XIX. L'ACIDE LACTIQUE EST-IL UN PRODUIT INTERMEDIAIRE DE LA FERMENTATION ALCOOLIQUE ?

PAR ALEXANDRE LEBEDEV.

(*Laborat. de technol. chim. agric. de l'Institut polyt. de Done.*)

(*Received June 28th, 1917.*)

Slator [1906, 1907, 1908], Buchner et Meisenheimer [1909] ont démontré que l'acide lactique n'était pas fermentescible par la levure. Après la découverte de Wieland [1913] que celui se décompose facilement en présence du palladium, préparé d'après son excellente méthode, avec formation de $\text{CH}_3\text{COCO}_2\text{H}$, CO_2 et $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$, il fallait sans doute s'attendre à ce que le même phénomène se produise par la réductase de la levure en présence du bleu de méthylène. Ce point de vue a été appuyé expérimentalement par Palladin, Sabinin et Lovchinovskaya [1915] et Harden et Norris [1915]. De ma part j'ai démontré [1915]¹ que l'acide lactique se décomposait dans ces conditions non seulement en solution neutre, mais aussi, d'une manière encore plus intense, en solution acide, de sorte que, contrairement à l'opinion de Palladin, il y aurait, sans intervention de l'eau, une déshydrogénation directe de CHOH par la réductase de la levure. En absence du bleu de méthylène l'acide lactique se décomposait sans formation de l'aldéhyde acétique, mais avec une formation d'acides, probablement de l'acide acétique en prépondérance; la formation de l'alcool était bien douteuse et même, s'il s'en formait une petite quantité, elle était 3 fois plus faible que celle de CO_2 dégagé [Lebedev, 1915, 1916, pp. 741-3], ce qui a été confirmé plus tard par Palladin et Sabinin [1916]. J'ai montré en outre que la vitesse de la décoloration du bleu de méthylène ne dépendait pas de la quantité de CH_3COH formé et que celle-ci ne faisait qu'une très faible partie de l'acide employé. Or, dans une expérience j'ai obtenu pour 500 mg. de $\text{CH}_3\text{CHOHCO}_2\text{H}$ neutralisé 20 mg. de CH_3COH et dans l'autre—pour 300 mg.—16.3 mg. de CH_3COH en solution acide et 15.9 en solution neutre. Il a fallu s'attendre à

¹ Ce mémoire a paru avant le mémoire de Harden et Norris que je viens de citer.

ce que, lorsque le bleu de méthylène se décolorait complètement, pour 1 mol. d'acide décomposé 1 mol. de CH_3COH se formât, mais on n'a trouvé que 1/3 de cette quantité. Je profite de l'occasion pour dire que les expériences de Lvoff, citées par Palladin, d'après lesquelles "in the process of glucose fermentation for each atom of hydrogen removed with the help of methylene blue, the production both of alcohol and of carbon dioxide is diminished by one molecule" [Palladin et Sabinin, 1916, p. 187], ne se laissent pas reproduire [Lebedev, 1915, pp. 317-8]. Il y a donc tout lieu à croire que Lvoff a obtenu ce résultat à cause de la méthode défectueuse dont il se servait.

Oppenheimer [1914, p. 60] a supposé que l'acide lactique pouvait se décomposer en présence de l'acide pyruvique en $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ et CO_2 :

Il a constaté seulement la disparition d'une partie de l'acide lactique ajouté au suc de macération, mais il n'a pas dosé l'alcool, dont il supposait la formation en présence de l'acide pyruvique. Pour combler cette lacune, j'ai répété les expériences d'Oppenheimer, sans connaître celles de Palladin, en me servant, au lieu du suc, de la levure séchée à 35° et en dosant l'alcool par la méthode de Nicloux. Voici le résultat obtenu [Lebedev, 1916, pp. 742-3].

