

## Fortschritte in der Chemie der Gärungsgewerbe in den letzten drei Jahren.

Von OTTO MOHR.

Wenn man früher unter Gärungsgewerben diejenigen Gewerbe zu verstehen hatte, welche sich der Tätigkeit von Mikroorganismen bedienen, um chemische Umsetzungen irgend welcher Art zu bewirken, so hat diese Erklärung im Laufe der letzten Jahre eine Abänderung dahin erfahren müssen, daß das Wesentliche für den Charakter des Gärungsgewerbes die industrielle Ausnutzung von Enzymwirkungen ist, und wenn auch heute noch die Mikroorganismen in den Gärungsgewerben die allergrößte Rolle spielen, so liegt das nur daran, weil uns zurzeit noch keine besseren, zweckentsprechenderen und vor allem billigeren Enzymquellen für eine Anzahl chemischer Umsetzungen zu Gebote stehen. Es liegt daher auf der Hand, daß in einem Bericht über Fortschritte in der Gärungchemie unter diesen Umständen die Fortschritte in der Enzymchemie besondere Berücksichtigung finden müssen. Daher zunächst zu diesen. Besonders bedeutungsvoll für die Fortschritte auf diesem Gebiet erscheinen zahlreiche Arbeiten, die sich mit der Aufklärung der eigentümlichen Wirkungsweise der Enzyme befassen. Mit den leeren Redensarten von „molekularen Schwingungen“, welche chemische Reaktionen auszulösen vermögen, war natürlich gar nichts erklärt, man schadete nur der Forschung, denn Hypothesen, die nicht die geringste Aussicht einer möglichen experimentellen Bestätigung bieten, müssen den Forscher abschrecken anstatt anregen. So sehen wir denn auch erst mit dem weiteren Umschreiten der Ansicht, daß zwischen Enzymwirkungen und katalytischen Wirkungen einfacher anorganischer und organischer Stoffe weitgehende Analogien bestehen, eine Ansicht, die wohl zuerst von Berzelius ausgesprochen worden ist, eine schöne Reihe Arbeiten erscheinen, die sich zwar meist nicht mit dem zurzeit wohl ziemlich aussichtslosen Problem des Chemismus der Enzymwirkung befassen, sondern mit dem aussichtsreicheren, aber immerhin aus mannigfachen Gründen recht schwierigen Problem der Kinetik dieser enzymatischen Vorgänge. Einen Versuch, in den Chemismus der Enzymwirkung einzudringen, bedeutet eine Arbeit Hanriots<sup>1)</sup>, welcher der Meinung ist, daß die Fett spaltende Wirkung der Blutlipase dadurch zustande kommt, daß das Enzym aus dem Fett etwas Fettsäure abspalte, um damit eine Verbindung

einzuheften, die aber sehr leicht wieder zerfällt. Als Stütze seiner Ansicht sieht er den Umstand an, daß Zusatz von Fettsäuren die lipolytische Tätigkeit stört, während Glycerin ohne Nachteil ist, daß aber die schädigende Säurewirkung nach erfolgter Neutralisierung wieder verschwindet. Für die Richtigkeit dieser Ansicht spricht weiter die Erscheinung, daß Oxyde von Metallen, deren Salze stark zur Hydrolyse neigen, wie Eisen, Aluminium, Zirkon, ebenfalls schwach lipolytische Eigenschaften besitzen.

Von Arbeiten, die sich mit der Kinetik der Enzymwirkung befassen, sind vor allem einige zu erwähnen, die über die enzymatische Rohrzuckerinversion handeln. So hat Henri<sup>2)</sup> gezeigt, daß, entgegen früheren Befunden für die Inversion durch Hefeninvertase nicht das einfache logarithmische Zeitgesetz gilt wie für die Säureinversion. Während für letztere die Reaktionsgeschwindigkeit  $\varphi = k(a - x)$  ist, ist bei der Enzyminversion  $k$  zu ersetzen durch

den Ausdruck  $\left[ k_1 \left( 1 + \frac{x}{a} \right) \right]$ , in welchem  $a$  die

Anfangskonzentration des Rohrzuckers,  $x$  die zur Zeit  $t$  bereits invertierte Menge bedeutet. Die Reaktionsgeschwindigkeit ist daher:

$$\varphi = \left[ k_1 \left( 1 + \frac{x}{a} \right) \right] (a - x),$$

d. h. der gebildete Invertzucker übt auf den weiteren Inversionsverlauf eine beschleunigende Wirkung aus. Dasselbe Thema ist von A. J. Brown<sup>3)</sup> experimentell bearbeitet worden, der die schon früher gemachte Beobachtung bestätigte, daß bei Ausschaltung störender Anhäufung von Inversionsprodukten sich die Inversionskurve einer Geraden sehr nähert. Er ist geneigt, diese Abweichung vom Massenwirkungsgesetz so zu erklären, daß die Zeit noch als Faktor in die Gleichung einzusetzen sei, daß während der Inversion vielleicht die Invertase mit dem Rohrzucker eine komplexe Verbindung eingehe, deren Zerfall eine endliche Zeitspanne beansprucht. H. T. Brown und T. A. Glendinning<sup>4)</sup> haben die Stärkehydrolyse durch Diastase kinetisch studiert, auch sie finden, daß der Reaktionsverlauf nicht der einfachen logarithmischen Formel einer monomolekularen Reaktion gehorcht, sondern daß auch hier ein Ansteigen des Geschwindigkeitskoeffizienten stattfindet, daß aber der Verlauf sich gut durch die oben gegebene Henri'sche Formel ausdrücken läßt. Beide Forscher machen auf die eigentümliche Erscheinung

<sup>1)</sup> Z. physik. Chem. 39, 194.

<sup>2)</sup> Proceedings Chem. Soc. 18, 41.

<sup>3)</sup> Proceed. Chem. Soc. 18, 43.

<sup>4)</sup> C. r. d. l'acad. d. scienc. 132, 146, 212, 842.

aufmerksam, daß bis zu einer Hydrolyse von 30—40% die Umwandlungskurve annähernd eine Gerade ist, später aber eine logarithmische Kurve wird, diese Beobachtung ist nicht neu, im gewissen Sinne basiert auf ihr das Kjeldahlsche Proportionalitätsgesetz über Diastasewirkung, und weiter hat Mohr<sup>5)</sup> gezeigt, daß bis zu diesem Punkt die Hydrolyse der Stärke ganz besonders leicht verläuft. Eine Arbeit von Aberson<sup>6)</sup> beschäftigt sich mit der Kinetik der Gärung, auch hier ist ein starkes Ansteigen der für monomolekulare Reaktion berechneten Konstanten zu beobachten.

