

Ammoniaks befähigte Kontaktsubstanzen ersetzt werden usw.

Eine Reihe von Patenten befaßt sich mit der Herstellung der betreffenden Katalysatoren, sowie Reinigung derselben zum Zwecke der Entfernung von den die Kontaktwirkung beeinträchtigenden Kontaktgiften, unter denen Schwefel, Selen, Tellur, Phosphor, Arsen und Bor besonders hervorgehoben werden.

Auch der Reinigung der Gase wird besondere Sorgfalt zugewendet, da sich herausgestellt hat, daß z. B. schweflige Säure und CO selbst in Spuren Schädlinge der Kontaktkörper sind.

Aus diesen kurzen Angaben läßt sich ermessen, daß die Übertragung der Haberschen Synthese in den Fabriksbetrieb erst nach Überwindung ganz außerordentlicher Schwierigkeiten möglich wurde.

Und das Werk ist gelungen. Im Laufe dieses Jahres hat die Badische ihren Betrieb aufgenommen, und sollen, wenn ich nicht irre, zunächst etwa 30 000 t schwefelsaures Ammoniak pro Jahr hergestellt werden.

Ausschlaggebend für die Ökonomie dieses Verfahrens ist natürlich der Preis des Wasserstoffes in erster Linie, vorausgesetzt, daß die Apparate nicht zu oft erneuert werden müssen.

Ha ber hält die Rentabilität für gegeben bei einem Preise von 1 M pro Kilogramm Wasserstoff. Es ist aber heute schon möglich, reinen Wasserstoff billiger herzustellen, und stehen hierzu sehr einfache Methoden zur Verfügung.

Der Kraftaufwand für Kompression und Gasbewegung soll nur 0,5 PS. pro Stunde und Kilogramm Ammoniak betragen.

Es ist klar, daß der Habersche Prozeß auch dort überall durchgeführt werden kann, wo keine großen und billigen Wasserkräfte vorhanden sind.

Ich fühle mich nicht genügend kompetent, eine Kalkulation dieses Prozesses anzuführen, das eine erscheint mir aber sicher, daß unsere Methoden der synthetischen Gewinnung von Ammoniak durch eine außerordentlich wertvolle, viel freier beweglichere, als es die bisherigen sind, bereichert worden sind.

Jede Bereicherung unserer Ammoniakfabrikationsmethoden ist mit Dankbarkeit zu begrüßen, besonders, wenn sie unsere Kenntnisse erweitert und neue Wege zu neuer Forschung öffnet und uns dem großen Ziele näher bringt, die selbständige Ammoniakfabrikation der chemischen Großbetriebe für immer zu sichern.

Und diesem Ziele müssen wir mit aller Energie zustreben: denn die beste Lösung des Ammoniakproblems ist gleichzeitig die beste Lösung des Stickstoffproblems.

Denn mit dem billigen Ammoniak haben wir auch die billige Herstellung von Salpetersäure und ihrer Salze sichergestellt. Und schon die heute bekannten Ammoniakmethoden liefern den gebundenen Stickstoff so billig, daß die Salpetersäurefabrikation daraus rentabel wird, obwohl die hauptsächlich in Betracht kommende Ostwaldsche Methode, Oxydation von Ammoniak durch den Sauerstoff der Luft bei Gegenwart von Platin, nur 86—90% des verwendeten Ammoniak in Salpetersäure umsetzt, während 14 bis 10% des Ammoniaks durch vollständige Zersetzung verloren gehen.

Erst kürzlich wurde in England eine Monstregesellschaft mit 2 Mill. Pfd. Sterl. gegründet, die sich des Ostwaldprozesses bedienen wird, um einen Teil des nach dem Cyanamidverfahren gewonnenen Ammoniaks zu oxydieren und als Salpetersäure resp. salpetersaures Ammoniak auf den Markt zu bringen.

Der Gesellschaft gehören an die bekannten Werke Alby in Schweden und Odda in Norwegen, und die Gesellschaft geht daran, in Island den 400 000 PS betragenden Ditterfoß, sowie drei Wasserfälle in Norwegen mit insgesamt 600 000 PS auszubauen und für die Erzeugung von Carbid, Cyanamid, NH_3 und Salpetersäure zu verwenden.

Sie sehen, meine Herren, die Ammoniaksynthese schreitet energisch den Weg der Industrialisierung, und die Chemiker und Ingenieure warten nicht erst ab, bis die angeblich von Chile aus drohende Stickstoffnot an unsere Türen pocht.

Im Gegenteil, die Garde der Stickstoffchemiker trägt Sorge dafür, daß der Salpetervorrat in Chile nicht so schnell wird aufgebraucht werden müssen, und ich sehe den Augenblick nicht mehr sehr fern, daß man in Chile endlich wird daran gehen müssen, die heute geradezu brutal primitive Salpetergewinnungsmethode durch rationellere Methoden zu ersetzen, um überhaupt mit dem aus synthetischem Ammoniak gewonnenen Salpeter im Preise konkurrieren zu können.

M. H.! Meine Ausführung über die anorganischen synthetischen Methoden der Ammoniakgewinnung erheben keinen Anspruch auf die Vollständigkeit. Bei der großen Fülle von Vorschlägen, die meist in Form von Patentanmeldungen in mehr oder weniger, ja meist in weniger klarer Form zu unserer Kenntnis gelangen, wäre es unmöglich, jene innerhalb einer Vortragsstunde erschöpfend zu behandeln.

Es war mir schon recht peinlich, daß ich sogar die Befprechung der industriell durchgeföhrten Verfahren aufs knappste zusammenfassen mußte, denn vieles wäre auszuführen gewesen, was nicht nur dem Fachchemiker, sondern auch dem Naturforscher im allgemeinen von Interesse gewesen wäre.

Ich konnte Ihnen nur einen generellen Überblick geben, der Ihnen aber, ich hoffe es, zeigte, daß chemische Wissenschaft und Technik niemals versagen, wenn es sich um die Lösung selbst des schwierigsten Problems handelt. Die Chemiker haben nie den Kampf um die Unterjochung der Naturkräfte gescheut, sie sind demselben niemals ausgewichen, und wo sie es nur ernstlich wollten, sind sie stets in dem Kampfe mit den Elementen Sieger geblieben.

