

# Über eine neue optisch active Modification der Milchsäure, durch bacterielle Spaltung des Rohrzuckers erhalten

von

Dr. phil. et univ. med. **Franz Schardinger**,

*k. und k. Regimentsarzt in Wien.*

Aus dem bacteriologischen Laboratorium des k. und k. Militär-sanitätscomités.

(Vorgelegt in der Sitzung am 4. December 1890.)

Nach der Hypothese von Le Bel und van 't Hoff ist die optische Activität der Kohlenstoffverbindungen bedingt durch das Vorhandensein von asymmetrischen Kohlenstoffatomen, d. h. von solchen, die mit vier verschiedenen Atomen oder Atomgruppen verbunden sind; asymmetrisch constituirte inactive Verbindungen sind in zwei entgegengesetzt active spaltbar.

Durch Krystallisation von Salzen bei bestimmter Temperatur, der Umwandlungstemperatur, ist diese Spaltung mehrfach gelungen.

Durch das Studium biologisch-chemischer Eigenschaften gewisser Pilze lernte man Kräfte kennen, deren reactive Schärfe den feinsten Reagentien gleichkommt. Bietet man Spaltspitzen in geeigneten Nährlösungen Weinsäure oder Mandelsäure als Zerlegungsmaterial, so wird nach Pasteur und Lewkowitsch die rechtsdrehende Modification zerstört, während die linksdrehende zurückbleibt. Für *Penicillium glaucum* fand Lewkowitsch, dass bei Mandelsäure der linksdrehende Theil zerstört wird, während der rechtsdrehende zurückbleibt.

Derselbe Forscher fand auch auf diesem Wege, dass die inactive Mandelsäure aus zwei activen zusammengesetzt ist. Der

gleiche Pilz macht nach ihm Glycerinsäure linksdrehend, Äthylidenmilchsäure rechtsdrehend (Berl. Ber., XV, XVI). Für eine Reihe anderer Stoffe sind ähnliche Verhältnisse gefunden worden. Der Theorie nach müsste die Äthylidenmilchsäure in zwei active Componenten spaltbar sein, da sie ein asymmetrisches Kohlenstoffatom enthält.

Die rechtsdrehende Modification wurde in der That mehrfach als Product pilzlicher Lebensthätigkeit nachgewiesen, so ausser von Lewkowitsch von Prof. Maly (Berl. Ber., Bd. VII) und in neuerer Zeit von Neneki und Sieber (Monatshefte f. Chem., Bd. X); die gelegentlich der Untersuchung über Rauschbrand einen anaëroben *Micrococcus* fanden, der aus Traubenzucker Paramilchsäure bildet.

### I. Bacteriologischer Theil.

In einer ungarischen Militärstation waren im Laufe kurzer Zeit mehrere Pferde an Milzbrand eingegangen. Das k. und k. Reichskriegsministerium ordnete, um die eventuelle Eingangspforte des Virus sicherzustellen, auch die bacteriologische Untersuchung des Wassers an. Da der Vorstand des Laboratoriums zu der Zeit beurlaubt war, wurde ich mit der Durchführung dieser Untersuchung betraut.

Das Wasser aus zehn zu prüfenden Brunnen wurde sowohl nach der Methode von Koch, als nach der im hiesigen Institute vom Vorstande, Herrn Regimentsarzte Dr. H. Kowalski, geübten Untersuchungsweise in „Plattenkölbchen“ verarbeitet. Die als die Erreger des Milzbrandes nachgewiesenen Bacillen fanden sich in keinem der Wässer.

Wohl aber fand ich, namentlich im Wasser eines Brunnens, einen Spaltpilz, dessen lebhaftige Gährthätigkeit auf kohlehydrathältigen Nährböden zu weiterem Studium seiner biologischen Wirksamkeit aufforderte, da als dessen Hauptproduct in rohrzuckerhaltiger Flüssigkeit eine Milchsäure constatirt wurde, die das polarisirte Licht nach links dreht, ein Befund, der umso interessanter ist, als bis jetzt, soweit ich aus der mir zugängigen Literatur ersehe, diese zweite theoretisch mögliche Form von activer Milchsäure noch niemals beobachtet worden ist. Ohne

weitere Schlüsse daran zu knüpfen, verweise ich ferner auf die von Nencki und Sieber, wie erwähnt, constatirte Symbiose eines Rechtsmilchsäure bildenden *Micrococcus* bei Rauschbrand; weiters, dass bei verschiedenen Krankheiten Milchsäure im Harn nachgewiesen wurde. Grund genug, um der Lebensthätigkeit des gefundenen Spaltpilzes erhöhte Aufmerksamkeit zu widmen.

