

werden schnell auf Ton gestrichen, sofort nach dem Einziehen der Mutterlauge in Methylalkohol gelöst und mit Wasser gefällt. Verwachsene Nadeln vom Schmp. 96—97°. Rohausbeute 0.8 g = 11 % d. Th. Misch-Schmelzpunkt mit Diaceton-traubensäure 75°. Leicht löslich in Methyl- und Äthylalkohol, unlöslich in Wasser.

0.1022 g Sbst.: 0.1956 g CO<sub>2</sub>, 0.0594 g H<sub>2</sub>O.

C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub> (230). Ber. C 52.2, H 6.1. Gef. C 52.20, H 6.50.

**87. Hugo Haehn und Max Glaubitz: Über die Vergärbarkeit von Glycerinaldehyd und Dioxy-aceton mit lebender Hefe (Hefe-Gärungen, vom biologischen Standpunkt aus betrachtet, II.<sup>1)</sup>.**

(Vorläufige Mitteilung.)

(Eingegangen am 17. Januar 1927.)

Versuche, Glycerinaldehyd und Dioxy-aceton als Zwischenprodukte der alkoholischen Zucker-Spaltung zu betrachten, sind bisher daran gescheitert, daß man beide Stoffe mit Hefen nur in sehr geringem Umfange spalten konnte. Die Frage, ob diese Stoffe an sich als plasmophil zu bezeichnen sind, oder ob dieselben etwa durch Spuren beigemengter Giftstoffe dem Hefe-Organismus unzugänglich gemacht worden sind, wurde bisher noch nicht geklärt. Aus früheren Versuchen von Slator<sup>2)</sup> geht zwar hervor, daß Dioxy-aceton keine Giftwirkung auf Hefe ausübt, aber die Angaben sind so spärlich, daß eine Nachprüfung schon angebracht erschien.

Wir sind heute in der Lage, dank der gründlichen Forschungen Hermann O. L. Fischers<sup>3)</sup>, mit reinsten Präparaten arbeiten zu können, und so schien es uns aussichtsreich, die Frage der Vergärbarkeit von Glycerinaldehyd und Dioxy-aceton unter Berücksichtigung der physiologischen Verhältnisse restlos zu klären. Von vornherein möchten wir darauf hinweisen, daß wir heute noch nicht imstande sind, absolute physiologische Verhältnisse zu reproduzieren. Wir sind gezwungen, die Hefe in den zu vergärenden Stoff zu legen, wissen also nicht, ob im Falle einer Nicht-vergärbarkeit das betreffende Substrat im Hefeplasma an die Stelle gelangt, wo die Spaltung erfolgen muß. Liegen widrige osmotische Verhältnisse vor, oder ist das betreffende Substrat mit sehr reaktionsfähigen chemischen Gruppen ausgerüstet, so könnten die Moleküle auf dem Wege zur Zymase verankert werden. Bei der Zucker-Spaltung liegen andere Verhältnisse vor. Hier entsteht das vermutete Zwischenprodukt schon selbst in der Zelle und steht der Zymase im frischen Zustande zur Verfügung.

Wir benutzten zur Prüfung drei verschiedene Hefe-Rassen, eine untergärtige Bierhefe, die obergärtige Rasse M und den *Saccharomyces* *Ludwigii*. Obgleich die Hefen Glucose normal schnell vergoren, trat mit dem reinsten Glycerinaldehyd, in 1-proz. Lösung angewendet, keine Gärung ein. Nach den Ausführungen Fischers<sup>4)</sup> kommt auch diesem Aldehyd in festem Zustande nicht die normale Formulierung zu. Der Stoff ist so reaktionsfähig, daß er sofort eine cyclische Verbindung liefert. Ferner ist bekannt,

<sup>1)</sup> 1. Mitteilung: Die Brenztraubensäure-Gärung, *Ztschr. „Chemie d. Zelle u. Gewebe“* 13, 86 [1926].

<sup>2)</sup> Slator, B. 45, 43 [1912].

<sup>3)</sup> H. O. L. Fischer und Mildbrand, B. 57, 707 [1924].

