

**99. Eduard Buchner und Jacob Meisenheimer:
Die chemischen Vorgänge bei der alkoholischen Gährung.**

(Zweite Mittheilung.)

(Aus dem chem. Laboratorium der Landwirthschaftl. Hochschule zu Berlin.)

[Vorgetragen in der Sitzung vom 23. Januar von Hrn. E. Buchner.]

(Eingegangen am 26. Januar 1905.)

Vor einem Jahre wurde in einer Reihe von Versuchen gezeigt¹⁾, dass bei der Zuckergährung durch Presssaft aus Unterhefe bald Bildung, bald Verschwinden von ursprünglich vorhandener oder zugesetzter Milchsäure zu beobachten ist. Diese Ergebnisse stehen im Widerspruch mit den Erfahrungen, die man bei der alkoholischen Gährung durch lebende Hefe gesammelt hat. Wir haben deshalb unsere Studien durch eine weitere Anzahl von Versuchen ergänzt und die früheren Angaben bestätigt gefunden. Es besteht demnach kein Zweifel mehr, dass die Milchsäure beim Zerfalle des Zuckers eine hervorragende Rolle spielt und als Zwischenproduct der alkoholischen Gährung aufzufassen ist.

Wie sich nachträglich ergab, hat P. Mazé²⁾ auf Grund seiner Arbeiten über Vergährung von Milchsäure durch *Eurotiopsis Gayoni* unter Bildung von Alkohol und Kohlendioxyd es bereits im Jahre 1902 für nicht unwahrscheinlich erklärt, dass jene Säure als Zwischenproduct des Zuckerzerfalles durch den genannten Mycelpilz zu betrachten sei. Bezüglich des gewöhnlichen Gährungsvorganges durch die Enzyme der Hefe ist diese Hypothese aber zuerst von uns ausgesprochen und durch Versuche gestützt worden³⁾.

Unter welchen Umständen im Presssaft Milchsäurebildung, unter welchen Zerfall von solcher eintritt, darüber können vorläufig nur einige Vermuthungen geäußert werden; es scheint, dass Zusatz von viel Zucker, sowie von etwas Milchsäure das Verschwinden der letzteren Substanz in den weitaus meisten Fällen begünstigt; ferner ergeben Presssäfte mit geringer Gährkraft gewöhnlich Abnahme der vorhandenen Milchsäure, umgekehrt stark gährkräftige die Bildung von solcher.

¹⁾ Diese Berichte 37, 417 [1904].

²⁾ Ann. de l'Inst. Pasteur 16, 446 [1902]. Compt. rend. 134, 241 [1902].

³⁾ Vergl. Bericht des V. internat. Congresses für angew. Chemie III, 497 [1904]. J. U. Nef (Ann. d. Chem. 335, 279, Ann. 118 [1904]) hält die nach seinen Angaben von ihm früher berücksichtigte, aber nicht publicirte Annahme einer intermediären Bildung von Milchsäure bei der alkoholischen Gährung nunmehr merkwürdiger Weise für wenig wahrscheinlich, obwohl ihm doch unser experimenteller Nachweis bereits bekannt war.

Zu den Arbeiten konnte wieder die aus dem Betriebe der Berliner Schultheissbrauerei entnommene vorzügliche Unterhefe direct Verwendung finden, für deren Ueberlassung wir zu verbindlichem Danke verpflichtet sind.

Unsere diesmaligen Versuche schlossen sich im Februar vorigen Jahres unmittelbar an die früheren an, sodass sie sich mit kleineren Pausen vom Mai 1903 bis August 1904 erstrecken. Während im Sommer des Jahres 1903 regelmässig in den Presssäften ein Verschwinden von Milchsäure zu beobachten war, haben wir in den Wintermonaten von December bis März Neubildung von Milchsäure festgestellt, wogegen wieder im Juli und August 1904 selbst zugesetzte Milchsäure vergohren wurde. Diese Regelmässigkeit dürfte kaum eine zufällige sein.

Alle Versuche, eine weitere Zwischenstufe zwischen Glucose und Milchsäure zu fassen, sind bisher ergebnisslos verlaufen. Die von uns vermuthete intermediäre Bildung einer Dioxy- γ -ketonsäure verliert damit an Wahrscheinlichkeit; wir schliessen uns nunmehr der von A. Wohl¹⁾, sowie von J. U. Nef²⁾ geäusserten Ansicht an, dass Methylglyoxal als das erste Umwandlungsproduct der Glucose auch bei der Gähung zu betrachten ist, wie es Nef³⁾ für die Alkalispaltung dieses Zuckers erwiesen hat. In Uebereinstimmung mit dieser Annahme steht, dass wir, gleichgültig ob Rohr- oder Trauben-Zucker durch den Hefepresssaft vergohren wurde, immer nur inactive Säure erhielten, wie es eben begreiflich ist, wenn Methylglyoxal das regelmässige Durchgangsproduct bildet.

