

# **Der Abbau von ungesättigten Fettsäuren zu Methylketonen durch Schimmelpilze**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt

im September 1940

von

**Werner Eisenlohr**

aus Stuttgart

**Berichterstatter: Professor Dr. B. Bleyer**

**Tag der mündlichen Prüfung: 26. September 1940**

ISBN 978-3-662-27693-8

ISBN 978-3-662-29183-2 (eBook)

DOI 10.1007/978-3-662-29183-2

# Zur Chemie der Ketonranzigkeit.

III. Mitteilung:

Über die Bildung von Methylketonen aus  $\alpha$ ,  $\beta$ -ungesättigten Fettsäuren durch *Penicillium glaucum*<sup>1</sup>.

Von

H. Thaler und W. Eisenlohr.

(Universitätsinstitut und Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie in München.)

(Eingegangen am 20. März 1941.)

Mit 4 Abbildungen im Text.

In der vorhergehenden Mitteilung<sup>2</sup> war die Ansicht erörtert worden, daß der bei der Lebenstätigkeit gewisser Schimmelpilze zu beobachtende Abbau gesättigter Fettsäuren zu Methylketonen nach der Art des *Wielandschen* Dehydrierungsschemas über die Stufen der  $\alpha$ ,  $\beta$ -ungesättigten Säure, der  $\beta$ -Oxysäure und der  $\beta$ -Ketosäure verläuft. Dieser Anschauung standen zuerst die Ergebnisse von *O. Acklin* und *W. Schneider*<sup>3</sup> entgegen, welche bei ihren Versuchen mit  $\beta$ -Oxybuttersäure und  $\beta$ -Oxycaprönsäure eine Ketonbildung nicht hatten feststellen können. Es wurde seinerzeit nachgewiesen, daß unter geeigneten Bedingungen, wobei vor allem auf die Säurestufe sowie darauf zu achten ist, daß die Oxyfettsäure die einzige Kohlenstoffquelle darstellt, nicht nur aus den beiden genannten Oxysäuren, sondern aus sämtlichen Gliedern dieser Reihe bis zu einer Kettenlänge von 14 Kohlenstoffatomen ( $\beta$ -Oxymyristinsäure) Ketone gebildet werden können.

Zur weiteren Sicherung der oben erwähnten Annahme des Reaktionsverlaufes im Sinne des Dehydrierungsschemas schien es unumgänglich notwendig, auch  $\alpha$ ,  $\beta$ -ungesättigte Fettsäuren auf ihr Verhalten zu prüfen. Andere ungesättigte Fettsäuren, wie  $\omega$ -Undecylen-säure oder Ölsäure waren schon von *K. Täufel*, *H. Thaler* und *M. Löweneck*<sup>4</sup> untersucht worden, wobei es sich herausgestellt hatte, daß bei ihnen eine mehr oder weniger kräftige Ketonentwicklung eintrat. Es mochte dies daher rühren, daß die Doppelbindung bei diesen beiden Verbindungen nicht in  $\alpha$ ,  $\beta$ -Stellung zur Carboxylgruppe, sondern ziemlich weit von dieser entfernt an anderer Stelle des Moleküls liegt, so daß der Angriff der Schimmelpilze ähnlich wie bei den gesättigten

<sup>1</sup> Ausgeführt mit Mitteln des Forschungsdienstes, Landwirtschaftliche Gewerbeforschung. — <sup>2</sup> *H. Thaler* u. *G. Geist*, diese Zeitschr. **302**, 369, 1939.

— <sup>3</sup> *Ebenda* **204**, 253, 1929. — <sup>4</sup> *Fettchem. Umschau* **43**, 1, 1936.

Fettsäuren verlaufen kann. Bei  $\alpha$ ,  $\beta$ -ungesättigten Säuren ist jedoch die Möglichkeit eines irgendwie anders verlaufenden Abbaues durchaus vorhanden. Da die Kohlenstoffdoppelbindung eine leicht angreifbare Stelle darstellt und da bei der biologischen Zerlegung des Moleküls die  $\alpha$ ,  $\beta$ -Stellung offensichtlich bevorzugt wird, so war es sehr wohl denkbar, daß diese Säuren vielleicht in der Art der von *F. Knoop* aufgeklärten  $\beta$ -Oxydation in Essigsäure und eine um zwei Kohlenstoffatome ärmere Fettsäure gespalten würden, ohne daß dabei Methylketone aufzutreten brauchten. Die Ansicht, daß die Reaktion bei der Ketonbildung nach dem *Wielandschen* Dehydrierungsschema verläuft, hätte in diesem Falle beträchtlich an Wahrscheinlichkeit eingebüßt. Auf der anderen Seite aber würde sie durch einen positiven Befund, der nach dem Ergebnis eines von *G. Geist*<sup>1</sup> angestellten Vorversuches mit  $\alpha$ ,  $\beta$ -Decensäure mit einiger Wahrscheinlichkeit zu erwarten war, sehr gestützt werden. Es wurden deshalb zur Aufklärung des Reaktionsverlaufes Versuche mit einigen  $\alpha$ ,  $\beta$ -ungesättigten Fettsäuren angestellt. Die Bedingungen waren dabei die gleichen, wie sie sich bei den früheren Untersuchungen als zweckmäßig erwiesen hatten, d. h. es wurde wiederum die betreffende Säure dem anorganischen Nährboden als einzige Kohlenstoffquelle in Form ihres Ammonium- oder Alkalisalzes zugesetzt. Außerdem wurde die Wasserstoffionenkonzentration des Nährbodens berücksichtigt, da die Ketonbildung erfahrungsgemäß sehr stark vom  $p_H$  der Lösung abhängt.

