

Der elektrochemische Austausch zwischen unedleren Atomen und edleren Ionen verläuft in der Regel vollständig und führt zu sehr reinen Präparaten. Der einzige Nachteil dieser Isolierungs- und Trennungsmethode ist die Reaktionsfähigkeit des abscheidenden Trägermetalls. Diese Reaktionsfähigkeit bewirkt in kurzer Zeit eine Korrosion der Metalloberfläche, die u. a. auch eine Verkürzung der ausgesandten Strahlen der darauf niedergeschlagenen radioaktiven Atomart zur Folge hat. Weiterhin wird beim Ablösen der abgeschiedenen radioaktiven Atomart gleichzeitig auch das Trägermetall mitgelöst, also die Gewinnung einer reinen Lösung der radioaktiven Atomart unmöglich gemacht.

Es gibt nun Wege, die so erfolgreiche Methode der elektrochemischen Abscheidung beizubehalten und trotzdem die nachteilige Reaktionsfähigkeit des abscheidenden Metalls zu vermeiden. Man kann nämlich bei den edelsten Metallen, wie Platin bzw. Gold, entweder durch Wasserstoffbeladung in geeigneter H-Ionenkonzentration oder durch Erhöhung des Lösungsdruckes mittels eines Komplexbildners künstlich ein Metallpotential schaffen, demgegenüber die abzuscheidenden Ionen edler sind und deshalb auf dem an sich sehr edlen Metall abgeschieden werden⁵¹). Durch einfaches Ablösen mit Säure läßt sich dann eine reine Lösung der radioaktiven Atomart ohne Trägerelement erhalten.

An Stelle der weiter oben genannten elektrochemischen Abscheidungen auf unedleren reaktionsfähigen Metallen können danach die folgenden elektrochemischen Abscheidungen auf Edelmetallen durchgeführt werden:

1. Auf Platin aus mit Wasserstoffgas gesättigter $^{210}_{10}$ Kalilauge werden das Bleisotop Thorium B und das Wismutisotop Thorium C abgeschieden⁵¹).
2. Auf Platin aus mit Wasserstoffgas gesättigter $^{210}_{10}$ Salzsäure werden die Wismutisotope Thorium C bzw. Radium E und das Polonium niedergeschlagen, die Bleisotope Thorium B bzw. Radium D bleiben in Lösung⁵²).
3. Auf Gold aus einer Lösung, die an Salzsäure normal und an Thioharnstoff 0,9 molar ist, wird das Polonium abgeschieden, während das Bleisotop Radium D und das Wismutisotop Radium E gelöst bleiben⁵¹). Bei dieser Abscheidung kommt es jedoch maximal nur zu einer Belegung der Goldoberfläche mit Polonium in einatomarer Schicht, was pro Quadratcentimeter der Gleich-

⁵¹) O. Erbacher, Naturwiss. 20, 390 [1932].

⁵²) O. Erbacher, Z. physik. Chem., Abt. A 156, 142 [1931].

gewichtsmenge zu 3 mg Radium entspricht. Eine hohe Konzentrierung des Poloniums auf kleiner Fläche kann durch folgende Abscheidung erzielt werden:

Auf Platin aus mit Wasserstoffgas gesättigter 12%iger Salzsäure bei Gegenwart von 0,1 mg Wismut wird das Polonium abgeschieden, das Bleisotop Radium D und das mit dem inaktiven Wismut vermischte Radium E bleiben in Lösung, letzteres aus dem Grunde, weil es unter den vorliegenden Bedingungen höchstens zu einer Wismutabscheidung in einatomarer Schicht kommen kann⁵¹).

Wenn wir nun rückschauend die einzelnen Vorgänge betrachten, die in den behandelten Fällen zu einer Trennung von Elementen in unwägbarer Menge geführt haben, so sehen wir, daß das chemische Verhalten von gewichtslosen Mengen von Elementen keine durch die winzigen Mengen bedingte Sonderstellung einnimmt, sondern durchaus in den Rahmen der gewöhnlichen Chemie eingeordnet werden kann.

Die gewichtslosen Mengen zeigten ein den wägbaren Mengen analoges Verhalten hinsichtlich der Mischkristallbildung, der Verteilung zwischen zwei Flüssigkeiten und der Verdampfung. Weiterhin zeigte sich auch ein gesetzmäßiges Verhalten bei der Ionenadsorption an Metalloberflächen und bei dem elektrochemischen Austausch von unedleren Metallatomen mit edleren Metallionen. In diesem Zusammenhang sei noch darauf hingewiesen, daß im Falle des Wismuts mit Hilfe eines radioaktiven Isotops die Gültigkeit der Nernst'schen Potentialformel bis zu einer Konzentration von 10^{-9} nachgewiesen werden konnte⁵³). Schließlich hat die Bestimmung der Löslichkeit von Radiumsulfat in Wasser mit steigender SO_4 -Ionenkonzentration ergeben, daß unter Berücksichtigung der Aktivitätskoeffizienten das Massenwirkungsgesetz bis zu einer molekularen Konzentration von 10^{-8} streng gültig ist⁵⁴).