Der Spaltpilz stellt ein Kurzstäbchen dar von ungefähr derselben Grösse wie der *Bacillus acidi lactici* von Hueppe. Die Grössenverhältnisse differiren nicht unbeträchtlich je nach den Wachstumsbedingungen; am kräftigsten entwickelte Formen findet man in Nährlösungen, in denen er Gährthätigkeit ausüben kann. Meist sind zwei Individuen vereint, jedoch wächst der Pilz auch zu langen Fäden aus, die sich namentlich in älteren Bouillon-culturen finden. Diese Fäden sind wellig gebogen, ihr Inhalt gleichmässig lichtbrechend, hie und da enthalten sie in ihrem Inneren stärker lichtbrechende Körnchen, über deren Bedeutung ich jedoch nichts aussagen kann. Eine Gliederung der Fäden wurde im ungefärbten Präparate nicht beobachtet. Die Kurzstäbchen sind an den Enden mehr eckig, wie plattgedrückt. Beide Formen umgibt ein lichter, nicht färbbarer Hof, der je nach dem Culturboden verschieden stark ausgebildet ist.

Die Beobachtung des Wachstums im „hängenden Tropfen“ ergab das Auswachsen einzelner unbeweglicher Individuen zu zweien, die meist vereint blieben, das Auftreten der erwähnten Fäden und die Bildung der Körnchen in diesen.

Die Art der Bildung von Dauerformen konnte ich derzeit nicht constatiren. In bis zu sechs Monate alten Culturen fanden sich wohl Formen, deren Inhalt stark lichtbrechend war, neben allem Anscheine nach normalen vegetativen Formen auch geblähte wetzsteinförmige Gebilde. Dass diese Culturen noch übertragungsfähig waren, konnte durch Überimpfung constatirt werden. Diese von der Norm abweichenden Gebilde färben sich schlecht, in ihnen beobachtete ich meist central ungefärbte ovale Körperchen; isolirte Sporenfärbung gelang nicht.

Ob der fragliche Spaltpilz zu den Bacillen oder den Bacterien in sens. strict. Hueppe's zu zählen ist, muss ich unentschieden lassen; der Einfachheit halber wäre vielleicht vorderhand die Bezeichnung als *Bacillus acidi laevolactici* angezeigt.

Sein Färbungsvermögen ist den gebräuchlichen Anilinfarbstoffen gegenüber ziemlich gleich; am schnellsten färbt er sich mit Carbolfuchsin nach Ziehl. Pathogene Eigenschaften scheint er nicht zu besitzen, wenigstens vertrugen Hausmäuse (4), Meer-schweinchen (3), Kaninchen (1) subcutane Einverleibung ohne die mindeste Störung.

Die Temperaturgrenzen, innerhalb deren er gedeiht, sind ziemlich weite; unter 10° findet noch Wachstum statt, über 40° hört dasselbe bald auf. Gut gedeiht er bei gewöhnlicher Zimmertemperatur, seine spezifische Gährthätigkeit übt er am besten bei 36° aus.

Die Colonien auf Koch'schen Platten sehen macroskopisch folgendermassen aus: Nach 48 Stunden sind die in der Tiefe wachsenden spindelförmig, gelblichweiss, meist mit einer Gasblase zusammenhängend (rohrzuckerhältige Gelatine), die oberflächlich gelegenen überragen  $\frac{1}{2}$ —1 mm diese als milchweisse Tröpfchen, an ihrer Basis zeigt sich ein schleimiger Hof; es hat den Anschein, als wenn kleinste Porzellanstückchen mit Gummilösung der Oberfläche aufgeklebt wären. Dieses über die Oberfläche-Wachsen tritt noch deutlicher hervor in Plattenkölbchen, die aus der Tiefe emporwachsenden Colonien überragen theilweise bogenförmig als weisser wurstähnlicher Strang die Oberfläche. Im weiteren Verlaufe nimmt der schleimige Hof zu und umhüllt ganz das milchweisse Centrum.

Eine vier Tage alte Colonie zeigt von oben gesehen einen dunklen Kern, um ihn einen centralen und peripheren Hof, der letztere milchglasähnlich. Der Rand ist durchsichtig, leicht gekerbt, an einer Stelle meist bis zum Centrum eingezogen, zeigt im durchgehenden Lichte lebhaftes Farbenspiel.

