

Über einige Bestandteile der Hefe.

Von

O. Hinsberg und E. Roos.

(Aus der medicin. Abteilung des Universitätslaboratoriums Freiburg i. B.)

(Der Redaktion zugegangen am 16. März 1903.)

Verarbeitung der Hefe.

Wir verwendeten zu unseren Untersuchungen untergärige Bierhefe aus der Brauerei von Ganter in Freiburg i. B.; wenn nichts anderes erwähnt ist, verstehen wir unter «Hefe» also stets dieses Präparat.

Mit einer Probe der frisch aus der Brauerei bezogenen, gut gewässerten Hefe wird zunächst eine Trockenbestimmung (bis zum konstanten Gewicht bei 100°) ausgeführt. Hierauf wird die feuchte Hefe in Mengen, welche etwa 1 kg Trockensubstanz entsprechen — das sind etwa 7½ kg — in einer Handpresse in dicker Leinwand möglichst scharf abgepreßt.

Nun verreibt man den abgepreßten Kuchen mit Alkohol (8—9 Liter) zu einem dünnen Brei und kocht diesen während drei Stunden im verzinnten Kessel am Rückflußkühler. Nach der Filtration durch Filtrierpapier wird der Rückstand nochmals mit 6—8 Liter Alkohol versetzt und während einiger Stunden zum Sieden erhitzt. Man filtriert nochmals und wäscht die auf dem Filter zurückbleibende Hefe mit heißem Alkohol aus. Die vereinigten Filtrate und Washalkohole werden auf dem Wasserbade bis zum Verschwinden des Alkohols eingedampft. Hierauf wird der braun gefärbte, dickflüssige Rückstand samt den darin suspendierten Partien mit Sodalösung oder starkverdünnter Natronlauge bis zur alkalischen Reaktion versetzt und dann zweimal mit Äther ausgeschüttelt.

Dieser nimmt das Hefefett und einige andere Substanzen auf; in der alkalisch-wässrigen Flüssigkeit verbleiben Phosphate, Peptone und Glutencasein (nach Nägeli und Löw), Purinbasen und sehr geringe Mengen von Fettsäuren.

Die mit Alkohol extrahierte Hefe enthält, wie noch erwähnt werden mag und wie bereits von Nägeli und Löw festgestellt worden ist, reichliche Mengen von Eiweiß neben celluloseähnlichen Verbindungen.

Das Hefefett.

Wir haben uns nur mit der Untersuchung des oben erwähnten ätherischen Auszuges beschäftigt. Derselbe enthielt neben dem Fett der Hefe noch Cholesterin und ätherisches Öl, letzteres durch seinen intensiven Geruch nach Honig wahrnehmbar. Die nach dem Verdunsten des Äthers hinterbleibende, bei gut geleiteten Operationen hellbraun gefärbte Masse erstarrt, namentlich wenn sie einige Zeit im Exsiccator über Schwefelsäure gestanden hat, zum Teil strahlig krystallinisch.

Da die neben dem Hefefett vorhandenen Bestandteile (Cholesterin und ätherisches Oel) bei Gewichtsbestimmungen ihrer geringen Menge wegen kaum in Betracht kommen, kann man den eben erwähnten Ätherrückstand nach dem Trocknen über konz. H_2SO_4 bei Bestimmungen des Fettgehaltes der Hefe ohne weiteres als aus reinem Fett bestehend annehmen. Dieser Fettgehalt wurde bei unseren Versuchen — auf bei 100° getrocknete Hefe bezogen — zu 2,3—2,8 %¹⁾ gefunden.

Diese Zahlen sind in ziemlich naher Übereinstimmung mit früheren Bestimmungen nach der Extraktionsmethode²⁾ (2—3% bei Extraktion mit Äther); dagegen ergibt die Methode von Nägeli und Löw einen bedeutend höheren Fettgehalt von 5 %³⁾.

Es läßt sich aber leicht nachweisen, daß diese Methode eine Fehlerquelle hat. Erwärmt man, der Methode folgend, Hefe längere Zeit mit konz. Salzsäure, so müssen, neben den

¹⁾ Für Winterhefe.

²⁾ Nägeli und Löw. Ann. 193, 337.

