

## 182. S. Kostytschew: Bildung von Acetaldehyd bei der alkoholischen Zuckergärung.

(Vorläufige Mitteilung.)

[Aus dem Botanischen Laborat. des Technolog. Instituts in St. Petersburg.]

(Eingegangen am 23. März 1912.)

Es ist bisher kein einziges intermediäres Produkt der Alkoholgärung bekannt, welches die Konstitution der Kohlenhydrate nicht besitzt, und vor allem eine Methylgruppe enthält. Buchner und Meisenheimer<sup>1)</sup> hatten zwar eine intermediäre Bildung von  $\alpha$ -Milchsäure oder Brenztraubenaldehyd angenommen, diese Hypothese wurde jedoch in der Folge von den Verfassern selbst widerlegt und aufgegeben<sup>2)</sup>. Alsdann wurde von Boysen-Jensen<sup>3)</sup>, sowie Buchner und Meisenheimer<sup>2)</sup> die Ansicht entwickelt, daß Dioxy-aceton ein intermediäres Produkt der Zuckervergärung vorstellt; hierdurch wird aber jedenfalls der Mechanismus des Gärungsprozesses garnicht aufgeklärt, da Dioxyaceton noch immer ein typisches Kohlenhydrat ist. Außerdem sind neuerdings wichtige Einwände gegen die »Dioxy-aceton-Theorie« seitens A. v. Lebedew<sup>4)</sup> und Slator<sup>5)</sup> erhoben worden. W. Löb<sup>6)</sup> nimmt an, daß zunächst eine vollkommene Zertrümmerung der Zuckermoleküle unter Bildung von Formaldehyd stattfindet; diese primäre Phase ist also, seiner Meinung nach, als eine »Auflösung der Aldolbindungen« aufzufassen.

Es ist tatsächlich die Annahme sehr plausibel, daß eine Spaltung von Hexosen unter Bildung von Aldehyden zustande kommt; es erscheint aber als kaum wahrscheinlich, daß eine derartige Spaltung so weit fortschreitet, wie es W. Löb voraussetzt. Die Bildung von Kohlendioxyd könnte dann in der Weise erklärt werden, daß durch Eingreifen der Cannizzaroschen Reaktion unbeständige Carboxylgruppen entstehen.

In der Hoffnung, die etwa gebildeten Aldehyde durch Polymerisation vor der weiteren Verarbeitung zu schützen, habe ich Versuche ausgeführt, in denen fermentative Alkoholgärung in Gegenwart von

<sup>1)</sup> Buchner und Meisenheimer, B. **37**, 417 [1904], **38**, 620 [1905].

<sup>2)</sup> Buchner und Meisenheimer, B. **43**, 1773 [1910].

<sup>3)</sup> Boysen-Jensen, Botanische Berichte **26**, 666 [1908].

<sup>4)</sup> A. v. Lebedew, C. r. **153**, 136 [1911].

<sup>5)</sup> Slator, B. **45**, 43 [1912].

<sup>6)</sup> W. Löb, Bio. Z. **12**, 78, 466 [1908]; **17**, 132, 343 [1909]; **20**, 516 [1909]; **22**, 103 [1909]; **23**, 10 [1909]; **26**, 231 [1910]; Z. El. Ch. **13**, 511 [1907].

geringen Mengen von Zinkchlorid in Gang gesetzt war. Für diese Versuche wurden käufliches Hefanol und Traubenzucker bzw. Rohrzucker verwendet; als Antiseptikum benutzte ich Toluol.

Bereits die ersten Versuche ergaben das merkwürdige Resultat, daß sehr geringe Mengen von  $ZnCl_2$  die  $CO_2$ -Produktion des Hefanols außerordentlich stark hemmen. Die hemmende Wirkung von  $ZnCl_2$  übertrifft bedeutend diejenige von  $CaCl_2$ , die bereits von E. Buchner<sup>1)</sup> hervorgehoben worden war. Wenn man nun die in Gegenwart von  $ZnCl_2$  vergorenen Zuckerlösungen nach Ablauf von 3–4 Tagen unter Eiskühlung destilliert, so zeigt das Destillat scharfe Aldehydreaktionen, während die in Gegenwart von  $CaCl_2$  oder ohne Salzzusatz vergorenen Zuckerlösungen Destillate liefern, welche gar keine oder nur ganz schwache Aldehydreaktionen aufweisen. Auch bei der Selbstgärung des Hefanols in Gegenwart von  $ZnCl_2$  sind keine Aldehydreaktionen zu verzeichnen.

