

163. C. Wehmer: Über Fumarsäure-Gärung des Zuckers.

[Aus dem Bakter. Laboratorium des Techn.-chem. Instituts der
Techn. Hochschule Hannover.]

(Eingegangen am 5. August 1918.)

Ein gutes Beispiel für die Tatsache, daß Pilze nicht nur morphologisch variieren, sondern auch ihre chemischen Wirkungen abändern können, sind die verschiedenen in größeren Reinkulturen von mir untersuchten Formen des bekannten Schimmelpilzes *Aspergillus niger*, von denen die eine allein Oxalsäure, die andere neben Oxalsäure auch Citronensäure, die dritte dagegen überhaupt keine organische Säure aus Rohrzucker erzeugt. Die Laboratoriumsrasse eines ähnlichen, durch sehr starkes Säuerungsvermögen ausgezeichneten Pilzes (*Aspergillus fumaricus*) bildete wiederum keine Oxalsäure, sondern neben etwas Citronensäure in der Hauptsache Fumarsäure; über diesen Prozeß sei hier kurz berichtet.

Dieser Pilz vermag relativ große Mengen Zucker glatt zu vergären; er liefert die Säure in freiem Zustande als Oxydationsprodukt des Zuckers; Kongopapier wird gebläut, zugesetzte Kreide unter Gasentwicklung aufgelöst und in Gestalt organischsaurer Calciumsalze wieder abgeschieden. So ließen sich beispielsweise 15 g Calciumcarbonat unter Verbrauch von 20—30 g Rohrzucker allmählich in rund 30 g solcher Calciumsalze überführen, von denen ein guter Teil in schwer löslichen, derben, grauen Krusten am Boden der Versuchsgefäße auskristallisiert; ihre Säure ist Fumarsäure.

Es handelt sich also um ein Analoges zu anderen Säuregärungen, insbesondere zu Oxalsäure- und Citronensäure-Gärung¹⁾, die Entstehung von freier Fumarsäure ist bei derartigen Vorgängen bislang nicht beobachtet. Wo diese Säure in Salzform und geringer Menge im Pflanzenreich auftritt, erscheint sie bislang als Produkt irgendwelcher noch ungeklärter Stoffwechselprozesse und vorzugsweise bei Pilzen, seltener bei grünen Pflanzen. Fumarsaure Salze sind erst bei 5 Phanerogamen, dagegen bei ca. 20 Pilzarten nachgewiesen²⁾, freie Fumarsäure mit

¹⁾ cf. unten, S. 1665, Fußnote 2.

²⁾ cf. Wehmer, Pflanzenstoffe [1911], 236, 244, 245, 577, 645 (außer bei 3 Papaveraceen nur bei *Calluna* und *Scutellaria*); Zellner, Chemie der höheren Pilze [1907], 48; Zopf, Pilze [1890], 128; F. Ehrlich, B. 44, 3737 [1911], (aus 100 g Invertzucker bis 3.1 g Fumarsäure als Alkalisalz, neben 5.8 g Pilzsubstanz, aus 20 und 25 g Zucker keine Fumarsäure; die Säure wurde hier durch Schwefelsäure freigemacht); Kreidezusatz bewirkt bei *Mucor* nach eigener Feststellung keine Ansammlung von Fumarsäure, freie Säure wird also nicht abgeschieden.

Sicherheit bei keinen; von Gärungsvorgängen kann man hier natürlich nicht reden. Die Säureabscheidung steht bei meinem Pilz dagegen in naher Beziehung zum kontinuierlichen Stoffzerfall im Atmungsprozeß; sie dauert an, solange der Pilz lebt, vorausgesetzt, daß Zucker und Sauerstoff vorhanden sind, erlischt aber bei Luftabschluß. Der unter anderen Verhältnissen zu Kohlensäure und Wasser verbrannte Anteil des umgesetzten Zuckers geht so in ein unvollständig oxydiertes Produkt — hier eigenartigerweise eine Säure mit doppelter Kohlenstoffbindung — über. Wie bei ähnlichen bekannten Vorgängen (Milchsäure-, Oxalsäure-, Citronensäure-Gärung) ist Abstumpfung der jeweilig entstandenen Säure Bedingung für Fortgang der Reaktion; auf das Pilzwachstum hat selbst Festlegung sehr beträchtlicher Kohlenstoffmengen in Form fumarsaurer Salze keinerlei nachteilige Wirkung; der Nährwert der Säure ist gering.

