

Ueber Wärmetönung bei den Fermentationen.

Von

Dr. A. Kunkel.

Die nachfolgenden Mittheilungen sind entstanden als theilweise experimentelle Kritik eines Absatzes der jüngst erschienenen Abhandlung von C. v. Nägeli: Ueber Gährungen. Es ist dort (p. 45 ff. der Quart-Ausgabe) unter der Aufzeichnung der Unterschiede, die zwischen eigentlichen Fermentationen und Gährungen¹⁾ bestehen, angegeben, dass die Gährungen mit Entbindung von freier Wärme einhergehen, während für einen grossen Theil wenigstens der bekannten Fermentationen das Gegentheilige wahrscheinlich sei.

Diese letzte Hälfte von Nägeli's Satz steht, wie er dies selbst hervorhebt, im Gegensatz zu der Annahme, die die meisten Physiologen über diese Frage jetzt aufstellen. Ausserdem ist aber ein Entscheid hierüber von Interesse für die theoretische Auffassung des Fermentprozesses überhaupt.

Nägeli führt den Beweis für seine Behauptung an einer bestimmten fermentativen Umsetzung an der Inversion des Rohrzuckers in Dextrose und Lävulose. Er überträgt natürlich das hierbei gewonnene Resultat nicht unmittelbar auf alle fermentativen Prozesse, hält es aber für wahrscheinlich, dass verwandte Umsetzungen, wie die der Stärke u. s. w. in Zucker mit der gleichen Wärmetönung verbunden sind.

1) Nägeli nennt von den hierher gehörigen Umsetzungen diejenigen „Gährungen“, die durch zellige Organismen, d. i. durch irgend eine Hefenart zu Stande kommen; Fermentationen dagegen diejenigen, bei denen ein gelöstes Ferment das Treibende ist. Es verdient diese Unterscheidung sehr, allgemein angenommen zu werden.

Den Beweis führt Nägeli nicht unmittelbar durch den Versuch, sondern durch Ueberlegungen, die sich auf Constanten der in Reaktion tretenden chemischen Verbindungen stützen.

Der erste Theil des Beweises ist von den Verbrennungswärmen des Rohrzuckers und seiner durch Inversion entstehenden Abkömmlinge hergeleitet. Von Frankland ist die Verbrennungswärme für Rohrzucker und Traubenzucker bestimmt und für je 1 gr Substanz zu 3348 resp. 3277 Calorien gefunden. Da 1 gr Rohrzucker 1,1053 gr Traubenzucker entspricht, so ergeben sich für äquivalente Mengen der beiden Zuckerarten als Verbrennungswärmen die Zahlen 3348 und 3622, d. h. die äquivalente Menge Traubenzucker besitzt die höhere Verbrennungswärme — der Rohrzucker nimmt bei der Invertirung Wärme auf.

Der zweite Theil des Beweises ist gegründet auf die Grösse der Molekularvolumina. Aus dem bekannten Molekulargewichte und dem specifischen Gewichte berechnet Nägeli das Molekularvolumen der bei der Inversion reagirenden Moleküle: Rohrzucker, Wasser und Invertzucker und findet das Molekularvolumen des Traubenzuckers grösser als das der Summe seiner Muttersubstanzen. Da nun im Allgemeinen bei Volumenänderung mit Verdichtung Wärmeentwicklung, mit Verdünnung Wärmeverbrauch verbunden sei, so sei es wahrscheinlich, dass auch die Volumenzunahme bei der Invertirung unter Aufnahme von Wärme geschieht.

Nägeli nimmt hiebei — unter ausdrücklichem Hinweise — immer an, dass die bei diesen Ueberlegungen verwendeten Constanten für Dextrose und Lävulose gleich seien. Die oben erwähnten Zahlen sind ja nur für den Traubenzucker durch den Versuch bekannt: wegen der Gleichheit der Zusammensetzung, der Oxydationsprodukte u. s. w. überträgt sie Nägeli auch auf die Lävulose. Wir können diese Hypothese, obwohl sich Gewichtiges dagegen einwenden liesse, bis zur Entscheidung durch den Versuch annehmen.