Schon in der ersten Mittheilung wurde die Annahme gemacht, dass die Spaltung des Zuckers bei der alkoholischen Gähung unter intermediärer Bildung von Milchsäure auf die Wirkung zweier verschiedener Enzyme zurückzuführen sei. Es scheint nunmehr an der Zeit, den beiden Enzymen auch Namen zuzutheilen; wir bezeichnen den Zucker in Milchsäure spaltenden Körper von nun an speciell als Zymase (genauer Hefenzymase), wogegen der Milchsäure in Alkohol und Kohlendioxyd spaltende Stoff Lactacidase heissen soll.

Um in der Nomenclatur der Enzyme der drohenden Verwirrung vorzubeugen, wird es häufig nöthig sein, nach dem Vorschlage E. von Lippmann's⁴⁾, sowohl den Stoff, welcher zerlegt wird, als auch das Hauptproduct der Spaltung zur Namenbildung heranzuziehen. Leider hat v. Lippmann die Verwendung kürzerer, nur von einem der Stoffe abgeleiteter Namen da-

¹⁾ E. von Lippmann, Chemie der Zuckerarten, Braunschweig 1904, 1891.

²⁾ Ann. d. Chem. 335, 254, 279 [1904].

³⁾ a. a. O. — Vergl. auch G. Pinkus diese Berichte 31, 31 [1898].

⁴⁾ Diese Berichte 36, 331 [1903]; Chem.-Ztg. Cöthen 28. 256 [1904].

durch von neuem erschwert, dass er befürwortet, in einfacheren Fällen das wesentliche Product, nie aber das Substrat der Enzymwirkung, zur Namengebung zu benutzen, also gerade das Gegentheil von dem, was sich nach einem von Emil Fischer¹⁾ angenommenen Vorschlage von E. Duclaux²⁾ eben allmählich einzubürgern begann. Nach letzterer Regel ist der Name Lactacidase gebildet, in welchem die Silben »acid« besonders wichtig scheinen, um eine Verwechslung mit dem Enzym Lactase der Milchzuckerhefen, das Lactose in Hexosen spaltet, hintanzuhalten. J. Stoklasa³⁾ hat kürzlich das Zucker in Milchsäure zerlegende Enzym als Lactolase bezeichnet. Wir glauben, dass dieser Name, der wieder auf das entstehende Product Bezug nimmt, wenig glücklich gewählt ist, denn die Silbe »ol« deutet irriger Weise an, dass es sich um einen Alkohol handelt: ausserdem ist es durch die ausführlichen Untersuchungen von P. Mazé⁴⁾ und von P. Portier⁵⁾ neuestens überhaupt sehr fraglich geworden, ob die von Stoklasa beobachtete Milchsäurebildung auf die Wirkung eines abgetrennten Enzymes oder viel mehr auf die Anwesenheit lebender Mikroorganismen zurückzuführen ist. Endlich möchten wir noch dem Vorschlage Hugo Fischer's⁶⁾, das Enzym der alkoholischen Gährung als Alkoholase zu bezeichnen und das Wort Zymase nur mehr als Gattungsbegriff an Stelle der zweckmässigen Bezeichnung »Gährungsenzyme« zu gebrauchen, entgegenzutreten.

Essigsäurebildung,

wie sie in unserer früheren Mittheilung bereits als charakteristisch für die zellfreie Gährung erwähnt wurde, ist auch jetzt in allen untersuchten Fällen beobachtet worden. Die Zunahme an dieser Substanz schwankte aber wieder sehr stark, zwischen 0.01 und 0.33 pCt. Da eine Bildung der Säure durch Oxydation von Alkohol bei unseren Versuchen ausgeschlossen ist, weil die nöthige Menge Sauerstoff in Folge der Versuchsanordnung fehlte, vermuthen wir, dass es sich auch hier um die Wirkung eines besonderen Enzymes handelt, welches den Traubenzucker in drei Moleküle Essigsäure spaltet und den Namen Glucacetase erhalten soll. Dass bei der zellfreien Gährung im Gegensatz zu der durch lebende Hefe mehrfach so grosse Mengen von Essigsäure erhalten wurden, ist wohl darauf zurückzuführen, dass die Essigsäure durch die lebenden Organismen assimiliert wird, wogegen sie sich im Presssaft anhäuft. Diese Annahmen stimmen überein mit

1) Diese Berichte 28, 1430, Anm. 1 [1895].

2) Siehe E. Bourquelot, Les Ferments solubles, Paris 1896, Seite 4.

3) Centralbl. f. Bacteriol. II. Abth. 13, 86 [1904]; Ber. d. D. botan. Ges. 22, 460 [1904].

4) Ann. de l'Inst. Pasteur 18, 535 [1904].

5) Ann. de l'Inst. Pasteur 18, 633 [1904].