Dieses Ergebnis zeigt, daß in Gegenwart von  $ZnCl_2$  eine Anhäufung der Aldehyde stattfindet. Es scheint also, daß durch Anwendung der soeben beschriebenen Methode eine Isolierung der intermediären Gärungsprodukte ermöglicht wird. Von den flüchtigen Aldehyden scheint nur Acetaldehyd vorhanden zu sein; das Destillat färbt sich intensiv blau nach Zusatz von Nitroprussidnatrium-Lösung und Diäthylamin und liefert nach Zusatz von *p*-Nitrophenylhydrazin<sup>2)</sup> das charakteristische reine *p*-Nitrophenylhydrazon des Acetaldehyds. Die Ausbeute hängt in hohem Grade von dem Verhältnis der angewandten Mengen von Hefanol, Zucker, Wasser und Zinkchlorid ab. Nähere Angaben darüber werde ich in der ausführlichen Publikation mitteilen, welche in der »Zeitschrift für physiologische Chemie« erscheinen soll. An dieser Stelle will ich nur den Umstand hervorheben, daß namentlich die nötige Menge von  $ZnCl_2$  für verschiedene Hefanolpräparate von 0.1 g zu 0.3 g auf je 10 g Hefanol schwankt und für ein jedes Hefanolpräparat durch Vorversuche ermittelt werden muß.

Folgender Versuch kann als eine Illustration der Bildung von Acetaldehyd bei der fermentativen Alkoholgärung dienen; derartige Versuche habe ich immer mit positivem Resultate ausgeführt.

20 Gärkölbchen mit je 10 g Hefanol, 10 g Rohrzucker, 0.25 g  $ZnCl_2$ , 50 ccm Wasser und 0.5 ccm Toluol wurden 4 Tage ruhig stehen gelassen; dann wurde der Inhalt sämtlicher Kölbchen ver-

<sup>1)</sup> E. Buchner, H. Buchner und M. Hahn, Zymasegärung, S. 167 [1903].

<sup>2)</sup> Bamberger, B. 32, 1806 [1899]; E. Hyde, ebenda, S. 1813.

einigt und unter Eiskühlung abdestilliert. Die Destillation wurde so lange fortgesetzt, bis etwa  $\frac{1}{3}$  der Flüssigkeit in die Vorlage überging; das erhaltene Destillat wurde auf dieselbe Weise noch einmal abdestilliert. Das letzte Destillat lieferte eine intensiv rote Färbung mit fuchsin-schwelliger Säure und intensiv blaue Färbung mit Nitroprussidnatriumlösung und verdünnter Lösung von Diäthylamin. Letztere Reaktion ist nur für Acetaldehyd charakteristisch. Nach Zusatz einer klar filtrierten Lösung von 1.5 g *p*-Nitrophenylhydrazin in 40-proz. Essigsäure fiel sofort ein krystallinischer, goldgelber Niederschlag von Acetaldehyd-*p*-nitrophenylhydrazon aus; er wurde nach  $\frac{1}{2}$  Stunde abgesaugt, mit Wasser mehrmals ausgewaschen, dann in absolutem Alkohol gelöst, durch Verdünnen mit Wasser wieder abgetrennt, abgesaugt, ausgewaschen und im Vakuumexsiccator über Schwefelsäure getrocknet. Die Ausbeute betrug 0.4917 g.

Die Substanz schmolz bei 127.5°, während ein aus reinem Acetaldehyd dargestelltes Präparat von *p*-Nitrophenylhydrazon den Schmp. 128.5° zeigte. Die Analyse lieferte folgende Resultate.

