

151. W. Connstein und K. Lüdecke: Über Glycerin-Gewinnung durch Gärung.

(Eingegangen am 2. Mai 1919.)

[Aus dem Laborat. der Vereinigt. Chemischen Werke A.-G., Charlottenburg.]

Die Versuche, über die im Folgenden berichtet werden soll, gehen schon bis ins Jahr 1914 zurück. Ihre Veröffentlichung konnte nicht früher erfolgen, weil die deutsche Heeresverwaltung während der Dauer des Kriegszustandes ein Interesse daran hatte, die Versuche und ihre Resultate geheim zu halten. Unsere Arbeiten sind aus der Not der Zeit entstanden und verdanken ihren Ursprung der Überlegung, daß die Versorgung der europäischen Zentralmächte mit Glycerin infolge der Blockade in ganz kurzer Zeit völlig ungenügend sein würde.

Da die wirtschaftliche Versorgung der Welt mit Glycerin bisher ausschließlich auf der Fettspaltung in Seifen- und Stearinfabriken beruhte, so mußte bei der geringen Versorgung der Zentralmächte an technischen Fetten ein Versiegen der Glycerin-Versorgung und damit eine ungeheure Erschwerung der Munitionserzeugung die Folge sein. Diese Überlegung, deren Richtigkeit sich leider nur allzu früh bewahrheitete, führte uns dazu, nach neuen Quellen für die Glycerin-Gewinnung zu suchen.

Was lag da näher, als sich der Kohlehydrate zu entsinnen, welche nicht nur in ihrem chemischen Aufbau die größten Ähnlichkeiten mit dem Glycerin aufweisen, sondern von denen auch bekannt ist, daß sie unter gewissen Umständen mehr oder weniger reichliche Mengen von Glycerin abspalten. Ganz regelmäßig ist die Bildung von Glycerin aus Kohlehydraten bei der alkoholischen Gärung beobachtet worden, und die alte Angabe von Pasteur, daß neben Alkohol und Kohlensäure stets kleine Mengen Glycerin bei der alkoholischen Gärung entstehen, ist tausendfach nachgeprüft und bestätigt worden. Die Menge des bei der gewöhnlichen Gärung gefundenen Glycerins beträgt nicht mehr als 3 % vom Zucker. Man hat zahlreiche Versuche gemacht, die Glycerin-Bildung bei der alkoholischen Gärung quantitativ zu beeinflussen, doch sind diese Bemühungen fast durchweg als gescheitert anzusehen. War man sich doch bis vor kurzem über die Herkunft dieses Gärungs-Glycerins so sehr im Unklaren, daß vielfach noch die Ansicht verfochten wurde, dieses Gärungs-Glycerin entstamme den in der Hefe vorhandenen Fetten oder Eiweißstoffen.

Am ausführlichsten haben sich mit der Frage der Gärung in einem alkalischen Medium C. Neuberg und seine Schüler beschäftigt¹⁾. Die

¹⁾ Bio. Z. 78, 238 [1916]; 89, 365 und 92, 234 [1918].

Resultate dieser Untersuchungen stimmen in experimenteller Beziehung vielfach mit unseren Ergebnissen überein. Insbesondere gilt dies von den Feststellungen über die Einwirkung von Sulfit auf den Gärungsverlauf. Die Untersuchungen Neubergs und die unsrigen sind vollkommen unabhängig von einander entstanden, wurden allerdings auch von ganz verschiedenen Gesichtspunkten aus unternommen. Während Neuberg ausschließlich darauf bedacht war, neue Beweise für seine bekannte Theorie der Alkohol-Gärung zu finden, waren es für uns von Anfang an technisch-wirtschaftliche Gesichtspunkte, welchen unsere Versuche entsprangen.

Theoretische Gründe legten es uns nahe, den Versuch zu machen, die Glycerin-Ausbeute während der alkoholischen Gärung dadurch zu beeinflussen, daß die Gärung in einem alkalischen Medium vorgenommen wurde. Wir verstießen hierdurch gegen eines der Grundgesetze der Gärungstechnik, welches vorschreibt, die Gärung bei neutraler oder besser noch bei schwach saurer Reaktion vor sich gehen zu lassen.

