

letzten Gruppe finden wir die C:C-Gruppierung verbunden mit .CO. in einem geschlossenen Ring.

In dieser Reihenfolge betrachtet zeigt jede Gruppe einen hervorstechenden Hinweis auf die nächstfolgende, und im Hinblick auf die jetzige Entwicklung der chemischen Theorie erscheint es als keine allzu kühne Hypothese, anzunehmen, dass sie eine genetische Reihe darstellen. Wir stellen nicht die Behauptung auf, dass die Physiologie der Holzbildung so erklärt werden müsse, doch glauben wir, dass dieser Hinweis ernster Erwägung werth ist.

Hrn. J. C. Chorley sprechen wir für seine werthvolle Hülfe bei dieser Arbeit unseren besten Dank aus.

#### 486. C. J. Lintner und G. Düll: Ueber den Abbau der Stärke unter dem Einflusse der Diastasewirkung.

(Eingegangen am 21. October.)

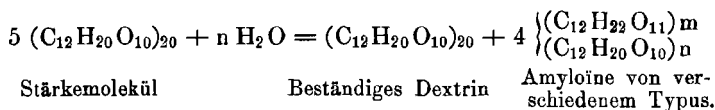
##### I. Allgemeiner Theil.

Der Zerfall der Stärke in Dextrin und Zucker hat bekanntlich seit nunmehr 8 Decennien die chemische Forschung vielfach beschäftigt, ohne dass eine befriedigende Lösung des wissenschaftlich und technisch gleich interessanten Problems erreicht worden wäre. In neuester Zeit waren es insbesondere die englischen Chemiker Brown, Heron und Morris, welche sich eingehend mit dem Gegenstande befassten und umfassende Arbeiten über denselben veröffentlichten. Es ist hier natürlich nicht der Ort, eine historische Entwicklung der Auffassungen zu geben, zu welchen jene Forscher und ihre Vorgänger gelangten; dagegen ist es nöthig, die zuletzt von Brown und Morris<sup>1)</sup> aufgestellte Hypothese über den Stärkeabbau etwas näher zu betrachten, da dieselbe gewissermaassen die Veranlassung zu der vorliegenden Untersuchung gegeben hat. Nach Brown und Morris besäße die lösliche Stärke die Molecularformel  $[(C_{12}H_{20}O_{10})_{20}]_5$ . Zu dieser Formel gelangten sie durch Schlussfolgerungen, welche auf der unzutreffenden Annahme eines Fehling'sche Lösung nicht reducirenden Dextrins  $(C_{12}H_{20}O_{10})_{20}$  beruhen. Im Stärkemolekül sollten nun 4 derartige Amylingruppen um eine 5. als molecularen Kern angeordnet sein. Im ersten Stadium der Diastasewirkung sollte dann die complexe Gruppe gepalten und es sollten alle 5 Amylingruppen in Freiheit gesetzt werden. Der centrale Kern sollte darauf der weiteren Einwirkung der Diastase widerstehen und ein widerstandsfähiges — nach Brown und Morris überhaupt

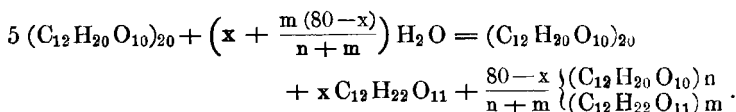
<sup>1)</sup> Journ. Chem. Soc. 1889, 449 u. 462.

das einzige — Dextrin bilden. Die 4 anderen Amylingruppen sollten dagegen, sobald sie in Freiheit gesetzt sind, in eine Reihe von Zwischenproducten zwischen Dextrin und Maltose umgewandelt werden, welche Brown und Morris als Amyloine bezeichnen, und welche sie sich aus sogen. Amylin ( $C_{12}H_{20}O_{10}$ )- und Amylon ( $C_{12}H_{22}O_{11}$ )-Gruppen zusammengesetzt denken. Solche durch schrittweise Hydratisierung entstandene Amyloine wären z. B.  $(C_{12}H_{20}O_{10})_{19} \cdot C_{12}H_{22}O_{11}$  oder auch  $C_{12}H_{20}O_{10} \cdot (C_{12}H_{22}O_{11})_{19}$ . Als typische Amyloine beschreiben Brown und Morris das Amylodextrin  $(C_{12}H_{20}O_{10})_6 \cdot C_{12}H_{22}O_{11}$  und das Maltodextrin  $(C_{12}H_{20}O_{10})_2 \cdot C_{12}H_{22}O_{11}$ ; im Bierextract nehmen Morris und Wells ein Amyloin  $C_{12}H_{20}O_{10} \cdot (C_{12}H_{22}O_{11})_4$  an u. s. f. Diese Amyloine sollten Maltose abspalten und schliesslich völlig in »freie Maltose« übergehen.

Das erste Stadium der Diastasewirkung drücken nun Brown und Morris durch folgende Gleichung aus:



Für einen beliebigen Punkt im weiteren Verlaufe des Verzuckerungsprocesses bedienen sie sich der folgenden Gleichung:



Es kann nun nicht geläugnet werden, dass gegen diese Auffassung des Verzuckerungsprocesses von vornherein mancherlei Einwände erhoben werden konnten. So musste es auffallen, dass das einzige stabile Dextrin, welches doch gleich im allerersten Stadium der Diastasewirkung entstehen und schliesslich neben Maltose noch übrig bleiben sollte, nicht in reinem Zustande dargestellt und charakterisirt wurde. Nach Brown und Morris reducirte dieses Dextrin Fehling'sche Lösung nicht, wie es auch mit Jodlösung keine Farbenreaction geben durfte. Nun haben zwar Brown und Morris<sup>1)</sup> einmal ein nicht reducirendes Dextrin beschrieben, bei dessen Darstellung von der unbegründeten Voraussetzung ausgegangen wurde, dass es unmöglich sei, das Dextrin von reducirendem Zucker zu trennen, ohne letzteren durch Anwendung chemischer Mittel zu zerstören. Sie behandelten daher das reducirende Dextrin mit alkalischer Cyanquecksilberlösung, wodurch die Reduction allerdings beseitigt wurde, allein wie Scheibler und Mittelmeier zuerst hervorgehoben<sup>2)</sup>, eben da-

1) Journ. Chem. Soc. 1885, 527. Ann. d. Chem. 231, 109.

