

man den Körper in citronengelben, concentrisch gruppirten Nadeln vom Schmp. 221° (unter Zersetzung).

$C_{14}H_{10}N_2O_5$. Ber. C 58.74, H 3.50.

Gef. » 59.08, » 3.28.

Beim Vergleich mit der ebenfalls citronengelben *o*-Nitrobenzol-azo-salicylsäure wurden folgende Farbenreactionen beobachtet:

Lösung in	concentrirter Schwefelsäure	Soda	Natronlauge
Azokörper . . .	orangegegelb	orangegegelb	tief orangegegelb
Azomethinkörper	hell citronengelb	gelb	orangegegelb

Hiernach zeigen die neutralen Natriumsalze der Azokörper die Lösungsfarbe der basischen Natriumsalze der entsprechenden Azomethinverbindungen, in Bestätigung der Thatsache, dass die Azo-gruppe als Chromophor der Azomethingruppe überlegen ist.

387. Hans Abeles:

Zur Frage der alkoholischen Gährung ohne Hefezellen.

[Aus Prof. J. Mauthner's chem. Labor. in der Allg. Poliklinik in Wien.]

(Eingegangen am 15. August.)

Die von Prof. E. Buchner aufgefundene Thatsache einer alkoholischen Gährung durch Vermittelung eines aus Hefezellen gewonnenen, aber selbst zellfreien Presssaftes hat den alten Kampf zwischen den beiden Gährungstheorien von Neuem entsfacht. Die Möglichkeit einer solchen Gährung wurde vielfach und obenan von dem Entdecker selbst in der Richtung gedeutet, dass man sich die Zerlegung des Zuckers nicht mehr im Sinne Pasteur's als Ausdruck eines physiologischen Actes der Hefezellen vorstellen dürfe, sondern annehmen müsse, diese Zerlegung werde durch ein in der Zelle gebildetes und in den Presssaft übergegangenes, unorganisiertes Ferment, die Zymase, bedingt.

Allerdings war von vornherein die Annahme am plausibelsten, dass die Gährwirkung des Presssaftes von überlebenden Plasmastückchen ausgehe. Namhafte Biologen, so C. v. Voit, Kupffer und auch Prof. Hans Buchner¹⁾ bezeichneten diese Vorstellung als die nächstliegende. Dieselbe konnte sich einerseits auf die bisherigen Kenntnisse über die ausserordentliche Widerstandsfähigkeit des Hefeprotoplasmas stützen, welche es z. B. gegen thermische Einflüsse,

¹⁾ Münchener medic. Wochenschr. 1897, S. 322.

gegen Protoplasmagifte u. s. w. äussert, und welche daher auch bei der Entscheidung der Frage zu berücksichtigen war, ob die energischen mechanischen Einwirkungen bei der Presssaftgewinnung das Hefeplasma abtödten oder es nur zerstückeln. Andererseits ergiebt sich ja aus den Mengenverhältnissen der verwendeten Hefe und des daraus gewonnenen Presssaftes, aus dem Trockengehalte derselben und aus der mikroskopischen Untersuchung des Presskuchens, dass der Presssaft im Wesentlichen ausgequetschte Totalinhaltmasse der Hefezellen und nicht etwa nur einen wässrigen Zellsaft darstellt.

Besonders musste dabei auch der Umstand in's Gewicht fallen, dass der Presssaft, weit entfernt davon, eine Isolirung des supponirten Fermentes zu gestatten, überhaupt keinerlei chemische Trennungen erlaubt, ohne seine Wirkung einzubüßen. Die Gährkraft ist vielmehr an die totale, im Presssaft gelöste, oder wohl richtiger, suspendirte, organische Masse gebunden. Dabei hat die letztere Fähigkeiten, die sonst nur das Hefeplasma bei unmittelbarem Contacte zu äussern vermag, so die erst kürzlich entdeckte Gährwirkung gegenüber Glykogen, welches von Hefezellen nur innerhalb der Zellhaut vergohren werden kann.