Das von Nägeli ausgewählte Beispiel einer Fermentation — die Inversion des Rohrzuckers — ist jedenfalls das zweckmässigste, das vorderhand für eine solche Beweisführung benützt werden kann. Es handelt sich hierbei um Körper, die krystallinisch darstellbar sind, deren Molekulargrösse durch die gebrauchten Formeln wahrscheinlich richtig dargestellt ist und von denen noch sonstige Eigenschaften wohl bekannt sind. Die nachfolgende

Diskussion hält sich darum im Einzelnen auch nur an dieses Beispiel.

Vor Allem ist aus theoretischen Gründen die Folgerung Nägeli's über die Wärmetönung bei den fermentativen Prozessen nach aller Analogie unwahrscheinlich. Die potenzielle Energie, die bei der Umsetzung gewonnen wird, soll, wie Nägeli dies klar ausspricht, von äusserer freier Wärme (des Menstruums, in welchem die Reaktion vor sich geht) abstammen. Das Ferment wirkt nach Nägeli als Kontaktsubstanz und „vermittelt bloss die Uebertragung von Kraft. Es verwandelt die freie Wärme des Mediums, in dem es sich befindet, in Bewegung seiner Moleküle und ihrer Theile und theilt diese Spannkraft (?) wieder den Molekülen der zu zerlegenden Verbindung mit.“ — Nach dieser Definition wären die Fermente im Stande, durch ihre blosse Gegenwart freie Wärme in potenzielle Energie zu verwandeln, und da eine bestimmte Fermentmenge eine geradezu unbegrenzte Wirkung äusübt, so hätten wir darnach im Fermente ein Mittel, in einer Lösung von etwa 30° C. (ohne Zuhülfenahme von Licht oder sonst einem entsprechenden mechanischen Aequivalent) freie Wärme in unbegrenzter Weise in Spannkraft zu verwandeln. Eine solche Auffassung widerspricht aber aller Erfahrung, die man über Energieänderung besitzt. Würde bei der Fermentation das Fermentmolekul selbst zersetzt, etwa oxydirt, so könnte wohl ein Theil der mit dieser Umsetzung verbundenen positiven Energieänderung als Spannkraft in den neu entstehenden Körpern deponirt werden. Eine Zersetzung des Fermentmolekules selbst aber schliesst Nägeli aus und sie ist auch — als wesentlich bei der Fermentwirkung — höchst wahrscheinlich auszuschliessen. Man könnte darnach an eine spezifische Kraft der Fermente denken, aber auch diese Meinung ist zurüctkzuweisen, weil verdünnte Säuren ebenfalls bei Zimmertemperatur den Rohrzucker invertiren. — Es scheint mir darum die Auffassung Nägeli's aus dem eben entwickelten Grunde zumeist als nicht richtig.

Die von Nägeli erbrachten Beweisstücke selbst müssen darum doppelt genau auf ihren Werth geprüft werden.

Zunächst besitzen die Frankland'schen Zahlen über Verbrennungswärme nicht den Grad von Genauigkeit und Zuverlässigkeit, um einen solch' subtilen Schluss darauf zu stützen. Die Zahlen für die Verbrennungswärme von Rohrzucker und Traubenzucker 3347 und 3277 weichen nur um 2,1 % des ganzen Werthes

von einander ab. Frankland hatte aber bei Anstellung der Versuche nur die Absicht, für Bilanzrechnungen über thierische Wärme Ueberschlagswerthe zu gewinnen¹⁾.

Die von Nägeli citirten Zahlen habe ich wiedergefunden in einer Abhandlung: über den Ursprung der Muskelkraft (philosophical magazine: series 4. vol. 32, p. 182), die in den gesammelten Abhandlungen von Frankland — unter dem Titel: Experimental researches in pure applied and physical chemistry: London 1877 erschienen — auf Seite 938 ff. abgedruckt ist.

