

das zuerst von O. Fischer und P. Seidel dargestellte Triphen-dioxazin.

Dieselben erhielten den Körper dadurch, dass sie durch eine concentrirte Lösung von *o*-Amidophenol während des Erwärmens am Rückflusskühler Luft durchleiteten.

Die von mir erhaltene Ausbeute betrug ca. 65—80 pCt. der Theorie und dürfte die Seidel'sche Ausbeute erheblich übertreffen. Aus Xylol erhielt ich den Körper in prächtig stahlblauen bis dunkel-violetten Nadelchen, die sich in concentrirter Schwefelsäure mit korn-blumenblauer Farbe lösten.

0.2214 g Sbst.: 18.8 ccm N (22°, 766 mm).

$C_{18}H_{10}N_2O_2$. Ber. N 9.88. Gef. N 9.69.

Der abgeschiedene Körper wurde abfiltrirt, und das Filtrat, das möglicherweise den gewünschten *o*-Oxyazokörper enthalten konnte, weiter verarbeitet. Die stark essigsäure Lösung wurde über Natron-kalk in einen Vacuumexsiccator gestellt. Nach ungefähr vier Wochen hatten sich am oberen Rande des Becherglases grünliche, metallisch glänzende Nadeln abgeschieden. Dieselben waren sehr leicht löslich in Aether, Benzol, Alkohol und leicht löslich in Eisessig. Die geringen Mengen gestatteten jedoch weder den Körper umzukrystalli-siren, noch ihn zu analysiren.

Heidelberg. Universitätslaboratorium.

22. Eduard Buchner und Rudolf Rapp: Alkoholische Gährung ohne Hefezellen.

[8. Mittheilung¹⁾.]

(Vorgetragen in der Sitzung von Hrn. E. Buchner.)

Die Thatsache der zellenfreien Gährung wird jetzt, zumal wieder bestätigende Mittheilungen von anderer Seite vorliegen²⁾, wohl all-gemein anerkannt. Dagegen ist von Neuem Streit entstanden, ob in dem gährkräftigen Hefepresssaft als Träger der Gährwirkung anzusprechen

¹⁾ Die folgenden Untersuchungen sind im hygienischen Institut der Uni-versität München ausgeführt.

²⁾ H. Will, Zeitschr. ges. Brauwesen 21 (1898); H. Lange, Wochschr. f. Brauerei 15 (1898), 377; A. Wroblewski, Anzeiger Akad. Wissensch. in Krakau, Nov. 1898. — Bezüglich der letzterwähnten Mittheilung, von welcher Referate diese Berichte 31, 3218 und im Ctrbl. physiol. Chem. 12, No. 21, erschienen sind, muss bemerkt werden, dass Hr. Wroblewski sich nicht mit einer Nachprüfung der Angaben über zellenfreie Gährung begnügt, sondern eine ausführliche chemische Untersuchung des Hefe-

sind eine Enzym-ähnliche Substanz, die Zymase (Enzymtheorie), oder etwa noch lebende Protoplaststückchen (Plasmahypothese). Wenn auch der ersteren Annahme zuneigend, haben wir doch diese Frage bisher nicht als völlig erledigt betrachtet¹⁾. Inzwischen fand die Plasmahypothese in Hans Abeles²⁾ einen eifrigen Vertheidiger. Im Folgenden soll zunächst über einige Versuche berichtet werden, welche endgültig im Sinne der Enzymtheorie entscheiden; daran wird sich eine ausführliche Widerlegung der Versuchsergebnisse von Abeles anreihen; am Schluss der Abhandlung sind einige analytische Daten über verschiedene, im Laufe der Untersuchung gewonnene Hefepresssäfte zusammengestellt.

Eine Mittheilung von C. J. Martin und Chapman³⁾, welche durch raschestes Centrifugiren von zerriebener Bierhefe einen Saft ohne Gährwirkung ausgeschleudert haben, gibt noch Anlass auf die Bedeutung des hohen Druckes bei der Herstellung von Hefepresssaft aufmerksam zu machen. In älteren Hefezellen findet sich das Plasma häufig wandständig, als Belag auf der Innenseite der Zellhaut, gleichsam eine zweite Hülle um den wässrigen Zellsaft bildend. Diese Plasmahaut zu zerreißen ist vielleicht schwierig, in Folge ihrer weichen und doch zähen Beschaffenheit, gelingt aber durch gewaltsames Hineinpressen von Sandsplittern. Wir haben immer mit einer hydraulischen Presse bei 350—500 Atmosphären Druck gearbeitet; da aber der mit diesem Druck in die Höhe gepresste Kolben kleineren Querschnitt besitzt, als das Gefäß, welches zur Aufnahme der teigförmigen Hefe-Quarzsand-Kieselgahr-Mischung dient, lastet auf letzterer für 1 qcm bei 500 Atmosphären lediglich ein Druck von 90 kg, bei 350 Atmosphären von 60 kg. Im Falle die verfügbare Presse nur geringeren Atmosphärendruck anzuwenden gestattet, lässt sich durch