<sup>4)</sup> vergl. dessen Mitteilung auf S. 479 dieses Heftes.

daß er durch Spuren Alkali in Dioxy-aceton umgewandelt wird. Dies führte dazu, den Aldehyd vor der Hefe-Zugabe einer Vorbehandlung durch einfaches Kochen zu unterziehen. Der Erfolg war, daß nun in einer Gärzeit von 24 Std. 1.3 ccm  $\text{CO}_2$  entwickelt wurden. Glucose hätte mit derselben Hefe etwa 8 ccm Gas in 2 Std. geliefert. Der Versuch zeigt also, daß reiner Aldehyd äußerst schwer vergärbar ist. Wird nun die Hefe auf ihren physiologischen Zustand geprüft, so ergeben sich etwas angekränkelte Zellen. Dann wurde Glycerinaldehyd noch 20 Std. mit schwach alkalischen Phosphat-Lösungen vom  $p_{\text{H}} = 7.37$  und 7.73 behandelt, doch auch diese Vorbehandlung bedingte keine Vergärung.

Besser fielen die Versuche mit Dioxy-aceton aus. Von vornherein sei bemerkt, daß von den zahlreichen Versuchen kein einziger eine Hefe lieferte, die sich als krank erwies. Das mikroskopische Bild zeigte keinen Unterschied zwischen einer Glucose- und Dioxy-aceton-Hefe. Untergärtige Bierhefe der Versuchs- und Lehrbrauerei zu Berlin, wie auch die Schultheiß-Hefe, ebenso obergärtige Hefen vergoren Dioxy-aceton sehr schwach, aber der *Saccharomyces Ludwigi* spaltete sehr energisch. Wir geben von unseren zahlreichen Versuchen nur ein Beispiel mit der letztgenannten Hefe wieder und weisen darauf hin, daß das reine Dioxy-aceton in Phosphat-Lösung (Tab. I, Versuch 3) in 5 Std. fast denselben Vergärungsgrad zeigt wie Glucose. Besonders sei darauf aufmerksam gemacht, daß die Angärung im Vergleich zur Hexose in den ersten beiden Stunden sehr schwach ist, so daß man auf einen langsam verlaufenden osmotischen Vorgang schließen muß. Bei dem bimolekularen Dioxy-aceton der Höchster Farbwerke liegen die Verhältnisse zwar etwas ungünstiger, immerhin ist die Vergärbarkeit gut (Vers. 4). Interessant ist hiermit ein Vergleich mit der Vergärbarkeit der Brenztraubensäure. Sie bleibt hinter der des Dioxy-acetons erheblich zurück, sowohl bei Gegenwart als auch bei Anwesenheit von primärem Phosphat. Wird die Triose ohne Phosphat-Zusatz angesetzt, so geht der Umsatz etwas langsamer von statt.

Tab. 2 zeigt uns in der Nachprüfung der Hefe, ob die angewendeten Substrate das Leben der Zelle gefährdet haben. Wir legen hierauf Nachdruck in der Annahme, daß ein normales physiologisches Spaltprodukt des Zuckers im allgemeinen nicht giftig wirken darf. Wie bereits oben erwähnt, waren bei allen Dioxy-aceton-Versuchen die Hefen völlig gesund geblieben, während die Brenztraubensäure, wie schon in der ersten Mitteilung (l. c.) ausführlich dargetan wurde, die Zellen abtötete. Dies dokumentiert sich nun scharf bei der Nachgärung in einem idealen Gärmedium, der Bierwürze. Während die Hexose- und Dioxy-aceton-Hefen bereits in 3–4 Std. ihren Zucker sehr schnell vergoren hatten, zeigten die Brenztraubensäure-Hefen in 6 Std. noch keine Spur Kohlensäure. Erst nach 24 Std. hatten sich wenige Zellen von der Brenztraubensäure-Einwirkung erholt und ergaben alsdann eine geringe Gasentwicklung.

Das Gas, das sich bei der Gärung mit Dioxy-aceton bildete, löste sich sofort in Kalilauge auf, und der Äthylalkohol wurde durch den Schmelzpunkt seines *p*-Nitrobenzoësäure-esters charakterisiert.