³⁾ loc. cit.

durch Verseifung des Hefefetts sich bildenden Fettsäuren im engeren Sinne, fette Säuren entstehen, welche der Einwirkung der konzentrierten Säure auf die Cellulose und cellulose-ähnlichen Verbindungen ihren Ursprung verdanken. Dies letztere ist von Nägeli und Löw übersehen worden. Da die Gesamtmenge der fetten Säuren als Maß für das ursprünglich vorhandene Fett benutzt wird, muß die von ihnen gefundene Prozentzahl zu hoch ausfallen.¹⁾

Gegen die von früheren Beobachtern und auch von uns angewandte Extraktionsmethode zur Bestimmung des Fettgehaltes der Hefe wenden Nägeli und Löw ein, es sei unmöglich oder doch sehr schwierig, die Hefe ohne Zerstörung der Zellen vollständig zu extrahieren. Die bisher für den Fettgehalt der Hefe gefundenen Zahlen sind demnach wahrscheinlich sämtlich mit einer Fehlerquelle behaftet.

Eine genaue Methode zur Bestimmung des Fettgehaltes wird sich wahrscheinlich durch Extraktion der nach Buchner mit Kieselguhr verriebenen Hefe durch Alkohol oder Äther ergeben. Wir bemerken noch, daß wir bei der im Sommer verarbeiteten Hefe stets einen etwas geringeren Fettgehalt ($\frac{1}{2}$ — 1 % weniger) wie bei der Winterhefe fanden, für welche die oben angeführten Zahlen gelten. Da unsere Hefe im Winter und Sommer unter ganz gleichen Bedingungen gezüchtet wurde, kann dieser Umstand nur durch eine Veränderung der Hefe, welche sie beim Aufbewahren bei Sommer-temperatur vor der Verarbeitung erleidet, erklärt werden.

Die Fettsäuren der Hefe.

Die Verseifung des Hefefetts gelingt leicht wie folgt:

Man verreibt das Fett mit etwas 10 %iger Kalilauge im Mörser, fügt sodann soviel Lauge zu, daß auf 1 Teil Fett 5 Teile der letzteren kommen (ca. das Dreifache der Theorie) und erhitzt nun im Kolben auf der Asbestplatte solange zum

¹⁾ Das nach N. und L. hergestellte Fettsäuregemisch ist bei gewöhnlicher Temperatur flüssig, während das durch Verseifen des Hefefetts mittels Alkali hergestellte zum Teil krystallinisch erstarrt. Auch hieraus geht hervor, daß ersteres Verunreinigungen enthält.

Sieden, bis eine nahezu klare, braun gefärbte Lösung entstanden ist, welche sich beim Verdünnen mit Wasser nur schwach trübt. Ist dieser Punkt erreicht, was bei 20 g Fett etwa $\frac{1}{4}$ Stunde in Anspruch nimmt, so schüttelt man Cholesterin und ätherisches Öl mit Äther aus; ist noch etwas unverseiftes Fett vorhanden, so wird auch dieses vom Äther aufgenommen. Die zurückbleibende alkalische Flüssigkeit enthält nur die fettsauren Alkalisalze und Glycerin.¹⁾ Zur Gewinnung der freien Fettsäuren wurden verschiedene Wege eingeschlagen, welche im folgenden beschrieben sind.

I. Versuch. Säure $C_{15}H_{30}O_2$.

Eine aus 15 g Fett in der eben angegebenen Weise erhaltene Seifenlauge wurde mit Salzsäure angesäuert und mit Äther ausgeschüttelt. Das nach dem Verdunsten des letzteren hinterbleibende Säuregemisch war gelb gefärbt und zum Teil krystallinisch erstarrt. Es wurde nach ca. dreiwöchentlichem Stehen an der Luft weiter verarbeitet und zwar durch Behandeln mit Ammoniak, wobei eine stark getrübe Lösung entstand, und Ausfällen der letzteren mit Bleiacetat. Das abfiltrierte und gut getrocknete Bleisalz wurde behufs Abtrennung der gesättigten von den ungesättigten Säure dreimal mit Äther extrahiert und der nicht in Lösung gegangene Teil auf einem Filter gesammelt.

