

Über die Bildung von Glycerin bei der alkoholischen Gärung.

Von
Max Oppenheimer.

(Aus dem städtischen chemisch-physiologischen Institut zu Frankfurt a. M.)
(Der Redaktion zugegangen am 9. Dezember 1913.)

Die Anschauungen über den Ursprung des Glycerins bei der alkoholischen Gärung haben die verschiedensten Wandlungen erlebt. Die Annahme von Delbrück¹⁾ u. a., daß die Fette und Öle der Hefezellen die Quelle des Glycerins seien, wird, wie Buchner und Meisenheimer²⁾ mit Recht betonen, durch die einfache Überlegung hinfällig, daß dann unzweifelhaft etwa die zehnfache Menge des tatsächlich gebildeten Glycerins an Fettsäuren auftreten müsse. Es konnten aber bei entsprechenden Versuchen nur Spuren höherer Fettsäuren nachgewiesen werden.

Die von Carracido,³⁾ später von Felix Ehrlich⁴⁾ vertretene Anschauung, daß das Glycerin vielleicht den Eiweißkörpern resp. Nucleinsubstanzen der Hefezelle entstamme, hatte von Anfang an wenig Wahrscheinlichkeit für sich und dürfte nach den Ergebnissen der Versuche von Buchner und Meisenheimer, sowie der vorliegenden Arbeit ganz aufzugeben sein.

Buchner und Meisenheimer (l. c.) hatten schon in einer früheren Arbeit im Gegensatz zu den ersten Untersuchungen von Buchner und Rapp⁵⁾ gefunden, daß ebenso

¹⁾ M. Delbrück, Wochenschr. f. Brauerei, Bd. 20, S. 66 (1903).
— Maercker-Delbrück, Spiritusfabrikation 1903, S. 45.

²⁾ E. Buchner und J. Meisenheimer, Ber. d. dtsh. Chem. Ges., Bd. 39, S. 3203 (1906).

³⁾ R. Carracido, Ref. Biochem. Zentralbl., Bd. 3, S. 439 (1904 bis 1905).

⁴⁾ F. Ehrlich, Biochem. Zeitschr., Bd. 18, S. 423 (1909).

⁵⁾ E. Buchner und R. Rapp, Ber. d. dtsh. chem. Ges., Bd. 34, S. 1526 (1901). — Vgl. auch Buchner-Hahn, Zymasegärung, 1903, S. 216 ff.

wie bei der Gärung mit lebender Hefe Glycerin auch bei der zellfreien Gärung in erheblichen Mengen gebildet wird. Die Autoren nahmen bereits damals an, daß diese Substanz aus Zucker entstehe, «nicht als direktes Nebenprodukt der Zuckerspaltung in Alkohol und Kohlensäure, sondern durch einen gesonderten Vorgang».

Zur Aufklärung der Frage, ob die Bildung des Glycerins tatsächlich auf Kosten von Zucker erfolge, dienten dann weitere Versuche. Hierbei fanden nun Buchner und Meisenheimer,¹⁾ daß bei der Gärung durch Hefepreßsaft nach Zusatz von Traubenzucker erhebliche Mengen von Glycerin, nämlich 5—6% des verbrauchten Zuckers, entstanden, während bei der Selbstgärung die für Glycerin gefundenen Zahlen um ein Geringes in die Höhe gingen, etwa um so viel, wie der hierbei vergorenen Zuckermenge entsprach.

Über den weiteren Mechanismus der Glycerinbildung aus Zucker bei der alkoholischen Gärung sprachen sich bereits Buchner und Meisenheimer dahin aus, daß wohl die sechsgliedrige Glukosekette in dreigliedrige Kohlenstoffketten gespalten werde, wobei die hypothetische Annahme der intermediären Bildung von Dioxyäceton als die geeignetste erscheine, welch letzteres durch Reduktion leicht in Glycerin übergeführt werden könne.

An die Möglichkeit der Bildung von Glycerin im tierischen Organismus durch Reduktion der ersten Zuckerspaltungsprodukte Dioxyäceton und Glycerinaldehyd dachten Parnas und Baer,²⁾ sowie auch I. Smedley.³⁾ Etwa gleichzeitig und unabhängig von genannten Forschern unterzogen Embden, Schmitz und Baldes⁴⁾ die Frage der Glycerinbildung im Tierkörper einer experimentellen Prüfung und kamen zu dem Ergebnis, daß Glycerinaldehyd durch lebensfrischen Organbrei und in der

¹⁾ E. Buchner und J. Meisenheimer, Ber. d. dtsh. chem. Ges. Bd. 43, S. 1782 (1910).