In gewisser logischer Beziehung zu diesen Arbeiten steht eine große Zahl teilweise recht erfolgreicher Arbeiten über Reversionserscheinungen bei Enzymen. Ist die Enzymwirkung tatsächlich nichts anderes als eine Katalyse, so liegt schon in dieser Tatsache die Notwendigkeit synthetischer Fähigkeiten der Enzyme, allerdings nur unter der Voraussetzung, daß die spaltende Tätigkeit des betreffenden Enzyms keine vollständige ist, sondern zwischen Spaltungsprodukten und gespaltenem Körper ein Gleichgewichtszustand existiert. Ein solcher Fall würde realisiert sein bei einer Ester-spaltung, da sich hier ein solcher Zustand einstellt zwischen Alkohol, Ester und freier Säure. Tatsächlich konnten Kastle und Loewenhart<sup>7)</sup> zeigen, daß aus tierischen Organen gewonnene Lipase, deren hydrolyzierende Wirkung sich auszeichnet an der Spaltung von Äthylbutyrat quantitativ verfolgen läßt, mit ziemlicher Geschwindigkeit in einer wässrigen Lösung von Buttersäure und Alkohol den Ester zu synthetisieren vermag, Beobachtungen, die Mohr<sup>8)</sup> bestätigen und ergänzen konnte. So großes Interesse diese Arbeiten vom rein wissenschaftlichen Standpunkt aus haben, so liegen doch die Hauptinteressen des Gärungchemikers auf anderen Reversionsgebieten. Ihn interessieren besonders die Kohlehydratreversionen, treten ihm doch in seinem Beruf auf Schritt und Tritt Spaltungen komplizierterer Kohlehydrate in einfachere und Wiederaufbau komplizierterer Moleküle aus den einfachen Bruchstücken entgegen, so beispielsweise in der Mälzerei, wo, wie Grüß<sup>9)</sup> zeigte, beim Darren der auf der Tenne gebildete Zucker teilweise wieder zurückschlägt in Stärke. Derselbe Forscher<sup>10)</sup> hat noch weiter gezeigt, daß sich im Endosperm des keimenden Gerstenkorns unter dem Ein-

fluß der Diastase Maltose bildet, die nun aber nicht als solche in das Schildchen übertritt, sondern sich in Rohrzucker verwandelt, der dann zum Keimling wandert, eine Erscheinung, die nicht wohl anders zu erklären ist, als daß die Maltose eine weitere Spaltung erfährt, und daß der Rohrzucker dann ein Produkt synthetischer Tätigkeit ist. Leider sind nun die Aussichten, eine Kohlehydrat-spaltung ebenso glatt umzukehren wie die Esterspaltung, recht geringe, auch wenn, wie z. B. die Diastasespaltung, solche Spaltungen nur teilweise sind, wenn sie scheinbar bei Erreichen eines Gleichgewichtszustandes Halt machen. Wenn die Diastase unter sonst günstigen Versuchsbedingungen Halt macht mit ihrer Tätigkeit, sobald die verzuckerte Lösung aus rund 80 Teilen Maltose und 20 Teilen Dextrinen besteht, so ist es nicht wahrscheinlich, daß sie in einer reinen Maltoselösung rund 20% Maltose zu Dextrinen kondensieren wird, weil jenes Verhältnis Maltose : Dextrin wahrscheinlich gar kein echtes Gleichgewicht ist, sondern weil vielleicht die Arbeit der Diastase nur dadurch unterbrochen wird, daß sie selbst in einer solchen Lösung Veränderungen chemischer oder physikalischer Natur erfährt, eine Möglichkeit, auf die u. a. auch Bredig<sup>11)</sup> hinweist. So ist denn auch mit einer einzigen Ausnahme kein Fall bekannt, in dem es gelungen wäre, eine glatte Kohlehydratreversion zu erzielen, d. h. durch synthetische Tätigkeit eines Enzyms wieder zu demselben Kohlehydrat zu gelangen, dessen Spaltung für das betreffende Enzym charakteristisch ist. Die Ausnahme betrifft eine Angabe von Cremer<sup>12)</sup>, der beobachtete, daß aus glykogenhaltigem Hefepreßsaft beim Stehen das Glykogen zunächst verschwindet, nach 12—24 stündigem Stehen des Preßsaftes aber wieder auftreten kann. Alle anderen Zuckerreversionsversuche haben im günstigsten Fall andere Kohlehydrate als Reversionsprodukte ergeben, als nach den Spaltungsfähigkeiten des betreffenden Enzyms zu erwarten gewesen wären. So hatte zwar Hill<sup>13)</sup> über Versuche mit Hefemaltose berichtet, bei denen er aus Glukose Maltose synthetisiert haben wollte, allein Emmerling<sup>14)</sup>, der diese Versuche wiederholte, sprach das Reversionsprodukt für Isomaltose an, und als Hill<sup>15)</sup> seine Versuche selbst nachprüfte und erweiterte, stellte er fest, daß zwei Biosen sich bildeten, von denen die in größter Menge

<sup>5)</sup> Ber. d. d. chem. Ges. **35**, 1026.

<sup>6)</sup> Rec. trav. chim. Pays-Bas **22**, 78.

<sup>7)</sup> Amer. chem. Journ. **24**, 491.

<sup>8)</sup> Wochenschrift für Brauerei **19**, 588.

<sup>9)</sup> ibid. **16**, 624.

<sup>10)</sup> ibid. **16**, 409.

<sup>11)</sup> Ergebnisse der Physiologie, I. Abt. 1902.

196.

<sup>12)</sup> Ber. d. d. chem. Ges. **32**, 2062.

<sup>13)</sup> Journ. Chem. Soc. London **73**, 634.

<sup>14)</sup> Ber. d. d. chem. Ges. **34**, 600.

