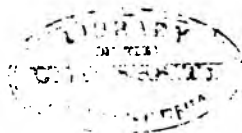


Sitzungsberichte
der
mathematisch - physikalischen Classe
der
k. b. Akademie der Wissenschaften
zu **München.**

Band VIII. Jahrgang 1878.



München.
Akademische Buchdruckerei von F. Straub.
1878.

~
In Commission bei G. Franz.

Herr Prof. von Nägeli legt durch Herrn Erlenmeyer eine Abhandlung vor:

Ueber die chemische Zusammensetzung der Hefe.

Die bisherigen chemischen Untersuchungen der Bierhefe lassen noch viel zu wünschen übrig, indem sie uns theils ein unvollkommenes, theils auch ein wenig Vertrauen erweckendes Bild der Zusammensetzung geben. Die neueren Angaben, wonach der Cellulosegehalt bloss 17,8—19,2 Proz. (nach Pasteur), sogar bloss 12.—14 Proz. (nach Liebig) der Trockensubstanz und der Fettgehalt 2 Proz. oder wenig mehr ausmachen sollte, steht im Widerspruch mit der mikroskopischen Beobachtung, welche für die Membran etwa den doppelten Betrag der Pasteur'schen Angabe und für das Fett in älteren Zellen mehr als den doppelten Betrag verlangt.

Da alle Fragen, welche die Gärung betreffen, an die physiologischen Funktionen der Gärungszellen anknüpfen und da diese ohne genaue Kenntniss der chemischen Beschaffenheit unmöglich erkannt werden können, so schien eine abewmalige Aufnahme der chemischen Untersuchung mit vorzüglichlicher Berücksichtigung der physiologischen Gesichtspunkte geboten.

Die Schwierigkeit der Hefenanalysen, wenn es sich nicht um die Elemente sondern um die Verbindungen han-

delt, besteht darin, dass die Zellen wegen ihrer Kleinheit auf keine Weise zerrieben, zerrissen oder zum Platzen gebracht und dadurch Inhalt und Membran auf mechanische Weise getrennt werden können. Der einzige Weg, der Aufschluss zu geben vermag, besteht darin, durch verschiedene Mittel lösliche Verbindungen auszuziehen und durch nebenhergehende mikroskopische Untersuchung die Veränderungen an den Zellen festzustellen.

Zunächst wurden zwei bisher nicht angewendete Mittel in Angriff genommen. Da vielfache Beobachtungen gezeigt hatten, dass die Hefenzellen mit dem Altwerden von selbst nahezu ihren ganzen Inhalt verlieren, so wurden dieselben mit einer hinreichenden Menge Wasser mehr als 1 Jahr lang stehen gelassen, wobei das Wasser einen Zusatz von 1 Proz. Phosphorsäure erhielt, um die Spaltpilze und ihre verderbliche Wirkung auszuschliessen. Diese starke Ansäuerung verlangsamte aber auch den Lebensprozess der Zellen sehr stark, so dass schliesslich nicht mehr als 37,4 Proz. der Trockensubstanz in Lösung gegangen waren.

Das andere bisher nicht benutzte Mittel bestand in dem Kochen mit Wasser. Die Hefe wurde 11mal nach einander mit Wasser, im Ganzen während einer Dauer von 20 Tagen, gekocht. Die Zellen gaben bei dieser Behandlung etwa die Hälfte ihrer Trockensubstanz an das Wasser ab.

Diese beiden Untersuchungen wurden von dem Adjunkten des pflanzenphysiologischen Instituts Otto Heinrich begonnen, und nachdem derselbe wegen Krankheit austreten musste, von Dr. Oscar Loew fortgesetzt und zu Ende geführt.

In den von der lebenden Hefe in verdünnter Phosphorsäure ausgeschiedenen sowie in den aus den todtten Zellen durch Kochen ausgezogenen Stoffen befand sich ein Kohlenhydrat, welches zu den Pflanzenschleimen gehört und als Sprosspilzschleim bezeichnet werden kann. Derselbe macht

sammt der Pilzcellulose etwa 37 Proz. der Trockensubstanz untergäriger Bierhefe aus.

Die nächste und wichtigste Frage ist nun die, wie der Pilzschleim in den Hefenzellen vorkomme. Man möchte wohl vermuthen, dass er dem Inhalte angehöre. Diess ist mir aber durchaus unwahrscheinlich; ich bin vielmehr der Ansicht, dass er aus der Membran stamme, womit ich aber nicht sagen will, dass er als solcher in derselben enthalten sei. Die Zellmembranen wie die Stärkekörner bestehen aus abgestuften physikalischen (d. h. micellaren) Modificationen der nämlichen chemischen Verbindungen; Endglieder dieser Reihen sind Pflanzenschleim, Gummi, Dextrin. Durch Lösungsmittel (kochendes Wasser, verdünnte Säuren, Fermente etc.) werden zuerst die leichter, bei längerer Einwirkung nach und nach die schwieriger löslichen angegriffen. Nur ein sehr kleiner Theil mag schon als Pilzschleim in der Zellmembran enthalten sein.

Für diese Auffassung spricht schon die ungleiche Menge von Pilzschleim, welche man bei verschiedener Behandlung erhält, womit dann auch die ungleiche Menge der gefundenen Cellulose in Beziehung, und zwar im umgekehrten Verhältnisse zur Menge des Schleimes steht. Pasteur erhielt durchschnittlich nur 18,5 Proz., Liebig noch weniger, Payen dagegen 29,4 Proz. Cellulose. Ich glaube, dass die Zellmembran der Hefenzellen, lange genug mit Wasser gekocht, vollständig in Schleim umgewandelt würde. Bei dem zwanzigtägigen Kochen wurde bis zuletzt Schleim ausgezogen, aber in immer kleineren Mengen.

Der Pilzschleim ist löslich in heissem Wasser, fast unlöslich in kaltem. Wenn man Pflanzenzellen in die noch warme Lösung bringt, so treten keine diosmotischen Erscheinungen ein. Beim Eintrocknen der Lösung beobachtet man das Nämliche wie bei einer reinen Gummi- oder Dextrinlösung; die darin liegenden Algenzellen (*Spirogyra* etc.)

verhalten sich gerade so, als ob sie an der Luft eintrockneten. Der Pilzschleim geht also diosmotisch nicht durch Zellmembranen hindurch. Durch diesen Umstand wird es ebenfalls einigermassen unwahrscheinlich, dass derselbe im Inhalte sich befinde. Doch darf man daraus nicht etwa geradezu die Unmöglichkeit folgern, dass der Schleim beim Kochen oder in verdünnter Säure die Zellen verlassen könne. Es kommt ja mehrfach vor, dass colloide Stoffe in wässriger neutraler Lösung nicht diosmiren, wohl aber in sauren oder alkalischen Lösungen.

Muss aber der Schleim aus anderen Gründen als ein durch die Lösungsmittel aus der Membran gebildetes Produkt betrachtet werden, so ist der Vorgang leicht verständlich. Das heisse Wasser oder die verdünnte Säure bringt einzelne Parteeen der Membran zum Aufquellen, und der so gebildete Schleim wird mechanisch aus der Membran herausgepresst und vertheilt sich als Lösung in der umgebenden Flüssigkeit.

