

# Über Katalysatoren der alkoholischen Gärung.

## Vorläufige Mitteilung.

Von  
**Hans Euler und Henry Cassel.**

(Aus dem biochemischen Laboratorium der Hochschule Stockholm.)  
(Der Redaktion zugegangen am 3. Juni 1913.)

Die alkoholische Gärung wird durch eine Reihe von Stoffen beschleunigt. Unter den typischen Katalysatoren der Gärung sind die Phosphate die wichtigsten. Sie sind für die Gärwirkung der Hefe unumgänglich notwendig.

Ferner wird die Tätigkeit der Hefe unterstützt durch sehr kleine Mengen einer Reihe von solchen Stoffen, welche, in größeren Mengen anwesend, die Gärung hemmen oder ganz unterdrücken. Zu diesen Stoffen gehören Sublimat und andere Schwermetallsalze, ferner antiseptische Mittel wie Salicylsäure, Phenol, Borsäure usw.

Bei den meisten dieser Stoffe ist der Einfluß auf die Gärungsgeschwindigkeit nur von untergeordneter Bedeutung und übersteigt selten die Größe von etwa 20%.

Sehr viel bedeutender ist der Effekt, welchen wir in der folgenden Mitteilung beschreiben wollen. Es handelt sich um die katalytische Wirkung von Salzen organischer Säuren, besonders solchen der Ameisensäurereihe und von Oxysäuren.

Die vorliegende Erscheinung ist, wie gleich hervorgehoben werden soll, eine rein katalytische und steht — wenigstens nach dem jetzigen Stand unserer Kenntnisse — mit der Tat-

---

<sup>1)</sup> Über die Giftwirkung dieser Stoffe siehe die kürzlich erschienene Arbeit von Bokorny, Biochem. Zeitschr., Bd. 50, S. 1, 1913.

sache, daß einige der betreffenden Säuren selbst Kohlensäure abspalten,<sup>1)</sup> in keinem Zusammenhang.

Eine Vorstellung von der Art und Größenordnung der in Rede stehenden Erscheinung erhält man aus folgender Tabelle. Dieselbe gibt die zu gewissen Zeiten aus 2 g Zucker entwickelten Kohlensäuremengen in Kubikzentimetern an. Als katalysierendes Salz wurde Ammoniumformiat verwendet.

Tabelle 1.

Minuten	0,25 g lebende Hefe			
	110 ccm H <sub>2</sub> O + 2 g Rohrzucker		110 ccm H <sub>2</sub> O + 2 g Glukose	
	ohne Zusatz	mit 0,04 g H <sub>4</sub> N-Formiat	ohne Zusatz	mit 0,04 g H <sub>4</sub> N-Formiat
30	12	13,5	13	15
60	21,5	21,5	20	28
90	30	33,5	25	39
120	38,5	43	30	49
150	45,5	54	37	60
180	51	65	44	70
210	57,5	75	49	80
240	64	87	54	90
285	72,5	102	61	100
330	80,5	120,5	69	
360	84,5	131		
390	88,5	142		
420	92,5	153		
490	102	180,5		

Wie ersichtlich, ist die zur Erzielung einer Beschleunigung von etwa 75% erforderliche Salzmenge recht klein, im vorliegenden Fall 0,04 g auf 110 ccm.

Die Frage nach der Natur dieser Beschleunigung wurde in verschiedener Weise zu beantworten versucht.

<sup>1)</sup> Neuberg und Hildesheimer, Biochem. Zeitschr., Bd. 31, S. 170, 1911. — Neuberg und Tir, Biochem. Zeitschr., Bd. 32, S. 323, 1911. — Neuberg und Karczag, Chem. Ber., Bd. 44, S. 2477, 1911.

Zunächst wurde festgestellt, daß Trockenhefe durch die hier besprochenen Salzzusätze in ihrer Gärwirkung nicht oder nur unwesentlich gefördert wird. Das gleiche Ergebnis wurde mit Preßsaft aus Münchenerhefe erhalten. Daraus ist zu schließen, daß die betreffenden Salze entweder ihre beschleunigende Wirkung überhaupt nicht auf die Gärungsenzyme ausüben, oder daß das von diesen Salzen beeinflusste Enzym nur in der frischen Hefe zur Geltung kommt. Mit lebender Hefe wurde dann untersucht, welche Phase der Gärung vom besprochenen Salzzusatz primär beeinflußt wird.

Die alkoholische Gärung verläuft bekanntlich unter Mitwirkung von Kohlenhydratphosphorsäureestern, welche entstehen einerseits aus den Umwandlungsprodukten des vergärenden Zuckers und andererseits anorganischen Phosphaten. Die folgenden Versuche zeigen, daß die Menge des gebildeten Zwischenproduktes nicht gesteigert wird, wenn der Zuckerlösung Salze aliphatischer Säuren zugesetzt werden.