2) Diese Berichte 33, 3074.

durch, dass sie neben etwa vorhandenem Zucker auch die reducirende Gruppe des Dextrins oxydirt haben. Aus theoretischen Erwägungen kaum denkbar musste ferner die Existenz von Amyloïnen erscheinen mit mehr als einer Amylongruppe. Endlich war es an und für sich recht unwahrscheinlich, dass bei einem unter Umständen so rapide verlaufenden Prozesse, wie der Zerfall der Stärke unter dem Einflusse der Diastase sich darstellt, eine so enorme Zahl von Zwischenproducten auftreten sollte.

Doch gab es immerhin einige in der Praxis der Gährungsgewerbe beobachtete Erscheinungen, welche durch die Annahme von Amyloïnen eine gewisse Erklärung fanden; es sind das insbesondere die Erscheinungen der Nachgährung in der Bierbrauerei. Es hatte sich nämlich herausgestellt, dass bei der Hauptgährung fast alle Maltose vergäht und die noch etwa vorhandenen kleinen Mengen derselben unzureichend sind, um eine wirksame Nachgährung zu unterhalten. Nach Brown und Morris sollten es nun gewisse Amyloïne sein, welche von der Hefe weiter zu Maltose hydratisirt und als solche vergohren werden. Diese Annahme war nicht ohne Weiteres von der Hand zu weisen und einer kritischen Prüfung wohl werth, da am Ende Körper wie  $(C_{12}H_{20}O_{10})_3 \cdot C_{12}H_{22}O_{11}$  schon existiren und diese Rolle spielen konnten. Ein geeignetes Mittel, solche Amyloïne (Maltodextrine) zu trennen und zu charakterisiren, glaubte nun der eine von uns (L.) in dem Phenylhydrazin zu erkennen, da ja die Amyloïne in der Maltosegruppe die Vorbedingung zur Osazonbildung enthalten mussten. So wurde denn zunächst Bierextract, zu dessen wesentlichen Bestandtheilen solche Amyloïne gehören mussten, mit Phenylhydrazin geprüft. In der That wurde ein Osazon erhalten, welches von Dextrosazon und Maltosazon verschieden war und recht wohl das eines Amyloïns sein konnte; allein bei genauerer Untersuchung stellte es sich heraus, dass dasselbe identisch ist mit dem von Emil Fischer <sup>1)</sup> und später von Scheibler und Mittelmeier <sup>2)</sup> beschriebenen Isomaltosazon. Es fand sich also zweifellos im Bierextracte und, wie sich weiter herausstellte, in der Bierwürze und unter den Umwandlungsproducten der Stärke durch Diastase überhaupt eine Isomaltose <sup>3)</sup>, von der zunächst noch nicht bestimmt ist, ob sie mit der von Emil Fischer und von Scheibler und Mittelmeier nachgewiesenen identisch ist, welche aber das gleiche Osazon wie diese liefert. Die Entdeckung der Isomaltose unter den Stärkeumwandlungsproducten musste sofort die Vermuthung nahelegen, dass die Amyloïne von Brown und Morris im Grossen und Ganzen Gemenge von Dextrin und Isomaltose darstellen. Diese Vermuthung wurde wesentlich bestärkt

<sup>1)</sup> Diese Berichte 23, 3687.

<sup>2)</sup> Diese Berichte 24, 303.

<sup>3)</sup> Zeitschrift für das gesammte Brauwesen 1892, 281.

einerseits durch das Studium der Eigenschaften der Isomaltose<sup>1)</sup>, andererseits durch die Erfahrungen, welche man bei der Reindarstellung<sup>2)</sup> der Isomaltose machte, wobei sich wenigstens in Bezug auf das optische Drehungsvermögen ergab, dass Körper mit einem zwischen rund  $[\alpha]_D = 200^0$  (Dextrin) und  $[\alpha]_D = 140^0$  (Maltose und Isomaltose) liegenden Drehungsvermögen unter den Stärkeumwandlungsproducten nicht vorkommen. Endlich wurde durch Schifferer<sup>3)</sup> direct der Nachweis geliefert, dass das Maltodextrin von Brown und Morris thatsächlich Isomaltose enthielt.

Nach all' diesen Erfahrungen konnten wir uns selbstverständlich der Forderung nicht entziehen, den diastatischen Prozess auch in Bezug auf die übrigen dabei auftretenden Umwandlungsproducte der Stärke eingehend zu untersuchen. Der Weg, welcher hierbei einzuschlagen war, erschien uns durch die Erfahrungen bei der Reindarstellung der Isomaltose klar vorgezeichnet. Unser Ziel musste sein, die Umwandlungsproducte zu trennen und in reinem Zustande darzustellen. Solange nur im Geringsten noch ein Anzeichen vorhanden war, dass ein Gemisch vorliegt, durften wir uns nicht zufrieden geben. Als geeignetes Mittel zur Trennung stellten sich Alkohol-Wassermischungen verschiedener Concentration heraus. Zur Charakterisirung der Körper und zur Gewinnung von Richtpunkten für die Trennung standen uns folgende Hilfsmittel zu Gebote: das optische Drehungsvermögen, die Reduction gegen Fehling'sche Lösung, die Bestimmung des Moleculargewichts nach der Raoult'schen Methode, das Phenylhydrazin und die Jodprobe. Nur durch die zweckentsprechende Anwendung aller dieser Hilfsmittel, worauf wir unten im experimentellen Theil noch besonders zurückkommen werden, ist es uns möglich geworden, die Umwandlungsproducte der Stärke beim diastatischen Prozesse zu ermitteln.