Man könnte bei oberflächlicher Betrachtung der Meinung sein, dass die äusserst dünne Membran der Hefenzellen nicht 37 Proz. der ganzen Trockensubstanz enthalten könne. Die genauere Ueberlegung zeigt indess, dass es nicht wohl anders sein kann. Die frischen Hefenzellen enthalten im Ganzen 83 Wasser und 17 Substanz.¹⁾ Nur wenige derselben sind ganz mit weichem Plasma erfüllt; bei der Mehrzahl befindet sich in dem Plasma eine mit Wasser gefüllte Vacuole oder auch neben wässriger Zellflüssigkeit ein körniger Plasmainhalt. Aus optischen Gründen, welche sich

1) Nach einem eigens hiefür angestellten Versuch von Dr. Walter Nägeli, welcher eine kleine Menge einer ganz reinen Hefe durch 18 Stunden langes Stehenlassen auf dem Filter vollständig von dem anhängenden Wasser befreite und dann von 8,29 gr. feuchter Masse, welche bei 100° getrocknet wurde, 1,41 gr. (somit 17 Proz.) Substanz erhielt.

aus der Vergleichung von jüngern mit Inhalt erfüllten mit alten inhaltslosen Zellen ergeben, sowie aus dem Umstande, dass die Membran der Bierhefezellen chemischen Auflösungsmitteln einen verhältnissmässig starken Widerstand leistet und sich dadurch als ziemlich dicht erweist, möchte ich schliessen, dass die Membran in der Raumeinheit ziemlich mehr Substanz enthalte als der durchschnittliche Inhalt. Es dürften sich die 83 Proz. Wasser der Hefe so auf Inhalt und Membran vertheilen, dass auf jenen 86, auf diese 75 Proz. kommen, so dass die Membran 3-mal, der Inhalt 6-mal soviel Wasser enthält als Substanz. Unter dieser Voraussetzung berechnet sich die Dicke der Membran einer 10 Mik. ($\frac{1}{100}$ mm.) grossen Bierhefenzelle zu 0,45 Mik. ($\frac{1}{2200}$ mm.), sodass sie also nur den 22ten Theil des Zellendurchmessers (den 11ten Theil des Radius) ausmacht.

Die untersuchte Bierhefe war ziemlich arm an Stickstoff (7,5 — 8 Proz. der aschenhaltigen Trockensubstanz). Eine sehr stickstoffreiche Oberhefe (mit fast 12 Proz. Stickstoff), die fast ganz aus jungen, mit Plasma erfüllten Zellen besteht, enthält gegen 75 Proz. Albuminate und wenig mehr als 20 Proz. Cellulose und Pilzschleim. Die Membrandicke kann hier unter der obigen Annahme kaum 0,2 Mik. ($\frac{1}{5000}$ mm.), also kaum den 50ten Theil des Zellendurchmessers betragen.

Nehmen wir aber an, dass Membran und Inhalt gleich wasserhaltig seien, was sicher für die stickstoffärmere und ältere Hefe nicht richtig ist, so würde bei der Hefe mit 7,5 — 8 Proz. Stickstoff auf einen Zellendurchmesser von 10 mm. die Wanddicke 0,8 Mik. ($\frac{1}{12,5}$ des Durchmessers), bei der Hefe mit fast 12 Proz. Stickstoff kaum 0,4 Mik. ($\frac{1}{25}$ des Durchmessers) ausmachen.

Es ist nun zwar aus optischen Gründen unmöglich, genau die Dicke einer sehr dünnen Zellmembran zu bestimmen. Vielfache Uebung und Vergleichung von Ob-

jekten, die eine sichere Messung zulassen, mit solchen, wo diess nicht mehr möglich ist, erlauben indess eine annähernde Schätzung. Diese ist bei inhaltslosen Hefenzellen und bei solchen mit körnigem Inhalte möglich, und zeigt uns, dass die Zellmembran unmöglich noch dünner, somit ihr Gehalt an Substanz noch geringer angenommen werden darf, als es bei den vorstehenden Berechnungen geschehen ist.

Nach dieser Auseinandersetzung glaube ich es als im höchsten Grade wahrscheinlich aussprechen zu können, dass der in den Auszügen befindliche Pilzschleim aus der Membran stammt; und dass in dem Inhalte keine Kohlenhydrate in nennenswerther Menge enthalten sind, da eine Glykoseform nur in Spuren vorkommt.²⁾

Ueber den Pilzschleim der Sprosshefe bemerke ich noch, dass derselbe aus der heissen Lösung sich in mikroskopischen Kugeln von sehr ungleicher Grösse ausscheidet. Dieselben enthalten sehr viel Wasser, da sie das Licht wenig stärker brechen als das umgebende Wasser. Unter dem Polarisationsmikroskop erweisen sie sich als einfachbrechend, was möglicher Weise nur eine Folge ihres grossen Wassergehaltes ist. Jod färbt die Schleimkugeln braunroth, während die Zellmembran nicht gefärbt wird; es verhält sich damit wie mit der farblosen Stärkemodifikation (Amylocellulose), welche nach dem Auflockern in Amylodextrin ebenfalls auf Jod reagirt. Wenn man zu den Schleimkugeln etwas Säure oder ein saures Salz (Weinstein) bringt, so lösen sie sich wieder. Diess ist auch mit den durch Jod gefärbten Kugeln der Fall. Diese fliessen unter dem Mikroskop zuerst in

2) Schützenberger (die Gährungserscheinungen 1876) sagt ohne ersichtliche Motivirung: „Ist dieses Gummi nicht bereits fertig gebildet in der frischen Hefe enthalten, so kann es nur dadurch entstanden sein, dass ein zusammengesetzter Körper aus der Familie der Glykoside zer-
setzt worden ist, oder dass ein unlösliches Kohlenhydrat, das jedoch nicht Cellulose ist, eine moleculare Umsetzung erfahren hat.“

grössere Tropfen zusammen, verändern je nach den Strömungen in der Flüssigkeit ihre Gestalt und verschwinden dann gänzlich.

Die Zellmembran der Essigmutter (*Mycoderma*) und der übrigen gallert- oder schleimartigen Spaltpilze schwankt rücksichtlich der Weichheit zwischen der Cellulose und dem Pilzschleim der Sprosshefe. Es besteht jedoch zwischen der Membran der Spaltpilze und derjenigen der Sprosspilze nicht bloss eine gradweise sondern eine qualitative Verschiedenheit, indem die Cellulose der Sprosspilze gegen Kupferoxydammoniak eine grössere, gegen Säuren und heisses Wasser eine geringere Widerstandsfähigkeit zeigt als diejenige der Spaltpilze.