0.1217 g Sbst.: 0.2414 g CO<sub>2</sub>, 0.0606 g H<sub>2</sub>O. — 0.0954 g Sbst.: 19.1 ccm N (19°, 766 mm).

C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>. Ber. C 53.63, H 5.03, N 23.46.  
Gef. » 54.10, » 5.58, » 23.59.

Beachtenswert ist der Umstand, daß Formaldehyd bei der vorstehend beschriebenen Versuchsanordnung auch in Spuren nicht auftritt. Eine sehr empfindliche Reaktion des Formaldehyds wurde von Grafe<sup>1)</sup> beschrieben. Versetzt man die zu untersuchende Flüssigkeit mit dem gleichen Volumen einer 1-proz. Lösung von Diphenylamin in konzentrierter Schwefelsäure, die man an der Eprovettenwand zufließen läßt, so bildet sich bei Gegenwart von Formaldehyd an der Berührungszone der beiden Flüssigkeiten sofort ein grüner Niederschlag. Diese Probe ist namentlich bei negativem Ausfall sehr beweisend, da ihre Empfindlichkeit nichts zu wünschen übrig läßt; die genannte Reaktion wurde aber von den auf obige Weise erhaltenen Destillaten niemals geliefert. Dagegen hatten die Destillate immer saure Reaktion, obschon die Destillation unter gewöhnlichem Druck und ohne Zusatz von Schwefelsäure ausgeführt worden war. Eine vorläufige Prüfung der Destillate ergab, daß Reaktionen auf Ameisensäure mit positivem Erfolg ausfallen. Ein einwandfreier Nachweis der Ameisensäure ist jedoch nicht erbracht worden.

<sup>1)</sup> Grafe, Österr. Bot. Ztschr. 1906, Nr. 8.

Die neuerdings veröffentlichten interessanten Untersuchungen von C. Neuberg<sup>1)</sup> zeigen, daß beträchtliche Mengen von Acetaldehyd aus Brenztraubensäure und Oxalessigsäure durch lebende und getötete Hefe gebildet werden. Ob auch in meinen Versuchen eine intermediäre Bildung von  $\alpha$ -Ketosäuren erfolgt, bleibt vorläufig dahingestellt; diese Frage kann nur durch quantitative Bestimmungen der Bilanz des Gärungsvorganges beantwortet werden. Weitere Untersuchungen über Zuckergärung in Gegenwart von  $ZnCl_2$ , möchte ich mir vorbehalten.

Ist nun Acetaldehyd ein intermediäres Produkt oder ein Nebenprodukt der Alkoholgärung? Der bei der Spiritusfabrikation auftretende Aldehyd ist wohl nur ein Produkt der Oxydation des Äthylalkohols. Die Art und Weise der Bildung von Acetaldehyd in meinen Versuchen deutet aber darauf hin, daß in diesem Falle eine primäre Aldehydbildung anzunehmen ist.

Schade<sup>2)</sup> hat schon längst darüber berichtet, daß durch Einwirkung von verdünnten Alkalien eine Zuckerspaltung unter Bildung von Acetaldehyd und Ameisensäure hervorgerufen wird. Bei der Zymasegärung könnte dann eine weitere Umwandlung in Äthylalkohol und Kohlensäure erfolgen, und zwar in der Weise, daß Ameisensäure wegen der ihr eigenen Aldehydeigenschaften mit Acetaldehyd im Sinne der Cannizzaroschen Reaktion reagierte oder den Acetaldehyd direkt reduzierte, wie es Schade anzunehmen scheint. Die experimentellen Ergebnisse von Schade wurden durch eine Nachprüfung seitens Buchner, Meisenheimer und Schade<sup>3)</sup> nicht bestätigt; da aber die Wirkung der Fermente mit derjenigen der Alkalien doch nicht identisch ist, so bleibt das Schema



in Bezug auf die Hefegärung jedenfalls nicht widerlegt. In neuester Zeit haben nun Franzen und Steppuhn<sup>4)</sup> Bildung und Verarbeitung von Ameisensäure bei der Hefegärung beobachtet. Vorstehend wurde erwähnt, daß ich ebenfalls eine Andeutung auf Bildung von Ameisensäure erhielt, und zwar namentlich in dem Falle, wo die Reaktion zwischen Ameisensäure und Acetaldehyd durch Polymerisation des Aldehyds gehemmt werden sollte.

