

## Fortschritte der physiologischen Chemie seit 1929.

### II. Enzyme\*).

#### Gärung.

Von Dr. F. F. NORD,

Physiologisches Institut der Tierärztlichen Hochschule, Berlin.

(Eingeg. 17. Mai 1934.)

Inhalt: 1. Biochemie der Gärung. — 2. Rolle der Zymophosphate. — 3. Kinetik der Zellgärung. — 4. Zur Enzymologie der Gärung. — 5. Biologie der Gärung. — 6. Die Butylgärung.

#### 1. Biochemie der Gärung.

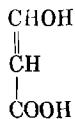
Die Auffindung (1) der Phosphoglycerinsäure  $\text{CH}_2 \cdot \text{O}(\text{PO}_3\text{H}_2) \cdot \text{CH}(\text{OH}) \cdot \text{COOH}$  unter den Produkten der Einwirkung von Hefesäften und Muskelextrakt auf Kohlenhydrate führte in der jüngsten Zeit zu wichtigen Beobachtungen und Überlegungen (2, 3, 4, 5), die sich dazu eignen, die späteren Phasen der Zuckerdissimilation auch durch die lebende Zelle biochemisch verständlicher erscheinen zu lassen.

Es sei deshalb zunächst daran erinnert, daß bisher vielfach angenommen wurde, das Methylglyoxal,  $\text{CH}_3\text{COCHO}$ , gehöre mit zu denjenigen Verbindungen, welche im Laufe der am Zuckermolekül sich abspielenden Phasenfolge der Umwandlungen die Rolle eines strukturchemisch erfaßbaren, primären biologischen Spaltprodukts für die spätere, sich zwischen zwei verschiedenen Aldehyden abspielende gemischte Cannizarierung übernehmen können.

Im Laufe dieser Oxydo-reduktion sollte aus dem Methylglyoxal Brenztraubensäure entstehen, welche unter dem Einfluß der Carboxylase in Kohlensäure und Acetaldehyd zerfällt. Der Acetaldehyd wird dann zum Äthylalkohol reduziert, und zwar in der gleichen Phase, in welcher das Methylglyoxal zu Brenztraubensäure oxydiert wird, usw. im Kreislauf:

Zucker  $\rightarrow$  Methylglyoxal  $\rightarrow$  Brenztraubensäure  $\rightarrow$  Acetaldehyd +  $\text{CO}_2$   
Methylglyoxal + Acetaldehyd  $\rightarrow$  Brenztraubensäure + Alkohol.

Die auf Messungen der Absorptionsspektren von *Henri* und *Fromageot* gegründete Annahme, daß die Brenztraubensäure *in vivo* nur in der leicht vergärbaren<sup>1)</sup> Enolform auftritt (6), hat sich neuerdings durch Isolierung der sogenannten Glucinsäure



auch präparativ (7) untermauern lassen.

\* ) Bereits erschienen der Abschnitt „Naturstoffe“, vgl. diese Ztschr. 47, 447 [1934]. Aus dem Abschnitt „Enzyme“ ist erschienen: Ammon: „Esterasen und Lipasen“, ebenda 47, 447 [1934]; Weidenhagen: „Carbohydrasen“, ebenda 47, 451 [1934]; Waldschmidt-Leitz: „Proteasen“, ebenda 47, 475 [1934].

<sup>1)</sup> Unnötig und widerspruchsvoll erscheint es uns deshalb, von einem Gärquotienten

#### Geschwindigkeit der Brenztraubensäurespaltung

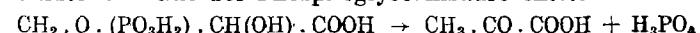
#### Geschwindigkeit der Glykosespaltung

zu sprechen. Innerhalb der Zelle dürfte die biologische oder physiologische Brenztraubensäure praktisch mit derselben Geschwindigkeit decarboxyliert werden, mit welcher die Transportform des Zuckers (siehe später) gebildet wird. Zugesetzte (unphysiologische) Brenztraubensäure wird dagegen in allen Fällen konzentrierter sein als die im Zellinnern entstandene

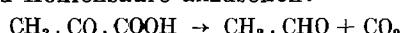
Sie entsteht bei der Einwirkung schwachen Calciumhydroxyds auf verdünnte Lösungen von Glykose bei 70° unter Luftausschluß und nimmt den Luftsauerstoff besonders gierig unter starker Hitzeentwicklung auf. Vielleicht ist auch die starke bei der Heugärung zu beobachtende Erwärmung auf die Oxydation ähnlicher intermedierer Verbindungen zurückzuführen (8).

