

Unterschied ist höchst wahrscheinlich auf eine kleine Beimengung von Alizarinmonomethyläther zurückzuführen.

Die Synthese von substituirten Benzoylbenzoëssäuren, welche sich unter dem Einfluss von conc. Schwefelsäure so leicht in hydroxylierte Anthrachinonderivate überführen lassen, scheint mir auch ein gewisses pflanzenphysiologisches Interesse zu besitzen. Verschiedene Anthrachinonabkömmlinge werden in der Pflanzenwelt gebildet, ohne dass dieselbe den gewaltsamen Eingriff von starken Mineralsäuren, Metallsalzen nöthig hätte. Es liegt hier eine Andeutung, wenn auch sehr von dem natürlichen Wege abweichende, zur Förderung der Frage nach der Assimilation und Umwandlung des Kohlenstoffs in dem Zellengewebe des Pflanzenorganismus vor.

Diese Synthese des Alizarins aus Hemipinsäure soll demnächst auf die Phenoläther ausgedehnt werden.

Genf, Universitätslaboratorium.

292. Emil Fischer: Ueber den Einfluss der Configuration auf die Wirkung der Enzyme III.

[Aus dem I. Berliner Universitäts-Laboratorium.]

(Eingegangen am 11. Juni.)

Dass die Spaltung der Glucoside durch die Enzyme der Hefe und das Emulsin in hohem Grade von der Configuration des Moleküls abhängig ist, habe ich bereits an zahlreichen Beispielen gezeigt¹⁾. Von den Aldosiden waren nur die Derivate des Traubenzuckers angreifbar und auch bei diesen bestand ein scharfer Unterschied zwischen α - und β -Verbindungen. Derselbe Gegensatz trat bei Maltose und Milchzucker zu Tage. Die neueren Versuche, welche ein viel grösseres synthetisches Material umfassen, haben das allgemeine Princip durchaus bestätigt, machen aber eine beachtenswerthe Erweiterung der Specialsätze nothwendig. Als wichtigstes Ergebniss derselben ist die Spaltung des β -Methylgalactosids²⁾ durch Emulsin hervorzuhelen. Der Versuch ist interessant genug, um ausführlich mitgetheilt zu werden. 1 Theil des Galactosids wurde in 10 Th. Wasser gelöst, mit 0.2 Th. Emulsin versetzt und während 3 Tagen auf 33° erwärmt. Es waren dann 35 pCt. des Materials in Zucker verwandelt. Bei Anwendung der doppelten Menge Emulsin stieg die Spaltung auf 60 pCt.

¹⁾ Diese Berichte 27, 2985 und 3479.

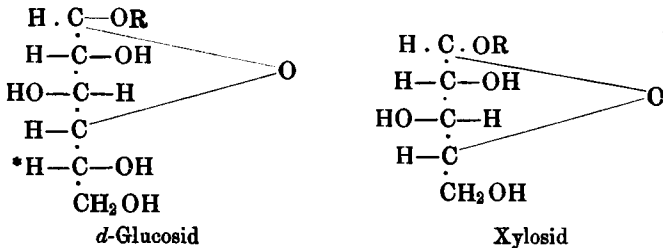
²⁾ Ebend. 28, 1155.

Diese Erfahrung steht nun in schönstem Einklang mit den früheren Beobachtungen über die Wirkung des Emulsins auf den Milchsucker, welcher nach meiner Auffassung ebenfalls ein Galactosid ist und von dem ich jetzt weiter behaupten möchte, dass er der β -Reihe angehört; denn das α -Methylgalactosid wird von dem Enzym gar nicht angegriffen.

