

Ueber Gährungsprocesse.

Synthese bei Gährungen.

Von F. Hoppe-Seyler.

Im Anschluss an die Schilderung der Körper, welche bei Einwirkung von Aetzkali in höherer Temperatur auf milchsaures Salz entstehen, habe ich bereits durch eine allgemeine Gleichung einen Ausdruck für die Bildung desselben zu geben versucht und die nahen Beziehungen dieses Processes zur Bildung fetter Säuren und Alkohole durch Gährungen hervorgehoben ¹⁾.

Auf die innern Vorgänge bei diesen Umwandlungen einzugehen habe ich in dieser Mittheilung vermieden, weil sich wohl Mancherlei als unmöglich ausscheiden liess, zur völligen Beantwortung aber noch wesentliche Fragen zu beantworten waren. Die seitdem von mir fortgesetzten Untersuchungen über die Einwirkung der Alkalien auf die Milchsäure sowie über die Fäulniss des Glycerins haben einige für die Erkennung der Art der Einwirkung der Alkalien oder des Wassers (bei der Fäulniss) nicht unwichtige Resultate ergeben, so dass die Entstehung von Säuren und von Alkoholen und die Ursachen der Synthese besser aufgeklärt werden. Ich theile diese Resultate schon jetzt mit, weil die weitere experimentale Verfolgung der Gährungserscheinungen dieser Richtung, mit der ich beschäftigt bin, voraussichtlich noch einige Zeit in Anspruch nehmen wird.

Wiederholte Versuche der vorsichtigen aber ziemlich

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. II, S. 16 u. 17. In der hier auf Seite 16 gegebenen Gleichung für die Buttersäuregährung ist fälschlich eine 2 weggelassen; diese Gleichung soll lauten.



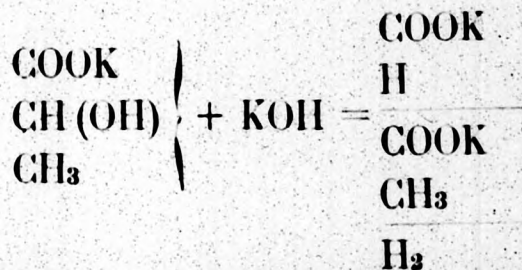
schnellen Erhitzung von milchsaurem Kalk, gemischt mit überschüssigem gepulverten Natronkalk in Verbrennungsröhren haben meine früheren Angaben ¹⁾ bestätigt. Es werden bei diesem Verfahren neben Essigsäure relativ reichliche Quantitäten von Buttersäure, Capronsäure und feste fette Säuren von hohem Moleculargewicht erhalten. Diese letzteren geben in ihren Natriumverbindungen in heissconcentrirter Lösung nach dem Erkalten einen Seifenleim, der fest gelatinirt, ihre Bariumverbindungen sind in Wasser unlöslich; einen bestimmten Gehalt an Barium habe ich nicht gefunden, derselbe war stets höher als der für Palmitinsäure berechnete, fiel aber in den einzelnen Versuchen verschieden hoch aus. Auch der Schmelzpunkt war verschieden hoch, stets niedriger als der der Palmitinsäure. Die Quantität dieser fetten Säuren von hohem Moleculargewicht, welche erhalten wurden, blieb immerhin gering.

Es wurden dann in einer geräumigen Silberretorte Portionen von 200 Gr. milchsauren Calciums mit dem gleichen bis dreifachen Gewicht Aetzkali im Oelbade erhitzt. Die Gasentwicklung begann bei 210 bis 220°, es entwickelte sich neben Wasserdampf nur Wasserstoffgas, der Process steigerte sich bei Erhebung der Temperatur auf 240° und war ungefähr bei 270 bis 280° beendet. In der erkalteten Masse wurden hauptsächlich Essigsäure und Propionsäure, daneben wenig Buttersäure und wenig feste fette Säure gefunden, aber die letzteren fehlten nie ganz. Ameisensäure und Oxalsäure werden bei diesem Verfahren ebenfalls erhalten. Ameisensaures Kali wird durch Erhitzen mit Aetzkali ebenso wie oxalsaures Kali allerdings unter Wasserstoffentwicklung zu kohlsaurem Salz zersetzt, aber diese Umwandlung tritt erst über 300° ein; man kann sie deshalb besser im Glassgefäss im Bade von geschmolzenem Zinn genau verfolgen.

