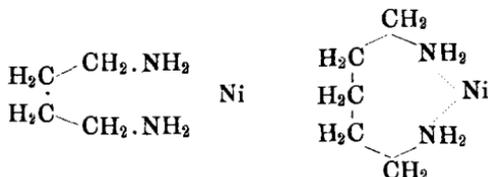
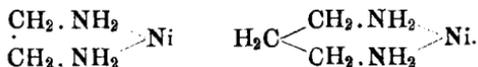


handlung mit der Bemerkung zu schliessen, dass von dem eben erwähnten Standpunkte der Grund wohl verständlich erscheint, aus welchem cyclische Complexverbindungen der 1.4- und der 1.5 Diamine nicht erhältlich sind. Denn, wäre das Gegentheil richtig, so müssten die unbeständigen 7- und 8-gliedrigen Ringe entstehen:



Da hierzu wenig Tendenz zu bestehen scheint, so erhält man Verbindungen mit offener Kette. Bei den 1.2 und 1.3-Diaminen entstehen hingegen cyclische Verbindungen, da hierbei die Bildung von fünf- und sechs-gliedrigen Ringen möglich erscheint:



509. Eduard Buchner und Jakob Meisenheimer: Die chemischen Vorgänge bei der alkoholischen Gährung.

(III. Mittheilung.)

[Aus dem chem. Laboratorium der Landwirtschaftl. Hochschule zu Berlin.]
(Eingegangen am 15. August 1906.)

In den früheren Mittheilungen¹⁾ haben wir insbesondere den experimentellen Nachweis geführt, dass beim Zerfalle des Zuckers in der zellfreien Gährung als Zwischenproduct sehr wahrscheinlich Milchsäure entsteht. Dieser Annahme ist A. Slator²⁾ entgegengetreten. In der Erwägung, dass im Falle intermediärer Bildung von Milchsäure letztere sehr rasch in Alkohol und Kohlendioxyd gespalten werden müsste, damit eine Anhäufung daran in der gährenden Flüssigkeit ausgeschlossen bleibt, hat Slator drei Parallelversuche mit Glucosegährung durch lebende Hefe ohne Milchsäure und unter Zusatz von 0.45 bzw. 0.06 pCt. dieser Substanz angestellt. Die erwartete rasche Steigerung der Kohlendioxydbildung blieb in beiden letzteren

¹⁾ Diese Berichte 37, 417 [1904]; 38, 620 [1905].

²⁾ Journ. chem. Soc. 89, 141 [1906]; Chem. Centralblatt 1906, I, 383, 1034.

Fällen aus; im Gegentheil zeigte sich eine geringe Abnahme. Da somit eine schädliche Wirkung der Milchsäure nachgewiesen ist, erscheint es vollkommen möglich, dass ihre beschleunigende Wirkung durch die schädliche verdeckt wird; eine Beweiskraft können wir jedenfalls dem einzelnen Versuche von Slator gegenüber unseren ausführlichen Feststellungen nicht zuerkennen.

Für die Spaltung des Zuckers in Milchsäure bei der alkoholischen Gährung haben wir in Uebereinstimmung mit Wohl das intermediäre Auftreten von Methylglyoxal angenommen, eine Hypothese, der sich unterdessen auch A. Windaus und F. Knoop¹⁾, sowie E. Erlennmeyer jun.²⁾ auf Grund von theoretischen Erwägungen angeschlossen haben. Die Vermuthung war uns so wahrscheinlich, dass wir unterdessen versucht haben, sie experimentell zu stützen, allerdings ohne Erfolg. Von Hrn. Prof. C. Harries uns freundlichst überlassenes Methylglyoxal wurde durch Acetondauerhefe nicht gespalten; wir geben aber vorläufig die Hoffnung nicht auf, doch zum Ziele zu gelangen.

Ausser der Bildung von Milchsäure wurde bei der zellfreien Gährung auch noch das regelmässige Auftreten geringer Mengen von Essigsäure festgestellt, die aber immerhin erheblich grösser waren als frühere Versuche von Béchamp und Duclaux mit lebender Hefe ergeben hatten. Inzwischen hat eine neuere Arbeit von R. Reisch³⁾ bei der Zuckergährung durch lebende Weinhefe ebenfalls das Auftreten erheblicher Mengen von Essigsäure erwiesen.

Im Zusammenhang damit sei eine ältere Angabe von Moritz Traube⁴⁾ erwähnt, welcher beim Erhitzen einer Zuckerlösung mit Platinmohr auf 150—160° die Bildung von Kohlensäure und eines flüchtigen, im Geruch an Essigester erinnernden und Jodoformreaction gebenden Oeles beobachtete. Bei einer Wiederholung dieses Versuches konnten wir Zersetzung des Traubenzuckers durch Entwicklung eines Gases beim Oeffnen der Röhre (höchst wahrscheinlich Kohlendioxyd), Braunfärbung der Lösung und Auftreten eines durch Pottasche abscheidbaren Oeles im Destillat nachweisen, das aber nur Furool-Geruch besass. Die Entstehung dieses Körpers ist unter den eingehaltenen Umständen von vornherein wahrscheinlich⁵⁾.

Anknüpfend an unsere früheren Versuche über die quantitative Bestimmung von Milch- und Essig-Säure bei der zellfreien Gährung

¹⁾ Diese Berichte 38, 1167 [1905].

²⁾ Journ. für prakt. Chem. [2] 71, 384 [1905].

³⁾ Centralbl. für Bacteriol., II. Abth., 14, 572 [1905].

⁴⁾ Diese Berichte 7, 115 [1874].

⁵⁾ Vergl. K. Förster, diese Berichte 15, 323 [1882].

haben wir nunmehr eingehende Untersuchungen über einige andere Nebenproducte ausgeführt, worüber im Folgenden berichtet wird.

Ueber die Bildung von Glycerin und Bernsteinsäure ergaben Untersuchungen von E. Buchner und R. Rapp¹⁾, dass bei der Zuckergärung durch Hefepresssaft geringere Mengen von beiden Stoffen entstehen, als Pasteur bei der Gärung mit lebender Hefe erhalten hatte. In Anbetracht der grossen experimentellen Schwierigkeiten in der Isolirung so kleiner Mengen, wie sie hier in Frage kommen, aus den ungeheuren Massen von Eiweisskörpern des Hefepresssaftes, bezw. deren Abbauprodukten und dem überschüssig zugesetzten Zucker wurden indessen schon damals diese Resultate nicht als endgültig entscheidend betrachtet²⁾. Wir haben nun drei vollständige Versuche, den ersten mit Berliner, den dritten mit Münchener Unterhefe, den zweiten mit einem Gemisch beider durchgeführt und das frühere Resultat, was die Bernsteinsäure betrifft, bestätigen können; im Gegensatz zur Gärung mit lebender Hefe entsteht dieser Körper also bei der zellfreien Gärung nicht. Dagegen wurden bei allen unseren Versuchen erhebliche Mengen von Glycerin angetroffen; ob dieser von den früheren Resultaten abweichende Befund durch die wechselnde Beschaffenheit des Presssaftes bedingt ist, was möglich scheint, da auch wir bei unseren drei Versuchen sehr verschiedene Glycerinmengen (5.4—16.5 pCt. vom entstandenen Alkohol) gefunden haben, oder einer kleinen Abänderung der Isolirungsmethode zuzuschreiben ist, muss dahingestellt bleiben. Das früher geübte Ansäuern mit Salpetersäure hatte sich nämlich als bedenklich erwiesen, indem in einem Falle beim Ueberdestilliren des Glycerins lebhafte Oxydation und Zersetzung des Letzteren eingetreten war, was uns von da an die Anwendung von Salzsäure empfehlenswerther erscheinen liess.