Besonders interessant aber scheint mir die Thatsache, dass das Emulsin in seiner Wirkung nicht auf die Derivate des Traubenzuckers beschränkt ist, sondern sich ebenso gut der Galactose anpasst. Es übertrifft darin sowohl die Maltase ¹⁾ wie die Lactase und nähert sich den Mikroorganismen, z. B. den Bierhefen, welche ja auch drei Aldosen von verschiedener Configuration: den Traubenzucker, die *d*-Mannose und *d*-Galactose vergähren. Um diesen Vergleich zu Ende führen zu können, wäre es sehr erwünscht, dass noch das zweite Methyl-*d*-Mannosid aufgefunden würde; vielleicht ist dasselbe im Gegensatz zu der schon bekannten Verbindung ²⁾ auch durch Emulsin leicht spaltbar.

Ganz indifferent gegen Emulsin und Hefen-Auszug erwiesen sich in Uebereinstimmung mit den früheren Beobachtungen die Methyl-derivate der Glucoheptose, Rhamnose, Arabinose und Xylose ³⁾.

Bei den Xylosiden wäre auch das Gegentheil nicht auffällig gewesen, denn ihre Configuration ist derjenigen der *d*-Glucoside sehr ähnlich, wie folgende Formeln zeigen:



¹⁾ Für das schon im Jahre 1883 beobachtete Maltose spaltende Enzym in *Aspergillus niger* hat E. Bourquelot 1893 (Bull. d. l. société mycol. de France 9, p. 230) den Namen Maltase vorgeschlagen. Da derselbe zweifellos besser ist, als das Wort Glucose, welches für das von Cuisinier im Mais gefundenen Enzym seit einigen Jahren gebraucht wird, so halte ich es für richtig, ihn anzunehmen, selbst auf die Gefahr hin, dass dadurch zunächst einige Verwirrung entsteht.

Die verschiedenen Maltasen, welche zweifellos existiren, wären dann nach dem Ursprung Mais-Maltase, Hefen-Maltase u. s. w. zu nennen.

²⁾ Diese Berichte 27, 3482. Nur bei sehr langer Einwirkung des Emulsins ist hier eine schwache Hydrolyse nachzuweisen.

³⁾ Diese Berichte 28, 1156 ff.

Wenn trotzdem die beiden Methylxyloside weder von Hefenzym noch von Emulsin angegriffen werden, so müssen wir daraus folgern, dass die gesammte Configuration der *d*-Glucoside durch das vierte mit * markirte asymmetrische Kohlenstoffatom noch wesentlich beeinflusst wird.

Dass bei den Ketosiden ähnliche Unterschiede, wie bei den Aldosiden bestehen, wird durch die jetzt vorliegenden Beobachtungen ebenfalls sehr wahrscheinlich gemacht. Denn im Gegensatz zum Methylsorbosid, welches sowohl gegen Hefen-Infus wie gegen Emulsin beständig ist, wird das auf dem gleichen Wege gewonnene Derivat der Fructose, welches allerdings bisher nicht krystallisirt und analysirt werden konnte, durch Hefenauszug in reichlicher Menge gespalten. Den Grund dafür erblicke ich auch hier wieder in der Aehnlichkeit der Configuration, welche bei der Fructose und Glucose längst erkannt ist und auch in dem gleichen Verhalten gegen Hefe zum Ausdruck kommt.

Der Abhängigkeit der Enzymwirkung von der Configuration des Moleküls steht auf der anderen Seite ihre Beschränkung durch die Structur gegenüber. Denn das Glucoseäthylmercaptal ¹⁾ und das von mir als Glucosemethylacetal ²⁾ angesehene Product, welche durch verdünnte Säuren ähnlich den Glucosiden hydrolysirt werden, sind gegen Emulsin und Hefenauszug ganz beständig.

Bei den Polysacchariden ist die Frage der Structur und Configuration viel verwickelter, als bei den Glucosiden; aber gerade weil die chemischen Methoden zur Lösung derselben noch fehlen, darf man hier die Wirkung der Enzyme als willkommenes Hilfsmittel auch für die rein chemische Forschung ansehen und benutzen; denn in ihrer Specialisirung bilden sie offenbar spezifische Reagentien auf bestimmte Atomgruppen sowohl im structur- wie im stereo-chemischen Sinne.