Das regelmässige Auftreten der Ameisensäure bei der Spaltung der Milchsäure durch Aetzkali oder Natronkalk

¹⁾ a. a. O. S. 14.

giebt unzweideutig zu erkennen, dass die Spaltung der Milchsäure nach der Gleichung:



erfolgt, dass somit an das Carboxyl sich nur der Wasserstoff des Kaliumhydrats, an den Rest $\text{CH}_3\text{—CH(OH)}$ der Rest OK sich anfügt unter Austritt zweier Atome H , so dass dieser organische Rest zwei Affinitäten des Kohlenstoffs, die vorher mit Wasserstoff gesättigt waren, an Sauerstoff anfügt.

Es ist leicht ersichtlich, dass diese Einwirkung des Kaliumhydrats auf den alkoholischen Rest der Milchsäure in der nämlichen Weise geschieht, wie auf irgend einen einsäurigen Alkohol, nur wird die Carboxylgruppe von der Milchsäure mit H in Verbindung abgespalten, bei einem einfachen Alkohol statt dessen ein Atom H . Die reichliche Bildung der Propionsäure neben der Essigsäure kann wohl nur als Reduction aufgefasst werden. Lautemann hat allerdings vergebens versucht, durch Einwirkung von Natriumamalgam aus Milchsäure Propionsäure zu bilden, dagegen gelang ihm diese Reduction durch Jodwasserstoff. Als Product einer Synthese sie anzusehen, bietet sich wohl keine Möglichkeit. Die Entstehung der fetten Säuren von höheren Kohlenstoffatomzahlen im Molecul als die der Milchsäure setzt das Auftreten synthetischer Processe bei dieser Gährung ausser Zweifel, ich will jedoch diese interessante Synthese erst in Betracht ziehen, nachdem die Verhältnisse geschildert sind, welche bei der Fäulniss des Glycerin von mir gefunden sind.

Es wurden 450 Gr. Glycerin mit überschüssigem CaCO_3 und etwas faulendem Fibrin in 9 Liter Wasser bei Temperaturen, die zwischen 20° und 40° schwankten, 2 Jahre lang unter Luftabschluss durch Quecksilber stehn gelassen. Die Anfangs sehr lebhaft Gährung versiegte nach und nach

und liess schliesslich noch 156,5 gm. Glycerin unzersetzt zurück. Bei der Destillation der Flüssigkeit gingen reichlich öliche Tropfen über; durch Rectificiren, Abheben und Trocknen über K_2CO_3 wurden ungefähr 13 gm. Alkoholgemisch gewonnen. Von demselben gingen bei der fractionirten Destillation 34% zwischen 80° und 100° , 26% bei 100 bis 116° und 40% zwischen 116° und 158° über. Die zweite und letzte Portion wurden wieder vereinigt und mit Brom und Phosphor in die Bromide verwandelt, es gelang aber nicht, durch fractionirte Destillation schärfere Abgrenzung der im Gemisch enthaltenen einzelnen Bromide zu erhalten; der Siedepunkt stieg beim Destilliren allmählig, ging dann schliesslich weit über den des Amylbromid hinaus. Durch Erhitzen mit essigsauerm Silber auf 160° wurden die Bromide in die Essigäther verwandelt, aus diesen die freien Alkohole regenerirt und diese dann mit chromsauren Kali und Schwefelsäure oxydirt, die gebildeten Säuren abdestillirt mit Baryt gesättigt und die Bariumverbindungen fractionirt aus wässriger Lösung krystallisiren lassen. Die leichter lösliche Portion der Bariumsalze enthielt 45,83, die schwerer lösliche 41,71, im andern Falle 41,31% Barium. Aus dem schwerer löslichen Salze wurde die Calciumverbindung durch Destillation mit verdünnter Schwefelsäure und Sättigung des Destillats mit $CaCO_3$ gewonnen und die Löslichkeit des Calciumsalzes im Wasser bestimmt. Bei ungefähr 17° von den zuerst ausgeschiedenen Krystallen abgegossen gab die Mutterlauge 28 Theile Wasser auf 1 Gewichtstheil Calciumsalz. Bei der Destillation der Verbindung mit verdünnter Schwefelsäure gingen gleich Anfangs ölige Tropfen über, die beim Schütteln des ganzen Destillats sich langsam lösten.