Die nähere Untersuchung der in der ätherischen Lösung befindlichen Substanzen ergab das Vorhandensein grosser Mengen von neutralen Körpern und nur ganz geringen Mengen von ungesättigten Fettsäuren in Form von Bleisalz. Da, wie später zu beschreibende Versuche ergeben haben, im frisch verseiften Hefefett bedeutende Mengen von Ölsäuren enthalten sind, müssen dieselben im vorliegenden Versuch unter Bildung der neutralen Substanzen zersetzt worden sein, offenbar während des dreiwöchentlichen Stehens des Fettsäuregemisches bei Gegenwart von Luft. Das in Äther unlösliche Bleisalz wurde 10 Minuten lang mit verdünnter Salzsäure zum Sieden erwärmt, worauf man die in Freiheit gesetzte gesättigte Fett-

¹⁾ Noch nicht nachgewiesen.

säure durch Ausschütteln der sauren Flüssigkeit mit Äther isolierte. Zur Reinigung wurde sie zweimal aus Petroläther und sodann einige Male aus Methylalkohol umkrystallisiert.

So dargestellt bildet die Fettsäure, welche, wie vorgehend bemerkt werden soll, einheitlicher Natur ist, weiße glanzlose Blättchen vom Schmelzpunkt 54° . Sie ist kaum löslich in Wasser, mäßig in kaltem Methylalkohol; starker Essigsäure und Petroläther. Die Lösung der Alkalisalze schäumt stark. Ca- und Ba-Salz werden als unlösliche Niederschläge erhalten. Brom in Schwefelkohlenstoff ist ohne Einwirkung.

Die Analyse ergab Zahlen, welche am besten für die Formel $C_{15}H_{30}O_2$ stimmen.

I.	0,1899	Substanz	=	0,5181	CO_2	und	0,2137	H_2O
II.	0,1924	»	=	0,5232	CO_2	»	0,2164	H_2O
III.	0,1818	»	=	0,4964	CO_2	»	0,2018	H_2O

Berechnet für:

Gefunden:

	$C_{14}H_{28}O_2$	$C_{15}H_{30}O_2$	$C_{16}H_{32}O_2$	I.	II.	III.
C	73,77	74,38	75,0	74,4	74,44	74,46
H	12,28	12,38	12,5	12,48	12,49	12,33

Daß die Säure nicht identisch mit der Myristinsäure ist, mit welcher sie in Schmelzpunkt und Aussehen sehr nahe übereinstimmt und für welche auch die Analyse leidlich stimmt, geht daraus hervor, daß ein Gemisch der beiden Verbindungen eine Schmelzpunktdepression von 9° zeigt. Ebenso wenig liegt ein Gemenge von Stearinsäure und Palmitinsäure vor, denn abgesehen davon, daß bei den Krystallen unserer Verbindung der Fettglanz fehlt, welcher sowohl der Stearin- und Palmitinsäure, wie einem Gemisch von beiden zukommt, könnte die Zerlegung in eine höher und eine niedriger siedende Fraktion nicht erreicht werden, wie folgender Versuch zeigt:

Eine alkoholische Auflösung des Natriumsalzes der Säure (etwa 0,5 g), erhalten nach Hoppe-Seyler durch Auflösen der letzteren in wässriger Soda, Eindampfen zur Trockne und Extrahieren mit absolutem Alkohol, wurde in der Siedehitze mit $BaCl_2$ fractioniert gefällt und zwar dergestalt, daß 8 Fraktionen Baryumsalz erhalten wurden. Einzelne dieser Fraktionen verarbeiteten wir durch Erwärmen mit verdünnter Salzsäure und Behandeln mit Äther auf die freie Säure,

welche nach dem Verdampfen des Äthers jeweils auf einem Uhr-
glas im Exsiccator getrocknet und dann auf ihren Schmelzpunkt
geprüft ward. Hierbei ergaben sich folgende Schmelzpunkte:

Fraktion I	56°
III	55°
V	55–57°
VIII	55°

Unsere aus der Hefe isolierte gesättigte Fettsäure ist hier-
nach sehr wahrscheinlich einheitlich und mit keiner bisher
bekannten Säure identisch. Der höchste beobachtete Schmelz-
punkt ist 56° (unkorr.)¹⁾ Die Zusammensetzung der Säure wird
nach unseren Analysen durch die Formel $C_{15}H_{30}O_2$ ausgedrückt.