²⁾ J. Parnas und J. Baer, Biochem. Zeitschr., Bd. 41, S. 397 (1912).

³⁾ I. Smedley, Journ. of physiol., Bd. 45, S. 203 (1912).

⁴⁾ G. Embden, E. Schmitz und K. Baldes, Biochem. Zschr., Bd. 45, S. 174 (1912).

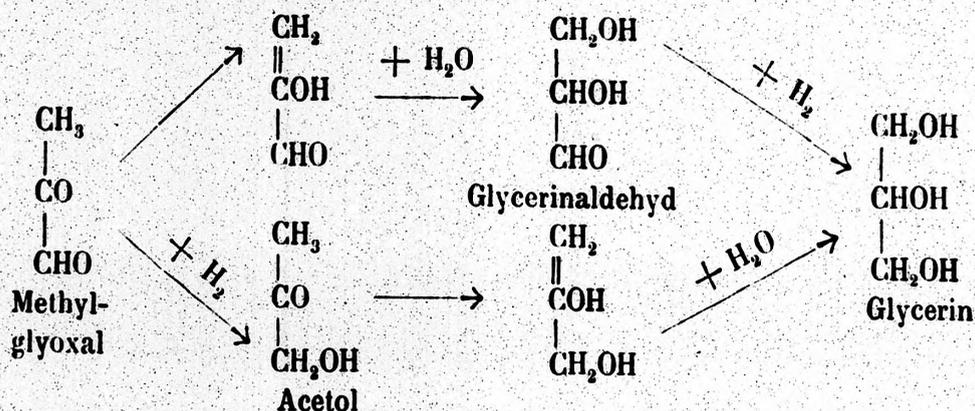
künstlich durchbluteten Leber in Glycerin umgewandelt werden kann. Da Glycerinaldehyd allem Anscheine nach in größter Menge beim Abbau des Traubenzuckers im tierischen Organismus entsteht, glauben die Autoren, daß hiermit die wesentlichste Quelle des vom Tierkörper neu gebildeten Glycerins aufgeklärt sei. Ob die Reduktion des Glycerinaldehyds zu Glycerin, wie es nach den Untersuchungen von Parnas¹⁾ sehr möglich erscheint, nach dem Typus der Cannizaroschen Reaktion mit einer gleichzeitigen Oxydation von Glycerinaldehyd zu Glycerinsäure verknüpft ist, wurde nicht untersucht. Ebenso wurde die Prüfung des Verhaltens von Dioxyaceton in bezug auf Glycerinbildung im tierischen Organismus für später vorbehalten.

Im Gegensatz zu den experimentell begründeten Anschauungen von Embden, Schmitz und Baldes über die Glycerinbildung stehen die rein theoretischen Vorstellungen von Neuberg und seinen Mitarbeitern über diese Frage. Neuberg und Kerb²⁾ nehmen an, daß das von ihnen als Zwischenstufe des Zuckerzerfalls postulierte Methylglyoxal der Cannizaroschen Umlagerung unterliege, wobei Brenztraubensäure einerseits, Brenztraubenalkohol (Acetol) andererseits entsteht. Die Enolform des Acetols soll dann durch Wasseraufnahme in Glycerin übergehen. Nach dem von Neuberg (l. c.) neuerdings aufgestellten Gärungsschema käme in der Tat Methylglyoxal als Quelle des Glycerins in Betracht. Aber es ist hierzu zu bemerken, daß, selbst wenn Methylglyoxal im Hefesaft Glycerin bilden würde, was experimentell noch nicht festgestellt ist, und zum mindesten für Organbrei, der sich bei Glycerinaldehyd als starker Glycerinbildner erwiesen hatte, nach einem orientierenden Versuch des Verfassers sogar fraglich erscheint, die Reaktion nicht unbedingt über Acetol gehen müßte. Statt primäre Reduktion und sekundäre Hydratisierung anzunehmen, könnte auch der umgekehrte Fall vorliegen: Wasseranlagerung

¹⁾ J. Parnas, Biochem. Zeitschr., Bd. 28, S. 274 (1910).

²⁾ C. Neuberg und J. Kerb, Zeitschr. f. Gärungsphys., Bd. 1, S. 118 (1912). — Vgl. auch C. Neuberg, Die Gärungsvorgänge und der Zuckerumsatz der Zelle, Jena 1913.

an die Enolform des Methylglyoxals und Reduktion des gebildeten Glycerinaldehyds:



Dem Umstande, daß Methylglyoxal ja nichts anderes ist als eine Anhydroverbindung des Glycerinaldehyds, scheint überhaupt zu wenig Rechnung getragen zu werden. Im Grunde genommen sind vielleicht alle Reaktionen des Methylglyoxals nichts anderes als solche des Glycerinaldehyds auch und umgekehrt.

