

393. O. Neuberg und Joh. Kerb: Zur Frage der Bildung von Acetaldehyd bei Hefegärungen.

[Aus der chemischen Abteilung des Kaiser-Wilhelm-Instituts für experimentelle Therapie in Berlin-Dahlem.]

(Eingegangen am 7. Oktober 1914.)

Die Angaben von Kostytschew¹⁾, man könne durch verschiedenartige Zusätze den Verlauf der alkoholischen Gärung derartig abändern; daß anstelle des Äthylalkohols Acetaldehyd auftrete, haben wir mehrfach bekämpft²⁾.

Wir haben gezeigt, daß keinerlei Beweis für die primäre Bildung des Aldehyds von Kostytschew erbracht ist, und daß andererseits die im günstigsten Falle isolierten Mengen von Aldehyd (2 pro Mille) des angewandten Zuckers viel zu klein sind, um vernünftigerweise eine einwandfreie Beziehung zum Verlauf der Gärung daraus abzuleiten.

Es erschien dann eine Arbeit von Buchner und Langheld³⁾, in der die Autoren angaben, durch Zugabe eines Phosphat-Gemisches zu einem Gäransatz von Rohrzucker und Macerationssaft die Bildung kleiner Mengen Acetaldehyd erzwungen zu haben, wenn sie durch eine dauernde Extraktion mit Äther den entstandenen Aldehyd schnell fortschafften.

Wir hatten mit zwei verschiedenen Arten von Percolatoren ähnliche Versuche wie Buchner und Langheld angestellt, um als Zwischenprodukt auftretende Brenztraubensäure abzufangen. Dabei ist es uns jedoch nicht gelungen, den Acetaldehyd-Befund von Buchner und Langheld zu bestätigen. Da die Autoren bei ihrer Mitteilung über diesen Gegenstand ausdrücklich eingehendere Versuche in Aussicht gestellt hatten, haben wir damals auf die Wiedergabe unserer Erfahrungen verzichtet. Wir glauben, sie jedoch nunmehr mitteilen zu können, nachdem im letzten Heft der »Berichte« Buchner, Langheld und Skraup⁴⁾ ihre älteren Angaben selbst berichtigen und ihren früheren positiven Befund⁵⁾ von Acetaldehyd auf

¹⁾ H. 79, 150, 359 [1912]; 83, 93 [1913]; 85, 493 [1913].

²⁾ Bio. Z. 43, 494 [1912]; 58, 158 [1913]; 64, 251 [1914].

³⁾ B. 46, 1972 [1913].

⁴⁾ B. 47, 2550 [1914].

⁵⁾ Über die quantitativen Verhältnisse machen Buchner, Langheld und Skraup erst jetzt Angaben. Aus ihnen geht hervor, daß bei der Vergärung von 70 g Rohrzucker 0.1–0.35 g, im Durchschnitt also 0.225 g Acetaldehyd-*p*-nitrophenylhydrazon = 0.056 g Acetaldehyd isoliert werden konnten. Diese Menge entspricht 0.8 pro Mille des angewandten Zuckers und würde also schon wegen ihrer Geringfügigkeit einer Beweiskraft im positiven Sinne hinsichtlich eines Zusammenhanges mit den eigentlichen Gärungsvorgängen ermangeln.

eine fehlerhafte Beimischung von Luft zu dem extrahierenden Ätherstrom zurückführen.

Die Autoren gelangen für die Bildung des Acetaldehyds nun zu folgendem Schluß¹⁾: »Er entsteht höchstwahrscheinlich erst sekundär aus bereits gebildetem Äthylalkohol durch Oxydation mittels Luft, vermutlich unter der Einwirkung von katalytisch wirkenden Substanzen oder Oxydasen der Hefen.

Da die Autoren auf die allgemeinere Bedeutung dieses Umstandes für die Entstehung von Aldehyd bei Gärungsvorgängen hinweisen, so möchten wir betonen, daß wir zu derselben Erkenntnis bereits früher gelangt sind. Wir haben ihr an mehreren Stellen Ausdruck gegeben. Gerade bei den Erörterungen über die Kostytschewschen Angaben berichten wir über Versuche²⁾, daß eine verdünnte wäßrige Lösung von Äthylalkohol in Berührung mit gärfähigem Hefanol reichlich Aldehyd liefert. Wir bezogen uns auch auf die bekannten Befunde von Trillat und Sauton³⁾, von denen die oxydative Bildung von Acetaldehyd bei der Digestion von lebender Hefe mit Äthylalkohol längst sichergestellt war. Diese Angaben Trillats haben offenbar Buchner, Langheld und Skraup übersehen. Keineswegs können wir der Ansicht der genannten Autoren beipflichten, daß negative Resultate bei Wasserstoff- bzw. Stickstoff-Durchleitung durch gärenden Lebedew-Saft unbedingt gegen eine Herkunft von Aldehyd aus Eiweißkörpern u. dergl. sprechen. Denn z. B. die Arbeiten von R. Chodat und K. Schweitzer⁴⁾, sowie die von A. Bach⁵⁾ zeigen, daß gerade die Oxydase-Reaktion und die Aldehydbildung mit Aminosäuren in Anwesenheit von atmosphärischem Sauerstoff eintreten.