Nun ist auch der Stickstoff bezwungen. Ein neues Kulturwerk ist geschaffen, das diejenigen, die an diesem Werke mitgearbeitet haben, mit berechtigtem Stolze erfüllen darf. Aber es gilt noch, zu verbessern, um zu vollenden, und wir werden es, weil wir unserer Wissenschaft treu ergeben sind.

[A. 243.]

Neuere Untersuchungen über den Eiweißstoffwechsel der Hefe- und Schimmelpilze¹⁾.

Von Prof. Dr. FELIX EHRICH, Breslau.

(Eingeg. 9.12. 1913.)

Bei der Betrachtung von Gärungsvorgängen stand bisher fast allgemein der Kohlenhydratstoffwechsel der Mikroorganismen, weil äußerlich am ehesten wahrnehmbar, im Vordergrund des Interesses. In der Tat muß die stürmische Zersetzung des Zuckers durch die Hefe in die beiden so charakteristischen Produkte, Alkohol und Kohlendioxyd, vor allem die Aufmerksamkeit des Praktikers und Theoretikers erregen.

Gegenüber diesem offensichtlichen Kohlenhydratstoffwechsel treten die Erscheinungen des Eiweißstoffwechsels der Gärungserreger, die sich scheinbar viel ruhiger und unauffälliger hinter undurchdringlichen Kulissen abspielen, weit zurück, und das war wohl auch der Grund, warum man bis in die neueste Zeit hinein die Vorgänge beim Eiweißstoffwechsel der Hefepilze nur wenig beachtete und auch wissenschaftlich recht stiefmütterlich behandelte. Und doch war die Bedeutung der Eiweißstoffe für alle Lebewesen längst erkannt.

Aus den Forschungen der Physiologen wissen wir, daß am Eiweiß der Zelle, also auch der Hefezelle, das Leben des Organismus haftet. Mit dem Eiweiß in nahester Beziehung steht die Fähigkeit der Zellen, sich zu vermehren und fortzupflanzen, steht insbesondere die charakteristische Eigenschaft der Hefezellen, die für die Gärung typischen Enzyme zu erzeugen, die wahrscheinlich selbst der Gruppe der Eiweißstoffe angehören.

Pasteur war wohl der erste, der auf die große Bedeutung der Eiweißstoffe für das Hefeleben hinwies. Er zeigte auch, daß die Hefe imstande ist, aus einfachen Aini-

¹⁾ Vortrag, gehalten auf der Hauptversammlung des Vereins deutscher Chemiker in Breslau in der Fachgruppe für Gärungsschemie am 17.9. 1913. S. a. Angew. Chem. 26, I, 518 (1913).

moniaksalzen, Zucker und anorganischen Nährsalzen Eiweiß zu bereiten in ähnlicher Weise, wie sich diese Synthese in den Blättern der grünen Pflanzen vollzieht.

In der Folgezeit ist man dann immer mehr darauf aufmerksam geworden, welche wichtige Rolle der Eiweißstoffwechsel der Hefe neben den eigentlichen Gärungsvorgängen spielt. Viele wertvolle Beobachtungen der Praxis gaben Veranlassung, diese Fragen eingehend zu untersuchen. War doch schon äußerlich leicht ersichtlich, daß in den gärenden Maischen parallel der Gärung eine beträchtliche Eiweißproduktion vor sich geht aus relativ einfach gebauten Stickstoffsubstanzen des Nährbodens. Welchen Einfluß Menge und Art der Eiweißstoffe in den Rohmaterialien auf die Gärung selbst und auf die Qualität der Gärprodukte ausüben, zeigte ja auch bereits die viel erörterte Frage der Bewertung von Brau- und Brenngersten. Solche und ähnliche Probleme mußten dem Gärungsschemiker immer wieder von neuem die Wichtigkeit der Erkenntnis des Eiweißstoffwechsels der Hefe und anderer Mikroorganismen nahelegen.

Die Hauptfragen, die hier vor allem der Lösung harrten, waren: Aus welchen Stoffen baut sich die Hefe ihr Körpereiweiß unter den Bedingungen der normalen Gärung auf? Wie und in welchen Phasen vollzieht sich dieser Eiweißaufbau? Werden dabei ähnlich den Nahrungsschlacken der höheren Organismen durch die Hefe Ausscheidungsprodukte gebildet, die für die Gärpraxis Bedeutung haben?

Die Bearbeitung dieser schwierigen Probleme konnte naturgemäß erst in Angriff genommen werden, nachdem über die chemische Struktur des komplizierten Eiweißmoleküls Klarheit geschaffen war. Aus den grundlegenden Untersuchungen Emil Fischer's wissen wir, daß alle Eiweißstoffe zusammengesetzt sind aus chemisch relativ einfach konstituierten Bausteinen, den sog. Aminosäuren, Substanzen mit sauren und basischen Gruppen von der allgemeinen Formel $R.CH(NH_2).CO_2H$. Etwa 20 solcher Aminosäuren von sehr verschiedenem chemischen Gefüge sind bisher als Bestandteile der Eiweißarten bekannt geworden, die sich selbst untereinander nur dadurch unterscheiden, daß die Aminosäuren in ihrem Molekül in den verschiedensten Mengenverhältnissen verkettet sind. In diese Grundbausteine, die Aminosäuren, zerfallen die Eiweißstoffe, wenn sie der Einwirkung von Säuren, Alkalien oder von bestimmten eiweißlösenden und -verdauenden Enzymen unterworfen werden. Aus diesen Aminosäuren gelang es andererseits E. Fischer, durch eine Art chemische Verknüpfung die sog. Polypeptide herzustellen, Verbindungen, die den Peptonen, Albumosen und dem Eiweiß selbst sehr nahe stehen, so daß die chemische Synthese der Eiweißstoffe im Prinzip heute als gelöst gelten kann.