Anders verhält es sich bei dem bereits in der voranstehenden Arbeit erwähnten, wohl einfacheren Schema, welches v. Lebedew¹⁾ aufgestellt hat, und welches allen bisher bekannten Tatsachen der Gärungserscheinungen auch vollkommen gerecht wird.²⁾

Nach v. Lebedew zerfällt in bekannter Weise Hexose zunächst in je ein Molekül Glycerinaldehyd und Dioxyaceton,

¹⁾ A. v. Lebedew und N. Griaznoff, Ber. d. dtsh. chem. Ges., Bd. 45, S. 3270 (1912).

²⁾ Neuberg nimmt bei seiner Erklärung der Gärungserscheinungen allein drei verschiedene Cannizarosche Umlagerungen ein und derselben Substanz — des Methylglyoxals — an, die übliche Cannizarosche Umlagerung zwischen zwei gleichen Molekülen zur Erklärung der Glycerinbildung, einen «gemischten» Cannizaro zwischen zwei verschiedenen Aldehyden für die oxydative Entstehung der Brenztraubensäure aus Methylglyoxal und die Reduktion des Acetaldehyds zu Alkohol, was im Grunde genommen nichts anderes ist als das, was frühere Autoren als «gekoppelte Reaktion» bezeichnet haben, und schließlich einen neu eingeführten, sogenannten «inneren» Cannizaro zur Deutung der Milchsäurebildung aus Methylglyoxal, für welche Reaktion bereits früher Nef (Annalen, Bd. 357, S. 305 (1907)) die mindestens ebenso wahrscheinliche, aber durch chemische Analogie gestützte Theorie der Benzilsäure-Umlagerung herangezogen hatte.

welche wiederum beide als Vorstufen des Glycerins in Betracht kommen können.

Nachdem von diesen beiden Substanzen die eine von Embden, Schmitz und Baldes als Glycerinbildner im Tierkörper erkannt, die andere von Buchner und Meisenheimer als Vorstufe des Glycerins bei der Zuckergärung theoretisch angenommen wurde, lag es nahe, auch experimentell zu prüfen, ob die eine oder andere dieser Substanzen, resp. ob beide imstande sind, mit Hefe resp. Hefesaft Glycerin zu bilden, wobei Wert darauf gelegt wurde, durch vergleichende Untersuchungen mit den beiden genannten Substanzen und mit Traubenzucker quantitative Unterschiede festzustellen.

Methodik.

Die Versuchsanordnung war genau dieselbe wie bei den Versuchen über Milchsäurebildung in der voranstehenden Mitteilung. In 3 Versuchen wurden je 3 Ansätze von 50 ccm Hefemacerationssaft mit je 1% Substanz = 0,5 g Traubenzucker, Glycerinaldehyd und Dioxyaceton und 2% Toluol, entsprechend 1 ccm (Vers. T, G und D), sowie 1 Ansatz ohne Substanz (Vers. B) 4 Tage, resp. im letzten Versuche 1 Tag, bei Zimmer-temperatur stehen gelassen und dann nach Schenck gefällt. Eine fünfte Portion Hefesaft wurde zur Bestimmung des vorgebildeten Glycerins sofort gefällt (Vers. A). Bei 2 Versuchen wurden noch Kontrollbestimmungen angesetzt, bei welchen vor der Sublimatfällung Glycerinaldehyd resp. Dioxyaceton zugesetzt wurde (Vers. A_G und A_D).

Von den entquecksilberten Schenck-Filtraten wurden dann jeweils 150 ccm, entsprechend 25 ccm Hefesaft, zur Glycerinbestimmung verwandt. Bei kolloidalen Lösungen, wie sie bereits in der voranstehenden Mitteilung erwähnt sind, war zur Erleichterung der Fällung der Zusatz eines gleichen Volumens Alkohol nötig. Die weitere Verarbeitung der Filtrate erfolgte genau nach den von Embden, Schmitz und Baldes ausgearbeiteten Vorschriften. Die Beseitigung des Glycerinaldehyds und des Dioxyacetons nach der ersten Alkoholfällung geschah stets mit frisch gefälltem Silberoxyd. Lediglich am

Schlusse der Bestimmung erfolgte eine kleine Abänderung in der Art, daß nicht ein aliquoter Teil der eingeeengten Flüssigkeit, sondern das ganze Quantum in das Strittar-Kölbchen übergeführt, auf etwa 5 ccm eingeeengt und dem Zeisel-Fantoschen Verfahren unterworfen wurde. Im übrigen sei wegen der Methodik wiederholt auf die erwähnte Arbeit von Embden, Schmitz und Baldes verwiesen.