presssaftes begonnen ... Dies ergibt sich aus verschiedenen Wendungen in seiner Abhandlung wie: »Die vorliegende Mittheilung bezieht sich auf diese ersten orientirenden Versuche«. »Der Verf. gedenkt nachher einen systematischen Gang der qualitativen Untersuchung des Hefepresssaftes anzugeben«. Indem ich dieses Vorgehen des Hrn. Wroblewski der Beurtheilung durch die Fachgenossen überlasse, bemerke ich ausdrücklich, dass im Einverständniss mit mir Privatdocent Dr. Martin Hahn über das proteolytische Enzym des Hefepresssaftes arbeitet (vgl. diese Berichte 31, 200; ferner Geret und Hahn, daselbst 31, 202, 2335) und Dr. Rob. Albert eine Untersuchung über die Eiweisskörper des Presssaftes begonnen hat.

E. Buchner.

¹⁾ Vergl. Bericht über d. III. intern. Congress f. angew. Chem. zu Wien, österr. Chem.-Zeitung 1898, No. 7 und 8.

²⁾ Diese Berichte 31, 2261.

³⁾ Proc. of the Physiological Soc., June 11, 1898.

Benutzung eines Pressgefäßes mit kleinerem Querschnitt als der Presskolben besitzt, doch der gleiche Druck auf die Hefe erzielen.

Centrifugiren des Hefepresssaftes.

Nach der Plasmahypothese müsste der Presssaft, da lebendes Protoplasma in gelöster Form nicht denkbar ist, kleine Stückchen davon suspendirt enthalten; solch feste Theilchen würden sich beim Centrifugiren absetzen, sodass eine an Plasma arme und daher weniger gährkräftige obere Schicht neben einer an Plasma reicheren, stärker gährwirksamen, unteren Schichte entstände. Es wurden deshalb zwei Versuchsreihen ausgeführt, bei welchen je 40 ccm, 40 ccm und 20 ccm frischer Presssaft bei der ersten zweieinhalb Stunden (Versuche 176—181), bei der zweiten fünf Stunden lang (Versuche 182—187), mit Hülfe eines Gasmotors centrifugirt wurden. In allen Fällen hatte sich ein beträchtlicher Absatz gebildet, der bei einem der Gläschen mikroskopisch untersucht, sich als aus Hefezellen und Theilen von solchen, einzelnen Bacterien und sehr viel Sandsplittern und Kieselguhrstückchen zusammengesetzt erwies. Sofort nach Unterbrechung des Centrifugirens wurde bei den Gläschen mit 40 ccm Saft die obere Schicht sorgfältig abpipettirt, die untere hierauf mit dem Sediment vermischt und die Gährkraft jeder Schicht bestimmt (s. Tab. XXVII). Die Gläschen mit 20 ccm sollten als Controlle dienen; ihr Inhalt wurde nach dem Centrifugiren durchgeschüttelt.

Tabelle XXVII. Centrifugiren des Hefepresssaftes.

Je 20 ccm Presssaft + 8 g Rohrzucker + 0.2 ccm Toluol. 15—18°.

| No. | | Kohlendioxyd in g nach Stunden | | | | |
|-----|--------------------------------|--------------------------------|------|------|--------------------------|------|
| | | 21 | 30 | 48 | 70 | |
| | | | | | Kohlendioxyd-verdrängung | |
| | | | | | ohne | mit |
| 176 | obere Schicht | 0.15 | 0.25 | 0.40 | 0.57 | 0.69 |
| 177 | untere „ | 0.15 | 0.25 | 0.41 | 0.57 | — |
| 178 | obere „ | 0.15 | 0.26 | 0.42 | 0.58 | — |
| 179 | untere „ | 0.17 | 0.28 | 0.43 | 0.58 | — |
| 180 | } Controle: nach Centrifugiren | 0.15 | 0.22 | 0.36 | 0.53 | — |
| 181 | | 0.14 | 0.23 | 0.37 | 0.52 ¹⁾ | — |