Dieses normale chemische Verhalten von in unwägbarer Menge vorliegenden Elementen dürfte es uns schwer möglich machen, auch die Isolierung der vielen künstlichen radioaktiven Atomarten durchzuführen, mit denen bisher noch nicht chemisch gearbeitet worden ist. Die vorliegende Übersicht über die bisher gebrauchten Trennungsmöglichkeiten soll ebenfalls hierzu beitragen.

Eingeg. 13. Juni 1941. [A. 47.]

⁵³) G. r. Hevesy, Physik. Z. 15, 801 [1914].

⁵⁴) B. Nikitin u. O. Erbacher, Z. physik. Chem., Abt. A 158, 231 [1932]; B. Nikitin u. P. Tolmischeff, ebenda 167, 260 [1933].

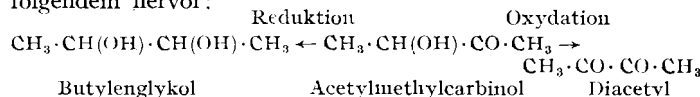
Über die Bildung des Butteraromas bei der Rahmsäuerung*)

Von Prof. Dr. ARTTURI I. VIRTANEN. Aus dem Biochemischen Institut, Helsinki, Finnland

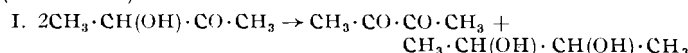
Die gegenwärtige Auffassung vom Säuerungsprozeß des Rahms bei der Butterbereitung ist in kurzen Umrissen folgende: Die Milchsäurestreptokokken, vorzugsweise *Str. cremoris*, setzen den p_H -Wert des Rahms unter 5 herab, wonach die aromabildenden Streptokokken, welche Hammer¹) *Str. citrovorus* und paracitrovorus und Sönke Knudsen²) *Betacoccus cremoris* nennt, Aromastoffe sowie andere Gärprodukte, zunächst Milchsäure und flüchtige Fettsäuren bilden. *Betacoccus cremoris*, welcher allein für sich in Milch schlecht wächst, weist mit *Str. cremoris* zusammen beträchtlich besseres Wachstum auf, wie Knudsen nachgewiesen hat. Die Aromabildung ist eine Folge der Zusammenarbeit der Milchsäurestreptokokken und der Betakokken, wobei die hauptsächliche Aufgabe der ersteren in der Säuerung der Milch auf einen für die Aromabildung geeigneten p_H -Wert sowie in der Förderung des Wachstums der Aromabakterien besteht. Obgleich es in den letzten Jahren gelungen ist, stark säurebildende Streptokokken zu isolieren, welche auch Aroma bilden, erfolgt die Säuerung des Rahms weiterhin mit Hilfe von Mischkulturen.

Früher hatte man gewöhnlich das Aroma mit der sauren Reaktion verknüpft, weil Butter, welche aus ungesäuertem Rahm hergestellt ist und deren Reaktion nahezu neutral ist, kein typisches Aroma besitzt. Bereits 1925 stellten wir in unserem Laboratorium fest, daß der Aromastoff der Butter keine Säure, sondern ein neutraler, mit Wasserdampf flüchtiger Stoff, voraussichtlich ein Aldehyd oder Keton ist; erst 1929 stellten Kluyver u. Mitarb.³) sowie Schmalfuß⁴) fest, daß der Aromastoff der Butter aus Diacetyl besteht.

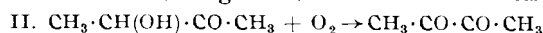
Daneben entstehen stets größere Mengen Acetylmethylcarbinol sowie unter gewissen Versuchsbedingungen außerdem noch Butylenglykol, die beide geruchlos sind. Da jedoch alle diese Stoffe Oxydations- bzw. Reduktionsprodukte voneinander darstellen und gleichzeitig gebildet werden, gehen sie der Einfachheit halber oft unter der Gruppenbezeichnung „Aromastoffe“. Aufbau und Wechselbeziehungen gehen aus folgendem hervor:



Man könnte sich z. B. vorstellen, daß das Acetylmethylcarbinol das erste Produkt wäre, woraus dann durch enzymatische Oxydoreduktion Diacetyl als Oxydationsprodukt und Butylenglykol als Reduktionsprodukt entstehen würde (Reaktion I).



Wäre dies der Fall, so müßte die Bildung von Diacetyl auch unabhängig vom Sauerstoff erfolgen. Diese auch in praktischer Hinsicht wichtige Frage wurde 1934 zusammen mit Tarnanen⁵) untersucht und hierbei festgestellt, daß unter anaeroben Verhältnissen überhaupt kein Diacetyl gebildet wird, weshalb die Reaktion von Cannizzaro nicht in Frage kommen kann. Diacetyl wird nur in Anwesenheit von Sauerstoff gebildet, u. zw. um so reichlicher, je größer die Sauerstoffkonzentration in der Lösung ist. Es kommt also nur Reaktion II



¹) Vorgetragen am 7. Mai 1941 in Veterinär- und Landbohnskole zu Kopenhagen.

²) Hammer u. Bailey, Iowa agr. exp. Station, Res. bul. Nr. 55, [1919].

³) Knudsen u. Sørensen, Kgl. veterinär- og Landbohnskole, Aarskr. 1929, 64.