Unsere negativen Ergebnisse mit Bierhefen und Oberhefen stehen mit den Versuchen von Slator in Übereinstimmung. Die anderen Autoren, die Dioxy-aceton mit den genannten Organismen vergären konnten, hatten wahrscheinlich einen großen Hefe-Überschuß verwendet. Wir haben von

vornherein hierauf verzichtet, weil wir möglichst normale physiologische Verhältnisse bevorzugen wollten, um so am besten auf den physiologischen Charakter eines Substrates hinweisen zu können. Aus den Versuchen mit Bierhefen schließen wir aber noch nicht, daß Dioxy-aceton unvergärbar ist, wenn es im Zellorganismus selbst gebildet würde. Der *Saccharomyces* *Ludwigii* vergärt genanntes Substrat gut ohne Zellschädigung, wahrscheinlich nur infolge seiner Überlegenheit den anderen Hefen gegenüber in bezug auf Osmose. Der Wert dieser Versuche besteht also darin, daß Dioxy-aceton sehr schnell von einer lebenden Hefe vergoren werden kann, ohne deren Lebenskraft zu schädigen.

C. Neuberg und A. Gottschalk<sup>5)</sup> kommen bei ihren Versuchen zu dem Schluß, daß Dioxy-aceton und Glucose biologisch ungleichwertig sind. Trotz der kräftigen alkoholischen Gärung des Dioxy-acetons durch den *Saccharomyces* *Ludwigii* sind jetzt genannte Stoffe zwar nicht als biologisch gleichwertig zu bezeichnen, doch ist eine starke physiologische Beziehung zwischen Dioxy-aceton und Glucose nachgewiesen worden.

Es sei uns an dieser Stelle gestattet, Hrn. Dr. Hermann O. L. Fischer und den Höchster Farbwerken für die freundliche Überlassung der Präparate bestens zu danken.

Tabelle I.

Gärversuche<sup>6)</sup> mit Glucose, mono- und bimolekularem Dioxy-aceton und Brenztraubensäure bei Zusatz von 0.2%  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . Hefe: *Saccharomyces* *Ludwigii*, 5% Zusatz. Substrat-Konzentration: 1%. Temperatur 30°.

	CO <sub>2</sub> in ccm nach Stdn.						
	1	2	3	4	5	6	24
1. Glucose + $\text{KH}_2\text{PO}_4$							
Versuch a) .....	4.4	6.8	7.4	7.6	8.0	× <sup>7)</sup>	8.0
„ b) .....	4.4	6.9	7.4	7.6	8.0	×	8.0
2. Glucose ohne $\text{KH}_2\text{PO}_4$ (Kontrollversuch)							
Versuch a) .....	4.0	6.9	7.6	7.8	8.0	×	8.0
„ b) .....	4.0	6.9	7.6	7.8	8.0	×	8.0
3. Dioxy-aceton (monomolekular, von H. O. L. Fischer) + $\text{KH}_2\text{PO}_4$							
Versuch a) .....	0.1	1.7	4.8	6.8	7.5	8.0	8.0
„ b) .....	0.1	1.8	4.9	6.9	7.5	8.0	8.0
4. Dioxy-aceton (bimolekular der Höchster Farbwerke) + $\text{KH}_2\text{PO}_4$							
Versuch a) .....	0.1	1.4	3.0	4.2	5.0	5.6	7.1
„ b) .....	0.1	1.4	3.0	4.2	5.0	5.7	7.2
5. Brenztraubensäure + $\text{KH}_2\text{PO}_4$							
Versuch a) .....	0.3	0.5	0.8	1.1	1.4	1.7	3.6
„ b) .....	0.3	0.6	0.8	1.1	1.4	1.7	3.7
6. Brenztraubensäure ohne $\text{KH}_2\text{PO}_4$ (Kontrollversuch)							
Versuch a) .....	0.2	0.5	1.0	1.4	1.7	2.1	4.1
„ b) .....	0.2	0.5	0.9	1.3	1.7	2.0	4.0

<sup>5)</sup> C. Neuberg und A. Gottschalk, Biochem. Ztschr. **154**, 488 [1924].

