

über die Zusammensetzung des roten Gases jeder analytischen Unterlage entbehren, und daß die Aufklärung über dessen Natur vor allem den Besitz geeigneter Platingerätschaften voraussetzt.

B. Beim Übergießen von Kaliumpermanganat mit Fluorsulfonsäure und schwachem Erwärmen entweicht aus der Mischung ein prächtig violette Dämpfe bildendes Gas, welches sich in die Luft austretend unter Abscheidung brauner Flocken (wohl von Mangandioxyd) zersetzt. Das Gas explodiert bei der geringsten Erschütterung oder stärkerea Erwärmung, auch bei der Berührung mit oxydablen Substanzen, und konnte deshalb nicht einmal fraktioniert werden. Es ist darum ungewiß, ob es Fluor als wesentlichen Bestandteil enthält, nicht einmal [unmöglich, daß man es einfach mit Manganheptoxyd zu tun hat.

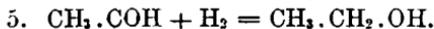
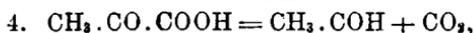
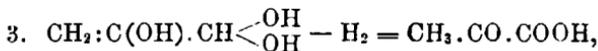
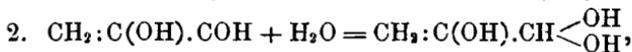
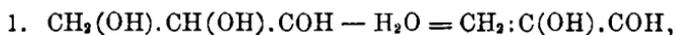
95. A. v. Lebedew: Über den Mechanismus der alkoholischen Gärung III. Zellenfreie Gärung der Polyoxy-carbonsäuren.

[Vorläufige Mitteilung aus dem Agrikulturchemischen Laboratorium des Donschen Polytechnikums zu Nowotscherkask.]

(Eingegangen am 24. Januar 1914.)

I. Die Vergärbarkeit der Glycerinsäure durch Hefe-Macerationssaft und Trockenhefe nach v. Lebedew.

In meiner letzten Arbeit¹⁾, die ich an dieser Stelle veröffentlicht habe, habe ich die Vermutung ausgesprochen, daß die Spaltung des Glycerinaldehyds bei der Gärung durch die Zwischenstufe Methyl-glyoxal erfolgt, nach dem Schema²⁾:

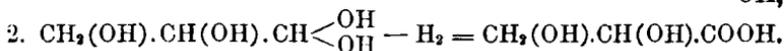
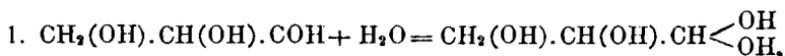


Indessen ergaben alle meine Bemühungen, Methyl-glyoxal durch Hefe-Macerationssaft oder Trockenhefe zu vergären, ein zweifelhaftes Resultat; ich konnte zunächst nicht weiterkommen, da ich keinen andren Weg sah, die Vergärbarkeit des Glycerinaldehyds

¹⁾ B. 45, 3256 [1912].

²⁾ Bl. [4], 11—12, 1040 [1912]; Bio. Z. 46, 488 [1912].

zu erklären; da kam mir der Gedanke, daß Glycerinaldehyd nicht in Methyl-glyoxal, sondern in Glycerinsäure übergeführt wird, nach dem Schema:



In diesem Falle sollte die Glycerinsäure aber vergärbar sein! Ich habe nun diese Versuche mit der gewöhnlichen *racem.* Glycerinsäure, die ich nach der bequemen Methode von Börnstein¹⁾ erhalten hatte, angestellt, und, zu meiner angenehmen Überraschung, konnte ich eine lebhaft und anhaltende Gärung, die 24 und mehr Stunden dauerte, feststellen. Auch käufliche Glycerinsäure von Merck, Schuchardt und Kahlbaum gab dasselbe Ergebnis. Obwohl die vorliegende Untersuchung bei weitem nicht abgeschlossen ist (ein neues und breites Feld liegt vor mir, dessen gründliche Bearbeitung noch viel Zeit und Kraft in Anspruch nehmen wird), so möchte ich doch, wegen ihrer großen Wichtigkeit für das Gärungsproblem, mit der Veröffentlichung der von mir bis jetzt erhaltenen Resultate nicht mehr warten.

Aus den vielen angestellten Versuchen mögen hier einige angeführt werden.

Versuch 1. 4 Erlenmeyer-Kölbchen mit Meißelschem Gärverschluß wurden mit je 50 ccm Saft gefüllt. Man gab in das Kölbchen Nr. 1 und 2 je 0.307 g Glycerinsäure²⁾ in 5 ccm Wasser, und in das Kontrollkölbchen Nr. 3 und 4 je 5 ccm Wasser. In alle Kölbchen gab ich ferner je 20 Tropfen (0.5 ccm) Toluol und ließ bei Zimmertemperatur (ca. 20°) stehen. Nach 24 Stdn. wurden alle Kölbchen wieder gewogen.

Die Kölbchen Nr. 1 und 2 zeigten eine Gewichtsabnahme von 53 und 54 mg, die Kölbchen Nr. 3 und 4 nur je 5 mg.