⁴) van Niel, Kluyver u. Derx, Biochim. Z. 210, 234 [1929].

⁵) Schmalfuß u. Barthmeyer, ebenda 210, 330 [1929].

⁵) Virtanen, finn. Patentanm., Nr. 17629 vom 29. September 1934; Virtanen u. Tarnanen, Suomen Kemistilehti B, 9, 2 [1936]; Virtanen, Ber. des XI. Milchwirtsch. Weltkongr., Berlin 1937.

in Betracht. Möglich ist, daß die Oxydation gleichzeitig mit der Bildung des Acetylmethylcarbinols aus Brenztraubensäure (vgl. unten) stattfindet, und daß das fertige Acetylmethylcarbinol nicht oxydiert wird (*van Beynum* u. *Pette*)¹⁰⁾.

Alle Verfahren, bei denen während des Butterungsprozesses Luft und somit auch Sauerstoff durch ein indifferentes Gas, wie Kohlendioxyd oder Stickstoff, entfernt werden soll, zeitigen eine Butter mit niedrigem Aromagehalt und sind deshalb abzulehnen. Unsere Versuche zeigten im Gegenteil, daß der Diacetylgehalt der Butter um so höher wird, je mehr Sauerstoff während des Säuerungsprozesses dem Rahm oder während des Butterungsprozesses der Kirne zugeführt wird. Der anwendbaren Sauerstoffkonzentration ist jedoch dadurch eine Grenze gesetzt, daß die Milchsäurebakterien bei hoher Sauerstoffkonzentration schlecht wachsen.

Eine außergewöhnlich reichliche Bildung von Diacetyl wurde erzielt, wenn einige Minuten lang ein Sauerstoff- bzw. Luftstrom in den Säurewecker während des Reifens geleitet wurde; ließ man dagegen den Säurewecker in einem bis zum Hals gefüllten *Erlenmeyer*-Kolben reifen (Tab. 1), so wurde überhaupt kein Diacetyl gebildet.

Tabelle 1.

	Zeit h	Diacetyl (Ni-dimethyl- glyoxim mg)	Acetylmethyl- carbinol (Ni-dimethyl- glyoxim mg)
Kein Sauerstoff eingeleitet, anaerober Zustand	18	0	+ ^{*)}
Sauerstoff 3mal während der Säuerung eingeleitet	18	19	+ ^{*)}
Sauerstoff 5mal während der Säuerung eingeleitet	42	22,4	10,1

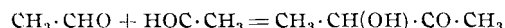
^{*)} Nicht quantitativ bestimmt.

Daß Sauerstoff für die Diacetylbildung unerlässlich ist, haben ferner *Hammer* u. Mitarb.⁶⁾ ohne Kenntnis unserer Arbeiten später feststellen können. *Werkman* u. *Hammer*⁷⁾ haben während der Säuerung Luft in den Rahm gepreßt und auf diese Weise besonders aromareiche Butter erzielt; durch Variieren des Drucks konnte der Aromagehalt nach Wunsch gesteigert oder vermindert werden.

Acetylmethylcarbinol wird in dem Säurewecker auch unter anaeroben Verhältnissen gebildet. Aber auch hier nimmt die Menge zu, wenn die Sauerstoffkonzentration in der Lösung steigt. Unsere späteren Untersuchungen (s. w. u.) geben eine Erklärung für diese Erscheinung.

Allgemein wird angenommen, daß die Aromastoffe aus der Citronensäure in der Milch gebildet werden, und daß die kennzeichnendste Eigenschaft der Aromabakterien das Vermögen sei, die Citronensäure zur Gärung zu bringen. Diese allgemein anerkannte Auffassung gründet sich hauptsächlich auf die Untersuchungen von *Hammer* u. Mitarb.⁸⁾ sowie von *van Beynum*⁹⁾. Der Citronensäuregehalt der Milch beträgt im Durchschnitt 0,2 %. Daß durch Zusatz von Citronensäure zum Rahm der Aromagehalt erhöht wird, wie oft behauptet wird, ist nicht immer der Fall, u. zw. offenbar deshalb, weil die Milch dann bereits die für die Aromabildung optimale Citronensäuremenge enthält.

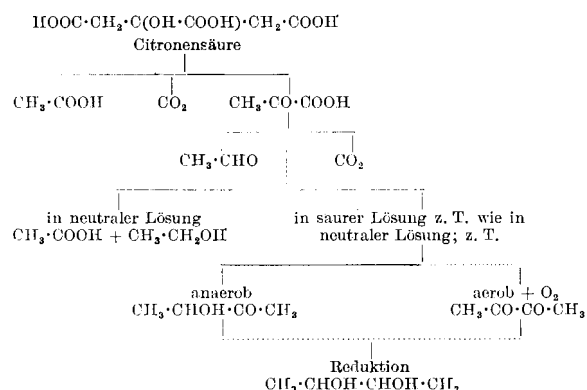
In Analogie mit den mit Hefe gemachten Entdeckungen hat man vermutet, daß das Acetylmethylcarbinol aus zwei Acetaldehydmolekülen durch Acyloinkondensation entsteht:



