

Die Bildung des Chromisalzes beim Auflösen von Chrom in Säuren, als deren Ursache nach Döring das Siliciumoxyd, im letzten Grunde also die Verunreinigung des Chroms durch Silicium angesehen werden muss, hat mich dazu angeregt, möglichst reines, vor allem siliciumfreies Chrom darzustellen, um dieses auf sein Verhalten gegen Säuren prüfen zu können. Ueber die Ergebnisse dieser Versuche werde ich später berichten.

Elektrochem. Laboratorium der Kgl. techn. Hochschule Berlin, October 1906.

649. Felix Ehrlich: Zur Frage der Fuselölbildung der Hefe.

(Eingegangen am 14. November 1906.)

Gelegentlich meiner Arbeiten über den Ursprung und die Entstehung des Fuselöls¹⁾, durch die entgegen der bis dahin herrschenden Anschauung der Fuselölbildung als einer bakteriellen Zuckerzersetzung²⁾ festgestellt wurde, dass die höheren Alkohole, insbesondere der Isoamylalkohol und der *d*-Amylalkohol, sich während des Gährprocesses aus Aminosäuren spec. dem Leucin und Isoleucin infolge einer enzymatischen Thätigkeit der lebenden Hefe bilden, interessirte naturgemäss die Frage sehr wesentlich, ob diese Enzymwirkung ähnlich der Buchner'schen Zymase von der lebenden Hefezelle loszulösen oder aber untrennbar mit ihr verbunden ist. Es lag daher der Gedanke sehr nahe zu versuchen, ob die von mir beobachtete sehr beträchtliche Steigerung der Fuselölausbeute bei der Vergärung von Zucker mit Hefe unter Zusatz von Leucin (bis 3 pCt Fuselöl auf absoluten Alkohol berechnet) auch eintritt, wenn man statt lebender Hefe Hefepresssaft oder mittels Alkohol-Aether resp. Aceton abgetötete Hefe verwendet. Da mir frischer Hefepresssaft nicht zugänglich war, so benutzte ich bei meinen Versuchen, die ich zum grössten Theil schon vor ungefähr einem Jahr angestellt habe, frisch hergestellte Buchner'sche Aceton-Dauerhefe, wie sie unter den Namen »Zymin« von Schroder in München in den Handel gebracht wird³⁾. Es sei gleich von vornherein bemerkt, dass diese Versuche, über die ich bereits vor einiger

¹⁾ Vortrag in der Sitzung am 27. März 1905. Zeitschr. des Vereins der Deutschen Zuckerindustrie 55, 539 [1905]; Bericht der Verhandl. des Meraner Naturforschercongresses 1905, 2, 107.

²⁾ Vergl. Emmerling, diese Berichte 37, 3535 [1904]; 38, 953 [1905], sowie H. Pringsheim, diese Berichte 38, 486 [1905].

³⁾ Buchner, Albert und Rappe, diese Berichte 35, 2376 [1902].

Zeit kurz anderweitig berichtet habe¹⁾, negativ in dem Sinne ausgefallen sind, dass weder bei der Vergärung von Zucker mit Zymin für sich allein noch auf Zusatz von Leucin die Bildung von Fuselöl beobachtet wurde und sich überstimmend damit ausserdem feststellen liess, dass in keinem Falle Leucin angegriffen war.

Ich hatte beabsichtigt, diese vergeblichen Versuche nach einer Überprüfung zusammen mit anderen positiver Art, die unzweideutig zeigen, dass das Fuselöl sich infolge des Eiweissaufbaues der Hefe aus Aminosäuren bildet, in einer besonderen Abhandlung an anderer Stelle ausführlich zu veröffentlichen, und würde sie für sich allein hier nicht ausser dem Zusammenhang zum Gegenstande einer besonderen Publication machen, wenn mich dazu nicht eine Arbeit von H. Pringsheim²⁾ im letzten Heft der »Berichte« veranlasste, in der ähnliche erfolglose Experimente der Acetondauerhefe-Gärung mit Leucin mitgeteilt werden, ohne dass meiner bereits früher ausgeführten Versuche³⁾ Erwähnung gethan wird.