Unsere theoretischen Voraussetzungen schienen sich sehr bald zu bewahrheiten, denn schon unsere ersten Versuche zeigten, daß der Zusatz von alkalisch reagierenden Salzen in genügend großer Menge die Glycerin-Bildung bei der alkoholischen Gärung erheblich erhöht.

Folgende Versuche dienen als Beispiel:

Tabelle I.

Dinatriumphosphat	46 % vom Zucker: 11	% Glycerin-Ausbeute
„	70 „ „ „	15.6 „
Ammoniumcarbonat	10 „ „ „	13.4 „
Natriumacetat	30 „ „ „	9.5 „
Natriumbicarbonat	14 „ „ „	12.7 „
Kontrolle ohne Zusatz	3 „	„

Der Ausbau dieser ersten Beobachtungen lehrte uns, daß man alle alkalisch reagierenden Substanzen annähernd mit dem gleichen Erfolge verwenden kann, vorausgesetzt, daß sie nicht, wie z. B. kaustische Laugen, die Hefe schädigen. Eine besondere Beachtung bei der alkalischen Gärung bedarf die Frage der Infektion der Maische. Spaltpilze aller Art, besonders aber die gefürchteten Milchsäure-Bakterien, treten in dem alkalischen Gäransatz massenhaft auf und beeinträchtigen nicht nur die Glycerin-Ausbeute, sondern auch die Methode der Glycerin-Analyse, da bei den üblichen Analysemethoden (Bichromat- und Acetin-Methode) alle möglichen Verunreinigungen als Glycerin mit bestimmt werden.

Wesentlich einschränkbar sind diese sekundären Infektionen, wenn man als alkalischen Zusatz Natriumsulfit verwendet, denn

dieses Salz wirkt — besonders in hohen Konzentrationen — geradezu antiseptisch und verhindert insbesondere das Auftreten von Milchsäure-Bakterien. Überhaupt spielt, wie sich sehr bald herausstellte, das Natriumsulfit bei unserem Verfahren eine ganz besondere Rolle. Dieses Salz ist für die wirtschaftliche Ausbildung der Methode von besonderer Bedeutung geworden, weil es, wenigstens nach dem bisherigen Stand unserer Erfahrungen, die denkbar größten Ausbeuten an Glycerin liefert.

Folgende Tabelle beweist dies:

Tabelle II.

Natriumsulfit	40 %	vom Zucker:	23.1 %	Glycerin-Ausbeute
„	67 „	„ „	24.8 „	„
„	80 „	„ „	27.3 „	„
„	100 „	„ „	30.1 „	„
„	120 „	„ „	33.0 „	„
„	150 „	„ „	34.6 „	„
„	200 „	„ „	36.7 „	„

Aus den mitgeteilten Zahlen ergibt sich, daß die Glycerin-Ausbeute bis zu einem gewissen Grade proportional ist der Menge des zugefügten Sulfits. Über ein gewisses Maß hinaus allerdings läßt sich der Sulfit-Zusatz nicht steigern, weil dann die Gärung allzu sehr verlangsamt oder die Hefe sogar irreparabel geschädigt wird.