### Die Darstellung und Vorbereitung der verwendeten Säuren.

Um ein genaueres Bild der Methylketonbildung und damit des Reaktionsverlaufes zu erhalten, durfte nicht nur eine einzige  $\alpha$ ,  $\beta$ -ungesättigte Säure zu den Versuchen benutzt werden. Der Grund hierfür lag darin, daß nicht aus allen gesättigten Fettsäuren, sondern nur aus denjenigen geringen oder mittleren Molekulargewichtes, bis zur Myristinsäure einschließlich, Ketone gebildet werden. Außerdem besitzen nach *A. Spiekermann*<sup>2</sup> die niedrigen gesättigten Fettsäuren eine gewisse Giftigkeit für Schimmelpilze, die mit steigender Kettenlänge abnimmt, und es war zu vermuten, daß auch die  $\alpha$ ,  $\beta$ -ungesättigten Säuren sich ähnlich verhalten würden, zumal da auch bei den früheren Untersuchungen über  $\beta$ -Oxyfettsäuren ebensolche Beobachtungen gemacht worden waren. Es mußten deshalb mehrere  $\alpha$ ,  $\beta$ -ungesättigte Fettsäuren mit verschiedener Länge der Kohlenstoffkette herangezogen werden. Um die Ketonbildung bei den einzelnen geprüften gesättigten Fettsäuren,  $\beta$ -Oxysäuren und ungesättigten Säuren untereinander ver-

<sup>1</sup> *G. Geist*, Diss. München 1938. — <sup>2</sup> *Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel* **23**, 305, 1912.

gleichen zu können, erschien es zweckmäßig, von diesen letzteren die Gegenstücke zu den seinerzeit untersuchten Oxysäuren zu wählen. Es wurden deshalb zu den geplanten Versuchen die Crotonsäure, die  $\alpha$ ,  $\beta$ -Hexensäure [Hexen-(2)-säure(1)], die  $\alpha$ ,  $\beta$ -Decensäure [Decen-(2)-säure-(1)] und die  $\alpha$ ,  $\beta$ -Tetradecensäure [Tetradecen-(2)-säure-(1)] verwendet. Von der ersteren wurde ein käufliches Präparat, das sich als sehr rein erwies, benutzt, die anderen Säuren mußten selbst hergestellt werden.

#### *$\alpha$ , $\beta$ -Ungesättigte Fettsäuren.*

##### a) Crotonsäure.

Diese Säure, ein von der Firma Dr. Th. Schuchardt G. m. b. H., Görlitz, hergestelltes Präparat, wurde, nachdem die Abwesenheit von Ketonen durch den negativen Ausfall der Salicylaldehydreaktion festgestellt war, in Form ihres Ammonsalzes verwendet.

##### b) Hexen-(2)-säure-(1).

Da diese und die folgenden Säuren nicht im Handel zu bekommen waren, mußten sie selbst hergestellt werden. Den Weg dazu zeigte ein Verfahren von *J. Harding* und *C. Weizmann*<sup>1</sup>, das diese Autoren zur Gewinnung der Nonylensäure angewandt hatten und das auf der Kondensation von Fettaldehyd mit Malonsäure in Gegenwart von Pyridin beruht. Unter Wasseraustritt und Kohlendioxydabsplaltung entsteht dabei die ungesättigte Säure.

Zur Synthese der Hexensäure löste man 50 g Malonsäure unter gelindem Erwärmen auf dem Wasserbade in 80 g Pyridin, gab dann 35 g Butylaldehyd hinzu und erhitzte das Reaktionsgemisch nach 36stündigem Stehen noch 3 Stunden auf dem Wasserbad am Rückflußkühler. Die erkaltete Lösung wurde in einen Scheidetrichter, der 400 ccm Wasser enthielt, gebracht und mit konz. Salzsäure bis zur kongosauren Reaktion angesäuert. Die sich abscheidende rohe Säure nahm man in Äther auf, schüttelte zweimal mit 10 %iger Sodalösung aus, setzte die Säure aus der Sodalösung wieder mit 15 %iger Salzsäure in Freiheit und nahm sie erneut in Äther auf. Die ätherische Lösung trocknete man mit Natriumsulfat, dampfte den Äther ab und destillierte die Säure unter 10 mm Quecksilberdruck bei 107°. Die Ausbeute betrug 25 g = 39 % der berechneten Menge.

Zur Bestimmung des Molekulargewichtes wurden etwa 0,2 g der Säure in 20 ccm eines Benzol-Alkoholgemisches (2 : 1) gelöst und mit n/10 alkoholischer Kalilauge und Phenolphthalein als Indikator titriert: 0,2414 g Subst. verbr. 0,1186 g KOH; Mol.-Gew. gef. 114,2; ber. 114,1.

<sup>1</sup> *J. Harding* u. *C. Weizmann*, J. chem. Soc. London 97, 299, 1910.

## c) Decen-(2)-säure-(1).

Die Darstellung erfolgte in derselben Weise wie bei der Hexensäure. Ausgegangen wurde von 40 g Malonsäure, 46 g Pyridin und 40 g Octylaldehyd. Die Säure destillierte unter 12 mm Quecksilberdruck bei 153°. Die Ausbeute betrug 40 g = 74,5% der berechneten Menge. Die Molekulargewichtsbestimmung ergab:

0,2077 g Subst. verbr. 0,0682 g KOH; Mol.-Gew. gef. 171,0; ber. 170,1.

## d) Tetradecen-(2)-säure-(1).

Die Säure wurde gleichfalls in der oben angegebenen Weise hergestellt. Zur Anwendung gelangten 50 g Malonsäure, 70 g Pyridin und 40 g Laurinaldehyd. Die Tetradecensäure ging unter 5 mm Quecksilberdruck bei 174° über. Die Ausbeute betrug 35 g = 60% der berechneten Menge. Die Bestimmung des Molekulargewichtes ergab:

0,2315 g Subst. verbr. 0,0583 g KOH; Mol.-Gew. gef. 223,0; ber. 226,1.

Die sämtlichen ungesättigten Fettsäuren wurden in Form ihrer Ammonsalze verwendet.

### Die Versuchsanordnung.

Die zu den Versuchen verwendete Rasse von *Penicillium glaucum* war die gleiche, die auch schon bei den Untersuchungen über die Ketonbildung aus gesättigten und  $\beta$ -Oxyfettsäuren angewendet worden war<sup>1</sup>. Auch der damals benutzte anorganische Nährboden wurde beibehalten, da er sich recht gut bewährt hatte. Die Anordnung der einzelnen Versuchsreihen geschah ebenfalls in der schon in den vorhergehenden Mitteilungen beschriebenen Weise. In jedem Falle stellte man wiederum zwei Parallelversuche an. Der Ketongehalt wurde täglich mittels der Salicylaldehydreaktion von *K. Täufel* und *H. Thaler* nach dem Verfahren von *K. Täufel*, *H. Thaler* und *H. Hohner*<sup>2</sup> ermittelt.