<sup>6)</sup> Näheres über die Technik siehe Ztschr. „Chemie der Zelle u. Gewebe“ **18**, 86 [1920].

<sup>7)</sup> × bedeutet: Versuch abgebrochen.

Tabelle 2.

Nachprüfung der Hefe auf Gärfähigkeit in Malzwürze;  $t = 30^\circ$ .

	CO <sub>2</sub> in ccm nach Stdn.						24
	1	2	3	4	5	6	
1. Hefe aus Glucose-Lösung + KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	4.0	7.7	8.0	×	×	×	8.0
2. " " ohne KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	2.1	5.5	7.5	8.0	×	×	8.0
3. " " Dioxy-aceton (mono.) + KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	2.2	6.5	8.0	×	×	×	8.0
4. " " (bi.) + KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	1.6	5.3	7.6	8.0	×	×	8.0
5. " " Brenztraubensäure + KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	0	0	0	0	0	0	0.5
6. " " " ohne KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	0	0	0	0	0	0	1.0

Berlin, Institut für Gärungsgewerbe.

### 88. H. Remy und Th. Wagner: Über die Reduktion von Ruthen(III)-chlorid mit Natrium-amalgam<sup>1)</sup>.

[Aus d. Chem. Staatsinstitut d. Universität Hamburg.]

(Eingegangen am 28. Dezember 1926.)

Die Frage nach dem Zustand des Ruthens in den durch Reduktion von Ruthen(III)-chlorid in salzsaurer Lösung mittels Zinks, Schwefelwasserstoffs und anderer Reduktionsmittel erhältlichen dunkelblauen Lösungen ist früher schon öfters erörtert worden. Vor einigen Jahren hat dann der eine von uns gezeigt<sup>2)</sup>, indem er die Reduktion in schwach salzsaurer Lösung mittels Natrium-amalgams ausführte und das Defizit an von diesem in Freiheit gesetztem Wasserstoff bestimmte, daß im Zeitpunkt des Auftretens der blauen Färbung stets ungefähr 1 Äquivalent Wasserstoff pro Ruthen(III)-Ion verbraucht ist, und daraus geschlossen, daß das Ruthen in der so erhaltenen Lösung im wesentlichen im zweiwertigen Zustande vorliegt. Gleichzeitig ergab sich aber, daß bei der „Titration auf Blau“ durchweg etwas mehr als 1 Äquivalent Wasserstoff verbraucht wird. Dieser Mehrverbrauch wurde als ein „Hinweis“ auf eine weitere Reduktion des Ruthens bis zur ersten Oxydationsstufe betrachtet und die Vermutung geäußert, daß die Blaufärbung vielleicht mit der Bildung des einwertigen Ruthens zusammenhinge.

Bei der Fortsetzung dieser Untersuchung galt es: 1. zu versuchen, ob sich nicht der Punkt erfassen läßt, der gerade der Umsetzung des Ruthen(III)-

<sup>1)</sup> Die vorliegende Untersuchung ist seit dem 21. Juli 1926 experimentell abgeschlossen. Es war beabsichtigt, die Veröffentlichung erst zusammen mit derjenigen einer anderen, mit der vorliegenden in engem Zusammenhang stehenden Experimentaluntersuchung herauszubringen, die sich mit der Natur der durch Behandeln von chloriertem Ruthen mit wasser-haltigem Alkohol entstehenden dunkelblauen Lösung befaßt. Das Erscheinen der gleichfalls die Reduktion von Rutien(III)-chlorid-Lösungen behandelnden Arbeit von H. Gall und G. Lehmann, B. 59, 2856 [1926], veranlaßt uns jedoch, unsere Versuche, die die Ergebnisse der älteren Arbeit des einen von uns, auch soweit sie zu den von Gall und Lehmann aus ihren Versuchen gezogenen Schlüssen in Gegensatz stehen, voll bestätigen, ohne weiteren Verzug zu veröffentlichen.

<sup>2)</sup> H. Remy, Ztschr. anorgan. Chem. 113, 229 [1920].