Nach Feststellung der besonderen Wirkungen des Sulfit-Zusatzes galt es nun, das Verfahren immer im Hinblick auf seine technische Verwendbarkeit nach den verschiedensten Richtungen hin zu modifizieren. Hierbei wurde die Aufmerksamkeit einerseits auf die Variation der Zuckerarten, andererseits auf die Variation der Hefearten gerichtet. Beide Versuchsreihen verliefen insofern ohne greifbares Resultat, als sich herausstellte, daß alle Arten von gärbarem Zucker und alle Heferassen ziemlich unterschiedslos in Anwendung gezogen werden konnten. Von technischer Bedeutung war insbesondere die Feststellung, daß die Resultate prinzipiell die gleichen waren, wenn raffinierter Zucker, Rohzucker oder zuckerhaltige Substanzen, z. B. Melasse, in Verwendung genommen wurden. Ferner ist praktisch bedeutungsvoll, daß die Hefe, welche im Gegensatz zu der gewöhnlichen alkoholischen Gärung während der Sulfit-Gärung sich nicht oder nur unbedeutend vermehrt, mehrmals hintereinander verwendet werden kann, besonders vorteilhaft, wenn man sie nach Beendigung jedes einzelnen Versuchs einer »Reinigungsgärung« bei schwach saurer Reaktion — also ohne Sulfit-Zusatz — unterwirft. Dann erholt sich die durch das Sulfit immerhin stark in Mitleiden-schaft gezogene Hefe jedesmal rasch wieder so weit, daß sie zu neuen Sulfit-Gärungen herangezogen werden kann.

In allen Fällen verlief die Gärung etwa in folgender Weise:

Tabelle III.

Hefe 1 mal regeneriert 18.8 % Glycerin

» 2 »	»	21.4 »	»
» 3 »	»	22.9 »	»
» 4 »	»	22.8 »	»
» 5 »	»	22.3 »	»
» 6 »	»	20.9 »	»
» 7 »	»	19.9 »	»
» 8 »	»	21.2 »	»

In einem Gefäß, enthaltend 10 l Wasser, wurde 1 kg Zucker aufgelöst, dazu wurden 100 g frische Hefe, die dazu gehörigen Nährsalze (Kalium, Phosphor, Magnesium, Stickstoff) gegeben und schließlich 400 g Natriumsulfit, auf krystallwasserfreies Salz berechnet, hinzugefügt. Das Gefäß wurde gut umgeschüttelt und dann bei einer Temperatur von etwa 30° sich selbst überlassen. Nach kurzer Zeit zeigte das Auftreten der ersten Kohlensäureblasen und Steigen der Temperatur, daß die Gärung eingesetzt habe, und nach 48–60 Stdn. ersah man aus dem Ausbleiben der Reduktionsprobe, daß der Zucker verschwunden war. Die Alkaleszenz der Maische steigt während des Gärungsvorganges nicht unerheblich, weil sich das Natriumsulfit bei Gegenwart von Kohlensäure und Aldehyd teilweise in Natriumcarbonat und Bisulfit-Aldehyd umsetzt. Nun wurden zunächst die flüchtigen Bestandteile durch Destillation abgetrennt, die zurückbleibende Flüssigkeit mit Chlorcalcium und Kalk behandelt, um die größte Menge des Sulfits zu entfernen, das Filtrat durch Behandeln mit Soda vom Kalküberschuß befreit und dann eingedampft. Der zurückbleibende Sirup enthielt im wesentlichen Kochsalz und Glycerin. Das Glycerin wurde entweder mit Alkohol extrahiert und im Extrakt nach der Zeißl-Fantoschen Isopropyljodid-Methode oder durch Destillation bestimmt oder auch aus der Salzlauge direkt mittels überhitzten Wasserdampfes im Vakuum abdestilliert. Die Destillation gelingt ohne Schwierigkeit, und das Destillat stellt ein für alle Zwecke der Technik gleichmäßig brauchbares Reinglycerin dar.

Es ist nicht nur zur Nitrierung geeignet, sondern kann auch durch geeignete Zwischenbehandlung so weit raffiniert werden, daß es allen Anforderungen sämtlicher Arzneibücher entspricht. In seltenen Fällen war das Glycerin verunreinigt durch einige Prozent Trimethylenglykol, eine Substanz, welche unserer Meinung nach nicht als ein regelmäßiges Gärungsprodukt anzusehen ist, sondern vielmehr seinen Ursprung in einer sekundären Zersetzung des Glycerins durch Fäulnisbakterien findet. Es ist doch auch von Fett-

glycerin bekannt, daß dieses in dünner Lösung leicht von Fäulnisbakterien angegriffen wird und Trimethylenglykol bildet.