Unsere Versuche führten nun zu dem Ergebniss, dass bei der Einwirkung von Diastase auf Stärke fünf Producte auftreten: drei Dextrine, welche mit den längst bekannten und geläufigen Namen Amylo-, Erythro- und Achroodextrin bezeichnet werden können, ferner 2 Zuckerarten: Isomaltose und Maltose.

Das Amylodextrin ist als erstes Spaltungsproduct der Stärke anzusehen. Die natürliche Stärke haben wir uns als ein Gebilde höherer Ordnung vorzustellen, welches aus einer Vereinigung hochmolecularer Komplexe besteht. Durch energischen Eingriff, wie durch das Erhitzen der Stärke mit Wasser unter einem Drucke von 2.5 bis

1) Zeitschrift für das gesammte Brauwesen 1892, 6.

2) Zeitschrift für angewandte Chemie 1892, 263.

3) Inaugural-Dissertation. Kiel, Schmidt & Klaunig 1892.

5 Atm., durch die Einwirkung verdünnter Säuren oder durch Diastase zerfällt die Stärke zunächst in ihre hochmolecularen Componenten, von denen das Amylodextrin den einfachsten und bei entsprechender Einwirkung fast ausschliesslich auftretenden darstellt<sup>1)</sup>. Bei der Einwirkung von Diastase zerfällt dann im weiteren Verlaufe des Spaltungsprozesses das Amylodextrin in Erythro-, dieses geht in Achroodextrin über, welches sich in Isomaltose spaltet, worauf letztere sich in Maltose umlagert. Die Eigenschaften der vier erstgenannten Umwandlungsproducte der Stärke gestalten sich nun nach unseren bisherigen Untersuchungen folgendermaassen:

Amylodextrin,  $(C_{12}H_{20}O_{10})_{54}$ . Durch Ausfällen mit Alkohol aus wässriger Lösung, Entwässern des Niederschlages mit Alkohol abs. und Aether, und Trocknen desselben über Schwefelsäure im Vacuum wird es als ungemein lockeres weisses Pulver erhalten. Aus conc. wässrigen Lösungen (20—30 pCt.) kann es in Sphärokrystallen erhalten werden. In kaltem Wasser wenig löslich, löst es sich in heissem Wasser beinahe in jedem Verhältniss, ungemein leicht übersättigte Lösungen bildend. Concentrirte wässrige Lösungen trocknen an der Luft zu einer milchig getrübbten, glasigen Masse ein, welche sich nachher selbst in heissem Wasser nicht mehr völlig klar löst. Fehling'sche Lösung wird selbst von 10 proc. Lösung nicht reducirt. Mit Jodjodkaliumlösung giebt es eine tiefblaue Reaction. Das spec. Drehungsvermögen beträgt  $[\alpha]_D = 196$ .

Das Amylodextrin ist jedenfalls ein Hauptbestandtheil der als Amidulin, lösliche Stärke u. s. w. beschriebenen Präparate.

Unter dem Einflusse der Diastase zerfällt es zunächst in 3 Moleküle

Erythro-dextrin,  $(C_{12}H_{20}O_{10})_{18} + H_2O = (C_{12}H_{20}O_{10})_{17} \cdot C_{12}H_{22}O_{11}$ , in Wasser leicht löslich, in heissem 50 procentigem Alkohol kaum löslich. Aus heissen, alkoholhaltigen wässrigen Lösungen scheidet es sich in Sphärokrystallen ab. Es reducirt Fehling'sche Lösung, wenn auch nicht stark, doch deutlich  $R = 1$  pCt. (s. u.) s. Jodreaction: rein rothbraun.  $[\alpha]_D = 196$ . Es zerfällt durch Diastase in 3 Moleküle.

Achroo-dextrin,  $(C_{12}H_{20}O_{10})_6 + H_2O = (C_{12}H_{20}O_{10})_5 \cdot C_{12}H_{22}O_{11}$ . In Wasser sehr leicht löslich, in 70 procentigem Alkohol kaum löslich. Gelegentlich der Reindarstellung konnten wir wiederholt Sphärokrystalle beobachten, welche sich aus der heissen alkoholischen Lösung abgeschieden hatten. Wir konnten dieselben aber wegen ihrer grossen Zerfliesslichkeit nicht isoliren. Reduction gegen Fehling-

<sup>1)</sup> Ein derartiger Zerfall findet zweifellos schon bei anhaltendem Kochen von wenig Stärke mit viel Wasser statt. Auch im Stärkekleister dürfte schon Amylodextrin neben höheren Complexen vorhanden sein.

sche Lösung  $R = 10$ . Mit Jod keine Reaction.  $[\alpha]_D = 192$ . Das Achroodextrin besitzt einen sehr schwachen süßen Geschmack, so schwach, dass man ihn nicht immer wahrnimmt, während die beiden anderen Dextrine entschieden geschmacklos erscheinen.

Isomaltose,  $C_{12}H_{22}O_{11}$  (wahrscheinlich  $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$ ), ist bis jetzt nicht in krystallisirtem Zustande erhalten worden. Aus einer methylalkoholischen Lösung haben sich vor Kurzem nach längerem Stehen harte Krusten abgeschieden, welche unter dem Mikroskope ein krystallinisches Gefüge erkennen lassen. Demnach dürfte es vielleicht doch nicht allzu schwierig sein, die Isomaltose in deutlich krystallisirter Form zu gewinnen. Sie ist in Wasser ungemein leicht löslich und in 80 proc. Alkohol, sowie in Methylalkohol noch in hohem Grade. In 95 proc. heissem Aethylalkohol ist sie dagegen kaum löslich, während derselbe von Maltose noch etwa 5 pCt. auflöst. Gegen höhere Temperaturen ist sie sehr empfindlich, so dass sich ihre Lösungen selbst beim Eindampfen auf dem Wasserbade gelb färben.

Sie schmeckt intensiv süß. Ihr Reduktionsvermögen ist  $R = 80$  (auf Maltose ber. s. u.), ihr spec. Drehungsvermögen ist  $[\alpha]_D = 140$ . Sie gährt mit Hefe jedoch unter den gleichen Bedingungen erheblich schwerer als Maltose. Durch Diastase wird sie in Maltose übergeführt. Sie bildet ein sehr charakteristisches Osazon vom Schmp.  $150 - 153^\circ$ .