In der Originaltabelle selbst sind die beiden Zuckerarten mit folgenden Bemerkungen eingeführt (die wahrscheinlich in den deutschen Zeitschriften, die die Frankland'schen Zahlen wiedergeben, weggelassen sind):

lump sugar (not dried) — commercial grape sugar (not dried) d. h. es ist käuflicher Traubenzucker von Frankland verwendet, und beide Zuckerproben waren nicht getrocknet. — Darnach haben die Zahlen für unseren Zweck keine unbedingte Beweiskraft²⁾. —

Ebenso gewichtige Einwände lassen sich gegen den zweiten Theil von Nägeli's Beweisführung vorbringen. Durchgehende gesetzmässige Beziehungen des Molecularvolumens fester Verbindungen sind vorderhand nicht eruirt: die Bemthungen von Kopp, in neuerer Zeit von Schröder u. A. haben zu keinem endgültigen Resultat geführt. — Der Angelpunkt der Beweisführung ist natürlich hier, ob die bekannten specifischen Gewichte von Rohrzucker und Traubenzucker als unter vergleichbaren Bedingungen gewonnen betrachtet, und zu einem Vergleiche benützt werden dürfen. Gerade das Beispiel des Rohrzuckers zeigt uns aber, wie weit mit geringen Zustandsänderungen fester Körper das specifische Gewicht variirt. Dasselbe wird für den krystallisirten (Kandis-)Zucker

1) Er sagt selbst: l. c. p. 939: although this method is doubtless inferior in accuracy to the calorimetrical methods usually employed, it is hoped that . . . the results obtained merit sufficient confidence to render them useful in subsequent discussions of this and allied subjects: — er meint die Diskussion über Muskelkraft.

2) Es sind neuerdings im Laboratorium von Stohmann neue Versuche über Verbrennungswärme angestellt, von deren Resultaten aber vorderhand nur sehr wenig mitgetheilt ist. Die ausführliche Angabe der Zahlen ist für bald versprochen. — Journal für practische Chemie 1879. p. 115.

sehr übereinstimmend zu 1,59, für den amorphen (Gersten-)Zucker zu 1,509 von Biot angegeben. Nun krystallisiert der Traubenzucker mit Krystallwasser, der Rohrzucker ohne solches: auch das Krystallsystem, in dem beide krystallisieren, ist verschieden. Wie diese Umstände auf das spezifische Gewicht einwirken, ist uns vorderhand durchaus unbekannt. Natürlich ist aber die Zahl, die wir aus diesen spezifischen Gewichten für das Molekularvolumen berechnen, nicht als der sichere Ausdruck einer gesetzlichen Beziehung zu betrachten und zu benutzen.

Auf der anderen Seite sind Resultate von Versuchen anzuführen, die der Schlussfolgerung Nägeli's direkt widersprechen. Es existirt eine Angabe von Graham, A. W. Hofmann und Redwood, die in dem Jahresbericht von Liebig-Kopp 1852, p. 802 folgendermassen referirt ist¹⁾: „Wenn eine Lösung von Rohrzucker in Wasser mit Hefe versetzt wird, so findet vor dem Eintritt der Gährung eine vorübergehende deutliche Erhöhung des spezifischen Gewichtes statt, welche die Umsetzung des Rohrzuckers in Stärkezucker bezeichnet“. Nach diesem sicheren Zeugnisse wird also durch die Inversion die vorige Rohrzuckerlösung dichter, es findet also Contraction statt, die zweifelsohne mit Wärmeentwicklung verbunden ist.

Diese Wärmeentwicklung ist mir auch direkt mit dem Thermometer nachzuweisen gelungen. Der Versuch wurde in folgender Weise ausgeführt. In ein grosses Wasserbad, das auf constanter Temperatur erhalten wurde, waren eine Reihe von grossen Proberöhrchen eingesetzt, die theilweise mit mehrprozentiger Rohrzuckerlösung, theils mit verdünnter Salzsäure oder Schwefelsäure, theilweise mit einer Lösung von invertirendem Ferment gefüllt waren. Das letztere war aus Hefe, nach Tödten derselben mit Aether dargestellt und invertirte ausserordentlich rasch und energisch. Die Proberöhrchen waren mit diesen Lösungen zu etwa ein Viertel ihrer Höhe angefüllt. Mit feinen Geissler'schen Thermometern, deren Quecksilberbirne sehr klein war, um rasch den eintretenden Temperaturschwankungen folgen zu können, wurde beobachtet, wann die Temperatur der Lösungen in den Proberöhrchen constant geworden war. Wurde jetzt zur Rohrzuckerlösung die verdünnte Säure oder das invertirende Ferment gegossen, so war