Was die Ausführung meiner Versuche anbetrifft, so wurden zunächst Zuckerlösungen ungefähr in der Concentration, wie dies Buchner früher angegeben hat, mit Zymin ohne Zusatz von Toluol längere Zeit der Gärung überlassen, dann der entstandene Alkohol abdestillirt und auf Fuselöl geprüft. So gaben z. B. 25 g Zucker, in 75 g Wasser gelöst und mit 25 g Zymin unter Schwefelsäureverschluss angesetzt, nach 8-tägiger Gärung bei Zimmertemperatur bei der Destillation ein Destillat, aus dem sich mit Kaliumcarbonat wenige Cubikcentimeter von eigenthümlich schwach basisch riechendem Alkohol abcheiden liessen. Der aus mehreren Versuchen gesammelte und getrocknete Alkohol ging bei der Rectification fast vollkommen zwischen

¹⁾ Biochem. Zeitschr. 2, 52 [1906].

²⁾ Diese Berichte 39, 3713 [1906].

³⁾ Die auf diese Versuche bezügliche vorläufige Notiz findet sich in der unter 4) (vorige Seite) citirten Arbeit »Die chemischen Vorgänge bei der Hefegärung«, die eine Zusammenfassung der bisherigen Ergebnisse meiner Untersuchungen über die Fuselölbildung enthält, auf S. 77. Die betreffende Abhandlung war der Redaction der Biochemischen Zeitschrift bereits am 21. August d. J. eingereicht und ist dort am 12. October 1906 veröffentlicht worden. Sofort nach Erscheinen derselben habe ich u. a. auch Hrn. Pringsheim einen Sonderabdruck meiner Arbeit zugehen lassen, die demnach vor dem Tage, an dem die Abhandlung des Hrn. Pringsheim der Redaction der Berichte zugeht, d. h. vor dem 25. October sich in seinen Händen befunden haben muss. Ich nehme an, dass Hr. Pringsheim meine ihm zugesandte Publication bisher nicht gelesen oder die erwähnte auf meine Versuche mit Acetondauerhefe bezügliche Notiz übersehen hat.

77° und 78° über und zeigte auch bei langsamem und vorsichtigem Verdunsten nicht die Spur eines Fuselgeruchs.

Fast genau die gleiche Beschaffenheit besass Alkohol, der durch 8-tägiges Vergähren von je 20 g Zucker in ca. 200 ccm Wasser unter Zusatz von 2 g *r*-Leucin mit 20 g Zymin in 3 getrennten Portionen und nachfolgende Destillation gewonnen war. Der grössere Wasserzusatz erwies sich hier nöthig, um das schwer lösliche Leucin in Lösung zu bringen. Auch bei diesen Versuchen liess sich nicht eine Spur Fuselöl in dem entstandenen Alkohol beim Verdunsten durch den Geruch nachweisen, wie es sicher der Fall gewesen wäre, wenn der Alkohol auch nur 0.1 pCt. Amylalkohol enthalten hätte.

Immerhin erschien mir die Beweiskraft dieser Versuche nicht genügend gross, da einmal die Schwierigkeit der quantitativen Abscheidung von geringen Mengen Amylalkohol aus viel Aethylalkohol bekannt ist, ausserdem aber die erhaltenen Quantitäten Rohspiritus stets so geringfügige waren, dass sich darin eine quantitative Bestimmung des Fuselöls nach der Röse-Herzfeld'schen Methode, die ich bei meinen Versuchen mit lebender Hefe vorzugsweise angewandt habe, nicht ausführen liess.

Ich suchte daher eine Entscheidung der Frage, ob Leucin durch Zymin bei der Gähmung in Amylalkohol umgewandelt werden kann, indirekt in der Weise herbeizuführen, dass ich das nach der Gähmung zurückbleibende Leucin auf optische Aktivität untersuchte. War eine solche Einwirkung thatsächlich erfolgt, so musste diese, wie ich das bei lebender Hefe beobachtet und an anderer Stelle zu einer bequemen Spaltung racemischer Aminosäuren vorgeschlagen habe¹⁾, asymmetrisch verlaufen und das vergorene Leucin die Drehungsrichtung des *d*-Leucins angenommen haben.