Durch Umkrystallisieren des Calciumsalzes aus kochendem Wasser erhält man es in großen, schönen, blättrigen Krystallen (Fig. 1—2), aus denen die freie Säure (Fig. 4) wieder direkt durch Zersetzung mit Schwefelsäure, oder über das Bleisalz (Fig. 3) durch Zerlegung mit Schwefelwasserstoff, freigemacht wurde. Aus Alkohol umkrystallisiert, wurde sie bei Sublimation oberhalb 200° in schneeweißen, feinen Kryställchen rein erhalten (Fig. 5—6), die bei Verbrennung im einfachen Rohr allerdings nur mäßig stimmende Zahlen lieferten, in allen Eigenschaften aber mit reinen Präparaten von Merck und Kahlbaum übereinstimmten. Schmelzpunkt bei ca. 280°, genau wie das käufliche Präparat. Wasserlöslichkeit 0.55 % (20°) bis ca. 1.7 % (100°); Alkohol von 96 % nahm in der Kälte (20°) 4.5 %, heiß ein Vielfaches davon auf²⁾. Das neutrale Calciumsalz lieferte 48.04 % Ca CO₃ (27.18 % CaO), auf Ca C₄ H₂ O₄ + 3 H₂ O berechnen sich 48.08 % Ca CO₃ (26.96 % CaO)³⁾; seine Wasserlöslichkeit in der Kälte minimal, bei 100° kaum 0.5 %. Das dargestellte Silbersalz eignet sich nicht zur direkten Silberbestimmung (verpufft lebhaft).

¹⁾ Michael, B. 28, 1629 [1895], fand 286—287°, so auch bei Beilstein, Organ. Chemie, Ergänzungsband I, 321. Über die von ihm benutzte Säure macht Michael keine näheren Angaben. F. Ehrlich fand 280° (l. c. 3740). — Sublimierte Säure schmolz bereits bei gegen 278°; die aus Alkohol krystallisierte begann bei gegen 280° zu schmelzen, vollständig bei 281°.

²⁾ Nach Beilstein, l. c., lösen sich in Wasser 0.672 % (16.5°), in kaltem 76-proz. Alkohol 4.76 %.

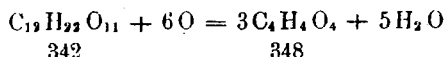
³⁾ Beilstein gibt 1½ Mol. Krystallwasser für über Schwefelsäure getrocknetes Salz an; mein Salz änderte sein Gewicht bei 3-tägigem Stehen über Schwefelsäure nicht (schön ausgebildete, glashelle Täfelchen).

Der Zucker 20-proz. Lösung wird von dem Pilz restlos vergoren; neben dem schwerlöslichen neutralen erhält man schwankende Mengen leicht löslichen sauren Calciumsalzes¹⁾, etwas Citrat (bis ca. 4 % der Krystallkrusten) und anderes (noch nicht identifiziertes) Calciumsalz. So lieferten einige unter verschiedenen Bedingungen angestellte Gärungen an rohen Calciumsalzen und Pilzsubstanz (Trockengewicht) folgende Zahlen (in g):

	Zucker angewandt	Calciumsalz erhalten	Pilzgewicht	CaCO ₃ verbraucht
1.	15	20.85	2.70	10
2.	20	32.72	2.87	15
3.	30	33.17	3.02	15
4.	55	65.73	6.85	30
5.	100	114.43	(11.70)	35