Wie in früheren Versuchen wurde angegorene Glukose mit Extrakt von Trockenhefe (eine Hefe  $H_4$ , welche der früher untersuchten Hefe  $H$  sehr ähnlich war) und mit 5%iger  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -Lösung gemischt. Von Zeit zu Zeit wurde der Gehalt der Lösung an freier Phosphorsäure bestimmt.<sup>1)</sup>

Tab. 2a.

Zusammensetzung der Mischung	Mi- nuten	$\frac{\text{g}}{\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7}$ in 10 ccm	Zusammensetzung der Mischung	Mi- nuten	$\frac{\text{g}}{\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7}$ in 10 ccm
25 ccm Hefenextrakt	0	0,0411	25 ccm Hefenextrakt	0	0,0418
20 „ 20%ige Glukoselösung . . .	50	0,0312	20 „ 20%ige Glukoselösung . . .	50	0,0307
10 ccm 5%iges $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ . . . .	200	0,0078	10 ccm 5%iges $\text{Na}_2\text{HPO}_4 + 0,1 \text{ g}$ Ammoniumformiat	200	0,0069

Eine andere Versuchsreihe wurde in Gemeinschaft mit Herrn Kand. E. Hille in folgender Weise ausgeführt.

<sup>1)</sup> Diese Versuche sind von Herrn Assistenten phil. Mag. H. J. Strömberg ausgeführt worden.

Wir ließen Glukose durch lebende Hefe vergären und berechneten die Menge des verschwundenen Zuckers einerseits aus der prozentischen Abnahme der optischen Drehung, andererseits aus der gleichzeitig entwickelten Menge Kohlensäure. Bei diesen Versuchsreihen hat sich gezeigt, daß schon relativ geringe Mengen von Salzen, wie z. B. Ammoniumformiat die Differenz  $\Delta-C$  erhöhen. Faßt man diese Differenz auf als das Resultat zweier Reaktionen:

Hexose  $\rightarrow$  Zwischenprodukt (Reaktion A) und  
Zwischenprodukt  $\rightarrow$  Alkohol und Kohlensäure ( " B)

von welchen die erste, A, aus dem Zucker ein Zwischenprodukt (oder Zwischenprodukte) bildet, während die zweite die schließliche Zerlegung in Alkohol und Kohlensäure bewirkt, so zeigen die erwähnten Versuche, daß ein Zusatz von Ammoniumformiat zu gärenden Flüssigkeiten die Reaktion A mehr beschleunigt als die Reaktion B.

20 ccm 10%ige Glukoselösung 1 g Hefe	Mi- nuten	Entwickelte CO <sub>2</sub>		Drehungs- änderung in Graden	$\Delta$ %	Diffe- renz $\Delta-C$
		ccm	%			
+ 5 ccm H <sub>2</sub> O	90	110	23,00	4,14—2,84 = 1,30	31,40	8,40
	125	149	31,18	4,14—2,40 = 1,74	42,03	10,85
	165	212	44,44	4,14—1,94 = 2,20	53,14	8,70
+ 2 ccm 0,5-normal Ammoniumformiatlösung	90	179	37,40	4,14—2,05 = 2,09	50,48	13,08
	125	237	49,51	4,14—1,60 = 2,54	61,34	11,83
+ 3 ccm H <sub>2</sub> O	165	299	62,57	4,14—1,01 = 3,13	75,60	13,03

Die in der Tabelle 3—6 angegebenen Versuche betreffen den Einfluß der Hefemenge und der Konzentration des katalysierenden Salzes. Es zeigt sich in denselben, daß der beschleunigende Einfluß einer gewissen Salzmenge (im untersuchten Konzentrationsgebiet) um so größer ist, je weniger Hefe sich in der Lösung befand.

Bei gegebener Hefemenge erreicht der untersuchte Effekt bei steigender Salzmenge ein Maximum.

Tabelle 3.  
110 ccm H<sub>2</sub>O. 2 g Rohrzucker.

Minuten	0,5 g Hefe		1 g Hefe	
	ohne Zusatz	mit 0,04 g H <sub>4</sub> N-Formiat	ohne Zusatz	mit 0,04 g H <sub>4</sub> N-Formiat
30	11	16	30	28
60	23	31	53	65
90	36	51	83	103
120	47	67	139	171
150	56	85	164	210
180	70	107	188	244
240	93	127	213	288
276	107	159	256	336
310	118	186	287	383
340	129	210	306	419
370	135	226	324	440
400	142	241	348	461

Tabelle 4.  
110 ccm H<sub>2</sub>O. 2 g Rohrzucker.