Es ist klar, daß Betrachtungen über den Auf- und Abbau des Hefeeiweißes untrennbar sind von den Anschauungen über die chemische Konstitution der Eiweißarten. Untersuchen wir näher, welche Stickstoffsubstanzen in den Maischen der Brennereien und Brauereien denn eigentlich der Hefe zur Nahrung und zum Aufbau ihres Zelleiweißes dienen, so unterliegt es keinem Zweifel, daß hierfür im wesentlichen wieder nur die letzten Spaltprodukte der Eiweißstoffe, die Aminosäuren, in Betracht kommen können. In einzelnen Rohstoffen der Gärpraxis wie in den Kartoffeln, in den Zuckerrüben und in der Melasse, sowie im Malz finden sich diese Stickstoffkörper von vornherein stark angereichert, sie sind hier bereits in der Pflanze infolge der Wirkung von eiweißabbauenden Enzymen entstanden. Aber auch diejenigen Gärmaterialien, die wie das Getreide, Roggen, Gerste, Mais usw., Eiweiß meist in ungespaltener Form enthalten, werden durch das Dämpfen und besonders im Verlaufe des Maischprozesses durch die proteolytischen Enzyme des Malzes derartig verändert, daß die Hauptmenge des Eiweißes nicht allein gelöst, sondern fast vollständig in Aminosäuren aufgespalten wird. Die in den Maischen etwa noch verbleibenden Peptone und Polypeptide erfahren endlich noch während des Gärprozesses einen totalen Abbau durch die Hefe selbst, die derartige Substanzen ebenso wie ihr eigenes Körpereiweiß durch ein eiweißspaltendes Ferment, die Endotryptase, befähigt ist, in Aminosäuren zu zerlegen. Diese Aminosäuren sind es nun

schließlich, die sich in den zur Vergärung gelangenden Maischen und Würzen anreichern und hier die Stickstoffnahrung bilden, aus der sich die gärende Hefe ihr Zelleiweiß aufbaut.

Es erhebt sich nun die Frage, wie die Hefe aus den verschiedenen Aminosäuren, die ihr hauptsächlich als Nährmaterial dienen, das charakteristische Hefeeiweiß bereitet. Der Gedanke liegt zunächst nahe, daß ähnlich den Fischerschen Polypeptidsynthesen unter Wasserentziehung eine Verknüpfung der Aminosäuren in den Maischen untereinander und ihre Addition an das schon vorhandene Körpereiweiß der Hefe erfolgt. Eine solche Ansicht würde aber zu unmöglichen Folgerungen führen, denn bei einem derartigen Verlauf der Synthese müßte das Hefeeiweiß je nach dem Nährboden und je nach der Zusammensetzung der Maischen eine schwankende chemische Konstitution haben, während wir doch gerade aus den Arbeiten E. Fischer's und A. B. de Haldens wissen, daß das Eiweiß eines und desselben Organismus auch unter den verschiedensten Lebensbedingungen stets konstant zusammengesetzt ist. Die Vorgänge bei dem Eiweißaufbau der Hefe müssen sich also in wesentlich anderer Weise abspielen.

Durch Untersuchungen, die ich seit dem Jahre 1905 planmäßig durchgeführt habe, hat sich nun ergeben, daß einer Assimilation der als Stickstoffnährmaterial dienenden Aminosäuren durch Hefe und andere Mikroorganismen stets eine tiefgehende Spaltung des Moleküls der Aminosäuren vorausgehen muß. Die gärende und wachsende Hefe verwendet nicht den ganzen Komplex der einzelnen Aminosäuren zu ihrer Ernährung, sondern schält sich daraus nur einen Stickstoffkern, den sie zusammen mit Zucker als Kohlenstoffmaterial auf Körpereiweiß verarbeitet. Die bei diesem Prozeß abfallenden stickstofffreien Reste der ursprünglichen Aminosäuren wandern nach entsprechender Umwandlung aus dem Innern der Hefezelle als unverwertbare Stoffwechselprodukte wieder in die umgebende Gärflüssigkeit zurück und reichern sich hier im Verlauf der Gärung allmählich an. Die auf diese Weise entstehenden Eiweißstoffwechselprodukte, die sich bei jeder Gärung lebender Hefe bilden, hauptsächlich Alkohole, Säuren und, wie sich neuerdings gezeigt hat, auch Ester von sehr verschiedenartigem, mannigfachstem chemischen Bau, besitzen offenbar sehr große Bedeutung für die Beschaffenheit der vergorenen Maischen und für die Qualität der Gärprodukte in der Brennerei, Brauerei, bei der Weinbereitung und in anderen Gärbetrieben.

Die eigenartigen Verhältnisse, unter denen sich die Bildung solcher besonders charakteristischen Nebenprodukte der Gärung vollzieht, konnte ich zuerst bei Gelegenheit der Untersuchung der Entstehungsweise des Fuselöles näher aufklären.

Das Fuselöl, ein lange bekanntes Abfallprodukt der Brennereien, das bei der Reinigung des Rohspiritus gewonnen wird, besteht aus einer Reihe höherer Alkohole, unter denen der Amylalkohol oder, genauer gesagt, das Gemisch zweier chemisch differenter Amylalkohole, des Isoamylalkohols und des optisch aktiven Amylalkohols, sowie der Isobutylalkohol überwiegen. Infolge des Gehaltes an diesen Alkoholen, die heute besonders in der chemischen Industrie eine äußerst vielseitige Anwendung finden, kann jetzt das Fuselöl als das wertvollste Erzeugnis der Brennereien und Spritfabriken gelten, und sein Preis ist namentlich in den letzten Jahren enorm gestiegen. Man nahm früher an, daß dieses Nebenerzeugnis der Gärung von einer Spaltung des Zuckers durch Bakterien herrührt, aber alle Versuche, mit Zuhilfenahme dieser Hypothese eine Anreicherung der Menge des kostbaren Fuselöles bei der Gärung zu erreichen, schlugen fehl.