<sup>15)</sup> Journ. Chem. Soc. London 1903. 578.

vorhandene ein neues Kohlehydrat darstellt, das er mit dem Namen Revertose belegt, und daß es noch zweifelhaft ist, ob der kleine Biosenrest Maltose oder etwas anderes ist. Daß Hill bei seinen Versuchen auch eine revertierende Kraft von Diastase, Malzdiastase Takadiastase und Pankreasenzym feststellte, sei nur nebenbei erwähnt. Analoge Erfahrungen machten Fischer und Armstrong<sup>16)</sup>, als sie die milchzuckerspaltende Laktase auf ein Gemisch von Glukose und Galaktose wirken ließen, das Reversionsprodukt war nicht Milchzucker, sondern ein diesem isomeres Kohlehydrat, die Isolaktose.

Wenden wir uns nun nach diesen allgemeinen Bemerkungen über Enzyme und ihre Wirkungen zu den einzelnen für die Gärungsgewerbe bedeutsamen Enzymen, so steht hier der Nachweis von Enzymen im Vordergrund des Interesses, welche die Milchsäure- und Essigsäuregärung bewirken. Wieder war es Buchner<sup>17)</sup> und einer seiner Schüler, Meisenheimer, denen der Nachweis glückte, daß auch Milchsäure- und Essigsäurebildung nicht an das Vorhandensein lebender Zellen gebunden sei. Der Nachweis der enzymatischen Milchsäurebildung wurde in der Weise geführt, daß Milchsäurebakterien (*Bacillus Delbrücki*, Leichmann) reingezüchtet, durch Zentrifugieren von der Nährflüssigkeit getrennt, mittels Aceton in Dauerform (siehe weiter unten unter Hefe) übergeführt, und dann mit Quarzsand zerrieben wurden. Wurde so vorbereitetes Material unter antiseptischen Vorsichtsmaßregeln in Rohrzuckerlösung eingesetzt, so fand bei Zusatz von Calciumcarbonat behufs Abstumpfung der entstehenden Säure eine ganz deutliche Milchsäurespaltung des Zuckers statt, die Säure konnte in Form ihres Zinksalzes einwandsfrei identifiziert und analysiert werden. Ganz analog verlief die enzymatische Essigsäuregärung, nur mußte hier natürlich durch die alkoholische Gärung Luft geleitet werden, die Identifizierung der gebildeten Essigsäure erfolgte durch Überführung derselben in ihr Silbersalz. Bemerkenswert ist allerdings, daß die erhaltenen Mengen Säure recht geringe waren, aus 6,5 g Dauermilchsäurebakterien 1,1 g Milchsäure und aus 8,7 g Daueressigsäurebakterien 0,4 g Essigsäure. Vielleicht haben diese Verhältnisse dieselbe Ursache, wie die ebenfalls verhältnismäßig eng begrenzte Gärkraft von Hefepreßsaft, es ist recht wohl möglich, daß diejenigen Enzyme, deren Aufgaben weniger einfacher Art sind als Hydrolysen, in ihrem Bau wesentlich kompli-

ziert und, was ihre Haltbarkeit anlangt, wesentlich labiler Natur sind, wie die übrigen Enzyme, so daß das rasche Zurückgehen in ihren Wirkungen auch anderen Ursachen als nur dem zerstörenden Einfluß proteolytischer Enzyme zugeschrieben werden kann. Ungefähr gleichzeitig mit Buchner und Meisenheimer veröffentlichte Herzog<sup>18)</sup> Versuche, die ebenfalls die Loslösung der Milchsäuregärung von der lebenden Zelle zum Gegenstand hatten. Er hatte das *Bacterium acidi lactici* (Hüppé) reingezüchtet, die lebenden Zellen durch eiskalten Methanol abgetötet und ein Äther-Dauerpräparat hergestellt, das in Milchzuckerlösung langsam Milchsäure bildete, deren Nachweis auf mikrochemischem Wege als Kobalto-Baryumlaktat gelang.

Nächst diesen Versuchen, die den Verlust der letzten Stützpunkte rein vitalistischer Auffassung von Gärungsvorgängen bedeuten, beansprucht das Gärenzym par excellence, die Zymase noch immer hervorragendes Interesse. Noch sieht sich Buchner<sup>19)</sup> genötigt, die namentlich von englischer Seite gestützte „Protoplasma-Splittertheorie“ als unbegründet und unbewiesen zurückzuweisen, es gelingt ihm, aus Hefe, die durch Erhitzen bis schließlich 110° unzweifelhaft abgetötet ist, gärkräftigen Preßsaft darzustellen, seinen Mitarbeitern R. und W. Albert<sup>20)</sup> gelingt es, die lebenden Hefezellen durch Behandlung mit Alkohol und Äther abzutöten, ohne daß die Enzyme geschädigt werden, so daß eine gärkräftige Dauerhefe erhalten wird. Das Verfahren zur Herstellung von Dauerhefe erfährt schließlich noch durch Albert, Buchner und Rapp<sup>21)</sup> eine Abänderung dahin, daß der Dauerzustand durch Acetonbehandlung erreicht wird.

Von weiteren wichtigen Versuchen, die mit Hefepreßsaft angestellt wurden, seien nur einige wenige erwähnt. Von besonderem Interesse ist der Nachweis, daß auch bei der zellenfreien Gärung die Hauptprodukte der Zellengärung entstehen, also neben Alkohol und Kohlensäure Glycerin und Bernsteinsäure. Auch diesen Nachweis haben Buchner und Rapp<sup>22)</sup> erbracht, die erhaltenen Mengen entsprechen ungefähr den Minima, die bei normaler Gärung beobachtet werden, 0,5% Glycerin und 0,3% Bernsteinsäure, auf vergorenen Zucker berechnet. Ob auch die Entstehung dieser Verbindungen auf en-

<sup>18)</sup> Z. f. physiolog. Chemie 37, 381.

<sup>19)</sup> Ber. d. d. chem. Ges. 33, 3307, 3311.

<sup>20)</sup> Zentralbl. f. Bakter. und Parasitenk. II, 7, 737.

<sup>21)</sup> Ber. d. d. chem. Ges. 35, 2376.

<sup>22)</sup> " " " " 34, 1523.

<sup>16)</sup> Ber. d. d. chem. Ges. 35, 3144.