20 g Zucker wurden zusammen mit 2 g *r*-Leucin in ca. 200 ccm Wasser gelöst mit 20 g Zymin in einem Versuch ohne Zusatz von Toluol, in einem andern mit Zusatz von 2 ccm Toluol ungefähr 8 Tage lang vergohren. Die Aufarbeitung der beiden Gährflüssigkeiten geschah getrennt von einander. Das Gährgemisch wurde zunächst mit Wasser verdünnt, unter Zusatz von Thonerdebrei filtrirt, das Filtrat nach Zusatz von Essigsäure und Aufkochen von den ausgefallenen Eiweissstoffen befreit und mit Bleiessig in geringem Ueberschuss versetzt. Die vom Bleiniederschlage abfiltrirte Lösung wurde nach Entfernung des gelösten Bleies durch Schwefelwasserstoff mit Thierkohle geklärt und auf dem Wasserbad bis zur Krystallisation eingedampft.

Das nach längerem Stehen möglichst vollständig abgeschiedene Leucin wurde umkrystallisirt und in wässriger und salzsaurer Lösung auf optische Drehung untersucht. In beiden Versuchen wurde ein

¹⁾ Biochem. Zeitschr. 1, 8 [1906].

Leucin zurückgewonnen, das sich in 4 procentiger Lösung in 20-procentiger Salzsäure im 2-Decimeter-Rohr beobachtet als vollständig inaktiv erwies.

Wenn demnach meine Versuche in Uebereinstimmung mit den Pringsheim'schen gezeigt haben, dass Acetondauerhefe nicht im Stande ist Leucin zu Amylalkohol zu vergähren, so möchte ich doch allgemein für die Frage, ob die Fuselölbildung eine rein enzymatische Reaction ist, derartigen Versuchen keine besondere Bedeutung beilegen, zumal es nicht ausgeschlossen erscheinen könnte dass die fraglichen offenbar höchst empfindlichen Enzyme beim Abtöten der Hefe mit Aceton und dem nachfolgenden Trocknen zerstört worden sind. Vielleicht finden sich dieselben in dem frischen nach Buchner dargestellten Hefepresssaft noch erhalten, und in dieser Hinsicht wird man dem weiteren Ausfall der Versuche mit grossem Interesse entgegensehen müssen, die Buchner und Meisenheimer¹⁾ jüngst zur Klärung dieser Frage begonnen und die sie unter Zusatz von Leucin zum frischen Hefepresssaft fortzusetzen gedenken²⁾. Nach ihren bisherigen Untersuchungen, bei denen durch Vergähren von Zucker und Hefepresssaft für sich Amylalkohol nur in minimalen Spuren nachweisbar war, möchte ich allerdings schon jetzt annehmen, dass auch in diesem kein fuselölbildendes Enzym mehr vorhanden ist. Sollte diese Annahme weiterhin Bestätigung finden, so würde damit meine schon früher ausgesprochene Anschauung an Wahrscheinlichkeit gewinnen, dass die Fuselölbildung auf engste mit dem Eiweissaufbau der Hefe zusammenhängt, d. h. von Enzymen veranlasst wird, deren Abtrennung von der lebenden Zelle bisher in keinem Falle gelungen ist. Ueber die Versuche zum Beweise dieser Ansicht werde ich demnächst hier berichten.

Zum Schluss bemerke ich noch, dass es mir natürlich fern liegt und mir allein schon aus beruflichen Gründen nicht möglich ist, das ganze von mir erschlossene Gebiet der Vergärbbarkeit der Aminosäuren für meine Arbeiten allein in Anspruch zu nehmen und in allen seinen Consequenzen auszubauen. Ich möchte aber die werthen Herren Fachgenossen, die sich auf diesem Gebiet zu bethätigen gedenken, bitten, mir diese Absicht vorher freundlichst mittheilen zu wollen, damit Collisionen vermieden bleiben.

Berlin N., Institut für Zuckerindustrie, 13. November 1906.

¹⁾ Diese Berichte 39, 3201 [1906].

²⁾ Die Versuche, Hefepresssaft unter Zusatz von Leucin zu vergähren, habe ich den HHrn. Prof. Buchner und Dr. Meisenheimer auf ihre Bitte hin gern überlassen.