Für die drei alten Disaccharide besitzen wir bereits die unterscheidenden Enzyme.

Rohrzucker — Invertin
 Maltose — Maltase
 Milchzucker — Lactase oder Emulsin.

Drei weitere Disaccharide, die von mir aufgefundene Isomaltose ³⁾, ferner die von Scheibler und Mittelmeier entdeckte Melibiose und die von Alekhine zuerst beobachtete Turanose sind bisher im reinen Zustande so schwer darzustellen, dass sichere Angaben über ihr Verhalten gegen die Enzyme nicht vorliegen. Dagegen habe ich das siebente Disaccharid, die Trehalose, deren Molecularformel jetzt von

¹⁾ Diese Berichte 27, 673.

²⁾ Diese Berichte 28, 1126.

³⁾ Diese Berichte 23, 3687. Vergl. auch Scheibler und Mittelmeier, diese Berichte 24, 301.

Maquenne¹⁾ sicher festgestellt ist, mit einem Präparat, welches mir Hr. C. Scheibler gütigst zur Verfügung stellte, gegen Hefenzym und Diastase prüfen können. Während das Disaccharid gegen Invertin nach Bourquelot's Angabe²⁾ beständig ist, wird es nach meiner Erfahrung von der Hefe selbst langsam gespalten. Als 1 Th. Trehalose mit 0.5 Th. trockener, reiner Froberghefe und 10 Th. Wasser, welches 0.2 pCt. Thymol enthielt, 40 Stdn. auf 33° erwärmt wurde, waren 20 pCt. reducirender Zucker entstanden. Dagegen bewirkte der wässrige Auszug derselben Hefe, welcher das Invertin und die Maltase enthielt, während 40 Stunden keine nachweisbare Spaltung. Ferner habe ich gefunden, dass die Trehalose durch Diastase hydrolysiert wird. Letztere war aus Grünmalz nach der Vorschrift von Lintner³⁾ bereitet. Als 1 Th. Trehalose in 10 Th. Wasser gelöst, mit 0.5 Th. Diastase 45 Stunden auf 35° erwärmt wurde, war die Hälfte des Disaccharids in Traubenzucker (nachgewiesen durch die Osazonprobe und bestimmt durch Fehling'sche Lösung) umgewandelt. Etwas schwächer wirkte ein Diastase-Präparat, welches von E. Merck in Darmstadt bezogen und ebenfalls aus Malz gewonnen war.

Vor einigen Jahren hat bereits Bourquelot⁴⁾ in *Aspergillus niger* ein Enzym beobachtet, welches die Trehalose spaltet, und welches er Trehalase nennt. Durch die vorliegende Beobachtung wird die Existenz der Trehalase wieder zweifelhaft; denn es ist längst bekannt, dass *Aspergillus niger* auch ein diastatisches Enzym enthält, welches die Stärke verzuckert, und es wäre wohl möglich, dass dieses zugleich die Spaltung der Trehalose bewirkt. Ich will damit keineswegs sagen, dass die Diastase von *Aspergillus niger* und von Malz identisch sind; denn man weiss jetzt durch zahlreiche Beispiele, wie bedenklich es ist, aus der Aehnlichkeit einer chemischen Wirkung auf die Gleichheit des Enzyms zurückzuschliessen. Ausserdem hat Bourquelot gefunden, dass seine Trehalose schon bei 64° wirkungslos wird. Dagegen halte ich es für recht wahrscheinlich, dass alle solche Enzyme, welche in einer bestimmten chemischen Wirkung übereinstimmen, eine sehr ähnliche Atomgruppe enthalten. Diese Anschauung steht nicht in Widerspruch mit der Erfahrung, dass die Wirkung des einen Enzyms weiter geht, als die der anderen. So spaltet das Emulsin zum Unterschied von der Lactase nicht allein den Milchzucker, sondern auch die β -Glucoside; so spaltet ferner die Malz-Diastase nicht allein die Stärke und das Glycogen, sondern auch die Trehalose, während das Ptyalin (Diastase) des Speichels zwar die beiden ersten Kohlenhydrate angreift, aber die Trehalose nach der

¹⁾ Compt. rend. 112, 947.

