

## **Studien über den Stoffwechsel der Bierhefe.**

Von

**Dr. Ladislaus v. Udránszky.**

### **I. Beiträge zur Kenntniss der Bildung des Glycerins bei der alkoholischen Gährung.**

(Der Redaction zugegangen am 6. April 1889.)

Wie weit auch bereits die wissenschaftliche Forschung — besonders in den letzten Jahren — in der Erkenntniss der Gährungsprocesse und Fermentationen vorgeschritten ist, so fand man doch für manche hierbei in Betracht kommende Punkte bisher keine Erklärung. So z. B. sind wir nur noch bei den allerwenigsten Gährungen im Stande, von den in der Gährflüssigkeit befindlichen Stoffen die einen als Spaltungsproducte des Gährsubstrates, die anderen als spezifische Stoffwechselproducte der Microorganismen von einander zu unterscheiden. In den meisten Fällen ist es sehr schwer, die Bildung der Gährungsproducte von dem eigentlichen Stoffwechsel der, die Gährung bedingenden Lebewesen, oder noch mehr, den Stoffwechsel des betreffenden Microorganismus von seiner sonstigen physiologischen Thätigkeit streng zu trennen. Die Veränderungen, die mit dem gährungserregenden Microorganismus vor sich gehen, sobald derselbe das eben in der Gährung liegende Optimum seiner Lebensbedingungen nicht mehr genießt, erschweren es bedeutend, den Stoffwechsel der Gährungserreger genau zu studiren.

In manchen Fällen gibt der Vergleich der chemischen Constitution des Gährsubstrates mit der der Gährungsproducte einen Anhaltspunkt für eine befriedigende Differenzirung zwischen den Producten, welche zwar durch eine Einwirkung der Lebewesen auf das Gährsubstrat entstanden sind, aber nicht zum eigentlichen Stoffwechsel der Zellen hingehören, und zwischen den Producten, welche aus dem Stoffumsatz der gährungserregenden Zellen selbst hervorgegangen sind. Bei den, durch pathogene Bacterien bedingten Zersetzungen dürfen wir z. B. die sogenannten «Toxine» direct als Stoffwechselproducte der specifischen Microorganismen ansprechen, da diese Substanzen nur dann entstehen, wenn solche Pilze in zersetzungsfähigen Substraten vegetiren. Bei manchen Verwesungsprocessen können wir andererseits einzelne Producte direct als solche erkennen, die zu dem eigentlichen Stoffwechsel des Microorganismus nicht hingehören. Setzt man z. B. Paraoxybenzoësäure der Einwirkung von Fäulnissbacterien aus, so bildet sich Phenol und Kohlensäure. Diese Stoffe sind keineswegs Stoffwechselproducte der Bacterien selbst; sie verdanken vielmehr ihre Entstehung einer, durch die Einwirkung der Pilze bedingten chemischen Spaltung. Das Gleiche gilt für die aromatischen Producte, die aus der Fäulniss von Eiweisskörpern hervorgehen: Indol, Scatol, Kresol, Tyrosin etc. Diese Substanzen entstehen durch secundäre, neben dem eigentlichen Stoffwechsel der Microorganismen einherlaufende Processe, die nur insofern mit dem Gährungserreger im Zusammenhange stehen, dass dieser letztere im Stande ist, durch seine Lebensthätigkeit solche Umsetzungen einzuleiten und weiterzuführen. Nur durch die exacte chemische Untersuchung der Gährungsproducte — im Vergleiche mit der chemischen Zusammensetzung der Gährsubstrate — wird es — bei den Gährungsprocessen überhaupt — möglich sein, den Stoffwechsel des Gährungserregers von denjenigen Processen zu unterscheiden, die zwar durch die Lebensthätigkeit des betreffenden Microorganismus bedingt werden, aber nicht streng zu dem Stoffumsatze im Zellenleibe hingehören.

---

Pasteur hat in seinen grundlegenden Arbeiten<sup>1)</sup> über die alkoholische Gährung den Nachweis geführt, dass der Zucker nicht quantitativ in Kohlensäure und Alkohol zerfällt, sondern dass neben diesen Stoffen auch noch secundäre Gährungsproducte — hauptsächlich Glycerin und Bernsteinsäure — entstehen, und zwar im Durchschnitt etwa 2,5–3,6% Glycerin und 0,4–0,7% Bernsteinsäure vom Gewicht des vergohrenen Zuckers. Die Menge dieser Nebenproducte ist zwar Schwankungen unterworfen, doch hält Pasteur diese Schwankungen für nicht genug gross, um der Annahme einer Zugehörigkeit der Entstehung dieser Substanzen zur alkoholischen Gährung im Wege stehen zu müssen. Eine solche Annahme gewinne weiterhin durch die verhältnissmässig grosse Constanz im Auftreten dieser Producte noch mehr an Wahrscheinlichkeit.