Diese Zahlen sind nicht sehr genau, denn die Pilztrockensubstanz ist reich an schwer löslichen Calciumsalzen (Aschengehalt bis 38 %), die Salzkrusten schließen etwas unveränderte Kreide ein u. a.; immerhin ergibt sich bestenfalls bis erheblich über 130 % des Zuckers an Ausbeute, im Mittel ca. 120 %. Wieviel davon auf das neutrale Fumarat entfallen, hängt von den Umständen ab; bald macht es den Hauptbestandteil, bald nur einen Bruchteil aus. Man hat aber auch bei vorsichtiger Rechnung ca. 60–70 % des angewandten Rohrzuckers an Säure, etwa 10 % desselben an Pilzsubstanz, die also bis über das 10-fache ihres Gewichts an Calciumsalzen erzeugt, sodaß man sich immerhin ein ungefähres Bild des Vorganges machen kann. Hefe bildet bekanntlich ungefähr 50 % des Zuckers in Alkohol um; bis ebensoviel liefert die Citronensäure-Gärung, Oxalsäure-²⁾ und Milchsäure-Gärung annähernd bis um 80 % herum.

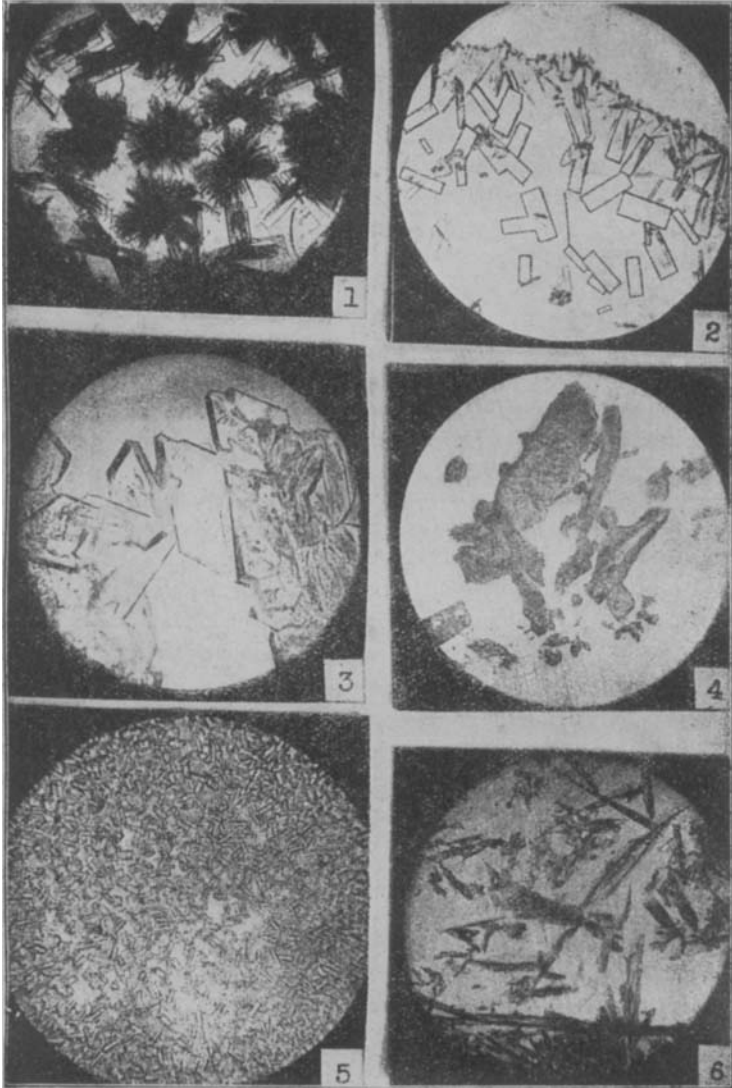
Aus 100 g Rohrzucker wären unter Zugrundelegung der Gleichung:



nach der Theorie bestenfalls 182.45 g Calciumfumarat (neutrales Salz $\text{CaC}_4\text{H}_2\text{O}_4 + 3\text{H}_2\text{O}$ gerechnet), also 101.75 g Fumarsäure, möglich, wobei gut 90 g Kreide umgewandelt würden. Wir haben zwar unge-