6) Vergl. F. Lafar, Handb. d. techn. Mykologie 1, 259, 260 [1904].

neuer-n Aeusserungen von P. Mazé¹⁾, welche dieser Forscher anlässlich seiner Studien über Zuckergährung durch Melassehefen gemacht hat.

Die für Essigsäure gefundenen Zahlen sind sicher zu nieder, da wir, wie früher, den Presssaft zur Bestimmung der flüchtigen Säuren mit Wasserdampf behandelten, ohne anzusäuern. Dabei werden sicher beträchtliche Mengen flüchtiger Säure in Folge Anwesenheit von Phosphaten zurückgeblieben sein. Ein Controllversuch zeigte, dass von 0.88 g Essigsäure bei Zusatz von 6 g krystallisiertem, secundärem Natriumphosphat (über 1 Molekül) mit Wasserdampf trotz Uebertreibens von 30 L Wasser nur 41 pCt. übergingen. Trotzdem haben wir das Ansäuern unterlassen, um beim Destilliren nicht etwa Zersetzung von Eiweisskörpern herbeizuführen, eine Befürchtung, deren Berechtigung durch einen Versuch mit Ansäuern, welcher abnorm hohe Zahlen für Essigsäure ergab, erwiesen wurde.

Milchsäure aus Zucker auf chemischem Wege.

Nach älteren Angaben von F. Hoppe-Seyler²⁾ wird aus Zuckerarten durch Einwirkung von Wasser bei 200° keine Milchsäure gebildet. Ebenso haben wir uns überzeugt, dass eine sorgfältig sterilisirte 10-procentige Zuckerlösung, in einem Einschmelzrohr 23 Monate lang bei Zimmertemperatur aufbewahrt, ohne nachweisbare Veränderung blieb³⁾. Löst man aber Glucose in 5 procentiger Kalilauge, so ist bei gewöhnlicher Temperatur im zerstreuten Tageslicht und selbst im Dunkeln nach 11 Monaten so gut wie vollständiger Zerfall des Zuckers unter Bildung beträchtlicher Mengen von Milchsäure eingetreten.

Je 10 g Glucose, 10 g Kaliumhydroxyd und 200 ccm Wasser wurden in 2 mit Watte verschlossenen und mit umgestürzten Bechergläsern überdeckten Kolben aufbewahrt; der Eine von Letzteren stand im zerstreuten Tageslichte (A), der Andere im Schranke (B). In beiden Fällen trat nach einigen Tagen Bräunung auf, die nach mehreren Wochen wieder verschwand. Nach 11 Monaten wurde Fehling'sche Lösung von A nur noch spurenhaltig, von B etwas stärker reducirt, A gab schwache Jodoformreaction, B etwas deutlichere. Gebildet: Bei A 0.6 g, bei B 1.5 g Milchsäure.

Während also E. Duclaux⁴⁾ gezeigt hat, dass Glucose im Sonnenlicht bei Gegenwart von Kalilauge unter Bildung von Alkohol und Kohlendioxyd, bei Gegenwart von Barytwasser unter Entstehung von Milchsäure zerlegt wird, ergibt sich aus unseren Versuchen, dass

¹⁾ Ann. de l'Inst. Pasteur 18, 290, 299, 301 [1904].

²⁾ Diese Berichte 4, 347 [1871].

³⁾ Einige ebenso beschickte Röhren lassen wir noch länger lagern.

⁴⁾ Annales de l'Institut National Agronomique 10 [1886]; Ann. de l'Inst. Pasteur 7, 751 [1893]; 10, 168 [1896].

bei Anwendung von 5-procentiger Kalilauge die Beihülfe des Sonnenlichtes für die Milchsäurebildung nicht nöthig ist¹⁾. Aehnlich haben Nencki und Sieber²⁾ festgestellt, dass, allerdings bei etwas erhöhter Temperatur, bei 35—40°, Traubenzucker mit 0.3 procentiger Kalilauge nach 10 Tagen, mit 1-procentiger Kalilauge nach 6 Tagen verschwunden war, immer unter Bildung von Milchsäure.

Zerlegung von Invertzucker durch starke Natronlauge.