Pasteur bringt also die Bildung des Glycerins und der Bernsteinsäure in keinen engeren Zusammenhang mit der Hefezelle, wie die Bildung von Kohlensäure und Alkohol. Er spricht sich eher dahin aus, dass Glycerin und Bernsteinsäure nicht aus der Substanz der Hefe, sondern aus dem Zucker entstehen. In der experimentellen Erfahrung, dass selbst bei Anwendung ganz geringer Hefemengen zur Gährung stets mehrere Procente des verbrauchten Zuckers in Form von Glycerin und Bernsteinsäure wiedergefunden werden können, sieht Pasteur einen weiteren Beweis für die Ansicht, dass die Hefezelle bei der Bildung dieser Substanzen nicht anders betheilig ist, wie bei der Bildung von Kohlensäure und Alkohol. Die für die Hefezelle charakteristische physiologische Thätigkeit besteht somit in der Bildung von Kohlensäure, Alkohol, Glycerin und Bernsteinsäure. Kann sich die Hefe keinen Zucker verschaffen, so führt sie diese physiologische Thätigkeit auf Kosten ihrer eigenen Substanz weiter, falls ihr die sonstigen Lebensbedingungen — besonders die nothwendige Temperatur und der nöthige Wassergehalt — nicht fehlen.

<sup>1)</sup> Annales de chimie et de physique. Dritte Folge. LVIII. Band. 1860, S. 323.

Nach Pasteur's Anschauung sind also Glycerin und Bernsteinsäure gerade so Gährungsproducte, ebenso in Folge einer durch die physiologische Thätigkeit der Hefezellen bedingten Spaltung entstanden, wie die Kohlensäure und der Alkohol.

Manche Erfahrungen sprechen aber eher dafür, dass die Bildung von Glycerin und Bernsteinsäure vielleicht doch auch in den Kreis der, bei dem Stoffwechsel der Hefezelle selbst verlaufenden Prozesse mit hingehört.

Nimmt man an, dass die Hefezellen den Zucker in sich aufnehmen, und ihn dann innerhalb ihres Protoplasmas in Kohlensäure, Alkohol, Glycerin und Bernsteinsäure zerlegen, so ist es schwer einzusehen, warum relativ viel mehr Glycerin und Bernsteinsäure aus dem Zucker neben der Kohlensäure und dem Alkohol entstehen soll, wenn bei der Gährung nur wenig Hefezellen betheilig sind, als in den Fällen, wo das Verhältniss der Hefe zum Zucker für die Gährung günstiger ist. Ist die Bildung des Glycerins und der Bernsteinsäure nur auf eine chemische Spaltung des Zuckers zurückzuführen, so findet man schwierig eine Erklärung dafür, warum der Zucker bei der Spaltung, ausser der Kohlensäure, das eine Mal mehr und das andere Mal weniger Glycerin und Bernsteinsäure liefert. Die Erklärung dieser, schon Pasteur bekannt gewordenen experimentellen Erfahrung wird hingegen eine viel leichtere, wenn man die Bildung von Glycerin und Bernsteinsäure mit der Hefesubstanz selbst in näheren Zusammenhang bringt. Es ist dann leicht zu verstehen, dass je länger eine Gährung dauert und je länger die Hefezellen also in der Flüssigkeit verweilen, sie auch um so mehr Stoffwechselproducte an dieselbe abgeben können.

Bei der Untersuchung des Stoffwechsels der Bierhefe wird eine Schwierigkeit dadurch gegeben, dass — wie es schon Pasteur bewiesen hat — die Hefezellen, wenn ihre Ansprüche, Temperatur und Feuchtigkeit betreffend, nur einigermaßen erfüllt sind, der sogenannten «Selbstvergährung» unterliegen. Kohlensäure, Alkohol, Glycerin und Bernsteinsäure entstehen hierbei ebenso, wie dann, wenn die Hefezellen sich in einer zuckerhaltigen Flüssigkeit befinden.