Bei schwacher Vergrösserung zeigen die oberflächlichen Colonien feingranulirten Inhalt, sie sehen am Rande wie chagriniert aus, central sind sie, wie die in der Tiefe undurchsichtig, der Rand dieser ist fein gestrichelt.

Der Spaltpilz gedeiht auf allen gebräuchlichen Nährböden schon bei Zimmertemperatur, seine Wachstumsenergie ist namentlich gross auf zuckerhaltigen; schon nach 5—6 Stunden lässt sich deutlich eine Ausbreitung der überimpften Colonien wahrnehmen.

Gelatinstichcultur (Fleischwasser-Pepton-Gelatine mit 6% Rohrzucker). Zuerst erfolgt entlang dem Impfstiche gleichförmig körniges Wachsthum, dann nimmt dasselbe an der Oberfläche überhand, wo sich eine schleimig weisse „Nagelcultur“ bildet, die von feinen Gasbläschen durchsetzt ist. Schon nach 8—12 Stunden zeigen sich in der Tiefe vom Stiche ausgehend Gasblasen, die sich allmählig vergrössern, und in welche die Cultur hineinwächst.

Nach 2—3 Wochen documentirt sich hauptsächlich im Bereiche des Impfstiches eine rothbraune Verfärbung der Gelatine; eine Verflüssigung trat auch in sechs Monate alten Culturen nicht ein.

In derselben Gelatine ohne Zucker geht das Wachsthum langsamer vor sich, im Impfstiche körnig, auf der Oberfläche scheibenförmig in concentrischen Kreisen als weisser, glänzender Belag. Gasblasen treten erst nach 6—7 Tagen in sehr spärlicher Zahl auf. Nach 14 Tagen beginnt vom Rande aus Austrocknung, dieser wird trocken weiss, aufgeworfen.

In der ersteren Gelatine bleibt die schleimig weisse Nagelcultur monatelang, wenn sie auch mehr verflacht.

Gelatinestricheultur. Die Gebilde breiten sich gleichmässig längs des Impfstriches aus als milchweisser, porzellanähnlicher Belag, dabei zeigt die Cultur, namentlich bei künstlicher Beleuchtung, im schief auffallenden Lichte ein prächtiges Farbenspiel; sie erstrahlt in allen Farben des Spectrums, auch noch nach längerer Zeit, wo sie schon makroskopisch beträchtlich an Dicke zugenommen hat. Nach circa drei Wochen sinkt die Cultur zu Boden als weisse, schleimige Masse. Nach einem Monate und darüber erscheint die Gelatine im auffallenden Lichte grünlich, im durchgehenden rothbraun verfärbt. Unterhalb des Impfstriches ist sie von einzelnen kleinen Gasblasen durchsetzt.

Auf Fleischwasser-Pepton-Agar und Kalbsserum erfolgt bei gewöhnlicher und Brüttemperatur lebhaftes Wachsthum ohne besonders bemerkenswerthe Eigenthümlichkeiten.

In Kartoffeleprouvetten (nach Roux) beschränkt sich das Wachsthum anfangs hauptsächlich auf den Impfstrich, den es bis zu 2 mm überragt; später wird das ganze Kartoffelstück überwuchert, die Wucherung erreicht das Glas und erstreckt sich in

den unteren verjüngten, mit Wasser gefüllten Theil, dabei ist sie von reichlichen Gasblasen durchsetzt. Farbenänderung der Kartoffel tritt nicht ein; die Cultur ist gelblichweiss. Beim Öffnen der Röhre macht sich ein nicht unangenehmer Geruch geltend, wie nach vergohrenen Trebern. Im Brütofen trocknet die Wucherung trotz vorhandener Feuchtigkeit bald ein.

In alkalischer-zuckerhältiger Bouillon erfolgt schon sechs Stunden nach der Übertragung diffuse Trübung sowohl bei gewöhnlicher Temperatur wie bei 37°. Nach 1—2 Tagen schäumt die Flüssigkeit lebhaft beim Schütteln.

Nach 2—3 Wochen klärt sich die Flüssigkeit, am Boden sammelt sich in weisslichen Flocken die bacilläre Wucherung. Die Reaction wird nach kurzer Zeit sauer, der Geruch ist ähnlich wie bei den Kartoffelculturen.