Versuchsergebnisse.

Die Ergebnisse der Versuche sind aus der nebenstehenden Tabelle I ersichtlich. Kolonne 4 zeigt, daß in dem angewandten Macerationssaft zwischen 0,17 und 0,25% vorgebildetes Glycerin vorhanden war. Aus Kolonne 5 ersieht man, daß beim Stehen des Hefesaftes der Glyceringehalt (ähnlich wie bei der Milchsäure) um ein geringes zunimmt, im Durchschnitt etwa um 0,04%, eine Tatsache, die auch von Buchner und Meisenheimer (l. c.) beobachtet wurde. Die nächste Kolonne (6) zeigt dann eine beträchtliche Mehrbildung an Glycerin bei Zusatz von Traubenzucker, die noch gesteigert wird bei Zusatz von Glycerinaldehyd (Kolonne 7) und schließlich am stärksten ist bei Zusatz von Dioxyaceton (Kolonne 8). Die Neubildung an Glycerin betrug bei Zusatz von Traubenzucker zwischen 3 und 12% des Zusatzes (Kolonne 10), bei Glycerinaldehyd zwischen 9,4 und 15%, bei Dioxyaceton schließlich zwischen 11,7 und 19,2% des Zusatzes! (Kolonne 12 und 14).

Betrachtet man die einzelnen Versuche unter Berücksichtigung der Gärkraft der angewandten Hefesäfte, so ergeben sich auch hier, ähnlich wie bei der Milchsäurebildung, interessante Gesichtspunkte.

Bei Versuch I zeigt sich vor allem das enorm hohe Glycerinbildungsvermögen des Dioxyacetons, welches bei diesem Versuche doppelt so groß ist wie bei Glycerinaldehyd und das Sechsfache beträgt wie bei Traubenzucker. Der höchsten Glycerinbildung (19,2% der zugesetzten Substanz) steht hier die geringste Gärkraft des Saftes gegenüber (etwa 1,05).

Weniger auffällig sind die Verhältnisse bei Versuch II: normale Gärkraft des Saftes, ziemlich gleichmäßige Glycerinbildung bei allen drei Substanzen.

Tabelle I.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	
Ver- suchs- Nr.	Datum des Ver- suchs	Ver- suchs- dauer Tage	A Vor dem Versuch	B. Nach dem Versuch ohne Zusatz	T Nach dem Versuch bei Zusatz von je 1%	G D	Gefundene Menge Glycerin pro 100 ccm Hefesaft in g		Trauben- zucker T—B % des Zus.		Neugebildetes Glycerin pro 100 ccm Hefesaft aus Glycerin- aldehyd G—B % des Zus.		Dioxy- aceton D—B % des Zus.		Gärkraft des Hefe- saftes nach Buchner	Bemer- kungen
I	1913 24./II.	4	0,1712	0,2395	0,2706	0,3356	0,4358	0,0311	3,04	0,0961	9,39	0,1963	19,20	[1,0496]		Die Gärkraft von Vers. 18 ist der Durch- schnitt aus 3 Bestim- mungen von Trockenhefe derselben Sendung. AG resp. A D: Hefesaft vor dem Versuch mit Zusatz von Glycerin- aldehyd resp. Dioxyaceton.
II	17./IV.	4	AG: 0,2295 AD: 0,2583	0,2702	0,3933	0,4246	0,4200	0,1231	12,04	0,1544	15,09	0,1498	14,65	2,0450		
III	20./VI.	1	A : 0,2360 AG: 0,2320 AD: 0,2296	0,2684	0,3516	0,3708	0,3880	0,0832	8,05	0,1024	10,01	0,1196	11,70	2,9736		

Wiederum sehr charakteristisch ist dagegen Versuch III. Obwohl der Versuch nur einen Tag dauerte, zeigte er eine relativ hohe Glycerinbildung mit deutlichem Anstieg von Traubenzucker über Glycerinaldehyd zu Dioxyaceton. Die trotz der enorm hohen Gärkraft (2,9736) überaus schlechte Angärung bei diesem Versuche (0,0054 g CO₂ nach 24 Stunden) erklärt vielleicht die für die kurze Versuchsdauer beträchtlich zu nennende Glycerinbildung.

Ein Vergleich von Kolonne 14 und 15 zeigt endlich, daß bei den 3 vorliegenden Versuchen die Glycerinbildung aus Dioxyaceton um so stärker ist je geringer die Gärkraft.

Zusammenfassung.

Die Versuchsergebnisse der vorliegenden Arbeit bestätigen die von Buchner und Meisenheimer beobachtete Tatsache der Glycerinbildung aus Traubenzucker im Hefesaft.