¹⁾ Die etwas geringere Gährwirkung der Controllversuche erklärt sich dadurch, dass von eiskaltem Presssaft ausgegangen wurde und sich die kleinen Mengen von Presssaft der Controllversuche (je 20 ccm) in der Centrifuge rascher erwärmten, als die doppelt so grossen der Hauptversuche. Beim Aufbewahren des Presssaftes tritt immer eine Abnahme der Gährwirkung ein, die bei höherer Temperatur rascher verläuft, als bei niederer.

Je 20 ccm Presssaft + 8 g Rohrzucker + 0.2 g Toluol. 15–18°.

| No. | | Kohlendioxyd in g nach Stunden | | | | | |
|-----|---|--------------------------------|------|------|------|------------------------------------|------|
| | | 18 | 25 | 40 | 65 | 88 Kohlendioxyd- verdrängung | |
| | | | | | | ohne | mit |
| 182 | obere Schicht | 0.18 | 0.29 | 0.47 | 0.76 | 0.96 | 1.08 |
| 183 | untere » | 0.16 | 0.27 | 0.47 | 0.76 | 0.99 | — |
| 184 | obere » | 0.18 | 0.30 | 0.48 | 0.75 | 0.95 | — |
| 185 | untere » | 0.19 | 0.30 | 0.49 | 0.77 | 0.98 | — |
| 186 | } Kontrolle: nach Centri- fugiren durchgeschüttelt { | 0.16 | 0.24 | 0.41 | 0.72 | 0.91 | — |
| 187 | | 0.17 | 0.27 | 0.45 | 0.73 | 0.93 ¹⁾ | — |

Diese Versuche lassen den nach der Plasmahypothese erwarteten Unterschied in der Gärkraft der oberen und der unteren Schicht nicht erkennen.

Verhalten des getrockneten Presssaftes beim Lagern.

Frischer Presssaft aus untergähriger Bierhefe wurde, wie früher beschrieben²⁾, bei 24° im Vacuum rasch concentrirt, dann, in dünner Schicht ausgebreitet, bei 27° an der Luft getrocknet und hierauf im Vacuumexsiccator über concentrirter Schwefelsäure einige Tage aufgestellt. Derselbe getrocknete Presssaft wurde bei Versuch 188 sofort nach Herstellung wieder aufgelöst, bei 189 nach 1 Monat langem Lagern (in einem Glasstöpselglas), bei 190 nach 2 Monaten. Die Versuche zeigen, dass innerhalb 2 Monaten keine Abnahme der Gärwirkung stattgefunden hat, was man nach der Plasmahypothese doch wohl erwarten müsste.

Tabelle XXVIII.

Je 3 g getrockneter Presssaft + 18 ccm Wasser + 8 g Rohrzucker
+ 0.2 ccm Toluol. 16–17°.

| No. | Getrockneter Presssaft wieder auf- gelöst | Kohlendioxyd in g nach Stunden | | | | | | |
|-----|--|--------------------------------|------|------|------|------|------|--|
| | | 16 | 24 | 40 | 64 | 88 | 120 | 168 mit Kohlen- dioxyd- verdrängung |
| 188 | sofort nach Herstellung | 0.31 | 0.47 | 0.80 | 1.25 | 1.59 | 1.75 | 1.91 |
| 189 | nach 1 Monat Lagern | 0.31 | 0.46 | 0.80 | 1.19 | 1.59 | 1.78 | 2.00 |
| 190 | nach 2 Monat Lagern | 0.29 | — | 0.73 | 1.09 | 1.43 | 1.78 | 2.07 |

¹⁾ Siehe Note 1 auf S. 129.

²⁾ Diese Berichte 31, 1531.

Bei 7 und 8 Monate dauerndem Lagern von getrocknetem Presssaft (im Glasstöpselglas) liess sich in zwei Versuchen eine Abnahme der Gährkraft constatiren. Es sollen darüber noch weitere Erfahrungen gesammelt werden. Die bisherigen Beobachtungen sind keine Beweise gegen die Enzymtheorie, denn auch von anderen Enzymen ist es bekannt, dass sie ihre Wirkung beim Aufbewahren allmählich einbüssen.

Tabelle XXIX.