<sup>17)</sup> Ber. d. d. chem. Ges. 36, 634.

zymatische Vorgänge zurückzuführen ist, ist noch nicht sichergestellt, sehr wohl möglich ist es beim Glycerin, hat doch Laxa<sup>23)</sup> eine Lipase in der Hefe nachgewiesen.

Harden<sup>24)</sup> bringt noch einen weiteren Beweis, daß die schnelle Abnahme der Gärkraft des Preßsaftes wenigstens zum großen Teile auf die zerstörende Wirkung des Endotrypsins, des proteolytischen Hefenenzymes, zurückzuführen ist, ein Zusatz von Blutserum zum Preßsaft übt eine starke Schutzwirkung für die Zymase aus, so daß namentlich bei Zusatz von Pferdeblutserum eine starke Steigerung der Gärkraft eintritt.

Nachdem einmal dieser Antagonismus zwischen der Zymase und dem Hefenendotrypsin erkannt war, konnte die Übertragung dieser Forschungsergebnisse auf die Praxis nicht lange auf sich warten lassen. In dieser Beziehung ist vor allem auf Arbeiten von Delbrück und dessen Mitarbeitern zu verweisen. Zunächst studierten Lange und Haymann<sup>25)</sup> den Einfluß der Lagerungstemperatur der Hefe auf den Zymasegehalt, letzteren gemessen an der Gärkraft. Es zeigte sich, daß kalte Lagerung die Zymaseerhaltung und -bildung unterstützt, warme Lagerung dagegen mit einer starken Wirkungssteigerung des Endotrypsins und Zerstörung der Gärkraft verbunden ist. Weiter aber zeigte sich bei Untersuchung der Hefe in verschiedenen Wachstumsstadien auf Zymasegehalt, daß das Maximum der Gärkraft nicht nach vollenendetem Wachstum, sondern während der lebhaftesten Sproßtätigkeit der Hefe erreicht wird. Buchner und Spitta<sup>26)</sup> erklärten die Prüfung des Zymasegehaltes durch Gärkraftbestimmung mit der lebenden Hefe nicht für einwandfrei, weil während der Versuchsdauer immerhin wieder erhebliche Änderungen in dem Zymasegehalt eintreten könnten, sie führten daher Hefe in verschiedenen Entwicklungsstadien in Dauerhefe über und prüften deren Gärkraft. Im allgemeinen konnten sie die Beobachtungen Delbrück's und seiner Mitarbeiter bestätigen. Der Umstand, daß im Stadium intensivster Gärätigkeit nur wenig Zymase in der Hefe gefunden wird, ist so zu erklären, daß mit einer reichlichen Zymasebildung eine rasche Zerstörung derselben Hand in Hand ging; wurde die Hefe vor der Überführung in die Dauerform erst 2—3  $\frac{1}{2}$  Stunden kaltgelagert, so war eine erhebliche Steigerung der Gärkraft zu beobachten. Von erheblicher Bedeutung ist,

wie Lange<sup>27)</sup> betont, der Gehalt der Hefen an Endotrypsin für den Charakter der Hefen, endotrypsinreiche Hefen haben Staubcharakter, weil das Enzym vermutlich den agglutinierenden Schleim löst, endotrypsinarme Hefen neigen zur Flockenbildung, sind Bruchhefen. Entsprechend der Endotrypsinzunahme beim Warmlagern gehen bei dieser Behandlung Bruchhefen in Staubhefen über.

Nach Veröffentlichungen von Stoklasa und Czerny<sup>28)</sup> scheint das Vorkommen der Zymase keineswegs auf die Hefe oder andere Alkoholpilze beschränkt zu sein, vielmehr scheint dieses Enzym ganz allgemein im Tier- und Pflanzenreich verbreitet zu sein und die sogen. intramolekulare Atmung zu erregen, die, wie auch bereits Pfeffer angenommen hatte, keinen Ausnahmezustand bildet, sondern die erste Phase der normalen Atmung darstellt. Verf. haben Zuckerrüben, Kartoffeln, Erbsensamen und -pflänzchen in Wasserstoffatmosphäre und in Gegenwart von Antiseptika der Selbstgärung überlassen, dann zerkleinert und Preßsaft gewonnen, aus dem sie mit Alkohol gärkräftige Niederschläge fällen konnten. Denselben Erfolg hatte die analoge Behandlung von tierischem Fleisch und Organen.

Um noch kurz auf die sehr energische Wirkung des Hefenendotrypsins zurückzukommen, mag noch erwähnt werden, daß die zerstörende Wirkung dieses Enzyms sich nicht nur auf die Zymase beschränkt, sondern daß ihr schließlich der ganze Hefeaorganismus zum Opfer fällt, die Hefe verflüssigt sich, es tritt Autolyse ein. Die Isolierung der dabei auftretenden Spaltungsprodukte hat eine Arbeit von Kutscher<sup>29)</sup> zum Gegenstand, außer den bereits von Schützenberger aufgefundenen Tyrosin, Leucin und Alloxurbasen findet Kutscher noch Ammoniak, Asparaginsäure, Histidin, Arginin, Lysin und eine Substanz der Formel  $C_8H_6N_4O_4$ . Im weiteren Verlauf dieser Untersuchungen findet er in Gemeinschaft mit Lohmann<sup>30)</sup> unter diesen Stoffen noch Cholin, das wahrscheinlich von der Zersetzung von Lecithin herrührt. Auch industrielle Verwertung haben diese energisch verdauenden Kräfte des Endotrypsins gefunden, indem man die Hefe der beginnenden Selbstverdauung überläßt, die Zellhüllen von der Flüssigkeit trennt und diese letztere auf Fleischextraktionskonsistenz bringt. Derartige sogenannte Pflanzenfleischextrakte sind in größerer Zahl

<sup>23)</sup> Arch. Hyg. 41, 119.

<sup>24)</sup> Ber. d. d. chem. Ges. 36, 715.

<sup>25)</sup> Jahrbuch der Versuchs- und Lehranstalt f. Brauerei, Berlin 1901, 16.

<sup>26)</sup> Ber. d. d. chem. Ges. 35, 1703.

<sup>27)</sup> Jahrbuch d. Versuchs- und Lehranstalt f. Brauerei, Berlin 1902, 11.

<sup>28)</sup> Ber. d. d. chem. Ges. 36, 622.