Versuch 2. Da die freie Glycerinsäure eine starke Trübung des Saftes hervorruft, die mit einer Verminderung der Gärkraft verbunden ist, so habe ich statt Hefesaft Trockenhefe, die Schroder³⁾ in München nach meiner Vorschrift bereitete, angewandt. In 4 Erlenmeyer-Kölbchen wurden je 10 g Trockenhefe, 50 ccm Wasser und 0.5 ccm Toluol gegeben; in die Kölbchen Nr. 1 und 2 außerdem je 0.307 g Glycerinsäure in 5 ccm Wasser, in die Kölbchen Nr. 3 und 4 je 5 ccm Wasser getan, dann wurde gewogen und nach 36 Stunden wieder gewogen.

Dabei fand ich weniger:

Nr 1 und 2 163 und 168 mg,

» 3 » 4 34 » 36 »

¹⁾ B. 18, 3357 [1885].

²⁾ Der Gehalt an Glycerinsäure wurde titrimetrisch bestimmt.

³⁾ Landwehrstr. 45.

Versuch 3. 12 Erlenmeyer-Kölbchen (Nr. 1—12) mit Gärverschuß wurden mit je 50 ccm Wasser, 10 g Trockenhefe und 20 Tropfen Toluol gefüllt. Die Kölbchen Nr. 1—6 erhielten außerdem je 0.307 g Glycerinsäure in 5 ccm Wasser; die Kontrollkölbchen Nr. 7—12 nur noch je 5 ccm Wasser. Nach 19 Stunden wurden die Kölbchen wieder gewogen.

Es ergaben sich für die Kölbchen Nr. 1—6: 100, 107, 115, 111, 102 und 95 mg, im Mittel pro Kölbchen 105 mg Gewichtsverlust.

Für die Kölbchen Nr. 7—12: 23, 21, 28, 21, 26 und 20 mg, im Mittel 23 mg.

Nach 26 Stunden betrug der Gewichtsverlust für die Kölbchen Nr. 1—6: 127, 131, 137, 131, 122, 132, im Mittel 130 mg.

Bei den Kontrollkölbchen Nr. 7—12 war die Gewichtsabnahme: 34, 28, 38, 30, 36, 33 mg, im Mittel 33 mg.

Um zu sehen, was für ein Gas bei diesem Prozeß entwickelt wird, habe ich den folgenden Versuch ausgeführt.

Versuch 4. Zwei 200 ccm fassende Eudiometer-Röhren wurden bis zur Hälfte des Volumens mit Quecksilber gefüllt. 2 Bechergläser mit Ausguß (I und II) wurden mit je 10 g fein gesiebter Trockenhefe und 40 ccm Wasser gefüllt. Zu Nr. I gab ich 0.307 mg Glycerinsäure in 5 ccm Wasser, zu Nr. II (Kontrolle) 5 ccm Wasser und mischte gut mit dem Glasstab durch. Dann wurde der Inhalt der Bechergläser in die oben erwähnten Eudiometer-Röhren mit je 10 ccm Spülwasser eingegossen, mit dem Daumen verschlossen und in der Quecksilberwanne umgestülpt. Die Röhren waren also vollständig unten mit Quecksilber und oben mit Hefebrei angefüllt. Schon nach einigen Sekunden bildete sich oben in dem Rohr I ein Gasraum.

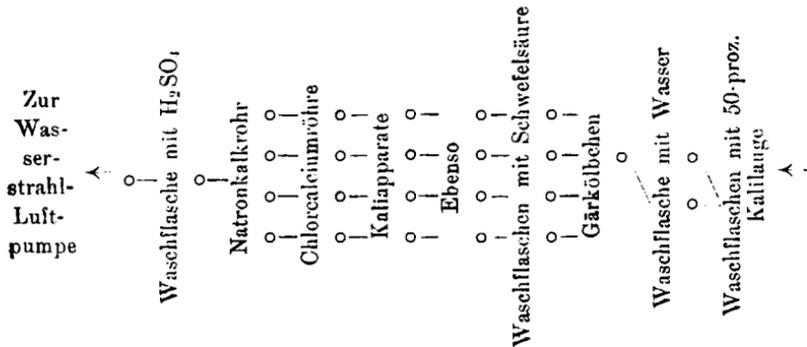
Die beiden Eudiometer-Röhren wurden nun bei Zimmertemperatur im Stativ stehen gelassen und die Volumenzunahme des Gasraumes von Zeit zu Zeit notiert.

Eudiometerrohr I		Eudiometerrohr II (Kontrolle)
Nach 1 1/2 Stunden	40 ccm	11 1/2 ccm
» 1 3/4 »	44 »	11 1/2 »
» 2 1/4 »	95 »	20 »
» 26 »	98 »	23 »
» 27 1/2 »	102 »	24 »

Nach 27 1/2 Stunden wurden in beide Röhren je 20 ccm 50-proz. Kalilauge von unten vorsichtig ohne Luftblasen eingeführt; dann wurde das untere Ende der Röhren mit dem Daumen unter Quecksilber fest verschlossen, die Röhren tüchtig geschüttelt und wieder in der Quecksilberwanne umgestülpt. Die Flüssigkeit war in beiden Röhren stürmisch gestiegen und der ganze Raum hatte sich bis auf ein kleines Bläschen, offenbar von Luft herrührend, gefüllt.