Je 2.8 g getrockneter Presssaft + 19 ccm Wasser + 8 g Rohrzucker
+ 0.2 ccm Toluol. 16–17°.

| No. | Getrockneter Presssaft wieder aufgelöst | Kohlendioxyd in g nach Stunden | | | | |
|-----|---|--------------------------------|------|------|------|------|
| | | 16 | 40 | 64 | 88 | 112 |
| 191 | nach 7 Monat Lagern . . . | 0.29 | 0.60 | 0.83 | 0.98 | 1.07 |
| 171 | sofort nach Herstellung . . . | 0.31 | 0.78 | 1.10 | 1.25 | — |
| 192 | nach 8 Monat Lagern . . . | 0.15 | 0.35 | 0.48 | 0.56 | 0.60 |
| 161 | nach 1 Monat Lagern . . . | 0.21 | 0.48 | 0.65 | 0.76 | — |

Getrockneter Presssaft und lebende Hefe bei Glycerinzusatz.

Seit den Versuchen von Wittich¹⁾ und von Hüfner²⁾ ist das Glycerin als schätzenswerthes Lösungsmittel für Enzyme bekannt, welches deren Wirksamkeit gut conservirt; lebende Organismen dagegen gehen in starken Glycerinlösungen baldigst zu Grunde, hauptsächlich wohl durch Plasmolyse, da ihnen Wasser entzogen wird. Zur Prüfung der Enzymtheorie haben wir daher zwei Versuche angestellt, bei welchen einerseits getrockneter Presssaft (3 g) in der etwa sechsfachen Menge einer Mischung gleicher Volumina Glycerin und Wasser aufgelöst, andererseits eine dem getrockneten Presssaft, nach dem Stickstoffgehalt zu urtheilen, ungefähr gleichwerthige Quantität lebender Hefe (je 7 g, beim zweiten Versuche von derselben Hefe, aus welcher der Saft dargestellt worden war) in derselben Glycerinmischung suspendirt wurde. (Um etwa vorhandene Hefeklumpchen sicher zu vertheilen, colorirte man noch durch ein Tuch, wobei kein wägbarer Rückstand hinterblieb.) Ueberall wurden 8 g Rohrzucker zugesetzt. Die Versuche mussten, da in Folge der hohen Viscosität der Flüssigkeit das Kohlendioxyd nur sehr langsam entwich, Tage lang stehen gelassen werden, was aber unbedenklich geschehen durfte, denn Mikroorganismen können sich unter den eingehaltenen Bedingungen nicht entwickeln.

¹⁾ Pflüger's Archiv 2, 193.

²⁾ Journ. f. prakt. Chem. [2] 5, 372.

Tabelle XXX.

Getrockneter Presssaft und lebende Hefe bei Glycerinzusatz.
 Je 3 g getrockneter Presssaft bzw. 7 g Hefe + 9 ccm Glycerin + 9 ccm
 Wasser + 8 g Rohrzucker. 15–17°.

| No. | | Kohlendioxyd in g nach Tagen | | | | | | | |
|-----|---|------------------------------|-----------------|-----------------|------|------|------|------|------|
| | | 1 | 2 $\frac{1}{3}$ | 3 $\frac{1}{3}$ | 5 | 6 | 8 | 10 | 24 |
| 193 | getrockneter Hefepresssaft | — | — | — | — | 1.48 | — | — | 1.63 |
| 194 | lebende Hefe | — | — | — | — | 1.50 | — | — | 1.70 |
| 195 | <div style="border: 1px solid black; padding: 2px;"> Controle: 3 g getrockneter Presssaft + 8 g Rohrzucker + 19 ccm Wasser + 0.2 ccm Toluol </div> | 0.57 | 1.04 | — | — | 1.71 | — | — | — |
| 196 | getrockneter Hefepresssaft | 0.14 | 0.44 | 0.63 | 0.79 | 0.96 | 1.29 | 1.46 | — |
| 197 | lebende Hefe | 0.05 | 0.23 | 0.39 | 0.51 | 0.65 | 0.99 | 1.16 | — |

Diese Versuche zeigen, dass der getrocknete Presssaft auch in Glycerinlösung Gährkraft besitzt, kaum weniger, als beim Auflösen in Wasser (Vergleich von No. 193 und 195), wenngleich die Kohlendioxydentwicklung durch die Glyceringegenwart sehr verlangsamt wird. Wie erwartet, ist auch bei den Versuchen mit lebender Hefe Gährung eingetreten, aber nicht in grösserem Umfange, als der in den Zellen enthaltenen Zymase entspricht, auch nicht nach 24 Tagen (No. 194). Eine Neubildung von Zymase, wie sie sonst in lebender, gährthätiger Hefe wohl stattfindet, ist demnach nicht anzunehmen. Auch diese Resultate entscheiden für die Enzymtheorie.