Eine Thatsache möchte ich hier erwähnen, die mir im Verlaufe der Arbeit öfters untergekommen. Manche der bei Zimmertemperatur (namentlich im Frühjahre und im Herbst) angelegten Bouillonculturen wurden nach kurzer Zeit, 8—12 Stunden, dicklich, schwer beweglich, Gasbildung trat später als gewöhnlich auf, das Wachsthum erfolgte mehr oberflächlich als schleimigweisse Zooglaea, die nach längerer Zeit die ganze Bouillon durchsetzte.

Der zunächst liegende Gedanke einer Verunreinigung wurde hinfällig, da ich auf Plattenculturen nur eine Art von Organismen constatiren konnte; allerdings weicht das Wachsthum merklich ab von dem früher Geschilderten, jedoch konnte ich durch Übertragung einer solchen Colonie in frisches zuckerhältiges Nährmaterial die gleichen Erscheinungen beobachten, wie früher, lebhafte Gährung, Nichtschleimigwerden von Bouillon, während manchmal unter denselben Verhältnissen dies ausblieb, die Bouillon bald schleimig wurde, in Gelatinstiehculturen die Gährthätigkeit erst nach 5—6 Tagen auftrat. Wahrscheinlich handelt es sich um eine Abschwächung der specifischen Thätigkeit des Spaltpilzes, wie sie ja mehrfach beobachtet wurde. Wurde eine solche „schleimige“ Bouilloncultur in einen wie im Folgenden geschilderten Gährkolben übertragen, so war bei Zimmertemperatur nach längstens 12 Stunden der Inhalt „schleimig“. Gasbildung war erheblich geringer, aber  $\text{CaCO}_3$  löste sich allmählich, und

das Hauptproduct blieb dasselbe, wenn auch in verringerter Quantität.

Weitere Mittheilung behalte ich mir vor.

Sterile Milch wird bald zur Gerinnung gebracht, dabei scheidet sich das Casein in klumpigen, von Gasblasen durchsetzten Massen ab, das darüber stehende Serum ist gelbgrünlich.

Übergiesst man eine Agarsticheultur mit eben noch flüssiger Gelatine, so erfolgt trotzdem Wachstum, und der Gelatinpfropf wird durch das nachdrängende Gas höher und höher hinaufgedrückt. Davon, dass der Bacillus auch bei Luftabschluss zu gedeihen vermag, überzeugte ich mich nach der Methode von Prof. M. Gruber. In den ausgepumpten und zugeschmolzenen Röhrechen traten in der Rollplatte schon nach 16 Stunden deutlich constatirbare Colonien auf.

Der Bacillus ist also facultativ anaërob.

## II. Chemisch-biologischer Theil.

Rohr-, Trauben- und Milhzucker, sowie Glycerin werden von dem Bacillus zersetzt. Nachstehend das Ergebniss der Vergärung von Rohrzuckerlösungen.

Um jede weitere organische Substanz auszuschliessen, setzte ich eine Nährlösung zusammen, die ausser dem zu vergärenden Theile nur anorganische Salze enthielt. Folgende Zusammensetzung nach Fitz's Angabe (Berl. Ber. 1882, S. 867) erwies sich als vortheilhaft: Im Liter destillirten Wassers 30 g Rohrzucker, 10 g Salmiak, 1.00 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 0.20 g  $\text{MgSO}_4 + 7\text{KO}$ , 15—20 g  $\text{CaCO}_3$ . Reaction alkalisch. Die mit dem Gemisch beschickten Kolben wurden an drei aufeinanderfolgenden Tagen durch je eine Stunde in strömendem Wasserdampfe sterilisirt, dann noch durch 2—3 Tage bezüglich ihres Sterilbleibens beobachtet. Um Wiederholungen zu vermeiden sei erwähnt, dass bei allen Arbeiten genau nach den Regeln der bacteriologischen Technik vorgegangen wurde; ebenso wurden nach Beendigung des Versuches Platten gegossen, um die Reinheit der Cultur zu prüfen.

Verwendet wurden Kolben mit 2 l Inhalt, die durch 12 bis 14 Tage im Thermostaten bei 36°, dem Gähroptimum, gehalten wurden. Geimpft wurden die Kolben mit einer 3 Tage alten

Bouilloncultur (10  $cm^3$ ). Meist nach 24—36 Stunden konnte Gasentwicklung beobachtet werden, die am vierten bis fünften Tage ihr Maximum erreichte, um nach weiteren 7—8 Tagen allmählig zu schwinden. Öfteres Mischen des Kolbeninhaltes war von wesentlicher Bedeutung für den Fortgang der Gährung.