<sup>29)</sup> Z. f. physiol. Chemie 32, 59.

<sup>30)</sup> " " " 39, 313.

unter verschiedenen Namen, wie Ovos, Siris, Sitogen, Wuk, auf dem Markte erschienen und stellen einen billigen, wohlschmeckenden Ersatz des echten Fleischextraktes dar.

Viel weniger energisch und augenfällig wie die des Endotrypsins sind die Wirkungen eines proteolytischen Enzyms im Malz, dessen Anwesenheit zuerst von Windisch und Schellhorn<sup>31)</sup> einwandfrei festgestellt wurde, und welches wegen seiner Fähigkeit, auch in alkalischer Lösung zu arbeiten, von Windisch und Schellhorn als ein tryptisches Enzym angesprochen wurde. Lintner<sup>32)</sup> konnte das Enzym aus konzentrierten Kaltwasserauszügen aus Grün- oder Luftmalz mittels Ammoniumsulfat in Gemenge mit Diastase und wohl weiteren Eiweißstoffen aussalzen; weil er keine weitgehenden Spaltungsprodukte des Enzyms finden konnte, trägt er Bedenken, es zu den tryptischen Enzymen zu rechnen. Eine große Rolle beim Maischprozeß glaubt er dem Enzym nicht zuweisen zu dürfen. Mit demselben Thema beschäftigt sich eine ziemlich ausführliche Arbeit von Weiß<sup>33)</sup>, der zu dem Schluß kommt, daß mindestens zwei proteolytische Enzyme sich im Malz finden, deren eines peptischer, deren anderer tryptischer Natur sei.

Von Arbeiten, welche die Diastase und ihre Wirkung betreffen, seien nur einige wenige erwähnt. Barth<sup>34)</sup> hat die Beziehungen zwischen Stickstoffgehalt und Wirksamkeit der Diastasepräparate untersucht und dabei gefunden, daß letztere mit dem Stickstoffgehalt ansteigt, ein Befund, der nach früheren Arbeiten von Osborne und Wroblewski ziemlich selbstverständlich ist, da der Stickstoffgehalt der von genannten Forschern dargestellten reinsten Diastasen 16% überschritt, während die Handelsmarken einen solchen von 2,65—13,09% aufwiesen. Eine Arbeit von Mohr<sup>35)</sup> beschäftigt sich mit dem eigentlich begünstigenden Einfluß der Kohlensäure auf die Diastasewirkung, bei Gegenwart nur sehr kleiner Diastasemengen wurden die meisten der untersuchten Stärkesorten, falls Kohlensäure abwesend war, nur spurenweise verzuckert, Gegenwart von Kohlensäure hatte regelmäßig eine Maltosebildung im Betrag von rund 30% der Stärketrockensubstanz zur Folge. Im Gegensatz zu der noch ziemlich allgemein geteilten Meinung, daß das Stärkehydrolyserungsvermögen der Diastase nur bis zur Bildung eines Ver-

zuckerungsgemisches von 80% Maltose und 20% Dextrin gehe, behauptet Ling<sup>36)</sup>, daß Diastase aus gut ausgekeimtem und niedrig abgedarterm Malz bei 50—60° eine fast vollständige Hydrolyse des Stärkekleisters zu Maltose bewirke. Lintner und Sollied<sup>37)</sup> geben eine Methode zur Bestimmung des Stärkeverflüssigungsvermögens von Diastase, resp. von wässerigen Malzsausfällen an. Die Methode besteht darin, daß Stärkekleister mit wachsenden Mengen Diastaselösung versetzt wird, und man feststellt, welche Menge Lösung gerade notwendig ist, um 10 ccm 10 Prozent Stärkekleister innerhalb von 15 Minuten zu verflüssigen.

Die letzte Arbeit des 1901 verstorbenen bekannten englischen Gärungchemikers Morris<sup>38)</sup> behandelt das Zusammenwirken von Diastase und Hefe auf unverkleisterte Stärke. Bei einer derartigen Zusammenarbeit zeigt die Diastase ein sehr stark gesteigertes Verzuckerungsvermögen, allerdings nur Stärkekleister gegenüber, das bereits im unverkleisterten Zustand für Diastase angreifbar ist, wie Gersten- oder Malzstärke, nicht aber Kartoffelstärke.

Über den breiten Raum, den die Gärungchemie von heute der Enzymchemie einräumen muß, darf sie aber doch nicht die Enzymlieferanten vergessen, die organisierten Lebewesen oder Teile solcher aus Tier- und Pflanzenwelt, und so würde denn des weiteren über Arbeiten auf diesem Gebiete zu berichten sein, wobei gleich von vornherein bemerkt werden mag, daß ein Teil dieser Arbeiten ebensogut unter den Enzymarbeiten hätte aufgeführt werden können. Beginnen wir mit Arbeiten über Hefe. Unsere Kenntnisse über die Zusammensetzung der Hefe werden bereichert durch eine Arbeit von Hinsberg und Roos<sup>39)</sup> und von Sedlmayr<sup>40)</sup>. Die erstgenannte Arbeit behandelt vor allem eingehend die Fettsäuren und das oder wahrscheinlich die zwei Cholesterine aus der Hefe, die letztere Arbeit besonders das ziemlich reichlich vorhandene Lecithin, das als Dipalmitincolinlecithin erkannt wird. Harden und Young<sup>41)</sup> haben das Hefenglykogen einer näheren Untersuchung unterzogen, in Elementarzusammensetzung mit dem Austern- und Kaninchenleberglykogen übereinstimmend, unterschied es sich von diesen durch etwas höhere spezifische Drehung. In einer sehr

<sup>31)</sup> Wochenschr. f. Brauer 17, 411.

<sup>32)</sup> Zeitschrift f. ges. Brauwesen 25, 335.

<sup>33)</sup> Dissert. Kopenhagen 1902, Z. f. d. gesamte Brauwesen 26, 301 und folg.

<sup>34)</sup> Z. f. angew. Chemie 14, 368.

<sup>35)</sup> Wochenschr. f. Brauerei 19, 94.

<sup>36)</sup> Journ. of the feder. Instit. of Brewing 8, 475.

<sup>37)</sup> Z. f. ges. Brauwesen 26, 329.