1) Das englische Original konnte ich mir nicht verschaffen.

regelmässig, ohne jede Ausnahme eine deutliche Temperatursteigerung von ganz typischem Verlauf zu constatiren, die mit dem fortschreitenden Prozesse der Inversion zusammenfiel. Es sei dies an den Beispielen der folgenden Tabelle erläutert:

Zeit.	Zucker + Ferment.	Zucker + Säure.	Säure + Wasser.
	36,02° C.	46,47° C.	46,38° C.
0'30"	35,97	46,40	48,8
1'—	35,98	46,40	48,7
1'30"	36,01	46,43	48,4
2'—	36,03	46,47	47,8
2'30"	36,06	46,52	47,5
3'—	36,07	46,54	46,8
3'30"	36,08	46,56	46,6
4'—	36,08	46,56	46,5
4'30"	36,08	46,56	46,45
5'—	36,07	46,55	46,40
5'30"	36,07	46,55	46,38
6'—	36,06	46,55	46,48
6'30"	36,05	.	
7'—	36,04	.	
7'30"	36,04	.	
.	.	.	
.	.	.	
10'30"	36,03	46,52	

Die Zahlen der zweiten Horizontalreihe bedeuten die Anfangstemperaturen. Was jedesmal gemischt wurde, ist den Vertikalcolumnen überschrieben. Unmittelbar nach dem Mischen wurde mit dem Thermometer aufgeführt und dann abgelesen. Diese Ablesungen wurden dann alle halbe Minute wiederholt: Beispiele so beobachteter Zahlenreihen sind in den Vertikalzeilen 2 und 3 enthalten. Die darin ausgedrückten Temperaturschwankungen verlaufen darnach so, dass unmittelbar nach dem Mischen ein kleiner Abfall eintritt: derselbe ist bedingt durch die Abkühlung, die beim Herausheben und Umgiessen der Inhalt des Proberöhrchens erfahren muss. Darauf tritt eine langsame, aber deutliche Temperaturerhöhung ein, die in den citirten Beispielen nach 5 Minuten etwa zu einem jenseits der Ausgangstemperatur gelegenen Maximum führt, von dem aus sehr langsam der Abfall statt hat.

Dieser Verlauf zeigt unzweideutig, dass nach dem Zusammenmischen im Proberöhrchen eine Wärmequelle auftritt; denn die Temperatur steigt ja über die des Wasserbades hinaus. In den Versuchsbeispielen, wo nur kleine Mengen von Substanz angewendet sind, ist diese Steigerung gering, weil natürlich von der

entwickelten Wärme beständig nach Aussen abgegeben wird. Aus dem letzteren Grunde ist auch der beobachtete Verlauf der Temperaturschwankung nur der beiläufige Ausdruck der wirklich stattfindenden Wärmeentwicklung. Bei Versuchen gleicher Art, wo mehr Substanz verwendet ist, stieg die Temperatur auch höher über die des Wasserbades.

Es wird wohl mit grosser Wahrscheinlichkeit diese Temperatursteigerung auf Wärmeentwicklung bezogen werden dürfen, die mit der Inversion verbunden ist. Vor Allem kann der Einwand zurückgewiesen werden, als sei sie auf allenfallsige Contraction beim Mischen der beiden Flüssigkeiten und auf die dabei frei werdende Wärme zurückzuführen. Dem widerspricht der beobachtete zeitliche Verlauf. Um diese Behauptung sogleich durch den Versuch zu beweisen, habe ich den Verlauf der Erwärmung beobachtet, die beim Mischen von Schwefelsäure und Wasser auftritt. Von beiden Flüssigkeiten wurden Proben auf constante Temperatur gebracht und dann das Wasser zur Schwefelsäure gegossen, welche letztere schon so weit verdünnt war, dass nur mehr eine geringfügige Erwärmung stattfand. Ein Beispiel dieser Versuche ist in der vierten Vertikalzeile der Tabelle angegeben. Es zeigt sich, dass mit dem Momente des Mischens die ganze überhaupt gebildete Wärme frei wird und sofort der rasche Temperaturabfall beginnt. Obwohl in dem citirten Beispiel die anfängliche Temperatursteigerung über 2° C. beträgt, so ist doch in viel kürzerer Zeit die Temperatur des äusseren Wasserbades erreicht, als bei den Inversionsversuchen. Aus all' dem ist wohl der Schluss erlaubt, dass bei letzteren die Wärmeentwicklung durch einige Zeit andauert und zwar länger als die Beobachtung unter unseren Versuchsbedingungen angibt.