Beim Zerfall der Stärke durch Diastase können wir also vom Amylodextrin ausgehend folgende Stadien unterscheiden:

- I.  $(C_{12}H_{20}O_{10})_{54} + 3H_2O = 3[(C_{12}H_{20}O_{10})_{17} \cdot C_{12}H_{22}O_{11}]$
  - II.  $3[(C_{12}H_{20}O_{10})_{17} \cdot C_{12}H_{22}O_{11}] + 6H_2O = 9[(C_{12}H_{20}O_{10})_5 \cdot C_{12}H_{22}O_{11}]$
  - III.  $9[(C_{12}H_{20}O_{10})_5 \cdot C_{12}H_{22}O_{11}] + 45H_2O = 54C_{12}H_{22}O_{11} =$
  - IV.  $54C_{12}H_{22}O_{11}$  Isomaltose.
- Maltose.

Diese 4 Stadien treten nun selbstverständlich nicht getrennt nach einander in der ganzen Masse auf, sondern sie laufen neben einander her. Den Gesetzen der chemischen Massenwirkung gehorchend, werden beispielsweise Amylodextrinmoleküle bereits am Ende des Zersetzungs Vorganges angelangt sein, während andere im Beginne und wieder andere in einer mittleren Phase stehen. Es ist daher durchaus nicht befremdend, dass man gleich in den ersten Stadien des diastatischen Processes Isomaltose und Maltose nachweisen kann.

Ebenso erklären sich die violetten Abstufungen der Jodreaction aus der gleichzeitigen Anwesenheit von Amylo- und Erythro-dextrin.

Der diastatische Process verläuft bekanntlich mit abnehmender Intensität, so dass in einem bestimmten Stadium selbst unter gün-

stigen Temperaturverhältnissen kein erheblicher Zuwachs an Maltose mehr erfolgt. In dieses Stadium tritt der Process, wenn ziemlich genau  $\frac{2}{3}$  des Achroodextrins in Maltose verwandelt sind. Man kann diese Erscheinung vielleicht mit der Annahme erklären, dass in dem Augenblicke, in welchem das Erythro- in Achroodextrin zerfällt, unter günstigen Bedingungen 2 Mol. des letzteren sofort weiter in Isomaltose und Maltose zerfallen bezw. umgewandelt werden, während das 3. Molekül eine gegen Diastase widerstandsfähigere Form annimmt.

Sind die Bedingungen für die Diastasewirkung weniger günstig (bei  $70^{\circ}$ ), so gehen grössere Mengen von Achroodextrin in die stabilere Form über, während andererseits unter besonders günstigen Bedingungen (reichlich vorhandene Diastase, niedrige Einwirkungstemperatur und lange Einwirkungsdauer) auch von dem stabilen Dextrin mehr oder weniger, ja unter Umständen Alles, in Maltose übergeführt wird. Ebenso wird je nach augenblicklich herrschenden Bedingungen die Isomaltose mehr oder weniger rasch in Maltose übergeführt. Unter Bedingungen, welche ihrer Ueberführung in Maltose ungünstig sind, z. B. bei  $70^{\circ}$ , wird sie sich in grösseren Mengen anhäufen.

Auf diese Verhältnisse gedenken wir ein andermal zurückzukommen.

## II. Experimenteller Theil.

### A. Operationen zur Charakterisirung der Producte.

1. Die Bestimmung der Trockensubstanz. Für die Untersuchung einer jeden Fraction ist es vor Allem erforderlich, deren Gehalt an Trockensubstanz zu ermitteln.

Zu diesem Zwecke bedienen wir uns meist kleiner Saccharometer nach Balling, welche in  $\frac{1}{10}$  Grade getheilt sind und Skalentheile von 0—7, 7—14 und 14—21 $^{\circ}$  trugen.

Selbstverständlich war für die saccharometrische Prüfung der Alkohol durch Verdampfen auf dem Wasserbade zu entfernen.

Für genaue Untersuchungen, wie für die Bestimmung der Constanten bei den reinen Producten, waren wir auf die directe Bestimmung der Trockensubstanz angewiesen, indem wir 2—3 g einer annähernd 10 proc. Lösung in weithalsigen, mit eingeschliffenen Stopfen versehenen Gläschen bei  $100^{\circ}$  (bezw.  $60^{\circ}$ ) bis zur Gewichtsconstanz trockneten. Bei den Dextrinen bietet diese Operation keine Schwierigkeit, da sich dieselben bei  $100^{\circ}$  nicht verändern. Bei der Isomaltose dagegen, welche sehr empfindlich gegen höhere Temperaturen ist, ist es nicht rathsam, über  $60^{\circ}$  hinauszugehen. Zudem nimmt man das Trocknen bei jener Temperatur am besten im Vacuum oder in einem trocknen Luftstrom vor. Gleichwohl dauert es sehr lange bis

Gewichtsconstanz erreicht ist. Eine schwache Gelbfärbung des Trockenrückstandes lässt sich meist nicht vermeiden.

2. Die Bestimmung des specifischen Gewichtes wässriger Lösungen (für die genaue Berechnung des specifischen Drehungsvermögens erforderlich) nahmen wir in enghalsigen Pyknometern (50 g-Fläschehen) bei 17.5° C. vor.

3. Das specifische Drehungsvermögen wurde stets in annähernd 10procentigen Lösungen mittels eines Laurent'schen Halbschatten-Apparates von Schmidt & Hänsch ermittelt. Sofern uns das specifische Drehungsvermögen lediglich zur Orientirung bei der Trennung der noch unreinen Producte diente, konnten wir uns bei der Berechnung desselben direct der Angaben des Saccharometers bedienen, da es sich doch nur um relative Zahlen handelte. Für eine genaue Bestimmung desselben bei den reinen Producten wurde, wie bereits erwähnt, die Trockensubstanz direct bestimmt und mittels des spec. Gewichtes auf das Volumen der Lösung berechnet.