Auch der Gedanke und die Ergebnisse der Untersuchungen über die gemischte Dismutation der Aldehyde (9), die u. a. zur ersten chemischen Darstellung des Tribromäthylalkohols (10) (Avertin) führten, bleiben bestehen. Verändert hat sich aber die Phasenfolge dadurch, daß das Methylglyoxal daraus verschwunden ist.

Das wesentliche der neuen Phasenfolge ist die Tatsache, daß die Brenztraubensäure — welche nach wie vor ohne Zweifel ein Übergangsprodukt des Zuckerabbaus darstellt — aus der Phosphoglycerinsäure entsteht:

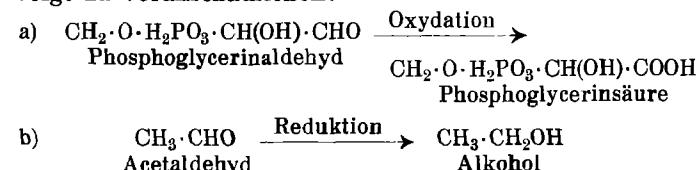


Als nächste Phase ist dann, wie früher, die Spaltung der Brenztraubensäure durch die Carboxylase in Acetaldehyd und Kohlensäure anzusehen:



In der Phase der Oxydo-reduktion tritt die weitere, bereits oben angedeutete Veränderung ein. Als Dismutationspartner des Acetaldehyds tritt nämlich an Stelle des Methylglyoxals eine Triosephosphorsäure, die von *H. O. L. Fischer* und *Baer* (12) synthetisierte und in der d-Komponente leicht vergärbare (13) 3-Glycerinaldehyd-monophosphorsäure<sup>2)</sup>, in den Brennpunkt unseres Interesses<sup>3)</sup>.

Die Phase der Oxydo-reduktion wäre demnach wie folgt zu veranschaulichen:



und liefert uns die anfangs erwähnte Phosphoglycerinsäure, die Muttersubstanz der Brenztraubensäure. Der Kreislauf hält dann so lange an, bis der *Fischer-Baersche*

Säure und nur in dem Maße vergoren werden, soweit sie in der Enolform vorhanden ist. Ihre am Ort der enzymatischen Tätigkeit verfügbare Menge ist überdies auch von der Permeiergeschwindigkeit abhängig (11).

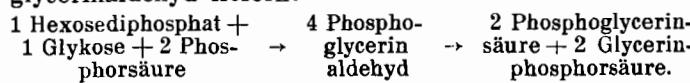
<sup>2)</sup> Nach Angaben von *Kobel* und *Collatz*, Biochem. Ztschr. 268, 202 [1934], entstehen hieraus mit Hefe jedoch nur Spuren von Methylglyoxal. Es wird daher von diesen Autoren nach wie vor als „Primärprodukt“ (s. o.) angesprochen.

<sup>3)</sup> Inzwischen wurde als erstes Abbauprodukt phosphorylierter Zucker zu Milchsäure eine Triosephosphorsäure isoliert (14) und auch synthetisiert (15), die das Isomere der 3-Glycerinaldehyd-phosphorsäure, die Dioxyaceton-phosphorsäure, darstellt.

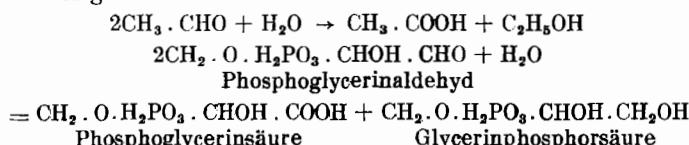
Phosphoglycerinaldehyd vorhanden ist. Man könnte sich vorstellen, daß er seine Entstehung der Reaktion 1 Glykose + 2 Phosphat → 2 Glycerinaldehydprophosphorsäure verdankt.