Wir müssen also die Sprosspilzcellulose von der Spaltpilzcellulose und demzufolge auch den Sprosspilzschleim von dem Spaltpilzschleim unterscheiden. Den Spaltpilzschleim (Milchsäuregummi, Gärungsgummi) finden wir bei vielen Spaltpilzvegetationen, am schönsten und reichlichsten bei der sogenannten schleimigen Gärung. Er bildet hier aber, wie auch bei allen übrigen Spaltpilzvegetationen, keine Lösung; auch ist er sicher kein Gärungsprodukt, wie man bis jetzt irrthümlich angenommen. Der Schleim, der bei der Mannit- und Milchsäuregärung zuweilen entsteht, ist nichts anderes als die sehr weichen und schleimigen Membranen der Spaltpilze. Er bildet grössere und kleinere Massen, deren Abgrenzung gegen das Wasser man zuweilen ziemlich deutlich sieht, und deren Anwesenheit oft sehr schön daran erkannt wird, dass die aufsteigenden Gasblasen im Wasser (neben den Schleimmassen) sich rasch, sowie sie aber in eine Schleimmasse gerathen, sehr langsam bewegen, manchmal selbst darin stecken bleiben.³⁾

3) Ob das „Gärungsgummi“ (die schleimige Cellulose der Spaltpilze) identisch ist mit dem aus den Runkelrüben erhaltenen Dextran,

Unter den stickstofflosen Verbindungen des Inhalts nimmt das Fett die erste Stelle ein. Die bisherigen Angaben über die Menge desselben waren allgemein zu gering. Die Behandlung der Bierhefe mit concentrirter Salzsäure, welche die Membran zerstört und das Fett in Fettsäuren überführt, ergibt beispielweise 3 mal so viel Fett als Kochen mit Aether. Dass beim Kochen mit Weingeist oder Aether das Fett nur langsam und unvollständig ausgezogen wird, dürfte wohl darin seinen Grund haben, das Membran und Plasma, welche das Fett einschliessen, im wasserfreien Zustande die genannten Flüssigkeiten schwer durchgehen lassen, und weil die einen Fettpartieen besser umhüllt und geschützt sind als die andern. Es ist aber wahrscheinlich, dass eine hinreichend lange Behandlung mit Alkohol und Aether das Fett zuletzt vollständig ausziehen würde.

Wenn der Cellulosegehalt und der Fettgehalt (jener mit 37, dieser mit 5 Proz.) von der Elementaranalyse einer Hefe mit 7,5—8 Proz. Stickstoff abgezogen werden, so bleibt ein Rest, welcher ziemlich gut mit der Zusammensetzung der Albuminate übereinstimmt. Das Plasma der Bierhefenzellen muss also fast gänzlich aus Albuminaten bestehen. Die chemische Untersuchung, soweit sie überhaupt bis jetzt möglich ist, bestätigt diesen Schluss vollkommen.

Die Peptone machen nur etwa 2 Prozente des Inhaltes aus. Bei der Involution der Zellen wird aber bis zum wirklichen Absterben derselben die ganze oder beinahe ganze Menge der Albuminate als Peptone ausgeschieden; ebenso werden die Albuminate durch fortgesetztes Kochen nach und nach in Peptone übergeführt und ausgezogen.

Bemerkenswerth ist, dass das Nämliche auch durch Pepsin und dann in kürzerer Zeit erreicht wird. Frische lebende so wie durch Kochen getödtete Bierhefe in salz-

bleibt vorderhand zweifelhaft und ist wohl nur für den Fall wahrscheinlich, als das letztere ein Produkt „schleimiger Gärung“ sein sollte.

saurer Pepsinlösung giebt bei der Temperatur des Brüttkastens (ungefähr 35° C.) ihre Albuminate nach und nach als Peptone ab. Diese Wirkung ist zugleich die beste Entscheidung für die noch streitige Frage, ob Pepsin durch Membranen diosmire. Man könnte zwar die Vermuthung hegen, dass die Salzsäure allein in die Zellen eindringe und die Umwandlung ausführe. Um darüber Gewissheit zu erlangen, wurden gleichzeitige Controlversuche angestellt, indem sowohl lebende als getödtete Hefe in der nämlichen salzsauren, aber pepsinfreien Lösung neben dem eigentlichen Versuch sich im Brüttkasten befand. Dieselbe gab fast keine stickstoffhaltigen Verbindungen an das Wasser ab. Aus diesen Thatsachen ergibt sich mit vollständiger Gewissheit, dass Pepsin in salzsaurer Lösung durch Pflanzenzellmembranen diosmirt, und es dürfte wohl die Angabe von Wittich, dass Pepsin nur bei Gegenwart von freien Säuren durch Membranen hindurchgehe, allgemein richtig sein.

Die Hefenzellen scheiden die Albuminate, die sie verlieren, nicht vollständig als Peptone aus. Ein sehr kleiner Theil derselben wird in Ferment (Invertin) umgewandelt. Ein anderer kleiner Theil erfährt eine andere Zersetzung, wie sich aus den geringen Mengen von Leucin, Guanin, Xanthin und Sarkin ergibt, die in dem mit Hefe gestandenen säurehaltigen Wasser gefunden wurden. Die letzteren Verbindungen sind durch die Einwirkung des Sauerstoffs entstanden und als Produkte der Respiration zu betrachten. Als solche bilden sie sich innerhalb der Zellen und gehören vorübergehend dem Zelleninhalt an. In sauren Flüssigkeiten werden auch Albuminate als solche in geringer Menge ausgeschieden.

Es ist nun möglich, sich eine Vorstellung von dem chemischen Verhalten der Hefezellen zu machen. Untergährige Bierhefe mit nahezu 8 Proz. Stickstoff hat beispielsweise folgende chemische Zusammensetzung:

Cellulose mit Pflanzenschleim (die Zellmembran bildend)	37
Proteinstoffe:	
a) gewöhnliches Albumin	36
b) leicht zersetzbarer, glutencaseinartiger P. . .	9
Peptone durch Bleiessig fällbar	2
Fett	5
Asche	7
Extractivstoffe etc.	4
	100

Unter dem mit 4 Proz. aufgeführten Rest befinden sich durch Bleiessig nicht fällbare Extractivstoffe, worunter ein peptonartiger Körper; — ferner geringe Mengen von Invertin, Leucin und Traubenzucker, noch geringere Mengen von Glycerin, Bernsteinsäure, Cholesterin, Guanin, Xanthin, Sarkin und wahrscheinlich Inosit, endlich Spuren von Alkohol.

Verschiedene irrthümliche Angaben über Verbindungen, die in der Hefe vorkommen sollen, sind nach den vorstehenden Untersuchungen zu berichtigen. So fällt Schlossberger aus dem Auszug mit schwacher Kalilauge durch Neutralisiren mit Säure einen stickstoffarmen Körper, in welchem Schützenberger sein Hemiprotein zu erkennen glaubt. Der Niederschlag musste nach der stattgehabten Procedur ein Gemenge von Pilzschleim und Albuminaten sein. — Verschiedene Forscher geben an, dass der wässrige Auszug (selbst wenn die Hefe mit Eiswasser ausgewaschen wird) ansehnliche Mengen von Tyrosin und Leucin enthalte. Es sind dies Produkte der Fäulniss, welche aus den von den Hefezellen ausgeschiedenen Peptonen stammen.

Bezüglich der angeführten, die Hefe zusammensetzenden Stoffe giebt es keine constanten Verhältnisse. Die Menge, in der jeder einzelne Stoff vorkommt, wechselt einmal nach dem Alterszustande, in welchem sich die Hefe befindet, ferner nach allen äusseren Einflüssen, welche auf dieselbe einwirken.