Sie zeigen weiter, daß bei der alkoholischen Gärung im Hefemacerationssaft sowohl Dioxyaceton wie Glycerinaldehyd überaus starke Glycerinbildner sind. Die namentlich in einem Falle stark überwiegende Glycerinbildung aus Dioxyaceton läßt es als wahrscheinlich erscheinen, daß die bereits von Buchner und Meisenheimer ausgesprochene Vermutung, daß Dioxyaceton als Hauptquelle des Glycerins bei der alkoholischen Gärung in Betracht komme, zutrifft.

Ebenso wie bei der Milchsäurebildung wurde eine auffallende Beziehung auch zwischen der Glycerinbildung und der Gärkraft des Hefesaftes beobachtet. Man darf auch hier vielleicht annehmen, daß dies keine Zufälligkeiten sind, sondern man kann wohl sagen, daß auch die Glycerinbildung eine in ihrem Umfange von der Gärkraft der Hefe resp. des Hefesaftes abhängige Nebenreaktion der alkoholischen Gärung ist. Es ist also auch die Glycerinbildung, ganz im Sinne der, wie in der voranstehenden Abhandlung erwähnt, bereits von Pasteur und dann wiederholt von späteren Autoren¹⁾ für die Zellgärung ausgesprochenen Anschauungen, um so stärker, je

¹⁾ Vgl. Carl Oppenheimer, Die Fermente, 4. Aufl., (1913), Bd. 2, S. 685.

schwächer die Gärkraft der angewandten Hefe resp. des Hefesaftes ist.

Schließlich soll noch eine Zusammenstellung die beobachtete Abhängigkeit der Glycerinbildung von der zugesetzten Substanz einerseits, der physiologischen Beschaffenheit der Hefe resp. des Hefesaftes anderseits deutlich machen.

Gefundene Mengen Glycerin in Prozent vom Zusatz
bei der Gärung.

2,5—3,6%	bei Zuckergärung durch lebende Hefe (Pasteur)
5—6%	» » » Hefepreßsaft (Buchner und Meisenheimer)
3—12%	» » » Macerationsaft
9,4—15%	» Glycerinaldehydgärung durch Macerationsaft
11,7—19,2%	» Dioxyacetongärung » » »

Anhang.

Gärkraft und Selbstgärung des Hefemacerationsaftes.

In der vorliegenden, sowie in der vorangehenden Mitteilung wurde bereits wiederholt vor allem die Gärkraft der verwandten Hefemacerationsäfte erwähnt. Da die bei den einzelnen Versuchen gemachten Beobachtungen über Gärkraft und Selbstgärung des Hefemacerationsaftes die Angaben früherer Autoren, vor allem v. Lebedews selbst, nicht nur bestätigen, sondern auch teilweise in nicht unwichtigen Punkten ergänzen und berichtigen, dürfte eine vergleichende Zusammenstellung der Ergebnisse von Interesse sein.

Gärkraft des Hefemacerationsaftes.

Um die Qualität des für die einzelnen Versuche verwandten Hefemacerationsaftes zu kontrollieren, wurden bei jedem Versuche gewichtsanalytische Gärkraftbestimmungen nach Buchner¹⁾ vorgenommen, also mit 20 ccm Hefesaft + 8 g Rohrzucker + 0,2 ccm Toluol in einem Erlenmeyer-Kölbchen mit Meisselschem Gärverschluß. Die einzelnen Wä-

¹⁾ Buchner-Hahn, Zymasegärung, 1903, S. 80 ff.

gungen wurden fast ausnahmslos nach 24 Stunden und nach 4 Tagen, in den meisten Fällen auch nach 2 und 3 Tagen gemacht, außerdem zur Bestimmung der Gesamtgärkraft auch nach dem vierten Tage täglich bis nach beendeter Gärung, also bis keine Gasentwicklung mehr stattfand und innerhalb 24 Stunden das Gewicht konstant blieb. Vor jeder Wägung wurde das Kölbchen zur Vermeidung von CO_2 -Übersättigung vorsichtig geschüttelt,¹⁾ dagegen nach dem Vorbilde von Buchner von einer Kohlensäureverdrängung durch Luft abgesehen. Hierdurch sind die Zahlen zwar nicht absolut genau, aber die Fehler sind unbedeutend, und vor allem sind die Zahlen unter sich vergleichbar. Die zur Darstellung der Macerations-säfte verwandten Trockenhefen entstammten verschiedenen Sendungen der Firma Schroder in München. In der nebenstehenden Tabelle II, welche die Ergebnisse der Bestimmungen zusammenfaßt, sind jeweils die aus ein und derselben Trockenhefe bereiteten Säfte zusammengestellt.