All' diesen Momenten, denen sich noch vom biologischen Standpunkte eine ganze Reihe von aus den Versuchen mit Presssaft geschöpften Gründen für dessen protoplasmatische Natur anfügen liesse, hat nun Buchner eine Gruppe von Versuchen entgegen gehalten, bei der die Action von belebten Theilchen durch Zusatz von Protoplasmagiften, durch hohe Zucker- oder Glycerin-Concentrationen ausgeschaltet sein sollte. Der Presssaft vermag nämlich unter solchen Bedingungen, also namentlich bei so hohen Giftzusätzen, welche die Thätigkeit lebender Hefe für gewöhnlich coupiren, noch seine Wirkung zu entfalten.

Hierbei ist nun ein Umstand ausser Acht gelassen, der sich mir bei zu diesem Zwecke angestellten Versuchen als ausschlaggebend erwies, auf den jedoch, wie die Literaturdurchsicht ergab, schon Biernacki¹⁾ beiläufig in seiner Arbeit über die gährungsbeschleunigende Wirkung kleiner Dosen der Antiseptica aufmerksam gemacht hat.

Die Giftwirkung auf das geformte Ferment ist nämlich nicht allein, wie dies häufig angenommen wird, nur von der Giftconcentration, sondern in noch höherem Maasse von dem Mengenverhältnisse zwischen Protoplasma und Gift abhängig. Ein in einer Nährflüssigkeit vertheiltes Giftquantum, welches die Gährung einer gewissen Hefemenge gerade zu coupiren vermag, kann die Thätigkeit der doppelten, dreifachen u. s. w. Hefemenge nicht mehr vollständig, eventuell garnicht mehr hemmen. Es

¹⁾ Pflüger's Arch., Bd. 49, S. 130 ff.

ist dies leicht verständlich, wenn wir bedenken, dass ja auch eine gegebene Menge Gift, welche im Stande ist ein Thier zu vergiften, nicht hinreicht, bei einer grösseren Anzahl dieselben Vergiftungserscheinungen hervorzurufen.

Da wir nun aber in dem Presssaft einen äusserst reichen Gehalt an organischer Materie vor uns haben, von welch' letzterer wir bestimmen wollen, ob sie von Giften in demselben Maasse beeinflussbar ist wie das Plasma lebender Hefezellen, so müssen wir zum Vergleiche die fragliche Giftmenge auf das entsprechend grosse oder wenigstens annähernd entsprechende Hefequantum einwirken lassen. Thut man dies, so zeigt sich, dass in dem Verhalten gegen Protoplasmagifte zwischen Presssaft und lebender Hefe kein Unterschied besteht.

In Folgendem theile ich einige meiner diesbezüglichen, mit Natriummetarsenit, Chloroform, Toluol und Ammoniumfluorid angestellten Versuche mit; dieselben sind nach der auch von Buchner angewandten Meisl'schen Methode ausgeführt. Zur Orientirung möchte ich bemerken, dass eine Aufschwemmung von lebender Hefe, die durch ihren Gehalt an Zellinhaltmasse dem Presssaft äquivalent sein soll, 60—80 Theile Hefe auf 40—20 Theile Flüssigkeit enthalten müsste. Ferner ist zu erwähnen, dass die Giftprocente bei grösseren zugesetzten Mengen von Hefe oder Zucker stets exact auf das ganze Versuchsquantum (Hefe und Nährstofflösung) berechnet wurden. Daselbe betrug für gewöhnlich 50 g. Benutzt wurde theils die Nährstofflösung nach Meisl, öfter jedoch reine Saccharoselösung. Wo nicht anders bemerkt, wurden die Kölbchen bei Zimmertemperatur stehen gelassen.

Natriummetarsenit.

1 g Hefe in 50 ccm Meisl's Nährstofflösung (8 pCt. Rohrzucker enthaltend) stellte ihre Thätigkeit erst bei Zusatz von 2 pCt. (1 g) Natriummetarsenit ein. Kohlensäureproduction in 3 Stunden bei 30° nur 0.002 g. Aehnliches geht aus Buchner's Versuchen No. 33 und 36 hervor.

Dagegen producire beispielsweise der Versuch: 20 g Hefe, 20 g Wasser, 10 g Zucker, 1 g Natriummetarsenit in 26 Stunden 3.621 g Kohlensäure.

Chloroform.