¹⁾ Ein saures Salz ist in der Literatur bislang nicht angegeben. Nach einer älteren Angabe (Rickher, A. 49, 56 [1844], der die Fumarsäure noch als einbasisch betrachtete) sollte sie kein saures Salz bilden; man kann es aber leicht darstellen. Genaueres über Analyse und Eigenschaften auch der Salze gebe ich in einer ausführlichen Mitteilung an anderer Stelle.

²⁾ An Calciumoxalat erhielt ich bei früheren Versuchen bis 2.03 g aus 1.5 g Zucker (Botan. Ztg. 1891, 233), an Citronensäure bis gut 50 % des Zuckers (Sitzungsber. Berlin. Akadem. d. Wissenschaften 29, 519 [1893]).



- Fig. 1:** Calciumfumarat (neutrales Salz), rosettenförmige Krystallisation bei langsamer Abscheidung aus der wäßrigen Lösung.
- Fig. 2:** Dasselbe, die Krystallform deutlicher zeigend (rechteckige Täfelchen, auf Objekträger umkrystallisiert.)
- Fig. 3:** Fumarsaures Blei, durch Fällung der heißen wäßrigen Lösung des Calciumsalzes mit essigsauerm Blei.
- Fig. 4:** Freie Fumarsäure, aus Wasser abgeschieden.
- Fig. 5 und 6:** Fumarsäure, sublimiert, neben kleineren und größeren, mehr oder weniger nadeligen Krystallen (Fig. 6) sehr kleine Kryställchen (Fig. 5) als weißer Beschlag des Uhrgläschens. Stark vergrößert (die übrigen Figuren bei schwacher bis mittlerer Vergrößerung).

fähr das Doppelte des Calciumcarbonats an organischsauren Salzen erhalten, hierfür aber erheblich mehr an Zucker verbraucht.

	1 Mol. Rohrzucker	3 Mol. Fumarsäure	3 Mol. CaCO ₃	3 Mol. Ca-Fumarat
	342	348	300	648
Theorie . .	100	101.75	90	182.45
Versuch 4 . .	100	63.47	54	118.32
Versuch 3 . .	100	59.37	50	110.57

Es hat das natürlich seinen guten Grund. Die theoretische Ausbeute kann bei dieser Versuchsanordnung selbstverständlich nicht erreicht werden, weil der Pilz einen erheblichen Teil des Nährstoffs zum Aufbau seiner Leibessubstanz beansprucht. Genau ist dieser Anteil schwer anzugeben, er mag $\frac{1}{10}$ — $\frac{1}{5}$ betragen; das stimmt unter Berücksichtigung des erzeugten Pilzgewichts auch mit anderweitigen Erfahrungen gut überein. Der verbleibende Teil des Zuckers wird tatsächlich überwiegend auf Säure vergoren, die faktische Ausbeute nähert sich der überhaupt möglichen. Es ist klar, daß Momente, welche das Pilzwachstum einschränken, noch günstigere Zahlen geben müssten, die Säurebildung ist ja ein vom Wachstum unabhängiger Vorgang; das Wachstumsoptimum des Pilzes liegt bei ungefähr 22°, das Maximum bei ca. 30°, Säuerung findet aber noch statt oberhalb dieser Temperatur.

Darin liegt jedenfalls ein beachtenswerter Unterschied gegen die Oxalsäure-Gärung des *Aspergillus niger*; diese verlangt Wärmegrade unterhalb des Optimums. Der im Brutschrank bei 38° unter günstigsten Wachstumsverhältnissen stehende Pilz scheidet nach eignen Feststellungen¹⁾ keine freie Säure mehr ab; eine Trennung beider Prozesse ist somit auch hier möglich.