Nach *Neuberg* soll diese Reaktion ein besonderes synthetisierendes Enzym, Carboligase benannt, voraussetzen. Nach *Dirschel* wäre ein solches Enzym unnötig, da Acetaldehyd, welcher aus Brenztraubensäure durch Carboxylase entsteht, in statu nascendi ohne weiteres zu Acetylmethylcarbinol kondensiert wird. Auf alle Fälle müßte die Bildung des Acetylmethylcarbinols nach der genannten Auffassung das Vorkommen von Carboxylase bei den Aromabakterien und die Entstehung von Acetaldehyd aus Brenztraubensäure voraussetzen.

van Beynum u. *Pette*¹⁰⁾ haben vor einigen Jahren eine eingehende Beschreibung des Bildungsmechanismus der Aromastoffe veröffentlicht. Hierbei nahmen sie an, daß die Citronen-

säure der Ausgangsstoff für die Acetylmethylcarbinolbildung ist und daß die Aromabakterien Carboxylase enthalten. Ihr Gärungsschema ist folgendes:



Danach soll sich aus der Citronensäure zuerst Brenztraubensäure bilden, woraus weiter Acetaldehyd und aus diesem in neutraler Lösung Essigsäure und Alkohol, in saurer Lösung außerdem unter anaeroben Verhältnissen Acetylmethylcarbinol und unter aeroben Verhältnissen dazu noch Diacetyl entstehen sollen.

Die Untersuchungen *van Beynums* u. *Pettes* sowie anderer Forscher zur Ergründung der Aromabildung wurden mit wachsenden Bakterien in verschiedenen Nährböden ausgeführt, wie Milch oder synthetischen Nährlösungen, welche Zucker und Citronensäure oder andere bei der Aromabildung in Frage kommende Stoffe enthalten. Unter derartigen Versuchsbedingungen kann man keine schlüssigen Beweise führen, da das System allzu viele Stoffe unbekannter Wirkung enthält. Schon die erste grundlegende Frage, ob die Aromastoffe in der Tat aus Citronensäure gebildet werden oder nicht, findet unter diesen Versuchsverhältnissen keine Beantwortung, obwohl die Ergebnisse für die Citronensäure als Ausgangsstoff zu sprechen scheinen. In einer Lösung, welche Lactose enthält, entstehen ohne Citronensäure keine Aromastoffe; erst nach deren Zugabe setzt ihre Bildung ein.

Da viele Bakterien, wie z. B. die *Aerogenes*-Bakterien, Acetylmethylcarbinol als Gärprodukt aus Zucker bilden, erscheint es überraschend, daß die Aromabakterien dieses Carbinol nur aus Citronensäure bilden sollen, obwohl sie die Gärung des Zuckers zu Milchsäure und flüchtigen Fettsäuren herbeiführen und hierbei als Zwischenprodukt Brenztraubensäure bilden. Weshalb sollte sich nun die aus Citronensäure als Zwischenprodukt entstandene Brenztraubensäure besser als die bei der Gärung des Zuckers entstandene zur Acetylmethylcarbinolbildung eignen? Zur Klärung dieser Frage wurde folgende Methodik angewendet, deren wir uns schon jahrelang bei der Untersuchung bakterieller Gärungsprozesse bedient haben. Sie besteht in der Ausführung von Gärversuchen mit einer Bakterienmasse, welche von der Kulturlösung durch Zentrifugieren getrennt und hiernach in einer Wasserlösung des zu untersuchenden Substrats aufgeschlämmt ist. Nach diesem Verfahren hat *Storgårds*¹¹⁾ 1939 in unserem Laboratorium umfangreiche Untersuchungen an Aromabakterien angestellt. Sie wurden zunächst durch das schlechte Wachstum der Aromabakterien in den meisten Nährlösungen erschwert; in der von *Hammer* vorgeschlagenen Tomaten-nährlösung jedoch wuchsen die Aromabakterien immerhin so gut, daß auf diese Weise die Bakterienmassen für die Gärversuche erzeugt werden konnten. Die Untersuchungen von *Storgårds* zeigten

1. daß die Aromabakterien in Glucoselösung keine Aromastoffe bilden, selbst wenn der p_H -Wert der Lösung für die Entstehung dieser Stoffe optimal (also $p_H = 4-5$) ist und Ca-Ionen in der Lösung vorhanden sind,
2. daß auch in Citronensäurelösung unter den gleichen Verhältnissen keine Aromastoffe gebildet werden,
3. daß dagegen in einer Lösung, welche sowohl Glucose als auch Citronensäure enthält, unter den gleichen Bedingungen wie oben Aromastoffe gebildet werden.

Diese Ergebnisse beantworten jedoch noch die Frage, ob das Acetylmethylcarbinol aus Zucker oder aus Citronensäure gebildet wird, weil ja nur in Lösungen, welche diese beiden

⁹⁾ *Michaelian* u. *Hammer*, Iowa agr. exp. Station, Res. bul. 205, 208 [1936].

⁷⁾ Amer. Pat. 2196239, 9. April 1940.

⁸⁾ Iowa agr. exp. Station, Res. bul. 63, 65 [1920]; 66, 67 [1921]; 80, 81 [1923]; 106 [1928]; 146 [1931]; 155 [1933]; 179 [1935].