²⁾ Bull. soc. mycol. 9, 230.

³⁾ Journ. für prakt. Chem. 34, 378.

⁴⁾ Compt. rend. Acad. 116, 826 und Bull. soc. mycol. de France 9, 189.

Angabe von Bourquelot ¹⁾ unverändert lässt. Wodurch diese Verschiedenheiten bedingt sind, bleibt vorläufig dunkel. Es ist möglich, dass Emulsin und ähnliche Stoffe noch Gemische verschiedener Enzyme sind, wie man für die Diastase schon lange angenommen hat. Man kann sich aber auch vorstellen, dass dasselbe chemische Molekül verschiedene enzymatische Wirkungen äussert, indem es hier mit der einen und dort mit der anderen Atomgruppe in Reaction tritt. Es ist endlich noch denkbar, dass die maassgebende Atomgruppe in dem einen Enzym vielleicht durch kleine Unterschiede der Configuration eine grössere Wirkungscapacität als in verwandten Enzymen hat. Wir sind leider heutzutage noch nicht in der Lage, solche Vermuthungen experimentell zu verfolgen.

Enzyme der Bierhefe.

Im Gegensatz zu der allgemein herrschenden Anschauung, dass die Maltose direct vergohren werde, habe ich vor einiger Zeit den Beweis geliefert, dass die Hefe auch diesen Zucker durch ein Enzym spaltet, für welches ich den Namen Hefen-Glucose (Hefen-Maltase) vorschlug. Dasselbe lässt sich aus der getrockneten Hefe durch Wasser auslaugen, wird aber von dem frischen Pilz völlig zurückgehalten. Das ist wohl der Grund, warum so manche Beobachter, welche sich früher mit der Wirkung des Hefen-Auszugs auf Maltose beschäftigten, negative Resultate erhalten. Nur Hr. C. Lintner ²⁾ war es geglückt, wie ich hier nachträglich anzuerkennen mich verpflichtet halte, aus trockner Hefe einen Infus zu gewinnen, welcher aus Maltose Traubenzucker erzeugte. Da er aber seine Beobachtung nur mit ein paar Worten beschrieb und niemals mehr auf den Gegenstand zurückgekommen ist, so hat seine Angabe offenbar in den Kreisen der Zymochemiker keinen Glauben gefunden, und ich selbst bin beim Beginn meiner Versuche nur dem Dogma der directen Vergäherung der Maltose begegnet. Erst seit Kurzem ist mir bekannt, dass Hr. E. Bourquelot ³⁾ schon 1886 in einer ausführlichen Arbeit »Recherches sur les propriétés physiologiques du maltose« die gegen- theilige Anschauung vertreten hat, ohne aber nach meiner Ansicht den entscheidenden Beweis dafür zu liefern. Mit dem wässrigen Auszug der getrockneten Hefe konnte er nämlich keine Hydrolyse der Maltose bewirken. Ebenso negativ war sein Resultat, als Hefe mit Wasser unter Zusatz von Chloroform ausgelaugt wurde. Dagegen beobachtete er, dass beim 3—8tägigen Stehen der Zuckerlösung mit Hefe und Chloroform eine Verminderung der Rechtsdrehung eintrat; er schloss daraus auf eine Spaltung der Maltose.

¹⁾ Bull. soc. mycol. de France 9, 195.

²⁾ Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen, 1892, 106.

³⁾ Journ. de l'anatomie et de la physiologie 1886, 180 und 200 ff.