Die einmal in Gang gekommene Reaktionskette setzt sich so lange fort, bis Zucker und Phosphat vorhanden sind — d. h.: Entstehung von Glycerinaldehydphosphorsäure, ihre Oxydation zu Phosphoglycerinsäure (unter gleichzeitiger Reduktion des Acetaldehyds zu Alkohol), Umwandlung des letzteren in Brenztraubensäure und danach in Acetaldehyd und Kohlensäure —, und wird beendet durch die Reduktion des Aldehyds zu Alkohol.

Anscheinend ist aber die Erfüllung einer Voraussetzung unerlässlich: eine Spur von Hexosediphosphat muß vorhanden sein, sonst versiegt die Reaktion. Das Hexosediphosphat wird aber nicht verbraucht, es wirkt als Katalysator. Dies wird als der „stationäre Zustand“ bezeichnet. Eingeleitet wird dieser Teil der Phasenfolge durch die „Angärung“, in deren Verlauf sich die erforderliche Konzentration der reagierenden Substanzen einstellt. Hier wird abermals Hexosediphosphat benötigt (und verbraucht), indem 1 Molekül hiervon und 1 Molekül Glykose + 2 Mol Phosphorsäure 4 Mol Phosphoglycerinaldehyd liefern:



Da in dieser Phase noch kein Acetaldehyd gebildet ist, der an der Oxydo-reduktion des Phosphoglycerinaldehyds teilnehmen könnte, wird er durch ein zweites Molekül Phosphoglycerinaldehyd ersetzt, von welchen das eine zur Phosphoglycerinsäure oxydiert und das andere zur Glycerinphosphorsäure reduziert wird, ähnlich der bekannten Umwandlung des Acetaldehyds durch die Hofmeistersche Mutase bzw. Wielandsche Dehydrase in Essigsäure und Alkohol:



Sobald ausreichende Mengen Acetaldehyd verfügbar sind, verlangsamt sich die Reduktion des Phosphoglycerinaldehyds und die Konzentration der Glycerinphosphorsäure wird gering. Sie könnte für das jeweilige Auftreten geringer Glycerinmengen in Maischen verantwortlich sein.

Die von *Meyerhof* und *Kießling* (16) aufgestellte neue Phasenfolge sieht folgende Reaktionen vor:

#### **Angärung:**



### Stationärer Zustand:



Der größte Teil der als Grundlage dieser Phasenfolge dienenden Versuche ist in Gegenwart von Natriumfluorid ausgeführt worden. Dieses hemmt die Phase b der Folge, wodurch sich der Verlauf auf Phase a beschränkt, in welcher ein Gemisch von Glycerinphosphorsäure und Phosphoglycerinsäure entsteht. Anscheinend wurde dieses von Lohmann als eine neue schwer hydrolysierbare Hexosephosphorsäure angesehen. NaF hemmt die Reaktion des Acetaldehyds bzw. die Oxydation des

Phosphoglycerinaldehyds nicht, und in Gegenwart von NaF wird zugefügter Acetaldehyd weiter reduziert bzw. aus Glykose und Phosphorsäure (in Gegenwart von Hexosediphosphorsäure) solange Phosphoglycerinsäure erzeugt, als Acetaldehyd vorhanden ist.

## **2. Rolle der Zymophosphate.**

Diese Versuche und Betrachtungen beziehen sich aber lediglich auf die späteren Phasen der Kohlenhydratdissimilation in der Folge einer zellfreien Gärung. Aus ihnen gewinnen wir keine neuen Anhaltspunkte hinsichtlich der ersten Phasen einer Saftgärung und namentlich nicht über die Entstehung und Ansammlung der Hexosephosphate (16a), welche den Abbruch des Zuckermoleküls in Gegenwart von Phosphat durch alle Muskelextrakte bzw. Hefesäfte begleiten, zum Unterschied zu den Vorgängen in der lebenden Zelle, wo dies nicht der Fall zu sein braucht (17).