Obwohl nach diesem Versuche kein Zweifel mehr bestand, daß Glycerinsäure unter der Bildung von Kohlensäure vergoren wird, habe ich noch den folgenden Versuch ausgeführt.

Versuch 5. 4 Erlenmeyer-Kölbchen wurden mit je 10 g Trockenhefe und 50 ccm Wasser gefüllt. In die Kölbchen Nr. 1 und 2 habe ich noch je 0.307 g Glycerinsäure in 5 ccm Wasser, in die Kontrollkölbchen Nr. 3 und 4 je 5 ccm Wasser gegeben. Die Kölbchen wurden mit Gummistopfen, die zwei Bohrungen hatten, zugestopft. Durch die eine Bohrung ging ein Glasrohr bis auf den Boden des Kölbchens, durch die zweite Bohrung ging es gerade durch den Stopfen hindurch. Durch die Kölbchen wurde kohlensäurefreie Luft langsam durchgeleitet und die entwickelte Kohlensäure durch Kaliapparate absorbiert. Die schematische Anordnung des Versuches war also die folgende:



Nach 24 Stunden wurden alle Kaliapparate gewogen und folgende Gewichtszunahmen notiert.

Nr. 1 und 2 — 167 und 177 mg,
 » 3 » 4 — 53 » 58 »

Es ist also im Mittel in jedem Kölbchen mit Glycerinsäure-Zusatz 117 mg mehr Kohlensäure als im Kontrollkölbchen gebildet worden.

Zur Entscheidung der Frage, ob die Reaktion enzymatischer Natur ist, habe ich folgenden Versuch ausgeführt:

Versuch 6. In 6 Erlenmeyer-Kölbchen (Nr. 1–6) gab ich je 50 ccm Wasser und 10 g Trockenhefe. Das Kölbchen Nr. 1 wurde bis 90° rasch im Wasserbade erhitzt, das Kölbchen Nr. 2 nach $\frac{1}{4}$ Stunde bei dieser Temperatur belassen.

In die Kölbchen Nr. 1–4 habe ich je 0.307 g Glycerinsäure in 5 ccm Wasser, in das Kölbchen Nr. 5 und 6 je 5 ccm Wasser gegeben. Allen 6 Kölbchen wurde außerdem noch je 0.5 ccm Toluol zugesetzt. Nach 24 Stunden wurden die Kölbchen gewogen.

Nr. 1 — 6 mg CO_2 , Nr. 3 — 118 mg CO_2 , Nr. 5 — 23 mg CO_2 .
 » 2 — 0.6 » » » 4 — 115 » » » 6 — 24 » »

Ein ähnlicher Versuch mit Hefe-Macerationssaft gab dasselbe Resultat. Es ist also klar, daß die Reaktion rein enzymatischer Natur ist.

Die Bildung des Acetaldehyds bei der Vergärung der Glycerinsäure.

Nach dem oben angeführten Schema der Spaltung des Glycerinaldehyds bei der Gärung sollte sich intermediär Acetaldehyd bilden, es war also von großer Wichtigkeit festzustellen, ob bei der Gärung der Glycerinsäure sich Acetaldehyd bildet.

Ich habe auch in dieser Richtung hin Versuche angestellt, die ein positives Resultat gaben.

Die von mir angewandte Glycerinsäure gab keine Reaktion nach Rimini und keinen Niederschlag mit Phenylhydrazin, die Säure war also frei von Acetaldehyd und Brenztraubensäure. Das Präparat von Kahlbaum und Schuchardt enthielt Spuren von Acetaldehyd. Von vielen ausgeführten Versuchen seien hier nur zwei angeführt.

Versuch 7. In 4 Erlenmeyer-Kölbchen wurden je 50 ccm Wasser, 10 g Trockenhefe und 0.5 ccm Toluol gegeben. In den Kölbchen Nr. 1 und 2 wurden außerdem je 0.307 g Glycerinsäure in 5 ccm Wasser gelöst, zu den Kölbchen Nr. 3 und 4 je 5 ccm Wasser zugesetzt und bei Zimmer-temperatur 24 Stunden stehen gelassen und dann gewogen:

Nr. 1 — 113 mg CO₂, Nr. 3 — 30 mg CO₂.
 » 2 — 123 » » » 4 — 35 » »

Aus dem Inhalte der einzelnen Kölbchen wurden je 28 ccm unter Eiskühlung abdestilliert. Die Operation wurde zweimal wiederholt, so daß man 4 Destillate zu 7 ccm erhielt. Das Destillat aus den Kölbchen Nr. 1 und 2 roch deutlich nach Acetaldehyd und ein Tropfen davon, mit 2 ccm Wasser verdünnt, gab, mit einigen Tropfen einer konzentrierten Lösung von Nitroprussidnatrium und 2 Tropfen Diäthylamin versetzt, eine tief blaue, fast in Schwarz übergehende Färbung. Die Destillate aus den Kölbchen Nr. 3 und 4 gaben, ebenso behandelt, keine blaue Färbung. Es war damit bewiesen, daß sich bei der Vergärung der Glycerinsäure nicht nur Kohlensäure, sondern auch Acetaldehyd bildet.