Ich konnte dann zeigen, daß das Fuselöl ein normales typisches Eiweißstoffwechselprodukt der lebenden Hefe darstellt, das seine Existenz hauptsächlich drei Muttersubstanzen verdankt, nämlich drei Aminosäuren, die regelmäßige und weit verbreitete Bestandteile aller Eiweißarten und damit auch der Maischen bilden, und die auch im Hefeeiweiß selbst vorkommen, dem Leucin, Isoleucin und Valin. Vergärt man jedes dieser Eiweißspaltprodukte für sich mit Hefe und Zucker, so erhält man aus dem Leucin

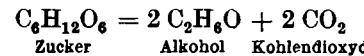
den Isoamylalkohol, aus dem von mir zuerst in der Melasse-schlempe entdeckten Isoleucin den optisch aktiven Amyl-alkohol, aus dem Valin den Isobutylalkohol, während der Stickstoff dieser Aminosäuren gleichzeitig aus der gärenden Flüssigkeit verschwindet und in Hefeeiweiß übergeht. Durch Zusatz von Leucinen zu gärenden Maischen kann man also, was technisch von besonderem Interesse ist, die Ausbeute an Amylalkohol resp. Fuselöl bei der Gärung wesentlich steigern, und es gelingt so, auf eine Maximalausbeute von etwa 7% des Rohspiritus zu kommen, der normalerweise nur ca. 0,4% Fuselöl enthält. Allerdings stehen der technischen Durchführung dieses Verfahrens bisher die Schwierigkeiten der Beschaffung größerer Mengen der Leucine entgegen, deren Isolierung und Reindarstellung aus Eiweiß eine keineswegs leichte chemische Aufgabe bildet. Denn für den möglichst vollständigen Umsatz der Leucine zu Fuselölen ist es wichtig, diese Substanzen möglichst rein und frei von anderen Stickstoffkörpern in reinen Zuckerslösungen vergären zu lassen. Sind noch andere assimilierbare Stickstoffsubstanzen außer Leucin in der Maische zu-gegen, so wird die Hefe auch diese angreifen und auf Eiweiß verarbeiten; die Folge davon wird sein, daß weniger Leucin umgesetzt, und die Ausbeute an Fuselöl entsprechend ver-ringert wird. Das geht so weit, daß man durch künstlichen Zusatz von leicht assimilierbaren Stickstoffsubstanzen, wie Asparagin oder Ammoniumsalzen, zu gärenden Maischen die Fuselölbildung immer mehr zurückdrängen, ja unter Umständen fast vollständig unterdrücken kann. Man hat also hier andererseits ein technisches Mittel an der Hand, ohne daß es nötig wäre, die Leucine vorher zu entfernen und ohne spätere Rektifikation, direkt auch aus leucin-reichen Maischen fuselarmen oder sogar fuselfreien Spiritus zu erzeugen.

Da das Fuselöl ein Produkt des Eiweißstoffwechsels der Hefe bildet, so ist es verständlich, daß nur lebende Hefe aus Leucin Amylalkohol resp. Fuselöl bereiten kann, abgetötete Hefe oder Hefepreßsaft aber dazu nicht imstande ist. Aber auch lebende Hefe ist zur Umwandlung von Leucinen in Fuselöl nicht ohne weiteres befähigt, sie bedarf hierfür der Vermittlung des Zuckers, dessen Vergärung für den Angriff der Aminosäuren durch die Hefe unbedingt erforderlich ist. Die Gärung des Zuckers liefert der Hefe die Energiequelle für den Eiweißstoffwechsel und die Eiweißsynthese aus den Aminosäuren und zugleich auch in Form gewisser Bruchstücke des Zuckers das Kohlenstoffbaumaterial, das unentbehrlich ist, um damit aus dem Stickstoffkern der zertrümmerten Aminosäuren den Komplex der Eiweißmoleküle zusammenzuschweißen. So erklärt es sich auch, daß für den vollständigen Umsatz einer bestimmten Menge Leucin in Fuselöl die gleichzeitige Vergärung der etwa zehnfachen Menge Zucker nötig ist. Was schließlich die Bildung von Fuselöl bei der Vergärung von Zucker mit Hefe für sich allein betrifft, so ist auch diese im Sinne der hier entwickelten Theorie durchaus verständlich. In diesem Falle röhrt das als Ausgangsmaterial für die Fuselölbildung dienende Leucin aus dem Eiweiß der Hefe selbst her. Durch eiweißabbauende Enzyme der Hefe werden aus ihrem eigenen Eiweiß, besonders bei Abwesenheit sonstiger Stickstoffnahrung oder unter anderen ungünstigen Lebensbedingungen Aminosäuren abgespalten, darunter auch Leucin, das dann nach außen diffundiert, von anderen Hefezellen assimiliert und dabei ebenso in Amylalkohol zerlegt wird wie das Leucin der Maischen oder künstlich zugesetztes Leucin. Indem sich dieser Vorgang nach Art eines Kreisprozesses während der Zuckerhefegärung unzählig oftmals wiederholt, kann er unter Umständen zur Entstehung sehr beträchtlicher Fuselölmengen Anlaß geben.

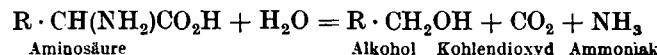
Wie sich nun weiter gezeigt hat, vollzieht sich ganz analog der Fuselölbildung auf Grund derselben Gesetzmäßigkeiten, die hierbei beobachtet sind, die Bildung eines anderen wichtigen Gärungsnebenproduktes, das bei keiner Hefegärung fehlt, nämlich der Bernsteinsäure. Auch die Bernsteinsäure ist ein normales Eiweißstoffwechselprodukt der Hefe, das bei der Zuckergärung ähnlich wie Amylalkohol aus Leucin aus einer weit verbreiteten und in jeder Eiweißart vorkommenden Aminosäure, der Glutaminsäure, hervorgeht. Diese Aminodicarbonsäure, die sich von anderen

Aminosäuren durch ihre beiden Säuregruppen unterscheidet, erfährt durch die gärende Hefe einen etwas abweichenden Abbau, wobei sich eine Dicarbonsäure, die erwähnte Bernsteinsäure, bildet, die aus jedem Gäprodukt leicht durch Extraktion mittels Äther krystallisiert zu gewinnen ist.