Es ist hier nicht am Platze, darüber zu discutiren, ob der Process der Selbstvergähmung thatsächlich identisch ist mit den Processen, welche durch die Hefezelle und in ihr verlaufen, wenn die Hefe in eine zuckerhaltige Flüssigkeit gesäet, die günstigsten Bedingungen für ihre vegetativen Functionen vorfindet. Es kommt mir vielmehr darauf an, an der Hand einiger einfacher Versuche zu zeigen, dass die Hefe Glycerin auch dann zu produciren vermag, wenn ihr Stoffwechsel ein sehr langsamer ist, sie keinen assimilirbaren Kohlenstoff zur Nahrung hat, und wenn auch sonst die Möglichkeit einer alkoholischen Gähmung nicht vorliegt.

Die Ganter'sche Bierbrauerei hierorts war so freundlich, mir die nöthige Menge untergähriger Bierhefe zu meinen Untersuchungen zu überlassen. Diese Hefe war nach dem Ablassen aus den Gährbottichen, in grossen Gefässen im Keller, unter mit Eis gekühltem Wasser aufbewahrt worden. Zur Controlle ihrer Reinheit und Lebensfähigkeit habe ich im hygienischen Institut der hiesigen Universität aus der Hefe Culturen angelegt. Herrn Prof. Schottelius danke ich auch an dieser Stelle für seine Freundlichkeit, mit welcher er mir diese Untersuchungen möglich gemacht hat.

Die Hefe zeigte auf Kartoffelscheiben ein sehr kräftiges Wachsthum; am 3.—4. Tage nach der Impfung hatte sich schon ein üppiger Rasen auf den Kartoffeln gebildet. Von 6 Gelatineplattenculturen waren nur auf einer einzigen, ausser den Hefecolonien auch noch einige andere Pilzansiedelungen zu sehen<sup>1)</sup>.

<sup>1)</sup> Diese bestanden erstens aus rundlichen, schiefergrauen, etwas über die Gelatineoberfläche ragenden, langsam wachsenden, am 4. Tage in der bei 18° C. gehaltenen Cultur etwa stecknadelkopfgross gewordenen Colonien einer, mit Fuchsin schlecht, mit Methylviolett und nach der Gram'schen Methode dagegen gut färbbaren, die Gelatine nicht verflüssigenden Stäbchenart. Neben diesen waren dann noch mohnenkorn- bis linsengrosse, schmutziggraue, mit zerrissenen Rändern versehene, am 4. Tage bereits zerfliessende Colonien einer zweiten, mit Fuchsin sehr gut färbbaren Stäbchenart zu sehen. Die Bacterien aus den erstgenannten Colonien stellten schwächliche, mit etwas scharf abge schnittenen Endflächen versehene, der Grösse nach den Tuberkelbacillen etwa gleich

Aus den Ergebnissen der bacteriologischen Untersuchung durfte gefolgert werden, dass die Bierhefe ausser den Hefezellen nur spärliche, entwicklungsfähige Keime enthielt. Aus dem Umstande, dass die Hefe mit Hefewasser versetzte 4procentige Zuckerlösungen schnell vergährte, durfte weiterhin geschlossen werden, dass die Hefe entwicklungsfähig und kräftig war.

Die Hefe wurde mit Wasser sorgfältig ausgewaschen, und dann zwischen reinen Tüchern ausgepresst. Die so gereinigte Hefe war zuckerfrei; sie enthielt **33,355%** trocknen Rückstand.

Da die Hefe zu Untersuchungen über die Bildung von Glycerin dienen sollte, so musste noch bestimmt werden, ob und wie viel Glycerin in der Hefe enthalten war. Es wurden deshalb **756,5 gr.** der Hefe (entsprechend einem trocknen Rückstande von **252,33 gr.**) mit grossen Portionen warmen Alkohols extrahirt, der alkoholische Auszug verdampft, der Rückstand in warmem Wasser aufgenommen (wobei die Fette ungelöst zurückblieben), der wässrige Auszug zum Zurückhalten der Kohlehydrate mit Kalkmilch versetzt und zur Syrupdicke eingedampft. Der Syrup wurde dann mit einem Gemisch von 1 Th. wasserfreien Alkohols und  $1\frac{1}{2}$  Th. wasserfreien Aethers ausgekocht, der alkoholisch-ätherische Auszug warm filtrirt und verdunstet. Der Rückstand wurde in warmem Wasser gelöst, die Lösung filtrirt. Zur Bestimmung des Glycerins in diesem wässrigen Auszug kam die Diez'sche