Nach vollendeter Gährung schwamm das Calciumcarbonat, soweit es nicht in Lösung gegangen war, als lockere Decke auf der Oberfläche des diffus getrübbten Kolbeninhaltes, reichlich durchsetzt von bacillären Wucherungen. Um mich über die gebildeten Gase zu orientiren, fing ich dieselben bei separat zu diesem Behufe angestellten Versuchen nach Pasteur's Vorgang (erwähnt von Hueppe in „Mittheilungen aus dem Berliner Gesundheitsamte, Bd. II) auf, wobei die obige Nährlösung ohne Kalkzusatz verwendet wurde. Hiebei wurde immer ein von Kalilauge absorbirbares Gas beobachtet, das aus Kalkwasser kohlensauren Kalk fällt, also Kohlensäure war, sowie ein farb- und geruchloses, mit schwach leuchtender Flamme brennendes Gas (Wasserstoff oder Sumpfgas), das nicht näher analysirt wurde.

Nach 14 Tagen wurden die früher erwähnten Kolben aus dem Thermostaten genommen und über freiem Feuer erhitzt. Die Reaction des Kolbeninhaltes war vor dem Erhitzen immer stark sauer. Bei der Destillation ging constant zuerst eine geringe Menge kleiner, leicht beweglicher Tröpfchen über, die weiter gereinigt sich als Äthylalkohol erwiesen. (Jodoformreaction mit Ammoniak, Geruch nach Essigäther beim Erhitzen mit Natriumacetat und concentrirter Schwefelsäure.)

Der Destillationsrückstand wurde auf dem Wasserbade eingengt und zur Krystallisation gebracht. Es krystallisirte ein Kalksalz in kleinen, zu Drusen verwachsenen Wäzchen, von dem ich aus 60  $g$  Rohrzucker durchschnittlich 50  $g$  erhielt.

Das Kalksalz wurde gesammelt, ausgepresst, neuerdings in Wasser gelöst und die trübe, gelb bis gelbbraunliche Lösung in der Wärme mit einer entsprechenden Menge von Oxalsäure versetzt. Der gefällte oxalsäure Kalk reisst allen bacillären Detritus vollständig zu Boden, so dass die über dem Niederschlage stehende Flüssigkeit vollkommen klar ist; sie wurde behufs Überführung in das Zinksalz mit Zinkcarbonat im Überschusse gekocht, filtrirt und zur Krystallisation gebracht.

Bei raschem Eindampfen bilden sich auf der Oberfläche Krystalldrüsen, wie sie Prof. K. B. Hofmann in seinem Lehrbuche der Zoochemie, S. 96, als paramilchsaures Zink abbildet. Wurde die Lösung nun zur Krystallisation hingestellt, so sammelt sich am Boden weiteres Zinksalz als weisses Krystallmehl an, das unter dem Mikroskope in Form isolirter, prismatischer Krystalle erscheint. Es wurde mehrmals aus warmem Wasser umkrystallisirt, am Filter gesammelt und gewaschen, bis das Waschwasser sich chlorfrei erwies.

Das Aussehen des Zinksalzes, seine Löslichkeit in Wasser, sein Verhalten gegen Alkohol stimmte vollkommen zu paramilchsaurem Zink, ebenso die Analyse, welche ergab:

		Gefunden		
$(C_3H_5O_3)_2 Zn + 2 H_2O$		I.	II.	III.
2H <sub>2</sub> O . . . . .	12·90%	12·95	12·62	—
Zn . . . . .	26·75	27·02	27·15	26·62. <sup>1</sup>

Zur Darstellung der freien Säure wurde das Zinksalz in heissem Wasser gelöst und die heisse Lösung mit Schwefelwasserstoff bis zur vollständigen Fällung des Zinks behandelt. Das Filtrat vom Schwefelzink wurde auf dem Wasserbade bei circa 60° eingeeengt.

Bei höheren Temperaturen verliert man viel Säure wegen ihrer Flüchtigkeit mit Wasserdämpfen. Die zurückbleibende freie Säure, eine dickliche Flüssigkeit, wurde mit Äther versetzt — es scheiden sich dabei Schwefel und etwas unzerlegtes Zinksalz ab — filtrirt und mit wenig Wasser über Schwefelsäure in luftverdünnten Raum gebracht, bis der Geruch nach Äther verschwunden war. Es hinterbleibt eine hellgelbe, schwer bewegliche, sauer reagirende Flüssigkeit, die in Alkohol, Äther und Wasser löslich ist.