### Ergebnisse der Abbauprobungen.

Mit Rücksicht auf die Möglichkeit, daß die Crotonsäure unter Umständen eine derartig starke Giftwirkung entfaltet, daß die Ketonbildung vollkommen unterdrückt werden kann, wurden die ersten Versuche mit der Decensäure vorgenommen. Bei den früheren Untersuchungen hatte sich ferner eine starke Abhängigkeit der Ketonentwicklung vom  $p_H$  ergeben, wie das seinerzeit schon von *M. Stärkle*<sup>3</sup> sowie *O. Acklin* und *W. Schneider*<sup>4</sup> und später auch von *K. Täufel*,

<sup>1</sup> *H. Thaler* u. *G. Geist*, diese Zeitschr. **302**, 121, 369, 1939. — <sup>2</sup> Zeitschr. f. Unters. d. Lebensmittel **74**, 119, 1937. — <sup>3</sup> Diese Zeitschr. **151**, 371, 1924. — <sup>4</sup> Ebenda **204**, 253, 1929.

H. Thaler und M. Löweneck<sup>1</sup> beobachtet worden war. Deshalb wurden auch diesmal Versuchsreihen bei verschiedenem  $p_H$  angestellt.

Nicht berücksichtigt werden konnte der mögliche Einfluß der cis-trans-Isomerie auf die Ketonbildung, vor allen Dingen deshalb nicht, weil es schon bei der einfachsten der untersuchten Säuren, der Crotonsäure, zweifelhaft ist, welche der beiden Formen sie darstellt. Die Aufklärung dieser Verhältnisse muß einer späteren Arbeit vorbehalten bleiben.

1. Decen-(2)-säure-(1).

Schon G. Geist<sup>2</sup> hatte über Versuche mit Schimmelpilzen an der  $\alpha$ ,  $\beta$ -ungesättigten Decensäure berichtet, bei denen in gewissen  $p_H$ -Grenzen eine Ketonbildung eintrat. Es schien aber wünschenswert, durch nochmalige Untersuchungen diese Ergebnisse nachzuprüfen und zu bestätigen.

Die Decensäure wurde in Form ihres Ammonsalzes, und zwar für jeden einzelnen Versuch in einer Menge von 0,05 g der Säure angewandt.

Tabelle I. Die Bildung von Methylketon aus  $\alpha$ ,  $\beta$ -ungesättigter Decensäure.

Wasserstoffionenkonzentration	Gebildete Ketonmenge in $\gamma$ nach											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12 Tagen
$p_H = 4$	Keine Ketonbildung											
$p_H = 6$												
1. Versuch	0	0	0	0	0	18	5	5	19	0	38	0
2. „	0	0	0	0	0	5	5	5	14	0	10	0
Mittelwert	0	0	0	0	0	11,5	5	5	16,5	0	24	0
$p_H = 6,5$												
1. Versuch	0	0	0	0	14	14	19	18	6	28	0	0
2. „	0	0	0	0	10	10	39	15	0	6	0	0
Mittelwert	0	0	0	0	12	12	29	16,5	3	17	0	0
$p_H = 7,1$												
1. Versuch	28	296	364	1324	612	996	1704	1254	1968	2500	796	1310
2. „	32	190	706	756	522	1704	1456	1616	448	1480	1084	920
Mittelwert	30	243	535	1040	567	1350	1580	1335	1208	1990	940	1115
$p_H = 7,4$												
1. Versuch	160	600	1076	708	196	1016	406	1248	532	804	774	—
2. „	20	924	239	2048	592	554	402	402	900	1040	1570	—
Mittelwert	90	762	658	1378	399	785	404	825	716	922	1172	—
$p_H = 7,7$												
1. Versuch	0	24	89	152	379	222	244	156	230	170	62	156
2. „	0	8	100	282	214	206	262	348	198	252	288	250
Mittelwert	0	16	94,5	217	296	214	253	252	214	211	175	203

<sup>1</sup> Fettchem. Umschau 43, 1, 1936. — <sup>2</sup> G. Geist, Diss. München 1938.

Die bei den Untersuchungen gefundenen Werte sind in Tabelle I und Abb. 1 zusammengestellt.

Wie aus der Tabelle I zu entnehmen ist, trat eine Ketonbildung bei  $p_H$  4, 6 und 6,5 fast gar nicht ein, ganz im Gegensatz zur  $\beta$ -Oxycaprinsäure, aus der nach den Versuchen von *H. Thaler* und *G. Geist*<sup>1</sup> bei  $p_H$  6 beträchtliche Mengen von Ketonen entstanden. Bei der Decensäure erfolgte erst bei  $p_H = 7$  ein rasches Ansteigen der Ketonbildung, wobei ziemlich hohe Werte erreicht wurden. Bei  $p_H = 7,5$  zeigte sich dasselbe Bild wie bei  $p_H = 7,0$ , nur lagen die Ketonmengen etwas unter den bei  $p_H = 7,0$  gebildeten. Die Versuche bei  $p_H = 7,7$  brachten dann aber ein jähes Absinken der Ketonbildung. Es schien also tatsächlich — wie schon *G. Geist*<sup>2</sup> vermutete — so zu sein, daß aus der  $\alpha, \beta$ -ungesättigten Decensäure nur in schmalen  $p_H$ -Grenzen Keton zu entstehen vermag. Es war weiterhin bemerkenswert, daß die Ketone sich auch nach 12 Tagen und dann oft noch in beträchtlicher Menge nachweisen ließen. Bei den von *H. Thaler* und *G. Geist*<sup>1</sup> angestellten Versuchen mit gesättigten Fettsäuren und  $\beta$ -Oxysäuren war Keton nämlich im allgemeinen schon gegen den 11. Tag hin nur noch in Spuren oder überhaupt nicht mehr nachzuweisen.