Entgegnung an Hrn. H. Abeles.

Die Versuche und Einwände von Abeles lassen sich in drei Gruppen zusammenfassen, welche der Reihe nach besprochen werden sollen¹⁾.

Hefepresssaft und antiseptische Mittel²⁾.

Die von Abeles angewendeten Antiseptica gehören zwei verschiedenen Klassen an:

¹⁾ Merkwürdig berührt das unbegründete Bestreben des Hrn. Abeles, zwischen meiner Auffassung des Gährungsphänomens und der meines Bruders, Hans Buchner, einen Gegensatz zu construiren (S. 2261 unten, S. 2266 unten, S. 2267 oben), wozu der Autor dadurch gelangt, dass jetzt fast zwei Jahre alte Aeasserungen meines Bruders unseren jetzigen Anschauungen gegenübergestellt werden, welche durch die zahlreichen, inzwischen gefundenen Thatsachen natürlich modificirt sind.

E. Buchner.

²⁾ Diese Berichte 31, 2262 u. ff.

1. Antiseptica, welche mit den Eiweissstoffen des Presssaftes direct in chemische Bindung treten. Für diese gilt der von Abeles aufgestellte Satz, dass die Giftwirkung von dem Mengenverhältniss zwischen Protoplasma und Gift abhängig ist; da das Gift durch Eintreten der chemischen Bindung seiner Wirkung entzogen wird, muss ein Ueberschuss dieser Antiseptica zugesetzt werden, um Giftwirkung zu erzielen. Wahrscheinlich verbinden sich diese Antiseptica auch mit Enzymen. Jedenfalls eignen sie sich nicht zu entscheidenden Versuchen zwischen Enzym- und Plasma-Theorie. Hierher sind zu rechnen: Sublimat und Ammoniumfluorid, welche beide Fällungen erzeugen¹⁾, ferner Metarsenit, das allerdings nur in ziemlicher Concentration im Presssaft einen Niederschlag hervorruft, aber auch in verdünnter Lösung mit Bestandtheilen desselben zu vielleicht dem Brechweinstein ähnlichen Körpern zusammentreten dürfte. In der That vermag, wie Abeles richtig, aber ohne obigen Erklärungsversuch angiebt, ein Zusatz von 2 pCt. Metarsenit zwar die Gährung durch geringere Hefemengen zu unterdrücken, nicht aber die durch 20 g Hefe, weil von dieser grossen Masse nach Festlegung des Arsenits immer noch ein Theil lebensfähig bleibt.

2. Antiseptica, welche mit den Eiweissstoffen des Presssaftes nicht in derartige Bindung treten; hierher gehören solche, die nur bei hoher Concentration wirksam sind, wie Glycerin und Zucker, und solche, die schon bei geringen Zusätzen auf unbekannte Weise wirken, z. B. Toluol und Chloroform. Die Giftwirkung dieser Stoffe ist, im Gegensatz zu den Annahmen von Abeles, nicht von dem Mengenverhältniss zwischen Protoplasma und Gift, sondern nur von der Giftconcentration abhängig. Abeles hat nicht berücksichtigt, dass bei sehr grossen Hefemengen auch die in den Zellen vorrätliche Zymase zu merklicher Gährung Anlass giebt; so ist wohl die geringe Kohlensäurebildung bei seinen Versuchen mit Zucker- und mit Glycerin-Zusatz (S. 2265) zu erklären. Abeles hat ferner wahrscheinlich für eine vollständige Vertheilung der Hefe in der Flüssigkeit keine Sorge getragen; bildet sich aber ein dicker Bodensatz oder Klümpchen von Hefe, so kann dort local eine genügende Einwirkung der Antiseptica nicht erwartet werden. Unter Berücksichtigung dieser Umstände haben wir bei Glycerin- und bei Chloroform-Zusätzen zu Gährungen mit lebender Hefe und mit Presssaft andere Resultate als Abeles erhalten. Die Versuche mit Glycerin sind bereits oben (s. Tab. XXX) beschrieben.