Ueber den Ursprung des Glycerins bei der Zuckergärung existiren verschiedene Annahmen. Die Wahrscheinlichkeit, dass es als directes Nebenproduct des Zuckerzerfalls in Alkohol und Kohlensäure auftritt, wird noch weiter verringert dadurch, dass wir es in so verschiedenen Mengen angetroffen haben. Zum selben Schluss sind auch W. Seifert und R. Reisch³⁾ kürzlich auf Grund ihrer Untersuchungen über Zuckergärung mit Weinhefe gekommen. Sollte das Glycerin aus den Fetten und Oelen der Hefezellen durch Lipasewirkung⁴⁾ entstanden sein, so müssten unzweifelhaft die Fettsäuren und

¹⁾ Diese Berichte 34, 1526 [1901].

²⁾ Vergl. a. a. O., S. 1530.

³⁾ Centralbl. für Bacteriol., II. Abth., 12, 574 [1904].

⁴⁾ M. Delbrück, Wochenschrift für Brauerei 20, 66 [1903]; Maercker-Delbrück, Spiritusfabrication 1903, 495, woselbst auch auf die Möglichkeit der Glycerinbildung aus Lecithin hingewiesen ist.

zwar etwa in der 10 fachen Menge des gefundenen Glycerins bei der zellfreien Gährung auftreten, auch wenn man annimmt, dass sie bei der lebenden Hefe zum Aufbau der Körpersubstanz Verwendung finden. Bei unseren Essigsaurebestimmungen im vergorenen Hefepresssaft waren aber nur Spuren von höheren Fettsäuren bei der Wasserdampfdestillation nachzuweisen. Die Hypothese muss demnach fallen gelassen werden. Auch eine jüngst ausgesprochene Vermuthung ¹⁾, dass das Glycerin aus den Eiweissstoffen der Hefezellen stamme, ist einstweilen noch wenig wahrscheinlich.

Am meisten hat demnach die Annahme für sich, dass diese Substanz aus Zucker entsteht, nicht als directes Nebenproduct der Zuckerspaltung in Alkohol und Kohlensäure, sondern durch einen gesonderten Vorgang. Diese Hypothese wird auch noch dadurch wahrscheinlich gemacht, dass es uns bei dem quantitativen Verfolg der zellfreien Gährung niemals gelungen ist, den verschwundenen Zucker in den erhaltenen Gahrproducten wieder vollkommen aufzufinden, selbst wenn man die von A. Harden und W. J. Young ²⁾ zuerst nachgewiesene Thatsache berücksichtigt, dass ein Theil des Zuckers zu einem hochmolekularen Polysaccharid aufgebaut wird.

Die Bildung von Glycerin aus Zucker beansprucht allgemeineres Interesse, denn es ist dies ein Schritt auf dem Wege, der von den Kohlenhydraten zu den Fetten führt.

Die Frage der Zuckerbilanz bei der zellfreien Gährung wurde zuerst von E. Buchner und R. Rapp experimentell geprüft. Die Menge des gebildeten Kohlendioxyds und Alkohols erreichte bis auf 10 pCt. das Gewicht des zugesetzten Zuckers, es war aber dabei das schon ursprünglich im Presssaft vorhandene Glykogen unberücksichtigt geblieben; auch die damalige Aeusserung ³⁾, bei Vervollkommnung der Methodik werde wahrscheinlich noch grössere Uebereinstimmung zu erzielen sein, hat sich nicht bestätigt.

Zuerst haben A. Macfadyen, Harris Morris und S. Rowland ⁴⁾ auf die Thatsache hingewiesen, dass die Menge von Zucker, welche verschwindet, weit grösser ist, als die Summe der Gewichte von Alkohol und Kohlendioxyd. Die weitere Verfolgung dieser Beobachtung führte A. Harden und W. J. Young ⁵⁾ zu der Erkenntniss, dass ein Theil des anscheinend verschwundenen Zuckers bei der zell-

¹⁾ R. Carracido, Ref. Biochemisches Centralbl. 3, 439 [1904—1905]. Die beschriebenen Versuche ergaben bei Zuckergährung unter Zusatz von Hühner-Eiweiss ausserordentlich hohe, aber auch schon ohne Eiweiss auffallend gesteigerte Glycerinmengen (12 pCt.), welche die Zuverlässigkeit der Glycerinbestimmung zweifelhaft erscheinen lassen.

²⁾ Diese Berichte 37, 1067 [1904].

³⁾ Diese Berichte 31, 573 [1898].

⁴⁾ Diese Berichte 33, 2786 [1900].

⁵⁾ Diese Berichte 37, 1067 [1904].

freien Gährung in eine alkalische Kupferlösung nicht mehr verändernde Substanz übergeht, welche aber nach der Hydrolyse mit Salzsäure, entgegen den Angaben von Macfadyen, Morris und Rowland, in normaler Weise reducirt. Die Entstehung dieses Körpers kann allem nach nur auf die Wirksamkeit eines im Presssaft vorhandenen aufbauenden Enzymes zurückzuführen sein, ein Schluss, den Harden und Young merkwürdiger Weise zu ziehen unterlassen (a. a. O., S. 1070). Man muss sich dabei der in der lebenden Hefe manchmal rasch eintretenden Glykogenbildung erinnern, obwohl allerdings das entstehende Polysaccharid, über dessen Natur sich die englischen Forscher nicht näher äussern, mit Glykogen nicht identisch zu sein scheint; wenigstens verlief ein von uns unternommener Versuch, es nach Pflüger's¹⁾ Glykogen-Isolirungsmethode zu fassen, ergebnisslos. Verschwinden von Zucker hat auch M. Jodlbauer²⁾ bei der alkoholischen Gährung durch lebende Hefe beobachtet, als er letzteren Vorgang im Laboratorium Soxleth's zur quantitativen Zuckerbestimmung benutzte. Insbesondere lieferte Hefe, welche eine wenn auch geringe Selbstgahrung erlitten hatte, zu niedere Kohlendioxydzahlen, weil sie beim Einbringen in die Zuckerlösung vor allem ihren Zellinhalt zum ursprünglichen Stand auf Kosten des Zuckers ergänzte.

Auf die Möglichkeit des Vorhandenseins eines revertirenden Enzymes im Hefepresssaft hat schon früher E. Buchner³⁾ hingewiesen zur Erklahrung der Angaben von M. Cremer⁴⁾, welcher in mit Fructose versetztem Hefepresssaft, allerdings nur durch die Farbenreaction mit Jod und nur in der Hälfte der untersuchten acht Fälle, Neubildung von Glykogen nachgewiesen haben will.

Die Frage nach dem Auftreten von nicht reducirenden, hochmolekularen Zuckern bei der zellfreien Gährung schien uns so wichtig, dass wir es für angezeigt erachteten, die von den englischen Forschern mit obergahriger Hefe unternommenen Versuche unsererseits mit Unterhefe im allgemeinen unter Anwendung der gleichen Methoden zu wiederholen.