Einen wenig beachteten experimentellen Ausgangspunkt hat letztere Postulierung, der neuerdings (1933) auch *Harden* beipflichtet, zunächst in einer Beobachtung von *Somogyi* (18) gefunden, der feststellte, daß beim geeigneten Zusammenbringen einer Hefeaufschämmung mit einer Glykoselösung in Gegenwart von Eiweiß (auch bei 0°) im Filtrat kein Zucker zu finden war. Seine Annahme von einer hier in Erscheinung tretenden Adsorption hat er dadurch bekräftigen können, daß ihm der Nachweis der Besonderheit des Vorganges bei vergärbaren Zuckern gelang, im Gegensatz zum Falle der Lactose, Arabinose usw., die von Hefenzelloberflächen unter den gleichen Bedingungen nicht adsorbiert werden, sondern sich quantitativ wiederfinden. — Man könnte diese Beobachtung im Geiste der Terminologie der Gegenwart als dem Spreizen, Deformieren oder Lockern der Bindungen der Substratmoleküle durch die Adsorptionskräfte auf der Zelloberfläche vorhandener Enzyme gleichsetzen. Es kommt hierdurch eine Molekülkonstruktion zustande, welche wir als vergärbare Zuckerform, „Transportform“ (19) bezeichnen und eingehend erörtert haben, ohne aber daß man im Sinne der klassischen Strukturchemie von einer raumisomeren Umwandlung sprechen dürfte. Auf Grund von an anderer Stelle ausführlich dargelegten reaktionskinetischen Betrachtungen (20) wird es dann ohne weiteres begreiflich, daß ein deformiertes Molekül in der Zelle auch ohne Vereinigung mit der zum Aufbau des Hefezelleibes erforderlichen und vorhandenen Phosphorsäure durch direkte Entstehung

von labilen C<sub>3</sub>-Bruchteilen zerfällt. Unter diesen Umständen wird es auch vorstellbar, daß das aus dem Zellleib stammende Hexosediphosphat die Rolle des bei einer Saftgärung erforderlichen, keinem Verbrauch unterworfenen Katalysators übernehmen kann. Aus der oft beobachteten Beschleunigung einer zellfreien Gärung durch Zusatz von Alkaliphosphaten (und anderen Salzen), die immer aufhört, wenn das Alkaliphosphat verbraucht ist, lag demnach — wie wir dies wiederholt ausgeführt haben — keine Berechtigung vor zu schließen, daß die Zymophosphatstufe eine biochemisch integrierende Durchgangsstufe bei der Zellgärung sei. Dies bleibt insbesondere den etwas kategorisch klingenden Ausführungen Nilsäters (20a) gegenüber zu betonen.

Gestützt wird diese Auffassung nicht nur durch die interessanten Beobachtungen von *Ashford* und *Holmes* (21), die fanden, daß in Gehirnzellen die Milchsäure aus Glykose ohne Mitwirkung von Phosphaten entsteht, nicht nur — wie ich bereits früher andeutete — weil das Verhältnis zwischen entbundener Kohlensäure zu Hexosediphosphat bzw. Hexosemonophosphat, vonein-

ander unabhängig betrachtet, innerhalb weiter Grenzen schwankt, sondern es bewegen sich sogar die Grenzwerte des Verhältnisses entbundener Kohlensäure zum veresterten Gesamphosphor laut den Untersuchungen von *Harden und Henley* (22) bzw. *Kluyver und Struyk* (23) zwischen 0,6 und 1,09<sup>a)</sup>.

Entsprechend diesen Betrachtungen dürfte die Möglichkeit nicht ausgeschlossen werden, daß die Zymophosphatbildung im Laufe einer Gärung mit lebenden Zellen keine ihrem Wesen eigentümliche Reaktion darstellt, sondern eine nebenher verlaufende Phase, die lediglich unter z. B. bei der zellfreien Gärung erzwingbaren Versuchsbedingungen und hohen Phosphormengen in den Vordergrund gedrängt werden kann.

### 3. Kinetik der Zellgärung.

Wird nunmehr der Versuch gemacht, sich über die physikalischen und chemischen Voraussetzungen für das Zustandekommen einer Zellreaktion Rechenschaft zu geben, so ist es naheliegend, der Einfachheit halber mit einzelligen Systemen zu operieren und von folgender Überlegung auszugehen: Damit eine stoffliche Umwandlung in der Zelle entstehen kann, ist es erforderlich, daß 1. das Substrat in den Reaktionsraum gelangt, d. h. durch die Zellmembran permeiert und hier 2. nach erfolgtem Eintritt in den Reaktionsraum chemisch bzw. enzymatisch umgesetzt wird, wobei im letzteren Falle die Substratmoleküle und Katalysatoren miteinander in geeignete Berührung kommen müssen.

