

Über die Bildung von Milchsäure bei der alkoholischen Gärung.

II. Mitteilung.

Entgegnung an die Herren Neuberg und Kerb.

Von

Max Oppenheimer.

(Aus dem städtischen chemisch-physiologischen Institut der Universität Frankfurt.)

(Der Redaktion zugegangen am 30. Oktober 1914.)

In einem der letzten Hefte der Biochemischen Zeitschrift beschäftigen sich Neuberg und Kerb¹⁾ ausführlich mit meinen beiden Mitteilungen über die Bildung von Milchsäure resp. Glycerin bei der alkoholischen Gärung,²⁾ um, wie die Autoren sagen, «einer undeutlichen Darstellung experimenteller Ergebnisse entgegenzutreten.»

Diese angebliche Undeutlichkeit scheinen mir aber die Verfasser erst in meine Arbeit hineingetragen zu haben, wie aus ihren zahlreichen Mißverständnissen hervorgeht, die ich im folgenden richtig stellen möchte.

1. Ich habe an keiner Stelle meiner Arbeit behauptet, daß Hefemazerationssaft immer bakterienfrei sei. Eine derartige Behauptung wäre bei der auch mir sehr wohl bekannten Gewinnungsweise der käuflichen Trockenhefe auch zu töricht gewesen. Das gerade Gegenteil der mir supponierten Anschauung geht aus meiner Angabe (l. c. S. 53) hervor, daß von jeweils gebildeten Bakterienkolonien abgeimpft wurde! Nicht auf Bakterien überhaupt, sondern ganz speziell auf Milchsäurebildner war bei meinen Untersuchungen zu prüfen und wurde auch einwandfrei geprüft. Dies schien mir zweckmäßiger, als die «genauer» Untersuchungen, welche Neuberg und Kerb mitteilen (l. c. S. 493).

¹⁾ Neuberg und Kerb, Biochem. Ztschr., Bd. 62, S. 489, 1914.

²⁾ Max Oppenheimer, Diese Zeitschr., Bd. 89, S. 45 u. 63, 1914.

Das von Neuberg und Kerb beobachtete Vorhandensein von Milchsäure bei Mazerationssaft, welcher 48 Stunden mit Milchzucker, CaCO_3 , und 1% Toluol gestanden, beweist selbstverständlich auch nicht das Geringste gegen meine Versuche. Ich habe ja ausdrücklich von der Tatsache gesprochen — was Neuberg und Kerb übersehen zu haben scheinen — daß in Mazerationssaft vorgebildete Milchsäure vorhanden ist, und diese bei jedem einzelnen Versuche auch bestimmt und mitgeteilt, dies schon aus dem Grunde, weil es sich ja bei meinen Versuchen stets um Neubildung von Milchsäure aus zugesetzten Substanzen handelte.

Und da anscheinend Neuberg und Kerb ihren Hefesaft nur qualitativ auf Milchsäure geprüft, also eine Neubildung nicht nachgewiesen haben, beweisen diese Versuche auch nichts gegen die antibakteriellen Eigenschaften des Mazerationssaftes.

Aber auf diese antibakteriellen Fähigkeiten des Hefesaftes an und für sich, welche überhaupt nur nebenher erwähnt wurden, lege ich keinen allzugroßen Wert.

Die bakteriologischen Kontrollen und vor allem die Versuchsergebnisse selbst dürften einwandfrei zeigen, daß es sich bei der beobachteten Milchsäurebildung um einen rein enzymatischen Vorgang handelte.

Auch sei wiederholt auf die sicher antibakteriellen Eigenschaften des Glycerinaldehyds hingewiesen. Griesbach und Silberstein (unveröffentlichte Versuche) haben sich z. B. im hiesigen Institute vergebens bemüht, Milchsäurebakterien auf Nährböden, welche 1% Glycerinaldehyd enthielten, also diejenige Menge, welche bei meinen Versuchen angewandt wurde, zum Wachstum zu bringen, vielmehr führte der Zusatz von Glycerinaldehyd zu einem Absterben der Bakterien.

Vor allem aber möchte ich nochmals auf Versuch 8 der Tabelle I meiner Arbeit (l. c. S. 55) hinweisen, wo innerhalb 3 Stunden bei Zimmertemperatur aus Glycerinaldehyd relativ beträchtliche Mengen Milchsäure gebildet wurden, dagegen keine aus Traubenzucker und Dioxyceton. Dieser Versuch spricht doch für alles eher, denn für bakterielle Bildung!