stehende Stäbchen dar. Sie zeigten keine Eigenbewegung. Die Stichculturen (in Gelatine) entwickelten sich bei 18° C. sehr langsam, und stellten am 7.—8. Tage einen dünnen, mit krümeligen grauen Knötchen dicht besetzten Stichcanal dar. Die Bacterien aus den zweitgenannten Colonien waren kurze, dicke Stäbchen mit abgerundeten Endflächen. Sie zeigten mässige Eigenbewegung. Die Stichculturen (in Gelatine) entwickelten sich recht rasch: sie fingen schon am 3. Tage an, sich zu verflüssigen, und zwar am stärksten ohngefähr in der Mitte des Stichcanals. Beide Bacterienarten konnten auch auf Kartoffeln gut übertragen werden. Die erste Art wuchs langsam, und zeigte einen mattgrauen, trockenen Rasen. Die zweite Art wuchs hingegen auf den Kartoffelscheiben gleichfalls recht rasch, und bildete einen feuchten, gelblich gefärbten Rasen.

Methode<sup>1)</sup> in Anwendung. Der wässrige Auszug (80 cbcm.) wurde mit 5 cbcm. Benzoylchlorid und 40 cbcm. 10procentiger Natronlauge unter sorgfältiger Kühlung des Gefässes bis zum Verschwinden des Geruches vom Benzoylchlorid kräftig durchgeschüttelt, und dann einige Stunden stehen gelassen. Der Niederschlag wurde am Filter gesammelt, mit Wasser gewaschen und bei 100° C. getrocknet. Die geschmolzene Masse wurde in warmem Petroläther gelöst, die Lösung eingeeengt, und krystallisiren gelassen. Nach dem Verdunsten des Petroläthers haben sich weisse Nadelbüscheln ausgeschieden, bestehend aus krystallinischen Benzoësäureestern des Glycerins. Die krystallinische Masse schmolz bei 71—73° C. Ihr Gesamtgewicht betrug 0,5184 gr. Legt man den Berechnungen die Diez'schen Angaben zu Grunde (0,385 gr. Glycerinbenzoësäureestergemenge entsprechen 0,1 gr. Glycerin), so entsprechen 0,5184 gr. Estergemenge 0,1346 gr. Glycerin. Um übrigens einen noch stricteren Beweis dafür zu gewinnen, dass thatsächlich Benzoësäureester des Glycerins vorlagen, habe ich auch eine Elementaranalyse ausgeführt, die folgende Zahlen ergab:

0,1784 gr. der im Exsiccator getrockneten Substanz lieferten 0,4652 gr. CO<sub>2</sub> und 0,0824 gr. H<sub>2</sub>O.

C	71,11%
H	5,13%

Berechnet für Glycerindibenzoat (C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>O<sub>3</sub>(C<sub>7</sub>H<sub>5</sub>O)<sub>2</sub>):

C	204	68,00%
H	16	5,33%
O	80	26,66%
		<hr/>
		99,99.

Berechnet für Glycerintribenzoat (C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>O<sub>3</sub>(C<sub>7</sub>H<sub>5</sub>O)<sub>3</sub>):

C	288	71,28%
H	20	4,95%
O	96	23,76%
		<hr/>
		99,99.

Die Analyse stimmt also mit Werthen überein, die von einem Tribenzoat des Glycerins erfordert werden. Es darf

<sup>1)</sup> Diese Zeitschr., Bd. XI, S. 472.

hiernach aus der Analyse gefolgert werden, dass reine Benzoësäureester des Glycerins vorlagen. Die Hefe enthielt also Glycerin ( $0,053\%$ ), und zwar, da sie vorher mit Wasser ausgewaschen wurde, wahrscheinlich in den Zellen eingeschlossen<sup>1)</sup>.