Im Rahmen ausgedehnter Untersuchungen (24) über die Rolle der Zellpermeabilität bei enzymatischen Reaktionen ergab sich dann die Möglichkeit, auch die Kinetik (25) der durch lebende Hefezellen bewirkten Gärung zu untersuchen.

Die älteren Ergebnisse fußten auf der Voraussetzung, daß es sich hierbei um einen Reaktionsverlauf handelt, dessen Geschwindigkeit der Hefemenge proportional ist und durch die Gleichung einer monomolekularen Reaktion wiedergegeben werden kann. Demgegenüber stellten frühere Untersucher fest, daß die Gärgeschwindigkeit innerhalb der Grenzen von 0,5 bis 10,0% von der Glucosekonzentration annähernd unabhängig ist. Dieser Gegensatz wurde bisher anscheinend nicht genügend beachtet. Es handelt sich hierbei nämlich nicht um den Verlauf einer Reaktion, die durch die Oberfläche freiliegender Zymasen allein beeinflußt wird, sondern der Abbau des Zuckermoleküls spielt sich in einem geschlossenen Raum ab, in welchen der Zucker durch eine Membran permeiert. Durch diese Erkenntnis wird der obige Gegensatz ausgeglichen. Sie wurde geprüft, indem wir den Einfluß verschiedener Rührgeschwindigkeiten auf den Reaktionsverlauf untersuchten. Es hat sich bei dieser Beeinflussung des Gäraktes herausgestellt, daß unter den gegebenen Versuchsbedingungen die für die Diffusionshemmungen im Außenmedium bisher verantwortlich gemachte Sedimentation der Zellen bereits bei einer Rührgeschwindigkeit von 20 Touren/min aufgehoben wird. Bei einer bis zu 150/min steigenden Tourenzahl zeigte sich ein gleichmäßiger Anstieg der Gärgeschwindigkeit. Diese weitere Beschleunigung der Reaktion ist — da die Diffusionsunterschiede bereits bei einer Tourenzahl 20/min ausgeglichen waren — lediglich auf die relative Membranbewegung gegenüber der Substratlösung bzw. auf die hierdurch bedingte Membranoberflächenvergrößerung

<sup>a)</sup> Vgl. hierzu auch die Untersuchungen von *Stig Veibel*, Biochem. Ztschr. 239, insbes. S. 358 [1931], und die Analyse dieser Arbeit von *C. Neuberg* und *E. Simon*, Ergebnisse der Enzmorforschung 2, 119 [1933].

zurückzuführen, wodurch mehr Zucker in die Zelle zu permeieren vermag. Die bei wechselnder Anfangszuckerkonzentration abgelaufenen Gärungen lassen den Schluß zu, daß der Reaktionsverlauf bei einer Konzentration von 4% im Gegensatz zu den Befunden von *Slator* keine Höchstgeschwindigkeit zeigt, sondern daß sie weiter ansteigt. Bei hohen Konzentrationen wird die Membranpermeabilität herabgesetzt. Die Kurve, die den Reaktionsverlauf (Zeit: Geschwindigkeit) selbst wiedergibt, entspricht der exponentiellen Funktion

$$-\frac{dc}{dt} = \frac{\mu k}{k - \mu} S_0 (e^{-kt} - e^{-\mu t})$$

im Gegensatz zur bisherigen Betrachtung, welche einer geraden Linie entsprach. Sie ist die Lösung der Differentialgleichung:

$$\frac{d^2 c}{dt^2} + (\mu + k) \frac{dc}{dt} + \mu kc = 0$$

in welcher  $\mu$  eine Konstante,  $c$  = Zuckerkonzentration in der Zelle,  $k$  = Konstante der monomolekularen Reaktion bedeuten.

Ähnliche Versuche wurden später auf sich vermehrende Hefezellen übertragen. Hierbei konnten unsere Ergebnisse bestätigt werden. (26).