Zunächst wurden aber drei Versuche mit zwei verschiedenen Presssaften über den Verbleib des Zuckers ohne Hydrolyse ausgeführt. Die Gesamtmenge des vorhandenen Zuckers setzt sich zusammen aus dem zugesetzten (a) und dem im Saft von vornherein vorhandenen Zucker (b). Letzterer wurde berechnet aus dem in einem Controllversuch durch Selbstgahrung entwickelten Kohlendioxyd

¹⁾ Pflüger's Archiv 93, 163 [1902—03]; Chem. Centralblatt 1903, I, 254.

²⁾ Zeitschr. für Rubenzuckerindustrie 38, 328 [1888].

³⁾ E. und H. Buchner und M. Hahn, Die Zymasegährung 1903, 55.

⁴⁾ Diese Berichte 32, 2062 [1899].

und der nach beendeter Gährung mittels der Pavy'schen Methode bestimmten Menge reducirenden Zuckers. Zur Aufstellung der Zuckerbilanz ist von diesem Gesamtzucker nun abzuziehen einerseits der bei dem Gahrungsvorgange normal zerfallende, als Kohlendioxyd zur Wägung gebrachte Zucker (c), andererseits der nach dem Gahrungsvorgange im Rückstand vorhandene reducirende Zucker (d). Die Differenz zwischen diesen Mengen, also der Verlust an Zucker, $(a + b) - (c + d)$, betrug nun 0.94, 0.57 und 1.33 g wobei in den beiden ersten je 2 g, im letzten Versuche 4 g Glucose zugesetzt worden waren. Berechnet man diese Zahlen unter Beruckichtigung des ursprünglich im Saft vorhandenen Zuckers auf Procente um, so ergibt sich ein Verlust von 42, 24 bzw. 30 pCt. Zucker.

Gegenüber diesen recht ungünstigen Resultaten sind die Ergebnisse unserer Versuche mit Hydrolyse weit besser ausgefallen. Zur Bestimmung der Gesamtzuckermenge wurde bei diesen jedes Mal der Controllversuch nach der Selbstgahrung durch Erhitzen mit Salzsäure hydrolysiert und der nunmehr nach Pavy ermittelte Zucker dem aus dem Kohlendioxyd berechneten zugezählt (diese Summe sei b^b). Analog wurde für die Aufstellung der Zuckerbilanz der Subtrahend vermehrt um die Zahl, welche sich bei der Hydrolyse des Hauptversuches nach beendeter Gährung ergab (d^b). Ferner wurde in den letzten Versuchen die bei der Gährung normal zerlegte Zuckermenge ausser durch Kohlendioxydwagung auch durch Bestimmung des gebildeten Alkohols ermittelt¹⁾, was zu etwas niedrigeren, aber nicht stark differirenden Zahlen fuhrte²⁾. Der Zuckerverlust $((a + b^b) - (c + d^b))$ schwankte in 5 verschiedenen Fällen von 0.04—0.42 g oder von 2—11 pCt. Drei andere Versuche ergaben etwas schlechtere Resultate; es ist aber klar ersichtlich, woran der Fehler lag; im einen Falle wurde zur Hydrolyse zu schwache Salzsäure verwandt (Hauptversuch 5), in den beiden anderen die Salzsäure-Hydrolyse durch das zur Erhöhung der Gahrkraft zugesetzte Natriumphosphat offenbar ungünstig beeinflusst (Hauptversuch 7 und 8); wir denken dabei z. B. an die synthetische Bildung anderer Kohlenhydrate in Folge der alkalischen Reaction während der Gährung.

¹⁾ Zur Alkoholbestimmung kam die im hiesigen Laboratorium von R. Gaunt ausgearbeitete, sehr bequeme kryoskopische Methode in Anwendung. Zeitschr. für analyt. Chem. 44, 106 [1905].

²⁾ Dass die Alkoholzahlen hinter den Kohlendioxydzahlen zurückbleiben, führen wir auf eine geringere Genauigkeit der Bestimmungsmethode für erstere Substanz zurück. Auch M. Jodlbauer (Zeitschr. für Rubenzuckerindustrie 38, 346 [1888]) kommt zu dem Schlusse, dass von den Gahrungsproducten das Kohlendioxyd am leichtesten und genauesten bestimmbar ist.

Diese Resultate sind so günstige, dass uns damit über den Verbleib des Zuckers bei der Gährung mit Presssaft aus Unterhefe vollständige Klarheit geschaffen zu sein scheint. Die vorhandenen Schwankungen sind wohl auf unvermeidliche Versuchsfehler zurückzuführen. Wir haben die Letzteren zwar durch Controllversuche möglichst auszuschalten getrachtet. Z. B. geht bei der Hydrolyse durch Erwärmen mit Salzsäure und das wegen der Titirung unerlässliche Entfärben mit Thierkohle¹⁾ ein Theil des Zuckers verloren, ein Fehler, den wir durch einen besonderen Versuch mit reiner Glucose bestimmt und in Rechnung gesetzt haben. Es ist aber keine Sicherheit geboten, dass bei der Hydrolyse nicht gegen Säuren empfindlichere Zuckerarten, etwa Fructose, entstehen. Ein weiterer Grund für den Verlust an Zucker und die Schwankungen ist auch in der Glycerinbildung zu suchen, welche je nach der Qualität des Presssaftes von 5.4—16.5 pCt. des entstandenen Alkohols (s. o.) wechselt. Endlich sei noch auf die Erschwerung der Zuckerbestimmung durch die anwesenden grossen Massen von Eiweisskörpern hingewiesen; dass übrigens der bei der Hydrolyse auftretende reducirende Zucker nicht etwa durch die Salzsäure aus irgend welchen Eiweissstoffen abgespalten wird, ergibt sich aus den Controllversuchen, welche trotz der gleichen Eiweissmengen nach der Salzsäurebehandlung nur eine geringe Reductionswirkung ausübten.

Zum Vergleich wurde in den meisten dieser Versuche die Zuckerbilanz auch ohne Hydrolyse aufgestellt, wobei sich wieder wesentlich schlechtere Zahlen ergaben. Die Differenz zwischen den gefundenen Zuckerverlusten, d. h. die Menge der durch Salzsäure hydrolysirbaren Polysaccharide, betrug von 0.15—1.59 g (6—19 pCt.). Es ist hierdurch der Nachweis eines aufbauenden Enzymes im Presssaft aus untergähriger Hefe zahlenmässig festgelegt.

Schliesslich bleibt noch übrig, diese Ergebnisse zu vergleichen mit den früheren. E. Buchner und R. Rapp²⁾ haben zwei Versuche über Zuckerbilanz mit Presssaft aus untergähriger Hefe angestellt, bei welchen eine bemerkenswerth vollständige Vergährung des Zuckers eintrat. Unter schätzungsweise Berücksichtigung des im frischen Presssaft vorhandenen Zuckers blieb die Summe der Gährproducte um etwa 15 bezw. 20 pCt. hinter der Gesamtmenge des vorhandenen Zuckers zurück. Dieses im Vergleich mit unseren neuen Versuchen ohne Hydrolyse äusserst günstige Resultat, welches noch günstiger ist, als es

¹⁾ Vergl. P. N. Evans, Adsorption von gelösten Stoffen, Chem. Centralbl. 1906, II, 394.