⁹⁾ Versl. landbouwkund. Onderz. Rykslandbouwprouffstat. Hoorn 40 C, 355 [1934].

¹⁰⁾ Ebenda 44 C, 207 [1938].

¹¹⁾ *Meijerit. Aikak. kirja*, Helsinki 2, 22 [1940].

Stoffe enthielten, Aromastoffe entstanden. Es zeigte sich also, daß die Frage recht kompliziert ist. Besonders bemerkenswert war die Feststellung, daß in Glucose-Citronensäure-Lösungen, welche keine Ca- oder Ba-Ionen enthielten, keine Aromastoffe entstanden. Demnach waren die Ca- oder Ba-Ionen notwendig für die Entstehung der Aromastoffe. (Tab. 2.)

Tabelle 2.

	50 ml Phosphatpuffer (m/15) 50 ml 2%ige Citronensäurelösung	10 ml 10%ige Glucoselösung 40 ml Bakteriensuspension	Ohne Zusatz	0,1 g CaCl ₂	0,1 g BaCl ₂
pH der Gärungslösung:					
Zu Beginn			5,04	5,02	5,02
Nach 24 h			4,08	4,08	4,04
Nach 48 h			4,52	4,42	4,40
Nach 72 h			4,59	4,43	4,42
Acetylmethylcarbinol + Diacetyl:					
Voges-Proskauer			0	0	0
Nach 24 h			0	1	0
Nach 48 h			0	2	2
Nach 72 h			0	2	2
Ni-Dimethylglyoxim, mg in 150 ml			0	9,8	7,5
Butylenglykol			0	0	0

Da früher *Peldan*¹²⁾ in unserem Laboratorium festgestellt hat, daß für die Bildung der Buttersäure bei der Buttersäuregärung Ca-Ionen notwendig sind und daß sie hierbei allem Anschein nach die Kondensation der Brenztraubensäure zu Brenztraubensäurealdol katalysieren, ist es von besonderem Interesse, daß hier das Calcium auch für die Kondensationsreaktion notwendig zu sein scheint, welche die Bildung des Acetylmethylcarbinols zur Folge hat.

Um Klarheit darüber zu gewinnen, ob der Zucker oder die Citronensäure der Ausgangsstoff für die Bildung der Aromastoffe ist, versuchten wir die Glucose oder die Citronensäure durch einen anderen Stoff zu ersetzen, aus dem eine Bildung von Acetylmethylcarbinol nicht denkbar ist¹³⁾.

In der Tat bildet eine Aromabakterienmasse in einer Glucoselösung, der gute Wasserstoffacceptoren wie Methylenblau oder Chinon zugeführt werden, ohne Anwesenheit von Citronensäure Acetylmethylcarbinol. Dagegen werden aus Citronensäure und denselben Wasserstoffacceptoren keine Aromastoffe gebildet (Tab. 3).

Tabelle 3.

Grundlösung im Versuch: 100 cm³ m/15 KH₂PO₄ + 5 mg CaCl₂; 100 cm³ Bakteriensuspension, 25× Verdünnung.
Versuchszeit: 22.—23. November 1940.

Gärungslösung	pH	Gärzeit h	Voges-Proskauer	Ni-Dimethylglyoxim auf 100 cm ³ Gärungslösung mg	Acetylmethylcarbinol in % der vergorenen Glucose bzw. Citronensäure	Anmerkungen
Versuch I Grundlösung + 100 cm ³ 2%ige Glucoselösung	5,45—3,80 —5,62—4,13 —5,72—4,23 —4,06	22	0	0	0	Vergoren 30% der Glucose.
Versuch II Grundlösung + 100 cm ³ 2%ige Citronensäurelösung (pH 7)	5,99—5,52 —5,48—4,60 —4,23—4,30	24	0	0	0	Vergoren 80% der Citronensäure.
Versuch III Grundlösung + 50 cm ³ 4%ige Glucoselösung + 65 cm ³ Methylenblau 1:500 (allmählich zugesetzt)	5,48—4,06 —5,65—4,33 —5,41—4,18 —4,09	23	—	8,2	2,0	Vergoren 30% der Glucose. Mit 1 Mol Methylenblau wurden 0,43 Mol Acetylmethylcarbinol erhalten.
Versuch IV Grundlösung + 50 cm ³ 4%ige Citronensäurelösung (pH 7) + 2 cm ³ Methylenblau 1:500	5,99—5,55 —5,48—4,26	25	—	0	0	Vergoren 85% der Citronensäure. Die Gärungslösung reduzierte kein Methylenblau.

Damit ist bewiesen, daß die Aromastoffe aus dem Zucker und nicht aus der Citronensäure gebildet werden. In welcher Weise die Aromastoffe aus dem Zucker entstehen und wie der Einfluß der Wasserstoffacceptoren erklärt werden kann, zeigen die folgenden Versuche.