Oder Versuch 6, bei welchem 10 Mal so viel Milchsäure aus Glycerinaldehyd wie aus Traubenzucker und Dioxyaceton gebildet wurde!

Bei solchen Versuchsergebnissen würde sogar das von Neuberg und Kerb angenommene, von mir aber entschieden bestrittene, Vorhandensein von milchsäurebildenden Bakterien bei meinen Versuchen höchstens noch weiterhin darauf hinweisen, daß auch bei bakterieller Milchsäurebildung Glycerinaldehyd eine wahrscheinliche Vorstufe der Milchsäure ist!!

2. Neuberg und Kerb bestreiten die physiologische Beweiskraft meiner Versuche mit der ganz eigentümlichen Begründung, daß die von mir beobachtete reichliche Milchsäurebildung, namentlich aus Glycerinaldehyd, welche das mehrhundertfache der Normalwerte ergeben habe, eher gegen die physiologische Bedeutung des Vorgangs spreche!

Muß ich denn wirklich noch besonders betonen, daß ein Unterschied besteht zwischen natürlichen Verhältnissen und künstlich geschaffenen optimalen Versuchsbedingungen?

Und was würden die Herren Neuberg und Kerb dazu sagen, wenn ich in strikter Anwendung ihrer Logik behaupten wollte, gegen die physiologische Bedeutung des von ihnen bevorzugten Methylglyoxals spreche eben die Tatsache, daß bei den Versuchen von Dakin und Dudley sowie bei den später veröffentlichten Versuchen von Neuberg Methylglyoxal in einem Maße in Milchsäure umgewandelt wurde, das dem natürlichen Vorkommen nicht entspreche!!

Und was dem Methylglyoxal recht ist, dürfte doch wohl dem Glycerinaldehyd billig sein.

Ebenso ungerecht scheint mir das von Neuberg nun wiederholt ausgesprochene einseitige Verlangen, daß das intermediäre Auftreten von Glycerinaldehyd erst einmal bewiesen werden sollte! Genau dieselbe Forderung muß doch billigerweise auch für das Methylglyoxal gestellt werden.

3. Es ist durchaus unrichtig, daß ich den «springenden Punkt der ganzen Frage umgehe». Der «springende Punkt» bei meinen Untersuchungen war der Versuch einer Erklärung des Mechanismus der Milchsäure- resp. der Glycerinbildung bei

der alkoholischen Gärung und nicht die Erklärung der Lücke zwischen Triose und Brenztraubensäure. Diese Frage wurde von mir naturgemäß nur nebenbei gestreift, dies umsomehr, als meine Versuchsergebnisse gerade auf eine direkte Bildung der erwähnten Nebenprodukte aus den Triosen hinwiesen. Im Gegensatz zum Abbau der Kohlenhydrate im Tierkörper scheint ja eben die Milchsäurebildung bei der alkoholischen Gärung nicht auf dem Hauptwege zu liegen, sondern eine von der Gärkraft, vielleicht auch anderen physiologischen Bedingungen abhängige Nebenreaktion zu sein, welche abläuft, ehe das Brenztraubensäurestadium erreicht ist, dessen Bedeutung von mir in keiner Weise unterschätzt wurde, wie ja gerade die eigenen Versuche mit Brenztraubensäure beweisen. Von einer «Verkennung der Sachlage» kann deshalb auch keine Rede sein.

4. Auch bei der Bildung des Glycerins aus Triosen spielt die Frage der Herleitung des Aethyl- und des Kohlensäurerestes aus der Zuckergruppe nicht die geringste Rolle. Erst recht nicht, wenn man mit Neuberg und Kerb die von mir beobachtete Glycerinbildung aus Triosen bei der alkoholischen Gärung als reine Reduktionserscheinung ansieht, für welche Annahme in der Tat vieles spricht. Mit dieser ja bereits von Buchner und Meisenheimer vertretenen Anschauung wird aber naturgemäß die früher von Neuberg und Kerb aufgestellte Hypothese der Glycerinbildung durch Cannizzarosche Umlagerung des Methylglyoxals entbehrlich.

Was die physiologische Bedeutung der Glycerinbildungsversuche betrifft, so kann ich nur auf das oben über die Milchsäurebildung Gesagte verweisen.