²⁾ Diese Berichte 31, 573, 1085 [1898]; Buchner u. Hahn, die Zymasegährung, 1903, 211.

bei der Gegenüberstellung direct erscheint, weil bei den Procentzahlen der neuen Versuche nicht nur der vergohrene, sondern auch der nach der Gährung hinterbleibende, Pavy'sche Lösung reducirende Zucker in Rechnung gesetzt ist, dürfte wahrscheinlich auf niedrigere Versuchstemperaturen (15°) und auf den Zusatz von Kaliummetaarsenit zurückzuführen sein. Ein dritter, bei 22° angestellter Versuch der gleichen Autoren¹⁾ ergab ein ähnlich günstiges Resultat; es gingen nur rund 15 pCt. des Zuckers nicht in die Gährproducte über, vielleicht weil nicht Presssaft, sondern Acetondauerhefe verwendet worden war.

Harden und Young²⁾ haben eine ausserordentlich grosse Anzahl von Versuchen ausgeführt. Die in ihren ausführlichen Tabellen (XII, XIII und XV) niedergelegten Zahlen geben nicht alle experimentellen Daten wieder, sodass ein Nachrechnen und ein Vergleich mit unseren Zahlen nicht überall möglich ist. Ob den Berechnungen stets dieselben Erwägungen zu Grunde gelegt wurden, welche für uns maassgebend waren, ist aus den Tabellen nicht zu entnehmen, doch lassen es die Ausführungen im Text vermuthen³⁾.

Die Versuche von Harden und Young mit Hydrolyse durch $\frac{3}{1}$ -n. Salzsäure stimmen ausserordentlich genau untereinander überein. Die Zahlen, welche die Verluste an Zucker angeben, schwanken um den Nullwerth herum. Es ist fraglich, ob die scheinbar grössere Genauigkeit gegenüber unseren Versuchen thatsächlich besteht, da ein Verlust an Zucker infolge der oben in drei Fällen bewiesenen Glycerinbildung gewöhnlich eintreten wird.

Das Vorkommen von Fuselölen

bei der alkoholischen Gährung ist in den letzten Jahren in mannigfacher Richtung erforscht worden. Es schien uns Interesse zu bieten, ob auch bei der zellfreien Zuckergährung höhere Alkohole auftreten.

¹⁾ Buchner u. Hahn, die Zymasegährung, 1903, 212.

²⁾ Diese Berichte 37, 1063 [1904].

³⁾ In den Erläuterungen sind S. 1064 nach unserem Dafürhalten sinn-gemäss einige Druck- oder Uebersetzungs-Fehler zu verbessern:

Zeile 13 v. o.: statt »hiernach wurde der Betrag an thatsächlich vergohrenem Zucker umgerechnet in äquimolekulare Mengen Kohlendioxyd und Alkohol« lies: »... berechnet unter der Annahme der Entstehung äquimolekularer Mengen von . . .«.

Zeile 22 v. o.: statt »Menge der thatsächlich vorhandenen Glucose« lies: »... thatsächlich verschwundenen Glucose«.

S. 1065, Zeile 1 v. o. bleibt es unklar, auf welche Versuche sich die 14—36 pCt. Verlust an Zucker beziehen.

Da uns wesentlich die Eigenschaften des Presssaftes aus untergähriger Bierhefe interessiren, haben wir zunächst diesen zur Anwendung gebracht. Nach einem orientirenden Versuche mit einem Viertel Liter Rohalkohol, erzeugt aus Rohrzucker durch Presssaftgährung, der beim Fractioniren über eine lange Siedekolonne nur einen gegen 9.10^o destillirenden Tropfen, aber von deutlichem Amylalkoholgeruch ergab, wurde ein Hauptversuch mit über 1 L Rohalkohol, auf dieselbe Weise gewonnen und verarbeitet, ausgeführt, der auch keine grössere Menge von Amylalkohol enthielt, als eben zum Nachweise durch den Geruch genügte. Da Controllversuche mit denselben Presssäften vor Zuckerzusatz vorliegen, ist es erwiesen, dass diese winzige Menge von Amylalkohol, aber nur diese, bei der zellfreien Gährung gebildet wurde. Der Fuselgehalt des Rohfabrikats der Spiritusfabriken schwankt zwischen 0.1 und 0.7 pCt.¹⁾ Wenn in dem bei der zellfreien Gährung erhaltenen Rohalkohol 0.1 pCt. Fuselöl vorhanden gewesen wären, hätten wir 1 g davon bekommen müssen. Ueber 100^o gingen aber nur 0.7 g über, welche nach dem Geruch und raschen Hinweggehen des Thermometers über die Siedetemperatur zu schliessen, nur zum kleinen Theil aus Amylalkohol bestanden. Ausserdem war auch im Controllversuch etwas Amylalkohol gefunden worden; bei der zellfreien Gährung mit Presssaft aus Unterhefe wurde also bei weitem weniger als 0.1 pCt. (wir schätzen 0.01 pCt.) gebildet.

Ein deutlich positiver Ausfall unserer Versuche hätte vielleicht als eine Bestätigung der jetzt im Vordergrund des Interesses stehenden Theorie der Fuselölbildung aus Aminosäuren von F. Ehrlich²⁾ aufgefasst werden können. Umgekehrt darf die Bildung nur von Spuren keineswegs als eine Widerlegung betrachtet werden. Einerseits fehlt es im frischen Presssaft an Leucinen, deren Entstehung aus den Eiweissstoffen des Saftes durch Endotryptasewirkung bei der Gährung mit dem allmählichen Unwirksamwerden der Enzyme zusammenfällt. Andererseits könnten, wenn man mit Ehrlich den Vorgang der Fuselölbildung als einen rein enzymatischen Process annehmen will, die wirksamen Enzyme schon bei der Darstellung des Presssaftes zerstört worden sein, oder die Unterhefe solche nicht in nennenswerther Menge enthalten. Der erstgenannte dieser Erklärungsversuche würde sich durch Zusatz von Leucin zu einer Presssaftgährung leicht prüfen lassen.

¹⁾ Maercker-Delbrück, Spiritusfabrication 1903, 213.

²⁾ Zeitschr. der deutschen Zuckerindustrie 55, 539 [1905]; Chem. Centralblatt 1905, II, 156.

Experimentelles.

Glycerin- und Bernsteinsäure-Bildung.

Als Richtschnur zur Bestimmung dieser Nebenproducte diene der Wunsch, beide Körper schliesslich als solche zu isoliren, um damit groben Täuschungen unter allen Umständen vorzubeugen. Es ist klar, dass die so gewählten Verfahren an Genauigkeit gegenüber manchen anderen zurückstehen, aber wir hatten Bedenken gegen die Zuverlässigkeit der bisherigen, welche dadurch gesteigert wurden, dass die Methode, Bernsteinsäure als Silbersalz zur Wägung zu bringen, E. Buchner und R. Rapp¹⁾ ein »Silbersuccinat« geliefert hatte, welches bei der Zerlegung mit Schwefelwasserstoff keine krystallisirte Bernsteinsäure ergab. Auch die neue Glycerin-Bestimmungsmethode nach S. Zeisel und R. Fanto²⁾, wobei das Glycerin als Jodsilber zur Wägung gelangt, schien uns ähnliche Irrthümer nicht sicher auszuschliessen. Die genaue Beschreibung unserer Verfahren sei mit der Mittheilung eines orientirenden Versuches verknüpft, bei welchem zu frischem Presssaft behufs Controlle der Methode direct Bernsteinsäure und Glycerin zugefügt wurden.