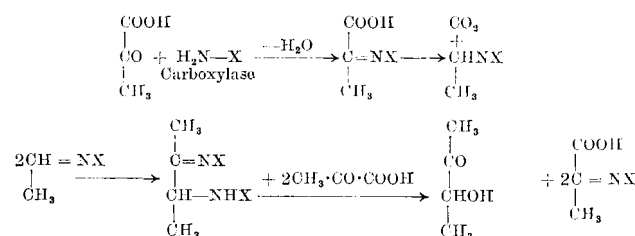
Es wurde bereits erwähnt, daß Hefe Acetylmethylcarbinol aus Acetaldehyd bildet und daß auch die Aromabakterien das gleiche bewirken sollten. Versuche zum Nachweis dieser Hypothese zeigten, daß die Aromabakterien keinen Acetaldehyd aus Brenztraubensäure bilden. Weder in Anwesenheit von Calciumsulfid noch von Dimedon gelang es *Storgårds*, bei

den Gärversuchen mit Bakterienmasse auch nur qualitativ Acetaldehyd nachzuweisen. Auch dauernde Zugabe stark verdünnter Acetaldehydlösung während der Gärung verursachte keine Bildung von Acetylmethylcarbinol¹³⁾.

Aus Brenztraubensäure dagegen wird durch Einwirkung einer Aromabakterienmasse sehr leicht Acetylmethylcarbinol und Diacetyl gebildet. Calciumionen aktivieren auch hier die Bildung der Aromastoffe sehr stark, obgleich die Entstehung dieser Stoffe in Ca-freien Lösungen nicht ganz aussetzte, offenbar dadurch bedingt, daß mit der Bakterienmasse stets ein wenig Calcium folgte. Aus Oxalessigsäure bilden die Aromabakterien auch Aromastoffe, was leicht verständlich ist, da hierbei durch Abspaltung von CO₂ nachweisbar Brenztraubensäure entsteht.

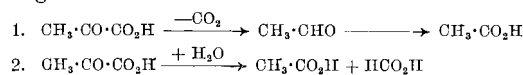
Bei saurer Reaktion entstehen aus Brenztraubensäure anaerob Essigsäure, Acetylmethylcarbinol und CO₂ und aerob außerdem Diacetyl, wie *van Beynum* u. *Pette* schon früher bewiesen haben. Da aus Brenztraubensäure kein Acetaldehyd gebildet wird, so muß die Kondensation im Brenztraubensäurestadium stattfinden. Der Mechanismus dieser Kondensation und der darauffolgenden CO₂-Abspaltung ist nicht bekannt. Offensichtlich ist der Bildungsmechanismus für das Acetylmethylcarbinol bei den Aromabakterien nicht der gleiche wie der bei der Hefe vermutete, da bei den Aromabakterien keine Carboxylase nachgewiesen werden konnte.

Die Auffassung, zu welcher *Langenbeck* durch seine Modellversuche gekommen ist, kann m. E. gut auf die Entstehung des Acetylmethylcarbinols aus der Brenztraubensäure durch Aromabakterien angewandt werden.



Nach Obigem kann man sich eine Bildung von Acetylmethylcarbinol ohne Acetaldehyd als Zwischenprodukt vorstellen. *Langenbeck* hat seine Auffassung auf die Funktion der Hefecarboxylase angewandt, hier taugt diese jedoch offenbar nicht, da gerade die Bildung von Acetaldehyd für die Hefecarboxylase charakteristisch ist. Es hat somit den Anschein, als ob die Aromabakterien ein von der Carboxylase verschiedenes Enzym besäßen, welches die Bildung von Acetylmethylcarbinol herbeiführt. Eine nähere Erforschung dieser Frage wird von Interesse sein.

In welcher Weise die Essigsäure aus der Brenztraubensäure durch Einwirkung der Aromabakterien gebildet wird, ist auch nicht geklärt. Bisher sind zwei verschiedene Bildungsweisen bekannt, nämlich folgende:



Die erste Bildungsweise (Formel 1) haben wir bei unseren Gärversuchen mit verschiedenen Bakterien noch nicht nachweisen können, denn Carboxylase kommt bei *Coli-Aerogenes*-Bakterien, lactosegärenden Buttersäurebacillen und auch bei Propionsäurebakterien nicht vor, und m. W. hat man Carboxylase noch nicht mit Sicherheit bei irgendeiner gut charakterisierten Bakterie nachweisen können.

Die zweite sog. hydroklastische Bildungsweise (Formel 2) hat *Tikka*¹⁴⁾ in unserem Laboratorium mit *Coli-Aerogenes*-Bakterien nachgewiesen. Diese Bildungsweise scheint bei den Bakterien recht allgemein zu sein.

Da die Aromabakterien keine Ameisensäure aus Brenztraubensäure bilden, ist die hydroklastische Bildungsweise der Essigsäure nicht bewiesen.

Nachdem festgestellt war, daß die Aromastoffe aus Zucker über Brenztraubensäure entstehen und daß eine Voraussetzung hierfür die Anwesenheit irgendeines geeigneten Wasserstoffacceptors ist, entstand die Frage nach der Funktion solcher Wasserstoffacceptoren bei der Aromabildung.