4. Das Reductionsvermögen gegen Fehling'sche Lösung wurde stets auf gewichtsanalytischem Wege bestimmt und auf Maltose berechnet (E. Wein, Tabellen zur quantitativen Bestimmung der Zuckerarten, Stuttgart. Verlag von Max Waag 1888. Tab. II). R bezeichnet daher das Reductionsvermögen, angegeben in Procenten des Reductionsvermögens der Maltose. Bei den Dextrinen oder bei Gemischen von einem spec. Drehungsvermögen  $[\alpha]_D = 189$  an wurden stets 10 ccm einer 10procentigen Lösung + 15 ccm Wasser auf 50 ccm Fehling'sche Lösung angewendet. Bei Lösungen von  $[\alpha]_D = 140$  kamen 25 ccm einer annähernd 1procentigen Lösung zur Verwendung.

5. Die Moleculargewichtsbestimmung nach Raoult bietet ein ausgezeichnetes Hülfsmittel für die Charakterisirung der hier in Rede stehenden Körper. Wir bedienten uns des einfachen Beckmann'schen Apparates. Bei dem zum Theil sehr hohen Moleculargewichte unserer Körper mussten wir Lösungen von annähernd 10 pCt. Trockensubstanzgehalt anwenden. Wir haben stets etwa 25 ccm der Lösung, deren Trockensubstanzgehalt genau ermittelt war, in das Gefriergefäss gebracht, nachdem zuvor der Gefrierpunkt des Wassers, von welchem zur Bereitung der Lösung verwendet wurde, ermittelt war. Die trockene Substanz, wie sonst üblich, zu dem im Gefriergefäss befindlichen Lösungsmittel nachträglich hinzuzufügen, geht bei den Dextrinen und der Isomaltose nicht an.

6. Die Osazonprobe dient zum Nachweis von Isomaltose und Maltose. Man kann mittels Phenylhydrazin in Isomaltoselösungen zuweilen noch Maltose nachweisen, wenn durch die Reduction die Anwesenheit letzterer nicht mehr constatirt werden kann. Die Dextrine geben entsprechend ihrem Reductionsvermögen zwar auch Osazone, allein dieselben sind in Wasser sehr leicht löslich und



konnten weder aus Wasser noch aus verdünntem Alkohol krystallisiert erhalten werden. Durch absoluten Alkohol werden sie aus ihrer wässerigen Lösung gefällt. Man gewinnt sie nach dem Trocknen und entsprechender Behandlung als hellgelbes Pulver, von dem wir indessen Analysen noch nicht ausgeführt haben. Eine eigenthümliche Erscheinung zeigen Lösungen, welche ungefähr gleiche Theile von Achroodextrin und Isomaltose enthalten. In diesem Falle scheiden sich beim Abkühlen die Osazone beider als gallertige Masse aus, während in reinen Achroodextrinlösungen und in reinen Isomaltoselösungen eine Gallertbildung niemals stattfindet.

Erstere bleiben völlig klar, aus letzteren scheidet sich Isomaltosazon in der charakteristischen krystallinischen Form aus. Zur Osazonprobe verwendet man bei Isomaltose<sup>1)</sup> am besten eine 20 procentige Lösung, welche man mit 2 Theilen essigsauerm Phenylhydrazin (gleiche Gewichtsmengen von 50 procentiger Essigsäure und Phenylhydrazin) auf 1 Theil Trockensubstanz 1½ Stunde im Wasserbad erhitzt. Häufig erfolgt die Abscheidung des Isomaltosazons erst auf Zusatz des doppelten Volumens kalten Wassers. Um bei Gegenwart von Dextrin zum Zwecke leichteren Filtrirens eine bessere Krystallisation zu erzielen, empfiehlt es sich, das ausgeschiedene Osazon durch Erhitzen der Flüssigkeit gleich wieder in Lösung zu bringen und darauf langsam erkalten zu lassen. Maltosazon scheidet sich, wenn es in irgend erheblicher Menge vorhanden ist, beim Abkühlen des Reaktionsgemisches sofort aus. Die Eigenschaften des Isomaltosazons haben wir, wie bereits erwähnt, übereinstimmend mit denen des Isomaltosazons von Emil Fischer gefunden. Sie sollen der Vollständigkeit halber hier noch einmal kurz angegeben werden: Das durch Umkrystallisiren aus Wasser gereinigte Osazon besteht aus ungemein feinen, zu kugeligen Aggregaten vereinigten dottergelben Nadelchen, welche beim Trocknen auf Thon oder über Schwefelsäure sich orangeroth färben und nach weiterem Trocknen bei 100° zu einem dunkelgelben Pulver zerreiblich sind. Das Osazon beginnt bei 138—140° zu sintern und schmilzt bei 150—153°. Im Wasser und namentlich in Alkohol ist es viel leichter löslich als Maltosazon, von welchem es sich ausserdem durch den Schmelzpunkt und die Art zu krystallisiren wesentlich unterscheidet.

6. Die Jodreaction. Wie bereits erwähnt, geben Amylo- und Erythro-dextrin eine blaue bzw. rein rothbraune Reaction mit Jod-Jodkaliumlösung. Gemenge der beiden Dextrine geben natürlich alle Abstufungen von Violet. In der Literatur ist nun vielfach die Angabe verbreitet, dass Erythro-dextrin eine grössere Anziehung auf

---

<sup>1)</sup> Bei isomaltosehaltigen Dextrinen wendet man zweckmässig nur die für Isomaltose erforderlichen Mengen Phenylhydrazin an.

das Jod ausübe als Amylodextrin. Das ist nicht richtig. Man kann sogar eine Spur von Amylodextrin in Erythrodextrinlösungen mit Jod nachweisen, wenn man eine stark verdünnte (schwach gelb gefärbte) Jod-Jodkaliumlösung tropfenweise zusetzt; es tritt dann zunächst bei Anwesenheit von Amylodextrin eine deutlich wahrnehmbare reine blaue Färbung auf und erst wenn man mehr zusetzt und die Spuren von Amylodextrin bereits mit Jod gesättigt sind, erscheint die Reaction des Erythrodextrins; hat man dagegen neben viel Amylodextrin nur sehr wenig Erythrodextrin, so muss man die Dextrinlösung sehr stark verdünnen und mit einer concentrirteren Jodlösung prüfen, damit der rothe Farbenton zum Vorschein kommt.