Versuch 8. Hierzu wurden 2 Kolben (I und II) zu je 1 l (ohne Gärverschluß) und 4 Erlenmeyer-Kölbchen (Nr. 1—4) mit Gärverschluß verwandt. In die großen Kolben (I und II) wurden je 50 g Trockenhefe, 250 ccm Wasser und 2 ccm Toluol, in die kleinen je 50 ccm Wasser, 10 g Trockenhefe und 0.5 ccm Toluol gegeben. Zu dem Kolben I habe ich 25 ccm Wasser, das 1.535 g Glycerinsäure enthielt, zu dem Kolben II 25 ccm Wasser, zu den Kölbchen Nr. 1 und 2 je 0.307 g Glycerinsäure in 5 ccm Wasser, zu den Kölbchen Nr. 3 und 4 je 5 ccm Wasser zugesetzt. Die Kolben I und II wurden mit Gummistopfen zugestopft und jeder für sich mit Hilfe eines Glasrohres mit einer Waschflasche, die 150 ccm Wasser enthielt, verbunden. Zu dem Waschwasser waren einige Tropfen starken Ammoniaks zugefügt, um den Acetaldehyd in Form von Aldehyd-Ammoniak sicherer in

Lösung zu halten. Nach 24 Stunden wurde zu beiden Kolben das in der entsprechenden Waschflasche befindliche Wasser, nach vorheriger Neutralisation mit Schwefelsäure, zugefügt, und unter Eiskühlung, wobei die Schlange des Kühlers und des Destillates mit Eis gekühlt wurden, je 200 ccm mit kugeligem Destillieraufsatz abdestilliert, das Toluol wurde in einem Scheidetrichter abgetrennt. Die beiden Destillate wurden mit einigen Tropfen Schwefelsäure versetzt und wieder je 100 ccm davon abdestilliert. Ein Tropfen des Destillates A, mit 2 ccm Wasser verdünnt, gab eine sehr intensive Reaktion nach Rimini. Ein Tropfen des Destillates B, ebenso behandelt, gab keine blaue Färbung. Ich habe nun zu beiden Destillaten eine kalt gesättigte, frisch bereitete Lösung von *p*-Nitrophenyl-hydrazin-Hydrochlorid + Natriumacetat in kleinem Überschusse zugefügt. Das Destillat A gab sofort einen gelben, filzigen Niederschlag, das Destillat B (Kontrolle) dagegen keinen.

Der Niederschlag wurde abgesaugt, mit Wasser gut ausgewaschen, im Vakuum-Exsiccator über Schwefelsäure getrocknet und gewogen.

Erhalten 0.296 g Rohprodukt-Schmp. 122° (unkorr.) unter Zersetzung.

Der Niederschlag wurde in heißem Alkohol gelöst und mit fast siedendem Wasser, bis eine leichte Trübung erschien, versetzt und stehen gelassen. Nach dem Erkalten wurde der glänzende, goldgelbe Niederschlag abgesaugt, mit Wasser ausgewaschen und im Vakuum-Exsiccator getrocknet.

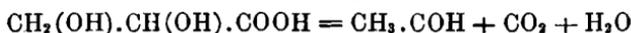
Erhalten 0.248 g Hydrazon, Schmp. (unter Zersetzung) 127¹/₂ — 128¹/₂° (unkorr.). Der Niederschlag wurde noch einmal umkristallisiert; Schmp. 128¹/₂°.

Die Verbindung war also das *p*-Nitrophenyl-Hydrazon des Acetaldehyds¹⁾.

Nach 24 Stunden wurden die 4 Erlenmeyer-Kölbchen gewogen. Gefunden:

Nr. 1	114 mg CO ₂	Nr. 3 (Kontrolle)	22 mg CO ₂
» 2	123 »	» 4	24 »

Es wurden also aus jedem Kölbchen mit Glycerinsäure-Zusatz 96 mg CO₂ mehr entwickelt, als in den Kontrollkölbchen. Aus dem Kolben I müßte sich also 5-mal so viel Kohlensäure entwickeln, nämlich 0.480 g. Nach der Gleichung:



bildet sich auf 1 Mol. Kohlensäure 1 Mol. Acetaldehyd, indessen habe ich in Form des *p*-Nitrophenyl-hydrazons nur ca. 96 mg Acetaldehyd

¹⁾ Die Elementaranalyse werde ich erst später ausführen können, da ich vorläufig noch kein Gas in meinem neu eingerichteten Laboratorium habe, so daß ich einstweilen mit der Spirituslampe arbeiten muß. Übrigens kann man nach der obigen Schilderung des Versuches über die wirkliche Natur des Niederschlages keinen Zweifel hegen.

gefunden, es fehlten also noch ca. 0.384 g, wenn die Spaltung wirklich nach dieser Gleichung erfolgt sein sollte.