Mit der Hefe wurden nun folgende Versuche ausgeführt:

**412,6 gr.** der Hefe (entsprechend einem trocknen Rückstande von **137,62 gr.**), die  $0,053\% = 0,0729$  gr. Glycerin enthielten, wurden in  $1\frac{1}{2}$  Liter Wasser zertheilt, zum Wasser dann langsam, unter fortwährender Rührung so viel Alkohol zugethan, dass die Flüssigkeit schliesslich  $12\%$  Alkohol enthielt, das Ganze alsdann bei  $16-18^{\circ}$  C. **23** Tage lang stehen gelassen. Flüssigkeit und Hefe wurden nach Ablauf dieser Zeit in der Weise auf Glycerin bearbeitet, wie es bei der Bestimmung des Glycerins in der frischen Hefe beschrieben wurde. Die Ausbeute an Glycerinbenzoësäureestern (aus Petroläther umkrystallisirt) betrug **0,607 gr.** Diese Menge entspricht **0,1576 gr.** Glycerin. Es sind also **0,0847 gr.** Glycerin neugebildet worden; die Vermehrung des Glycerins betrug hiernach **116,05%**.

Im zweiten Versuch wurden **734,7 gr.** Hefe (entsprechend einem Trockenrückstande von **245,06 gr.**), die  $0,053\% = 0,1298$  gr. Glycerin enthielten, gleichfalls in  $1\frac{1}{2}$  Liter Wasser zertheilt, die Flüssigkeit mit  $6\%$  Alkohol allmählig versetzt, und das Ganze dann bei  $16-18^{\circ}$  C. **12** Tage lang stehen gelassen. Nach Ablauf dieser Zeit wurden Flüssigkeit und Hefe auf Glycerin verarbeitet. Die Ausbeute an Glycerinbenzoësäureestern (aus Petroläther umkrystallisirt) betrug **1,1861 gr.**, entsprechend **0,3081 gr.** Glycerin. Es sind also **0,1783 gr.** Glycerin neugebildet worden; die Vermehrung des Glycerins betrug hiernach **137,36%**.

Im dritten Versuch wurden **407,2 gr.** Hefe (entsprechend **135,82 gr.** trocknem Rückstande), die  $0,053\% = 0,0715$  gr.

<sup>1)</sup> Nägeli hat zuerst darauf hingewiesen, dass die Hefe Glycerin enthält.

Glycerin enthielten, in  $1\frac{1}{2}$  Liter Wasser zertheilt, und ohne Zusatz von Alkohol bei  $16-18^{\circ}$  C. 23 Tage lang stehen gelassen. Nach Ablauf dieser Zeit wurden Flüssigkeit und Hefe auf Glycerin verarbeitet. Die Ausbeute an Glycerinbenzoësäureestern (aus Petroläther umkrystallisirt) betrug **0,0931 gr.**, entsprechend **0,0241 gr. Glycerin**. Von dem ursprünglich in der Hefe enthaltenen Glycerin gingen also im Lauf des Versuches **0,0474 gr.** verloren; die Abnahme des Glycerins betrug hiernach **286,3%**.

Die Flüssigkeit hatte im Lauf des letzten Versuches einen stark faulen Geruch bekommen, und war schliesslich von einer recht dicken Schimmeldecke überzogen. Die Hefe war weniger undurchsichtig und etwas zerfliesslich geworden. Ausserdem ist noch zu erwähnen, dass bei der Benzoylirung der wässerigen Lösung von dem Rückstande des alkoholisch-ätherischen Auszuges neben den Benzoësäureestern des Glycerins auch noch anderweitige Benzoylverbindungen in den Niederschlag mit hineingingen. Sie waren aber in Petroläther unlöslich, und konnten daher von den Glycerinbenzoësäureestern leicht getrennt werden. Auf eine nähere Erörterung dieser Substanzen soll hier nicht eingegangen werden; es mag hier nur so viel erwähnt sein, dass diese Benzoylverbindungen bis zu **7,8%** Stickstoff enthielten. Die Elementaranalysen ergaben aber sonst keine Werthe, aus denen irgend welche Anhaltspunkte für die Erkennung der richtigen Zusammensetzung zu gewinnen gewesen wären. Es ist wahrscheinlich, dass ein Gemenge von wenigstens zwei verschiedenen Verbindungen vorlag; doch gelang es nicht, aus ihnen einzelne Substanzen mit constantem Schmelzpunkt zu isoliren. Ebenso wenig gelang es, durch die Spaltung der Benzoylverbindungen mit concentrirter Salzsäure (und nachheriger Entfernung der frei gewordenen Benzoësäure durch Ausschütteln mit Aether) bearbeitbare Producte zu gewinnen. Da in den ersten zwei Versuchen, bei der Benzoylirung des wässerigen Auszuges ähnliche Substanzen nicht bemerkt wurden, so ist wohl der Schluss berechtigt, dass die Entstehung dieser Stoffe durch die Fäulniss der Hefe bedingt war.