Um bei den Versuchen mit Chloroform eine fortwährende Vertheilung der Hefe in der Flüssigkeit herbeizuführen, wurden die von

¹⁾ Für Ammoniumfluorid erwähnt: diese Berichte 31, 1087.

Chudiakow¹⁾ empfohlenen pfahlwurzelförmigen Glasgefäße benutzt und an deren unterstem spitzigem Ende während der ganzen Versuchsdauer Kohlendioxyd-freie Luft in die Flüssigkeit eingeleitet. An diese Gefäße schloss sich zunächst eine durch Eiswasser abgekühlte Waschflasche mit flüssigem Paraffin, um das Chloroform zurückzuhalten, ferner eine Flasche mit concentrirter Schwefelsäure, ein Chlorcalciumrohr und nun erst zwei gewogene U-Röhren mit Aetzkali und Natronkalk, um die Kohlensäure zur Wägung zu bringen, endlich noch ein Chlorcalciumrohr.

1. Versuchsreihe. a) 45 ccm frischer Hefepresssaft + 7.5 g Rohrzucker + 2 ccm CHCl_3 lieferten unter beständiger Luftdurchleitung bei Zimmertemperatur innerhalb 25 Stunden 1.03 g Kohlendioxyd. — b) 20 g Hefe (die nämliche, aus welcher der Presssaft bereitet worden) + 7.5 g Rohrzucker + 2 ccm Chloroform, mit Meissl's Nährsalzlösung auf das Volum der Flüssigkeit bei Versuch a) aufgefüllt, gaben unter beständiger Luftdurchleitung bei Zimmertemperatur innerhalb 25 Stunden 1.46 g Kohlendioxyd. — Bei einem Controllversuch c): 20 g Hefe + 7.5 g Rohrzucker + Meissl's Nährsalzlösung wie bei b), aber ohne Chloroformzusatz trat schon nach einigen Stunden Ueberschäumen ein und nach 25 Stunden Stehen war kein Zucker mehr nachzuweisen.

2. Versuchsreihe. a) 45 ccm frischer Hefepresssaft + 5 g Rohrzucker + 1 ccm Chloroform lieferten bei Luftdurchleiten und Zimmertemperatur nach 30 Stunden 1.68 g Kohlendioxyd. b) 15 g derselben Hefe, aus welcher der Presssaft hergestellt wurde, + 5 g Rohrzucker + 1 ccm Chloroform + soviel Meissl's Nährsalzlösung, dass im Ganzen 46 ccm, gaben unter denselben Bedingungen nach 30 Stunden 1.17 g Kohlensäure.

In beiden Versuchsreihen lieferten also die mit Chloroform versetzten Hefemassen Kohlendioxyd, aber nicht mehr, als dem Zymasevorrath entsprechen dürfte; es wurde lange nicht aller Zucker vergohren, was dem Controllversuch c der 1. Versuchsreihe gemäss bei ungehindertem Wachsthum der Hefe zu erwarten gewesen wäre.

Erhitzen von getrockneter Hefe und getrocknetem Presssaft.

Sorgfältig getrocknete und hierauf 6 Stunden auf 100° erhitze Hefe, sogenannte Dauerhefe, zeigt nach unserer Angabe²⁾, obwohl diese Hefe, »wie Plattenculturen und Aussaat grösserer Mengen in sterile Bierwürze ergaben«, todt ist, noch Gährwirkung auf Grund ihres Zymasevorrathes. Dieser Beweis für die Enzymtheorie wird von Abeles, S. 2266, angegriffen unter Berufung auf eine Angabe von Wiesner³⁾ aus dem Jahre 1869, wonach »mehrere« Stunden auf 100° erhitze Hefe noch fortpflanzungsfähig sein soll. Mit 30 Jahre alten Citaten darf man an solche Fragen nicht herantreten.

¹⁾ Landwirthschaftl. Jahrbücher 1894.

²⁾ Diese Berichte 30, 1112. ³⁾ Sitzungsber. Kais. Akad. Wiss. 59, 500.

Zur Vervollständigung unserer Angaben haben wir einige Erhitzungsversuche mit sorgfältig getrocknetem Hefepresssaft ausgeführt, der nach längerem Verweilen im Trockenschrank bei 22° noch 3 Wochen in's Vacuum über Phosphorpentoxyd gelegt und hernach sofort in Glasröhrchen eingeschmolzen wurde; ein Theil der Röhrchen war dabei ausserdem evacuirt worden. Nach dem Erhitzen wurde der getrocknete Saft in Wasser aufgelöst und unter Zucker- und Toluol-Zusatz seine Gährkraft nach Meissl bestimmt.