Silbersalz. Aus der freien Säure und kohlensaurem Silber wurde in der Kälte das Silbersalz dargestellt. Die Umsetzung erfolgt im luftverdünnten Raume schon bei gewöhnlicher Temperatur, wenn auch langsam; in der Wärme tritt rasch Zersetzung

<sup>1</sup> Bei III. wurde die Einäscherung des Salzes im Platintiegel vorgenommen.

unter „Spiegelbildung“ ein. Das Silbersalz krystallisirt aus schwach saurer Lösung in bis zu 4 *cm* langen farblosen Säulen; es ist in Wasser leicht löslich und wird im diffusen Tageslicht bald gelb gefärbt.

Die Analyse des Salzes ergab:

	$C_2H_5O_3 \cdot Ag + \frac{1}{2}H_2O$	Gefunden	
H <sub>2</sub> O .....	4·37%	4·65	—
Ag .....	54·82	54·86	54·47
C .....	18·27	18·18	—
H .....	2·54	2·04	—

Das Kalksalz wurde aus der freien Säure durch Sättigen mit kohlensaurem Kalk in der Wärme erhalten; es krystallisirt aus der wässrigen Lösung in grossen, glänzend weissen Warzen, die aus concentrisch gruppirten feinen Nadeln bestehen. Beim Trocknen an der Luft verwittert es bald; der dichteste Theil der Warzen trocknet zu einer durchscheinenden, dem arabischen Gummi ähnlichen Masse ein, die beim Auflösen in Wasser bläulichen, seidenglänzenden Schimmer annimmt.

	$(C_3H_5O_3)_2Ca + 4\frac{1}{2}HO$	Gefunden	
		I.	II.
H <sub>2</sub> O .....	27·09%	26·73	—
Ca .....	18·35	18·31	18·39.

Wird eine kalt gesättigte Lösung des Kalksalzes mit einem gleichen Volum absoluten Alkohols versetzt, so gesteht bald die ganze Lösung zu einer krystallinischen Masse, die unter dem Mikroskop sich als aus feinsten verfilzten Nadeln bestehend erweist; namentlich fallen haarzopfähnliche Geflechte auf. Gährungsmilchsaurer Kalk, ähnlich behandelt, zeigt unter dem Mikroskope hauptsächlich die von Funke angegebenen Formen „zweier gegen einander gekehrter Besen ohne Stiel“.

Entsprechend der Zusammensetzung der Salze, ihrem Krystallwassergehalt und Verhalten gegenüber Lösungsmitteln, handelte es sich bei meiner Säure zweifellos um eine Modification der Milchsäure, und zwar glaubte ich Anfangs „Paramilchsäure“

vorliegend zu haben, bis mich das Verhalten der Säure, sowie ihrer Salze gegen polarisirtes Licht eines Anderen belehrte. Die Säure dreht nämlich die Polarisationssebene nicht nach rechts, wie Paramilchsäure, sondern nach links; ebenso umgekehrt wie bei Paramilchsäure drehen die in Wasser gelösten Salze nach rechts.

Das optische Drehungsvermögen der Säure. Die Drehung wurde mittelst eines Soleil-Ventzke'schen Apparates bestimmt, dessen Angaben mit jenen des Wild'schen Polari-strobometers verglichen waren; ein Theilstrich am Soleil entsprach  $0.35^\circ$ . Vor jeder Bestimmung wurde der Nullpunkt auf Farbgleichheit eingestellt; als Farbe wählte ich helles Rosa-roth. Die die Lösungen aufnehmende Glasröhre hatte eine Länge von 2 *dm*.

Bei Bestimmung des „spezifischen Drehungsvermögens“ hielt ich mich an die Angaben von Wislicenus (Annal. d. Ch. u. Ph., Bd. 167, S. 323 et sequ.), auf dessen Originalarbeit ich verweisen muss, um nicht zu weitläufig zu werden.

Die wie früher erwähnt dargestellte Säure drehte das polarisirte Licht nach links; als ich nach längerem Stehen derselben über Schwefelsäure die Drehung wiederholte, drehte sie zu meinem nicht gerade freudigen Erstaunen nicht mehr nach links, sondern nach rechts. Die Erklärung hiefür liegt in dem von Wislicenus, l. c. S. 310, bereits für Paramilchsäure festgestellten Vermögen schon bei gewöhnlicher Temperatur Esteranhydride zu bilden, „deren Gemisch in eminentem Grade die Eigenschaft besitzt, die Polarisationssebene nach links zu drehen“.