Nun habe ich gezeigt, daß Acetaldehyd durch Hefe-Macerations-saft zum Teil in Äthylalkohol übergeführt wird, wobei auf 20 ccm Saft und 150 mg Acetaldehyd 87 mg in Alkohol verwandelt wurden¹⁾. Kostytschew²⁾ hat auf 50 g trockner Hefe (nach v. Lebedew), 510 ccm Wasser und 990 mg Acetaldehyd 0.432 mg mehr Äthylalkohol, als im Kontrollversuche gefunden³⁾. Ich habe darum Versuche angestellt, um zu sehen, ob bei der Gärung der Glycerinsäure eine merkliche Zunahme des Äthylalkohols stattfindet.

Versuch 9. In 6 Erlenmeyer-Kölbchen mit Meißelschem Gärverschluß wurden je 10 g Trockenhefe und 50 ccm Wasser gegeben. Zu den Kölbchen Nr. 1—4 habe ich ferner je 0.307 g Glycerinsäure in 5 ccm Wasser gelöst, zu den Kölbchen Nr. 5 und 6 je 5 ccm Wasser zugefügt und ohne Toluol-Zusatz stehen gelassen. Nach 24 Stunden wurden die Kölbchen gewogen:

Nr. 1	137 mg CO ₂	Nr. 4	136 mg CO ₂
» 2	141 » »	» 5	45 » »
» 3	138 » »	» 6	49 » »

Der Inhalt der Kölbchen Nr. 1—2, 3—4 und 5—6 wurde zusammengegossen, je 40 ccm Wasser zugesetzt und $\frac{2}{3}$ davon abdestilliert. Ich erhielt 3 Destillate zu je 100 ccm A, B und C. Die Destillate A und C wurden mit Fehlingscher Lösung in ähnlicher Weise behandelt, wie es in meiner letzten Arbeit⁴⁾ ausführlich beschrieben ist, und stufenweise bis auf 10 ccm konzentriert. Der Alkohol wurde danach nach Duclaux bestimmt:

Destillat A:	Alkoholgehalt	1 %
» C:	»	1.7 »

Es ist also in Kölbchen Nr. 1 und 2 70 mg Alkohol mehr gebildet worden, als in den Kontrollkölbchen (Nr. 5 und 6).

Zum Destillate der Kölbchen Nr. 3 und 4 (B) gab ich 1 Tropfen Schwefelsäure, dann wurde die Hälfte abdestilliert und mit *p*-Nitrophenyl-hydrazin-Hydrochlorid wie oben behandelt.

Es wurden so 104 mg Hydrazon erhalten, also ca. 26 mg Acetaldehyd. Wenn man dazu noch den Acetaldehyd mitrechnet, der zu Alkohol reduziert wurde, so sind in Kölbchen Nr. 1 und 2 im ganzen ca. 94 mg Acetaldehyd gebildet worden. Nach der Menge der extra entwickelten Kohlensäure zu urteilen, sollte fast doppelt so viel Acetaldehyd erscheinen, nämlich 184 mg. Obwohl diese Versuche

¹⁾ B. 45, 3267 [1912].

²⁾ H. 79, 370 [1912].

³⁾ Die von ihm angewandte Methode der Trennung des Acetaldehyds vom Alkohol ist jedenfalls, worauf ich schon hingewiesen habe (l. c. 3263), nicht zuverlässig.

⁴⁾ l. c. 3264.

exakt durchgeführt wurden, werde ich die Versuche noch einmal streng quantitativ nach genaueren Methoden durchführen, doch ist es sehr wahrscheinlich, daß die Spaltung der Glycerinsäure nicht glatt nach der Gleichung $C_3H_6O_4 = C_2H_4O + H_2O + CO_2$ erfolgt. Synthetische α, β -Glycerinsäure ist eine racemische Verbindung, und es ist fraglich, ob die beiden sterischen Isomeren in ganz gleicher Weise zersetzt werden. Zur Klärung der Frage beabsichtige ich die Gärversuche auch mit *d*- und *l*-, ebenso wie mit α, α -Glycerinsäure, $[CH_3 \cdot C(OH)_2 \cdot CO_2H]$, anzustellen. Ich habe jedenfalls die Beobachtung gemacht, daß die Destillate, wenn man sie bis 10—20 ccm konzentriert, ganz trübe werden, beim Verdünnen werden sie aber wieder wasserklar. Die verdünnten Lösungen werden beim Abkühlen mit Eis wieder trübe. Bei der Gärung der *racem.* α, β -Glycerinsäure in An- und Abwesenheit von Toluol bildet sich also in kleiner Menge außer Acetaldehyd noch ein Stoff; er geht im Destillat mit den ersten Tropfen über und macht es trübe. Er soll von mir isoliert und untersucht werden.

Ich möchte hier noch einen Versuch beschreiben, den ich angestellt habe, um zu sehen, in welchem Maße bei fast gleichen Bedingungen *racem.*-Glycerinaldehyd, *racem.*-Glycerinsäure, Dioxyceton, Brenztraubensäure und Rohrzucker durch Trockenhefe in Anwesenheit von Toluol vergoren werden.