Es wurde ferner versucht, ob beim Kochen von Invertzucker mit starker Natronlauge die Bildung von Aethylalkohol nachzuweisen sei. Thatsächlich ist es, wenn auch nur mit geringer Ausbeute, gelungen (aus 3 kg Rohrzucker 2.8 bezw. 1.8 g Rohproduct). Der Alkohol wurde in dem einen Versuch zur Identificirung in Jodäthyl übergeführt, bei dem anderen in den krystallisirenden *p*-Nitrobenzoesäureester verwandelt, was zum sicheren Nachweis des Aethylalkohols der bisher üblichen Ueberführung in Jodäthyl oder Benzoesäureester bei weitem vorzuziehen ist. Nach Aufarbeitung unseres ersten Versuches stellte sich heraus, dass das im Laboratorium selbst hergestellte, sowie das in hiesigen Fabriken käufliche destillirte Wasser in seinen flüchtigsten Antheilen Jodoformreaction gab. In ähnlicher Weise hat Müntz³⁾ Alkoholgehalt in natürlichen Gewässern nachgewiesen; nur in ganz reinen Quellwässern war nichts davon aufzufinden. Wir haben deshalb zu einem zweiten Versuch, um ganz sicher zu gehen, Kahlbaum'sches Leitfähigkeitswasser verwendet, welches erst nach mehrfacher Anreicherung der flüchtigsten Bestandtheile durch fractionirte Destillation spurenweise Jodoformreaction gab. Zucker und Aetznatron waren frei von Jodoformreaction gebenden Substanzen. Durch diese Versuche ist demnach zum ersten Male bewiesen, dass aus Zucker durch Kochen mit starker Natronlauge Aethylalkohol entsteht; allerdings bleibt die Ausbeute so gering, dass diesem Befund keine grosse Bedeutung für die Aufklärung des Gährungsvorganges zugetheilt werden kann.

1. Drei Mal je 1 kg Rohrzucker wurden in je 1 L Wasser gelöst, mit 25 ccm 30-procentiger Schwefelsäure invertirt und sodann 4 Tage lang unter Ersatz des langsam abdestillirenden Wassers im Oelbade mit je 2 kg 50-procen-

¹⁾ Die beabsichtigte weitere Ausdehnung dieser Versuche unterblieb im Hinblick auf die Ankündigung von H. Zickes, *Centr. bl. f. Bacteriol.* II. Abth., 12, 292 [1904], welcher die Versuche von Duclaux in grösserem Maassstab wiederholen will.

²⁾ *Journ. für prakt. Chem.* [2], 24, 502 [1881].

³⁾ *Compt. rend.* 92, 499 [1881]; vgl. Victor Meyer-Jacobson, *Lehrb. der organ. Chem.* 1, 156, 159 [1893].

tiger Natronlauge gekocht. Die Natronlauge muss allmählich, innerhalb etwa 5 Stunden, zugesetzt werden, da sonst zu starke Erwärmung eintritt. Das Volumen der Masse wurde ständig auf ungefähr 3 L erhalten; bei zu hoher Concentration tritt heftiges Schäumen ein. Es wurden je 4 L überdestillirt, die Jodoformreaction gaben und die Fehling'sche Lösung reducirt-n. Die vereinigten Destillate wurden in üblicher Weise auf Alkohol verarbeitet und das schliesslich durch Kaliumcarbonat abgetrennte Oel 4.8 g fractionirt. Von 68--85° gingen 2.8 g über, die, auf bekanntem Wege in Jodäthyl übergeführt, 2.3 g farblose Flüssigkeit vom Sdp. 72--80° und dem charakteristischen Geruche des Jodäthyls lieferten.

Die wässrigen Rückstände der ursprünglichen Destillation gaben mit Phenylhydrazin Niederschläge, aus denen sich Einheitliches nicht isoliren liess.

II. 3 kg Rohrzucker wurden in 3 Portionen, genau wie bei Versuch I, behandelt. Das mit Pottasche abgetrennte Oel betrug 3.2 g, aus welchem eine Fraction vom Sdp. 60--85° im Gewichte von 1.8 g erhalten wurde. Nachdem wir uns überzeugt hatten, dass reiner Aethylalkohol durch Behandlung mit *p*-Nitrobenzoylchlorid quantitativ in *p*-Nitrobenzoesäureäthylester übergeführt werden kann, haben wir das erhaltene Product dem gleichen Verfahren unterworfen. Erhalten wurden 2 g gelbliche Krystalle vom Schmp. 49--53°, der durch Umkrystallisiren erst aus Gasolin, dann aus Methylalkohol auf 56--57° stieg, während der reine *p*-Nitrobenzoesäureäthylester bei 57° schmilzt. Durch Mischung und Analyse wurde die Identität sichergestellt.

0.1247 g Sbst.: 8.2 ccm N (19°, 774 mm).

$C_9H_9O_4N$. Ber. N 7.18. Gef. N 7.70.

Bildung von Alkohol aus Milchsäure

unter Einwirkung von Spaltpilzen (Pasteur's Buttersäureferment, aber nicht in Reincultur) hat schon A. Fitz¹⁾ und ferner bei Züchtung des Schimmelpilzes *Eurotium* Gayoni in milchsäurehaltigen Nährlösungen P. Mazé²⁾ beobachtet.

Den Nachweis eines analogen Zerfalls auf rein chemischem Wege verdanken wir E. Duclaux³⁾, welcher zeigte, dass milchsaurer Calcium in wässriger Lösung im Sonnenlichte bei Luftzutritt unter Bildung von Alkohol, Calcium-Carbonat und -Acetat zerfällt⁴⁾. Ausserdem giebt nach M. Hanriot⁵⁾ milchsaures Calcium, mit überschüssigem Calciumhydroxyd erhitzt, grosse Mengen Aethylalkohol (bis zu 25 pCt.