<sup>1)</sup> C. Neuberg und A. Hildesheimer, *Bio. Z.* **31**, 170 [1911]; C. Neuberg und L. Tir, ebenda, **32**, 323 [1911]; C. Neuberg und L. Karczag, ebenda, **36**, 60, 68, 76 [1911].

<sup>2)</sup> Schade, *Ph. Ch.* **57**, 1 [1906].

<sup>3)</sup> Buchner, Meisenheimer und Schade, *B.* **39**, 4217 [1906].

<sup>4)</sup> Franzen und Steppuhn, *B.* **44**, 2915 [1911]; *H.* **77**, 129 [1912].

Versuche über Bildung von Äthylalkohol aus Acetaldehyd habe ich bereits eingeleitet. Das Vorkommen eines so reaktionsfähigen Stoffes bei der alkoholischen Gärung und folglich auch bei Sauerstoffatmung der Pflanzen scheint aber auf jeden Fall von Wichtigkeit zu sein. Nach den interessanten Untersuchungen von A. Bach<sup>1)</sup> ist Acetaldehyd ein Koferment der Reduktasen; andererseits liefert die Autoxydation des Acetaldehyds ein Koferment für die pflanzlichen Peroxydasen.

**163. L. Tschugaeff und W. Fomin:  
Über isomere Thujylalkohole und Thujene.**

[Aus dem Chemischen Laboratorium der Kaiserl. Universität St. Petersburg.]

(Eingegangen am 13. April 1912.)

Vor mehreren Jahren hat der eine von uns die Vermutung ausgesprochen<sup>2)</sup>, daß im gewöhnlichen, durch Reduktion des (käuflichen) Thujons erhältlichen Thujylalkohol keine einheitliche Substanz, sondern ein Gemisch von wenigstens zwei stereoisomeren Spielarten vorliege. Dieser Schluß wurde aus dem Verhalten des Thujylxanthogenates,  $C_{10}H_{17}.O.CS.S.CH_3$ , gezogen, von welchem sich ein Teil als außerordentlich leicht zersetzlich, ein anderer dagegen als verhältnismäßig stabil erwies. Vom ersteren leiten sich linksdrehende ( $\alpha$ ), vom zweiten dagegen rechtsdrehende ( $\beta$ ) Thujene ab. Diesen Beobachtungen, welche später von Kondakow<sup>3)</sup> und Skworzow bestätigt und durch einige neuere Angaben ergänzt worden sind, konnten wir neuerdings die Feststellung der Tatsache hinzufügen, daß die  $\alpha$ - und die  $\beta$ -Modifikationen des Thujens, die wir für strukturoisomer halten, bei der Reduktion mit Wasserstoff in Gegenwart von Platinschwarz zu bicyclischen Thujanen<sup>4)</sup> führen, welche, nach ihren Eigenschaften zu urteilen, wohl als strukturidentisch angesehen werden können.

Bei weiterer Verfolgung der betreffenden Untersuchung haben wir durch fraktionierte Zersetzung des Roh-Thujylxanthogenates eine

<sup>1)</sup> A. Bach, Bio. Z. **31**, 443 [1911]; **33**, 282 [1911]; **38**, 154 [1912].

<sup>2)</sup> L. Tschugaeff, B. **33**, 3120 [1900]; **34**, 2279 ff. [1901]; **37**, 1481 [1904]; ferner: Untersuchungen in der Terpen- und Campherreihe, Moskau 1903.

<sup>3)</sup> Seit 1902. Vergl. Ch. Z. **1902**, 720; J. pr. [2] **67**, 573 [1903]; **69**, 176 [1904]; **Ж.** **42**, 497 [1910].

<sup>4)</sup> L. Tschugaeff und W. Fomin, C. r. **151**, 1058 [1910].