Orientirender Versuch: Zu 300 ccm frischem Presssaft wurden 0.5 g Bernsteinsäure und 3 g Glycerin gegeben, hierauf bis zum Coaguliren der Eiweissstoffe im Wasserbade erhitzt, filtrirt, mit kochendem Wasser gründlichst ausgewaschen, zur Syrupconsistenz eingedampft, mit Salzsäure angesäuert und 6–7 Mal mit je $\frac{1}{2}$ – $\frac{3}{4}$ L Alkohol ausgekocht. Nach abermaligem Filtriren wurde das Lösungsmittel zur Hälfte abdestillirt, mit Ammoniak versetzt, durch Chlorbaryum heiss gefällt und der Niederschlag abfiltrirt.

a) Zur Bernsteinsäure-Bestimmung erfolgte Zerlegung der Baryumsalze durch Salzsäure. Nach Zusatz von Chlornatrium wurde die Säure mit Hülfe des Pip'schen³⁾ Apparates mit Aether extrahirt. Nach Abdampfen der Aetherlösung hinterblieben 0.9 g krystallisirter, aber gelblicher Rückstand, der nach dem Kochen mit Salpetersäure und sodann mit Thierkohle, sowie schliesslichem Umkrystallisiren aus Wasser 0.3 g farblose Krystalle lieferte. Die 0.9 g Rohproducte entsprechen ziemlich gut der zugesetzten + der im Presssaft schon vorhandenen Bernsteinsäuremenge, während bei der weiteren Reinigung beträchtlicher Verlust eingetreten ist.

b) Zur Glycerin-Bestimmung wurde die Mutterlauge der Baryumsalze bis zur Syrupconsistenz eingedampft, 6–8 Mal (bei den ausführlichen Versuchen sogar bis zu 14 Mal) mit $\frac{1}{4}$ L Alkohol aufgenommen und mit

¹⁾ Diese Berichte 34, 1530 [1901]. — »Die Zymasegährung«, 1903, 221.

²⁾ Zeitschr. für analyt. Chemie 42, 549 [1903].

³⁾ Zeitschr. für angew. Chemie 16, 657 [1903]. — Chem. Centralblatt 1903, II, 409.

$\frac{1}{2}$ L Aether gefällt. Nach Eindampfen der so erhaltenen Alkohol-Aether-Extracte erfolgte die von Soxhlet-Graf Törring¹⁾ empfohlene Vacuumdestillation mit Wasserdampfnachspülung. Das Glycerin wurde direct nach dem Trocknen auf dem Wasserbade zur Wägung gebracht. Erhalten 3 g Glycerin; also recht vollständig die zugesetzte Menge, da sich nach unseren Erfahrungen in 300 ccm frischen Presssaftes von vornherein nur etwa 0.1 g Glycerin vorfinden.

Daran anschliessend seien unsere drei ausführlichen Versuche beschrieben, von denen sich jeder gliedert in einen Vorversuch zur Ermittlung des ursprünglichen Gehaltes des frischen Presssaftes, einen Controllversuch, in welchem vor oder nach der Gärung Glycerin und Bernsteinsäure zugesetzt wurden, und einen Hauptversuch. Ausserdem wurde die Gärkraft des Presssaftes durch Feststellung des Kohlendioxydgewichtsverlustes, in den beiden letzten auch durch Alkoholbestimmungen constatirt; mit Rücksicht auf diese unterblieb der Zusatz von Toluol²⁾.

I. a) Vorversuch. Gehalt des Hefepresssaftes. In 700 ccm frischem Presssaft wurde die Bernsteinsäure nach der oben beschriebenen Methode isolirt, aber schliesslich in Aetherlösung mit Thierkohle gekocht und letztere abermals mit Aether extrahirt. Erhalten 0.09 g fast farblose Krystalle (Schmp. 180—182°).

Ebenso erfolgte die Glycerinbestimmung, wie oben beschrieben, aber das Glycerin wurde hier wie in allen folgenden Versuchen schliesslich nach Dietz-Baumann³⁾ als Gemenge von krystallinischem Di- und Tri-Benzoat zur Wägung gebracht. Gefunden 0.28 g Glycerin.

I. b) Controllversuch mit directem Zusatz. Zu 700 ccm frischem Saft wurden gegeben 0.5 g Bernsteinsäure und 3 g Glycerin. Erhalten 0.57 g Bernsteinsäure (Schmp. 180—182°) und 1.66 g Glycerin. Methoden wie oben beschrieben, aber die Glycerinextraction war offenbar nicht erschöpfend genug ausgeführt, was für die späteren Versuche zur Warnung diente.

I. c) Hauptversuch. Gärkraft des Saftes: 20 ccm + 4 g Rohrzucker + 1.4 g Na_2HPO_4 + 12 aq gaben bei 22° in 4 Tagen 1.30 bezw. 1.31 g Kohlen-säure. Zu 700 ccm frischem Saft wurden 140 g Rohrzucker und 50 g Natriumphosphat gesetzt. Nach viertägigem Stehen bei Zimmertemperatur erfolgte die Verarbeitung auf Bernsteinsäure und Glycerin. Da bei der Bernsteinsäureextraction im Pip'schen Apparat ungeheure Emulsionen eintraten, musste

¹⁾ Zeitschr. für analyt. Chemie 28, 363 [1889].

²⁾ Harden und Young haben bei ihren Versuchen als Antisepticum Thymol angewandt, es ist aber nicht verständlich, wie dieser Körper beim Abdestilliren des Alkohols durch die von ihnen zugesetzte Pottasche zurückgehalten worden sein soll. Vergl. diese Berichte 37, 1060 [1904].

³⁾ Zeitschr. für physiol. Chem. 11, 472 [1887].

Alkohol zugesetzt werden. Gefunden: Keine krystallisirte Bernsteinsäure, 2.83 g Glycerin (also neugebildet 2.55 g, entsprechend 5.4 pCt. des entstandenen Alkohols, berechnet aus dem Kohlendioxyd).

II. a) Vorversuch. In 850 ccm frischem Presssaft wurden gefunden: 3.7 g Alkohol, keine krystallisirte Bernsteinsäure, 0.23 g Glycerin.

II. b) Controllversuch. Zu 850 ccm frischem Presssaft gegeben 170 g Rohrzucker und 60 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 + 12\text{aq.}$ Nach drei Tagen bei Zimmertemperatur betrug der Gewichtsverlust 47.5 g, Alkohol wurden 48.9 g gefunden. Nun erfolgte Zusatz von 0.5 g Bernsteinsäure und 3 g Glycerin. Gefunden: keine krystallisirte Bernsteinsäure.