Versuch 10. In 6 Erlenmeyer-Kölbchen mit Gärverschluß wurden je 10 g Hefe, 50 ccm Wasser und 20 Tropfen Toluol gegeben. Zu den Kölbchen Nr. 1—5 wurden weiter je 300 mg Glycerinaldehyd, Glycerinsäure, Dioxyceton, Rohrzucker und Brenztraubensäure in 5 ccm Wasser gelöst, zu dem Kölbchen Nr. 6 5 ccm Wasser zugefügt; alle Kölbchen wurden gewogen und stehen gelassen. Nach 36 Stunden wurden die Kölbchen wieder gewogen.

Die Gärung des Rohrzuckers und Brenztraubensäure war fast stürmisch (mit starker Schaumbildung), die andren Stoffe gärten dagegen bedeutend langsamer (mit mäßiger Schaumbildung).

Nr. 1 (Glycerinaldehyd)	78 mg CO ₂	Nr. 4 (Rohrzucker)	178 mg CO ₂
» 2 (Glycerinsäure)	136 » »	» 5 (Brenztraubensäure)	174 » »
» 3 (Dioxyceton)	149 » »	» 6 (Kontrolle)	46 » »

Es wurde also in den Kölbchen Nr. 1—5 mehr Kohlensäure gebildet, als in dem Kontrollkölbchen:

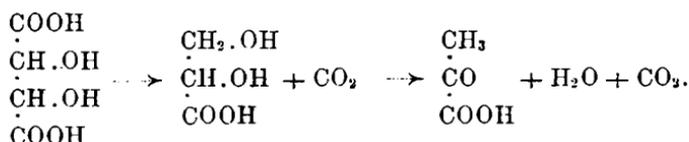
Nr. 1	32 mg CO ₂	Nr. 3	103 mg CO ₂	Nr. 5	128 mg CO ₂
» 2	90 » »	» 4	132 » »		

Man sieht also, daß Glycerinsäure dreimal so stark vergoren wird, wie Glycerinaldehyd. Außerdem gärt Glycerinsäure fast sofort nach dem Zusatze, Glycerinaldehyd dagegen, nur nach einiger Zeit. Glycerinsäure darf also mit Recht als

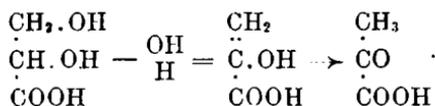
Zwischenprodukt der Glycerinaldehyd-Vergärung aufgefaßt werden.

Wenn man das Ergebnis der oben beschriebenen Versuche 3, 5, 6, 7, 8 und 9 zusammenstellt, so wird man finden, daß auf 307 mg in 24 Stunden durchschnittlich 106 mg CO₂ entwickelt wurden. Theoretisch könnte man 41.5% erwarten, es wurden also, nach der entwickelten Menge der Kohlensäure zu urteilen, bei der Richtigkeit der Annahme, daß auf ein Mol. Glycerinsäure 1 Mol. Kohlensäure entweicht, 83% der zugesetzten Glycerinsäure vergoren. In einzelnen Versuchen stieg diese Menge bis 90% und noch höher. Es folgt daraus, daß die beiden Stereoisomeren angegriffen werden, vielleicht allerdings nicht in gleichem Maße und gleicher Weise. Jedenfalls steht fest, daß sich dabei Acetaldehyd und Kohlensäure bilden.

Es taucht nun die wichtige Frage auf, auf welchem Wege die Spaltung der Glycerinsäure erfolgt. Moldenhauer¹⁾ hat schon vor längerer Zeit gezeigt, daß sich bei der Destillation der Glycerinsäure neben andren Produkten Wasser und Brenztraubensäure bilden. Nach Berzelius²⁾ bildet sich bei der Destillation der Weinsäure Brenztraubensäure, wenn auch in kleiner Menge. Nach Erlenmeyer³⁾ kann man die Ausbeute an Brenztraubensäure bis auf 60% steigern, wenn man Weinsäure oder Glycerinsäure mit saurem schwefelsaurem Kalium erhitzt:



Dabei verliert Glycerinsäure wahrscheinlich in folgender Weise ihre Wasserbestandteile:



Nun hat C. Neuberg mit seinen Schülern in einer Reihe von glänzenden Arbeiten nachgewiesen, daß Brenztraubensäure durch Hefe-Carboxylase glatt in Acetaldehyd und Kohlensäure gespalten wird. Damit hat dieser Forscher die intermediäre Bildung der Brenztraubensäure bei der Zuckergärung wenn nicht dargetan, so doch sehr wahrscheinlich gemacht.

¹⁾ A. 131, 338.

²⁾ Pogg. A. 36, 1.

³⁾ B. 14, 321 [1881].

Oben habe ich gezeigt, daß auch bei der Gärung der Glycerinsäure sich Acetaldehyd und Kohlensäure bilden; es muß also aus Glycerinsäure zuerst Brenztraubensäure entstehen. Wir sehen jetzt, daß bei der zellenfreien Gärung der Glycerinsäure sich eigentlich derselbe Vorgang abspielt, wie bei der Erhöhung der Temperatur oder bei Einwirkung von wasserentziehenden Mitteln — das Wasser wird abgespalten und dabei auf rein enzymatischen Wege! Die Annahme, daß Glycerinsäure eine Vorstufe der Brenztraubensäure bei der Zucker-Gärung wäre, ist also experimentell zulässig.