Tabelle XXXI.

Getrockneter und hernach erhitzter Hefepresssaft.

Je 3 g getrockneter Presssaft + 19 ccm Wasser + 8 g Rohrzucker
+ 0.2 ccm Toluol. 16–17°.

| No. | Getrockneter Presssaft erhitzt | Einschmelz- röhrchen | Kohlendioxyd in Gramm nach Tagen | | | | | |
|-----|--------------------------------------|-------------------------|----------------------------------|------|-----------------------------------|------|------|------|
| | | | 1 | 2 | 3 Kohlendioxyd- verdrängung | | 5 | 7 |
| | | | | | ohne | mit | | |
| 198 | 8 Stunden auf 85° | nicht evacuirt | 0.55 | — | — | 1.52 | — | — |
| 199 | 8 „ „ 85° | evacuirt | 0.57 | — | — | 1.65 | — | — |
| 200 | 6 „ „ 97° | „ | 0.02 | 0.11 | 0.19 | — | 0.32 | 0.44 |
| 201 | 6 „ „ 97° | „ | 0.04 | 0.14 | 0.22 | — | 0.37 | 0.48 |

Sehr sorgfältig getrockneter Presssaft kann demnach 8 Stunden auf 85° erhitzt werden, ohne wesentlich an Gährkraft einzubüssen (vergleichbar sind etwa die Versuche 171–173¹⁾); auch 6-stündiges Erwärmen auf 97° vernichtet die Gährkraft nicht vollständig. Dagegen zeigte sich in Glasröhrchen eingeschmolzene Dauerhefe nach 6 Stunden langem Erhitzen auf 95° und ebenso auf 85° bei Aussaat in Bierwürze und auf Bierwürzeagar als nicht mehr vermehrungsfähig. Diese Versuche sprechen gegen die Plasmahypothese.

Die Vergänglichkeit der Gährwirkung des Presssaftes, welche durch Zusatz concentrirter Zuckerlösungen einigermaassen paralysirt werden kann, scheint Hrn. Abeles (S. 2266) im Sinne der Enzymtheorie kaum verständlich²⁾. »E. Buchner wollte dies so erklären, dass die angeblich sonst die Zymase zerstörenden peptischen Fermente durch Zuckerlösungen gehemmt werden. Dabei wäre es

¹⁾ Diese Berichte 31, 1533.

²⁾ Vgl. die Erklärungsversuche: diese Berichte 30, 1111, 2669.

jedoch sehr merkwürdig, dass gerade nur jenen Zuckerarten diese hemmende Wirkung zukommen sollte, welche vergährungsfähig sind.« Dies ist garnicht besonders merkwürdig, denn die gährungsfähigen Zucker sind auch die leicht löslichen, wogegen von der nicht vergärbaren Lactose sich nur 15 pCt. in Wasser lösen; auf die Concentration der Lösungen kommt aber bei diesen Versuchen Alles an, was deutlich daraus hervorgeht, dass auch bei starken Glycerinzusätzen die Haltbarkeit des Presssaftes erhöht wird. Dafür dienen die Versuche 196 und 197 (XXX. Tab.) zum Beweise, bei welchen selbst bei Zimmertemperatur nach 8—10 Tagen noch beträchtliche Kohlensäureentwicklung vorhanden war; Glycerin wird aber durch Hefe nicht vergohren.

Auch folgende Ueberlegung entscheidet zu Ungunsten der Plasmahypothese. Der Begriff »lebendes Plasma« ist ein wenig bestimmter, chemisch undefinirbarer; man versteht darunter der Hauptsache nach ein Gemenge verschiedener Eiweisskörper, welche als Träger der Lebensfunctionen gelten. Unter diesen Eiweisskörpern können sich sehr wohl Enzyme als solche oder in der Form von Zymogenen befinden. Gelingt es, im Plasma, innerhalb der lebenden Zelle, bestimmte Stoffe durch eine chemische Reaction festzustellen, so darf ein solcher Fortschritt nicht dadurch wieder verhindert werden, dass man sagt, es sei doch nur das gesammte Protoplasma der Träger jener Reaction, ausser es sind zwingende Gründe dafür vorhanden. Zuerst wird man daher den Nachweis verlangen müssen, dass im Hefepresssaft als wirksames Agens etwas Besonderes, Geheimnissvolles, nämlich lebende Plasmatheilchen vorhanden sind, bevor man die einfachere, mit allen Beobachtungen übereinstimmende Enzymtheorie verlassen darf.