Minuten	ccm CO <sub>2</sub> 0,25 g Hefe		ccm CO <sub>2</sub> 0,5 g Hefe		ccm CO <sub>2</sub> 1 g Hefe	
	ohne Zusatz	0,04 g H <sub>4</sub> N-Formiat	ohne Zusatz	0,04 g H <sub>4</sub> N-Formiat	ohne Zusatz	0,04 g H <sub>4</sub> N-Formiat
30	8	15	14	19	24	27
60	13	27	27	37	51	69
90	19	38	38	58	77	109
120	24,5	49	49	76	110	159
165	31	63	65	105	142	217
195	35	77	76	125	168	257

Tabelle 4.  
110 ccm H<sub>2</sub>O. 2 g Rohrzucker.

Minuten	1 g Hefe		2 g Hefe		3 g Hefe	
	ohne H <sub>4</sub> N-Formiat	mit 0,1 g H <sub>4</sub> N-Formiat	ohne H <sub>4</sub> N-Formiat	mit 0,1 g H <sub>4</sub> N-Formiat	ohne H <sub>4</sub> N-Formiat	mit 0,1 g H <sub>4</sub> N-Formiat
30	15	24	35	51	68	92
50	35	50	75	105	128	170
70	54	75	113	156	186	254
90	72	101	142	209	239	320
115	89	127	182	270	294	391
145	106	168	228	337	359	450
175	132	209	276	395	412	479
210	158	260	329	440	453	496
250	186	319	381	463	481	506
295	218	378	424	481	491	513
325	235	406	445	485	494	513
355	255	425	457	486	496	513,5
385	272	437	465	490	496	516
415	283	449	468	491	496	519
445	297	469	469	491	496	519
475	323	474	472	492	496	519

Tabelle 5.  
110 ccm H<sub>2</sub>O. 2 g Rohrzucker. 0,25 g Hefe.

Minuten	ccm CO <sub>2</sub>		
	ohne Zusatz	1 g H <sub>4</sub> N-Formiat	2 g H <sub>4</sub> N-Formiat
45	19	9,5	15,5
75	26,5	16,5	23
105	30,5	23	33
135	34,5	33	43
165	38,5	44	54
195	42,5	56	64
315	57	101	117
345	59	115	132
375	61	127,5	146,5
405	61	141	157
480	64	178,5	185

Tabelle 6.

110 ccm H<sub>2</sub>O. 2 g Rohrzucker. 0,25 g Hefe.

Minuten	ccm CO <sub>2</sub>		
	ohne Zusatz	4 g H <sub>4</sub> N-Formiat	6 g H <sub>4</sub> -Formiat
45	21	5,5	9,5
75	32,5	9,5	14
105	41	14,5	17,5
135	48	20,5	22
165	55,5	28	29
195	63	35,5	36
280	72	47	46
310	81	66,5	58,5
340	85	76	68
385	87	86	79,5
510	96	133	116,5

Die folgende Tabelle zeigt, daß die beschleunigende Wirkung des Ammoniumformiats auch in Gegenwart von neutralem Phosphat eintritt.

Tabelle 7.

110 ccm H<sub>2</sub>O.  $\left\{ \begin{array}{l} 1 \text{ g Hefe.} \\ 2 \text{ » Rohrzucker.} \end{array} \right.$ 

Minuten	0,16 g H <sub>4</sub> N-Formiat + 5 ccm 5% Na <sub>2</sub> H · PO <sub>4</sub> (neutralisiert)	5 ccm 5% Na <sub>2</sub> H · PO <sub>4</sub> neutralisiert
30	28	28,5
60	65,5	59
90	115,5	89,5
120	168	122
150	228	159
180	292	201,5
210	352	245,5

Bemerkenswert scheint uns, daß die Beschleunigung der Mannosegärung durch Ammoniumformiat sehr erheblich geringer ist als diejenige der Glukosegärung, wie folgende Tabelle zeigt:

Tabelle 8.

100 ccm H<sub>2</sub>O. 0,25 g Hefe.

Minuten	ccm CO <sub>2</sub>			
	2 g Mannose		2 g Glukose	
	ohne Zusatz	0,04 g H <sub>4</sub> N-Formiat	ohne Zusatz	0,04 g H <sub>4</sub> N-Formiat
45	7,5	6,5	11	11,5
90	14,5	13,5	20	24
150	22	21	31	40
195	29,5	29,5	40	55
240	36	36,5	48,5	69
285	41	42	56	85
330	45	49	61	102

Schließlich soll noch erwähnt werden, daß mit anderen Salzen organischer Säuren, z. B. mit Natriumlactat, mit Ammoniumacetat, mit Natriumracemat ganz ähnliche Einflüsse erzielt wurden.

In einer folgenden Mitteilung soll über den Einfluß dieser Salze auf die Vergärungsgrenze berichtet werden.

Die in dieser Mitteilung angegebenen Resultate über die hier beschriebene wesentlich neue Erscheinung sind nur als vorläufige zu betrachten, und wir möchten uns die experimentelle und besonders die theoretische Ausarbeitung dieser Untersuchung einige Zeit vorbehalten.