Es bestätigt sich nun, wie übrigens nicht anders zu erwarten war, daß bei Anwendung derselben Trockenhefe die Gesamtgärkraft innerhalb geringer Grenzen stets dieselbe ist. Es zeigt sich aber auch gleichzeitig, daß, trotzdem die Trockenhefe nach Angaben des Fabrikanten stets aus derselben Münchener untergärigen Hefe und stets möglichst gleichmäßig hergestellt wird, die Gesamtgärkraft bei Anwendung verschiedener Trockenhefen eine sehr unterschiedliche ist. In den vorliegenden Versuchen schwankte sie zwischen 0,9564 und 2,9736, zeigte also eine nicht unbeträchtliche Spannungsbreite.

Weit wichtiger dürfte jedoch eine andere Beobachtung sein, welche die Kontrolle der Anfangsgärung (nach 24 Stunden) ergab. Es zeigte sich nämlich, daß die Anfangsgärung vollkommen unabhängig ist von der Gesamtgärung. Der durchschnittlichen Gesamtgärung von etwa 2,2 entsprach zwar eine durchschnittliche Anfangsgärung von etwa 0,4, aber es wurde wiederholt beobachtet, daß einer sehr hohen Gesamt-

¹⁾ Vgl. Harden und Young, Bioch. Zeitschrift, Bd. 40, S. 461, Anm. (1912).

Tabelle II.

Gärkraftbestimmungen nach Buchner.

In 20 ccm Hefesaft + 8 g Rohrzucker + 0,2 g Toluol.

Nr.	Datum	Temperatur	Kohlendioxyd in g					Gärungsdauer in Tagen
			nach 24 Std.	nach 48 Std.	nach 72 Std.	nach 96 Std.	nach beendeter Gärung	
1	1912 26./XI.		0,3580	0,7870	1,1952	1,5582	—	—
2	2./XII.		0,3600	0,7946	1,1586	1,4510	1,9800	8
3	10./XII.		0,3708	0,7682	1,1690	—	2,1268	9
4	17./XII.		0,4358	0,7880	1,0772	1,2950	1,9892	10
5	1913 7./I.		0,4020	0,7628	1,0910	1,3000	1,9154	9
6	17./I.		0,4486	—	1,2358	1,4400	1,8278	10
7	24./I.	Zim-	0,0814	0,3011	0,5616	0,8378	2,1778	14
8	28./I.	mer-	0,0178	0,0552	0,1940	—	2,2282	16
9	6./II.		0,1100	—	—	0,8172	2,2910	23
10	8./II.	tem-	0,2857	—	0,5776	0,7466	0,9564	12
11	21./II.		0,2796	—	0,7218	0,8886	1,0622	7
12	3./III.	pera-	0,2920	0,7402	0,9002	1,0404	1,1302	8
13	3./IV.		0,3390	—	1,2062	1,4846	2,1674	14
14	8./IV.	tur	0,5424	0,9574	1,2836	1,5606	2,1232	11
15	16./IV.		0,3636	0,8946	—	1,5661	2,0450	11
16	28./IV.		0,5874	1,2184	—	1,9604	2,4830	16
17	14./V.		0,6016	1,2546	—	1,8354	2,4516	10
18	26./V.		0,8062	1,4450	1,8510	2,0644	2,1864	12
19	10./VI.		0,3800	0,9662	1,3630	—	2,2804	13
20	20./VI.		0,0054	—	1,3606	1,8620	2,9736	20
21	24./VI.		0,1241	0,7639	1,3325	1,6211	2,5091	16

gärkraft eine auffallend niedrige Anfangsgärung gegenüberstand, wie z. B. die Versuche 7—9 und 20—21 zeigen. Die eigentliche Gärung beginnt manchmal erst nach einigen Stunden, ja sogar, wie in Versuch 8, erst in einigen Tagen. Daß in diesem letzten Versuche nicht etwa lediglich eine Invertasehemmung vorlag, an welche man ja denken könnte, zeigte eine eigens, allerdings einen Tag später angesetzte Kontrollbestimmung mit Traubenzucker statt Rohrzucker, welche ebenfalls erst nach 3 Tagen in Gärung kam, dann aber regulär weiter gor. Der 24stündige Aufenthalt des Hefesaftes im Eisschranke hatte also dessen Gärkraft nicht beeinträchtigt.