Die beschriebenen Experimente machen unsere anfängliche Behauptung zwar sehr wahrscheinlich, aber einen vollgültigen Beweis liefern sie doch nicht. — Wir kennen die Lösungswärmen des Rohr- und Invertzuckers nicht, wissen nicht, ob die eine, oder beide Zuckerarten bei der Lösung höhere Hydrate bilden, was alles natürlich bei dem Vorgehen des Inversionsprocesses in wässriger Lösung auf die resultirende Wärmetönung von Einfluss ist. Es ist deshalb wohl möglich, dass der eigentliche chemische Prozess einer fermentativen Umsetzung mit Wärmeentwicklung verläuft, während die Summe aller dabei vor sich gehenden Energieänderungen doch eine negative ist. Diese Auffassung wird

wenigstens nahe gelegt durch die in folgender Angabe beschriebene Thatsache. Unmittelbar hinter der oben citirten Stelle von Graham, Hofmann und Redwood findet sich nämlich der folgende Satz: „Die Umwandlung des Dextrins in Zucker . . . bewirkt eine Verminderung des specifischen Gewichtes der betreffenden Auflösung.“ Also, so wird man nach aller Analogie weiter schliessen dürfen, findet dabei wahrscheinlich Wärmebindung statt. Trotzdem, glaube ich, ist die Umsetzung des Dextrins in Zucker ein mit Wärmeentwicklung verbundener chemischer Prozess. Nur liefert das Dextrin anfänglich keine wahre Lösung, wie der Traubenzucker sie gibt und die für des letzteren Auflösung im Momente seines Entstehens nöthige Wärmemenge ist es, die der ganzen geschehenden Energieänderung schliesslich das negative Vorzeichen gibt. Die resultirende Wärmetönung entsteht also aus zwei Summanden: einem positiven, d. i. der chemische Prozess der Saccharifikation; und einem negativen, d. i. der Uebergang einer Colloid-Lösung in eine Krystalloidlösung¹⁾. Der letztere Summand ist absolut grösser: darum ist die Summe negativ.

Man wird darnach voraussagen können, dass spätere Versuche über Lösungswärmen für das Dextrin eine bedeutend geringere Zahl ergeben werden, als für den Traubenzucker.

Ich brauche nicht hinzuzufügen, dass in diesem letzten Citat und dem angefügten Erklärungsversuch nichts liegt, was einer früheren Aufstellung widerspricht. Für die Lösung von Körpern, wie für jede Aggregatänderung ist äussere freie Wärme ein vollgültiges Aequivalent: sie ist dies aber nicht (unter unseren Versuchsbedingungen) für die Anhäufung von (chemischer) Spannkraft.

Ich glaube, dass die vorstehende Diskussion immer noch die Richtigkeit des Satzes darthut: Fermente bringen solche chemische Umsetzungen zu Stande, durch welche Körper von zusammen geringerer Verbrennungswärme gebildet werden, als sie die Mutter-substanz besitzt.

1) Diese Auffassung über die verschiedene Wärmetönung einer Colloid- und einer Krystalloidlösung dürfte wohl allgemeine Billigung finden. Ich will nur beiläufig daran erinnern, dass eine Colloidlösung aufgefasst werden kann als ein Zustand sehr hochgradiger Quellung: es bleibt also, wenn man so will, der feste Zustand des Körpers erhalten. Bei einer Krystalloidlösung dagegen geht der feste Körper wirklich in den flüssigen Zustand über: es wird also das ganze Quantum der Schmelzwärme aufgewendet.