Was den Alterszustand betrifft, so finden sich zwar fast in jeder Hefe alle Stadien von den jüngsten bis zu den ältesten abgestorbenen Zellen. Aber gewöhnlich überwiegt ein Stadium ganz bedeutend und verleiht der Hefe ihren bestimmten Character. Im Allgemeinen zeichnet sich die jugendliche Hefe durch einen grossen Gehalt an Albuminaten und Asche, die alterige (s. v. v.) durch einen grossen Gehalt von Cellulose und Fett aus.

Die hier folgenden Untersuchungen sind von Dr. Oscar Loew redigirt. Die dazu verwendete Hefe stammte aus der Grossbranerei von Gabriel Sedelmayr, welche mit verdankenswerther Bereitwilligkeit möglichst reines Material zur Verfügung stellte.

1. In Weingeist lösliche Bestandtheile der Hefe.

Da Hefe an 50—60 procentigen Weingeist durchschnittlich etwa 15 Prozent ihres Trockengewichts abgiebt, so wurde eine Untersuchung dieser Bestandtheile vorgenommen. 2,5 Kilogramm Hefeschlamm, der auf dem Filtrum das anhängende Wasser verloren hatte und 16—18 pc. Trockensubstanz enthielt, wurden mit 2 Liter Alkohol von 95 pc. 2 Tage unter häufigem Umschütteln in Berührung gelassen dann mehrere Stunden bei 60—65° digerirt, abfiltrirt, der Filterinhalt nochmals mit 1,5 Liter Alkohol bei 60° behandelt und beide Filtrate vereinigt. Diese schieden beim Erkalten einen flockigen Körper aus, von welchem nach dem Abdestilliren des Alkohols noch mehr erhalten wurde und welcher vom anhängenden Fett durch Schütteln mit Alkohol und Aether befreit nach dem Trocknen 37,72 gm. wog (circa 9 pc. der trocknen Hefe).

Seine Löslichkeit in Wasser und Alkohol ist nicht bedeutend und nimmt noch mehr mit dem Trocknen ab. Beim Erhitzen verbreitet er den Geruch verbrennenden Horns. Die wässrige Lösung gibt mit Salpetersäure gelbe Flocken,

mit Sublimat, Ferrocyankalium und Essigsäure, sowie Bleiessig geringe Niederschläge, mit salpetersaurem Quecksilberoxyd einen beim Erhitzen mit etwas Kalinitrit sich röthenden Niederschlag und liefert mit alkalischer Kupferoxydlösung eine violette Färbung. In alkalischen Flüssigkeiten löst er sich leicht und Säuren fällen ihn daraus in Flocken. Bei längerer Berührung mit schwacher Kalilösung (1—2 procentige genügt) erleidet er eine wenn auch wenig weit gehende Zersetzung unter Abgabe von Schwefelwasserstoff, leicht mit Bleipapier beim Ansäuern der Flüssigkeit erkennbar.

Es unterliegt also keinem Zweifel, dass dieser Körper zu den Proteinstoffen zählt und zwar erinnert seine Löslichkeit in heissem Weingeist sehr an das von Ritthausen in den Getreidearten aufgefundene Glutencasein, dem er sich auch in seinen übrigen Eigenschaften nähert. Auffallend ist die Leichtigkeit, mit welcher er sogar ohne Temperaturerhöhung durch sehr verdünnte Kalilösung eine Schwefelwasserstoffabspaltung erfährt; er unterscheidet sich dadurch von der Hauptmasse des Hefealbuminats, welches unter denselben Bedingungen viel beständiger ist und sich aufs engste an das Eialbumin anschliesst. ¹⁾

Nach Ausscheidung dieses Proteinstoffes aus dem weingeistigen Hefeextract wurde die mit Barytwasser neutralisirte

1) Hieraus wird wohl die Angabe Schlossbergers erklärlich dass das Albuminat der Hefe sich durch besonders leichte Zersetzbarkeit auszeichne (Ann. Chem. Ph. Bd. 80) und schon bei Behandlung mit verdünnter Kalilösung den Schwefel und einen Theil des Stickstoffs verliere; er hatte in seinem alkalischen Auszug wohl vorzugsweise jenes leicht zersetzbare glutencaseinartige Albuminat. Säuren fällten daraus einen Körper mit nur 13,9 pc. N. Ich habe nach Entfernung jenes Körpers mit verdünntem Kali einen Körper der Hefe entzogen, der durch Neutralisation der Lösung mit Salzsäure gefällt, noch 15,30 pc. N. enthielt [0,230 grm. gab 0,248 Pt.] und mindestens so beständig war, wie Eialbumin.

Flüssigkeit mit Bleiessig gefällt (p). Das Filtrat nach Ausfällung des Bleis und Baryts eingedampft, gab eine bräunliche hygroskopische, im Geruch an Brodrinde und Fleischextract erinnernde, im starkem Alkohol theilweise lösliche Masse, welche viel essigsaures Kali — aus Zersetzung der Hefephosphate mit Bleiessig hervorgegangen — enthielt. Nach Entfernung des grössten Theils des Kali mittelst Schwefelsäure und Alkohol fiel auf Zusatz von Aether-Alkohol ein zäher Syrup aus, die im wesentlichen aus Pepton bestand und zwar dem sogenannten c-Pepton Meissners; denn Ferrocyankalium in essigsaurer Lösung fällte ihn nicht, während Millons und die sogenannte Biuret-reaction über die Natur des Körpers keinen Zweifel aufkommen liessen. Weder durch Kochen mit Kupferoxydhydrat noch durch partielle Fällung mit Quecksilberoxydacetat konnten krystallisirbare Beimengungen aufgefunden werden; Glutaminsäure und Asparaginsäure waren sicherlich nicht vorhanden.

Die von dem erwähnten Syrup abgegossene alkoholisch-aetherische Flüssigkeit liess bei längerem Stehen eine geringe Menge eines weisslichen Pulvers fallen, das sich als reines Leucin erwies. Das Filtrat hievon der Destillation unterworfen, der Rückstand in wenig Alkohol gelöst und dann mit viel Aether versetzt schied einen bräunlichen Syrup (s) aus, während die aetherische Schichte beim Verdunsten einen zähflüssigen nicht trocknenden Rückstand lieferte, der beim Erhitzen den spezifischen Acroleingeruch entwickelte, also auf Glycerin als weiteren Bestandtheil deutete.

Der Syrup (s) wurde auf dem Wasserbade vom Alkohol befreit, die mit Kali neutralisirte Lösung mit salpetersaurem Quecksilberoxyd gefällt und das Filtrat mit Schwefelwasserstoff behandelt. Letztere lieferte ausser einer geringen Menge Leucin im Wesentlichen Traubenzucker mit allen seinen charakteristischen Reactionen, während der Quecksilberniederschlag eine stickstoffreiche Materie enthielt,

welche mit salpetersaurem Silberoxyd einen in Ammoniak unlöslichen Niederschlag gab; die Menge dieses jedenfalls der Xanthingruppe angehörigen Körpers, war für eine nähere Untersuchung zu gering.