II. Versuch.

Nach dem soeben beschriebenen Versuche ist es zweck-
mässig, die leicht veränderlichen ungesättigten Säuren des
Hefefetts sofort weiter zu verarbeiten. Wir versetzten daher
eine aus 30 g Fett frisch hergestellte Seifenlauge mit einem
auf das angewandte Alkali berechneten geringen Überschuß
von Ammoniumacetat und fällten dann die Bleisalze der Fett-
säuren durch Bleiacetat aus. Dieselben wurden nach dem
Trocknen auf dem Tonteller dreimal mit Äther extrahiert.
Der in Äther unlösliche Teil der Bleiverbindungen ergab nach
dem Erwärmen mit Salzsäure und Ausschütteln mit Äther
etwa 1 g einer halbfesten, nicht krystallisierten Säure, die nicht
weiter untersucht wurde.

Die in Äther löslichen Bleisalze übergossen wir in einem
1½-Literkolben mit einem Überschuß von 5%iger Salzsäure
und destillierten das Gemenge unter Vorlage eines Kühlers im
Dampfstrom. Hierbei tritt Umsetzung der Bleisalze mit der
Salzsäure ein; gleichzeitig destilliert eine ölige Säure mit den
Wasserdämpfen über. Wir setzten die Destillation so lange
fort, bis einige Tropfen des Destillats den charakteristischen
Geruch der zuerst übergegangenen Partien nur noch schwach
zeigten, und bis sich den übergehenden Öltröpfchen einige

¹⁾ Der bei Fraktion V beobachtete Schmelzpunkt 57° beruht wahr-
scheinlich auf einem Beobachtungsfehler.

festen Partikelchen beimengen: wir erhielten so einige Decigramme einer Säure, deren nähere Beschreibung bei Versuch III erfolgen wird.

Der weitaus größte Teil der Fettsäuren befindet sich nach Unterbrechung der Destillation neben Bleichlorid im Rückstand des Destillationskolbens, er wird durch Ausschütteln mit Äther isoliert. Das nach dem Abdunsten des letzteren hinterbleibende dunkel gefärbte Öl erstarrt bei Zimmertemperatur zum Teil. Behufs Gewinnung dieses festen Teiles wurde die Masse auf einen Tonteller gestrichen und das Zurückbleibende zunächst aus Ligroin, dann drei Mal aus Methylalkohol umkrystallisiert. Das so hergestellte Produkt bildet schwach gelblich gefärbte kugelige Gebilde, welche anscheinend aus feinen Nadeln zusammengesetzt sind. Die Ausbeute an reiner umkrystallisierter Verbindung — 1½ g — ist gering. Der Schmelzpunkt der Verbindung liegt bei 45°. Beim Behandeln mit Alkalien entstehen seifenartige Lösungen.

Analyse.

I.	0,206 g Substanz	= 0,5654 CO ₂	und 0,237 H ₂ O
II.	0,1333 „	= 0,3642 CO ₂	„ 0,147 H ₂ O
III.	0,2110 „	= 0,5715 CO ₂	„ 0,2368 H ₂ O

Berechnet für:		Gefunden:			
	C ₃₀ H ₅₅ O ₄	C ₃₃ H ₆₄ O ₄	I.	II.	III)
C	74,68	75,57	74,85	74,5	73,9
H	12,04	12,08	12,67	12,3	12,64

Versetzt man eine CS₂-Lösung der Verbindung mit Brom bis zur Gelbfärbung, verdunstet das Lösungsmittel und läßt den Rückstand über Natronkalk stehen, so resultiert eine bromhaltige, schwach gelblich gefärbte ölige Säure. Dieselbe enthält nach den Resultaten der Brombestimmung auf 2 Atome Br etwa 33 C-Atome.

Berechnet für: C₃₃H₆₄O₄Br₂
Br = 23,39

Gefunden:
23,12

1) Die Analysen wurden von demselben Präparate, aber in Abständen von einigen Tagen gemacht, dergestalt, daß III die letzte Analyse darstellt. Die Verbindung scheint sich, nach dem abnehmenden C-Gehalt zu schließen, an der Luft zu oxydieren.

Das untersuchte Präparat ist nach den Resultaten dieser Analysen wahrscheinlich ein zusammenkrystallisierendes Gemisch einer Säure der Ölsäurereihe mit einer gesättigten Säure, etwa der oben beschriebenen Säure vom Schmelzpunkt 56° . Leider verhinderte uns bisher Mangel an Material daran, der Frage näher zu treten.

Versuch III. Säuren $C_{12}H_{22}O_2$ und $C_{18}H_{34}O_2$.