<sup>38)</sup> Transact. of the Chem. Soc. 1901, 1086.

<sup>39)</sup> Z. f. physiol. Chem. 38, 1.

<sup>40)</sup> Z. f. d. ges. Brauwesen 26, 381.

<sup>41)</sup> Journ. of the Chem. Soc. London 81, 1224.

ausführlichen Arbeit studiert Henneberg<sup>42)</sup> das Vorkommen und die Bildung von Glykogen in verschiedenen Hefen. Dabei macht H. die interessante Beobachtung, daß dem *Saccharomyces apiculatus*, eine Hefe ohne diastatische Enzyme, nur ein außerordentlich geringes Glykogenbildungsvermögen zukommt. Delbrück<sup>43)</sup> hatte eine dahingehende Vermutung von vornherein ausgesprochen, da diese Hefe, eben infolge mangelnder Kohlehydratenzyme, einmal gebildetes Glykogen kaum weiter zu verwenden imstande sein dürfte. Eine jodometrische Methode zur quantitativen Glykogenbestimmung in Hefe gibt Grüß<sup>44)</sup> an.

Thomas<sup>45)</sup> führt den Nachweis, daß das Ameisensäurebildungsvermögen der Hefe — Ameisensäure als Gärungsnebenprodukt ist schon lange bekannt — ganz erheblich gesteigert werden kann bei Züchtung der Hefen auf der Oberfläche von Zuckerlösungen und Darreichung von bestimmter Stickstoffnahrung, z. B. Ammoniumkarbonat, Acetamid usw.

Rosenstiehl<sup>46)</sup> hat beobachtet, daß unter Umständen die Hefe in Apfelmus und in Rotwein ihre Gärkraft verlieren kann, ohne jedoch ihre Vermehrungsfähigkeit einzubüßen. Als Ursache stellte sich die Aufspeicherung von Gerbstoffen, resp. Weinfarbstoffen heraus, die gleiche Wirkung beider Stoffe ist wohl auf ihre chemische Verwandtschaft zurückzuführen, diese Phloroglucinderivate, jene Pyrogallolabkömmlinge. Aber auch bei Abwesenheit solcher störender Stoffe kann, wie Iwanowski<sup>47)</sup> gezeigt hat, eine Vermehrung der Hefe eintreten ohne Gärung, vorausgesetzt, daß die Konzentration der Zuckerklösung eine geringe ist, und die Lösung reichliche Mengen Stickstoffnahrung enthält. Diese Erscheinung spricht für einen von Lindner<sup>48)</sup> entwickelten Gedanken, daß das Gärvermögen der Hefe in der Natur zunächst den Zweck hatte, den Zucker, der sich ihr an den süßen Früchten im Überschuß bot, zu zerstören, damit sie zu den stickstoffhaltigen Bestandteilen des Fruchtsaftes gelangen konnte, die Zusammensetzung des Hefeleibes zeigt ja, daß sie in erster Linie auf Stickstoffnahrung angewiesen ist.

Die Schnelligkeit, mit der verschiedene Kohlehydrate vergoren werden, steigt nach Prior und Schulze<sup>49)</sup> mit der Größe des

osmotischen Druckes der Lösung des betreffenden Kohlehydrats, da zugleich hiermit das Diffusionsvermögen des Kohlehydrats zunimmt. Bei Gemischen von Kohlehydraten wird dasjenige schneller vergoren, dessen osmotischer Partialdruck der größere ist, vorausgesetzt, daß ein etwa vorhandenes geringeres Diffusionsvermögen des betreffenden Kohlehydrats dadurch ausgeglichen wird. Dementsprechend beobachten P. und S., daß Glukose, entsprechend ihrem größeren Diffusionsvermögen, rascher vergärt wie Fruktose. Gegen die absolute Zuverlässigkeit der Bauschen Unterscheidung von Ober- und Unterhefe auf Grund fehlenden oder vorhandenseienden Melitriosegärvermögens machen sich neuerdings Zweifel bemerkbar. So beobachteten Saare und Bode<sup>50)</sup>, daß beim Lagern unzweifelhaft reiner Oberhefe sich ein wenn auch nicht erhebliches Melitriosegärvermögen einstellte, ferner aber führt Lindner<sup>51)</sup> eine Anzahl Oberhefen mit Melitriose-, resp. Melibiosevergärungsvermögen an, während einigen typischen Unterhefen das entsprechende Gärvermögen abging. Lindner empfiehlt daher die Ergänzung der Bauschen Untersuchungsmethode durch eine biologische Untersuchung.

Über die Wärmemengen, welche bei der alkoholischen Gärung entwickelt werden, hat Brown<sup>52)</sup> in gärender Bierwürze experimentelle Untersuchungen angestellt, er findet für 1 Grammmolekül zerfallenden Traubenzucker 21,4 Kal.

Bekanntlich ist seit einigen Jahren aus dem fernen Osten der Hefe ein Konkurrent erstanden, der *Mucor amylovorus* oder früher meist *Amylomyces Rouxii* genannt, ein Schimmelpilz, der gleichzeitig stärkeverzuckernde Diastase neben alkoholspaltender Zymase enthält. Während das Arbeiten mit diesem Pilz, das sogenannte Amyloverfahren, in außerdeutschen Ländern, namentlich Frankreich und Belgien, in der Maisspiritusfabrikation einige Bedeutung erlangt hat, scheint nach Arbeiten von Henneberg<sup>53)</sup> für ihn in Deutschland kein geeigneter Boden zu sein, da seine Leistungen in Maischen aus gedämpften Kartoffeln ganz ungenügende sind, wahrscheinlich weil beim Dämpfen der Kartoffeln saure, den Pilz schädigende Stoffe entstehen.

Von chemisch bedeutsamen Arbeiten über andere Mikroorganismen aus den Gärungsgewerben kann hier nur angeführt werden eine ausgezeichnete, sehr ausführliche Arbeit

<sup>42)</sup> Z. f. Spiritusind. 25, 378 u. folg.

<sup>43)</sup> Wochenschr. f. Brauer. 20, 66.

<sup>44)</sup> ibid. 20, 1.

<sup>45)</sup> C. r. d. l'Acad. des scienc. 136, 1015.

<sup>46)</sup> ibid. 134, 119.