Der obenerwähnte Bleiessigniederschlag (p) enthielt neben phosphorsaurem Bleioxyd 10,1 grm. organische Materie. Nach Behandlung mit Schwefelwasserstoff und Entfernung der Phosphorsäure mit Aetzbaryt lieferte das Filtrat nach dem Einengen einen feinpulvrigen Absatz, der im Wesentlichen aus einem Barytsatz bestand. Mit Salzsäure versetzt, nimmt Aether beim Schütteln Bernsteinsäure auf; ihre Menge betrug 0,16 grm.⁵⁾

Die vom bernsteinsäuren Baryt abfiltrirte Flüssigkeit gab mit Alkohol einen voluminösen Niederschlag, der sich im Wesentlichen aus einer Pepton-Baryt-Verbindung bestehend erwies. Die ganze Menge des in frischer Hefe vorhandenen Peptons übersteigt nicht 2 Procent. Die Untersuchung ergab also Pepton, Bernsteinsäure, Leucin, Traubenzucker, Glycerin, und ein in Alkohol lösliches Albuminat.

2. In Aether lösliche Bestandtheile der Hefe.

Ausser einer kurzen Bemerkung Hoppe-Seylers in einer Abhandlung „Ueber die Constitution des Eiters“⁶⁾, dass Aether ausser Fett noch Cholesterin und Lecithin aus der Hefe aufnehme, findet sich in der Literatur keine weitere Angabe hierüber, wesshalb Versuche angestellt wurden, die

5) Dieses würde 0,04 pc. der trocknen Hefe entsprechen, möglicherweise erreicht aber der Gehalt daran das Doppelte. Die hier eingeschlagene Untersuchungs-Methode ist qualitativer Art und war nicht auf quantitative genaue Bestimmungen der in so kleinen Mengen vorhandenen Bestandtheile gerichtet.

6) Med.-chem. Untersuchungen, Heft IV, pag. 500.

nun ergaben, dass wohl Cholesterin, aber nicht Lecithin⁷⁾ zu den Hefebestandtheilen gehört. —

Schüttelt man Hefeschlamm mit dem gleichen bis doppelten Volum Aether, so bildet sich ein breiförmiges Gemenge, aus welchem sich auch nach mehrtägigem Stehen nichts absondert. Nur durch Zugabe von Alkohol lässt sich eine Abscheidung der aetherischen (alkoholhaltigen) Schichte bewerkstelligen. Destillirt man aus letzterer den Aether ab, so giebt der alkoholische Rückstand weder direct noch nach weiterem behutsamen Concentriren Reactionen auf Lecithin und ebenso wenig nach Kochen mit Aetzbaryt und Extrahiren des eingedunsteten von letzterem mittelst Kohlensäure befreiten Filtrats mit Alkohol — solche auf Neurin.

Ein Theil des alkoholischen Destillationsrückstandes mit alkoholischer Platinchlorid-Lösung versetzt, gab nach eintägigem Stehen keine Spur einer Lecithinverbindung; der gebildete geringe Niederschlag enthielt ebensowenig Neurin, ein so charakteristisches Spaltungsproduct des Lecithins, sondern bestand aus Kaliumplatinchlorid, herrührend von phosphorsaurem Kali, das zu 4 pc. und darüber in der Hefe enthalten ist und in kleiner Menge in die alkoholisch-aetherische Flüssigkeit übergegangen war.

Der nach dem Abdestilliren des Aethers sich aus der alkoholischen Flüssigkeit abscheidende fettige Körper enthielt keine Spur einer organischen Phosphorverbindung, gab aber nach dem Verseifen und Ausschütteln mit Aether feine seideglänzende Nadeln von allen Reactionen des Cholesterins⁸⁾.

7) Der Nachweis des Lecithins auch in geringen Mengen ist nicht mit Schwierigkeiten verbunden, wie mir spezielle Vorversuche mit der aus Dotter dargestellten Substanz ergaben.

8) Dieses besass einen schwachen, an Geranium und Bienenwachs erinnernden Beigeruch; die Menge entsprach 0,06 pc. der trocknen Hefe.

Da nun möglicherweise die Abwesenheit von Lecithin in jenem alkoholisch-ätherischem Auszug darauf hätte zurückgeführt werden können, dass dieser Körper durch die feuchte Membran der Hefezelle schwierig diffundirt, so wurde einerseits lufttrockne Hefe der Extraction mit absolutem Alkohol unterworfen, andrerseits Hefeschlamm nach wiederholter Behandlung mit absolutem Alkohol (um möglichst viel Wasser zu entziehen) mit reinem Aether behandelt, allein auch diese Versuche führten zu keinem günstigeren Resultate.

3. Ueber die Bestimmung des Fettgehalts der Hefe.

Die Natur der plasmareichen Hefezelle führte mich zur Vermuthung, dass das Fett, dessen Gehalt zu 2—3 pc. angegeben wird, mittelst der gebräuchlichen Methode der Aetherextraction nicht vollständig erhalten würde und die erhaltenen Zalen zu niedrig seien. Eine genaue Bestimmung war nach meiner Ansicht nur nach vorhergehender Zerstörung der Zellmembran möglich. Der Versuch hat diese Voraussetzung völlig bestätigt; denn während scharfgetrocknete Hefe bei anhaltender Behandlung mit kochendem Aether nur 1,85 pc. flüssiges Fett lieferte, gab eine Portion desselben Materials nach vorheriger Behandlung mit concentrirter Salzsäure 4,6 pc. Fettsäure, welche als Oelsäure angenommen = 5,29 Fett entspricht.

Dass Verfahren ist kurz folgendes:

Bei 100° getrocknete Hefe (etwa 2—3 grm.) wird auf dem Wasserbade mehreremale mit concentrirter Salzsäure abgedampft, die resultirende schwarze Masse mit Wasser auf dem Filter ausgewaschen, dann mit absolutem Alkohol erwärmt und nach dem Abfiltriren desselben mit Aether digerirt. Der alkoholische und ätherische Auszug werden vereinigt und der Destillation unterworfen, der Rückstand

mit Chloroform behandelt, die Lösung von der gewöhnlich nur geringen Menge ungelöster Substanz abfiltrirt und im tarirten Kölbchen der Chloroform abdestillirt. Die erhaltene Substanz ist nun kein fettsaures Glycerin mehr, sondern durch die verhältnissmässig grosse Menge Salzsäure in Freiheit gesetzte Fettsäure.⁹⁾

Da diese ein bei gewöhnlicher Temperatur flüssiges Fett liefert, besteht sie wohl zum grösseren Theile aus Oelsäure. Bei dem hohen Moleculargewicht der Fettsäuren im engeren Sinne und der verhältnissmässig kleinen Differenz mit dem der entsprechenden Glycerinverbindungen kommt eine nur geringe Beimengung von Palmitin- oder Stearinsäure kaum in Betracht; denn es liefern:

1 Theil Oleinsäure = 1,1518 Olein,

1 Theil Stearinsäure = 1,1461 Stearin,

1 Theil Palmitinsäure = 1,2644 Palmitin.

Wenn aber letztre Beimengungen in grösserer Menge vorhanden sind, so gebe man in ähnlichen Fällen einfach den Gehalt an Fettsäuren an, auf welchen ja ohnehin bei Fettbestimmungen der Hauptnachdruck beruht; kommt es auf den Vergleich mit dem durch Aether extrahirten Fett an, so verseife man letzteres ebenfalls.