Wenn wir nun noch kurz auf die flüchtigen Bestandteile eingehen, welche aus der fertig vergorenen Schlempe durch Destillation gewonnen wurden, so zeigt sich, daß diese nicht wie bei der gewöhnlichen Gärung ausschließlich aus Alkohol bestehen. Das Destillat ist vielmehr mehr oder minder stark mit Acetaldehyd verunreinigt, was sich bereits während der Destillation durch den charakteristischen Geruch des Aldehyds verrät, aber auch quantitativ von uns verfolgt wurde. Hierbei hat sich herausgestellt, daß die Bildung von Aldehyd ähnlich wie die Bildung von Glycerin durch Vermehrung des Sulfitzusatzes steigt, während die Bildung von Alkohol sinkt.

Tabelle IV.

Sulfit-Zusatz	Aldehyd	Alkohol
%	%	%
25	2.42	39.96
40	5.6	—
50	5.8	35.8
67	7.6	—
80	9.9	—
100	10	29.4
120	15	—
150	17.6	—

Was die Kohlensäure-Bildung anlangt, so haben wir auch diese quantitativ verfolgt und beobachtet, daß sie mit steigendem Sulfit-Zusatz abnimmt.

Tabelle V.

Sulfit-Zusatz	Kohlensäure
%	%
25	37.6
50	35.8
100	29.4

Alles zusammengefaßt, zeigt sich also:

Mit steigendem Sulfit-Zusatz wird die alkoholische Zuckergärung derartig verändert, daß die Bildung von Alkohol und Kohlensäure ab-, die Bildung von Glycerin und Acetaldehyd dagegen zunimmt.

In diesem Zusammenhang wird es interessieren, die Gesamtausbeuten an gasförmigen und flüssigen Spaltungsprodukten kennen zu lernen. Während bei der gewöhnlichen alkoholischen Gärung der Zucker etwa in gleiche Mengen Kohlensäure und Alkohol zerfällt, verschiebt sich bei der Sulfit-Gärung das Verhältnis zwischen gas-

förmigen und flüssigen Reaktionsprodukten zugunsten der letzteren in der Weise, daß bis 60 % flüssige und nur 40 % gasförmige Produkte gebildet werden. Die Verschiebung erfolgt auch hier proportional der Sulfitmenge. In einer Gärung mit 25 % Sulfit-Zusatz war z. B. das Verhältnis zwischen flüssigen und gasförmigen Spaltungsprodukten = 54 : 46, bei 100 % Sulfit-Zusatz aber = 60 : 40. Schon aus dieser einfachen Gegenüberstellung ergibt sich, daß die Sulfit-Gärung wesentliche wirtschaftliche Vorteile vor der gewöhnlichen alkoholischen Gärung besitzt.

Wenn man sich nun der Frage zuwendet, in welcher Weise die mitgeteilten Resultate zu erklären sind, so möchten wir uns bei dem augenblicklichen Zeitpunkt einer eingehenden Diskussion der Theorie unserer Beobachtungen enthalten. Wir möchten nur feststellen, daß augenscheinlich zwei verschiedene Momente mitwirken, nämlich einerseits eine allgemeine Salzwirkung und andererseits eine gewisse spezifische Sulfit-Wirkung. Daß die Gegenwart von großen Mengen Salzen die Glycerin-Bildung wesentlich fördert, geht bereits aus den eingangs erwähnten Versuchen mit diversen alkalisch reagierenden Salzzusätzen hervor. Nicht viel anders wie alkalisch reagierende Salze wirken aber gewisse neutrale und saure Salze, wie folgende Tabelle beweist:

Tabelle VI.