¹⁾ Diese Berichte 13, 1310 [1880].

²⁾ Ann. de l'Inst. Pasteur 16, 446 [1902]; Compt. rend. 134, 241 [1902].

³⁾ Compt. rend. 103, 881 [1886].

⁴⁾ Eine Wiederholung der sehr interessanten Versuche in grösserem Umfange haben wir vorläufig unterlassen, in der sicheren Erwartung, dass Hr. H. Zickes auch diese Vorgänge in den Kreis seiner Untersuchungen ziehen wird.

⁵⁾ Bull. soc. chim. 43, 417 [1885]; 45, 80 [1886].

der Theorie) und von Aceton. Diese ausserordentlich grosse Menge von gebildetem Alkohol hat uns veranlasst, den Versuch zu wiederholen unter genauer Identificirung des Alkohols. In der That wurden in einem Falle (A) 16.7 pCt., in einem zweiten (B) 13.4 pCt. einer Flüssigkeit vom ungefähren Siedepunkte des Aethylalkohols gewonnen. Bei A haben wir daraus durch Behandlung mit Benzoylchlorid nichts Einheitliches erhalten, bei B durch Ueberführung in *p*-Nitrobenzoesäureester 4.2 g leicht lösliche Krystalle (im wesentlichen *p*-Nitrobenzoesäureäthylester) und 5.2 g schwer lösliche Krystalle, der Hauptsache nach *p*-Nitrobenzoesäure-isopropylester. Beide Körper wurden durch Mischprobe und den zum Vergleiche aus den reinen Alkoholen dargestellten Substanzen identificirt. Es ist dadurch erwiesen, dass bei dem Verfahren nach M. Hanriot aus Milchsäure zwar Aethylalkohol gebildet wird, aber auch dass die von jenem Forscher als Aethylalkohol betrachtete Fraction daneben beträchtliche Mengen des nahezu gleich hochsiedenden Isopropylalkohols enthält, dessen Bildung wahrscheinlich auf Reduction des nach Hanriot nebenbei entstehenden Acetons zurückzuführen ist¹⁾.

A. 200 g Calciumlactat (Kahlbaum) wurden mit Calciumhydroxyd, das durch Löschen von 400 g Aetzkalk erhalten worden war, aus einer eisernen Retorte destillirt, das Uebergegangene in der gewöhnlichen Weise auf Alkohol verarbeitet, über Pottasche getrocknet und fractionirt. Es wurden drei Fractionen erhalten: I. 73–90° (8.2 g), II. 90–130° (5.0 g), III. 130–240° (6.2 g). Als Rückstand blieben 2–3 g zähes Oel. Bei nochmaligem Rectificiren ergab Fraction II noch unter 90° siedende Antheile (1.8 g), sodass im Ganzen 10 g vom Siedepunkt 73–90° erhalten wurden. Behandlung mit Benzoylchlorid ergab keinen einheitlich siedenden Ester.

B. 300 g Calciumlactat, die nochmals aus Wasser umkrystallisirt waren, wurden genau den obigen Angaben entsprechend destillirt. Es resultirten 9.5 g vom Sdp. 72–85° und 2.5 g vom Sdp. 85–100°. Die erstere Fraction wurde mit *p*-Nitrobenzoylchlorid behandelt, wobei 12.3 g krystallisirtes Product erhalten wurden. Durch Umkrystallisiren gelang es, daraus 2 Fractionen zu gewinnen, eine schwer lösliche vom Schmp. 90–96° (5.2 g) und eine leicht lösliche vom Schmp. 48–60° (4.2 g). Die niedrig schmelzende Fraction wurde nochmals aus Alkohol umkrystallisirt, worauf sie fast vollständig bei 54–56° schmolz, ein Schmelzpunkt, der sich auf Zumischen von reinem *p*-Nitrobenzoesäureäthylester (Schmp. 57°) nicht änderte. Die höher schmelzende Parthie wurde noch dreimal aus Alkohol umkrystallisirt und zeigte dann den Schmp. 104–108°, der nach dem Mischen mit der synthetisch hergestellten reinen Substanz (Schmp. 111°) auf der gleichen Höhe blieb.

¹⁾ Dieses Resultat mahnt zur Vorsicht auch bezüglich der Angaben über Alkoholbildung aus Zucker auf chemischem Wege, da eine wirkliche Identificirung des Aethylalkohols meist nicht durchgeführt wurde.

p-Nitrobenzoësäure-isopropylester ist in der Literatur noch nicht beschrieben und wurde zu oben erwähntem Vergleiche aus *p*-Nitrobenzoylchlorid und reinem Isopropylalkohol (Sdp. 81°) durch Erwärmen der Componenten auf dem Wasserbade am Rückflusskühler und Entfernung des überschüssigen Chlorids, bezw. der Nitrobenzoësäure durch Ausschütteln der ätherischen Lösung mit Natronlauge dargestellt. Beim Erkalten der heissen alkoholischen Lösung scheiden sich hellgelbe Prismen aus. Leicht löslich in Benzol, Chloroform, Aceton, ziemlich schwer in Aether und Schwefelkohlenstoff. Schmp. 111°.