Für die weiteren Versuche mit ungesättigten Säuren mußten also die Versuchsreihen über die von *G. Geist* bei der Decensäure angewandte Zeit hinausgehen, um an die zeitliche Grenze der Methylketonbildung zu kommen.

Der Kurvenverlauf zeigte die schon von anderen Autoren<sup>3</sup> beschriebene Zickzackform. Die Werte fielen jedoch, wie hier gleich erwähnt werden soll, nie bis auf Null ab, es trat vielmehr jeweils nur eine Verringerung der Ketonbildung ein.

Ein Pilzwachstum war bei  $p_H = 4, 6$  und  $6,5$  nicht zu beobachten, bei  $p_H = 7$  trat es erst vom 7. Tage an in Erscheinung, wobei aber die

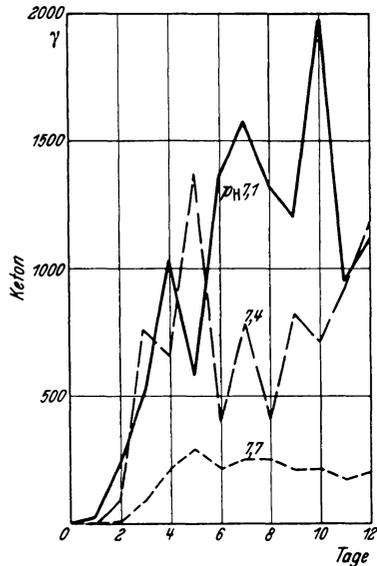


Abb. 1. Die Bildung von Methylketon aus  $\alpha, \beta$ -ungesättigter Decensäure.

<sup>1</sup> Diese Zeitschr. 302, 369, 1939. — <sup>2</sup> *G. Geist*, Diss. München 1938. — <sup>3</sup> *O. Acklin*, diese Zeitschr. 204, 253, 1929.

Ketonwerte nicht geringer wurden. Bei  $p_H = 7,4$  zeigte sich erst vom 11. Tage an ein schwaches Pilzwachstum, während dasselbe bei  $p_H = 7,7$  vollständig ausblieb.

## 2. Crotonsäure.

Als Anfangsglied der Reihe der in den natürlichen Fetten vorkommenden Säuren ist das Verhalten der Buttersäure selbst und das der hypothetischen Zwischenstufen ihres Abbaues bei der Ketonranzigkeit von besonderem Interesse. *H. Thaler* und *G. Geist*<sup>1</sup> hatten bei ihren Versuchen gefunden, daß im Gegensatz zu den Beobachtungen von *M. Staerke*<sup>2</sup> sowie von *O. Acklin*<sup>3</sup> aus dieser Säure Keton in beträchtlichen Mengen gebildet wird. Es hatte sich dann weiterhin ergeben<sup>1</sup>, daß auch die  $\beta$ -Oxybuttersäure unter Ketonbildung abgebaut wird. Es schien deshalb zweckmäßig, den Einfluß von *Penicillium glaucum* auf die  $\alpha, \beta$ -ungesättigte Säure mit vier Kohlenstoffatomen, auf die Crotonsäure, zu prüfen.

Den Versuchen wurden jeweils 0,05 g Fettsäure in Form ihres Ammoniumsalzes zugesetzt. Die Ergebnisse sind in der Tabelle II und der Abb. 2 zusammengestellt.

Wie bei der Decensäure verläuft auch bei der Crotonsäure die Ketonbildung bei annähernd neutraler Reaktion des Nährbodens am

Tabelle II. Die Bildung von Methylketonen aus Crotonsäure.

Wasserstoff- ionenkonzen- tration	Gebildete Ketonmenge in $\gamma$ nach											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12 Tagen
$p_H = 6,0$												
1. Versuch	0	31	33	89	44	198	21	92	—	65	62	116
2. „	0	0	21	78	109	118	62	140	—	113	99	223
Mittelwert	0	15,5	27	83,5	76,5	158	81,5	116	—	89	80,5	169
$p_H = 7,0$												
1. Versuch	0	0	0	45	15	38	8	—	49	48	21	92
2. „	0	0	0	79	21	86	45	—	40	65	58	36
Mittelwert	0	0	0	62	18	62	26,5	—	44,5	56,5	37	64
$p_H = 7,4$												
1. Versuch	0	0	68	77	31	17	8	0	0	47	59	45
2. „	0	0	61	72	44	14	9	16	0	72	58	59
Mittelwert	0	0	64,5	74,5	37,5	15,5	8,5	8,0	0	59,5	56	52
$p_H = 8,0$												
1. Versuch	0	0	64	15	84	5	0	0	31	8	0	24
2. „	0	0	37	12	32	10	0	0	48	12	15	17
Mittelwert	0	0	41,5	13,5	58	7,5	0	0	37	10	7,5	20,5

<sup>1</sup> Diese Zeitschr. 302, 121, 1939. — <sup>2</sup> Ebenda 151, 371, 1924. —

<sup>3</sup> O. Acklin, ebenda 204, 253, 1929.

Tabelle II (Fortsetzung).

Wasserstoff- ionenkonzen- tration	Gebildete Ketonmenge in $\gamma$ nach											
	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24 Tagen
$p_H = 6,0$												
1. Versuch	—	256	—	255	—	330	—	432	—	295	—	74
2. „	—	218	—	170	—	454	—	482	—	256	—	92
Mittelwert	—	237	—	213	—	392	—	457	—	275	—	83
$p_H = 7,0$												
1. Versuch	—	62	—	106	—	221	—	144	—	189	—	165
2. „	—	49	—	148	—	189	—	148	—	179	—	151
Mittelwert	—	55,5	—	127	—	205	—	146	—	184	—	158
$p_H = 7,4$												
1. Versuch	—	—	—	16	—	68	—	0				
2. „	—	—	—	99	—	8	—	0				
Mittelwert	—	—	—	57,5	—	38	—	0				
$p_H = 8,0$												
1. Versuch	—	31	—	26	—	43	—	0				
2. „	—	43	—	12	—	49	—	0				
Mittelwert	—	37	—	19	—	46	—	0				

stärksten, um dann im stärker alkalischen Bereich sehr rasch abzusinken. Die Ketonmengen waren bei  $p_H = 6$  am größten, wobei aber zu bemerken ist, daß der Höhepunkt der Entwicklung erst am 20. Tag erreicht wurde. Dasselbe zeigte sich bei  $p_H = 7,0$ , obwohl hier die gebildeten Ketonmengen geringer waren als bei  $p_H = 6,0$ . Bei  $p_H = 7,4$  und  $8,0$  entstand nur überaus wenig Keton.