Da dieselbe aber sehr schwach war, so wiederholte er den Versuch, indem er aus Gründen, die nicht näher angegeben sind, der Lösung noch Fruchtzucker hinzufügte, und unter diesen Umständen will er aus der Veränderung der Rotation und der Reductionsfähigkeit der Flüssigkeit auf eine viel stärkere Hydrolyse der Maltose schliessen. Die Gegenwart des Fruchtzuckers soll sogar bewirken, dass das Maltose spaltende Enzym in Lösung geht und auch nach Entfernung der Hefe weiterwirkt. Aus diesen Beobachtungen folgert er dann, dass die Maltose vor der Gährung hydrolysiert werde, dass die Hefe aber nicht das hydrolysirende Enzym fertig enthalte, sondern erst dann bereite, wenn sie mit Maltose in Berührung sei. Die Angaben Bourquelot's stehen bezüglich des wässrigen Auszugs der getrockneten Hefe mit meiner Beobachtung in directem Widerspruch und die übrigen Resultate sind auch so seltsam, zumal was die behauptete Wirkung der Fructose betrifft, dass man über die Richtigkeit der Schlussfolgerungen sehr zweifelhaft sein muss; denn der Nachweis des Traubenzuckers ist bei allen diesen Versuchen in der früher zwar üblichen, aber doch nur indirecten Weise durch Beobachtung der Drehung und der Reductionsfähigkeit der Flüssigkeit geschehen.

In der That sind die Erscheinungen sehr verwickelt, wenn die Hefe bei Gegenwart von Chloroform mit der Maltoselösung in Berührung bleibt. War die Hefe trocken, so geht die Hydrolyse des Disaccharids leicht von statten. Unter diesen Umständen wird eben das Enzym gelöst, wovon ich mich durch einen besonderen Versuch mit gesättigtem Chloroform-Wasser überzeugt habe.

Aus feuchter unverletzter Hefe aber wird dasselbe, wie ich früher zeigte, durch Wasser nicht ausgelaugt; dagegen beobachtete ich, dass solche feuchte Hefe selbst im Stande ist, bei Gegenwart von Chloroform das α -Methylglucosid in reichlicher Menge zu spalten. Unter den gleichen Bedingungen glaubte ich auch eine Hydrolyse der Maltose, welche sich bei allen anderen Versuchen gerade so wie das α -Methylglucosid verhielt, gefunden zu haben¹⁾.

Die Versuche mit Maltose sind kürzlich von Hrn. Morris²⁾ wiederholt worden. Für die getrocknete oder mechanisch zerrissene Hefe bestätigte er meine Resultate; dagegen fand er, dass eine ganz frische reine Froberg-Hefe bei Anwesenheit von Chloroform die Maltose nicht verändert.

Um diesen Widerspruch in den Beobachtungen aufzuklären und zugleich die Frage, ob die Maltase schon in der frischen Hefe enthalten ist, endgiltig zu entscheiden, habe ich eine grössere Zahl von Versuchen über den gleichen Gegenstand ausgeführt, bei welchen die Hefen und die anästhesirenden Mittel variiert wurden. Dieselben haben

¹⁾ Diese Berichte 27, 3479.

²⁾ Proc. Chem. Soc. 1895, S. 46.