Nach der Höhe der Siedepunkte sowohl der Alkohole als der Bromide, dem Bariumgehalte der durch Oxydation aus den Alkoholen gebildeten Säuren, der Schwerlöslichkeit des Calciumsalzes in Wasser und der Schwerlöslichkeit der freien fetten Säure ist nicht zu bezweifeln, dass Hexylalkohol in nicht geringer Quantität im Alkoholgemisch sich befunden hat. Neben demselben konnte sich darin nur eine geringe

Quantität Butylalkohol oder Propylalkohol befinden, dagegen spricht für die Anwesenheit von Aethylalkohol in nicht ganz unbedeutender Menge die relativ reichliche Quantität von Alkohol, welche zwischen 80 und 90° überging.

Viel grösser als die der Alkohole war die Quantität der aus der gefaulten Glycerinlösung gewonnenen fetten Säuren, von denen mehr als zwei Drittel zwischen 195° und 205° überdestillirte und ein Barytsalz mit 38,22% Bariumgehalt lieferte. Die unter 195° überdestillirende Portion, deren Sieden bei ungefähr 118° begann, konnte wegen des sehr allmäligen und gleichförmigen Steigens der Siedetemperatur weder von Propionsäure noch von Buttersäure oder Baldriansäure beachtenswerthe Quantitäten entralten; ich konnte schliesslich aus ihr noch eine Portion der bei 200° siedenden Säure erhalten und habe sie im Uebrigen nicht weiter untersucht. Da nun auch die Calciumverbindung der bei 200° ungefähr siedenden Säure in der Schwerlöslichkeit in Wasser u. s. w. alle Eigenschaften der Capronsäure zeigte, halte ich es für entschieden, dass reichliche Quantität von Capronsäure neben geringer Quantität von fetten Säuren niedrigerer Siedepunkte bei der Glycerinfäulniss in diesem Versuche gebildet war, dass zugleich ein Gemisch von Alkoholen als Product der Fäulniss entstanden war, unter denen der Hexylalkohol vorhanden war und vorzuherrschen schien.

Vergleicht man die Resultate, welche von verschiedenen Beobachtern bei der Untersuchung des Glycerin erhalten sind, so ergiebt sich, dass durch die Fäulniss hier stets fette Säuren gebildet werden und in den meisten Fällen auch Alkohole, dass stets oder fast immer mehrere fette Säuren und mehrere Alkohole neben einander auftreten, dass in einigen Versuchen Butylalkohol neben Buttersäure und Capronsäure, in andern, wie im oben geschilderten, Hexylalkohol neben Capronsäure entsteht.

Welche Ursachen es bedingen, dass bald die eine oder die andere Säure vorherrscht, bald der eine oder der andere Alkohol reichlicher gebildet wird, lässt sich noch nicht bestimmen. Mögen Verschiedenheit der einwirkenden Fer-

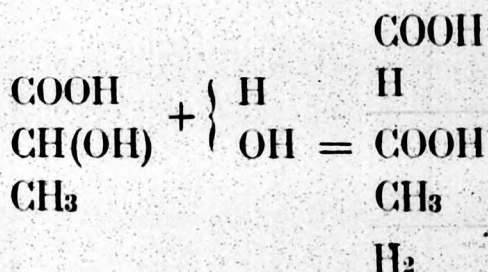
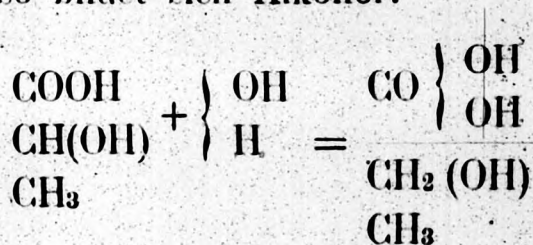
mente oder der Temperatur, Concentration der Lösung oder noch andere Verhältnisse hierauf einwirken, jedenfalls ist ersichtlich, dass Alkohole und Säuren hierbei neben einander häufig entstehen, und dass ferner bei der Fäulnisspaltung des Glycerin, welche mit reichlicher Entwicklung von CO_2 und mit Wasserstoffabtrennung stets verläuft, aus den Atomgruppen, welche hierbei sich abspalten, durch Synthese Alkohole und Säuren gebildet werden, deren Kohlenstoffatomzahl im Molecul höher ist als die des Glycerin.