4. Bemerkungen über das Invertin und „Nuclein“ der Hefe.

Es wurden mehrere Versuche angestellt, die ungeformten Fermente der Hefezelle nach der von Hüfner für andre Fälle angegebenen Methode (Extraction mit Glycerin und Fällen des Auszugs mit Alkohol) darzustellen; es konnten indess ausser der Eigenschaft, Rohrzucker zu invertiren, keine anderen fermentativen Wirkungen an

9) Um zu entscheiden, ob der Fettsäure noch unverseiftes Fett beigemengt sei, wurden 0,096 grm. mit alkoholischer Kalilösung behandelt, eingedampft und nach Versetzen mit Salzsäure mit Chloroform extrahirt; die Differenz betrug nur 0,002 grm.

dem erhaltenen Präparate wahrgenommen werden. Bezüglich dieses Fermentes nun — dem sogenannten Invertin — wurde neuerdings von M. Barth ¹⁰⁾ eine Mittheilung gemacht. Er stellt es dar durch Extrahiren von scharf getrockneter Hefe mit Wasser und Fällen des Auszugs mit starkem Alkohol. Bei dem nicht unbeträchtlichen Gehalte der Hefe an Pflanzenschleim, musste dieser naturgemäss das so erhaltene Präparat verunreinigen, wofür nicht nur die auffallend geringe Inversionsfähigkeit, sondern auch der sehr niedrige Stickstoffgehalt — B. fand nur 6 pc. — spricht. —

Nach einer Angabe Hoppe-Seylers ¹¹⁾ kommt in der Hefe trotz des Mangels eines Zellkerns doch dieselbe Substanz vor, aus welcher die Kerne der Blut- und Eiterkörperchen bestehen und welche man „Nuclein“ nannte. Trotz dem schon von mehreren Seiten die Individualität des Nucleins in Frage gestellt wurde, versuchte ich die von Hoppe für die Hefe gemachten Angaben zu prüfen. Nach Behandlung mit Aether, Alkohol und Kochsalzlösung — genau nach Hoppe's Verfahren — gab die Hefe an verdünntes Aetznatron einen durch Salzsäure fällbaren Körper ab, der sich bei genauer Prüfung in nichts von Eiweiss mit geringer Beimengung von phosphorsaurem Kalk und Magnesia unterschied. Bei dem beträchtlichen Gehalt der Hefe an Phosphaten kann eine geringe Verunreinigung mit „Phosphor“, dessen Anwesenheit Hoppe zur Annahme des Nucleins in der Hefe bestimmt hatte, nicht überraschen.

5. Ueber den Pilzschleim und das Verhalten der Hefe bei wiederholter Behandlung mit heissem Wasser.

Mein Vorgänger Heinrich hatte eine Untersuchung über das Verhalten der Hefe bei längerer und wiederholter Be-

10) Ber. Deutsch. Chem. Ges. März 1878.

11) Medic.-chem. Untersuchungen Heft IV. p. 500 und Handbuch der physiolog.-chem. Analyse pag. 263.

handlung mit kochendem Wasser begonnen und die Extracte von elf aufeinander folgenden Abkochungen von einer 594 grm. Trockensubstanz entsprechenden Portion Hefe dargestellt; die angewandten Wassermengen variirten von 2–4 Liter, die Zeitdauer von anfangs wenigen Stunden bis 1 und 2 Tage bei den späteren Operationen. Da Heinrich an der weiteren Untersuchung der Extracte durch Krankheit verhindert wurde, hatte ich den Auftrag erhalten diese vorzunehmen. Im Wesentlichen bestanden dieselben aus Peptonen, wie sie bei längerem Kochen von Eiweiss mit Wasser erhalten werden, ferner einer eigenthümlichen Gummisubstanz oder Pflanzenschleim und Mineralsalzen. Stickstoff- und Aschegehalt nahmen mit der fortschreitenden Extraction ab, wogegen die Menge des Schleims relativ zunahm, wie aus folgender Tabelle ersichtlich wird:

Auszug	Gewicht des Extracts bei 100° getr.	Asche in Procenten	Stickstoff in Procenten
1	118,0	19,95	6,52
2	fehlte	—	—
3	16,79	9,49	10,32
4	12,25	7,66	10,57
5	10,12	6,07	9,80
6	6,14	5,17	9,25
7	10,61	4,52	8,15
8	fehlte	—	—
9	20,52	3,34	7,69
10	17,82	2,24	6,67
11	—	1,63	5,10

Nach der letzten Behandlung hinterblieben 286 grm. (Trockensubstanz) mit einem wesentlich verminderten Stickstoffgehalte.

Um den Pilzschleim zu isoliren wurde mittelst Bleiessig die Phosphorsäure und a- und b-Pepton entfernt und das Filtrat nach dem Entbleien und Concentriren heiss mit dem gleichen Volum heissen Alkohols vermischt, die Flüssigkeit von der ausgeschiedenen zähen Masse noch heiss abgegossen, und letztere durch wiederholte Ausfällung aus heisser Lösung rein und völlig weiss erhalten.¹²⁾ Die alkoholischen Flüssigkeiten enthalten vorzüglich c-Pepton, neben einem syrupösen Körper und Spuren Leucin.

Dieser Hefeschleim wurde zuerst von Béchamp aufgefunden,¹³⁾ aber nicht näher untersucht. In seinen Eigenschaften schliesst er sich am nächsten an das in den Runkelrüben aufgefundene sogenannte Dextran an, beide geben mit alkalischer Kupferlösung einen käsigen hellblauen Niederschlag. Durch das optische Verhalten sind sie jedoch wesentlich unterschieden, das Drehungsvermögen des Dextrans beträgt $+ 223^\circ$, das des Hefeschleims nur $+ 78^\circ$.¹⁴⁾ In heissem Wasser löst sich letzterer leicht zu einer schwach opalisirenden Lösung auf, in kaltem nur schwierig. Durch Pergamentpapier diffundirt er, wenn auch ungemein langsam. Er reducirt Fehlings Lösung nicht (Unterschied von Dextrin) und wird mit Säuren nur langsam in Glycose verwandelt. Mit Gerbsäure giebt er keinen Niederschlag (Unterschied von gelöster Stärke), ebensowenig mit Borax (Unterschied von Arabin). Jod wird langsam unter Braunfärbung gelöst. Bleiessig fällt die concentrirte Lösung nicht (Unterschied von Dextran), wohl aber nach Zusatz von Kali. Salpetersäure führt ihn erst in eine syrupöse

12) Aus den späteren Abkochungen lässt sich die Substanz viel leichter farblos erhalten, als aus den ersten, welche von viel dunklerer Färbung sind.

13) Compt. rend. 74. p. 186.

14) Béchamp, dessen Substanz vielleicht nicht völlig wasserfrei gewogen wurde, giebt nur $+ 58$ bis 61° an.

Säure (Zuckersäure?), dann in Oxalsäure über. Schleimsäure, welche Béchamp beobachtet haben will, entsteht hiebei durchaus nicht.

Bei 110° getrocknet gaben 0,518 grm. 0,3078 H₂O und 0,8235 CO₂, entsprechend 6,60 pc. H und 41,43 pc. C woraus sich am nächsten die Formel C₁₈ H₃₄ O₁₇ = 3 (C₆H₁₀O₅) + 2 H₂O ableiten lässt:

	Berechnet für		Gefunden
	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	C ₁₈ H ₃₄ O ₁₇	
C . . .	42,10	41,38	41,43
H . . .	6,43	6,51	6,60

Um womöglich das Moleculargewicht festzustellen, wurden die Verbindungen mit Blei und Kupfer dargestellt, erstre durch Fällung mit einer Lösung von Bleizucker in verdünntem Kali, letztre durch Fällung mit einer Mischung von Kupferacetat, weinsaurem Kali und Aetzkali und Waschen mit Weingeist; allein die Niederschläge waren stets kalihaltig, die Kupferverbindung enthielt 12,05 pc. Cu und 3,39 pc. K.