zunächst für Chloroform ergeben, dass nicht allein der Feuchtigkeitsgrad, sondern auch das Alter der Hefe und die Menge des Betäubungsmittels von Einfluss sind, und dass endlich gerade hier noch Unterschiede zwischen α -Methylglucosid und Maltose auftreten. Angewandt wurde stets eine 10proc. Lösung von α -Methylglucosid oder Maltose; zu 10 ccm derselben fügte man 0.5 g der abgepressten Hefe; die Menge des Chloroforms wurde von 0.06 g bis 0.25 g und die Dauer der Einwirkung von 20 bis 72 Stunden variiert. Temperatur 33°. Solange die frische Betriebshefe der Berliner Lehrbrauerei (Frohberg-Typus), welche aus einer Reinkultur bereitet und nur ein oder zwei Mal im Betriebe gedient hatte, nach dem Abpressen und sorgfältigen Feuchthalten benutzt wurde, trat stets eine Hydrolyse des α -Methylglucosids ein. Dieselbe betrug allerdings nur 4—5 pCt. der Gesamtmenge, wenn die Maximaldosis von Chloroform angewandt und seine Verdunstung durch hermetischen Verschluss des Gefässes verhindert war. Sie stieg aber sehr stark, wenn die Menge des Betäubungsmittels ungefähr 0.07 g betrug (gesättigte Lösung) oder wenn das Gefäss, wie bei dem früheren Versuch, offen blieb, sodass eine Verdunstung des überschüssigen Chloroforms stattfinden konnte. Bei mehrtägiger Einwirkung wurde dann wiederholt eine starke, bis zu 40 pCt. gehende Spaltung des α -Methylglucosids beobachtet, wodurch meine frühere Angabe völlig bestätigt wird. Wie der Ueberschuss des Chloroforms hier störend wirkt, kann ich nicht sagen.

Viel unsicherer fielen aber die Resultate bei der Maltose aus. In den meisten Fällen war durch Phenylhydrazin keine Hydrolyse nachweisbar und nur selten wurde, wenn wenig Chloroform angewandt war, eine kleine Menge Glucosazon erhalten. Bei dem früheren Versuch mit Maltose muss deshalb ein Irrthum, wahrscheinlich in Bezug auf die Qualität der Hefe, stattgefunden haben.

Ich habe endlich noch zwei Reinkulturen von Frohberg- und Saaz-Hefe geprüft, welche im Pasteur'schen Kolben auf Bierwürze gezogen waren und welche ich der Güte des Hrn. Dr. P. Lindner verdanke. Die Kulturen kamen 10 Tage nach der Impfung zur Anwendung und waren demnach biologisch als ganz frisch zu betrachten. Die Hefen wurden durch Absitzen und mehrmaliges Waschen mit reinem Wasser von der Würze getrennt, dann $\frac{1}{2}$ Stunde auf porösem Thon in einer feuchten Kammer aufbewahrt und nun sofort in die zu prüfende Flüssigkeit übergeführt.

Wie der erste Versuch der folgenden Tabelle beweist, übten diese beiden Hefen in wässriger, mit Chloroform gesättigter Lösung auf Maltose keine wahrnehmbare Wirkung aus, und die Frohberg-Art liess auch das α -Methylglucosid unverändert, während bei Saaz-Hefe eine erhebliche Spaltung des letzteren eintrat.

	Frohberg-Hefe (untergährig)		Saaz-Hefe (untergährig)	
	α -Methylglucosid	Maltose	α -Methylglucosid	Maltose
Chloroform. Das Wasser war damit gesättigt	keine Spaltung	keine nachweisbare Spaltung	25 pCt. gespalten	keine nachweisbare Spaltung
Thymol. 0.2 pCt. des Wassers	50 pCt. gespalten	Spaltung 0.16 g Glucosazon	60 pCt. gespalten	Spaltung 0.15 g Glucosazon
Toluol. 3 pCt. des Wassers	40 pCt. gespalten	Spaltung 0.12 g Glucosazon	65 pCt. gespalten	Spaltung 0.30 g Glucosazon
Aether. Das Wasser war halb damit gesättigt	20 pCt. gespalten	keine nachweisbare Spaltung		
Aether. Gesättigte wässrige Lösung, aber Gefäss (Reagensglas) offen, so dass der Aether verdunsten konnte	45 pCt. gespalten	Spaltung 0.28 g Glucosazon	45 pCt. gespalten	Spaltung 0.32 g Glucosazon