<sup>47)</sup> Zentralbl. f. Bakter. u. Parasitenk. II, 10, 151, 180, 209.

<sup>48)</sup> Beilage zur Tageszeit. f. Brauer. 1, Nr. 254.

<sup>49)</sup> Z. f. ang. Chem. 14, 208.

<sup>50)</sup> Wochenschr. f. Brauer. 20, 101.

<sup>51)</sup> Z. f. Spiritusind. 26, 229.

<sup>52)</sup> Journ. of the federat. Instit. of Brew. 1901, 93.

<sup>53)</sup> Z. f. Spiritusind. 25, 205 u. folg.

Hennebergs<sup>54)</sup> zur Kenntnis der Milchsäurebakterien der Brennereimaische, der Milch, des Bieres, der Preßhefe, der Melasse, des Sauerkohls, der sauren Gurken und des Sauerteigs, sowie einige Bemerkungen über die Milchsäurebakterien des menschlichen Magens. Bertrand und Sazerac<sup>55)</sup> geben ein chemisches Unterscheidungsmerkmal für die beiden wichtigsten Essigbakterien an, *Mycoderma aceti* Pasteur und *Bacterium xylinum* Brown. Letzteres oxydert Glycerin zu Dioxyaceton, während ersteres ohne Einwirkung darauf ist.

Übergehend zur Chemie der in den Gärungsgewerben verwendeten Rohstoffe, möchte ich zunächst einiger Arbeiten über Hopfen Erwähnung tun. So hat Remy<sup>56)</sup> Versuche angestellt, den Bitterstoff und Aromacharakter des Hopfens durch chemische Hilfsmittel zu bestimmen. Es zeigte sich, daß sowohl Provenienz wie Sortencharakter des Hopfens von Einfluß ist auf den Anteil der  $\alpha$ -Hopfenbittersäure am Gesamthopfenbitter. Wegen des milderer Bitters der  $\beta$ -Säure dürfte für die meisten Verwendungsarten ein an Gesamtbitter reicher Hopfen den Vorzug verdienen, bei dem der Gehalt an  $\alpha$ -Säure ein bescheidenes Maß nicht übersteigt. Tatsächlich zeigen, wie Neumann<sup>57)</sup> nachweist, die als feinste Ware geschätzten Spalter Hopfen bei einem hohen Gesamtbittersäuregehalt gegenüber Hopfen anderer Provenienz prozentual den geringsten Gehalt an  $\alpha$ -Säure. Bamberger und Landsiedl<sup>58)</sup> behandeln in einer Arbeit die Reindarstellung und die chemischen und physikalischen Eigenschaften der  $\alpha$ -Säure. Als wahrscheinliche Formel geben sie  $C_{20}H_{28}O_5$  oder  $C_{20}H_{30}O_5$  an. Der Zusammensetzung des flüchtigen Hopfenöls gilt eine Arbeit Chapmans<sup>59)</sup>, die fraktionierte Destillation des Öls im Vakuum ergab in Hauptsache vier Fraktionen, deren erste aus einem inaktiven Terpen  $C_{10}H_{16}$ , deren zweite aus einem unreinen inaktiven Linalool, deren dritte aus einem Gemisch von Isononylsäureester, Linalool und Geraniol bestand, die vierte Fraktion war reines Humulen. Farkas<sup>60)</sup> hat die physiologischen Wirkungen einiger Hopfenbestandteile studiert. Nach seinen Befunden greift die  $\alpha$ -Bittersäure das Zentralnervensystem weniger stark, dagegen die peripheren Muskeln stärker an als die  $\beta$ -Säure, im Samen fand sich ein wasserlös-

liches starkes Herzgift, das für Warmblütler aber nur bei intravenöser Injektion schädlich wirkt, per os eingeführt, selbst in größeren Dosen unschädlich ist.

Mit den Kohlehydraten der Gerste und ihrer Umwandlung bei der Keimung beschäftigt sich Lindet<sup>61)</sup>. Das von Tanret in grüner Gerste gefundene Lävosin fehlt im Malz, wird also bei der Keimung zerstört. Von zwei Gummiarten, die sich in der Gerste finden, die eine links drehend, Fehlingsche Lösung nicht reduzierend, vielleicht mit O'Sullivan's  $\beta$ -Amylan identisch, die andere rechts drehend, reduzierend, vermutlich mit  $\alpha$ -Galaktan identisch, bleibt die erstere bei der Keimung ziemlich konstant, während die letztere zunimmt. Dextrin und Maltose, die eigentlichen Stärkeabbauprodukte durch Diastase, fehlen in allen Stadien der Keimung, dagegen nimmt der Rohrzuckergehalt stark zu. Sukrase-Wirkung invertiert den Rohrzucker, von den Inversionsprodukten wird die Glukose in stärkerem Maße verbraucht wie die Fruktose. Ebenfalls mit den Kohlehydraten, speziell mit den präexistierenden Zuckerarten im Malz, beschäftigt sich eine Arbeit Masons<sup>62)</sup>, die allerdings sich nicht auf die Isolierung der einzelnen Zuckerarten einläßt, sondern deren Gesamtteil in drei Gruppen zusammenfaßt: 1. solche, die direkt Fehlingsche Lösung zu reduzieren vermögen, also Glukose, Fruktose. 2. solche, welche nach vorausgegangener Inversion reduzieren, und welche wie die unter 1. genannten vergärbar sind — Rohrzucker, und 3. Zucker, welche zwar reduzierend wirken, aber nicht vergärbar sind. Um vor Täuschungen durch diastatische Zuckerbildung beim Extrahieren des Malzes mit Wasser bewahrt zu bleiben, tötet Mason die Diastase vorher durch Alkoholbehandlung des Malzes ab.

Einen ganz eigentümlichen Bestandteil haben Wolff u. Fernbach<sup>63)</sup> in Gerste, Malz, Blättern usw. gefunden, dem sie den Namen Amylokoagulase geben, weil er in Stärkelösungen zunächst eine Trübung, demnächst die Ausscheidung eines voluminösen Niederschlages verursacht. Die wirksame Substanz scheint enzymatischer Natur zu sein, die Wirkung scheint bis zu einem gewissen Grad der Diastasewirkung entgegenzuwirken. Ob in dieser Koagulase ein Analogon zu den von Weinland<sup>64)</sup> beschriebenen Antifermen-ten zu finden ist, oder ob sie ein Seitenstück zum Eiweiß koagulierenden Lab darstellt, müssen weitere Untersuchungen zeigen.