*B. Die Gewinnung des Ausgangsmaterials für die Darstellung der Dextrine und der Isomaltose.*

Als Rohmaterial diene uns Prima-Kartoffelstärke. Bei der Einwirkung der Diastase auf das Stärkemehl arbeiteten wir unter verschiedenen Bedingungen theils mit Malz direct, theils mit Malzauszügen, theils mit gefälltter Diastase, dann bei gewöhnlicher Temperatur, bei 55—57°, bei 65° und bei 70°. Niemals konnten wir andere als die 5 oben genannten Umwandlungsproducte der Stärke ermitteln.

Für die Darstellung der Dextrine und der Isomaltose erwies sich folgendes Maischverfahren als das zweckmässigste:

Auf 100 Theile Stärke nimmt man 500 Theile Wasser und 5 bis 6 Theile Luftmalz. Die Maischtemperatur ist 70° C.

Die Kartoffelstärke wird mit der Hälfte des zu verwendenden feinen Malzschrotes vermengt und darauf die Masse mit ungefähr der gleichen Menge Wasser von 60° C. zu einem steifen Brei verrührt oder vielmehr mit den Händen geknetet. Letzteren trägt man möglichst rasch unter beständigem Rühren in den Rest des nahe zum Sieden erhitzten Wassers ein. Die Temperatur sinkt dabei auf die gewünschte Höhe von 70° C. Die Verflüssigung der Stärke erfolgt fast momentan. Den Rest des Malzschrotes giebt man in kleinen Portionen zu und zwar je nachdem man Amylo-, Erythro- oder Achroodextrin darstellen will, nur zum Theil oder ganz. Ebenso unterbricht man durch Aufkochen die Diastasewirkung, je nachdem man Amylo-, Erythro- oder Achroodextrin darstellen will bei der blauen bzw. rothbraunen Jodreaction oder erst nach dem Verschwinden derselben. Dieses Verfahren mit dem directen Zusatze von geschrotetem Malze empfiehlt sich bei der Verarbeitung von grossen Mengen Stärkemehl (von etwa 5 kg) in einer Operation. Bei kleineren Mengen stellt man zweckmässiger einen wässrigen Auszug vom Malze (auf 1 Theil Malz 4 Theile Wasser) dar, mit dem man dann die Stärke anrührt. Wesentlich ist die Maischtemperatur von 70° C.

*C. Die Trennung und Reindarstellung der Stärkeumwandlungsproducte.*

Zur Trennung der Stärkeumwandlungsproducte fanden wir Alkohol-Wassermischungen verschiedener Concentration zweckmässig. Die Dialyse erwies sich, obwohl man mit Anwendung derselben ziemlich reine Maltose und Isomaltose gewinnen kann, als zu zeitraubend. Die Gährung, welche wir anfangs zur Beseitigung der Maltose glaubten verwenden zu können, wendeten wir später nur in beschränktem Maasse an, da dieselbe zu erheblichen Verlusten an Isomaltose führte, ohne dass die Maltose selbst vollständig konnte vergohren werden.

Im Allgemeinen verfahren wir stets in der Weise, dass wir den zur Trennung zu verwendenden Syrup heiss mit soviel Alkohol sättigten, als er, ohne Dextrin auszuscheiden, aufnehmen konnte. Der alkoholgesättigte Syrup, welcher eine gewisse Dünflüssigkeit besitzen musste, wurde dann unter Umrühren oder Umschütteln in eine bestimmte Menge heissen Spiritus von bestimmter Stärke gegossen, worauf man die Mischung unter wiederholtem Umschütteln erkalten liess. Man erzielte so zwei Fractionen, von denen die eine in Lösung blieb, die andere sich als syrupöser Bodensatz ausschied. Die eine oder die andere oder auch beide Fractionen wurden dann analysirt. Es zeigte sich nun, dass man bei der Fällung über eine gewisse Concentration der Lösung und eine bestimmte Alkoholstärke nicht hinausgehen darf, wenn man in der Trennung fortschreiten will. Lässt man diese Vorsicht ausser Acht, so kann man aus einem Syrup eine ganze Reihe von Fractionen abspalten, welche alle die gleichen analytischen Daten ergeben und gleichwohl ein Gemenge darstellen. Diese Erscheinung hat gewiss schon wiederholt dazu geführt, die Fractionsproducte als einheitliche Körper anzusehen.

Die wässrigen Lösungen der Producte wurden, so oft es eine mehr oder weniger starke Färbung wünschenswerth erscheinen liess, mit Thierkohle behandelt.

Im Besonderen möge über die Trennung und Reindarstellung der Körper Folgendes mitgetheilt werden:

1. Die Reindarstellung des Amylodextrins bietet bei dessen günstigen Lösungsverhältnissen am wenigsten Schwierigkeiten. Die vom Maischen herrührende 20procentige Lösung (dünnere Lösungen werden auf 20 pCt. concentrirt) wird heiss mit heissem Alkohol gesättigt, so dass eine etwa 10procentige Lösung in 40procentigem Alkohol entsteht. Letztere wird durch Glaswolle filtrirt zur Entfernung etwa vorhandener Kleisterklümpchen und anderer Verunreinigungen. Aus dem Filtrate scheiden sich nach dem Erkalten etwa  $\frac{2}{3}$  der Trockensubstanz als ziemlich reines Amylodextrin (F I) ab.