Im großen und ganzen erscheint hier als das bemerkenswerteste Merkmal die langsam zunehmende Ketonbildung bei  $p_H = 6,0$  und  $7,0$ , welche erst am 20. Tag eine gewisse Höhe erreichte, während bei den

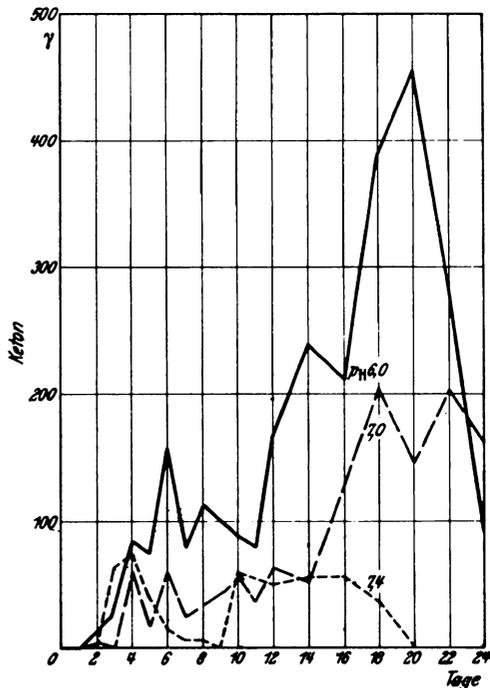


Abb. 2. Die Bildung von Methylketon aus Crotonsäure.

von *H. Thaler* und *G. Geist*<sup>1</sup> angestellten Versuchen mit Buttersäure und  $\beta$ -Oxybuttersäure schon am 9. Tage ein Absinken der Ketonwerte zu verzeichnen war.

Im Vergleich zur Hexen-, Decen- und Tetradecensäure waren, wie im voraus schon bemerkt sei, die Werte bei der Crotonsäure mengenmäßig am niedrigsten. Dieses Ergebnis steht also nicht im Gegensatz zu der von *M. Staerke*<sup>2</sup> und *A. Spiekermann*<sup>3</sup> aufgestellten These über eine gewisse Giftigkeit der niedrig molekularen Fettsäuren.

Die Kurvenform war wiederum zickzackförmig, und zwar bei  $p_H = 6$  und 7 stärker als bei  $p_H = 7,5$ .

Die Mycelbildung blieb gering. Sie war bei  $p_H = 6,0$  am stärksten, bei  $p_H = 7,0$  schwächer. Bei  $p_H = 7,5$  und 8,0 war ein sichtbares Mycel nicht mehr vorhanden. Das Wachstum des Pilzes nahm, soweit er sich überhaupt entwickeln konnte, mit der Zeit zu und hatte offenbar keinen Einfluß auf die Schwankungen der Ketonmengen.

### 3. Hexen-(2)-säure-(1).

Zu den Versuchen wurden 0,05 g der Säure in Form ihres Ammoniumsalzes zugegeben. Die Ergebnisse sind aus der Tabelle III und der Abb. 3 zu entnehmen.

Tabelle III. Die Bildung von Methylketonen aus Hexen-(2)-säure-(1).

Wasserstoff- ionenkonzen- tration	Gebildete Ketonmenge in $\gamma$ nach									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10 Tagen
$p_H = 6,0$										
1. Versuch	90	198	1148	2540	3528	1224	393	492	190	0
2. „	97	500	1696	2460	6704	2664	0	216	0	0
Mittelwert	93,5	349	1777	2500	4626	1944	196,5	354	95	0
$p_H = 7,0$										
1. Versuch	312	2010	2690	—	5188	2000	144	5940	2050	1720
2. „	365	1050	1200	—	5368	3952	1284	3162	3066	2300
Mittelwert	388,5	1530	1935	—	5278	2976	714	4551	2553	2010
$p_H = 7,5$										
1. Versuch	68	2056	—	5995	3168	3318	9120	4320	3185	5404
2. „	70	1540	—	6750	5436	3552	7200	4557	5194	6524
Mittelwert	69	1798	—	6372	4302	3435	8160	4438	4189	5964
$p_H = 7,8$										
1. Versuch	81	84	65	72	412	0	0	3920	1330	11 116
2. „	119	102	0	278	341	0	567	2706	4417	6 566
Mittelwert	100	93	32,5	499	376	0	283,5	3313	2873	8 841

<sup>1</sup> *H. Thaler* u. *G. Geist*, diese Zeitschr. 802, 121, 376, 1939. —

<sup>2</sup> *M. Staerke*, ebenda 151, 371, 1924. — <sup>3</sup> *A. Spiekermann*, Zeitschr. f. Unters. d. Lebensm. 28, 305, 1912.

Tabelle III (Fortsetzung).

Wasserstoff- ionenkonzen- tration	Gebildete Ketonmenge in $\gamma$ nach									
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20 Tagen
$p_H = 6,0$										
1. Versuch	312	0	—	84	—	68	—	0	—	0
2. „	38	76	—	100	—	64	—	0	—	0
Mittelwert	175	38	—	92	—	66	—	0	—	0
$p_H = 7,0$										
1. Versuch	3 122	2 740	—	2180	—	1004	—	1674	—	1000
2. „	2 590	3 090	—	4172	—	2130	—	1896	—	892
Mittelwert	2 856	2 915	—	3176	—	1567	—	1785	—	946
$p_H = 7,5$										
1. Versuch	10 960	9 780	—	4369	—	6980	—	5960	—	5380
2. „	10 682	11 460	—	5600	—	6440	—	5600	—	4780
Mittelwert	10 821	10 620	—	4984	—	6710	—	5780	—	5080
$p_H = 7,8$										
1. Versuch	58	8 340	—	7200	—	6520	—	6740	—	6620
2. „	6 784	7 060	—	7660	—	5700	—	7620	—	6720
Mittelwert	3 421	7 700	—	7430	—	6110	—	7180	—	6670

Die Ketonbildung war bei  $p_H = 7,5$  am größten, wo sie am 11. Tage den unverhältnismäßig hohen Wert von 10000  $\gamma$  erreichte. Bei  $p_H = 6,0$  war der Höhepunkt schon am 6. Tage überschritten, am 20. Tage konnten Ketone nicht mehr nachgewiesen werden. Im Bereich von  $p_H = 7,0$  lagen die Ketonmengen über den bei  $p_H = 6,0$  gebildeten, doch unter den bei  $p_H = 7,5$  entstandenen, wobei ebenfalls ein Absinken derselben gegen den 20. Tag hin zu bemerken war.