6. Ueber die Cellulose der Sprosshefe und Essigmutter.

Nach Frémy¹⁵⁾ ist die Cellulose der Champignons unlöslich in Kupferoxydammoniak, nach Liebig¹⁶⁾ ist dieses auch bei der Hefecellulose der Fall und nach Schlossberger besitzt letztre ferner die Fähigkeit, durch Einwirkung von Säuren sehr leicht in Zucker überzugehen.

Eine Vergleichung der aus Sprosshefe wie aus Essigmutter (Mycoderma aceti) dargestellten Cellulose ergab ein

15) Jahresb. 1859.

16) A. Mayer, Lehrb. der Gärungschemie p. 97.

ungleiches Verhalten. Während die Sprosshefencellulose leicht durch Säuren angreifbar und andererseits völlig unlöslich in Kupferoxydammoniak ist, erweist sich die Essigmutter-Cellulose von einer grossen Resistenzfähigkeit gegen Säuren und wird, wenn auch sehr langsam von Kupferoxydammoniak gelöst.

Eine Reindarstellung der Sprosshefencellulose ohne bedeutenden Verlust scheint besondere Schwierigkeiten zu haben. Schlossberger behandelte die Hefe mit Kali und Essigsäure, allein sein Präparat enthielt noch 0,5 pc. N. Um ein besseres Resultat zu erzielen, substituirte ich warme, mässig starke Salzsäure für die Essigsäure und reducirte dadurch allerdings den N-gehalt auf eine Spur, erlitt aber durch Zuckerbildung einen beträchtlichen Verlust. Dieses Präparat diene zu mehreren Vergleichen; es ist völlig unlöslich in Kupferoxydammoniak.

Weitere Versuche, die Albuminate mittelst verdünnter Lösung von Chlorkalk oder chlorige Säure zu zerstören, führten ebenfalls nicht zum Ziele: die erhaltenen anscheinend inhaltlosen Zellmembranen wurden nachher durch Kali stark verändert und theilweise gelöst, sie waren jedenfalls durch jene Oxydationsmittel stark angegriffen worden. —

Auch Versuche, durch Pepsinverdauung die Albuminate zu entfernen, führten zu keinem befriedigenderen Resultat. Die Zellen zeigten zwar nach 2 tägiger Digestion mit Pepsin in schwach salzsaurer Lösung eine nicht unerhebliche Verminderung des Inhalts, allein diese Abnahme wurde bei den folgenden Behandlungen immer geringer und nach der dritten betrug der N-gehalt noch 3,1 pc. — also noch mehr als $\frac{1}{3}$ des ursprünglich vorhandenen. Es ist indessen wohl möglich, dass bei sehr lange fortgesetzter Operation schliesslich auch die resistenteren Theile des Plasmas gelöst werden. Ein Versuch durch Pancreasverdauung in neutraler Lösung

zum Ziele gelangen, schlug wegen racher Entwicklung von Spaltspilzen fehl.

Die Reindarstellung der Essigmutter Cellulose ist mit Salzsäure und Natronlauge leicht ohne erheblichen Substanzverlust auszuführen, da sie resistenter gegen Säuren ist. Diese Cellulose bildet weisse bis leicht röthliche papierdünne häutige Massen von schwachem Glanze. Kochende Salpetersäure greift sie nur langsam an, concentrirte Schwefelsäure löst sie unter Bräunung und Zuckerbildung allmähig auf. 0,36 grm. wurden nach 18 Stunden von 20 cc. Kupferoxydammoniak völlig gelöst, während für die gleiche Menge Filtrirpapier 2 Stunden hinreichten, den fast momentan gebildeten Brei in eine Lösung zu verwandeln. —

0,2855 grm. dieser Cellulose gaben 0,1700 H_2O und 0,4611 CO_2 , entsprechend 44,03 pc. C und 6,61 pc. H. Die Formel $C_6 H_{10} O_5$ verlangt: 44,44 C und 6,20 H.

7. Ueber die Producte der Hefe bei der Involution.

Eine Mischung von mit Wasser auf 9,15 Liter verdünnter Hefe (entsprechend 529,2 grm. Trockensubstanz) mit 91,5 grm. Phosphorsäure, welche 13 Monate in einer zu $\frac{2}{3}$ damit angefüllten Flasche sich selbst überlassen worden war, wurde mir zur Untersuchung von Herrn Professor Dr. v. Nägeli übergeben.

Die Flüssigkeit war geruchlos und von gelblicher Farbe, der Bodensatz schlammig, vom Aussehen frischer Hefe, aber unfähig, Zucker in Gärung zu versetzen. Während der Gehalt an N = 7,82 pc. und an Asche = 6,45 pc. bei der angewandten Hefe betragen hatte, enthielt sie jetzt nur noch 6,84 pc. N. und 0,43 pc. Asche. Das Extract musste desshalb N-reicher sein als die verwendete Hefe und in der That wurde derselbe in einer abgemessenen eingetrockneten Probe zu 8,98 pc. gefunden. —

Eine Trockensubstanzbestimmung mit einem Theil des zu einem gewissen Volum mit Wasser aufgeschüttelten Bodensatzes ergab das Gewicht des letzteren zu 331,3 grm., es hatte also die Hefe 197,9 grm. an die verdünnte Phosphorsäure abgegeben.

Bei der Untersuchung der Flüssigkeit wurde zunächst ein Strom kohlensäurefreier Luft durchgesaugt und in Kalkwasser geleitet, wodurch sich die Anwesenheit von Kohlensäure ergab.

Ein Achtel wurde der wiederholten fractionirten Destillation unterworfen und aus dem letzten Destillat durch kohlensaures Kali Alkohol abgeschieden, sein Volum betrug 0,9 cc. Der ursprüngliche Retorteninhalt wurde nun mit den andern $\frac{1}{8}$ vereinigt, mit Kalkmilch die freie Phosphorsäure entfernt und das Filtrat zur Syrupconsistenz eingengt, wobei sich das in geringer Menge vorhandene Eiweiss in schleimigen Häuten abschied.

Nach mehreren vergeblichen Versuchen hieraus direct gut characterisirte Körper abzuscheiden ¹⁷⁾ wurde die Lösung mit Bleiessig so lange versetzt als ein Niederschlag entstand (P).

Das Filtrat wurde entbleit, concentrirt und mit heissem Alkohol von mässiger Stärke behandelt, wobei im Wesentlichen der schon erwähnte Pilzschleim als zähe Masse ungelöst blieb, während die heiss davon abgegossene Flüssigkeit beim Erkalten einen amorphen in Wasser leicht löslichen Körper fallen liess, der sich wie das b-Pepton Meissners verhielt; denn ausser Millons- und der sogenannten Biuretreaction gab er mit Ferrocyankalium und Essigsäure nach mehreren Minuten einen starken Niederschlag.