Die Lösung enthält neben den übrigen Stärkeumwandlungsproducten der Hauptmenge nach noch Amylodextrin, welches sich beim Eindampfen der Lösung auf dem Wasserbade in Sphärokrystallen abscheidet (F II). Fraction I (F I) wird nun wieder heiss in 10procentiger Lösung mit 40 bis 30procentigem Alkohol behandelt, d. h. es wird der Syrup mit Alkohol heiss gesättigt und in so viel heissen verdünnten Alkohol gegossen, dass die Flüssigkeit ca. 40 bis 30procentigen Alkohol und 10 pCt. Trockensubstanz enthält. Diese Operation wird mit der beim Erkalten sich ergebenden Ausscheidung 8—10 mal wiederholt. Meist wird man nach der 7. Fraction reines Amylodextrin vor sich haben. Bei Fraction II (F II), welche die Hauptmenge der Nebenproducte enthält, nimmt man zuerst 2 bis 3 Fractionen mit 60procentigem Alkohol vor, um zu grosse Verluste an Amylodextrin zu vermeiden, und geht dann erst auf 30 pCt. in 10procentiger Lösung über. Um ganz sicher zu sein, dass unser Amylodextrin keine anderen Producte mehr enthielt, haben wir noch in einem speciellen Falle Fractionen mit 25procentigem Alkohol in 5procentiger Lösung ausgeführt. Die drei Fractionen, welche wir in dieser Weise abspalteten, ergaben bei der Analyse folgende Werthe:

Spec. Drehungs- vermögen	Reduction	Moleculargewicht
$[\alpha]_D = 196.1$	0	17600
» = 196.8	0	17900
» = 196	0	17000
		17750 ber. $(C_{12}H_{20}O_{10})_{34}$ 17496.

2. Bei der Darstellung des Erythroextrins hat man es meist schon mit einem spec. Drehungsvermögen = 165—170° und einer Reduction von 50 pCt. zu thun. Die nach beendeter Diastasewirkung sich ergebende heisse Flüssigkeit wird mit heissem Alkohol gesättigt und im Heisswassertrichter filtrirt. Das Filtrat concentrirt man — am besten im Vacuumdestillirapparat — zur Syrupconsistenz. Der Syrup wird nun zur Entfernung des Zuckers wiederholt in anfangs 30- später 20procentiger Lösung mit 70 pCt. heissem Alkohol behandelt, d. h. es wird der mit Alkohol heiss gesättigte Syrup in so viel heissen verdünnten Alkohol gegossen, dass die Mischung nachher 30 bezw. 20 pCt. Trockensubstanz und 70procentigen Alkohol enthält. In diesem Stadium giebt das spec. Drehungsvermögen Aufschluss über den Fortgang der Reinigung. Ist die Hauptmenge des Zuckers entfernt und das spec. Drehungsvermögen auf etwa 189° gestiegen, so entfernt man durch wiederholte Fractionirung mit 70 bis 60procentigem Alkohol in 10procentiger Lösung das Achroodextrin. Die letzten Spuren desselben bringt man aber erst durch Fractionirung in 5—2procentiger Lösung mit 60—50procentigem Alkohol weg. Den Fortgang der Reinigung verfolgt man im zweiten und letzten Stadium durch Bestimmung des Reductionsvermögens der einzelnen Fractionen.

Die letzten Fractionen ergaben uns folgende analytische Werthe:

$[\alpha]_D$	Reduction	Moleculargewicht	
196	0.96	5600	} 5786 ber. $(C_{12}H_{20}O_{10})_{18} + H_2O$ 5850.
196	1.16	6000	
196	1.10	5760	

3. Zur Darstellung von Achroodextrin wird die von der Diastasewirkung herrührende Flüssigkeit filtrirt und darauf zum Syrup concentrirt. Der Syrup wird zunächst zur Entfernung von Erythro-dextrin zwei bis drei Mal in 20—30 pCt. Lösung mit 60—70procentigem Alkohol behandelt. Es hat sich nämlich wiederholt herausgestellt, dass, trotzdem eine Jodreaction nach der Einwirkung der Diastase nicht mehr erhalten wurde, doch immer noch kleine Mengen von Erythro-dextrin vorhanden waren, welche erst bei der Trennung der Reactionsproducte in die Erscheinung traten. Die Lösung von der Abscheidung des Erythro-dextrins wird im Vacuumdestillir-apparat zum Syrup eingedampft. Letzterer wird nun zunächst mit 90—85 procentigem Alkohol in 20procentiger Lösung so lange behandelt, bis das Reductionsvermögen der Auszüge (des in Lösung gebliebenen Antheils) auf etwa  $R = 20$  gefallen ist. Nun fractionirt man weiter mit 80procentigem Alkohol in 10procentiger Lösung, bis die Auszüge, welche mit fortschreitender Reinigung immer kleiner werden, die gleichen analytischen Daten geben, wie die Hauptfraction.

Wir gelangten hierbei zu folgenden Werthen:

$[\alpha]_D$	Reduction	Moleculargewicht	ber. $(C_{12}H_{20}O_{10})_6 + H_2O$
191.6	10.3	1800	} 1963      1962
192.0	10.0	2100	
192.6	10.1	1990	

4. Die Darstellung der Isomaltose bereitet, wie begreiflich, am meisten Schwierigkeiten. Als Ausgangsmaterial kann man alle Auszüge von der Achroo- und Erythro-dextringewinnung mit einem Drehungsvermögen bis  $143^\circ$  verwenden. Will man ausschliesslich Isomaltose darstellen, so geht man bei der Einwirkung der Diastase nur bis zur rothen Jodreaction. Bei Verarbeitung von Achroo-dextrinauszügen ist es nicht unzweckmässig, einen Theil der Maltose durch eine kurze Gärung mit reiner Hefe wegzuschaffen. Ausserdem nimmt man besser Abstand von der Gärung, da diese stets mit Verlusten an Isomaltose verknüpft ist und eine vollständige Beseitigung der Maltose ohne Anwendung grosser Hefemengen doch nicht gelingt. Man verfährt dann foldendermaassen: der rohe Syrup wird zur Entfernung der Hauptdextrin- und Maltosemengen wiederholt mit 85—90procentigem Alkohol in 10—20procentiger Lösung behandelt. Die Ausscheidungen mit einem Drehungsvermögen von ca.