60 g Hefefett, dieses Mal nicht wie bei den früheren Versuchen hellbraun, sondern dunkel gefärbt, wurden genau in der bei Versuch II angegebenen Weise auf die Bleisalze der fetten Säuren verarbeitet. Bei der Extraktion derselben mit Äther bestätigte sich das früher erhaltene Resultat. Die Salze waren bis auf einen ganz geringen Anteil, der übrigens nicht zur Untersuchung einlud, in Äther löslich.

Die ätherlöslichen Bleisalze wurden wie bei Versuch II zunächst mit verdünnter HCl und Wasserdampf behandelt und zwar wurde so lange destilliert, bis sich einzelne feste Partikelchen im Übergehenden nachweisen ließen. Wir schüttelten die mit den Dämpfen übergegangene Säure mit Äther aus und erhielten nach dem Verdunsten des letzteren ein bräunlich gefärbtes, in Wasser sehr schwer lösliches, in Alkalien leicht lösliches Öl von durchdringendem charakteristischen Geruch. Seine Menge betrug etwa $1\frac{1}{2}$ g.

Die Analyse des bei 100° getrockneten, nicht weiter gereinigten Präparates ergab:

- I. 0,1708 g Substanz = 0,4489 CO_2 und 0,1808 H_2O .
 II. 0,1416 „ „ = 0,3766 CO_2 „ 0,1492 H_2O .¹⁾

Berechnet für:	Gefunden:	
$C_{12}H_{22}O_2$	I.	II.
C 72,72	71,67	72,5
H 11,11	11,76	11,7.

Destilliert man die Säure im Vacuum bei 12 mm Druck, so geht fast alles bis auf einige Tropfen Vorlauf und eine kleine Menge braun gefärbten Rückstandes bei $130-150^{\circ}$ über.²⁾

1) Analyse des bei Versuch II erhaltenen Präparates.

2) Ein genauer Siedepunkt konnte der kleinen Menge wegen nicht beobachtet werden.

Die so gereinigte Säure ist farblos und geruchlos. Der dem rohen Präparate eigene penetrante Geruch stellt sich aber beim Stehen an der Luft wieder ein; er verdankt seine Entstehung offenbar einer Oxydation — einem Ranzigwerden — der Säure. Dieselbe ist, wie schon erwähnt, sehr schwer löslich in Wasser; mit den Alkalien gibt sie schäumende Lösungen; Ca- und Ba-Salz werden als unlösliche Niederschläge erhalten. Brom in Chloroformlösung wird lebhaft absorbiert. Hierbei entsteht eine ölige, in Wasser untersinkende Säure. Die Analyse der frisch destillierten ungesättigten Säure ergab Zahlen, welche recht gut für eine Verbindung der Ölsäurereihe mit 12 Kohlenstoffatomen stimmen.

0,2414 g Substanz = 0,6446 CO₂ und 0,2434 H₂O.

Berechnet für: C₁₂H₂₂O₂

C 72,72

H 11,11

Gefunden:

72,82

11,20.

Wenn auch die Darstellungsmethode keine Garantie für die völlige Reinheit des analysierten Präparates bietet, so ist es doch unseres Erachtens wahrscheinlich, daß hier im wesentlichen eine einheitliche Verbindung von der Formel C₁₂H₂₂O₂ vorliegt.

Das nach dem Abdestillieren der eben erwähnten Säure im Destillationskolben verbleibende Säuregemisch wurde wie bei Versuch II durch Ausschütteln mit Äther isoliert. Da es wenig Neigung zum Festwerden zeigte, unterwarfen wir es der fraktionierten Destillation im Vacuum.

Wir erhielten nach dreimaliger Fraktionierung, zuerst bei 20 mm, dann 2 mal bei 12 mm Druck:

1. einen Vorlauf bei 150—210° (12 mm) siedend, aus Fettsäuren bestehend;

2. die Hauptfraktion ziemlich konstant bei 210—220° (12 mm) siedend; aus fetten Säuren bestehend;

3. einen Nachlauf über 220° siedend; beim Erkalten zum Teil erstarrend; alkalilöslich;

4. ein dunkel gefärbtes, im Vacuum bei 20 mm Druck nicht mehr unzersetzt übergehendes, in Alkali unlösliches Öl. Die Menge desselben ist beträchtlich. Es liegt offenbar ein

Zersetzungsprodukt vor, welches wohl während der Verarbeitung des Hefefetts entstanden ist.