Durch eingehende Untersuchungen ließ sich dann beweisen, daß dieser eigentümliche Abbau der Aminosäuren durch die Hefe nicht etwa auf die Fuselöl- und Bernsteinäurebildung beschränkt ist, sondern daß es sich hier um eine ganz allgemeine Reaktion handelt, der alle Aminosäuren unterliegen, und die von dem normalen Eiweißstoffwechselprozeß der Hefe untrennbar ist. Bei der Mehrzahl der Eiweißpaltprodukte, die, wie das Leucin, eine Amid- (NH_2) und eine Säure- (CO_2H) Gruppe enthalten, verläuft die Assimilation durch die Hefe in der Weise, daß ein Molekül Wasser angelagert und gleichzeitig Kohlendioxyd und Ammoniak abgespalten wird, wobei schließlich eine amidfreie Substanz mit einem Kohlenstoffatom weniger meist in Form eines Alkohols resultiert. Es zeigt sich hier also eine merkwürdige Analogie mit der Zuckergärung. Bekanntlich wird das Zuckermolekül bei der Hefegärung in 2 Moleküle Äthylalkohol und 2 Moleküle Kohlendioxyd zerlegt, was man durch die chemische Gleichung zum Ausdruck bringen kann:



Dieser Gleichung der alkoholischen Zuckergärung läßt sich jetzt eine Gleichung der „alkoholischen Gärung der Aminosäuren“ gegenüberstellen, die uns ein prägnantes Bild der chemischen Zersetzung dieser Eiweißbausteine im Stoffwechselprozeß der Hefezellen darbietet, wie sie parallel der Zuckergärung vor sich geht. Sie muß lauten:



Aus dem Verlaufe der hier gekennzeichneten biochemischen Reaktion ist zunächst einmal der wichtige Schluß zu ziehen, daß die Hefe für ihre Eiweißassimilation aus den verschiedenen Aminosäuren des Nährbodens, gleichgültig, welchen chemischen Bau sie besitzen, sich immer nur ein und denselben einfachen Stickstoffkomplex, nämlich das Ammoniak auswählt, das dann nach der Abspaltung sofort im Stoffwechsel mit Zucker zusammen die Hefe Eiweißsubstanz liefert und daher aus der vergärenden Flüssigkeit verschwindet. Bei diesem Vorgange bleibt nun regelmäßig das Kohlenstoffkelett der ihres Stickstoffes beraubten Aminosäuren in der Nährlösung zurück, und es findet dementsprechend in dem Maße, wie die Gärung und das Wachstum der Hefe fortschreitet, in dem Gärung die Anreicherung einer Reihe höchst merkwürdiger Substanzen statt, die sicher für die Qualität der Gärprodukte, besonders des Bieres und Weines, von großer Bedeutung sein müssen. Vor allem tritt hierbei eine große Anzahl von Alkoholen auf, flüchtige und nichtflüchtige, die naturgemäß je nach der Aminosäure, die ihre Muttersubstanz war, eine ganz bestimmte chemische Struktur aufweisen und als Folge davon im einzelnen ganz charakteristische chemische und physiologische Eigenschaften besitzen.

Unter den flüchtigen Verbindungen wären außer den Alkoholen des Fuselöles noch besonders der Methylalkohol zu erwähnen, der, wie neuerdings wahrscheinlich gemacht ist, aus der einfachsten Aminosäure, dem Glykokoll, bei der Gärung entsteht. Allerdings dürften von diesem in den letzten Jahren physiologisch so berüchtigt gewordenen Alkohol unter den Bedingungen der Gärpraxis nur sehr geringe Mengen auftreten, da die Maischen und Würzen wohl nur minimale Quantitäten Glykokoll enthalten können. Noch interessanter in vieler Hinsicht erscheint der aus einer häufiger vorkommenden Aminosäure, dem Phenylalanin, hervorgehende Phenyläthylalkohol. Er stellt ein mit Wasserdämpfen flüchtiges Öl dar, das intensiv rosenähnlich riecht. Tatsächlich ist dieser Alkohol ja schon lange als ein Hauptbestandteil der Riechstoffe der Rose, des Rosenöles, bekannt.

Besonders bemerkenswert aber sind die bei der alkoholischen Gärung der Aminosäuren sich ergebenden, nicht-

flüchtigen Verbindungen, zu denen Alkohole gehören, deren Bildung bei der Hefegärung man früher nie vermuten konnte, da sie jetzt erst bei dieser Gelegenheit chemisch entdeckt wurden. So entsteht, wie ich zeigen konnte, aus der bekannten und weitverbreiteten Aminosäure, dem Tyrosin, das Tyrosol (p-Oxyphenyläthylalkohol) und aus dem nicht minder wichtigen Tryptophan das Tryptophol (β -Indolyläthylalkohol). Diese beiden neuen Alkohole, die sich auch aus dem Hefeeiweiß bilden können, sind feste, schön krystallisierte Substanzen von ganz charakteristischen chemischen und physiologischen Eigenschaften, die ihre Erkennung und Isolierung aus Gärgerbstoffen sehr erleichtern. Das Tyrosol ist besonders durch seinen stark bitteren Nachgeschmack ausgezeichnet, das Tryptophol dadurch, daß es der erste stickstoffhaltige Alkohol ist, der bisher in Naturprodukten nachgewiesen wurde, und der seinen Stickstoffgehalt der Anwesenheit des sog. Indolringes im Molekül verdankt.