Meisl's Nährstofflösung. Zusatz: 0.5 g Chloroform. 1 g Hefe ergiebt in 22 Stunden auch schon 0.152 g Kohlensäure, 10 g ergeben in 1 Stunde bereits 0.515 g Kohlensäure und ein Ueberschäumen ist nur bei grosser Vorsicht vermeidbar.

Toluol.

10 pCt. Saccharoselösung.	0.5 g	Toluol.
1 g Hefe in 24 Stunden	0.017 g	CO ₂
10 g " 24 "	0.709 g	CO ₂ .

Ammoniumfluorid.

Die Versuche mit diesem Antizymoticum sind deswegen von grösster Wichtigkeit, weil dasselbe nach eigener Angabe Buchner's die Thätigkeit des Presssaftes schon in einer Concentration von 0.55 pCt. coupirt. Durch dieselbe Salzconcentration wird denn auch nach meinen Experimenten die Gährung einer Aufschwemmung von 40 g Hefe in 8 g Wasser und 2 g Zucker gerade verhindert, während geringere Mengen dazu nicht genügen. Die Fluoride stellen eben bekanntlich ein gegenüber Pflanzenzellen sehr wirksames Gift dar. So fanden Arthus und Huber¹⁾ (vom Fluornatrium), dass es in 1 pCt. alle vitalen Gährungen, die meisten schon bei viel niederen Concentrationen aufhebt, dass es hingegen die Action gelöster Fermente nicht stört, welche sich dabei monatelang halten. Algen stellten darin die Sauerstoffentwickelung ein, und ebenso kommt O. Löw²⁾ auf Grund von Versuchen, speciell auch an grünen Pflanzen, zum Schlusse, dass das Fluornatrium offenbar einen direct schädlichen Einfluss auf jedes Protoplasma nehme. Hier sei auch erwähnt, dass Sublimat in ähnlicher Weise die Gährthätigkeit des Presssaftes aufhebt, doch sind die genaueren Quantitätsverhältnisse von Buchner nicht angegeben, und ich habe dieselben bei meinen wenigen Presssaftversuchen nicht bestimmt.

Hingegen geht aus zahlreichen Versuchen Buchner's die Abhängigkeit des Presssaftes von Giften auch überall dort hervor, wo durch irgend welche Umstände, so z. B. scharfes Filtriren, offenbar eine Verminderung des wirksamen Agens im Presssafte stattgefunden hat. So ist es sicher auffällig, dass durch Kieselguhrkerze eventuell Biscuitporzellan filtrirter Presssaft ohne Giftzusatz nicht wesentlich verminderte Gährkraft darbot (Versuch No. 70, 71), dagegen die Filtrirversuche bei nachherigem Versetzen mit Arsenit eine merklich herabgesetzte oder ganz verschwindende Kohlensäureproduction aufwiesen (No. 73, 74, 66, 68).

Besonders eclatant zeigte sich ein solches Verhalten bei jenen Presssäften, die aus einer durch wenige Tage gelagerten Hefe gewonnen wurden. Waren dieselben für sich auch noch recht gährkräftig, so versagten sie auf Arsenitzusatz vollständig (Nr. 103, 104, 105—108), ein Factum, für das ich im Sinne der Fermenttheorie

¹⁾ Maurice Arthus et Adolphe Huber, Compt. rend. 116, 839.

²⁾ O. Löw, Münch. med. Wochenschr. 1892, 587.

keinerlei Erklärung zu finden vermag. Dagegen ist die Erscheinung vollständig klar, wenn wir nachweisen können, dass in einem solchen Presssaft weniger überlebendes Plasma vorhanden sein muss. Dies ist nun tatsächlich der Fall. Der grösste Theil eines wirksamen Presssaftes stammt offenbar aus jungen Zellen, die einerseits ein zartes Zellhäutchen, andererseits ein kaum von Vacuolen durchsetztes Plasma besitzen, welch' letzteres daher leicht auspressbar ist. Je mehr die Zellen altern, desto starrere Cellulosemembranen und desto grössere Vacuolen weisen sie auf (Wiesner¹). Es ist nun leicht ersichtlich, dass aus solchen Zellen beim Pressen wohl der Vacuolensaft mit seinen Nähr- und Excret-Stoffen, kaum aber die dünne, an die Zellhaut sich anschmiegende Protoplasmaschicht ausgequetscht werden kann. Ein solcher Presssaft wird demnach relativ wenig belebte Plasmastückchen enthalten können.