Während also die Isolirung der Bernsteinsäure aus dem frischen Saft mittels des Pip'schen Apparates keine Schwierigkeiten macht, ist sie hier misslungen. Die Ursache ist darin zu suchen, dass bei der Extraction im Pip'schen Apparat zur Bekämpfung der Emulsion Alkohol zugesetzt werden musste, infolgedessen nachweislich Phosphorsäure und zahlreiche andere Stoffe in den Aether-Alkohol-Extract übergingen, welche die Krystallisation der Bernsteinsäure verhinderten. (Im Versuche III gelang es, diese Fehlerquelle zu beseitigen, s. u.)

Die Glycerinbestimmung wurde durch Bruch des Kolbens vereitelt.

II. c) Hauptversuch. 850 ccm frischer Presssaft wurden unter Rohrzucker- und Natriumphosphat-Zusatz wie bei b) der Gährung überlassen. Gewichtsverlust 52.2 g. Gefunden: 54.8 g Alkohol. Keine krystallisirte Bernsteinsäure. 9.04 g Glycerin (also neu gebildet 8.81 g, entsprechend 16.5 pCt. des Alkohols).

III. a) Vorversuch. In 750 ccm frischem Presssaft gefunden: 11.0 g Alkohol, 0.77 g rohe Bernsteinsäure (daraus 0.43 g krystallisirte, fast farblose Säure), 0.2 g Glycerin. Die Extraction der Bernsteinsäure erfolgte hier und bei den folgenden Versuchen durch etwa 10-maliges Ausschütteln im Scheidetrichter mit je 1 L Aether ohne Alkoholzusatz, wodurch weit weniger Verunreinigungen in die Lösung gehen. Das Ausschütteln wurde so lange fortgesetzt, bis die vereinigten letzten drei Extracte keinen nennenswerthen Rückstand mehr hinterliessen.

III. b) Controllversuch. Zu 1000 ccm frischem Presssaft gegeben 200 g Rohrzucker und 70 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 + 12\text{aq.}$ Nach $3\frac{1}{2}$ Tagen bei Zimmertemperatur betrug der Kohlendioxydverlust 53.6 g. Nun erfolgte Zusatz von 0.5 g Bernsteinsäure und 3.0 g Glycerin, worauf der Alkohol abdestillirt wurde. Gefunden 70.7 g Alkohol, 1.05 g rohe Bernsteinsäure (daraus 0.25 g krystallisirte Säure), 7.8 g Glycerin.

III. c) Hauptversuch. Zu 1000 ccm frischem Presssaft wurden Rohrzucker und Natriumphosphat gegeben wie bei b). Nach dreieinhalb-tägigem Verlauf der Gährung bei Zimmertemperatur betrug der Kohlendioxydverlust 54.9 g. Gefunden 69.9 g Alkohol, 0.65 g rohe Bernsteinsäure, enthaltend nur wenig Krystalle (daraus weniger als 0.05 g umkrystallisirte Säure), 5.5 g Glycerin, mithin neugebildet 5.2 g, entsprechend 9.4 pCt. des Alkohols). Das

Zutrauen zu diesen Resultaten wird dadurch gehoben, dass sie mit den Ergebnissen des Controllversuches in Anbetracht der Schwierigkeit der Isolirung ziemlich gut übereinstimmen.

Zuckerbilanz bei der zellfreien Gährung.

Bevor wir in die Beschreibung der einzelnen Versuche eintreten, seien kurz die angewandten quantitativen Methoden besprochen. Kohlensurebestimmung. Die Gahrversuche wurden in Erlenmeyer-Kölbchen mit eingeschliffenem Schwefelsäure-Gahrventil und anschliessendem Chlorcalciumrobrchen unter Anwendung von je 20 ccm Presssaft ausgefuhrt¹⁾; am Schluss der Versuche wurde zur völligen Verdrängung der Kohlensäure bis zur Gewichtsconstanz trockne, kohlensurefreie Luft eingeleitet. Die Kohlensäure ergab sich aus dem Gewichtsverlust. Zur Bestimmung der Kohlensäure in frischem Saft wurde ebenso verfahren, aber unter Erhitzen bis zum Coaguliren auf dem Wasserbade, um die Selbstgahrung aufzuheben. Zur Alkoholbestimmung erfolgte mehrmaliges Abdestilliren der vergohrenen Flüssigkeit, bezw. des frischen Saftes, wobei in den ersteren Fällen die zum Waschen des Kohlendioxyds verwendete Schwefelsäure hinzugefügt wurde. Die Ermittlung selbst kam nach der kryoskopischen Methode²⁾ zur Ausführung. Zur Zuckerbestimmung haben wir die von Macfadyen und seinen Mitarbeitern, sowie von Harden und Young angewandte ammoniakalisch-alkalische Kupferlösung nach F. W. Pavy³⁾ benutzt, und zwar in der von A. Croft Hill⁴⁾ beschriebenen Anordnung. Die Methode, welche nicht sehr genau ist, weil die Endreaction, der Farbumschlag von blau in farblos in der sehr verdünnten Lösung ausserordentlich schwer sichtbar wird, dürfte doch für die vorliegenden Zwecke brauchbar sein. Um das Verschwinden der Blaufärbung wahrnehmbar zu machen, war es indessen erforderlich, die Zuckerlösungen durch Thierkohle⁵⁾ zu entfärben; die Thierkohle wurde schliesslich wieder 3–4 Mal mit Wasser ausgekocht.

1) Um die Kohlensäure- bezw. Alkohol-Bestimmung genauer zu gestalten, wurde, wie schon erwähnt, auf den Zusatz von antiseptischen Mitteln, wie Toluol oder Thymol, verzichtet. Infection konnte bei den Hauptversuchen niemals, wohl aber bei einigen Selbstgahrungsversuchen beobachtet werden, ohne indessen die Resultate zu beeinflussen, wenn die Versuche nicht länger als 4 Tage ausgedehnt wurden.

2) R. Gaunt, a a. O.

3) Zeitschr. für analyt. Chem. 19, 98 [1880].

4) Journ. chem. Soc. 73, 637 [1898].

5) Leider machen Harden und Young über die angewandte Entfarbungsmethode keine Angabe.

Die Hydrolyse des Polysaccharids wurde mit $\frac{3}{2}$ -n. Salzsäure ausgeführt, nachdem sich ergeben hatte, dass $\frac{1}{2}$ -n. Salzsäure, wie auch Harden und Young schon beobachtet haben, in manchen Fällen nicht ausreichte, wogegen wieder bei Anwendung der von den englischen Forschern empfohlenen $\frac{3}{1}$ -n. Salzsäure die günstige Beeinflussung der Hydrolyse durch starke Zuckerzerstörung ausgeglichen oder sogar überschritten wurde. Der durch besondere Versuche mit reiner Glucose ermittelte Verlust bei dreistündigem Erwärmen auf dem kochenden Wasserbade mit $\frac{3}{2}$ -n. Salzsäure und darauffolgendem 10 Minuten dauerndem Kochen mit 2 g Thierkohle nach beinahe vollständiger Neutralisation mit Natronlauge betrug durchschnittlich 10 pCt. des Zuckers, was mit dem Befunde von Harden und Young ziemlich übereinstimmt.

Im speciellen verfahren wir meist folgendermaassen: 20 ccm des vergohrenen bzw. des frischen Saftes wurden auf 100 ccm verdünnt, davon $\frac{1}{5}$ mit 20 ccm $\frac{3}{1}$ -n. Salzsäure erhitzt, mit Thierkohle wie oben angegeben, entfärbt und hierauf bei concentrirteren Lösungen bis auf 0.01 pCt. Zuckergehalt verdünnt. Die folgenden Angaben enthalten nur die analytischen Daten, wogegen die daraus berechneten Ergebnisse aus der Tabelle zu ersehen sind¹⁾.