5. Es geht, wie ich glaube, aus dem Texte meiner Arbeit mit aller Deutlichkeit hervor, daß ich die früher von Embden und seinen Mitarbeitern ausgesprochene Vermutung,¹⁾ daß

¹⁾ Anmerkung. Die von Neuberg und Kerb ins Lächerliche gezogene Unterscheidung von «Behauptung» und «Vermutung» werde ich auch in etwaigen künftigen Veröffentlichungen machen. Würde man in wissenschaftlichen Veröffentlichungen diesen «feinen» Unterschied zwischen Behauptung und Vermutung nicht durchführen, so wäre damit das Aufstellen von Hypothesen unmöglich.

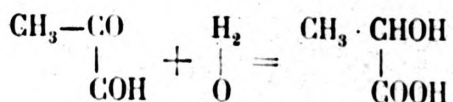
Dioxyaceton die Quelle der bei der Gärung aus Kohlehydraten gebildeten d-l-Milchsäure sei, für unwahrscheinlich halte. Die Frage der Bildung von d-Milchsäure im Tierkörper aus optisch-aktivem Glycerinaldehyd ist davon vollkommen unabhängig und bildete nicht den Gegenstand meiner Untersuchung.

6. Ich habe mich durchaus nicht in widerspruchsvoller Weise gegen eine Heranziehung einer gekoppelten Reaktion gewendet, sondern lediglich gegen eine dem ursprünglichen Wesen der Cannizzaroschen Reaktion widersprechende Nomenklatur und Reaktionsdeutung. Wenn ich auch den Vorteil einer einheitlichen Klassifizierung durchaus nicht verkenne, so muß dieselbe doch sachlich begründet sein. Und dies scheint mir eben nicht der Fall z. B. bei einer Identifizierung der Benzilsäureumlagerung mit einem «inneren» Cannizzaro, ganz abgesehen davon, daß ein solcher chemisch überhaupt noch nicht bekannt ist.

Was Neuberg und Kerb über diese Frage bereits früher ausgeführt haben, ist mir sehr wohl bekannt, ich habe also keine Veranlassung zu einem besonderen Erstaunen, wie Neuberg und Kerb erwarten. Nur erschienen eben diese Ausführungen erst zu einer Zeit, als meine Arbeit bereits im Drucke war, so daß ich dieselben nicht mehr berücksichtigen konnte. Überdies sind sie nicht geeignet, meine Anschauungen in irgend einer Weise zu korrigieren, sind vielmehr eher dazu angetan, dieselben zu stützen. Denn auch durch die nachträgliche Einfügung der Worte: «Bzw. durch eine Benzilsäureumlagerung», welche in der ursprünglichen Fassung des ganzen von Neuberg und Kerb sonst wörtlich aus Neubergs Monographie¹⁾ übernommenen Passus noch nicht enthalten sind, wird an der Tatsache nichts geändert, daß Neuberg und Kerb eben zwei verschiedene Reaktionen, die verschieden zu formulieren sind, fälschlich identifizieren und zwecks «einheitlicher Klassifizierung» zusammenwerfen.

Die «innere» Cannizzarosche Reaktion formuliert Neuberg in der erwähnten Monographie (S. 14) folgendermaßen:

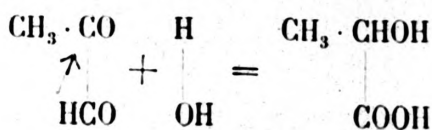
¹⁾ C. Neuberg, Die Gärungsvorgänge und der Zuckerumsatz der Zelle. Jena 1913.



und nennt unter Wiederholung dieser Formulierung die innere Cannizzarische Reaktion des Methylglyoxals auf Seite 25 eine «Wasseraufnahme».

Dieselbe Formulierung dehnen Neuberg und Kerb durch den erwähnten Zusatz¹⁾ auch auf die Benzilsäureumlagerung aus.

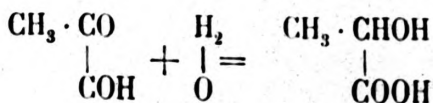
In ihrer jüngsten Mitteilung²⁾ formulieren Neuberg und Kerb ihre innere Cannizzarische Reaktion wie folgt:



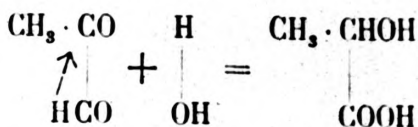
Hier kann man wirklich den Herren Neuberg und Kerb gegenüber von einer «undeutlichen Darstellung» sprechen. Denn eine größere Verwirrung der Begriffe ist überhaupt nicht denkbar.