Da von Fitz Milchsäurebildung bei der Glycerinfäulniss gefunden, von Herter Milchsäure neben Wasserstoff durch Einwirkung von Aetzkali auf Glycerin dargestellt ist, bei der Fäulniss des milchsauren Kalks Buttersäure, Capronsäure u. s. w. neben Butylalkohol von Pasteur sowie von Fitz erhalten sind, darf wohl angenommen werden, dass diese Vorgänge unter gemeinsamen Gesichtspunkten betrachtet und speciell die Glycerinfäulniss auf Milchsäurebildung und Umwandlung dieser Säure zurückgeführt werden können, wenn auch die Fäulniss der milchsauren Salze bis jetzt meines Wissens nie Hexylalkohol und überhaupt nicht so leicht und reichlich Alkohol geliefert hat, als dies bei der Gährung des Glycerin zu geschehen pflegt. Wahrscheinlich ist die Wasserstoffentwicklung, welche die Umwandlung des Glycerin in Milchsäure begleiten muss, die Ursache des reichlichen Entstehens von Alkohol.

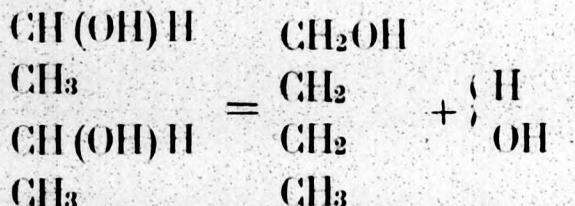
Die Bildung von Essigsäure neben Ameisensäure (oder CO_2 und H_2) ist, wie oben erläutert wurde, mit grosser Sicherheit zu verfolgen, die Erklärung der Alkoholbildung und der Synthese bieten dagegen grössere Schwierigkeiten. Alle Alkoholbildungsweisen, welche durch Einwirkung von Aetzkali auf Chlor-, Brom-, Jod- oder Metallverbindungen der Alkoholradicale oder Verbindungen letzterer mit Schwefelsäure oder andern Säuren erfolgen, können hier nicht wohl in Vergleich gestellt werden, dagegen scheint auf den ersten Blick die Entstehung von Alkohol durch Anfügung von Wasserstoff an Aldehyd eine sehr günstige Parallele zu bieten. Zertheile die Milchsäure in Ameisensäure und Aldehyd bei

Gegenwart von nascirendem Wasserstoff, so müsste allerdings Alkohol entstehen. Durch Erhitzen von Milchsäure mit nicht zu verdünnter Schwefelsäure erhält man bekanntlich Aldehyd und Ameisensäure, aber milchsäure Salze haben durchaus keine Neigung in dieser Weise sich zu zerlegen. Natriumamalgam greift milchsäures Natrium weder in concentrirter noch in verdünnter Lösung an. Wenn wir also auch z. B. in der Entstehung von Benzylalkohol neben Benzoesäure durch Wirkung von Aetzalkali auf Bittermandelöl im Uebrigen eine schöne Parallele finden zu können glaubten, würde doch zu ihrer Verwendung erst die Möglichkeit der Aldehydbildung nachzuweisen sein. Die Aldehydabspaltung, welche in einer Hypothese über die Bildung von Buttersäure aus Milchsäure vor Kurzem verwendet ist, würde zwar mit besserem Grund für die Erklärung der Alkoholentstehung Anwendung finden können, als für die einer Säure, bei welcher gleichzeitig Wasserstoff frei werden muss, aber sie ist eben selbst höchst unwahrscheinlich.