I. Vorversuch. Gehalt des frischen Saftes²⁾. Direct durch Titration ermittelter reducirender Zucker 0.06 g.

Controllversuch. Nach der Selbstgähung. Dabei gebildet 0.10 g CO₂, woraus sich 0.21 g vergohrener Zucker berechnen. Im Rückstand durch Titration gefundener Zucker 0.05 g; also von vornherein im Saft vorhanden 0.26 g.

Hauptversuch 1. Zugesezte Glucose 2.00 g, daher Gesamtmenge des vor der Gähung anwesenden Zuckers 2.26 g. CO₂ gebildet: 0.55 g; daraus vergohrener Zucker berechnet: 1.12 g. Im Gährückstand durch Titration direct gefunden 0.19 g Zucker. Daraus berechnet sich der Verlust an Zucker

¹⁾ Die Kohlendioxyd-Gewichtszahlen sind auf 3 Decimalen genau ermittelt, die hier angegebenen Zahlen aber sinngemäss auf 2 Decimalen abgerundet, was bei der Berechnung des Zuckers aus dem Kohlendioxyd in einigen Fällen in der letzten Decimale einen Unterschied von einer Einheit ergibt.

²⁾ Die Bestimmung der Kohlensäure und des Alkohols im frischen Presssaft war nöthig, um sie von der Gesamtmenge nach der Gähung abziehen zu können. Der Zuckergehalt vor und nach der Hydrolyse wurde ermittelt zum Vergleiche mit denselben Daten nach der Selbstgähung. Es ergab sich dabei das interessante Resultat, dass bei der Selbstgähung hochmolekulare Kohlenhydrate offenbar durch Enzymwirkung in reducirenden Zucker verwandelt werden, welche durch Erwärmen mit $\frac{3}{2}$ -n. HCl nicht hydrolysirbar sind. Diese Thatsache haben, soviel wir sehen können, Harden und Young bei der Berechnung ihrer Zahlen nicht berücksichtigt.

zu 0.95 g oder 42 pCt. der Gesamtmenge. Eine Hydrolyse wurde hier nicht ausgeführt.

II. Im frischen Saft durch Titration ermittelter Zucker 0.10 g. Bei der Selbstgärung entwickelt Kohlendioxyd 0.20 g. Hernach reducirender Zucker vorhanden 0.03 g.

Hauptversuch 2. Zugesezte Glucose 2.00 g. Gefunden Kohlendioxyd 0.74 g. Im Rückstand reducirender Zucker 0.34 g.

Hauptversuch 3. Zugesezte Glucose 4.00 g. Gefunden Kohlendioxyd 1.30 g; Zucker im Rückstande 0.44 g.

III. Zucker im frischen Saft 0.06 g. Bei der Selbstgärung Kohlendioxyd 0.06 g.

Hauptversuch 4. Zugesezt 4.00 g Glucose. Gefunden Kohlendioxyd 1.01 g; Zucker im Rückstande vor der Hydrolyse 1.23 g, nach der Hydrolyse 1.65 g.

IV. Bei der Selbstgärung Kohlendioxyd 0.09 g. Zucker im Rückstande vor der Hydrolyse 0.04 g, nachher 0.05 g.

Hauptversuch 5. Zugesezt 4.00 g Glucose. Kohlendioxyd gefunden 1.34 g. Zucker im Rückstande vor der Hydrolyse 0.46 g, nachher 0.83 g.

V. Bei der Selbstgärung Kohlendioxyd 0.12 g. Zucker im Rückstande nach der Hydrolyse 0.22 g.

Hauptversuch 6. Zugesezt 2.00 g Glucose. Gefunden Kohlendioxyd 0.58 g. Zucker im Rückstande nach der Hydrolyse 1.13 g.

VI. Im frischen Saft ermittelt Kohlendioxyd 0.01 g, Zucker ohne Hydrolyse 0.04 g, nachher 0.20 g. Bei der Selbstgärung gefunden: Kohlendioxyd 0.12 g, Zucker im Rückstand vor der Hydrolyse 0.00 g, nachher 0.05 g. Hauptversuch 7: Zugesezt 2.00 g Glucose; Kohlendioxyd gefunden 0.67 g; Zucker im Rückstande vor der Hydrolyse 0.13 g, nachher 0.28 g. Hauptversuch 8: Zugesezt 4.00 g Glucose, Kohlendioxyd gefunden 1.38 g; Zucker im Rückstande vor der Hydrolyse 0.31 g, nachher 0.73 g.

VII. Im frischen Saft ermittelt: Kohlendioxyd 0.01 g, Alkohol 0.24 g, Zucker vor der Hydrolyse 0.04 g, nachher 0.15 g. Bei der Selbstgärung entwickelt Kohlendioxyd 0.04 g, gefunden Alkohol 0.26 g, Zucker im Rückstande vor der Hydrolyse 0.01 g, nachher 0.08 g. Hauptversuch 9: Zugesezt 2.00 g Glucose. Entwickelt Kohlendioxyd 0.63 g; gefunden: Alkohol 0.91 g, Zucker im Rückstande vor der Hydrolyse 0.57 g, nachher 0.83 g.

VIII. Im frischen Saft ermittelt: Kohlendioxyd 0.01 g, Alkohol 0.15 g, Zucker vor der Hydrolyse 0.01 g, nachher 0.08 g. Bei der Selbstgärung entwickelt Kohlendioxyd 0.04 g; gefunden Alkohol 0.17 g, Zucker im Rückstande vor der Hydrolyse 0.01 g, nachher 0.08 g. Hauptversuch 10: Zugesezt 2.00 g Glucose. Entwickelt Kohlendioxyd 0.73 g; gefunden Alkohol 0.86 g, Zucker im Rückstande vor der Hydrolyse 0.12 g, nachher 0.44 g. Hauptversuch 11: Zugesezt 8.00 g Glucose. Entwickelt Kohlendioxyd 0.91 g; gefunden Alkohol 0.96 g, Zucker im Rückstande vor der Hydrolyse 4.57 g, nachher 6.16 g.

Zuckerbilanz bei der zellfreien Gährung.
 Je 20 ccm Presssaft, bei den Selbstgahrungs- und den Haupt-Versuchen aufgestellt 4 Tage bei 22°, ohne Antisepticum.