0.1017 g Subst.: 5.9 ccm N₂ (19°, 781 mm).

C₁₀H₁₁O₄N. Ber. N 6.70. Gef. N 6.86.

Experimentelles über Milchsäure- und Essigsäure-Bildung bei der zellfreien Gärung.

Die hier zu beschreibenden Versuche schliessen sich zeitlich an die früheren (Nummer I—X)¹⁾ an. Die dort ausführlich dargelegten Methoden kamen auch diesmal in allen Einzelheiten zur Anwendung, nur wurden die antiseptischen Vorbeugungsmaassregeln in den Versuchen XII und XIV—XVI durch Zufügen von 0.2 pCt. Thymol noch zu dem sonst üblichen Zusatz von 1 pCt. Toluol verstärkt.

(Tabelle S. 628.)

XI. (5. 2. 1904): Gährkraftbestimmung: 20 ccm des frischen Saftes lieferten mit 8 g Rohrzucker und 0.2 ccm Toluol in 4 Tagen bei 22° im Durchschnitt von 2 Versuchen 1.63 g CO₂. 1. 250 ccm Saft, frisch verarbeitet, ergaben 0.20 g Milchsäure. 2. 250 ccm Saft, 2.5 ccm Toluol, 4 Tage bei 22°. Hier, wie bei allen folgenden Versuchen im Erlenmeyer-Kolben mit Schwefelsäuregährventil. Gef.: 0.37 g Milchsäure²⁾. 3. 250 ccm Saft, 2.5 ccm Toluol, 25 g Glucose, 4 Tage bei 22°. Gef.: 0.33 g Milchsäure.

XII. (10. 3. 1904): Gährkraft (hier und in allen folgenden Versuchen bestimmt wie bei XI): 1.62 g CO₂. 1. 250 ccm Saft, frisch verarbeitet. Gef.: 0.45 g Milchsäure, 0.07 g Essigsäure. 2. 250 ccm Presssaft, 2.5 ccm Tol., 0.5 g Thymol, 4 Tage bei 22°. Gef.: 1.29 g Milchsäure, 0.03 g Essigsäure. 3. wie 2., aber Zusatz von 12.5 g Glucose. Gef.: 1.08 g Milchsäure, 0.11 g Essigsäure. 4. wie 2., aber Zusatz von 25 g Glucose. Gef.: 1.14 g Milchsäure, 0.16 g Essigsäure. 5. wie 2., aber Zusatz von 50 g Glucose. Gef.: keine Milchsäure, 0.11 g Essigsäure.

¹⁾ Diese Berichte 37, 426 [1904]

²⁾ Es ist demnach beim Lagern dieses Presssaftes Milchsäurebildung ohne Zuckerzusatz eingetreten, wie dies bei vielen der folgenden und auch der früheren Versuche der Fall war. Als Quelle der Milchsäurebildung ist vermuthlich der Glykogengehalt des Presssaftes zu betrachten. Vergleiche darüber diese Berichte 37, 420 [1904].

Milchsäure und Essigsäure bei der Gärung durch Hefepresssaft.

Nummer des Versuches	Datum	Presssaft ccm	Versuchsdauer Tage	Zusatz von			Nach dem Versuche gefunden					
				Rohrzucker g	Traubenzucker g	Milchsäure g	Milchsäure			Essigsäure		
							g	pCt. ¹⁾	Zunahme ²⁾ pCt.	g	pCt. ¹⁾	Zunahme pCt.
XI, 1	5. 2. 1904	250	0	—	—	—	0.20	0.08	—	nicht bestimmt		
2		250	4	—	—	—	0.37	0.15	+ 0.07	»	»	»
3		250	4	—	25	—	0.33	0.13	+ 0.05	»	»	»
XII, 1	10. 3. 04	250	0	—	—	—	0.45	0.18	—	0.07	0.03	—
2		250	4	—	—	—	1.29	0.52	+ 0.34	0.08	0.03	0
3		250	4	—	12.5	—	1.08	0.43	+ 0.25	0.11	0.05	0.02
4		250	4	—	25	—	1.14	0.46	+ 0.23	0.16	0.06	0.03
5		250	4	—	50	—	0	0	- 0.18	0.11	0.04	0.01
XIII, 1	25. 4. 04	250	0	—	—	—	0.50	0.20	—	0.07	0.03	—
2 ³⁾		250	0	—	—	—	0.15	0.06	—	0.44	0.18 ³⁾	—
3		500	4	200	—	1.5	2.34	0.47	- 0.03	1.61	0.32	0.29
XIV, 1	9. 6. 04	250	0	—	—	—	0	0	—	0.75	0.30	—
2		250	4	—	—	0.75	1.93	0.77	+ 0.47	1.53	0.61	0.31
3		250	4	—	25	—	0	0	0	1.22	0.49	0.19
4		250	1	100	—	—	0	0	0	1.57	0.63	0.33
XV, 1	27. 7. 04	250	0	—	—	—	0	0	—	0.08	0.03	—
2		250	6	—	—	—	0	0	0	0.12	0.05	0.02
3		250	6	—	—	0.75	0	0	- 0.3	0.12	0.05	0.02
4		250	6	—	25	—	0	0	0	0.13	0.05	0.02
XVI, 1	9. 8. 04	250	0	—	—	—	0	0	—	nicht bestimmt		
2		250	6	—	—	0.75	0	0	- 0.3	»	»	»
3		250	6	—	—	0.75	0	0	- 0.3	»	»	»
XVII, 1	21. 7. 04	30 ⁴⁾	0	—	—	Wasser	0	0	—	nicht bestimmt		
2		30	4	—	50	—	0.14	0.28	+ 0.28	»	»	»
3		30	4	—	200	—	0	0	0	»	»	»
4		30	4	20	50	—	0.13	0.26	+ 0.26	»	»	»