Dieser Anhydrisirungsprocess geht offenbar auch bei der neuen Säure vor sich; dass die Anhydrisirungsproducte in alkoholischer Lösung stark nach rechts drehen, lehrte mich ein Vorversuch. Um jeder Anhydrisirung auszuweichen, verwandte ich für die folgende Bestimmung eine Säure, die nach dem früher angegebenen Verfahren dargestellt war, aber ohne Ätherzusatz, also noch geringe Menge von Schwefel und Zinksalz enthielt. Für die Bestimmung der Drehung musste das ohne wesentlichen Einfluss bleiben, da der geringe Gehalt an unzerlegtem Zinksalz jedenfalls eine geringere entgegengesetzt drehende Energie besitzt, als eine Beimengung von Esteranhydriden.

	Gehalt eines Cubikcentimeters an $C_3H_5O_3$	$\alpha$ beobachtet für 0·1 u	$\alpha_1$
Neue Säure.....	0 648	—2·8°	—4·3°
Paramilchsäure. Wislic.	0·3284	+1·14	+3·46

Der Gehalt an Säure wurde durch Titiren mit  $\frac{1}{10}$  Normalnatronlauge bestimmt; Nachsäuerung trat nach längerer Zeit (12 Stunden) in geringem Grade ein.

Specifisches Drehungsvermögen der Salze. Die Lösungen der Salze in Wasser hatten während der Bestimmung des specifischen Gewichtes und der Drehungsgrösse eine Temperatur von 20—21° C. Die Lösungen wurden wie folgt bereitet und in Arbeit genommen.

$a_1$ . Heiss gesättigte Zinklösung nach 5 Stunden zur Bestimmung der Concentration, des specifischen Gewichtes, der Ablenkung verwendet. 4·1574 g filtrirter Lösung gaben 0·1806 ZnO, entsprechend 0·6221  $(C_3H_5O_3)_2Zn + 2H_2O$ .

$a_2$ . Zinksalz erhalten durch Kochen der bereits anhydrierten Säure mit ZnO. Die Mutterlauge der warm gesättigten Lösung wurde am folgenden Tage untersucht. 5·7244 g gaben 0·1982 ZnO, entsprechend 0·6827 krystallisirtem Salze.

$a_3$ . Nachdem  $a_1$  durch 5 Tage gestanden, wobei sich am Boden viele Krystalle abgesetzt hatten. Die filtrirte Mutterlauge, auf ihre Concentration untersucht, gab folgende Zahlen: 6·006 g hinterliessen nach dem Eindampfen und Verbrennen 0·094 ZnO, entsprechend 0·3238  $(C_3H_5O_3)_2Zn + 2H_2O$ .

$a_4$ . Heiss gesättigte Lösung reinen Zinksalzes war durch 8 Tage gestanden. 12·7836 g filtrirter Lösung gaben 0·211 ZnO, entsprechend 0·7268 wasserhältigem Salze.

Paramilchsaures Zn.<sup>1</sup> Heiss gesättigte Lösung nach 2 Tagen untersucht: 5·887 g gaben 0·1482 ZnO, entsprechend 0·5104 krystallisirtem Salze.

<sup>1</sup> Das betreffende Präparat stammt aus der chemischen Fabrik des Herrn Dr. Schuehardt. Nach zweimaligem Umkrystallisiren erhielt ich obige Zahlen. Das Salz analysirt gab  $H_2O$  12·72<sup>9</sup>/<sub>10</sub>, Zn 26·75.

In der folgenden Tabelle sind unter *2a W.*, *2c W.* die Werthe verzeichnet, welche Wislicenus l. c., S. 332, fand, dabei sind solche Lösungen angeführt, deren Bereitung und Beginn der Verarbeitung obigen möglichst entspricht.

Lösung	Speci- fisches Gewicht	1 cm <sup>3</sup> enthält krystalli- sirtes Salz	Ablenkung in 0·1 m langer Schicht	α <sub>1</sub> für wasser- hältiges Salz	Löslichkeit wasser- hältigen Salzes
α <sub>1</sub> .....	1·0743	0·1608	+0·87°	+5·4°	1:5·68
2 a W. ....	1·0642	0·1605	-1·2	-6·36	1:5·6
α <sub>2</sub> .....	1·0616	0·1266	+0·66	+5·2	1:7·38
Paramilchsaures Zink .....	1·0419	0·09033	-0·47	-5·2	1:10·53
α <sub>3</sub> .....	1·0326	0·0557	+0·35	+6·3	1:17·5
α <sub>4</sub> .....	1·0286	0·0585	+0·38	+6·5	1:16·59
2 c W. ....	1·029	0·0613	-0·45	-7·4	1:15·8

Wie aus der Tabelle hervorgeht, stimmen die Zahlen für die Löslichkeit mit den von Wislicenus beobachteten überein; die Werthe für α<sub>1</sub> differiren nicht unwesentlich; der Grund dieser Differenz ist mir derzeit unbekannt.