No.	Art des Versuches	Zugesetzte Glucose	Vergehrener Zucker, berechnet aus dem entwickelten Kohlendioxid	Ohne Hydrolyse			Mit Hydrolyse durch $\frac{3}{2}$ -n. HCl			
				Nach der Gährung durch Titrationsgefundene Zucker in g	Gesamtmenge ¹⁾ des ursprünglich vorhandenen Zuckers in g	Verlust an Zucker ²⁾ in g	pCt.	Nach der Gährung u. Hydrolyse durch Titrationsgefundene Zucker in g	Gesamtmenge ³⁾ des ursprünglich vorhandenen Zuckers in g	Verlust an Zucker in g
I.	Frischer Saft ⁴⁾	—	—	0.06	—	—	—	—	—	—
	Nach der Selbstgahrung	—	0.21	0.05	—	—	—	—	—	—
	Hauptversuch 1.	2.00	1.12	0.19	2.26	0.95	42	—	—	—
II.	Frischer Saft ⁴⁾	—	—	0.10	—	—	—	—	—	—
	Nach der Selbstgahrung	—	0.40	0.03	—	—	—	—	—	—
	Hauptversuch 2.	2.00	1.52	0.34	2.43	0.57	24	—	—	—
» 3.	4.00	2.66	0.44	4.43	1.33	30	—	—	—	
III.	Frischer Saft ⁴⁾	—	—	0.06	—	—	—	—	—	—
	Nach der Selbstgahrung	—	0.13	—	—	—	—	—	—	—
	Hauptversuch 4	4.00	2.07	1.23	4.13	0.83	20	1.65	4.13	0.41
IV.	Nach der Selbstgahrung	—	0.18	0.04	—	—	—	0.05 ⁵⁾	—	—
	Hauptversuch 5.	4.00	2.75	0.46	4.22	1.02 ⁶⁾	24 ⁶⁾	0.83 ⁵⁾	4.23	0.65
V.	Nach der Selbstgahrung	—	0.25	—	—	—	—	0.22	—	—
	Hauptversuch 6.	2.00	1.18	—	2.25	—	—	1.13	2.47	0.16

VI.	Frischer Saft ⁴⁾	0.01	0.04	—	—	—	0.20	—	—	—
	Nach der Selbstgahrung ⁷⁾	0.23	0.00	—	—	—	0.05	—	—	—
	Hauptversuch 7 ⁷⁾	1.35	0.13	2.23	0.80 ⁶⁾	35 ⁶⁾	0.28	2.28	0.65	29
	„ 8 ⁷⁾	2.81	0.31	4.23	1.16 ⁶⁾	27 ⁶⁾	0.73	4.28	0.74	18
VII.	Frischer Saft ⁴⁾	0.01	0.04	—	—	—	0.15	—	—	—
	Nach der Selbstgahrung.	0.07	0.01	—	—	—	0.08	—	—	—
	Hauptversuch 9	1.28	0.57	2.08	0.30 ⁶⁾	14 ⁶⁾	0.83	2.15	0.04	2
VIII.	Frischer Saft ⁴⁾	0.01	0.01	—	—	—	0.08	—	—	—
	Nach der Selbstgahrung.	0.08	0.01	—	—	—	0.08	—	—	—
	Hauptversuch 10	1.48	0.12	2.09	0.56 ⁶⁾	26 ⁶⁾	0.44	2.16	0.24	11
	„ 11	1.85	4.57	8.09	1.74 ⁶⁾	21 ⁶⁾	6.16	8.16	0.15	2

¹⁾ Dieselbe setzt sich zusammen aus dem zugesetzten + dem durch Selbstgahrung des Controllversuches ermittelten + dem nach der Selbstgahrung durch Titration festgestellten Zucker.

²⁾ Der Verlust an Zucker ist gleich der Gesamtmenge des ursprünglich vorhandenen Zuckers, vermindert um die Summe aus vergohrenem Zucker und nach der Gährung durch Titration gefundenem Zucker.

³⁾ Gleich der Summe von zugesetztem + durch Selbstgahrung + durch Hydrolyse des Controllversuchs ermittelten Zucker.

⁴⁾ Im frischen Saft wurde die Menge des Kohlendioxyds, sowie des vor bezw. nach der Hydrolyse vorhandenen reducirenden Zuckers sofort bestimmt.

⁵⁾ Zur Hydrolyse wurde bei diesem Versuche 6 Stunden mit $\frac{1}{2}$ -n. Salzsäure erhitzt.

⁶⁾ Die Berechnung des Zuckerverlustes bezieht sich naturgemäss auf die Gesamtzuckermenge, einschliesslich der durch Hydrolyse nach der Selbstgahrung ermittelten.

⁷⁾ Bei diesen Versuchen wurde $1.4 \text{ g Na}_2\text{HPO}_4 + 12\text{H}_2\text{O}$ zur Erhöhung der Gahrkraft zugefügt; der Zusatz unterblieb bei den späteren Versuchen wieder, da die Zuckerbilanz auffallend schlecht ausfiel.

Fuselölbildung.

Die Anordnung der Versuche war folgende. Der Hefepresssaft wurde durch Einleiten von Wasserdampf erhitzt und etwa das gleiche Volumen des ursprünglichen Saftes an Destillat übergetrieben. Die weitere Concentration erfolgte in der üblichen Weise durch mehrmaliges Abdestilliren je der Hälfte der Flüssigkeit und schliessliches Abscheiden des Alkohols mit Pottasche. Die ölige Schicht wurde nochmals mit Kaliumcarbonat getrocknet und über eine lange Siedecolonne fractionirt.

Zur Prüfung der Wirkung unserer Siedecolonne wurden zu 250 ccm Sprit 2.5 g Amylalkohol gemischt und das Ganze fractionirt. Ueber 87° gingen 2.5 g über, welche bei nochmaliger Destillation zerfielen in 0.9 g, Sdp. 90—110° und 1.1 g, Sdp. 110—128°. Es war demnach die Wiedergewinnung des Amylalkohols in sehr befriedigendem Umfange gelungen.

I. Controllversuch. Der aus 1600 ccm frischem Hefepresssaft gewonnene Alkohol (14 g) enthielt keine nachweisbaren Spuren von Fuselöl.

Hauptversuch. 3700 ccm desselben Saftes wurden unter Zusatz von 740 g Rohrzucker und 260 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 + 12 \text{ aq}$ bei Zimmertemperatur 4 Tage lang ohne Antisepticum der Gährung überlassen und lieferten bei der Behandlung wie oben 262 g Rohalkohol. Beim Fractioniren über eine lange Siedecolonne wurde daraus ein über 90° destillirender Tropfen erhalten, der deutlich nach Amylalkohol roch.

II. Innerhalb mehrerer Wochen wurden etwa 30 L Hefepresssaft hergestellt und von jeder Partie die eine Hälfte zum Controllversuch, die andere zum Hauptversuch verwendet.

Controllversuch. 15 L Presssaft, frisch destillirt, lieferten 72 g Rohalkohol. Bei mehrmaliger Fractionirung wurden erhalten 0.5 g vom Sdp. 80—85°, nicht deutlich nach Amylalkohol riechend, und über 85° siedend (das Thermometer stieg rasch auf etwa 200°), wenige Tropfen (0.15 g) von deutlichem Amylalkoholgeruch.

Hauptversuch. 15 L desselben Presssaftes ergaben mit 6 kg Rohrzucker und 1050 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 + 12 \text{ aq}$ 4 Tage bei Zimmertemperatur ohne Antisepticum vergohren und destillirt 1064 g Rohalkohol. Durch systematisches Fractioniren wurden daraus folgende höchstsiedende Antheile erhalten: 1. von 80—100° destillirend, 1 g (das meiste davon ging wenig über 80° über), nicht nach Amylalkohol riechend; 2. über 100° siedend (das Thermometer stieg sehr schnell über 120—140° hinweg, ohne anzuhalten, auf 200°), wenige gelbe Oeltropfen (0.7 g) von deutlichem Amylalkoholgeruch.