Daß die Verhältnisse überhaupt nicht so einfach liegen, zeigen folgende Versuche, die wir in einem anderen Zusammenhange angestellt haben und hier wiedergeben wollen.

Wir haben früher⁶⁾ gefunden, daß bei der üblichen Art der Autolyse frischer Hefen Acetaldehyd auftritt. Da die normalen Gärungen im Gegensatz zu den Vorgängen bei der Selbstverdauung in einem Kohlensäurestrom verlaufen, haben wir Autolysen — mit und ohne besondere Zusätze — in einer Kohlensäure-Atmosphäre angestellt und aufgearbeitet.

¹⁾ loc. cit., S. 2553.

²⁾ Bio. Z. 43, 497 [1912]; 58, 166 [1913]; 64, 252 [1914].

³⁾ C. r. 1908. Ann. d. l'Institut Pasteur 22 [1908]; 24 [1910]; vergl. auch Kayser und Demolon; C. r. 1908; Röser, Ann. d. l'Institut Pasteur 7 [1893].

⁴⁾ Bio. Z. 57, 430 [1913].

⁵⁾ Bio. Z. 58, 205 [1913] und 60, 221 [1914]. ⁶⁾ Bio. Z. 43, 494 [1912].

Die Versuchsanordnung war folgende:

1. In 2 l ausgekochtem und mit Kohlensäure gesättigtem Wasser wurden 200 g ganz frische Hefe XII eingetragen. Alsdann wurde nochmals Kohlensäure durch das Gemisch geleitet und schließlich 40 ccm Toluol mit einer Pipette eingeführt. In dem sofort verschlossenen Gefäße herrschte ein erheblicher Überdruck. Nach 72-stündigem Verweilen im Brutschrank wurden mit Wasserdampf¹⁾ unter gleichzeitigem Einleiten von Kohlendioxyd 600 ccm Destillat übergetrieben, das durch anreichernde Destillationen erst auf 200 ccm und dann auf 60 ccm gebracht wurde. Alle Destillationen wurden unter Verwendung von Schlangenkühlern und eisgekühlten Vorlagen ausgeführt.

Das Enddestillat gab alle Reaktionen auf Acetaldehyd, namentlich die Probe mit Nitroprussidnatrium und Piperidin, recht deutlich.

2. Ein ganz entsprechender Ansatz von 200 g Hefe XII, 2 l Wasser, 5 g Zinkchlorid und 40 ccm Toluol, der nach Übersättigung mit Kohlensäure 3 Tage lang im Brutschrank belassen war, lieferte bei nachfolgender Verarbeitung im Wasserdampf-Kohlensäurestrom ein Enddestillat von 60 ccm, das Aldehydproben nur in mäßiger Stärke gab.

3. Die mit Kohlensäure gesättigte Aufschwemmung von 200 g Hefe XII, 2000 ccm Wasser, 10 g Methylenblau und 40 ccm Toluol lieferte nach 3-tägiger Digestion ein Destillat, das geradezu enorme Reaktionen auf Acetaldehyd zeigte.

Die Versuche 4, 5 und 6 sind mit frischer Unterhefe M I angesetzt und entsprechen sonst in den Mengenverhältnissen und hinsichtlich der Verarbeitung vollkommen den Versuchen 1—3. Hier war Acetaldehyd in den Enddestillaten noch reichlicher vorhanden. Namentlich war die Ausbeute in dem Chlorzinkversuch 5 stärker als bei Verwendung der Oberhefe XII (Versuch 2).

Auch mit *p*-Nitrophenylhydrazin gelang es, den Acetaldehyd in Form der bekannten, charakteristischen, gelben Verbindung auszufällen, namentlich in den Methylenblau-Ansätzen.

Ohne an dieser Stelle in eine Erörterung dieser Ergebnisse einzutreten zu wollen, möchten wir darauf hinweisen, daß bei diesen streng anaerob ausgeführten Hefenversuchen Acetaldehyd auftritt. Von einer sekundären Bildung durch Luftoxydation kann keine Rede sein. Wir haben uns auch davon überzeugt, daß die verwendeten Hefen in frischem Zustande keinen vorgebildeten Aldehyd einschlossen, eine Möglichkeit, die zu erwägen war, nachdem wir²⁾ das Vorhandensein von Alkohol in Preßhefen früher gezeigt hatten. Beim Lagern tritt, selbst in verschlossenen Blechbüchsen, Aldehyd auf, wie wir gelegentlich genauer beschreiben werden.

¹⁾ Der Wasserdampf wurde in einem Kupferkessel aus ausgekochtem Wasser erzeugt und erst nach 20 Minuten langer Entwicklung für die Destillation verwendet.

²⁾ Ztschr. f. Gärungsphysiol. 1, 120 [1912]; B. 46, 2225 [1913].