Die Ketonbildung erreichte bei  $p_H = 7,8$  erst am 10. Tage mit rund 9000  $\gamma$  ihren höchsten Wert. Vom 1. bis 6. Tage war sie sehr gering,

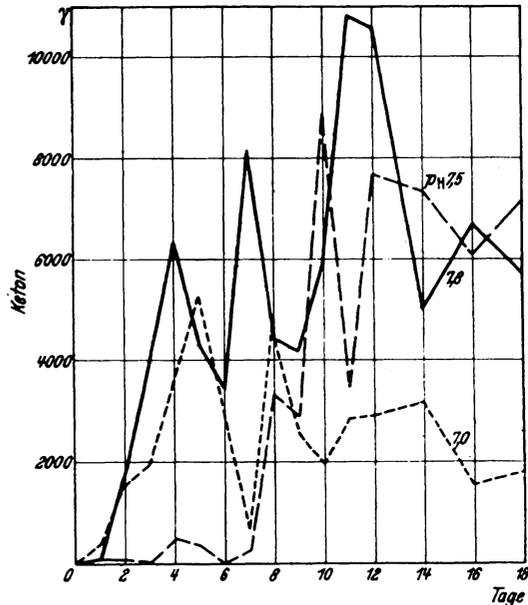


Abb. 3. Die Bildung von Methylketon aus  $\alpha$ ,  $\beta$ -ungeättigter Hexensäure.

nahm aber vom 8. Tage an sehr stark zu. Die bei  $p_H = 7,5$  und  $8,0$  angestellten Versuche lieferten noch am 20. Tage beträchtliche Mengen von Keton, wenn auch die Bildung desselben zu diesem Zeitpunkt ihren Höhepunkt wahrscheinlich schon überschritten hatte.

Auch hier trat die stärkste Ketonbildung in der Nähe des Neutralpunktes bzw. im schwach alkalischen Gebiet ein, ganz anders als bei den von *H. Thaler* und *G. Geist*<sup>1</sup> angestellten Versuchen mit gesättigten Fettsäuren und  $\beta$ -Oxysäuren, aus denen im sauren Gebiet die größten Ketonmengen entstanden. Wie bei der Decensäure zeigte sich auch diesmal, daß der Abbau der ungesättigten Fettsäuren durch Schimmelpilze sehr stark von der Reaktion des Nährbodens abhängig ist.

Über die tatsächlich entstandenen Ketonmengen geben die Tabelle III und die Abb. 3 kein absolut genaues Bild, da — wie schon früher erwähnt wurde — die Eichkurve des Stufenphotometers für Methylnonylketon aufgestellt ist, während aus der Hexensäure vermutlich Methylpropylketon entsteht, das eine etwas andere, mehr gelbstichige Färbung als das Methylnonylketon liefert. Der hierdurch bewirkte Fehler dürfte aber nicht allzu groß sein.

Der Kurvenverlauf ist bei  $p_H = 7,5$  und  $8,0$  wieder stark, bei  $p_H = 7,0$  wenig und bei  $p_H = 6,0$  fast gar nicht zickzackförmig. Bei diesen letzteren Versuchen ist nur ein einmaliges Steigen und dann sofortiges Absinken der Kurve zu verzeichnen.

Das Mycel entwickelte sich in allen  $p_H$ -Bereichen ziemlich gleich stark, ausgenommen bei  $p_H = 8,0$ , wo es außerordentlich gering war. Es wurde gewöhnlich erst am 4. Tage sichtbar und wuchs im Laufe der Beobachtungszeit langsam weiter. Eine Verringerung der Ketonbildung bei starkem Mycelwachstum, wie das *H. Thaler* und *G. Geist*<sup>1</sup> bei den gesättigten Fettsäuren und  $\beta$ -Oxysäuren gefunden hatten, war nicht festzustellen. Es schien, als ob das Mycelwachstum und die Schwankungen in der Ketonbildung unabhängig voneinander seien.

#### 4. Tetradecen-(2)-säure-(1).

Die Ketonbildung aus der wiederum in Form ihres Ammoniumsalzes, und zwar in einer Menge von jeweils  $0,05$  g, verwendeten Säure war weit stärker vom  $p_H$  des Nährbodens abhängig als bei allen bisher untersuchten ungesättigten Säuren. Die Ergebnisse sind in der Tabelle IV und der Abb. 4 aufgezeichnet.

Eine nennenswerte Ketonbildung trat eigentlich nur bei  $p_H = 7,0$  auf. Sie stieg vom 1. bis 9. Tage fast gleichmäßig an, um dann wieder

---

<sup>1</sup> Diese Zeitschr. 302, 121, 376, 1939.

Tabelle IV.

Die Bildung von Methylketonen aus Tetradecen-(2)-säure-(1).