Damit sind alle angeführten Erscheinungen der Abschwächung oder des Versagens der Gährwirkung auf eine Verschiebung in dem Mengenverhältnisse zwischen Gift und Protoplasma zu Ungunsten des letzteren zurückgeführt.

In ähnlicher Weise nun wie die Giftversuche, weit entfernt davon, die protoplasmatische Natur des Presssaftes unwahrscheinlich zu machen, vielmehr deutlich in diesem Sinne sprechen, sind auch die Experimente mit hohen Zucker- oder Glycerin-Concentrationen, welche Hans Buchner²) zum Beweise dafür anführte, dass im Presssaft kein Leben mehr vorhanden sein könne, deshalb nicht stichhaltig, weil auch hier die Gleichheit der Versuchsbedingungen nicht gewahrt ist.

Der Presssaft bewahrt noch bei einem Zusatz von Rohrzucker bis zu 50-procentiger Lösung Gährfähigkeit. Lebende Hefe sollte bereits in 44-prozentiger Lösung ihre Thätigkeit einstellen. Dies gilt nun wohl für mässige Aussaattmengen, nicht aber für solche, die einigermaassen die Verhältnisse im Presssaft imitiren. So erzeugten 10 g Hefe in 10 g Wasser + 20 g Saccharose bei 30—35° in 8 Stunden 0.051 g Kohlensäure, bei fort dauernder Schaumbildung am Ende des Versuches, wozu ich noch bemerken möchte, dass andererseits E. Buchner selbst den hemmenden Einfluss von höheren Zuckerconcentrationen auf den Presssaft nachgewiesen hat. Ebenso vernichtet Glycerin in 50-prozentiger Lösung unter derartigen Bedingungen keineswegs die Actionsfähigkeit lebender Hefe. Der Versuch: 25 g Glycerin, 10 g Wasser, 2.5 g Rohrzucker, 12.5 g Hefe produciret in 22 Stunden 0.184 g Kohlensäure.

¹) Sitzungsber. d. kais. Acad. der Wissenschaften 59, 503.

²) Münch. medic. Wochenschr. 1897, 44.

Wir kommen nunmehr zu dem zweiten Hauptargumente, welches gegen die Annahme lebenden Plasmas in's Feld geführt wird, nämlich die Fähigkeit des Presssaftes respective auch der Hefezellen, noch nach dem Eintrocknen und selbst nach mehrstündiger Erhitzung auf 100° auf Zuckerlösungen eine Gährwirkung auszuüben. Nun ist es schon lange bekannt, dass eingetrocknete Hefe ihre Lebensfähigkeit durch Monate beibehalten kann, und ferner hat Wiesner¹⁾ mit Sicherheit nachgewiesen, dass beim Erhitzen getrockneter Hefe durch mehrere Stunden auf 100° ein Theil der Hefezellen, und zwar die jungen, gähr- und fortpflanzungs-fähig bleiben. Sehr bemerkenswerther Weise vindicirt er diese ausserordentliche Resistenzfähigkeit jenem Protoplasma, welches, wie es eben in den jungen Zellen der Fall ist, nicht von starren Cellulosemembranen eingeschlossen wird und nicht vacuolisirt ist, Verhältnisse, unter denen sich wohl das gesammte im Presssaft vorhandene Plasma befindet.

Weiter war es nach dem früher Angeführten zu erwarten, und ich habe es auch durch geeignete Versuche bestätigt, dass die Wirkung der sogenannten Dauerhefe von Giften in gleicher Weise abhängig ist, wie die lebender Hefe. Während 6 g Dauerhefe + 10 g Wasser + 4 g Rohrzucker bei 37° schon in 1½ Stunden 0.127 g Kohlensäure erzeugten, producirte das doppelte, sonst gleich zusammengesetzte Versuchsquantum bei Zusatz von 0.1 g Ammoniumfluorid nach gleich langer Erwärmung und weiterem Stehen bei Zimmertemperatur in 24 Stunden nur 0.013 g Kohlensäure.