<sup>54)</sup> ibid. 26, 226 u. folg.

<sup>55)</sup> C. r. d. l'Acad. des scienc. 132, 1504.

<sup>56)</sup> Wochenschr. f. Brauereien 19, 614.

<sup>57)</sup> ibid. 20, 328.

<sup>58)</sup> Z. f. ges. Brauwesen 25, 461.

<sup>59)</sup> Proceed. Chem. Soc. 19, 72.

<sup>60)</sup> Arch. f. g. Physiol. 92, d. Wochenschr. f. Brauerei 20, 54 und folg.

<sup>61)</sup> C. r. d. l'Acad. d. scienc. 137, 73.

<sup>62)</sup> Z. f. g. Brauwesen 26, 457.

<sup>63)</sup> Ann. d. l. Brass. et d. l. Distill. 1903, 481.

<sup>64)</sup> Z. f. Biolog. 44, 1, 45.

Während des Lagerns treten im Malz Veränderungen ein, die namentlich in Erziehung einer besseren Extraktausbeute und dem blankeren Abläutern der Würze bei gelagertem Malz sichtbar werden. Im Gegensatz zu der mehrfach geäußerten Ansicht, daß diese Veränderung auf Veränderungen der Eiweißkörper des Malzes zurückzuführen ist, ist Vanderstichele<sup>65)</sup> der Meinung, daß sie zum Teil wenigstens in Veränderungen der im Malze vorhandenen Kohlehydrate besteht, und zwar daß Revisionen weiter abgebauter Kohlehydrate eintreten, jedenfalls erwies sich der Gehalt an reduzierenden Zuckern im Frischmalz größer als im abgelagerten.

Prior<sup>66)</sup> hat versucht festzustellen, welche Kohlehydrate für die Karamellisierung des Malzes und der Bierwürzen verantwortlich zu machen sind. Dabei hat sich merkwürdigerweise gezeigt, daß keines der zurzeit bekannten Kohlehydrate, weder Hexosen, Biosen, Pentosen usw. in reinen Lösungen, auch nicht nach Zusatz von Säuren, sauren Salzen, Eiweißstoffen oder dergl. selbst beim Erhitzen unter Druck bis zu  $2\frac{1}{2}$  Atm. karamellisieren, daß dagegen die durch Diastase aus Stärke erhaltene Zuckerlösung beim Erhitzen unter Ausscheidung humoser Stoffe stark karamellisiert, dagegen bei Zusatz von

Milchsäure eine ganz schwache Färbung annimmt. Prior vermutet den Karamellbildner in einem Achroodextrin IV, das bei Säuregegenwart hydrolysiert wird, so daß in diesem Fall die Karmelbildung ausbleibt.

Zu den Rohstoffen für Alkoholgewinnung muß in neuerer Zeit auch das Holz gerechnet werden. Classen<sup>67)</sup> hat eine Anzahl Patente genommen, welche die Überführung von Holz in gärfähigen Zucker zum Gegenstand haben. Das Verfahren besteht in der Hauptsache darin, das Holz zunächst einer Vorbehandlung mit schwefliger Säure zu unterziehen, es sodann in geschlossenen Gefäßen bei Temperaturen von  $120-145^{\circ}$  zu dämpfen, nach Abblasen der schwefligen Säure das Dämpfgut auszulaugen, und die erhaltene Flüssigkeit nach der Neutralisation zur Gärung anzustellen. Erfinder will 25% vom Holzgewicht an Zucker erhalten, der zu 90% vergärbar sein soll. Tageszeitungsnotizen haben im verflossenen Jahre noch von einem anderen, weniger sauberen neuen Rohstoff für Spirituserzeugung berichtet, es soll angeblich gelungen sein, durch trockene Destillation von Fäkalien in technisch-durchführbarem Verfahren Alkohol zu gewinnen, doch bedürfen diese Angaben noch sehr der sachverständigen Bestätigung, so daß sich zunächst ein Eingehen auf dieses Verfahren erübrigt.

(Schluß folgt.)

<sup>65)</sup> Le petit Journ. du Brasseur 1903, nach Wochenschr. f. Brauerei 20, 487.

<sup>66)</sup> Bayer. Brauerjourn. 13, 115.

<sup>67)</sup> Patentschrift 118540, 130980.

## Referate.

### Zeitschriftentafel

mit den in der Z. f. a. Ch. gebräuchlichen Abkürzungen.

Allgemeine Brauer- und Hopfen-Zeitung	= Allg. Brauer- u. Hopf.-Ztg.
Allgemeine Zeitschrift f. Bierbrauerei u. Malzfabrication	= Allg. Z. f. Bierbrauerei.
American Brewers Review	= Am. Brewers Rev.
American Chemical Journal	= Am. Chem. J.
The Analyst	= Analyst.
Annales agronomiques	= Ann. agronom.
Ann. de Chimie analytique appliquée	= Ann. Chim. anal. appl.
Annales de Chimie et de Physique	= Ann. Chim.
Apothekerzeitung	= Apothekerztg.
Archiv der Hygiene	= Ar. d. Hygiene.
Archiv der Pharmacie	= Ar. d. Pharmacie.
Arms and Explosives	= Arms & Explos.
Augsburger Seifensieder-Zeitung	= Augsb. Seifens.-Ztg.
Bäcker- und Konditor-Zeitung	= Bäcker- u. Kond.-Ztg.
Bergbau	= Bergbau.
Berg- und Hüttenmännische Zeitung	= Berg- u. Hüttenm. Ztg.
Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft	= Berl. Berichte.
Berichte der deutschen pharmazeutischen Gesellschaft	= Ber. pharm. Ges.
Biedermanns Centralbl. f. Agrikultur-Chemie	= Bied. Centralbl. Agrik-Ch.
Biologisches Centralblatt	= Biol. Centralbl.
Blatt für Patent-, Muster- und Zeichenwesen	= Pat.-, Must.- u. Zeichenw.
Böhmisches Zeitschrift f. Zuckerindustrie	= Böhmk. Z. Zuckerind.
Der Branntweinbrenner	= Branntweinbrenner.