Überlegt man, daß aus Eiweiß bisher etwa 20 verschiedene Aminosäuren isoliert wurden, und manche andere uns gewiß noch unbekannt sind, so ist leicht ersichtlich, daß außer diesen bis jetzt aufgefundenen eigentümlichen Produkten der alkoholischen Gärung der Aminosäuren noch viele andere der Entdeckung harren, die sich in ähnlicher Weise wie Fuselöl, Bernsteinsäure usw. bei dem normalen Eiweißstoffwechsel der Hefe bilden, und die infolge ihrer großen chemischen Mannigfaltigkeit ohne Zweifel auf die Beschaffenheit der Gärungserzeugnisse, besonders des Bieres und Weines, wesentlich einwirken müssen.

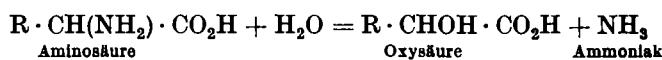
Damit ist aber die große Fülle merkwürdiger chemischer Substanzen, die wir bei der normalen Hefegärung als Produkte des Eiweißstoffwechsels zu erwarten haben, noch längst nicht erschöpft. Wie neuere eingehende Untersuchungen in meinem Institut gezeigt haben, wird die Anzahl der Gärungsnebenprodukte noch dadurch beträchtlich vermehrt, daß die ursprünglich aus den Aminosäuren entstandenen Alkohole mit anderen Substanzen, die im Nährboden vorhanden sind oder erst bei der Gärung auftreten, zu Verbindungen zusammentreten. Auf diese Weise entsteht hauptsächlich aus den Alkoholen und gewissen Säuren, wie Ameisen-, Essig-, Bernsteinsäure usw., eine ganze Reihe von Estern der mannigfachsten Art und von verschiedenen Eigenschaften. Hiermit ist zum ersten Male die Esterbildung als ein normaler Prozeß bei der Gärung der üblichen Kulturhefen, besonders Brennerei- und Brauereihefe, nachgewiesen und zugleich auch gezeigt, daß der Eiweißstoffwechsel am Zustandekommen der Esterbildung der Hefen einen wesentlichen Anteil hat. Am klarsten haben sich diese eigentümlichen Verhältnisse bisher bei der Vergräzung des Tyrosins übersehen lassen.

Vergärt man eine bestimmte Menge Tyrosin mit einem Überschuß von Zucker und Hefe, so gewinnt man aus den vergorenen Lösungen meist zu etwa 70–80% der theoretisch berechneten Ausbeute freies Tyrosol, das sich aus dem Gärrest leicht mit Äther extrahieren und zur Krystallisation bringen läßt. Neben dem freien krystallisierten Alkohol tritt nun stets ein eigenartig riechendes Öl auf, das sich mit Natronlaugen glatt verseifen läßt und dabei krystallisiertes Tyrosol einerseits und mehrere Säuren, hauptsächlich Essig- und Bernsteinsäure, andererseits liefert, demnach also aus Estern des Tyrosols besteht. Die Menge des esterartig gebundenen Tyrosols beträgt bei Vergärung des Tyrosins mit Brennereihefe etwa 15–20% der Gesamtausbeute an Tyrosol, die sich folglich auf ca. 95% der Theorie beläuft.

Da die Bildung anderer chemischer Substanzen aus Tyrosin nicht zu beobachten war, so ist mit diesem Nachweis auch praktisch eine Bilanz der Tyrosingärung und wohl auch allgemein eine Bilanz der alkoholischen Gärung der Aminosäuren erbracht. Die Umsetzung der Aminosäuren in die entsprechenden Alkohole bei der Hefegärung erfolgt also in chemischem Sinne so gut wie quantitativ, nur wird offenbar stets ein gewisser Teil des betreffenden Alkohols zu gleicher Zeit durch wasserabspaltende Enzyme der Hefe in bestimmte Ester übergeführt. Die Zusammensetzung dieser Ester unterliegt Schwankungen und ist im allgemeinen abhängig von der Art und Zusammensetzung des Nährbodens, von der Menge und der Beschaffenheit der

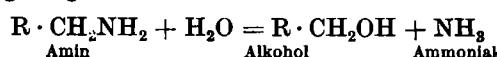
Säuren, die darin von vornherein vorhanden sind, und die bei der Gärung entstehen, und von den sonstigen Gärungsbedingungen. Bei langsamer Aufzucht von Hefe in Nährösungen werden anscheinend infolge der längeren Berührung mit den Enzymen der Hefe mehr Ester gebildet, als bei kurzdauernder Gärung mit viel Hefe. Auch zeigt es sich, daß gewisse, besonders stark veresternde Heferassen, wie manche Weinhefen, *Willia anomala* und andere, befähigt sind, beträchtlich mehr Alkohole aus Aminosäuren in Ester überzuführen als gewöhnliche Bierhefe, oft bis zu 60% der Gesamtmenge. Es ist sicher, daß derartige Esterbildung in erster Linie zur Entstehung des Buketts und der Blume der Weine beitragen.

Durch weitere eingehende Untersuchungen hat sich dann ergeben, daß die Vorgänge beim Eiweißstoffwechsel anderer Mikroorganismen, besonders der Schimmelpilze, denen der Hefe sehr ähnlich sind. Auch die Schimmelpilze vermögen Aminosäuren nur dadurch zu Eiweiß zu assimilieren, daß sie dieselben zuvor zerlegen und ihnen dabei Ammoniak entziehen. Die bei dieser Spaltung auftretenden Stoffwechselprodukte bestehen aber hauptsächlich aus Säuren, und zwar aus sog. Oxsäuren, die sich nach der allgemeinen chemischen Gleichung bilden:



So entsteht beim Wachstum von *Oidium lactis*, von *Monilia*-, *Mucor*-pilzen u. a. eine Reihe von substituierten Milchsäuren, wie *p*-Oxyphenylmilchsäure, Phenylmilchsäure, Indolmilchsäure aus den entsprechenden Aminosäuren Tyrosin, Phenylalanin, Tryptophan. Einzelne Schimmelpilzarten vermögen die ursprünglich aus den Aminosäuren hervorgegangenen Oxysäuren im Stoffwechselprozeß noch weiter auszunutzen, indem sie dieselben zu einfach gebauten chemischen Substanzen zertrümmern. Hierzu gehören besonders die *Penicillium*- und *Aspergillus*-arten. Eigentümlich ist ferner den meisten Schimmelpilzen und auch gewissen Heferassen vom Typus der *Kahmhefen*, daß sie statt Zucker auch andere einfach zusammengesetzte chemische Verbindungen als Kohlenstoff- und Energiematerial gleichwertig den Kohlenhydraten zum Eiweißaufbau verwerten können, wie Äthylalkohol, Glycerin, Milchsäure u. a., dabei aber meist dieselben Stoffwechselprodukte aus Aminosäuren liefern wie bei Gegenwart von Zucker. Die bekannten Schimmelpilze *Penicillium glaucum* und *Aspergillus niger* können Aminosäuren sogar direkt ohne Vermittlung einer anderen Substanz angreifen und für den Aufbau ihres Körpereiweißes ausnutzen, wobei allerdings eine vollständige Zersplitterung des Moleküls der Aminosäuren stattfindet auch solcher, die, wie Tyrosin, einen sonst sehr widerstandsfähigen ringförmigen Kohlenstoffkomplex enthalten.

Die große Reaktionsfähigkeit der Hefen und Schimmelpilze, wie sie sich nach diesen Versuchen in ihrer mannigfaltigen Wirkung auf Aminosäuren offenbart, legte nun den Gedanken nahe, ob diese Mikroorganismen nicht auch zu chemischen Umsetzungen von Stickstoffsubstanzen befähigt sind, die für gewöhnlich nicht in ihrem Stoffwechselprozeß vorkommen. Untersuchungen in dieser Richtung zeigten, daß viele Kahmhefen und Schimmelpilze Amine, auf deren Lösungen sie sehr üppig wachsen, zu denselben entsprechenden Alkoholen umwandeln, die auch aus den Aminosäuren entstehen, so daß also auch für die Assimilation der Amine durch diese Mikroorganismen eine allgemeine chemische Gleichung aufgestellt werden kann:



Es bildet sich so z. B. aus dem p-Oxyphenyläthylamin dasselbe Tyrosol wie aus dem Tyrosin, ferner aus dem Isoamylamin der Isoamylalkohol usw. Hierbei ist bemerkenswert, daß die Amine, die meist für den tierischen und menschlichen Organismus sehr giftig sind, von Hefen und Schimmelpilzen im normalen Stoffwechsel ohne Schädigung vertragen und von ihnen in relativ ungiftige Substanzen wie etwa Tyrosol, verwandelt werden. Ein ähnlicher Entgiftungsprozeß läßt sich beobachten, wenn man gewisse

Kahmhefen auf Lösungen von Anilin aussät. Es findet dann deutliches Wachstum der Hefepilze statt, während allmählich das Anilin aus der Lösung ausgeflockt wird, wahrscheinlich in Form eines eigentümlichen Oxydationsproduktes, das sich durch eine Art Schutzreaktion der Hefe bildet. Manche Hefen und Schimmelpilze vermögen sogar den Stickstoff so giftiger Alkaloide wie Nicotin, Chinin usw. auszunutzen und deren Spaltprodukte für ihre Ernährung zu verwerten.

Nach alledem erscheint es also keineswegs ausgeschlossen, daß wir einmal Hefen, Schimmelpilze und ähnliche Mikroorganismen noch zu ganz anderen chemischen Leistungen werden heranziehen können, als man bisher vermutet hat. Ebensogut wie wir uns biologischer Prozesse bedienen, um technisch Alkohol, Essigsäure, Buttersäure, Citronensäure, Glycerin, Fettsäuren usw. herzustellen, ließe sich daran denken, noch viele andere kostbare chemische Substanzen mit Hilfe von Mikroorganismen im großen Maßstabe zu gewinnen und eine daraufgegründete „chemische Gärungsin industrie“, zu der Untersuchungen wie die hier mitgeteilten vielleicht die Anregung und die erste Grundlage bilden könnten, würde sicherlich in kurzer Zeit den älteren Schwestern, der Brennerei und Brauerei, ebenbürtig an die Seite treten. Hoffen wir, daß die stets so nutzbringende Vereinigung von Forschung und Praxis auch auf diesem weiten und fruchtbaren Arbeitsgebiete noch reiche Ernten einbringen möge!

[A. 264.]

Die Wasserbestimmung in festen und flüssigen Brennstoffen durch Destillation mit Xylol.

Von Dr. P. SCHLÄPFER.

(Mitteilung aus der Eidgenössischen Prüfungsanstalt für Brennstoffe in Zürich.)

(Eingeg. 4/12. 1913)

In Heft Nr. 73 (Angew. Chem. 26, III, 613 [1913]) wird über die Arbeit: „Irrtümer in der Bestimmung des Feuchtigkeitsgehaltes von Kohle“, welche W. F. Hillebraud und W. L. Badger der V. Sektion (Asphalt und Heizstoffe) des VIII. Internationalen Kongreß für angewandte Chemie vorlegten, referiert. In dieser Arbeit wird u. a. betont, daß die zur Prüfung herangezogenen Methoden recht erhebliche Differenzen geben, so daß die Vff. die Aufsuchung einer direkten Methode der Wasserbestimmung empfehlen. Zu diesen Ausführungen bemerkt der Referent wörtlich: „Sollte nicht eine Destillation der gepulverten Kohle (100 g) mit Xylol in einer indifferenten Atmosphäre, ähnlich wie bei dem Verfahren der Wasserbestimmung in Seifen, Fetten usw. nach Hoffmann-Marcusson zu einem direkten Verfahren ausgebildet werden können?“

Bereits seit mehreren Jahren führe ich die Bestimmung des Wassergehaltes von festen und flüssigen Brennstoffen durch Destillation derselben mit Xylol aus, wobei ich gefunden habe, daß man bei Brennstoffen, die einen Wassergehalt von über 0,1% aufweisen, mit Ausnahme gewisser graphitoider Anthrazite, unter Einhaltung zweckmäßiger Versuchsbedingungen richtige Resultate erhält.