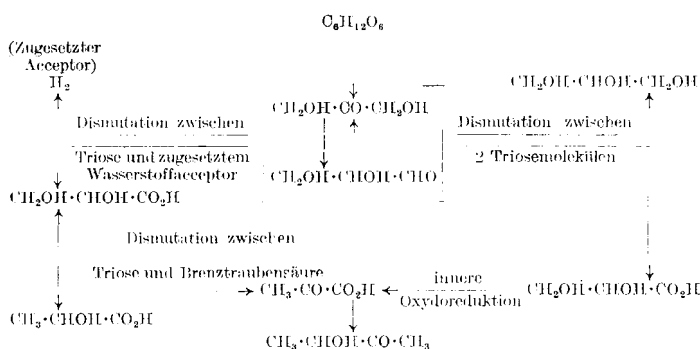
Die Spaltung des Zuckers zum Brenztraubensäurestadium erfolgt mittels der Aromabakterien offenbar in der gleichen Weise wie i. allg. bei Gärungen, also über Triosephosphat und Phosphoglycerinsäure. Die Entstehung der Milchsäure aus Brenztraubensäure ist auch klar. Nun kann man annehmen, daß fremde Wasserstoffacceptoren, wie Methylen-

¹²⁾ S. 10 n. l.aisen Tiedeakatemian Toimituksia [Ann. Acad. Sci., fennicae], Ser. A. 53, 4 [1939].

¹³⁾ *Virtanen, Kontio, Storgårds*, Suomen Kemistilehti B. 14, 4 [1941]; Biochem. Z. 307, 215 [1941].

¹⁴⁾ Biochem. Z. 279, 264 [1935].

blau, Chinon und Citronensäure bzw. deren Spaltungsprodukte, die Reduktion der Brenztraubensäure zu Milchsäure verhindern, indem sie den Wasserstoff von dem Triosephosphat entgegennehmen. Hierbei wird das Triosephosphat zu Phosphoglycerinsäure reduziert, ohne daß eine Reduktion der Brenztraubensäure zu Milchsäure stattfindet. Die Brenztraubensäure könnte somit in der Lösung angereichert werden, wodurch eine Bildung von Acetylmethylcarbinol möglich würde. Diese Verhältnisse sind in untenstehendem Schema dargestellt, in dem die Phosphorsäure der Einfachheit halber weggelassen ist.



Der Einfluß fremder Acceptoren kann in oben beschriebener Weise erklärt werden. Die Dismutation der Brenztraubensäure mit den Triosen ist eine so schnell verlaufende Reaktion, daß sich Brenztraubensäure nicht in solchen Mengen anhäufen kann, wie es die Bildung von Acetylmethylcarbinol voraussetzen würde. Bei der Gärung von Zucker ohne Anwesenheit irgendeines geeigneten fremden Acceptors werden deshalb keine Aromastoffe entstehen.

Tabelle 4.

100 cm ³ m/100 KH ₂ PO ₄ + 20 mg CaCl ₂		100 cm ³ 2%ige Glucoselösung		100 cm ³ Bakteriensuspension K ₁ , 20mal verdünnt im 300-cm ³ -Erlenmeyerkolben.	
	Gärungszeit h	pH	Fäulnisprozent	Ni-Dimethylglyoxim je 100 cm ³ mg	Bemerkungen
Versuch 2: Luft durch die Lösung geleitet	45	6,02 - 3,98	-	3,6	56% Glucose vergoren
Kontrolle: CO ₂ -Strom durch die Lösung geleitet	45	6,02 - 3,91	0	0	54% Glucose vergoren

Analytisch-technische Untersuchungen

Sauerstoffanalyse von Gasgemischen auf physikalischer Grundlage

Von Dr. F. KLAUER, E. TUROWSKI u. T. v. WOLFF

Mitteilung aus den wissenschaftlichen Laboratorien der Auer-Gesellschaft A.-G., Berlin

Für die quantitative Messung des Sauerstoffgehalts von Gasgemischen besteht die Möglichkeit, die paramagnetischen Eigenschaften des molekularen Sauerstoffs heranzuziehen. Die magnetische Volumenssuszeptibilität des molekularen Sauerstoffs hat den Wert $+0,145 \cdot 10^{-6}$, während die Suszeptibilitäten der meisten anderen Gase um eine, meist zwei Größenordnungen darunter liegen (s. Tab. S. 496). Eine Ausnahme hiervon macht lediglich das NO, dessen Suszeptibilität bei $+0,05 \cdot 10^{-6}$ liegt. Durch die Messung der Volumenssuszeptibilität eines Gasgemisches könnte man daher, bei Abwesenheit von NO, den Gehalt des Gemisches an der paramagnetischen Komponente O₂ quantitativ erfassen.

Diese Absolutbestimmung der magnetischen Suszeptibilität ist jedoch nicht einfach genug, um ein technisch anwendbares Meßgerät auf dieser Grundlage aufzubauen; es gibt aber eine Reihe von Erscheinungen, die für paramagnetische Gase spezifisch sind und deren meßtechnische Erfassung für die Zwecke einer Analyse bequemer ist. Hierher gehört zunächst die von Senfleben u. Mitarb.¹⁾ gefundene Erscheinung, nach der die Wärmeleitfähigkeit (λ) von paramagnetischen Gasen im homogenen Magnetfeld verringert wird. Diese Verminderung der Wärmeleitfähigkeit macht sich in einer

Besonders interessant ist die Feststellung, welche ich kürzlich mit Kontio machte, daß auch Sauerstoff eine Aromabildung herbeiführt und somit vermutlich in der gleichen Weise wie Methyleneblau, Chinon und Citronensäure wirkt. Dagegen kommt keine Aromabildung zustande, wenn an Stelle von Luft CO₂ durch die Gärung geleitet wird (Tab. 4).