### 4. Zur Enzymologie der Gärung.

Eine wichtige Feststellung auf dem rein enzymologischen Gebiet der Gärung fand ihren Ausgangspunkt in der Beobachtung (27), daß unter Einhaltung einer bestimmten Wasserstoffionenkonzentration möglich wurde, von der Apozymase das Magnesium zu trennen und dadurch den komplexen Charakter der *Hardenschen Cozymase* darzutun. *Auhagen* (28) hat nämlich den erfolgreichen Versuch unternommen, von der Apozymase im schwach alkalischen Medium weitere Komponenten abzulösen. Die Apozymase wird von einer Phosphatlösung von pH 8 irreversibel geschädigt, während sie eine solche bei pH 7,8 noch gut verträgt. Es bleibt nun eine Apozymase zurück, die sich zwar noch durch Kochsaft, nicht aber durch gereinigtes Cozymasepräparat aktivieren läßt. Ebenso verhält sich die Apozymase nach dieser Behandlung gegen Brenztraubensäure. *Auhagen* schloß daraus, daß von der Apozymase ein Coenzym der Carboxylase losgelöst wurde. Er schlug hierfür die Bezeichnung „Cocarboxylase“ und für den davon befreiten Rest „Ätiozymase“ vor.

Es ist derzeit noch nicht zu entscheiden, ob die Cocarboxylase als alleiniger Beschleuniger der Brenztraubensäurespaltung anzusehen ist, oder ob sie selbst noch weitere Teilprozesse der Gärung aktiviert. Sie spielt sicherlich keine Rolle bei der Methylenblau-Entfärbung, aber bereits die Veresterung durch die Phosphorsäure ist in Abwesenheit des abgelösten Katalysators nur ganz gering. Die Cocarboxylase kommt auch in tierischen Organismen vor, jedoch verschiebt sich das Verhältnis Cozymase zu Cocarboxylase = 2 : 1 bei der Hefe zu 7 : 1 bis 30 : 1 in tierischen Organen.

Von theoretischem Interesse sind überdies im Bereich der Gärungsenzyme die Modellversuche von *Langenbeck* (29) zum Bau einer wirksamen Carboxylase, sie gipfeln in dem Schluß, daß die aktive Gruppe der Carboxylase eine Aminogruppe ist.

Umfangreiche Versuche sind vom Verfasser und seinen Mitarbeitern über das Verhalten zellfreier Zymaselösungen vorgenommen worden, die den Zweck hatten, unter Anwendung der Kryolyse (30) Anhaltspunkte für den physikalisch-chemischen Mechanismus der Enzymwirkung zu finden. Es konnten auf diesem Wege Zusammenhänge zwischen der Leistungsfähigkeit

des aktiven Bestandteiles des kolloiden Enzymsystems und dem Dispersitätsgrad des Trägersystems experimentell festgestellt und belegt werden.

### 5. Biologie der Gärung.

Seit der Entdeckung des Glutathions sind Rolle und Wirkungsweise dieser Verbindung oft erörtert worden. In diesem Zusammenhang ist die Untersuchung von *Quastel* und *Wheatley* (31) über die Wirkung des SH-Glutathions auf die aerobe Gärung von Interesse; durch diese wird das Verhältnis zwischen veratmeter und vergorener Glykose stark verschoben. Die entbundene  $\text{CO}_2$ -Menge nähert sich derjenigen, welche bei anaerober Gärung gemessen werden kann. Anscheinend besitzt Glutathion die Fähigkeit, nur die *Pasteursche* Reaktion zu beeinflussen, während sich Cystein auch mit den Enzymen der Atmung verbindet. Ob diese Deutung befriedigend ist, möge dahingestellt bleiben, jedenfalls handelt es sich um eine komplizierte Correlationsaufhebung zwischen Atmung und Gärung und steht in guter Übereinstimmung mit dem wichtigen Befund von *Bumm* und *Appel* (32), die nachgewiesen haben, daß Glutathion auch die aerobe Glykose von Tumorzellen bis zur Größenordnung anaerober Glykose zu steigern vermag.

