	
187	3. IV. 02	72	0	2.2	0.07	0.26	0.19	0.10	0.03	—	—	
188	20. VI. 01	72	0	10	0.09	1.46	1.37	0.12	0.03	—	—	
189	24. VI. 01	72	0	10	0.40	0.86	0.46	0.40	0	—	—	
190	10. VII. 01	72	0	10	0.33	1.40	1.07	0.60	0.27	—	—	
191	13. VI. 02	72	0	2.2	0.40	1.59	0.19	0.41	0.01	—	—	
192	»	25. XI. 02	60	0	2	0.96	1.17	0.21	1.22	0.26	1.08	0.12
		»	60	0	2	0.98	1.19	0.21	1.28	0.30	1.11	0.13
193	»	60	1	4	1.00	1.41	0.41	1.53	0.53	0.94	-0.06	
194	16. XII. 02	60	0	2	0.52	1.07	0.55	0.53	0.01	0.60	0.08	
195	13. I. 03	64	0	2.2	0.50	0.88	0.38	0.54	0.04	0.45	-0.05	
196	»	64	1	4.4	0.50	0.82	0.32	0.73	0.23	0.56	0.06	
197	21. I. 03	64	0	2.2	0.59	0.77	0.18	0.72	0.13	0.60	0.01	
198	»	64	1	4.4	0.53	0.81	0.28	0.63	0.10	0.48	-0.05	
199	4. II. 03	64	0	2.2	0.69	0.92	0.23	—	—	0.71	0.02	
200	»	64	0	2.2	0.70	0.95	0.25	—	—	0.70	0.00	

Wird der Presssaft in der weiter oben beschriebenen Weise nach der Vergärung des Glykogens untersucht, so findet sich stets eine beträchtliche Zunahme der Reduktionskraft des nicht hydrolysierten Presssaftes; diese ist wahrscheinlich auf die Wirkung des diastatischen Enzyms im Presssaft zurückzuführen. Die Menge des verbrauchten Zuckers stimmt, wie mit Hilfe der hydrolysierten Producte festgestellt werden konnte, genau so wie bei der Glucose, mit demjenigen Quantum überein, das sich aus den Gährungsproducten berechnen lässt (vergl. die Versuche No. 201, 203, 205, 207 und 210 in Tabelle XVI).

Tabelle XVI.

Beziehungen zwischen dem verbrauchten Zucker
und den entstehenden Producten.

(25 ccm Presssaft, Thymol, 72 Stdn. bei 25°.)

No.	Datum	Zuge- fügtes Gly- kogen in g	Gewinn an Zucker	ver- braucht. Zucker, aus dem Kohlen- dioxid ber.	Zur Hydrolyse benutzte Säure			
					$\frac{1}{2}$ -normal		$\frac{2}{3}$ -normal	
					ver- braucht. Zucker	Verlust an Zucker	ver- braucht. Zucker	Verlust an Zucker
201	24. VI. 01	2	0.49	0.41	0.50	0.09	—	—
202	13. VI. 02	0	—	0.22	—	—	0.17	-0.05
203	do.	2	1.74	0.32	—	—	0.34	0.02
204	27. VI. 02	0	—	0.21	—	—	0.21	0
205	do.	0.8	0.33	0.36	—	—	0.38	0.02
206	18. IV. 02	0	—	0.06	0.06	0	—	—
207	do.	2	0.36	0.06	0.05	-0.01	—	—
208	25. XI. 02	0	—	0.21	0.28	0.07	0.26	0.05
209	13. I. 03	0	—	0.18	0.17	-0.01	0.20	0.02
210	do.	2	1.29	0.24	0.47	0.23	0.23	-0.01

Aehnlich liegen die Verhältnisse bei der Selbstgärung, doch läßt sich hier bei dem nicht hydrolysierten Presssaft keineswegs in allen Fällen eine Zunahme der Reductionswirkung feststellen.

XI. Zusammenfassung.

Als Resultat der im Voranstehenden beschriebenen Versuche ergibt sich, dass der einzige, unverkennbar vorhandene Unterschied zwischen den von uns aus obergähriger Hefe und den von Buchner aus untergähriger Hefe dargestellten Presssäften in der geringeren Intensität der Gärung liegt, welche der Presssaft aus obergähriger Hefe in Glucoselösungen hervorruft; demzufolge gewinnt hier die Selbstgärung des Presssaftes eine relativ grössere Bedeutung. In jeder anderen Hinsicht scheinen sich die beiden Arten von Presssäften völlig gleich zu verhalten. Die chemische Veränderung, welche bei der Vergärung von Glucose eintritt, scheint eine wirkliche »alkoholische Gärung« zu sein, bei der sich annähernd gleiche Mengen Kohlendioxid und Alkohol bilden.

Mit dieser dürfte eine andere Veränderung parallel gehen, bei welcher ein gewisser Betrag des Zuckers in nicht reducirende Stoffe übergeführt wird, die ihrerseits durch Hydrolyse mit Säuren wie-

derum in reducirenden Zucker zuruckverwandelt werden können. Die Natur dieser Substanzen, sowie der Vorgänge, denen sie ihre Entstehung verdanken, hat noch nicht aufgeklärt werden können.

Chemical and Water-Laboratory.

Lister Institute of Preventive Medicine, 30. Januar 1904.

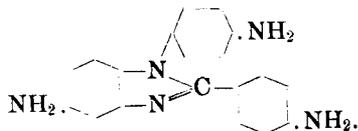
161. O. Kym: Zur Kenntniss einiger Benzimidazole und deren Farbstoffderivate.

(Eingegangen am 4. März 1904.)

Vor längerer Zeit habe ich in diesen Berichten Einiges zur Kenntniss der Amido-Benzazole und deren substantiven Azofarbstoffderivaten veröffentlicht¹⁾. Es hatte sich damals ergeben, dass namentlich solche Amidobenzimidazole, die zwei Amidogruppen in den verschiedenen Benzolkernen enthalten, Azofarbstoffe liefern, die grosse Verwandtschaft zur Baumwoll-Faser besitzen und diese in tiefen Farbtönen anzufärben vermögen. Diese Farbstoffe enthielten sämmtlich noch die freie Imidogruppe des Benzimidazolkerns. Es war nun von Interesse, zu erfahren, in welcher Weise die Eigenschaften der entsprechenden Azofarbstoffe durch den Eintritt einer weiteren diazotirbaren Gruppe in die Imidogruppe des Benzimidazolkerns modificirt würden — resp. zu erfahren, ob damit eine weitere Steigerung der Affinität zur Baumwoll-Faser und eine weitere Vertiefung der Farbnuance sich kundgeben würde.

Experimenteller Theil.

Das einfachste Benzimidazolderivat von der gewünschten Zusammensetzung hat nebenstehende Formel:



Um zu dieser Triamidobenzimidazolbase zu gelangen, schien es am einfachsten, von dem durch Nietzki²⁾ bekannt gewordenen *o,p,p'*-Triamidodiphenylamin auszugehen, dieses durch Erhitzen mit

¹⁾ Diese Berichte 33, 2847 [1900]. ²⁾ Diese Berichte 23, 1852 [1890].