Es ist also einerseits erwiesen, dass lebendes Hefeprotoplasma die erwähnten Proceduren überdauern kann, andererseits, dass auch das wirksame Agens in der Dauerhefe sich so verhält, wie wir es sonst nur an belebter Materie zu sehen gewohnt sind.

Zum Schlusse möchte ich noch auf eine Eigenthümlichkeit des Presssaftes hinweisen, deren Erklärung im Sinne der Fermenttheorie kaum durchführbar erscheint, während sie von unserem Standpunkte ganz selbstverständlich ist, ich meine die ausserordentliche Vergänglichkeit der Gährwirkung des Presssaftes, die nur dadurch einigermaassen paralysirt werden kann, dass man concentrirte Lösungen von Zucker zusetzt, jedoch einzig jener Zuckerarten, welche von der Hefe vergohren werden können, sei es direct, sei es indirect nach der Spaltung durch hydrolytisches Ferment. E. Buchner wollte dies so erklären, dass die angeblich sonst die Zymase zerstörenden peptischen Fermente durch Zuckerlösungen gehemmt werden. Dabei wäre es jedoch sehr merkwürdig, dass gerade nur jenen Zuckerarten diese hemmende Wirkung zukommen sollte, welche vergährungsfähig sind. Hans Buchner wies dagegen zur Erklärung

¹⁾ loc. cit. S. 500.

der obigen Erscheinung darauf hin, dass doch der Gährungsvorgang dem Gährungserreger irgend welchen Nutzen bringen dürfte, in diesem Falle also regenerirend und erhaltend wirken würde. Für ein unorganisirtes Ferment stände eine solche Vorstellung wohl ohne Analogie da. Hingegen wäre, von unserem Standpunkte aus, die Lebensdauer im Presssaftे befindlicher Protoplasmastückchen ganz natürlicher Weise davon abhängig, ob ihnen ihre specifischen Nährstoffe dargeboten werden oder nicht.

Nachdem also die, Mangels einer Isolirbarkeit der Zymase, wie Hans Buchner ausdrücklich sagt, nur theoretisch construirten, indirecnen Beweise für die Existenz eines solchen todten Fermentes sich als nicht stichhaltig erwiesen haben, nachdem es sich vielmehr gezeigt hat, dass abgesehen von der in Folge der Zerstörung der Individuen vernichteten Fortpflanzungsfähigkeit und der durch die abnormen Verhältnisse bedingten grösseren Labilität kein principieller Unterschied zwischen dem im Presssaftē wirksamen Agens und dem lebenden Hefeplasma besteht — so glaube ich, dass derzeit die Erklärung der Gährkraft des Presssaftes durch die Annahme überlebenden Protoplasmas als die besser gestützte erscheint.

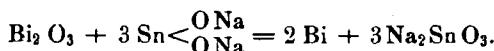
388. L. Vanino und F. Treubert:
Ueber Wismuthoxydul.

(Aus dem chem. Laborat. der kgl. Academie der Wissenschaften zu München.)

[II. Mittheilung.]

(Eingegangen am 15. August.)

In dem ersten Theile der Abhandlung »Ueber das Wismuthoxydul¹⁾«, in welchem wir den experimentellen Beweis erbrachten, dass alkalische Zinnchlorürlösung, im Ueberschuss zugesetzt, nicht Wismuthoxydul, sondern elementares Wismuth abscheidet, wurde von unserer Seite bereits die Ansicht ausgesprochen, dass unter allen Verhältnissen bei genannter Reaction Wismuth entsteht und zwar entsprechend der Formel



Wir möchten hiermit im Folgenden den eingehenden experimentellen Beweis für unsere Ansicht erbringen und beweisen, dass man das schon von Berzelius in seinen Jahresberichten öfter erwähnte Wismuthoxydul auch auf nassem Wege nicht darzustellen vermag.

Versetzt man eine alkalische Zinnchlorürlösung, die 0.2758 g Zinnchlorür enthält, allmählich mit schwach saurer Wismuthlösung

¹⁾ Diese Berichte 31, 1113.