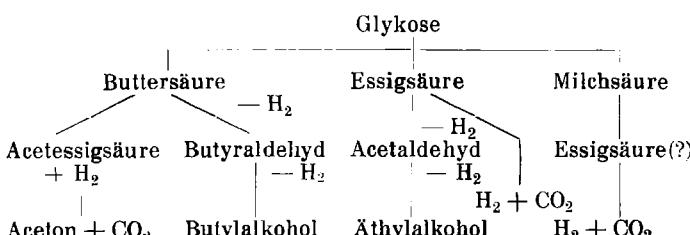
Vom biologischen Standpunkt ist im übrigen noch die Bestimmung der Zellinnern-Wasserstoffionenkonzentration (33) bei der Hefe mit Hilfe eines Mikromanipulators auf colorimetrischem Wege von Interesse. Trotz der Zähigkeit der Zellmembran war es möglich, mit verschiedenen Indikatoren übereinstimmende Resultate zu erzielen, die bei der angewandten Oberhefe im Bereich von 5,9 bis 6 liegen. Dieses Ergebnis ist inzwischen auf anderen Wegen bestätigt worden (34) und gibt die am Ort des eigentlichen enzymatischen Geschehens herrschende Wasserstoffionenkonzentration an.

Die Möglichkeit der Gewinnung 100%igen schweren Wassers im chemischen Laboratorium der Universität Princeton, N. J., hat in jüngster Zeit dazu geführt, auch die Zellgärung in diesem Medium zu untersuchen. Es stellt sich heraus, daß die Gärgeschwindigkeit in 100%igen [Deuterium- (Diplogen-)] Wasser etwa neunfach langsamer ist als in gewöhnlichem destilliertem Wasser, während im 60%igen Agens der Faktor der Verlangsamung nur etwa 1,6 beträgt (35).

### 6. Die Butylgärung.

Zum Schluß sei noch wegen ihrer Bedeutung auch der Butylgärung Erwähnung getan. *Donker* (36) bzw. *van der Lek* (37) haben in jüngster Zeit die Untersuchungen von *Reilly* und Mitarbeitern bzw. *Speakman* an Hand einer großen Zahl von Bilanzversuchen nachgeprüft und bestätigt, daß der Butylalkohol aus der teilweisen Reduktion der Buttersäure, während Aceton aus der Essigsäure entsteht. Letztere wird hierbei zuerst zu Acetessigsäure kondensiert, welche wiederum in Aceton und Kohlensäure verwandelt wird. Daß der Äthylalkohol durch Reduktion des Acetaldehyds und der Isopropylalkohol durch Reduktion des Acetons entsteht, erscheint selbstverständlich.

Die Phasenfolge wird durch das folgende schematische Bild am besten wiedergegeben (38):



Während der Drucklegung dieses Berichtes ist eine Arbeit von *Sobotka* und *Holzman* (39) erschienen, in welcher erneut eine Entscheidung im alten Streit über die direkte Vergärbarkeit von Maltose angestrebt wird. Die nach Ansicht der Autoren für die direkte Vergärbarkeit entscheidenden Messungen sind in Sauerstoff- und Stickstoffatmosphäre, im *Barcroft-Warburg*-Apparat, mit einer besonderen, maltasefreien Hefe der *Wallerstein*-Laboratorien, New York, ausgeführt worden. Diese Hefe wächst in einer 10%igen Malzextraktlösung, deren pH durch Zufügen von konz. Schwefelsäure auf 2,5—2,8 gebracht ist.

### 7. Literatur.

Für die Heranziehung der Literatur gilt neben dem vorgeschriebenen Umfang die Vorbemerkung der Schriftleitung Seite 247 dieser Zeitschrift. Wegen weiterer Angaben sei daher auf die kritische Übersicht von *K. Wetzel*: Die chemischen Vorgänge beim biologischen Kohlenhydratabbau, 2. Teil: Die oxydoreduktive Phase, Ergebnisse der Biologie 10, 323 [1934], mit 1332 Literaturstellen aufmerksam gemacht.