Oxalsäure ist zwar ein rein chemisch leicht darstellbares einfaches Oxydationsprodukt des Zuckers, die Bildung von Fumarsäure oder Citronensäure bleibt dagegen wesentlich schwerer verständlich. Das ist nicht bloß eine glatte Oxydation; der Pilz führt hier anscheinend spielend leicht eine Reaktion durch, die im Reagensglas bislang nicht gelingt. Da alle drei Säuren fertig aus der lebenden Pilzelle abgeschieden werden, scheint zur Zeit wenig Aussicht, dem Vorgang in seinen Einzelheiten näher zu kommen; konstatierbar ist bislang lediglich, daß ihm auch hier eine enzymatische Spaltung des Rohrzuckers vorausgeht. Daß andere Zuckerarten, wie Maltose oder Dextrose, gleichfalls auf Fumarsäure vergärbar sind, braucht kaum hinzuge-

¹⁾ Ber. D. Botan. Ges. 9, H. 6 [1891].

fügt zu werden, ob auch Alkohole mit 3 C-Atomen, wie etwa Glycerin, bleibt noch festzustellen; da letzteres jedoch von einem anderen Pilz (Citromyces) in Citronensäure umgewandelt werden kann¹⁾, ist das nicht unwahrscheinlich.

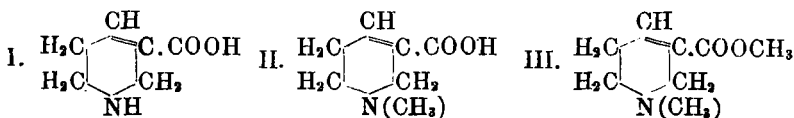
Eine ausführliche Mitteilung über die hier nur kurz behandelten Fragen erfolgt an anderer Stelle.

164. Karl Freudenberg: Über die Alkaloide der Betelnuß.

(Eingegangen am 10. August 1918.)

Vor einigen Monaten habe ich mitgeteilt²⁾, daß das Guvacin, dessen Konstitution bis dahin noch nicht aufgeklärt war, mit einer Tetrahydro-nicotinsäure (I.) identisch ist, die Wohl und Losanitsch³⁾ vor 11 Jahren synthetisch gewonnen haben. Damit ergab sich der Zusammenhang mit den übrigen Areca-Alkaloiden: Durch Methylierung am Stickstoff mußte das Guvacin in Arecaidin (II.) übergehen, dessen Konstitution durch die Arbeiten von Jahns⁴⁾ und von Wohl und Johnson⁵⁾ restlos aufgeklärt ist. Durch Veresterung von N-Methyl-guvacin mit Methylalkohol mußte das Haupt-Alkaloid der Betelnuß, das Arecolin (III.), entstehen.

Jahns, der Entdecker dieser Alkaloide, hat noch eine vierte Pflanzenbase in den Betel- oder Areca-Nüssen aufgefunden⁴⁾, die er Arecaïn nannte, und die eine weitgehende Ähnlichkeit mit dem Arecaidin zeigte. Es gelang ihm, das Arecaïn noch auf einem zweiten Wege zu gewinnen, nämlich durch Methylierung von Guvacin. Da er im Guvacin kein Carboxyl nachweisen konnte, nahm er für dieses Alkaloid und damit auch für das Arecaïn oder Methyl-guvacin eine vom Typus des Arecaidins gänzlich abweichende Konstitution an, und die Identität von Arecaïn mit Arecaidin blieb ihm verborgen. Nachdem ich die Übereinstimmung von Arecaidin mit Methylguvacin festgestellt hatte, konnte das Arecaïn aus der Reihe der Alkaloide gestrichen werden.



¹⁾ Mazé und Perrier, C. r. 139, 311 [1904]; Ann. Institut. Pasteur 18, 553 [1904]; 23, 830 [1909]. — C. Wehmer, Ch. Z. 1913, 1396.

²⁾ B. 51, 976 [1918]. ³⁾ B. 40, 4701 [1907]. ⁴⁾ Ar. 229, 669 [1891].

⁵⁾ B. 40, 4712 [1907].