¹⁾ Die Procente beziehen sich auf die angewandte Menge Presssaft bzw. bei No. XVII auf das zugesetzte Wasser.

²⁾ bzw. Abnahme.

³⁾ Bei diesem Versuch war vor Abdestilliren der Essigsäure mit Schwefelsäure angesäuert worden (s. u.).

⁴⁾ Versuch XVII wurde mit Aceton-Dauerhefe angestellt, von welcher je 30 g angewandt wurden.

XIII. (25. 4. 1904): Gährkraft: 1.12 g CO₂. 1. 250 ccm Saft, frisch verarbeitet. Gef.: 0.50 g Milchsäure, 0.07 g Essigsäure. 2. 250 ccm Saft, frisch verarbeitet. Hier wurde entgegen der sonstigen Uebung vor Abdestilliren der flüchtigen Fettsäure mit 50 ccm 30-proc. Schwefelsäure angesäuert; nach Uebertreiben der flüchtigen Säure wurde dann die Milchsäure in der gewöhnlichen Weise mit Aether ausgeschüttelt u. s. f. Gef.: 0.15 g Milchsäure, 0.44 g Essigsäure. Die Menge flüchtiger Säure war also durch das Ansäuern so sehr erhöht worden, dass es fraglich erscheint, ob nicht durch Zersetzung von Eiweisskörpern unter dem Einflusse der Schwefelsäure secundär flüchtige Fettsäuren entstanden waren. Die Menge der Essigsäure war hier, wie bei den übrigen Versuchen, abgesehen von den Versuchen I und III, wo auch Analysen des Silbersalzes ausgeführt wurden, nur titrimetrisch bestimmt worden. 3. 500 ccm Saft, 200 g Rohrzucker, 50 ccm 3-proc. Milchsäurelösung (= 1.5 g Milchsäure), 5 ccm Tol., 4 Tage bei 22°. Gef.: 2.34 g Milchsäure, 1.61 g Essigsäure.

XIV. (9. 6. 1904): Gährkraft: 0.72 g CO₂. 1. 250 ccm Saft, frisch verarbeitet. Gef.: keine Milchsäure, 0.75 g Essigsäure. 2. 250 g Saft, 25 ccm 3-proc. Milchsäurelösung (0.75 g Milchsäure), 2.5 ccm Tol., 0.5 g Thym., 4 Tage bei 26°. Gef.: 1.93 g Milchsäure, 1.53 g Essigsäure. 3. 250 ccm Saft, 25 g Glucose, 2.5 ccm Tol., 0.5 g Thym., 4 Tage bei 26°. Gef.: keine Milchsäure, 1.22 g Essigsäure. 4. 250 ccm Saft, 100 g Rohrzucker, 2.5 ccm Tol., 0.5 g Thym., 1 Tag bei 26°. Gef.: keine Milchsäure, 1.57 g Essigsäure.

XV. (27. 7. 1904): Gährkraft: 0.95 g CO₂. 1. 250 ccm Saft, frisch verarbeitet. Gef.: keine Milchsäure, 0.03 g Essigsäure. 2. 250 ccm Saft, 2.5 ccm Tol., 0.5 g Thym., 6 Tage bei 24°. Gef.: keine Milchsäure, 0.12 g Essigsäure. 3. 250 ccm Saft, wie 2., aber Zusatz von 25 ccm 3-proc. Milchsäurelösung (= 0.75 g Milchsäure). Gef.: keine Milchsäure, 0.12 g Essigsäure. 4. 250 ccm Saft, wie 2., aber Zusatz von 25 g Glucose. Gef.: keine Milchsäure, 0.13 g Essigsäure.