- (1) *G. Embden, H. J. Deulicke u. G. Kraft*, Klin. Wechschr. 12, 213 [1933]. — (2) *C. Neuberg u. M. Kobel*, diese Ztschr. 46, 711 [1933]. — (3) *B. Hvistendahl*, ebenda 46, 335 [1933]. — (4) *R. Nilsson*, ebenda 46, 647 [1933]. — (5) *H. v. Euler*, Ergebnisse der Enzymforschung 3, 139 [1934]. — (6) *F. F. Nord*, Chem. Reviews 3, 59 [1926]. *A. Harden*, Alcoholic Fermentation, London 1932, S. 97. — (7) *Nelson u. Browne*, Journ. Amer. chem. Soc. 51, 850 [1929]. — (8) *C. A. Browne*, Science 77, 223 [1933]. — (9) *F. F. Nord* u. Mitarb., 1920—1925. — (10) *F. F. Nord*, D. R. P. 434 728 [1924]. — (11) *F. F. Nord*, Protoplasma 2, 300 [1927]. — (12) *H. O. L. Fischer* u. *E. Baer*, Ber. Dtsch. chem. Ges. 65, 337, 1040 [1932]. — (13) *C. V. Smythe* u. *W. Gerischer*, Biochem. Ztschr. 260, 414 [1933]. — (14) *O. Meyerhof* u. *K. Lohmann*, Naturwiss. 22, 134 [1934]. *A. Lebedew*, ebenda 22, 289 [1934]. — (15) *W. Kießling*, Ber. Dtsch. chem. Ges. 67, 869 [1934]. — (16) *O. Meyerhof* u. *W. Kießling*, Biochem. Ztschr. 267, 313 [1933]. — (16a) *A. Harden*, Ergebnisse der Enzymforschung 1, 113 [1932]. — (17) *F. F. Nord*, Mechanism of enzyme Action, Baltimore 1929, S. 11. — (18) Proceed. Soc. exp. Biol. and Med. 24, 320 [1927]. — (19) *F. F. Nord*, Journ. physical Chem. 31, 867 [1927]. — (20) Protoplasma 10, 41 [1930]. Ergebnisse der Enzymforschung 1, 88 [1932]. — (20a) In *H. v. Euler*, Chemie d. Enzyme, München 1934, II/3, S. 448, 468. — (21) Biochemical Journ. 23, 748 [1929]. — (22) Ebenda 23, 235 [1929]; vgl. auch 21, 1216 [1927]. — (23) Proc. K. Akad. Wetensch. Amsterdam 31, 882 [1928]. Vgl. auch Naturwiss. 14, 882 [1926]. Vgl. auch *R. Robison*, The significance of phosphoric esters in metabolism, S. 21, New York, 1932. — (24) *F. F. Nord*, diese Ztschr. 42, 1022 [1929]; Trans. Faraday Soc. 26, 760 [1930]; Science 79, 159 [1934]; Food manufacture 9, 55 [1934]. — (25) Ztschr. Elektrochem. 35, 612 [1929]. — (26) *Alf Klem*, Hvalradets Skrifter Nr. 7, S. 76 [1933]. — (27) *K. Lohmann*, Biochem. Ztschr. 237, 445 [1931]. — (28) Ztschr. physiol. Chem. 204, 149; 209, 20 [1932]; Biochem. Ztschr. 258, 330 [1933]. — (29) Ergebnisse der Enzymforschung 2, 314 [1933]. — (30) Vgl. wegen der Literatur: *F. F. Nord*, Zum Mechanismus der Enzymwirkung unter besonderer Berücksichtigung der Kryolyse, Stuttgart 1933, und Chem.-Ztg. 58, 327, 347 [1934]. Vortrag, IX. Internat. Kongreß für Chemie, Madrid, Ostern 1934. — (31) Biochemical Journ. 26, 2169 [1932]. — (32) Ztschr. physiol. Chem. 210, 79 [1932]. — (33) *S. Mahdi-hassan*, Biochem. Ztschr. 226, 203 [1930]. — (34) *H. Pfeiffer*, Protoplasma 12, 472 [1931]. — (35) *E. Pacsu*, Journ. Amer. chem. Soc. 56, 245 [1934]. — (36) Dissertation, Delft 1926. — (37) Dissertation, Delft 1930. — (38) *A. J. Kluyver*, The chemical activities of micro-organisms, London 1931, S. 50, 53. — (39) Biochemical Journ. 28, 734 [1934].