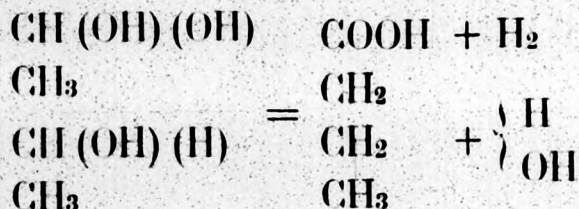
Die Milchsäure ist bereits ein Alkohol und ihre Constitution braucht also nur insoweit eine Aenderung zu erfahren, als sie zugleich Carboxyl enthält; wird dies durch ein Atom Wasserstoff ersetzt, so entsteht Aethylalkohol. Es ist nun nicht zu bezweifeln, dass der Angriff des Wassers bei der Gährung zwischen Carboxyl und der angefügten alkoholischen Gruppe geschieht, geht dann das Sauerstoffatom des Wassers an die letztere, so entsteht Säure, geht sie an das Carboxyl, so bildet sich Alkohol:



Bei dieser Betrachtungsweise wird durch die weitere Annahme, dass die bei der Alkoholbildung entstehende Gruppe an Milchsäuremoleculen oder an andere solche Gruppen im Entstehungszustande sich anschliessen könne unter Austritt von je einem Mol. H_2O , eine Anschauung zur Erklärung der Synthese gefunden.



und



Da jedoch alle derartige Erklärungen sehr viel hypothetisches enthalten und aus ihrer Anwendung sich neue Gesichtspunkte, welche zur experimentellen Verfolgung der Ursachen dieser Erscheinungen auffordern könnten, nicht ergeben, will ich die weitere Betrachtung der Variationen, die sich hier bieten, so lange wenigstens verschieben, bis das Verhalten der zweisäurigen Alkohole und der verschiedenen der Milchsäure homologen Säuren, die hier in Betracht kommen, bei Gährungen und Einwirkung von Aetzkali besser experimentell untersucht sein wird, als es jetzt der Fall ist.

Dagegen können schon jetzt folgende Punkte als thatsächlich ermittelt angesehen werden.

1. Sowohl durch Fäulniss als durch Einwirkung von Aetzkalkalien gehen gewisse Kohlenhydrate ebenso Glycerin in Milchsäure über.

2. Sowohl durch Fäulniss als durch Einwirkung von Aetzkalkalien wird aus Milchsäure, also auch aus Kohlehydraten, eine Reihe fetter Säuren gebildet, die nach ihrem Verhalten als normale Säuren characterisirt sind.

3. Diese Säuren entstehen hierbei theilweise durch Synthese zahlreicher Reste der Milchsäure und es ist somit der Weg offen, aus Kohlehydrat oder Milchsäure fette Säuren

von hohem Moleculargewicht, deren Kohlenstoffatomzahl durch 2 theilbar ist, entstehen zu lassen.

4. Diese fetten Säuren entstehen stets neben H_2 und Ameisensäure, welche letztere durch weitere Einwirkung von Fäulniss oder Aetzalkali in CO_2 und H_2 umgewandelt wird.

5. Durch einen noch nicht sicher bestimmbareren Process entstehen bei der Fäulniss von Kohlehydrat, Glycerin, Milchsäure auch Alkohole von zum Theil höherer Anzahl von Kohlenstoffatomen im Molecule als 3 (der Zahl der Kohlenatome in der Milchsäure).

Bei Einwirkung von Aetzalkalien auf Milchsäure oder Glycerin werden solche Alkohole nicht gewonnen, wahrscheinlich weil Alkohole im Entstehungszustande von Aetzalkalien unter H_2 -Entwicklung in die Säure von gleichem Cgehalte übergeführt werden.