1. Témoin	...	217 mg. CO_2	5. $\text{CH}_3\text{CHOHCO}_2\text{H}$	...	...	287 mg. CO_2
2. "		223 "	6. "	...	...	287 "
3. $\text{CH}_3\text{COCO}_2\text{H}$	220	"	7. $\text{CH}_3\text{CHOHCO}_2\text{H} + \text{CH}_3\text{COCO}_2\text{H}$	296	"	
4. "	228	"	8. "	297	"	
1, 2. Témoin ... 436 mg. d'alcool						
3, 4. $\text{CH}_3\text{COCO}_2\text{H}$ (20 mg.) ... 456 " "						
5, 6. $\text{CH}_3\text{CHOHCO}_2\text{H}$ (432 mg.) ... 436 " "						
7, 8. $\text{CH}_3\text{CHOHCO}_2\text{H} + \text{CH}_3\text{COCO}_2\text{H}$ 476 " "						

Si l'on tient compte de ce que l'acide pyruvique s'est décomposé en alcool et CO_2 , on obtient définitivement:

		CO_2	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$
I. Témoin	...	440 mg.	436 mg.
II. $\text{CH}_3\text{COCO}_2\text{H}$	...	438 "	446 "
III. $\text{CH}_3\text{CHOHCO}_2\text{H}$	...	574 "	436 "
IV. $\text{CH}_3\text{CHOHCO}_2\text{H} + \text{CH}_3\text{COCO}_2\text{H}$	...	583 "	466 "

Il s'en suit qu'en présence de l'aldéhyde acétique une partie de $\text{CH}_3\text{CHOHCO}_2\text{H}$ s'est oxydée probablement en $\text{CH}_3\text{COCO}_2\text{H}$, mais cette partie était tout à fait *insignifiante*. Si l'on calcule d'après la quantité de CO_2 dégagé, on trouve qu'il s'est décomposé 71 % d'acide lactique ajouté (chaque fiole contenait 10 g. de levure de Lebedev, 50 cc. d'eau et 0.2 cc.

de toluène); au contraire, d'après la quantité d'alcool on n'en trouve que 9 %. Le rapport $\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ au lieu d'être égal à 1 est égal à 8! Il est à noter qu'à la fin de l'expérience le liquide ne contenait que des traces de CH_3COH , parce que la réaction de Rimini était très faible. Palladin a trouvé que le rapport était égal à 6, mais il a commis une forte erreur de calcul. Le témoin de l'expérience 15 [Palladin et Sabinin, 1916, p. 194] a donné en 62 h. 400 mg. de CO_2 et 417 mg. d'alcool. En tenant compte de cela, on obtient pour les nos. 1, 2 et 3 par soustraction :

	Carbon dioxide	Alcohol
1. Pyruvic acid	90	59
2. Lactic acid	47	28
3. Lactic and pyruvic acids	295	97
	137	87

Or, $295 - 137 = 158$ mg. de CO_2 et $97 - 87 = 10$ mg. de $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$; on aura donc le rapport vrai $158 : 10 = 15.8$! 10 mg. d'alcool ne font que 2 % de la quantité entière de celui-ci (514 mg.), c'est à dire qu'ils ne dépassent pas l'erreur de la méthode de Nielloux qui est de 5 % et que, par conséquent, *Palladin n'a pas démontré que l'acide lactique se décomposait en présence de $\text{CH}_3\text{COCO}_2\text{H}$ en CO_2 et $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$* . Il est à remarquer en outre qu'il dosait l'alcool en présence d'une quantité considérable de CH_3COH , ce qui fait le résultat obtenu par lui plus incertain encore. Bien que mes propres expériences soient un peu plus favorables à la théorie d'Oppenheimer que celles de Palladin, il serait tout de même trop osé d'en conclure qu'une fermentation alcoolique de l'acide lactique eût lieu. Je puis répéter ici ce que j'ai dit il y a deux ans à propos des expériences de Palladin: "On a donc aucune raison pour regarder l'acide lactique comme un produit intermédiaire de la fermentation alcoolique" [Lebedev, 1915, p. 306].