Denkt man darüber nach, daß Brenztraubensäure die schon fertig gebildete Methylgruppe enthält, und daß das ganze Gärungsproblem eigentlich in der Frage steckt, auf welche Weise sich diese Gruppe aus der CH_2OH -Gruppe bildet, so wird man unwillkürlich zu dem Schlusse kommen, daß vom rein chemischen Standpunkte aus betrachtet, die Vergärbarkeit der Glycerinsäure für die Klärung der Gärungsprobleme noch bedeutend wichtiger ist, als die Vergärbarkeit der Brenztraubensäure. Wenn sich später herausstellen sollte, daß Glycerinsäure kein Zwischenprodukt der Zuckergärung ist, so wird doch die bedeutsame, von mir zuerst festgestellte Tatsache bestehen bleiben, daß auf rein enzymatischem Wege aus mehrfach hydroxylierten Verbindungen, wie es Polyoxycarbonsäuren sind, also höchstwahrscheinlich auch aus den Kohlenhydraten, das Wasser enzymatisch abgespalten werden kann. Es ist damit noch ein wichtiger Schritt vorwärts zur Erklärung des Gärungsprozesses gemacht.

Die theoretische Ableitung des Gärungsprozesses, die sich aus diesen Versuchen ergibt, soll später an der Hand weiteren Untersuchungsmaterials besprochen werden.

II. Die Vergärbarkeit der Gluconsäure.

Es war zu erwarten, daß auch andre Polyoxy-carbonsäuren, ebenso unter Abspaltung von Kohlensäure, vergärbar sind. Ob diese Abspaltung durch die Neubergsche Carboxylase bewirkt wird, werden meine weiteren Versuche zeigen, jedenfalls sollte sich dabei auch die **Dehydratase** beteiligen.

d-Gluconsäure (Dextronsäure) habe ich nach der Methode von Kiliiani und Kleemann¹⁾ dargestellt. Auch das käufliche Präparat von Merck gab dasselbe Resultat. Ich habe mit ihr ähnliche Versuche wie mit Glycerinsäure ausgeführt, nur habe ich statt 0.307 mg

¹⁾ B. 17, 1298 [1884].

in den meisten Versuchen 0.484 mg angewandt, d. h. ca. 1-proz. Lösungen, da das Molekulargewicht fast doppelt so groß ist als das der Glycerinsäure (196 und 106). Einige der vielen Versuche möchte ich hier beschreiben.

Versuch 11. 4 Kölbchen mit Hefe-Macerationsaft. Versuchsbedingungen genau wie im Versuch 1, nur wurden statt 0.307 mg Substanz 0.484 g Gluconsäure genommen.

Nr. 1 — 33 mg

Nr. 3 (Kontrolle) — 3 mg

» 2 — 37 »

» 4 » — 4 »

In zwei Kölbchen mit Säurezusatz wurden also 63 mg mehr Gas entwickelt als in den beiden Kontrollkölbchen.

Versuch 12. 6 Kölbchen (ohne Toluol-Zusatz). Dieselbe Anordnung wie im Versuch 2.

Tabelle 1.

Nr.	Zusatz	mg	Gewichtsabnahme in mg und Dauer der Gärung in Stunden			Mehr oder weniger in mg
			12	25	37 Stdn.	
1	Gluconsäure . . .	484	94	116	136	+ 57
2	» . . .	242	45	76	109	+ 30
3	Glycerinsäure . . .	614	27	52	72	— 7
4	» . . .	307	110	146	176	+ 87
5	Kontrolle . . .	0	32	58	80	—
6	» . . .	0	27	54	78	—

Versuch 13. 11 Kölbchen mit Toluolzusatz. Dieselbe Versuchsanordnung.

Tabelle 2.

Nr.	Zusatz	mg	Gewichtsabnahme in mg und Dauer der Gärung in Stunden			Mehr oder weniger in mg
			14	20	36 Stdn.	
1	Glycerinsäure. . .	614	21	28	33	— 8
2	» . . .	614	14	20	36	— 5
3	» . . .	460	85	102	128	+ 87
4	» . . .	307	76	98	132	+ 91
5	» . . .	240	70	102	121	+ 80
6	Gluconsäure . . .	968	6	11	17	— 24
7	» . . .	726	59	70	98	+ 57
8	» . . .	484	62	71	99	+ 58
9	Brenztraubensäure .	322	160	179	199	+ 158
10	Kontrolle . . .	0	21	31	39	—
11	» . . .	0	23	30	43	—

Man sieht also aus diesen Versuchen, daß die Hauptmenge der Glucon-, Glycerin- und Brenztraubensäure schon in 12 Stun-

den vergoren wird, und daß Brenztraubensäure, deren Spaltung von einfacherer Natur ist, zweimal so schnell vergoren wird, wie es übrigens für die intermediäre Substanz, die sie sein soll, auch zu erwarten war. Sie gärt fast stürmisch, die beiden andren Säuren bedeutend langsamer. Bei der Konzentration der Glycerinsäure von ca. 1% und der Gluconsäure, entsprechend dem fast doppelten Molekulargewichte, ca. 2%, erfolgt nicht nur keine Vergärung, sondern auch die Selbstgärung wird, infolge der zu sauren Reaktion, stark unterdrückt.