Nach den herrschenden Anschauungen über das Wesen der Cannizzarischen Reaktion einerseits, über die Benzilsäureumlagerung andererseits, dürfte für diese beiden Reaktionen des Methylglyoxals die richtige Formulierung die folgende sein:

«Innerer» Cannizzaro:



Benzilsäureumlagerung:



innerer Cannizzaro, wenn ein solcher überhaupt möglich, eine gekoppelte Reaktion unter Reduktion und Oxydation

¹⁾ Neuberg und Kerb, Biochem. Zeitschr., Bd. 58, S. 161, 1913.

²⁾ Neuberg und Kerb, Biochem. Zeitschr., Bd. 62, S. 497, 1914.

an verschiedenen, event. benachbarten C-Atomen desselben Moleküls, aber keine Wasseraufnahme,¹⁾

Benzilsäureumlagerung eine glatte Wasseranlage-
rung in üblichem Sinne unter sprungweiser Wanderung eines
H-Atoms an das benachbarte C-Atom. Also zwei prinzipiell
verschiedene Reaktionen!

Selbst auf die Gefahr hin, die einheitliche Klassifizierung
stören zu müssen, glaube ich daher nach wie vor, die von
Dakin und Dudley sowie Neuberg beobachtete Milchsäure-
bildung aus Methylglyoxal auf Grund chemischer Analogieen
bis auf weiteres mit Nef als reine Benzilsäureumlagerung an-
sehen zu müssen.

7. Dakin und Dudley erwähnen weder an der von
Neuberg und Kerb zitierten Stelle noch auch sonstwo auch
nur mit einem Worte einen eigenen oder auch fremden Ver-
such über Milchsäurebildung aus Methylglyoxal bei alko-
holischer Gärung. Und nur um solche handelte es sich
bei meinen Ausführungen. Die diesbezügliche Berichtigung
(l. c. Fußnote) von Neuberg und Kerb entspricht also nicht
den Tatsachen.

8. Schließlich noch ein Wort über die Bildung von Milch-
säure aus Brenztraubensäure.

Neuberg und Kerb kommen bei ihren Versuchen mit
lebender Hefe zu genau demselben Ergebnis wie ich, daß näm-
lich aus Brenztraubensäure bei der Gärung keine Milchsäure
gebildet wird. Dieses Resultat ist eine Bestätigung meiner
Versuche mit Mazerationsaft. Trotzdem halten es Neuberg
und Kerb für noch nicht entschieden, ob bei der zellfreien
Gärung von Brenztraubensäure nicht doch Milchsäure gebildet
werden kann. Neuberg und Kerb fordern neue Versuche
mit freier Brenztraubensäure. Diese Versuche waren nun

¹⁾ Anmerkung. Eine Wasseraufnahme, wie sie Neuberg formu-
liert, ist schon aus dem Grunde undenkbar, weil die für die Wasser-
aufnahme notwendige Ionisierung des Wassers nur im Sinne $H \dots OH$
erfolgen kann und nicht mit der Dissoziation $H_2 \dots O$. Gänzlich etwas
anderes ist vollends die Bildung der verschiedenen denkbaren Hydrate
des Methylglyoxals, da ja bei dieser Hydratisierung die Anlagerung des
Wassers an ein und demselben C-Atome erfolgt.

bei Erscheinen der Neuberg und Kerbschen Veröffentlichung bereits gemacht, wie aus einer voranstehenden Mitteilung hervorgeht.¹⁾ Ihr Ergebnis war genau dasselbe wie bei brenztraubensauren Salzen: in keinem Falle Bildung von Milchsäure, bei einem Versuche sogar ganz beträchtliches Verschwinden vorgebildeter resp. zugesetzter Milchsäure, während bei dem zweiten Versuche der Verlust der Milchsäure innerhalb der Fehlergrenzen liegen dürfte.

Den in der oben erwähnten Arbeit aufgeführten CO₂-Zahlen seien zum Belege die Milchsäurewerte der beiden dort mitgeteilten Versuche, deren Veröffentlichung ursprünglich für eine spätere zusammenhängende Mitteilung vorgesehen war, ergänzend nachgetragen.

Versuchs Nr.	Datum des Versuchs	Gefundene Menge Milchsäure pro 100 ccm Hefesaft in gr nach dem Versuche bei Zusatz von		Verschwundene Menge Milchsäure pro 100 ccm Hefesaft in gr bei Zusatz von freier Brenztrauben- säure
		1% milch- saur. Na M	1% milchsaur.Na + 1% Brenztrau- bensäure MBr ₁	
I	1914 24/2	0,9988	0,5803	0,4185
II	27/2	1,1394	1,1286	0,0108

¹⁾ Max Oppenheimer, Diese Zeitschrift.