Diese Wahrnehmungen erklären auch unsere frühere Beobachtung, daß ein Sauerstoff- bzw. Luftstrom die Bildung von Acetylmethylcarbinol im Säurewecker fördert.

Parallel mit unseren Untersuchungen über den Bildungsmechanismus der Aromastoffe haben wir in der letzten Zeit unsere Aufmerksamkeit auch auf die Möglichkeiten gerichtet, welche die erzielten Ergebnisse zur Steigerung der Aromabildung bei der Butterbereitung bieten. In der Praxis können Methyleneblau oder Chinon hierbei natürlich nicht angewandt werden. Der Sauerstoff der Luft dagegen eignet sich sehr gut, zumal er eine Zunahme des eigentlichen Aromastoffes, des Diacetyls, bewirkt.

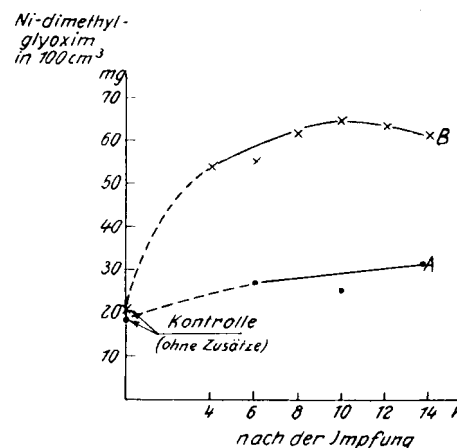
Von den übrigen untersuchten Stoffen hat ein Zusatz von Nicotinsäure zum Säurewecker die Menge des Acetyl-

Abb. 1.

A. Mit Nicotinsäure-zusatz (100 mg auf 100 cm³).

B. Mit Brenztraubensäure-zusatz (100 mg auf 100 cm³).

Die Menge Acetylmethylcarbinol + Diacetyl in Rahmsäuerungskultur (Substrat: entrahmte Milch), Impfmenge 5%, Säuerungszeit 20 h, Temperatur im Anfang 27°, am Ende 20°. Alle Versuche derselben Serie sind Parallelversuche. Nicotinsäure wurde als solche, Brenztraubensäure als 10%ige Lösung den Kulturen nach den angegebenen Zeiten zugesetzt.



methylcarbinols erhöht (Kurve A in Abb. 1). Besonders stark kann der Aromagehalt in Milchkulturen und in Rahm durch Brenztraubensäure gesteigert werden (Kurve B in Abb. 1). Dabei wird die Menge der Aromastoffe am stärksten gesteigert, wenn sowohl die Nicotinsäure als auch die Brenztraubensäure erst mehrere Stunden nach der Impfung der Kulturen hinzugefügt wird.

Eingeg. 29. Juli 1941. [A. 59.]

Temperaturerhöhung eines im homogenen Felde ausgespannten Heizdrahtes bemerkbar. Die Temperaturänderungen, die sich auf elektrischem Wege in der Wheatstoneschen Brücke messen lassen, stehen ihrerseits bei sonst gleichbleibenden äußeren Versuchsbedingungen in funktionellem Zusammenhang mit dem Sauerstoffanteil des zur Messung benutzten Gases, so daß aus ihrer Größe auf den Sauerstoffgehalt geschlossen werden kann. Die Größe des von Senfleben gefundenen Effektes strebt mit abnehmendem Druck und zunehmender Temperatur in Abhängigkeit von der magnetischen Feldstärke einem maximalen Grenzwert von etwas mehr als 1% zu. Diese Kleinheit des Effektes würde daher bei einer einigermaßen anspruchsvollen Analysengenaugkeit einen erheblichen apparativen Aufwand erforderlich machen.

Eine andere Erscheinung, die ebenfalls auf den magnetischen Eigenschaften des Sauerstoffs beruht, haben wir, teils in Zusammenarbeit mit Rein, Göttingen²⁾, teils auf Grund eigener Untersuchungen, über die an anderer Stelle berichtet wird³⁾, der Entwicklung eines Sauerstoffmeßgerätes zugrunde gelegt. Sie tritt in inhomogenen Magnetfeld auf und besteht darin, daß ein in einem solchen Feld befindlicher ge-

¹⁾ Physik. Z. **31**, 822, 961 [1930]; Ann. Physik [5] **16**, 907 [1933]; **27**, 117 [1936]; **30**, 541 [1937].

²⁾ Schriften der Deutschen Akademie der Luftfahrtforschung **1940**, H. 11, vgl. Referat in Chem. Fabrik **13**, 418 [1940].

³⁾ F. Klawer, E. Turowski, T. v. Wolff, Z. techn. Physik, **22**, 223 [1941].