D'après mes recherches [Lebedev, 1915, pp. 331-2] l'aldéhyde pyruvique est fermentescible par la levure et par le suc de macération, préparés d'après ma méthode, avec une production de $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ et de CO_2 en proportion presque égale à 1, si la concentration d'aldéhyde ne dépasse pas 1.5 %. En présence du bleu de méthylène l'aldéhyde acétique s'en forme, évidemment par les réactions suivantes :

Je ne décrirai ici que deux de mes expériences, les autres étant analogues [Lebedev, 1915].

Exp. 1. On a pris 2 fioles d'Erlenmeyer (A et B, à peu près 250 cc. chacune) et on les a chargées de 10 g. de levure de Lebedev + 0.25 g. de bleu de méthylène. A la fiole A on a ajouté 50 cc. de solution de CH_3COCOH à 1.3 %, à l'autre—50 cc. de solution de $\text{CH}_3\text{CHOHCO}_2\text{H}$ à 2 %. Après les avoir bien bouchées, on les a secoué à la machine pendant 17 h. et on a dosé l'aldéhyde acétique sous forme de *p*-nitrophenylhydrazone. Voici le résultat obtenu.

A. 65 mg. de CH_3COCOH ... 10.6 mg. de CH_3COH .

B. 1000 mg. „ $\text{CH}_3\text{CHOHCO}_2\text{H}$... 14.4 mg. „

Exp. 2. Mêmes conditions que dans l'expérience 1, mais on a dosé de l'aldéhyde après 9 h. La fiole A contenait 50 cc. de solution de CH_3COCOH à 2.6 %; la fiole B—50 cc. de solution de CH_3CHOH à 1 %.

A. 130 mg. de CH_3COCOH ... 13.5 mg. de CH_3COH .

B. 500 mg. „ $\text{CH}_3\text{CHOHCO}_2\text{H}$... 21.0 mg. „

Si l'on tient compte de la concentration de substances ajoutées, on constate que la formation de l'aldéhyde acétique est plus intense dans le cas de CH_3COCOH que de $\text{CH}_3\text{CHOHCO}_2\text{H}$. Etant donné que dans des processus biochimiques l'acide lactique est formé de l'aldéhyde pyruvique, on pourrait plutôt affirmer que c'est justement celui-ci qui soit un produit intermédiaire, néanmoins, bien que cette hypothèse soit bien séduisante, je ne le crois pas, parce que la fermentation de l'aldéhyde pyruvique est très lente et faible à cause de sa toxicité pour les diastases de la levure.

En connexion avec les faits relatés ici, je me permets d'attirer l'attention sur un autre mémoire [Lebedev, 1916], où j'ai montré que la levure de Lebedev décomposait l'acide malique en CO_2 et $\text{CH}_3\text{CHOHCO}_2\text{H}$ et qu'en présence du bleu de méthylène l'aldéhyde acétique en était formé. J'ai fait la supposition que cette réaction curieuse allait en trois phases:

On pourrait faire une autre supposition, à savoir:

Mais ce point de vue me semble moins plausible, parce que l'aldéhyde acétique se forme de l'acide malique plus lentement et en quantité plus petit que de l'acide lactique.

Le fait intéressant établi par Palladin [Palladin et Sabinin, 1916] que l'acide pyruvique en fermentant simultanément avec de l'acide lactique

L'ACIDE LACTIQUE DANS LA FERMENTATION ALCOOOLIQUE 193

dégageait sous l'influence de la levure plus de CO_2 que lorsqu'il fermentait seul, est tout à fait analogue à celui constaté par moi et Polonsky pendant la fermentation simultanée du sucre et de l'acide pyruvique. Nous avons dosé non seulement CO_2 , mais aussi $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ et $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$. Voici le résultat d'une de nos expériences après la soustraction des quantités correspondantes des CO_2 , $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ et $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$ du témoin. La durée—25½ h. à 22°. CO_2 a été expulsé complètement par un courant d'air à la fin de l'expérience.