140° werden gesammelt und vereinigt, um mit Methylalkohol weiter gereinigt zu werden. Zu dem Behufe wird der möglichst concentrirte Syrup in heissem Methylalkohol gelöst und unter Umschütteln Aethylalkohol abs. in einer Menge zugesetzt, dass nur eine mässige Ausscheidung erfolgt. Letztere wird meist noch ein Drehungsvermögen von ca. 150° zeigen. Man fährt nun fort, zu der abgegossenen Flüssigkeit Alkohol abs. hinzuzufügen, wobei man zunächst etwas grössere Ausscheidungen hervorrufen kann. Alle Ausscheidungen mit  $[\alpha]_D = 140$  und  $R = 80-82$  werden wieder vereinigt. Sie stellen meist schon eine sehr reine Isomaltose dar, welche höchstens noch Spuren von Maltose enthält. Man prüft auf letztere, indem man von dem Syrup mit 90procentigem Aethylalkohol in 30procentiger Lösung einen Auszug bereitet und aus diesem Osazon herstellt. Wir betrachten die Isomaltose als rein, wenn aus dem so erhaltenen Osazon durch zweimalige fractionirte Krystallisation keine Fraction mit einem höheren Schmelzpunkt als 150° erhalten wird. Lässt sich noch Maltose nachweisen, so bleibt nichts anderes übrig als die oben beschriebene Behandlung des Syrups mit Methyl- und Aethylalkohol zu wiederholen. Wir bemerken, dass wir die Darstellung der Isomaltose mit Anwendung von Methylalkohol sorgfältiger auszuarbeiten gedenken, insbesondere mit Rücksicht auf die Gewinnung von krystallisirtem Zucker.

Die Analyse der reinen Isomaltose führte zu folgenden Werthen:

$$[\alpha]_D = 140$$

$$\text{Red.} = 80$$

Moleculargewicht.

Die Moleculargewichtsbestimmungen, welche wir bei einer grossen Anzahl von Präparaten durchführten, ergaben von 340 bis 363 liegende Werthe. Letztere — bei mehreren Präparaten erhalten — würden dafür sprechen, dass der Isomaltose in Lösung die Zusammensetzung  $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$  zukommt. Diese Frage wird leicht zu entscheiden sein, wenn wir erst im Besitze krystallisirten Materials sind.

Die Verbrennung des Isomaltosazons ergab:

Analyse: Ber. für  $C_{24}H_{32}N_4O_{11}$ .

Procente: C 55.38, H 6.15, N 10.77.

Gef. » » 55.20, » 6.50, » 10.95.

Fassen wir die Ergebnisse der vorstehenden Untersuchung kurz zusammen, so lassen sich folgende Sätze aufstellen.

1. Die Hypothese von Brown und Morris über den Stärkeabbau kann nicht mehr länger aufrecht erhalten werden.

2. Die sogen. Amyloine oder Maltodextrine stellen sich theils als Gemenge von Dextrinen mit Isomaltose dar, theils sind sie mit diesen identisch.

3. Als einzige charakterisierbare Umwandlungsproducte der Stärke durch Diastase konnten 3 Dextrine (Amylo-, Erythro- und Achroodextrin) und 2 Zuckerarten (Isomaltose und Maltose) nachgewiesen werden.

4. Der Umstand, dass vor der Maltose stets die Isomaltose auftritt, legt die Annahme nahe, dass die Dextrine und damit die Stärke aus Isomaltosegruppen zusammengesetzt sind.

Mit dem Studium des Abbaues der Stärke unter dem Einflusse von Säure sind wir zur Zeit beschäftigt. Wir hoffen, in nicht allzu ferner Zeit darüber berichten zu können.

München, im August 1893.

#### 487. H. Wichelhaus: Ueber $\alpha$ - und $\beta$ -Naphtalin-Indigo.

(Vorgetragen in der Sitzung vom 23. October vom Verf.)

Nachdem die verschiedenen Indigo-Synthesen dazu geführt haben, auch neue Indigo-Arten, die das Benzol zur Grundlage haben, herzustellen, blieb die Frage offen, ob man diese Reactionen auf Naphtalin übertragen, also zu Naphtalin-Indigo gelangen könne.

Dies ist mehrfach versucht worden, namentlich unter Benutzung der Heumann'schen Indigo-Synthese, jedoch ohne Erfolg. Auch ich kann bestätigen, dass eine einfache Uebertragung des angeführten Verfahrens nicht zum Ziele führt.

Dennoch kann man nicht sagen, dass die Sache so liegt, wie bei der Einwirkung von Glyoxal auf aromatische Amine, welche aus Anilin das Anilid der Anilidoessigsäure, dagegen aus Naphtylamin Naphtoxindol, also ganz verschiedene Verbindungen entstehen lässt<sup>1)</sup>. Vielmehr gelingt es, Naphtalin-Indigo und zwar in isomeren Formen herzustellen, wenn man, wie folgt, arbeitet.

Eine grössere Menge von wasserfreiem Natriumacetat, 50 Gewichtstheile, wird mit etwas gewöhnlicher Essigsäure, verrieben und nach einiger Zeit, wenn die Masse wieder trocken geworden, mit 16 Gewichtstheilen Chloressigsäure und 24 Gewichtstheilen  $\alpha$ - oder  $\beta$ -Naphtylamin in einem geräumigen eisernen Gefäss unter beständigem Umrühren zusammengeschmolzen. Bei etwa 120° tritt starkes Aufschäumen und schliesslich gegen 180° Gelbwerden der Masse ein, die nun schnell wieder zusammenfällt und fast trocken wird. Dann giebt man unter fortgesetztem Umrühren Kali, 50 Gewichtstheile, pulverisirt oder in kleineren Stücken, zu und steigert die Temperatur bis gegen 290°, indem man für freien Abzug der von 220° stark auftretenden

<sup>1)</sup> O. Hinsberg, diese Berichte 21, 110.