Auch v. Lebedew¹⁾ beobachtete bei seinen Versuchen ähnliche Gärverzögerungen, ohne jedoch festzustellen, daß bei genügend langer Gärung schließlich doch noch eine normale, oder gar außergewöhnlich hohe Gesamtgärkraft eintreten kann. Die Zeit der langsamen Angärung hat v. Lebedew treffend mit der Induktionsperiode verglichen, welche bei gewissen chemischen Prozessen beobachtet wird, und vorgeschlagen, die «Periode der Trägheit, welche der eigentlichen Gärung vorangeht und welcher dann eine Steigerung der Reaktionsgeschwindigkeit folgt» (l. c., S. 20), ebenfalls Induktionsperiode zu nennen.

Umgekehrt zeigte ein Fall (Versuch 18) eine geradezu stürmische Angärung, ohne daß dabei die Gesamtgärkraft den Durchschnitt überboten hätte. Auffallend ist hier, daß ein zweiter Saft aus derselben Trockenhefe zwar die gleiche Gesamtgärkraft, aber nur die halbe Anfangsgärung aufweist. Ein ähnlicher Fall liegt bei Versuch 14, verglichen mit Versuch 13 und 15, vor.

Die Gärungsdauer schwankte zwischen 7 und 23 Tagen. Es zeigte sich dabei, daß bei schlechter Angärung die Gärung um so länger dauerte (Versuch 7—9 und 20—21).

In den meisten Fällen war nach 4 Tagen etwa $\frac{2}{3}$ der Gesamtgärkraft erreicht, aber wie Versuch 7 und 9 einerseits, Versuch 10—12 andererseits zeigen, gibt es auch hier individuelle Schwankungen nach oben und nach unten.

¹⁾ A. v. Lebedew, Annales de l'Inst. Pasteur, Bd. 26, S. 8 (1912).

Bei diesen Verschiedenheiten im Verhalten des Macerationssaftes, welche sich hier allein in bezug auf Gärkraft zeigten, kann nicht nachdrücklich genug betont werden, daß es bei allen Versuchen, welche mit Hefemacerationssaft angestellt werden, eine absolute Notwendigkeit ist, vollständige Gärkraftbestimmungen durchzuführen und zwar in bestimmten Abständen bis zur beendeten Gärung, während die Angabe der Gesamtgärkraft, wie sie auch v. Lebedew¹⁾ selbst neuerdings für Versuche mit Macerationssaft fordert, allein nicht genügen dürfte. Der Beginn der ersten Bestimmung muß sich selbstverständlich nach der zeitlichen Dauer des Versuches richten. Wie wichtig unter Umständen solche Feststellungen sein können, zeigen die Ergebnisse der eigenen Versuche in der vorliegenden und in der voranstehenden Mitteilung. Sie zeigen auch gleichzeitig, daß bei Versuchen mit Macerationssaft stets mehrere Versuche, bei kurzdauernden Versuchen möglichst mit Säften aus verschiedener Trockenhefe, gemacht werden müßten, wenn die Resultate nicht unter Umständen ihre Beweiskraft verlieren sollen. Daß Vorherrschen des einen oder anderen der verschiedenen Enzyme scheint jeden Reaktionsverlauf im Hefesaft wesentlich zu beeinflussen, so daß nur vergleichende Versuche unter gleichzeitiger Kontrolle der Gärkraft, also der Tätigkeit der Hauptenzyme, zulässig sein dürften.

Selbstgärung des Hefemacerationssaftes.

v. Lebedew²⁾ betont, daß Hefemacerationssaft glykogenfrei sei und deshalb keine Selbstgärung besitze. Diese Angabe wird von Kostytschew und Hübbenet³⁾ sowie von Neuberg und Rosenthal⁴⁾ bestätigt.

Eigene Beobachtungen führten jedoch zu einem abweichenden Ergebnis: bei einer größeren Anzahl von Hefemacerationssäften konnte Selbstgärung festgestellt werden, welche, wenn

¹⁾ A. v. Lebedew, Biochem. Zeitschr., Bd. 46, S. 485 (1912).

²⁾ A. v. Lebedew, Diese Zeitschrift, Bd. 73, S. 452 (1911).

³⁾ S. Kostytschew und E. Hübbenet, Diese Zeitschrift, Bd. 79, S. 370 (1912).