Wasserstoffionenkonzentration	Gebildete Ketonmenge in $\gamma$ nach									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10 Tagen
$p_H = 6,0$										
1. Versuch	0	96	252	434	369	92	148	59	170	73
2. „	79	74	288	496	222	200	132	68	99	68
Mittelwert	39,5	85	270	465	295,5	146	140	63,5	134,5	70,5
$p_H = 7,0$										
1. Versuch	21	28	121	552	902	870	816	1218	1299	904
2. „	24	63	195	576	832	848	1084	744	1593	1000
Mittelwert	22,5	45,5	158	564	867	855	950	981	1446	952
$p_H = 7,5$										
1. Versuch	0	0	0	45	40	144	31	185	141	62
2. „	0	0	0	161	26	48	101	45	63	0
Mittelwert	0	0	0	103	33	96	66	115	102	31
$p_H = 8,0$	Keine Ketonbildung									
Wasserstoffionenkonzentration	Gebildete Ketonmenge in $\gamma$ nach									
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20 Tagen
$p_H = 6,0$										
1. Versuch	48	59	—	45	—	59	—	20	—	19
2. „	68	65	—	10	—	15	—	0	—	25
Mittelwert	58	62	—	27,5	—	37	—	10	—	22
$p_H = 7,0$										
1. Versuch	582	1376	—	1084	—	513	—	242	—	0
2. „	712	1026	—	904	—	435	—	576	—	40
Mittelwert	674	1201	—	994	—	474	—	409	—	20
$p_H = 7,5$										
1. Versuch	0	0	—	0	—	0	—	0	—	0
2. „	56	26	—	0	—	0	—	0	—	0
Mittelwert	28	13	—	0	—	0	—	0	—	0
$p_H = 8,0$	Keine Ketonbildung									

bis zum Nullpunkt abzusinken. In dem Bereiche von  $p_H = 8,0$  konnten Ketone überhaupt nicht mehr nachgewiesen werden. Im allgemeinen lagen die Werte weit unter den aus der Hexensäure und der Decensäure, jedoch noch über den aus der Crotonsäure entstandenen Mengen.

Der Kurvenverlauf war bei der in Rede stehenden Säure am wenigsten zickzackförmig.

Die Mycelbildung war ebenfalls geringer als bei der Hexen- und der Decensäure. Bei  $p_H = 6,0$  und  $7,0$  zeigte sich ein schwaches,

während der Beobachtungszeit zunehmendes Wachstum, während dasselbe bei  $p_H = 7,5$  und  $8,0$  gänzlich ausblieb.

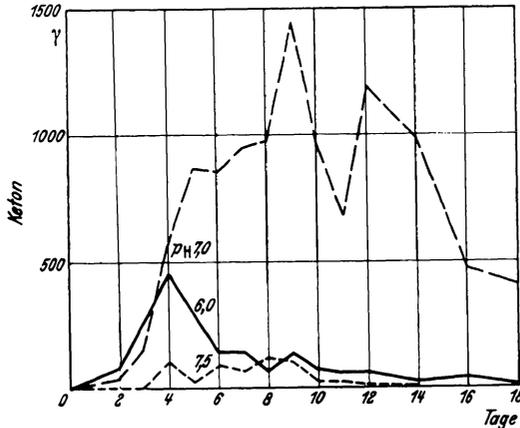


Abb. 4. Die Bildung von Methylketon aus  $\alpha$ ,  $\beta$ -ungesättigter Tetradecensäure.

### Zusammenfassung.

Die Frage nach dem Verlauf der Methylketonbildung beim Abbau gesättigter Fettsäuren wurde — wie an anderer Stelle <sup>1</sup> schon erwähnt — von fast allen Untersuchern auf verschiedene Weise zu erklären versucht. Einer der strittigsten Punkte war dabei die Frage, ob bei dieser Reaktion als Zwischenstufe  $\beta$ -Oxysäuren gebildet würden. *O. Acklin* und *W. Schneider* <sup>2</sup> konnten nämlich bei ihren Versuchen mit  $\beta$ -Oxycapronsäure eine Ketonbildung nicht feststellen, dagegen wiesen *P. D. Coppock* und *T. K. Walker* <sup>3</sup> beim Abbau von Calciumpropionat Milchsäure nach, wobei diese außerdem immer früher auftrat als die ebenfalls entstandene Brenztraubensäure. Gegen das Versuchsergebnis von *O. Acklin* und *W. Schneider* <sup>2</sup> spricht, daß sie dem Nährboden nicht nur die zu prüfenden Oxyfettsäuren, sondern auch andere organische Stoffe wie Pepton, Glucose oder Mannit als Kohlenstoffquellen zugesetzt hatten. Dem Pilz war dadurch die Möglichkeit gegeben, zuerst diese für ihn leicht angreifbaren Verbindungen zu verwerten, so daß unter Umständen die Oxysäuren unberührt bleiben konnten. Damit kommt den Untersuchungen von *P. D. Coppock* und *T. K. Walker* <sup>3</sup> die größere Wahrscheinlichkeit zu. Einen weiteren Beitrag zu dieser Frage lieferten *H. Thaler* und *G. Geist* <sup>4</sup>, die bei ihren Versuchen mit

<sup>1</sup> *H. Thaler* u. *G. Geist*, diese Zeitschr. 302, 367, 1939. — <sup>2</sup> *O. Acklin* u. *W. Schneider*, diese Zeitschr. 204, 253, 1929. — <sup>3</sup> *P. D. Coppock* u. *T. K. Walker*, J. chem. Soc. London 1928, S. 1422. — <sup>4</sup> *H. Thaler* u. *G. Geist*, diese Zeitschr. 302, 379, 1939.

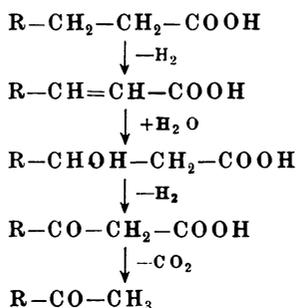
$\beta$ -Oxyfettsäuren mit 4 bis 14 Kohlenstoffatomen eine starke Ketonbildung feststellen konnten. Die Ketonmengen waren bei diesen Versuchen sogar noch größer als die aus den gesättigten Fettsäuren entstanden.

Nach dem Dehydrierungsschema von *H. Wieland*<sup>1</sup> treten aber als erste Zwischenprodukte des Abbaues von Kohlenstoffketten  $\alpha$ ,  $\beta$ -ungesättigte Säuren auf und es ist, wie schon früher auseinandergesetzt wurde<sup>2</sup>, anzunehmen, daß auch im Reaktionsverlauf der Methylketonbildung derartige Verbindungen entstehen würden.