17) Ein Theil mit Alkohol extrahirt, gab an letzterem unter andern geringe Mengen von Traubenzucker ab.

Da das Filtrat von diesem Pepton nach dem Concentriren und längerem Stehen keine krystallinischen Produkte lieferte, wurde es nach dem Verdünnen mit Wasser mit Quecksilberoxydnitrat — bei gleichzeitigem Neutralhalten mit Barytwasser — gefällt (H), das Filtrat hievon nach der Behandlung mit Schwefelwasserstoff eingeeengt, und dann mittelst Alkohol von dem grössten Theile des Kali- und Barytnitrats befreit. Wird nun diese alkoholische Flüssigkeit mit etwas Aether versetzt, so scheidet sich ein hellgelber Syrup aus, in welchem sich nach längerem Stehen neben noch vorhandenen Nitraten kleine Warzen eines N-freien indifferenten organischen Körpers bilden, der beim Umkrystallisiren dentritische Formen zeigt, an der Luft etwas verwittert und beim Erhitzen einen acetonartigen Geruch verbreitet. Er reducirt Fehlings Lösung auch nach dem Kochen mit verdünnter Salzsäure nicht. Meine Vermuthung Inosit vor mir zu haben konnte ich wegen zu geringer Menge und der mangelnden Schärfe der Scherer'schen Reaction nicht näher prüfen. Der übrige Theil des Syrups lieferte mit Kupferoxydhydrat gekocht eine in blaugrünen Prismen krystallisirende Verbindung in geringer Menge, während die mit Aether versetzte alkoholische Flüssigkeit, aus der sich jener Syrup abgeschieden hatte beim Verdampfen geringe Mengen Leucin gab. Tyrosin fehlte.

Der Niederschlag P. Dieser obenerwähnte, mit Bleiessig erhaltene Niederschlag wurde nach dem Auswaschen mit Schwefelwasserstoff zersetzt und das zum Syrup concentrirte Filtrat mit Alkohol heiss extrahirt, wobei eine wesentlich aus Pepton bestehende Masse ungelöst blieb und sich beim Erkalten des Filtrats bräunliche Flocken, deren Verhalten sie als α -Pepton Meissners erkennen liessen, abschieden. Nach dem Abdestilliren des Alkohols wurde mit Barytwasser die Phosphorsäure entfernt und das Filtrat

auf ein kleines Volum eingeeengt ¹⁸⁾ Nach mehreren Tagen hatte sich ein schwerlösliches bräunliches Pulver abgeschieden, welches sowohl mit Salz- und Salpetersäure krystallisirende Verbindungen lieferte, als auch mit salpetersaurem Silber, letztere in Ammoniak unlöslich und aus heisser Salpetersäure in schönen Nadeln sich abscheidend. Mit essigsaurem Kupferoxyd gekocht entsteht ein flockiger hellgrüner Niederschlag. Während es in den fixen Alkalien und Mineralsäuren leicht löslich ist, wird es von Ammoniak kaum mehr gelöst als von Wasser und hierin liegt wohl ein Hauptunterschied des Guanins vom Xanthin und Sarkin.

Die syrupöse Mutterlauge, aus welcher sich das Guanin abgeschieden hatte, enthielt noch etwas Pepton und widerstand allen Versuchen, krystallisirbare Verbindungen daraus zu gewinnen.

Der Niederschlag H. In heissem Wasser aufgeschlemmt und durch einen Strom Schwefelwasserstoff zer setzt, lieferte der Quecksilberniederschlag (H) ein Filtrat, welches beim Einengen ein schwerlösliches Pulver fallen liess, welches mit Salpetersäure die charakteristische Xanthinreaction gab. Mit wenig Wasser gekocht löste sich ein Theil auf und schied sich beim Erkalten wieder aus, Sarkin, der andre Theil war auch in kochendem Wasser sehr schwer löslich, wogegen leicht in Ammoniak und Säuren, Xanthin.¹⁹⁾ Beide Körper gaben die charakteristischen in Ammoniak unlöslichen Silbersalze; von erstem wurde ferner die Salzsäure- und Kupferverbindung behufs Identificirung dargestellt. Das Filtrat von diesen

18) Das während des Eindampfens gebildete Sediment gab nach Zugabe von Säure an Aether kleine Blättchen vom Verhalten der Bernsteinsäure ab, es war ohne Zweifel bernsteinsaurer Kalk. —

19) Xanthin, Sarkin, Guanin (und Carnin) wurden bereits von Schützenberger vor mehreren Jahren in „erweichter Hefe“ aufgefunden.

schwerlöslichen Körpern wurde nach dem Eindampfen mit heissem Alkohol extrahirt (a), wobei eine die Peptonreactionen gebende Masse zurückblieb, welche in Folge der Nichtfällbarkeit mit Salpetersäure sowohl als durch Ferrocyankalium, wohl Meissners c-Pepton enthält. Da möglicherweise auch Kreatin bei der langsamen Respiration der Hefe gebildet werden könnte, so wurde diese Masse, welche dasselbe hätte enthalten müssen, mit verdünnter Schwefelsäure erwärmt, dann nach Behandlung mit kohlensaurem Baryt eingedampft und mit Alkohol extrahirt. Letzterer hinterliess beim Verdunsten einen Rückstand, der mit Chlorzink der Kreatinin-Verbindung sehr ähnliche Krystallformen lieferte. Jedenfalls ist aber, wenn hier in der That Kreatinin vorliegt, dessen Menge eine äusserst geringe.

Aus der heissen alkoholischen Flüssigkeit (a) schied sich beim Erkalten ein gelber amorpher Körper ab, der beim Erhitzen den Geruch verbrennenden Horns entwickelte und mit salpetersaurem Silberoxyd einen in Ammoniak leicht löslichen Niederschlag gab. Die eingeeengte Flüssigkeit wurde mit Alkohol behandelt, dem $\frac{1}{4}$ volum Aether zugefügt war und die von dem Reste des vorhandenen Peptons getrennte Lösung nach Verdunsten des Alkohols nochmals mit Quecksilberoxydnitrat (ohne zu neutralisiren) gefällt und hiebei noch ein Körper aus der Xanthingruppe erhalten, der eine Silberverbindung in weissen in Ammoniak unlöslichen Nadeln gab, welche sich beim Eindampfen mit Salpetersäure — wahrscheinlich durch Bildung einer Nitroverbindung — hochgelb färbte. Das Filtrat von diesem Niederschlag wurde nun in mit Barytwasser neutral gehaltener Lösung mit Quecksilberoxydnitrat gar ausgefüllt und in diesem Niederschlage nach Tyrosin gesucht, indessen nicht in Krystallen erhalten, obwohl Reactionen eine geringe Menge davon anzudeuten schienen.

Harnstoff war in dem Niederschlage (H) nicht vorhanden; er konnte auch nicht aufgefunden werden, als feucht gehaltene Hefe bei schwach saurer wie schwach alkalischer Reaction 8 Tage lang der Luft ausgesetzt wurde.

Die Hefe hatte also bei langsamer Respiration und allmählichem Absterben an die verdünnte, 1 procentige Phosphorsäure abgegeben: a-, b-, und c-Pepton, Leucin, Guanin, Xanthin, Sarkin, Pilzschleim, ferner geringe Mengen Albumin, Kohlensäure, Alkohol und Traubenzucker.