	CO_2	$\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$	$\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$
1. 400 mg. $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$	189 mg.	208 mg.	0.5 mg.
2. 100 mg. $\text{CH}_3\text{COCO}_2\text{H}$	25 „	8 „	0.7 „
3. 100 mg. $\text{CH}_3\text{COCO}_2\text{H}$ + 100 mg. $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$	120 „	48 „	0.7 „
4. 100 mg. $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$	49 „	48 „	0.5 „
5. 100 mg. $\text{CH}_3\text{COCO}_2\text{H}$ + 400 mg. $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$	243 „	208 „	0.9 „

On voit que pendant la fermentation de $\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_3$ et du sucre (en concentrations égales) se forme presque la même quantité de $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$, au contraire, la quantité de $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ a été 6 fois et de CO_2 2 fois plus petite dans le cas de $\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_3$, de sorte qu'il n'y avait aucun parallélisme entre les fermentations de ces deux substances. Prenons la somme des nos. 2 et 4 et 1 et 2 et comparons les aux nos. 3 et 5, nous obtiendrons les nombres pour la fermentation simultanée des deux substances et celle de chaque substance séparément.

	CO_2	$\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$	$\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$
2 et 4 (100 mg. $\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_3$; 100 mg. $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$)	74 mg.	56 mg.	1.2 mg.
3 (fermentation simultanée)	120 „	48 „	0.7 „
1 et 2 (400 mg. $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$; 100 mg. $\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_3$)	214 „	216 „	1.2 „
5 (fermentation simultanée)	243 „	208 „	0.9 „

Pendant la fermentation simultanée il s'est formé plus (+) ou moins (−) que séparément.

	CO_2	$\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$	$\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$
100 mg. $\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_3$ + 100 mg. $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$	+46 mg.	−8 mg.	−0.5 mg.
100 mg. $\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_3$ + 400 mg. $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$	+29 „	−8 „	−0.3 „

On peut en conclure que la fermentation du sucre et de $\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_3$ va autrement, lorsque les deux substances se trouvent ensemble et que le travail de la carboxylase ne dépend pas de celui de la zymase. A ce propos je dois ajouter que la présence de $\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_3$ n'influence pas d'une manière sensible l'autofermentation de la levure; ce fait a été aussi établi par moi et Polonsky. Il n'est pas facile pour le moment de résoudre la question aux dépens de quelle substance l'augmentation de la quantité de CO_2 a lieu. Il est possible qu'il y ait des substances qui suscitent ou favorisent la décomposition de l'acide pyruvique même, comme, par exemple, le sucre dans nos expériences ou l'acide lactique dans celles de Palladin.

Palladin veut expliquer la différence énorme qui existe entre la fermentation du sucre et de l'acide lactique par une supposition que la levure vivante travaille autrement que la levure tuée. Sans dire de cela que la levure préparée d'après ma méthode bien qu'elle reste vivante [Lebedev, 1912, p. 36] décompose le sucre en présence et sans toluène absolument de la même manière, je n'indiquerai que sur le fait bien connu que la levure tuée (Acetondauerhefe, Hefanol et cet.) et vivante fermente le sucre avec production de CO_2 et de $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ en proportion $\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ qui est égale à unité.

Il ressort clairement de tout ce que je viens d'exposer que l'assertion de Palladin [Palladin et Sabinin, 1916, p. 195], "At any rate, our experiments give, firstly, a scheme which shows in which direction the work must be conducted, and secondly, prove that alcohol does not present the result of decomposition, but the product of reaction of acetaldehyde by removing the hydrogen from one of the intermediate products of decomposition of glucose," non seulement n'est pas démontrée par lui, mais qu'elle est en outre inexacte, parce que les mêmes idées ont été émises par Neuberg [Neuberg and Kerb, 1912, Neuberg, 1913, p. 13], moi [Lebedev and Griaznov, 1912, p. 3270; Lebedev, 1914] et Kostytshev [1912].