Diese geschilderten Verhältnisse sind von hoher Bedeutung für das Verständniss physiologischer Vorgänge, denn sie geben die ersten unverkennbaren Andeutungen des Weges, auf welchen in Thieren und Pflanzen Fette gebildet werden, wenigstens soweit es die Entstehung der fetten Säuren selbst anlangt, während die Bildung des Glycerin und seine Verbindung mit fetten Säuren durch Processe erfolgen muss, die mit den oben geschilderten nichts gemein haben, weil die letzteren die Aetherverbindungen und besonders die der Fette lösen und das Glycerin selbst zerlegen.

Man möge mir nicht einwenden, dass die Fäulnissprocesse andere seien als diejenigen, welche in höheren Organismen während des Lebens verlaufen, ich würde es nur als Verlust an Zeit und Mühe ansehen gegen den Aberglauben, dass die eine Bacterienart das Monopol habe, Capronsäure zu fabriciren, wieder eine andere Essigsäure entstehen zu lassen u. s. w., zu kämpfen. Man wird diesen Glauben schon von selbst aufgeben, wenn man bei dem jetzt üblichen Verfahren, die Gährungen nach den systematischen Bezeichnungen der Organismen und diese wieder nach den Eigenthümlichkeiten der Gährungen zu classificiren, so weit in die Irrwege gekommen sein wird, dass man sich nicht herauszufinden vermag.

Gestützt auf einige Stoffwechselversuche habe ich vor 24 Jahren es für wahrscheinlich erachtet, dass die Bildung von Fett in Thieren und Pflanzen aus Eiweissstoffen, nicht aus Kohlehydraten erfolge. Voit hat später derselben Ansicht sich zugewendet und sie eifrig verfochten, ohne jedoch wesentliche neue Gründe hierfür anzugeben. Durch zahlreiche von ihm selbst, von andern Physiologen und landwirthschaftlichen Chemikern ausgeführte Stoffwechselversuchsreihen hat sich dann ergeben, dass diese Ansicht nur unter der Bedingung haltbar ist, wenn man 1) mehrere Mästungsergebnisse ohne zwingenden Grund als unrichtig verwirft und 2) annimmt, dass die Eiweissstoffe 51% ihres Gewichts an Fett zu liefern vermöchten. Ich habe hiermit bereits meine frühere Ansicht als widerlegt angesehen, denn wenn auch die Constitution der Eiweissstoffe noch sehr wenig durchschaut werden kann, ist die Annahme doch geradezu widersinnig, dass sie 51% Fett liefern könnten.

Da wir jetzt wissen, dass aus den kleinen Moleculen der Milchsäure durch Aneinanderfügung der Reste bei der Zerlegung dieser Säure durch Aetzkali oder durch Ferment fette Säuren von viel höherer Kohlenstoffatomzahl im Molecule entstehen, kann die Bildung von Fett aus Kohlehydrat nicht mehr als ein Problem erscheinen, dessen Ausführung unmöglich sei, da ein sehr wichtiger Theil des Weges vorgezeichnet ist.

Auch bei reiner Eiweissfütterung wird in Thieren Glycogen gebildet, deshalb wird auch aus Eiweissstoffen Fett entstehen können, es ist aber hinreichend bekannt, dass selbst bei reicher Eiweisskost die Fettproduction eine recht geringe ist.

Es mögen jetzt diese Hinweise genügen, ich werde in einer spätern Mittheilung auf die Entstehung der Fette mit grösserer Sicherheit eingehen können, nur wünsche ich jetzt schon hervorzuheben, dass für die Bildung der Säuren in den Fetten der Thiere und Pflanzen nach Analogie der oben beschriebenen Prozesse folgende Thatsachen sprechen:

1) Das niedrigste Glied der in den Fetten vorkommenden Säuren ist die Buttersäure; 2) stets finden sich mehrere

fette Säuren in den Fetten neben einander, indem bald die eine, bald die andere vorherrscht; 3) mit sehr unbedeutenden Ausnahmen ist die Anzahl der Kohlenstoffatome in diesen fetten Säuren durch 2 theilbar; 4) sie scheinen alle normale Säuren zu sein; 5) die Fettbildung in Thieren wird am meisten befördert durch reichliche Fütterung mit Kohlehydrat bei sonst günstigen Lebensverhältnissen.