Tabelle XXXII. Analytische Daten einiger Hefepresssäfte.

| Presssaft aus | Datum | Spec. Gewicht (15°) | Trockenrück- stand (100°) in pCt. | Glührück- stand in pCt. | Stickstoff- gehalt pCt. | Gährkraft: 20 cem Saft + 8 g Rohr- zucker + 0.6 g Ar- senit gaben nach 40 St. (15°) g CO ₂ |
|--------------------------------------|-------------|------------------------|---|----------------------------|----------------------------|---|
| München. unter- gähriger Bierhefe | 25. V. 97 | 1.045 | 11.527 | 1.843 | 1.262 | — |
| » » | 21. X. 97 | 1.046 | 12.212 | 1.862 | 1.119 | — |
| » » | 25. X. 97 | 1.043 | 11.517 | 1.791 | 1.747 | — |
| » » | 22. IV. 98 | 1.050 | 13.593 | 1.886 | 1.516 | — |
| » » | 27. IV. 98 | 1.050 | 13.871 | 1.908 | 1.405 | 0.98 |
| » » (20 Stunden gewässert) | 11. II. 98 | 1.032 | 8.539 | 1.308 | 0.821 | 0.98 |
| München. ober- gähriger Bierhefe | 15. VI. 98. | 1.052 | 14.371 | 1.996 | 1.445 | 0.44 |

Die specifischen Gewichte der verschiedenen Hefepresssäfte sind ziemlich constant; grössere Schwankungen zeigen sich dagegen im Trocken- und Glüh-Rückstand, sowie im Stickstoffgehalt. Besonders nieder sind diese Zahlen für die vor dem Zerreiben und Auspressen zwanzig Stunden lang mit Wasser gewaschene Hefe vom 11. II. 98 ausgefallen, da durch diese Behandlung offenbar Salze und stickstoffhaltige Substanzen (Invertin, Amidosäuren etc.) aus den Zellen entfernt wurden. Wie die beiden letzten Columnen zeigen, ist mit niederem Stickstoffgehalt des Presssaftes nicht nothwendig geringe Gährkraft verbunden und umgekehrt.

Berlin und München. den 12. Januar 1899.

23. M. Conrad und R. Gast: Ueber Cyandimethylacetessigester.

[Mittheilung aus dem chemischen Laboratorium der forstlichen Hochschule Aschaffenburg.]

(Eingegangen am 10. Januar.)

Unsere Arbeiten über γ -Bromdialkylacetessigester sind, wie aus den bisherigen Publicationen hervorgeht, noch keineswegs abgeschlossen. Vor Kurzem ¹⁾ haben wir ausdrücklich angegeben, dass über Cyan-, Amido- und Oxalyldimethylacetessigester weitere Berichte folgen werden. Wir hatten daher nicht erwartet, dass auf dem umfangreichen Gebiet der Acetessigestersynthesen ein Forscher sich gerade auf denjenigen Theil begeben werde, den ein anderer offenkundig als sein Arbeitsfeld erworben hat. Dass wir uns hierin geirrt haben, beweist Hr. W. Trevor Lawrence, der in der am 15. December 1898 abgehaltenen Sitzung der Chemical Society eine vorläufige Mittheilung über γ -Cyan-dimethylacetessigester und dessen Derivate vortrug ²⁾. Es bleibt demnach nichts übrig, als die in dieser Richtung von uns erzielten Resultate hier sofort niederzulegen.

1. Darstellung des Cyandimethylacetessigesters.

In eine Lösung von 30 g reinem Cyankalium in 50 ccm Wasser wurden 90 g Monobromdimethylacetessigester, die mit etwa der gleichen Gewichtsmenge Aether verdünnt waren, allmählich und unter Kühlung mit Eiswasser eingetragen und in einem verschlossenen Gefäss tüchtig geschüttelt. Nach 3 Tagen trennten wir die ätherische Schicht von der dunkel gefärbten und stark nach Blausäure riechenden wäss-

¹⁾ Diese Berichte 31, 1339.

²⁾ Proceedings of the Chem. Soc. 1898, No. 201.