Palladin pense que la réaction de Cannizzaro n'a pas lieu dans la cellule de levure vivante, mais c'est le contraire qui a été montré par Kostytshev [1914]. J'ai démontré en collaboration avec Polonsky que l'aldéhyde acétique qui se formait pendant la fermentation des acides pyruvique et glycérique par la levure de Lebedev se transformait en partie d'après cette réaction en acide acétique et alcool. Cette transformation d'ailleurs ne devient considérable que si les acides sont employés sous forme de leurs sels alcalins.

Voici le résultat de 4 expériences pour $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ et $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$.

	Acide acétique		Ald. acétique	
Solut. acide	33.3 mg.	33.0 mg.	10.4 mg.	10.0 mg.
Solut. neutre	40.8 „	47.4 „	0.8 „	2.2 „
Témoin	22.6 „	29.4 „	0.2 „	0.2 „

Ou après la soustraction des nombres correspondants au témoin (moyen):

Solut. acide	7.1 mg.	} acide acét.	9.9 mg.	} ald. acét.
Solut. neutre	18.1 „		1.5 „	

Je donne encore le résultat de 5 expériences pour l'alcool et l'acide acétique (après la soustraction):

	Alcool en mg.		Acide acétique en mg.	
Sol. neutre	32; 34; 32	32.7	24.9; 18.2; 18.0	20.4
Sol. acide	16; 8	12	10.7; 3.6	7.2
	} moyen		} moyen	

Nous trouvons donc de l'aldéhyde acétique sous forme de

	C_2H_6O	et	$C_2H_4O_2$
en milieu acide	8 mg.		3.2 mg.
„ neutre	31 mg.		13.6 mg.

On voit de ces chiffres qu'en milieu neutre la réaction de Cannizzaro va parallèlement avec une réduction de l'aldéhyde acétique par la réductase de levure. En milieu acide la réaction de Cannizzaro est de beaucoup plus faible.

Nous avons en outre constaté que, si l'on songe d'après la quantité de CO_2 dégagé, la décomposition de l'acide pyruvique en milieu acide est 2 fois plus forte que dans le milieu neutre¹, mais l'excédant de CO_2 n'est pas balancé par les produits nommés plus haut, c'est à dire C_2H_6O , C_2H_4O et $C_2H_4O_2$, de sorte qu'il faut admettre qu'une oxydation directe ou une formation des produits d'une condensation ait lieu. Voici le résultat de 3 expériences.

	m. neutre	m. acide		m. neutre	m. acide
1. $C_2H_6O + C_2H_4O + C_2H_4O_2$	49.6 mg.	25.5 mg.	CO_2	43.0 mg.	51.0 mg.
2. „ „ „	37.1 „	32.9 „	„	22.0 „	54.5 „
3. „ „ „	34.5 „	30.9 „	„	51.0 „	77.0 „
	121.2 „	89.3 „		116 „	182.5 „

Le moyen de 3 expériences est alors :

Milieu neutre	40 mg.	$[C_2H_6O + C_2H_4O + C_2H_4O_2]$	correspondant aux	38.7 mg.	de CO_2 .
„ acide	29.8 „	„	„	60.8 „	„

Nous rappelons ici le fait bien connu que la fermentation du sucre se produit toujours en milieu acide (si l'on ne le fait pas artificiellement neutre ou alcalin); si l'acide pyruvique était un produit intermédiaire, la proportion $CO_2 : [C_2H_6O + C_2H_4O + C_2H_4O_2]$ devrait être au moins égale à 1, mais elle est, comme nous venons de le montrer, considérablement plus grande. C'est pourquoi on ne serait peut-être pas trop étonné, si un jour on trouvait que l'acide pyruvique ne soit pas un produit intermédiaire de la fermentation alcoolique.

Il y a quelques années j'ai fait une observation curieuse que l'acide glycérique se décomposait en présence de la levure de Lebedev d'après l'équation suivante :

Or, je puis à présent affirmer qu'il peut se former pendant la fermentation de cet acide plus d'aldéhyde acétique que dans le cas de l'acide pyruvique et que la décomposition de l'acide glycérique même en milieu acide suit de plus près l'équation donnée plus haut que celle de l'acide pyruvique. Je ferai connaître ici les chiffres moyens de deux expériences faites par moi et Polonsky.