In diesem letzten Versuche haben sich — besonders gegen das Ende des Versuches zu — Gasblasen aus der Flüssigkeit entwickelt. Es trat hierbei der Geruch von Ammoniak und Schwefelwasserstoff auf. Bei den ersten Versuchen war hingegen keine Gasentwicklung in der Flüssigkeit bemerkbar gewesen. Eine kleine Probe der Hefe, nach dem Abschluss der ersten zwei Versuche aus der Flüssigkeit herausgeholt, vergährte den Zucker ebenso gut, wie vor dem Versuch. Sie zeigte auch das gleiche üppige Wachstum auf Kartoffelscheiben. Die Hefe war im Lauf beider Versuche durch verschiedentliche Spaltpilz- und Schimmelkeime verunreinigt geworden; hierfür sprach die Entwicklung recht zahlreicher Bacterien-, und einiger Schimmelpilzcolonien auf der Gelatineplatte. Sie schien jedoch trotz dieser Verunreinigungen von ihrer Lebensfähigkeit kaum etwas eingebüsst zu haben. Sie wurde auf den Kartoffelculturen — wenigstens bis zum 6. Tage — durch anderweitige, nebenher sich entwickelnde Pilze nicht unterdrückt. Im dritten Versuch, wo die Hefe nur mit Wasser, ohne Zusatz von Alkohol, 23 Tage lang stehen gelassen worden ist, hat sie ihre Fähigkeit, Gährung zu erregen, beinahe vollständig eingebüsst. Sie wuchs auch recht dürftig auf den Kartoffelscheiben, und wurde sehr bald durch andere Pilzarten überholt.

---

Die Hefe hat in allen diesen Versuchen keinen Zucker für ihre Ernährung zur Verfügung gehabt. Sie war überhaupt frei von löslichen Stoffen, die ihr an und für sich die Assimilation von Kohlenstoff möglich gemacht hätten. Das neugebildete Glycerin konnte nur aus der Substanz der Hefe selbst entstanden sein. Es muss also entweder durch den Stoffwechsel der Hefe gebildet worden sein, oder es ist aus Processen hervorgegangen, die mit dem Zerfall von Hefezellen verknüpft sind.

Hätte die Hefe an ihrer Substanz in der Weise gezehrt, dass sie, auf Kosten dieser, Zucker gebildet und den dann in Kohlensäure, Alkohol, Glycerin und Bernsteinsäure gespalten

hätte, so wäre nothwendigerweise eine reichliche Entwicklung von Kohlensäure zu bemerken gewesen. Da dies nicht der Fall war, so ist — bei den ersten zwei Versuchen — an eine Selbstvergährung gar nicht zu denken. Es geht also aus diesen Versuchen hervor, dass die Bildung von Glycerin<sup>1)</sup> mit der alkoholischen Gährung nicht unumgänglich nothwendigerweise zusammenhängt, indem eine Production von Glycerin auch dann statt hat, wenn die Möglichkeit einer alkoholischen Gährung nicht vorliegt. Die Bildung von Glycerin steht vielmehr in naher Beziehung zu dem Stoffumsatze in der Hefezelle.

Je länger die Hefe mit irgend einer Flüssigkeit in Berührung bleibt, um so mehr Glycerin kann sie — in toto — an die Flüssigkeit abgeben. Es kann daher um so mehr Glycerin in der Flüssigkeit vorgefunden werden, falls es vor weiteren Zersetzungen (vor Fäulniss) geschützt wird<sup>2)</sup>.

Die folgenden Versuche sollen hierfür zur Illustrirung dienen:

1178,4 gr. käuflicher Presshefe (entsprechend einem trocknen Rückstande von 691,01 gr.), die 0,017% = 0,1174 gr. Glycerin (auf den Trockenrückstand berechnet) enthielten<sup>3)</sup>, wurden am 4. December 1887 in einer geräumigen Flasche in 2 Liter Wasser zertheilt. Die Flüssigkeit wurde mit 12% Alkohol versetzt, und bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Der Versuch wurde am 29. Mai 1888 abgebrochen. Eine Probe der Hefe ging mit Zucker Gährung ein; sie wuchs auch auf Kartoffelscheiben, wenn auch erheblich langsamer,

<sup>1)</sup> Ob die Bildung der Bernsteinsäure in ähnlicher Weise beurtheilt werden kann, darüber sollen gleichfalls Versuche angestellt werden.