Von diesen Fraktionen wurde die zweite, welche den konstantesten Siedepunkt zeigte, näher untersucht (ca. 6 g). Zunächst kühlten wir sie auf 0° ab, wobei sie zum Teil krystallinisch erstarrte; der feste Bestandteil wurde bei 0° auf der Pumpe scharf abgesaugt und sodann einige Male aus Methylalkohol und starker Essigsäure umkrystallisiert. Wir erhielten so in einer Menge von etwa 15% des Ausgangsmaterials eine gesättigte Fettsäure vom Schmelzpunkt 54°, deren nähere Untersuchung die Identität mit der bei Versuch I erhaltenen Säure $C_{15}H_{30}O_2$ ergab.

Das von der festen Säure abgesaugte Öl ist schwach gelblich gefärbt. Beim starken Abkühlen in einer Eiskochsalzmischung trübt es sich, indem ein übrigens nur geringer Teil fest wird. Das Öl ist optisch inaktiv. Mit den Alkalien entstehen seifenartige Lösungen: die ammoniakalische Auflösung gibt mit $CaCl_2$ und $BaCl_2$ unlösliche Niederschläge. Da die ölige Säure offenbar noch etwas Säure $C_{15}H_{30}O_2$ in Lösung hält, versuchten wir die Abscheidung der letzteren durch Behandeln der auf bekannte Weise hergestellten Bleisalze mit Äther. Hierbei ergab sich, daß das Bleisalz der Säure $C_{15}H_{30}O_2$ unter den vorliegenden Bedingungen etwas weniger löslich in Äther ist, wie das der öligen Säure, daß aber eine Trennung der beiden Säuren auf diesem Wege durch Behandeln der Bleisalze mit Äther nicht möglich ist. Das Resultat ist nicht überraschend, denn nach den bei der Verarbeitung der Fettsäuren gemachten Erfahrungen ist das Bleisalz der Säure $C_{15}H_{30}O_2$ an und für sich unlöslich in Äther (Versuch I), wird aber leicht löslich bei Gegenwart von viel Bleisalzen der Ölsäurereihe (Versuch II und III). Die Menge der in dem abgesaugten Öl enthaltenen Säuren $C_{15}H_{30}O_2$ ist übrigens, wie der Trennungsversuch erkennen läßt, wahrscheinlich nur gering. Die Analyse der öligen Säure, wie sie nach dem Absaugen bei 0° erhalten wurde, ergab Zahlen, welche gut für eine Verbindung von der Formel der Ölsäure stimmen.

0.2052 g Substanz = 0,5758 CO ₂ und 0,2228 H ₂ O.	
Berechnet für: C ₁₅ H ₃₄ O ₂	Gefunden:
C 76,59	76,52
H 12,06	12,06.

Selbstredend ist diese genaue Übereinstimmung aber nur eine zufällige, da das analysierte Produkt ja nicht einheitlich ist, sondern noch feste Säure gelöst enthält, und da es außerdem innerhalb 10° siedet. Bedenkt man jedoch, daß ein Gemisch von 20 Teilen der Säure C₁₅H₃₀O₂ mit 80 Teilen Ölsäure bei der Verbrennung Zahlen ergibt, welche nur um 0,4% beim Kohlenstoff, um 0,03% beim Wasserstoff von den für Ölsäure verlangten abweichen; bedenkt man weiter, daß der Siedepunkt kleiner Quantitäten im Vacuum schwer konstant zu halten ist, so wird man schließen, daß die analysierte Säure nach Abzug der noch in ihr aufgelösten gesättigten Fettsäure zum wesentlichen Teil aus einer Säure C₁₈H₃₄O₂ besteht. Ob Ölsäure vorliegt, müssen weitere Versuche ergeben; auffallend ist, daß der Geruch unserer Säure beim Ranzigwerden völlig von dem der ranzigen Ölsäure abweicht.¹⁾

Wie man sieht, sind die bisher erhaltenen Resultate noch lückenhaft. Einigermassen sicher gestellt ist das Vorhandensein zweier Säuren, der Ölsäurereihe C₁₂H₂₂O₂ und C₁₈H₃₄O₂, sowie einer gesättigten Fettsäure C₁₅H₃₀O₂ vom Schmelzpunkt 56° im Hefefett.