Für solche ganz frische Reinkulturen ist also bezüglich der Maltose die Behauptung des Hrn. Morris durchaus zutreffend. Aber seine Beobachtungen sind doch anderseits ebenso unvollständig wie meine früheren. Nicht der Feuchtigkeitszustand der Hefe ist für die Wirkung auf Maltose und α -Methylglucosid ausschlaggebend, sondern dieselbe wird ausserdem sehr stark durch das Chloroform beeinflusst. Das beweisen die Versuche, bei welchen an seiner Stelle andere Betäubungsmittel, wie Thymol, Toluol, Aether benutzt wurden und wo nun auch trotz gleicher Qualität der Hefe sowohl das Glucosid wie die Maltose in reichlicher Menge gespalten wurden. Bei allen Versuchen der Tabelle wurde 1 g α -Methylglucosid bzw. Maltose in 10 ccm Wasser, welchem bereits das zur Verhinderung der Gärung bestimmte Mittel zugesetzt war, aufgelöst und 0.5 g der feuchten Hefe zugegeben. Die Gefässe (Reagensgläser) wurden dann mit Ausnahme des letzten Falles, wo das Gegentheil besonders angegeben ist, zugeschmolzen und nach sorgfältigem Durchschütteln liegend während 40 Stunden im Brutofen bei 33° gehalten. Die Spaltung des Methylglucosids wurde durch Titration mit Fehling'scher Lösung bestimmt; für den Nachweis der Maltose diente die Osazonprobe, und um einen ungefähren Anhalt für ihre Menge zu haben, wurde das aus einem aliquoten Theil gewonnene Osazon gewogen und auf die Gesamtlösung berechnet. Es scheint mir zweckmässig, das Verfahren ausführlich zu beschreiben, um jeder irrthümlichen Anwendung desselben vorzubeugen.

Die von der Hefe abfiltrirte Flüssigkeit ist zunächst 5—10 Min. zur Fällung der in Lösung gegangenen Proteinstoffe auf dem Wasserbade zu erhitzen; hierbei hat sich ein Zusatz von etwa 10 pCt. krystallisirtem Natriumacetat als vortheilhaft erwiesen, weil dadurch die Klärung der Flüssigkeit befördert wird; letztere wird erst nach dem Erkalten filtrirt. Hat man, wie im vorliegenden Falle, etwa 10procentige Zuckerlösungen, so genügen 5 ccm für die Osazonprobe. Man verdünnt dieselben mit dem gleichen Volumen Wasser, fügt 1 g reines Phenylhydrazin, 1 g Essigsäure von 50 pCt. Gehalt hinzu und erhitzt $1\frac{1}{4}$ Stunde im Wasserbade, zweckmässig in einem Reagensglas oder Kolben. Wenn dabei die Flüssigkeit merklich verdampft, was man übrigens durch Anbringen eines Steigrohrs leicht vermeiden kann, so ist es nöthig, zum Schluss wieder mit Wasser auf das ursprüngliche Volumen zu bringen. Enthält die Flüssigkeit 1 pCt. oder mehr Traubenzucker, was bei meinen Versuchen ungefähr 10 pCt. der angewandten Maltose entsprach, so findet schon in der Wärme die Abscheidung des Glucosazons statt; beim Erkalten fällt auch das Maltosazon alabald aus. Nach einstündigem Stehen bei Zimmertemperatur wird das Gemisch der Osazone filtrirt, mit kaltem Wasser gewaschen, vom Filter abgelöst und mit 50 ccm Wasser, d. h. mindestens der 100fachen Menge des Gesamtniederschlags tüchtig ausgekocht. Man filtrirt siedend heiss, wäscht mit heissem Wasser, trocknet bei 100° und wägt das zurückgebliebene Glucosazon. Dasselbe wird noch aus verdünntem Alkohol umkrystallisirt und auf seinen Schmelzpunkt geprüft.