<sup>2)</sup> Geschieht dies nicht, so nimmt die Menge des Glycerins recht schnell ab, wie z. B. im dritten Versuch. Bei der Wahl der Versuchsbedingungen wurde daher (in den ersten zwei Versuchen) auch diesem Umstande Rechnung getragen.

<sup>3)</sup> Die Hefe vergährte den Zucker kräftig, und wuchs genügend rasch auf Kartoffelscheiben. Sie enthielt grosse Mengen von Bacterien. Eine Stärkebestimmung ergab 67,42% Stärke.

wie vor dem Versuch. Flüssigkeit und Hefe wurden in der schon beschriebenen Weise auf Glycerin verarbeitet. Die Ausbeute an Glycerinbenzoësäureestern (aus Petroläther umkrystallisirt) betrug **1,2378 gr.**, entsprechend **0,3215 gr.** Glycerin. Es sind also während des Versuches **0,2041 gr.** Glycerin neugebildet worden. Die Vermehrung des Glycerins betrug hiernach **173,85%**.

**1252,7 gr.** derselben Presshefe (entsprechend einem trocknen Rückstande von **734,58 gr.**), die **0,017%** = **0,1248 gr.** Glycerin (auf den Trockenrückstand berechnet) enthielten, wurden gleichfalls am **4. December 1887** in **2 Liter 12procentigen Alkohols** zertheilt, und mit diesem bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Der Versuch wurde am **24. Januar 1889** abgebrochen. Die Hefe schien am Ende des Versuches bedeutend abgeschwächt, oder gar abgestorben zu sein, denn sie vergährte den Zucker nicht mehr, und wuchs nicht auf Kartoffelscheiben. Bei der Verarbeitung der Flüssigkeit und Hefe auf Glycerin betrug die Ausbeute an Glycerinbenzoësäureestern (aus Petroläther umkrystallisirt) **2,1875 gr.**, entsprechend **0,5681 gr.** Glycerin. Es sind also während des Versuches **0,4433 gr.** Glycerin neugebildet worden. Die Vermehrung des Glycerins betrug hiernach **355,2%**.

Die Hefe, zeigte in beiden Versuchen keine Spur von Fäulnisserscheinungen. Ihr Aussehen hat sich insofern verändert, dass die Hefe zerfliesslich wurde, und ihre ursprüngliche matt graugelbe Farbe in ein helleres Gelb überschlug. Dies war besonders in der zweiten Portion zu bemerken, welche mit dem **12procentigen Alkohol** über **13 Monate** lang gestanden hat. Da am Ende des Versuches die Hefe so gut wie abgestorben war, so wird dadurch gezeigt, dass beim Absterben der Hefezellen Glycerin freigemacht wird<sup>1)</sup>, während eine Bildung von Kohlensäure hierbei nicht stattfindet.

<sup>1)</sup> Brefeld (Landwirthsch. Jahrb., III, IV, 1874, 1875) ist der Meinung, dass das Glycerin beim Absterben der Hefe entsteht, und sich bei der Gährung gar nicht, oder doch nur in geringerer Menge bildet, als es Pasteur angenommen hat.

Was die Frage der Entstehung des Glycerins anlangt, so hat man in erster Linie an einen Zerfall des Lecithins zu denken, von welchem Hoppe-Seyler nachgewiesen hat, dass es einen constanten Bestandtheil der Hefe bildet. Es ist sehr wahrscheinlich, dass die Quelle des beim Stoffwechsel, oder beim Zerfall der Hefezellen frei werdenden Glycerins in ihrem Lecithingehalt zu suchen ist.

Es ist nicht zu verkennen, dass die aus dem Organismus der Hefe entstandenen Glycerinmengen verhältnissmässig sehr gering sind. Sie bilden nur einen kleinen Bruchtheil desjenigen Glycerins, welches mit Hülfe derselben Hefemengen bei der Vergährung von grösseren Quantitäten Zucker unter günstigen Bedingungen erhalten werden kann. Dabei ist freilich der Umstand in Betracht zu ziehen, dass der Stoffwechsel der Hefe, unter einem Alkohol von 6—12% und ohne Zucker, sehr geringfügig bleibt. Die Möglichkeit ist nicht ausgeschlossen, dass unter anderen Bedingungen die Hefe allein auch wesentlich grössere Mengen von Glycerin zu produciren vermag.

Freiburg i. Br., Laboratorium des Prof. Baumann.