Die weitere Untersuchung wird sich zunächst mit der genauen Feststellung der Zusammensetzung und Eigenschaften dieser Verbindungen zu beschäftigen haben. Ferner wären die bei 150—210° und über 220° siedenden Partien der ungesättigten Säuren genauer zu untersuchen; sie enthalten wahrscheinlich weitere Homologe der Ölsäure C₁₄H₂₆O₂, C₂₀H₃₈O₂ etc.

Die Entwirrung dieses Gemenges von Ölsäuren ist aber offenbar nur mit grossen Mengen von Material durchzuführen.

Medizinische Wirkung des Hefefetts.

Wie der Eine von uns im Verfolg der Arbeiten früherer

¹⁾ Auch das Verhalten unserer Säure gegen N₂O₃ scheint anders zu sein.

Autoren¹⁾ gefunden hat, kommt der lebenden wie der toten Hefe eine gelind abführende Wirkung zu. Die Untersuchung des hier beschriebenen Hefefetts hat nun ergeben, daß diese Substanz in ähnlicher Weise abführend wirkt und daß sie demnach, wenn nicht der alleinige Träger jener Hefewirkung, so doch an derselben wesentlich beteiligt ist. Außerdem wurden therapeutische Erfahrungen gemacht, die auch auf eine gewisse Wirksamkeit des Fettes bei Hautaffektionen schließen lassen. Näheres soll an anderer Stelle mitgeteilt werden.

Cholesterine der Hefe.

Wie früher erwähnt, gibt die beim Verseifen des Hefefetts resultierende Lauge beim Schütteln mit Äther Cholesterin und ätherisches Oel (zuweilen auch etwas unverseiftes Fett) an diesen ab.

Zur Gewinnung des Cholesterins werden die von mehreren Versuchen herrührenden ätherischen Ausschüttelungen gesammelt.²⁾ Man verdunstet den Äther und löst den Rückstand in möglichst wenig heißem Alkohol auf; beim Erkalten krystallisiert das Hefecholesterin aus, während der Riechstoff der Hefe in der Mutterlauge bleibt.

Nach mehrmaliger Krystallisation aus Alkohol erhält man das Hefecholesterin in farblosen Blättchen vom Schmp. 159° (unkorr). Dieselben geben mit CHCl_3 und konz. H_2SO_4 die bekannte Rotfärbung. Sie sind schwer löslich in kaltem Alkohol, mäßig löslich in Eisessig; in Chloroform sind sie auch in der Wärme ziemlich schwerlöslich.

Die Verbindung ist nicht identisch mit dem von Schulze und Barbieri³⁾ entdeckten Caulosterin, welches nach den genannten Autoren fast denselben Schmelzpunkt 158—159° hat, und zwar aus folgenden Gründen:

1) E. Roos, Zur Behandlung der Obstipation. Münchener med. Wochenschrift, Bd. 43. (1900.)

2) Da die Hefe nur wenig Ch. enthält (nach Nägeli und Löw 0.06 %), ist es zweckmäßig, das Material von etwa 5 Kilo Hefe zu sammeln.

3) Journ. f. prakt. Chem. 25. 165.

1. Ein Gemisch von Schulze's Caulosterin mit Hefecholesterin zeigt eine Schmelzpunktdepression von 6° .

2. Das aus Alkohol krystallisierte und an der Luft getrocknete Hefecholesterin schmilzt im Dampfschrank zu einer gelblichen, halbfesten Masse zusammen; Caulosterin bleibt unter denselben Verhältnissen unverändert.

3. Das im Exsiccator getrocknete Hefecholesterin färbt sich beim Aufbewahren im Dampfschrank gelb, ebenso im Sonnenlicht; Caulosterin bleibt farblos.

Wir waren in der Lage, diese Vergleiche mit einem Originalpräparat von Caulosterin auszuführen, welches uns Herr Prof. E. Schulze freundlichst überlassen hat.

Die Analysen des über Schwefelsäure getrennten Hefecholesterins ergeben Zahlen, welche für die Formel $C_{26}H_{44}O$ stimmen.

I. 0,2058 Subst. = 0,6325 CO_2 und 0,2101 H_2O

II. 0,0907 > = 0,2773 CO_2 > 0,0975 H_2O

Berechnet für:

$C_{26}H_{44}O$

C 83,87

H 11,82

Gefunden:

I. II.

83,81 83,35

11,35 11,9

Die aus Alkohol krystallisierte und an der Luft getrocknete Verbindung verliert beim Stehen über Schwefelsäure bis zum konstanten Gewicht:

Berechnet für:

$C_{26}H_{44}O + H_2O$

$H_2O = 4,61$

Gefunden:

I. II. III.

2,7 3,16 3,62

Diese Zahlen deuten darauf hin, daß das Hefecholesterin beim Liegen an der Luft bereits einen Teil seines Krystallwassers verliert oder aber, daß es aus zwei isomeren Verbindungen besteht, von denen nur die eine Krystallwasser enthält. Hefecholesterin ist linksdrehend, wie die meisten Cholesterine.