⁴⁾ C. Neuberg und P. Rosenthal, Biochem. Zeitschrift, Bd. 51, S. 139 (1913).

nicht von Glykogen selbst, so doch zum mindesten von durch Glykogenverzuckerung gebildetem Kohlenhydrat herrühren muß. Daß die Trockenhefe als solche Glykogen, wenn auch in geringen Mengen, enthält, zeigt ja schon das bei der Darstellung des Hefesaftes bereits erwähnte, manchmal sehr starke Schäumen, welches ja nicht anders gedeutet werden kann, als durch CO_2 -Entwicklung infolge von Selbstgärung. Auch Neuberg¹⁾ betont, daß der frische Hefemacerationssaft « seiner Darstellung nach ja mit CO_2 gesättigt ist ». Und Kostytschew²⁾ erklärt den ständigen Alkoholgehalt seines Hefesaftes durch Selbstgärung der Trockenhefe. Daß das Ausgangsmaterial für die Schrodersche Trockenhefe, die Münchner untergärige Bierhefe Glykogen enthält, hat Will³⁾ gezeigt. Es mag nun sein, daß häufig oder sogar meistens bei der Darstellung des Hefesaftes schon das wenige Glykogen vollkommen vergoren wird, in anderen Fällen aber, und darauf soll eben hingewiesen werden, scheint doch noch ein mehr oder weniger großer Rest an natürlichem oder verzuckertem Glykogen zu bleiben, wie die in der nebenstehenden Tabelle III zusammengestellten Selbstgärungsbestimmungen zeigen.

Die Selbstgärungsbestimmungen wurden bei den Gärkraftbestimmungen durch Ermittlung des Gewichtsverlustes von Macerationssaft beim Stehen genau nach Buchner (s. o.) durchgeführt. Die Wägungen wurden zeitlich weniger regelmäßig gemacht, weil es nicht so sehr darauf ankam, den zeitlichen Verlauf der Selbstgärung zu beobachten, als überhaupt eine CO_2 -Bildung festzustellen. Die in der Tabelle aufgeführten Zahlen bedeuten CO_2 in g, die in Klammern befindlichen Zahlen die Tage, nach welchen die Wägung erfolgte. Die Versuchsnummern entsprechen den Gärkraftbestimmungen desselben Saftes, welche jeweils gleichzeitig angestellt wurden.

Die Tabelle lehrt, daß von insgesamt 13 Bestimmungen 2 Hefesäfte keine Selbstgärung aufweisen (7 u. 13) und 3 Hefesäfte lediglich Spuren einer CO_2 -Entwicklung (8, 11 u. 17), welche

¹⁾ C. Neuberg, Biochem. Zeitschr., Bd. 51, S. 506 (1913).

²⁾ S. Kostytschew, Diese Zeitschrift, Bd. 83, S. 96 (1913).

³⁾ Vgl. Buchner-Hahn, Zymasegärung, S. 93.

Tabelle III.
Selbstgärungsbestimmungen nach Buchner.
 Je 20 ccm Hefesaft + 0,2 Toluol.

Nr.	Kohlendioxid in g nach (x) Tagen				
4	0,0034 (1),	0,0044 (2),	0,0062 (3),	0,0104 (4),	0,1298 (10)
5	0,0066 (1),	0,0128 (2),	0,0218 (3),	0,0284 (4),	0,0660 (9)
6	0,0066 (1),	0,0180 (3),	0,0210 (4),	0,0382 (7),	0,0686 (10)
7	0,0000 (4)				
8	0,0100 (9)				
10	0,0460 (12)				
11	0,0012 (1),	0,0012 (3)			
—	0,0156 (3)				
12	0,0024 (6 St.),	0,0082 (1),	0,0518 (8)		
13	0,0000 (1),	0,0000 (3)			
15	0,0066 (1),	0,0158 (9)			
16	0,0116 (2),	0,1238 (6)	} Trockenhefe aus 2 verschiedenen Büchsen einer Sendung!		
17	0,0008 (1),	0,0060 (10)			

vielleicht nur aus einer ursprünglichen CO_2 -Übersättigung des Hefesaftes von der Darstellung her stammen, also wohl zu vernachlässigen sind. Alle anderen Hefesäfte aber zeigen eine deutliche Selbstgärung, zwei davon (4 u. 16) sogar eine so starke, daß sie der von Buchner für Hefepreßsaft konstatierten gleichkommt.

Ob sich untergärige und obergärige Trockenhefe verschieden verhält, wie weit die Rasse, wie weit sonstige Faktoren z. B. geringfügige Änderungen in der Herstellung der Trockenhefe und des Hefesaftes die Selbstgärung des Hefemacerationssaftes beeinflussen, müßte erst des genaueren untersucht werden. Hier sei jedenfalls festgestellt, daß die Angabe, Hefemacerationssaft sei glykogenfrei resp. ohne Selbstgärung, in dieser allgemeinen Form unrichtig zu sein scheint, und deshalb bei solchen Versuchen mit Hefemacerationssaft, wo der Glykogengehalt oder, allgemein gesprochen, die Selbstgärung des Saftes das Resultat beeinflussen könnte, eine gleichzeitige Selbstgärungsbestimmung notwendig ist.