Das für solche Versuche verwendete Phenylhydrazin soll sich in der zehnfachen Menge 2procentiger Essigsäure klar lösen; da das käufliche Präparat diese Bedingung nicht erfüllt, sondern eine starke Trübung zeigt, so muss es durch wiederholte Krystallisation aus Aether und Destillation im Vacuum gereinigt werden. Aufbewahren lässt sich die Base ohne Veränderung nur in hermetisch verschlossenen Gefässen. Die Menge des gebildeten Glucosazons ist nach meiner Erfahrung nur ein unvollkommenes Maass für die Menge des Traubenzuckers, da der quantitative Verlauf der Osazonbildung von der Concentration der Flüssigkeit, von der Menge des Phenylhydrazins und von der Anwesenheit anderer Zucker abhängt.

Als qualitative Probe auf Traubenzucker bei Gegenwart von reducirenden Polysacchariden ist dagegen die Osazonbildung zweifellos allen anderen Methoden vorzuziehen.

Aus obigen Versuchen geht klar hervor, dass das Enzym, welches die Maltose resp. das α -Methylglucosid zerlegt, nicht erst beim Trocknen der Hefe gebildet wird, und da dasselbe auch kaum durch die Wirkung des Thymols, Toluols oder Aethers erzeugt werden kann, so

muss man annehmen, dass es bereits in der normalen Hefe enthalten ist. Das Trocknen der letzteren würde also nur zur Folge haben, dass das Enzym mit Wasser ausgelaugt werden kann.

So lange die Hefe ganz frisch und feucht ist, findet die Hydrolyse nur innerhalb der Zellen statt, da die Maltase auch bei Anwesenheit obiger Betäubungsmittel nicht in die Lösung übergeht.

Abgesehen von dem verschiedenen Verhalten gegen chloroformirte Hefe, worauf ich kein grosses Gewicht lege, da das Phänomen zu complicirt ist, zeigen Maltose und α -Methylglucosid gegenüber den Enzymen der Hefe völlige Uebereinstimmung. Ich bin deshalb bisher der Meinung gewesen, dass ihre Hydrolyse durch das gleiche Enzym, die Hefenmaltase bewirkt wird. Ich halte das auch jetzt noch für wahrscheinlich, bemerke aber ausdrücklich, dass der Beweis dafür fehlt und auch kaum geliefert werden kann, so lange man nicht im Stande ist, die Enzyme als einheitliche, chemische Individuen zu charakterisiren.

Jedenfalls gibt es andere Maltose spaltende Stoffe, welche das α -Methylglucosid nicht verändern. Dahin gehört die Maltase des Blutes; denn nach Versuchen, welche ich in Gemeinschaft mit Hrn. Niebel angestellt habe, und welche später ausführlich beschrieben werden sollen, wirkt das Serum von Pferde- oder Rinderblut auf das Glucosid garnicht ein, während es bekanntlich die Maltose leicht spaltet.

Bei dieser Untersuchung bin ich wieder von Hrn. Dr. P. Rehlaender unterstützt worden, wofür ich demselben besten Dank sage.

293. C. Liebermann: Ueber Cinnamylidenmalonsäure und die stereoisomeren Cinnamylidenessigsäuren (Phenylpentadiensäuren).

(Vorgetragen in der Sitzung vom Verfasser.)

Vorläufige Versuche über die Cinnamylidenmalonsäure hatten es mir, wie ich diese Berichte 27, 289 andeutete, wahrscheinlich gemacht, dass auch diese Säure bei der Abspaltung von Kohlensäure zwei stereoisomere Säuren zu liefern vermöge. Die genauere Durcharbeitung dieses Falles schien mir zur Verallgemeinerung des Verhaltens der Alkylidenmalonsäuren von einigem Interesse. Es ist mir dabei nach manchen vergeblichen Bemühungen geglückt, den Process so zu leiten, dass nach Belieben entweder die schon bekannte Cinnamylidenessigsäure oder die bisher unbekannte Allosäure in guter Ausbeute erhalten wird.