In seinem Berichte an die Internationale Analysen-Kommission des VIII. Kongresses für angewandte Chemie in New-York hat Herr Prof. Constant bei der Prüfung von 6 Kohlenproben auf ihren Feuchtigkeitsgehalt nach verschiedenen Methoden u. a. auch die von mir ausgearbeitete Destillationsmethode angeführt. In dem von G. T. Holloway verfaßten Berichte¹⁾ über die Vereinheitlichung der Methoden für die Wasserbestimmung in den Kohlen, anderen Brennstoffen und Mineralien ist die Methode auf S. 70 kurz beschrieben; ebenso wird sie in einem Referat über diesen Bericht in „Stahl und Eisen“²⁾ erwähnt. — Bisher habe ich es unterlassen, Einzelheiten darüber zu veröffentlichen, weil in diesem Laboratorium vergleichende Untersuchungen über die Wasserbestimmung

¹⁾ Eighth Internat. Congr. of applied Chemistry Vol. XXV, 41ff. (1912).

²⁾ Stahl und Eisen 33, 1250 (1913).

in festen Brennstoffen nach verschiedenen Verfahren noch im Gange sind, die im Zusammenhang publiziert werden sollen. Bei diesen Studien hat sich nun gezeigt, daß man bei gewissen Anthraziten nach der Destillationsmethode stets etwas zu niedrige Werte erhält. Bis jetzt konnte noch nicht festgestellt werden, worin der Grund dieser Abweichung, dem weiter nachgeforscht wird, liegt.

Die eingangs erwähnte Anmerkung des Referenten veranlaßt mich nun doch, die Destillationsmethode mit Xylol jetzt schon eingehend zu besprechen.

Bei der Durchsicht der Literatur über die Wasserbestimmungsmethoden durch Destillation fand ich, daß Graefe³⁾ schon im Jahre 1906 Wasserbestimmungen in Braunkohlen und Grudekoks in der Weise ausführte, daß er 10 g Kohle in einem kleinen Destillierkolben abwog, mit 50 ccm Solaröl übergoss und durch einen schräg liegenden Kühler rasch 25 ccm davon in einen Meßzylinder überdestillierte und das Volumen des mit übergegangenen Wassers in demselben ablas.

Wenn die Wasserbestimmung in dieser Weise ausgeführt wird, so kann sie keinen Anspruch auf Genauigkeit erheben. Graefe hat sie auch nur für Kohlen mit sehr hohem Wassergehalt benutzt und dabei Fehler von mindestens 1—2% als zulässig erachtet. In jüngster Zeit wurde die Destillationsmethode für die Bestimmung des Wassers in Nahrungs- und Genußmitteln, deren Feuchtigkeitsgehalt relativ hoch ist, wieder von mehreren Forschern⁴⁾ herangezogen und in verschiedenen Ausführungsformen (Modifikationen betr. Apparaturzusammenstellung und Destillationsmittel) beschrieben.

Dabei wird die Methode teils als zuverlässig empfohlen, teils aber wegen verschiedener Fehlerquellen verworfen.

Für die Wasserbestimmung in Brennstoffen hat sich das Abdestillieren mit Xylol als sehr zweckmäßig erwiesen; zur genaueren Ermittlung des Feuchtigkeitsgehaltes ist aber die Einhaltung verschiedener Bedingungen (richtige Form des Meßgefäßes, Berücksichtigung seiner Teilungsfehler, der Meniscusänderung und des Wasserverlustes) unerlässlich.

Ich beschreibe deshalb nachstehend die Arbeitsmethode und die Apparatur, wie sie hier seit längerer Zeit für die Wasserbestimmung in flüssigen und festen Brennstoffen im Gebrauch steht. Die beigegebene Abbildung und Skizze, (Fig. 1 u. 2) letztere ausgeführt im Maßstabe 1 : 10, geben ein genaues Bild über die Versuchsanordnung.

Versuchsausführung. In einem tarierten Erlenmeyerkolben aus Jenaer Glas oder Kupfer von 500 ccm Inhalt werden bei Holz, Torf und Braunkohlen ca. 30 g, bei Steinkohlen und Koks ca. 30—50 g und bei Teeren und Ölen ca. 100 g auf einer Tarierwage auf 0,1 g genau abgewogen. Hierauf übergießt man den Brennstoff mit 200 ccm⁵⁾ des käuflichen, technischen Xylos und schwenkt den Kolben zur Durchmischung einige Male hin und her. Wenn man viele Bestimmungen auszuführen hat, empfiehlt es sich, das Xylol aus einer Vorratsflasche mittels irgendeiner einfachen automatischen Meßeinrichtung in den Destillationskolben zu bringen.

Den Erlenmeyerkolben verbindet man durch ein Destillationsrohr von ca. 0,8—1 cm innerem Durchmesser mit dem senkrecht stehenden Kühlerrohr. Es müssen für die Verbindungsstellen gut passende, möglichst porenfreie Korken verwendet werden. Anschlüsse aus Glasschliffen eignen sich der großen Zerbrechlichkeit wegen nicht besonders. Bei wasserarmen Kohlen tritt bei der Destillation ein ziemlich heftiges Stoßen auf; die dadurch hervorgerufenen Erschütterungen können bei Glasschliffen deshalb leicht ein Lösen der Verbindungen bewirken. Wenn mehrere Apparate nebeneinander im Gebrauch stehen, wählt man zweckmäßig als Kühler ein mit Wasser gefülltes Blechgefäß, durch das die

³⁾ Braunkohle 4, 581 (1905/06).

⁴⁾ Zusammenstellung der einschlägigen Literatur siehe bei J. F. Hoffmann, Angew. Chem. 21, 2095 (1908); Dr. Franz Michel, Chem.-Ztg. 35, 353 (1913); Utz, Angew. Chem. 26, I, 271 (1913). Dr. W. Müller, Mitteil. aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene Bd. IV, 268 (1913).

⁵⁾ Bei Torfen, die das Xylol stark aufsaugen, ist manchmal etwas mehr Xylol notwendig.