α<sub>2</sub> und die Zahlen für Paralactat, wie ich sie gefunden, stimmen wohl überein und zeigen, dass das Zinksalz der neuen Säure gerade so viel nach rechts ablenkt, als das andere nach links.

Kalksalz. α<sub>1</sub>. 4·7728 g einer übersättigten Lösung, aus der sich eben Krystalle abzuscheiden begannen, gaben 0·1012 CaO, entsprechend 0·5403 Ca(C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>O<sub>3</sub>)<sub>2</sub> + 4½H<sub>2</sub>O.

α<sub>2</sub>. 5·7258 g derselben Lösung nach sechs Tagen, nachdem sich eine Menge von Krystallen abgeschieden hatte, gaben 0·082 CaO, entsprechend 0·438 krystallisiertem Salz.

Lösung	Speci- fisches Gewicht	Ablenkung in 0·1 m langer Schicht	α <sub>1</sub> für krystallisiertes Salz	1 cm <sup>3</sup> enthält krystalli- sirtes Salz
α <sub>1</sub> .....	1·0408	+0·18°	+1·49°	0·1178
α <sub>2</sub> .....	1·0263	+0·18	+2·22	0·0789
Wislicenus, l. c. S. 333 .....	1·0213	-0·28	-3·87	0·0535

Die die Polarisationsene nach rechts drehende Energie beider Salze ist geringer in den übersättigten Lösungen, als in den normalen, wie bereits Wislicenus für das Zinkparalactat gefunden.

Die Lösungen rechts- und linksdrehenden Salzes haben für sich die Tendenz, einzelne Krystallindividuen zu bilden, im Gegensatze zum „Gährungsmilchsäuren“ Zink, bei dem die Tendenz zur Verwachsung der einzelnen Individuen und zur Krustenbildung vorwaltet.

Löst man gleiche Theile rechts- und linksdrehenden Zinksalzes in Wasser, erwärmt einige Zeit auf dem Wasserbade und bringt zur Krystallisation, so setzt sich kein Krystallmehl mehr ab, sondern der Boden bedeckt sich mit glasglänzenden Krusten, ein Tropfen der Lösung, unter dem Mikroskope verdunstet, zeigt sehr schön Verwachsung einzelner Individuen: es ergibt sich die hochinteressante Thatsache, dass aus einer solchen Lösung das Zinksalz der Gährungsmilchsäure herauskrystallisirt.

	$(C_3H_5O_3)_2 Zn + 3H_2O$	Gefunden
H <sub>2</sub> O . . . . .	18·18%	18·39
Zn . . . . .	26·75	26·69

Auf die Schwingungsebene des polarisirten Lichtes war diese Lösung ohne Einfluss.

Für das Zinksalz der „Gährungsmilchsäure“ ist somit bewiesen, dass es aus zwei entgegengesetzt optisch-activen Salzen besteht; der Rückschluss, dass diese Thatsache auch für die Gährungsmilchsäure gilt, dürfte wohl erlaubt sein, dass daher diese aus gleichen Theilen von Rechts- und

#### Linksmilchsäure

besteht, wie dies bei Trauben- und Mandelsäure festgestellt ist.

Äussere Gründe ermöglichen es mir derzeit nicht, manche Lücken der Arbeit zu ergänzen. Es wäre gewiss von Interesse, zu erfahren, ob direct aus dem rechtsdrehenden Rohrzucker die Linksmilchsäure gebildet wird oder ob ein Zwischenglied auftritt; vielleicht wäre ein Anhaltspunkt gegeben in der „schleimigen

Gährung“, die, wie früher erwähnt, manchmal eintritt. Der Versuch, durch den Spaltpilz aus gährungsmilchsaurem Kalk links-milchsauren Kalk zu gewinnen, fiel negativ aus, wenn an Stelle des Zuckers in der früher geschilderten Nährlösung Calciumlactat gesetzt wurde; möglich, dass bei geänderter Versuchsbedingung das Resultat positiv wird.

Der chemische Theil der Arbeit wurde im chemischen Laboratorium des k. und k. Militärsanitätscomités ausgeführt.

---