Bei den geringen Mengen von Ketonen aber, welche von den Schimmelpilzen gebildet werden, waren die Aussichten zur Auffindung solcher Zwischenprodukte gering. Aus diesen Gründen wurden, wie das auch mit den  $\beta$ -Oxyfettsäuren geschehen war, den Pilzen  $\alpha$ ,  $\beta$ -ungesättigte Säuren als Nährstoffe gegeben. Wie die im Vorhergehenden beschriebenen Ergebnisse zeigen, unterliegen diese ebenfalls dem Abbau zu Methylketonen.

Wenn der Verlauf des Abbaues gesättigter Fettsäuren bei der Ketonranzigkeit bis jetzt auch nicht streng durch die Isolierung von Zwischenstufen bewiesen werden konnte, so ist es doch durch die Untersuchungen an  $\beta$ -Oxyfettsäuren und  $\alpha$ ,  $\beta$ -ungesättigten Fettsäuren sehr wahrscheinlich, daß er sich nach Art des *Wielandschen* Dehydrierungsschemas vollzieht:

Gesättigte Fettsäure  $\rightarrow$   $\alpha$ ,  $\beta$ -ungesättigte Fettsäure  $\rightarrow$   $\beta$ -Oxyfettsäure  $\rightarrow$   
 $\rightarrow$   $\beta$ -Ketosäure  $\rightarrow$  Methylketon



Zu den Versuchen selbst ist im einzelnen noch folgendes zu bemerken: Es wurden sämtliche verwendeten Säuren, nicht nur die mittleren Glieder der Reihe, sondern auch die niederen Vertreter derselben, wie die Crotonsäure und Hexensäure, von *Penicillium glaucum* unter Methylketonbildung abgebaut. Es konnte ferner auch hier die

<sup>1</sup> *H. Wieland*, Über den Verlauf der Oxydationsvorgänge, Stuttgart, Verlag F. Enke, 1933. — <sup>2</sup> *H. Thaler* u. *G. Geist*, diese Zeitschr. 302, 379, 1939.

Beobachtung bestätigt werden, welche *H. Thaler* und *G. Geist*<sup>1</sup> an gesättigten und  $\beta$ -Oxyfettsäuren gemacht hatten und wonach die Entstehung von Methylketonen aus diesen Stoffen stark vom  $p_H$  des Nährbodens abhängig ist. Im Gegensatz zu den gesättigten und den  $\beta$ -Oxyfettsäuren wird aber bei den  $\alpha$ ,  $\beta$ -ungesättigten Säuren der Höhepunkt der Ketonbildung nicht im sauren Medium, sondern nahe dem Neutralpunkt, d. h. zwischen  $p_H = 6,0$  und  $7,5$  erreicht. Im stärker alkalischen Gebiet sinken die Werte sofort ab. Weiterhin zeigten die Versuche, daß oft über sehr große Zeiträume hinweg von dem Schimmelpilz Ketone erzeugt werden können, so daß — wie das bei der Crotonsäure beobachtet wurde — sogar erst in der dritten Woche der Höchstwert erreicht werden kann.

Die Zickzackform der Kurven trat in der gleichen Weise wie bei den gesättigten Fettsäuren und  $\beta$ -Oxysäuren (*H. Thaler* und *G. Geist*<sup>1</sup>) in Erscheinung. Als Ausnahme ist jedoch zu erwähnen, daß das Pilzwachstum im Laufe der Beobachtungszeit zunahm und daß Zusammenhänge zwischen ihm und den Ketonwerten nicht wahrgenommen werden konnten. Es steht dies im Gegensatz zu den von *H. Thaler* und *G. Geist*<sup>1</sup> bei den gesättigten Fettsäuren und  $\beta$ -Oxysäuren gemachten Beobachtungen, wonach der Ketongehalt der Kulturflüssigkeit sich von dem Augenblick an verringerte, in dem ein vermehrtes Pilzwachstum auftrat. Andererseits konnte die von *K. Täufel*, *H. Thaler* und *M. Löweneck*<sup>2</sup> gemachte Feststellung, daß das Methylketonbildungsvermögen nach der alkalischen Seite hin wesentlich die Grenzen der Entwicklung des Pilzes überschritt, unbedingt bestätigt werden, denn bei fast allen ungesättigten Säuren konnte noch bei  $p_H = 7,5$  und  $8,0$  eine Ketonbildung nachgewiesen werden, obwohl ein sichtbares Pilzwachstum in diesem  $p_H$ -Bereiche nicht vorhanden war. Inwieweit die Entwicklung des Mycels mit dem gesamten Reaktionsmechanismus zusammenhängt, muß späteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

---

<sup>1</sup> Diese Zeitschr. **302**, 121, 376, 1939. — <sup>2</sup> Fettchem. Umschau **48**, 1, 1936.

## LEBENS LAUF.

Ich wurde am 9. Juli 1913 in Stuttgart als Sohn des 1925 verstorbenen Baurats August Eisenlohr und seiner Ehefrau Adelheid, geb. Krell, geboren. Nach Besuch der Volksschule trat ich zunächst 1921 in die Vorschulklasse des Eberhard-Ludwig-Gymnasiums in Stuttgart ein. An der vorgenannten Anstalt schloß ich 1933 meine Schulausbildung mit der Reifeprüfung ab. Darauf begann ich in der Anstaltsapotheke des Katharinenhospitals Stuttgart mein Praktikum und trat laut Vereinbarung nach Ablauf des ersten Jahres in die Internationale Apotheke am gleichen Orte über. Im März 1935 legte ich an der Württembergischen Regierung in Stuttgart mein Vorexamen mit der Note sehr gut ab. Im April 1935 begann ich mein Studium an der Universität Würzburg und wechselte nach dem ersten Semester an die Universität München über. Dort legte ich mein Staatsexamen im Februar 1938 mit Note sehr gut ab und begann mein Lebensmittel-chemisches Studium anschließend an derselben Universität. Gleichzeitig begann ich auch mit meiner Dissertationsarbeit unter Leitung von Dr. phil. habil. H. Thaler. Im Juli 1940 bestand ich mein Lebensmittelchemisches Hauptexamen mit der Note gut. Im September desselben Jahres legte ich mein Doktor-examen mit Note „magna cum laude“ ab.