Wie erwähnt, schmilzt das hier beschriebene Präparat von Hefecholesterin bei 159° . Wir erhielten diesen Schmelzpunkt bei vier verschiedenen Darstellungen stets wieder. Auch aus Preßhefe konnte ein identisches Präparat isoliert werden. Nur in einem Fall bekamen wir aus Bierhefe ein niedriger

schmelzendes Produkt, das seinen Schmelzpunkt $145-148^{\circ}$ trotz häufigen Umkrystallisierens aus Alkohol und Eisessig nicht änderte.

Die Hefe enthält hiernach mindestens zwei verschiedene Cholesterine.

Das ätherische Öl der Hefe.

Die eben erwähnten, das ätherische Öl der Hefe enthaltenden alkoholischen Laugen werden durch Verdunstung vom Alkohol befreit, worauf man den Rückstand mit Wasserdampf behandelt. Man destilliert so lange, wie sich der angenehme Geruch des ätherischen Öls im Übergehenden bemerkbar macht. Das aus dem gesamten Destillat durch Ausäthern gewonnene ätherische Öl der Hefe ist farblos; es riecht in konzentriertem Zustand nach Hyacinthen, in verdünntem nach Hefe. Offenbar ist es der Träger des spezifischen Hefegeruchs.

Leider lassen sich nach der hier beschriebenen Methode nur sehr geringe Mengen des interessanten Stoffes gewinnen; wir erhielten aus 10 kg trockener Hefe nur einige Decigramm des Öls. Daß übrigens unsere Gewinnungsmethode unvollkommen ist, geht daraus hervor, daß die alkoholischen Hefeextrakte beim Abdestillieren des Alkohols ein den charakteristischen Hefegeruch zeigendes Destillat geben. Das Hefeöl ist demnach mit den Alkoholdämpfen etwas flüchtig und entzieht sich daher bei der von uns angewandten Methode zum Teil der Isolierung. Wahrscheinlich wird man bei der Extraktion der Hefe mit Äther bessere Ausbeuten erhalten.

Zum Schluß geben wir eine Zusammenstellung der aus der Hefe dargestellten Verbindungen:

1. Hefecholesterin $C_{26}H_{41}O$: Farblose Blättchen vom Schmp. 159° ; nicht identisch mit Caulosterin; vielleicht noch nicht einheitlich.

Hefecholesterin vom Schmp. $145-148^{\circ}$ nur einmal erhalten.

2. Ätherisches Öl der Hefe: Farbl. Öl mit Hyacinthen-
geruch: mit Wasserdämpfen flüchtig.

3. Säure $C_{15}H_{30}O_2$: Farblose, glanzlose Blättchen. Schmelz-
punkt 56° .

4. Säure $C_{12}H_{22}O_2$ [?]: Farb- und geruchloses Öl. Der
Geruch der ranzig gewordenen Säure ist charakteristisch.

5. Säure $C_{18}H_{34}O_2$ [?]: Farbl. Öl: Siedepunkt $210-220^\circ$
(12 mm). Die Identität mit der Ölsäure noch nicht fest-
gestellt.

Hierzu sei historisch bemerkt, daß der Fettgehalt
der Hefe schon seit langem bekannt ist (Nägeli und Löw,
Ann. d. Ch. 193, 322), daß aber über die Zusammensetzung
des Fettes bisher keine Versuche vorlagen. Der Cholesterin-
gehalt der Hefe ist von Nägeli und Löw konstatiert worden:
über die Eigenschaften des Hefecholesterins war bisher nichts
bekannt. Das ätherische Öl der Hefe ist von den ~~bisherigen~~
Beobachtern, die wohl stets mit kleinen Mengen Hefe gearbeitet
haben, übersehen worden.

Herrn Dr. A. Friedl und Herrn Apotheker Harrer, die
uns bei diesen Versuchen unterstützt haben, sagen wir auch
an dieser Stelle unseren besten Dank.