Chlorcalcium . . .	40 %	vom Zucker:	8.2 %	Glycerin-Ausbeute
Chlorammonium . . .	30 »	»	: 7.3 »	»
Chlornatrium . . .	19 »	»	: 8 »	»
Natriumsulfat . . .	24 »	»	: 6.7 »	»
» . . .	48 »	»	: 8 »	»
Natriumnitrat . . .	34 »	»	: 5.5 »	»
Ferrosulfat . . .	60 »	»	: 11.8 »	»
» . . .	120 »	»	: 13.1 »	»
Aluminiumsulfat . . .	39 »	»	: 9.4 »	»
» . . .	44 »	»	: 11.6 »	»
» . . .	80 »	»	: 16 »	»

Es scheint also eine allgemeine Regel zu sein, daß die Hefe bei Gegenwart größerer Mengen ungiftiger Salze in ihrem Stoffwechsel in der Weise beeinflusst wird, daß mehr Glycerin als normal aus den zur Verfügung stehenden Kohlehydraten entsteht. Neben dieser allgemeinen Salzwirkung hat nun das Sulfit zweifellos noch eine besondere spezifische Wirkung. Es mag sein, daß diese mit den bekannten Beziehungen zwischen Bisulfit und Aldehyd zusammenhängt (Neuberg und seine Mitarbeiter). Eine Entscheidung darüber aber, ob der Zerfall des Zuckermoleküls dabei den Weg über Brenz-

traubensäure-Derivate oder über den Tartrondialdehyd nimmt und inwieweit die Festlegung des Aldehyds durch das vorhandene Bisulfit hierbei eine Rolle spielt, möchten wir im Augenblick noch nicht fällen.

Jedenfalls aber erscheint es uns bemerkenswert, daß durch unsere Beobachtungen wohl zum ersten Male der Nachweis erbracht ist, daß man Kleinlebewesen durch Gegenwart von anorganischen Salzen derartig in ihrem Stoffwechsel beeinflussen kann, daß das Verhältnis der normalen Stoffwechselprodukte sich quantitativ völlig verschiebt mit dem Effekt, daß die so gesetzten Veränderungen wirtschaftlich verwertbar werden. Dieses Prinzip verspricht in seinem weiteren Ausbau vielleicht noch manche interessante Erfindung.

Das geschilderte Verfahren der Gewinnung von Glycerin als Nebenprodukt der alkoholischen Gärung wurde von uns bald nach seiner Auffindung und Patentierung (Patentanmeldung vom 12. April 1915) der Militärverwaltung zur Verfügung gestellt, und durch diese erfolgte in kurzer Zeit die Übertragung der Laboratoriumsversuche in den Großbetrieb. Diese Übertragung, welche sonst bekanntlich das größte Schmerzenskind aller Erfinder darstellt, ging im vorliegenden Falle ohne erhebliche Schwierigkeit und in verhältnismäßig sehr kurzer Zeit vor sich.

Die Heeresverwaltung beauftragte eine eigens zu diesem Zweck gegründete Gesellschaft (Protol G. m. b. H.) mit der wirtschaftlichen Durchführung des Verfahrens, und der Protol G. m. b. H. gelang es, innerhalb weniger Monate eine große Reihe von Betrieben in den Dienst der Sache zu stellen.

Die von uns ausgearbeiteten Rezepte blieben trotz vielfacher Verbesserungsversuche noch bis in die letzte Zeit hinein maßgebend. Die Gesamtmenge Glycerin, welche nach dem Protol-Verfahren erzeugt wurde, belief sich auf mehr als 1 Mill. Kilo per Monat. Die technische Ausbeute an fertigem Glycerin, auf Zucker bezogen, betrug dabei zwischen 20 und 25 %. Für die Nebenprodukte Alkohol und Acetaldehyd war natürlich während des Krieges reichliche Verwendung.

Wenn man zum Schluß die Frage prüft, ob und inwieweit das Protol-Verfahren auch in der Friedenszeit konkurrierend gegenüber der Herstellung von Fettglycerin auftreten kann, so lautet die Antwort, daß bei einigermaßen normalen Zucker- und Spirituspreisen das Glycerin nach dem oben geschilderten Verfahren so billig einsteht, daß mindestens eine Regulierung der Fettglycerin-Preise dadurch bewirkt werden wird. Trustbestrebungen zur Fixierung übermäßiger Glycerinpreise und spekulativer Ausschreitungen auf diesem Gebiet werden zweifellos durch unser Verfahren verhindert werden.