Zur Entscheidung der Frage, was für ein Gas bei der Vergärung der Gluconsäure entsteht, habe ich drei Versuche mit trockner Hefe angestellt (14, 15 und 16). Die Versuchsanordnung war genau wie im Versuch 4. In der Tabelle 3 sind sie zusammengestellt. Versuch 16 war ohne Toluol angestellt.

Tabelle 3. (B Kontrolle.)

Stunden	Versuch 14		Versuch 15		Versuch 16		Stunden	Versuch 14		Versuch 15		Versuch 16	
	A ccm	B ccm	A ccm	B ccm	A ccm	B ccm		A ccm	B ccm	A ccm	B ccm	A ccm	B ccm
1	—	—	13	5	—	—	15	—	—	—	—	95	42
2	—	—	27	13	—	—	16	—	—	—	—	96	44
2½	40	7	—	—	45	23	17	—	—	75	23	96½	45
3	—	—	45	14	—	—	18	—	—	—	—	98	47
3½	55	8	—	—	61	26	19	—	—	76	24	100	49
4	—	—	55	15	66	27	20	80	20	76.5	24.5	—	—
5	60	9	—	—	75	29	21	—	—	77	25	—	—
6	—	—	60	17	80	31	23	83	22	—	—	106	51
7	—	—	—	—	84	34	25	86	23.5	—	—	—	—
8	66	12	65	18	—	—	30	96	32	—	—	—	—

Die kleinen Unregelmäßigkeiten lassen sich leicht dadurch erklären, daß die Röhre in 3 verschiedenen Versuchen nicht bei konstanter Temperatur (also im Thermostaten), sondern bei Zimmertemperatur (ca. 20°) gestanden hatte.

Nach Beendigung der Versuche, d. h. nach 30, 21 und 23 Stunden, wurden je 20 ccm 50-proz. Kalilauge von unten in die Röhre eingeführt (s. den Versuch 4) und der übergebliebene Gasraum notiert.

Versuch 14.	Versuch 15.	Versuch 16.
A —3 ccm, B —0.1 ccm	A —3 ccm, B —0.2 ccm	A 2½ ccm, B 0.1 ccm

Es ist also wahrscheinlich, daß bei der zellenfreien Gärung der Gluconsäure neben der CO₂ noch ein Gas (möglicherweise Wasser-

stoff), wenn auch in kleiner Menge, sich bildet. Die Gasanalyse soll noch von mir ausgeführt werden.

Ich habe auch Versuche angestellt, um zu sehen, ob bei der enzymatischen Spaltung der Gluconsäure Acetaldehyd¹⁾ sich bildet, und ob die Menge des Alkohols dabei größer als in den Kontrollversuchen ist, doch habe ich weder die Bildung von Acetaldehyd, noch die Zunahme an Alkohol nachweisen können, so daß man vorläufig annehmen muß, daß dabei nur Kohlensäure (eventl. unter Abspaltung von Wasser unter Bildung des entsprechenden Aldehyds) abgespalten wird. Ob diese Annahme richtig ist, werden meine weiteren Versuche zeigen.

Ich behalte mir vor, nicht nur mit Hefesaft, Trockenhefe und verschiedenen Hefepräparaten, sondern auch mit lebenden²⁾ Hefen alle bis jetzt dargestellten Polyoxy-carbonsäuren auf ihre Vergärbarkeit zu prüfen und den Chemismus der Spaltung, ebenso wie die Kinetik ausführlich zu studieren.

96. Arnold Reissert:

Versuche zur Darstellung substituierter Indigos.

(Eingegangen am 13. Februar 1914.)

Im Folgenden sind einige Versuche beschrieben, welche darauf abzielten, solche Indigofarbstoffe herzustellen, in denen das typische Stickstoffatom, welches im gewöhnlichen Indigo als Imidgruppe vorliegt, einem ringförmigen Komplex angehört. Dieses Ziel schien in der Weise erreichbar zu sein, daß man von einem Körper ausging, welcher einen an den Benzolring angegliederten, stickstoffhaltigen Ring mit einer dem Benzolkern benachbarten Imidgruppe enthält. Von solchen Kernen wurden der Untersuchung unterzogen:

Benztriazol,
Methyl-benzimidazol,
Oxy-dihydro-chinoxalin.

¹⁾ Bei dieser Gelegenheit möchte ich darauf hinweisen, daß in Anwesenheit von Ammoniak die Reaktion nach Rimini auf Acetaldehyd undeutlich wird, sogar ganz versagt. Da nun die Destillate öfters vom mitüberdestillierenden Ammoniak, das bei der Hefe-Autolyse entsteht, alkalisch sind, so ist es in diesem Falle ratsam, das Destillat mit Schwefelsäure zu neutralisieren und wieder die Hälfte davon abzudestillieren.

²⁾ Die orientierenden Versuche haben ergeben, daß Glycerin- und Gluconsäure durch lebende Hefe auch vergärbar sind.