¹ Il va de soi qu'à la fin de l'expérience quelques gouttes d'acide sulfurique ont été ajoutées.

Pour 25 cc. d'eau et 5 g. de levure on a pris 230 mg. d'acide glycérique et 250 mg. d'acide pyruvique. $T. = 20^{\circ}$. Les fioles qui servaient au dosage de CO_2 ont été à la fin des expériences chauffées pendant une $\frac{1}{2}$ h. à 70° , après quoi on a fait passer pendant 1 h. un courant d'air à travers le liquide et la soupape de fermentation de Meissl. Les fioles qui servaient pour le dosage des $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ et $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$ ont été bien bouchées. On a dosé l'alcool par la méthode de Nicloux [1906] et le $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$ par la méthode de Ripper [1900]. Voici le résultat obtenu :

	CO_2	$\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$	$\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$	$\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$
1. Témoin	80	82.5	0.11	11.70
2. Ac. glycé.	124	105.0	10.44	12.15
3. Ac. pyruv.	154	116.0	4.35	15.15

Après la soustraction des chiffres-témoins on a calculé la quantité de $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$ qui correspond à celle des $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ et $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$. On trouve par conséquent 32.2 mg. de $\text{C}_2\text{H}_4\text{O} + 44$ mg. de CO_2 pour l'acide glycérique et 38.8 mg. de $\text{C}_2\text{H}_4\text{O} + 74$ mg. de CO_2 pour l'acide pyruvique. (On obtient le même résultat en présence et absence de toluène.)

Ce fait dit en faveur de la supposition qu'à cause de la formation successive de l'acide pyruvique, celui-ci soit fermenté dès qu'il se forme, sans donner lieu à la production et l'accumulation des substances secondaires, mais il y a d'autres difficultés, dont j'ai parlé dans le travail cité plus haut qui ne se laissent pas expliquer si facilement et qui restent encore à surmonter pour croire que l'acide pyruvique soit vraiment un produit intermédiaire; comme je viens de montrer dans le mémoire présent, les difficultés deviennent même énormes, si l'on veut admettre que l'acide lactique soit aussi un produit intermédiaire de la fermentation alcoolique, de sorte que je ne crois pas qu'on ne puisse jamais les surmonter.

REFERENCES.

- Buchner and Meisenheimer (1909). *Landw. Jahrb.* **38**, *Erg. Band v*, 265.
 Harden and Norris (1915). *Biochem. J.* **9**, 330.
 Kostytshev (1912). *Zeitsch. physiol. Chem.* **79**, 130, 359.
 — (1914). *Zeitsch. physiol. Chem.* **89**, 367.
 Lebedev (1912). *Ann. Inst. Past.* **26**, 8.
 — (1914). *Ber.* **47**, 660.
 — (1915). *J. Microbiol.* **2**, 305.
 — (1916). *J. Soc. Phys. Chem. Russ.* **48**, 725.
 Lebedev and Griaznov (1912). *Ber.* **45**, 3256.
 Neuberg (1913). *Die Gärungsvorgänge und der Zuckerumsatz der Zelle*.
 Neuberg and Kerb (1912). *Zeitsch. Gärungsphysiol.* **1**, 114.
 Nicloux (1906). *Bull. Soc. Chim.* (3), **35**, 330.
 Oppenheimer (1914). *Zeitsch. physiol. Chem.* **89**, 45.
 Palladin and Sabinin (1916). *Biochem. J.* **10**, 183.
 Palladin, Sabinin and Lovchinovskaya (1915). *Bull. Acad. Impér. Sc. Pétrograd*, 701.
 Ripper (1900). *Monatsh.* **21**, 1079; *Wien. Acad. Ber. M. N. Abt. II*, **109**, 844.
 Slator (1906). *J. Chem. Soc.* **89**, 128.
 — (1907). *Ber.* **40**, 123.
 — (1908). *J. Chem. Soc.* **93**, 217.
 Wieland (1913). *Ber.* **46**, 3327.