XVI. (9. 8. 1904): Gährkraft: 0.81 g CO₂. 1. 250 ccm Saft, frisch verarbeitet. Gef.: keine Milchsäure. 2. 250 ccm Saft, 25 ccm 3-procentige Milchsäurelösung (= 0.75 g Milchsäure). 2.5 ccm Tol., 0.5 g Thym., 6 Tage bei 21°. Gef.: keine Milchsäure. 3. Genau wie 2. Gef.: keine Milchsäure.

XVII. (21. 7. 1904): Zu diesem Versuch wurde Acetondauerhefe verwendet, die anfangs Juli dargestellt war. Gährkraft: 2 g Hefe, 4 g Rohrzucker, 10 ccm Wasser gaben in 9½ Stunden bei 22° im Durchschnitt von 2 Versuchen 0.80 g CO₂. 1. Die Dauerhefe wurde zunächst, wie folgt, auf ihren Milchsäuregehalt geprüft: 30 g wurden mit etwa 150 ccm Wasser längere Zeit auf dem Wasserbade erwärmt, zum Brei eingedampft, mit verdünnter Schwefelsäure und Wasser in einen Scheidetrichter übergespült und mit Aether erschöpfend extrahirt. Gef.: keine Milchsäure. 2. 30 g Dauerhefe, 50 ccm Wasser, 1 ccm Toluol, 4 Tage bei 24°: Schwefelsäuregährverschluss. Gewichtsverlust während der Versuchsdauer: 1.5 g. Die Aufarbeitung erfolgte entsprechend wie bei 1. Gef.: 0.14 g Milchsäure. 3. 30 g Dauertefe, 200 ccm Wasser, 4 ccm Tol., 4 Tage bei 24°: Schwefelsäuregährverschluss. Gewichtsabnahme während der Versuchsdauer: 1.5 g. Gef.: keine Milchsäure. 4. 30 g Dauer-

hefe, 20 g Rohrzucker, 50 cem Wasser, 1 cem Toluol, 4 Tage bei 22°. Gef.: 0.13 g Milchsäure.

Versuche zur Isolirung weiterer Gährproducte bei der Presssaftgährung.

Die Untersuchungen, welche zu einem Resultate nicht geführt haben, seien ganz kurz erwähnt. Die aus den Versuchen VII—XVI gesammelten Mutterlaugen des Zinklactats wurden von Metall durch Schwefelwasserstoff befreit und, nachdem sich herausgestellt hatte, dass aus der alkalisch gemachten Lösung nur ganz unbedeutliche Mengen mit Aether extrahirt werden konnten, wieder angesäuert und erschöpfend ausgeäthert. Der Rückstand der getrockneten Aetherlösung wurde von neuem in das Zinksalz übergeführt; ausser 2 g Zinklactat gelang es aber nicht, krystallisirende Zinksalze aufzufinden. Weder die wieder in Freiheit gesetzten Säuren, noch deren Calciumsalze, noch die öligen Niederschläge mit Phenylhydrazin und *p*-Nitrophenylhydrazin waren zum Krystallisiren zu bringen.

Optisches Verhalten der gebildeten Milchsäure.

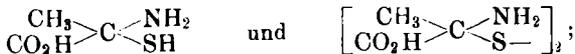
Die im Presssaft ohne Zuckerzusatz, also wohl durch Vergährung von Glykogen, entstehende Milchsäure, ebenso wie die auf Rohrzuckerzusatz gebildete Milchsäure war stets völlig inactiv. Geprüft wurde immer eine gesättigte, bezw. übersättigte Zinksalzlösung. Das gleiche Resultat ergab die nach Zusatz von Glucose gebildete Säure, obwohl hier eine erste und eine zweite Krystallisation auf das Drehungsvermögen geprüft wurden. Es entstand also nur inactive Säure, was durch die Löslichkeitsverhältnisse sämtlicher isolirten Zinksalze bestätigt wird.

100. S. Gabriel: Ueber Isocystein und Isocystin.

[Aus dem I. Berliner Universitäts-Laboratorium.]

(Eingegangen am 25. Januar 1905, vorgetragen in der Sitzung vom Verf.)

Zu der Zeit, als die vorliegende Untersuchung begonnen wurde, galten für Cystein und Cystin noch die von E. Baumann aufgestellten Formeln



man nahm also an, dass Derivate einer Propionsäure vorlägen, in denen die Amidogruppe und das Schwefelatom an demselben (α) Kohlenstoffatom hafteten.

Später hat C. Neuberg¹⁾ wahrscheinlich gemacht und E. Friedmann²⁾ nachgewiesen, dass Schwefel und Stickstoff an verschiedenen Kohlenstoffatomen stehen, und schliesslich sind von E. Friedmann auf

¹⁾ Diese Berichte 35, 3161 [1902].

²⁾ Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 2, 433, 3, 1 (Centralblatt 1902, II 840, 1360).