

674. E. Buchner, J. Meisenheimer und H. Schade:
Zur Vergärung des Zuckers ohne Enzyme.

[Aus dem chem. Laboratorium der Landwirthschaftl. Hochschule zu Berlin.]
[Vorgetragen in der Sitzung vom 26. November von Hrn. E. Buchner.]
(Eingegangen am 29. November 1906.)

Vor wenigen Wochen hat Hr. Dr. med. H. Schade eine Experimentaluntersuchung¹⁾ aus dem physikalisch-chemischen Institut der Universität Leipzig veröffentlicht, welche den Nachweis erbringen soll, »dass es auf rein chemischem Wege gelingt, aus dem Zucker qualitativ und quantitativ die gleichen Endproducte, Alkohol und Kohlensäure, zu erhalten, die bislang als für den Vorgang der Gärung, als für die Thätigkeit der Enzyme specifisch angesehen werden mussten«. Ausgangspunkt bildete die Beobachtung, dass die sonst eintretende Braunfärbung alkalischer Zuckerlösungen durch Zusatz von Hydroperoxyd verhindert werden kann, was zu der Annahme eines besonders einfachen, gährungsartigen Zuckerzerfalles führte. Aehnlich hatte schon früher F. Framm²⁾ festgestellt, dass mit Natronlauge versetzte Hexoselösung (untersucht wurden Glucose, Fructose und Galactose) durch einen kräftigen Luftstrom farblos erhalten werden kann. Der Zucker verschwand innerhalb 3 Wochen; als einzige Producte wurden Ameisensäure und Acetaldehyd aufgefunden. Die Bestimmung der Ersteren erfolgte, nachdem der qualitative Nachweis mit Sicherheit erbracht war, nur acidimetrisch durch Titration der gesammten Versuchsflüssigkeit; bezüglich des Aldehydes zeigt sich sogar bei näherer Durchsicht der Mittheilung, dass selbst der qualitative Nachweis ein vollständig ungenügender ist³⁾. Eine Nachprüfung der Framm'schen Arbeiten durch Schade bestätigte dieselben; da auch Schade bei der Bestimmung des Aldehyds auf Schwierigkeiten stiess, versuchte er sehr zweckmässig, die Lüftung durch Hydroperoxydzusatz zu ersetzen, wobei man auf Ueberführung des Aldehyds in die leichter bestimmbare Essigsäure rechnen konnte. Das Ergebniss der Versuche entsprach der Erwartung; es wird von dem Verfasser dahin zusammengefasst (a. a. O. S. 16):

»1. dass sich beim Zerfall des Zuckers in alkalischer Lösung sowohl bei der Klarhaltung durch die Lüftung, als auch durch Hydroperoxyd auf 1 Mol zersetzten Zuckers 2 Mole Ameisensäure bilden;

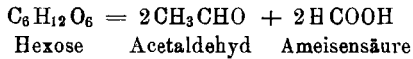
¹⁾ Zeitschr. f. physikal. Chem. 57, 1—46 [1906].

²⁾ Pflüger's Archiv f. Physiologie 64, 587 [1896].

³⁾ Er misslang bei einem Glucose- und dem Fructose-Versuch (a. a. O., S. 589 und 595) und war undeutlich bei Galactosezersetzung (S. 595). Bei dem einzig positiv verlaufenen 1. Glucoseversuch ist die angewandte Methode zur Isolirung und zum Nachweis des Aldehyds durchaus unzuverlässig (S. 588).

2. dass neben dieser Säure für beide Versuchsarten Acetaldehyd gebildet wird. Während dieser bei der Lüftungsmethode sich als solcher verflüchtigt, bleibt er bei dem Hydroperoxydversuch in Lösung und wird zu Essigsäure oxydirt. Wie die auf diesem Wege durchgeführte Mengenbestimmung ergibt, entsteht auch der Aldehyd in einem Molenverhältniss zum Zucker von 2 : 1 :

3. dass speciell unter der Einwirkung der Durchlüftung neben den genannten Producten anderweitige Stoffe, wie z. B. die Milchsäure, nur in derart minimaler Menge gebildet werden, dass sie für die Gesamtformulirung des Vorgangs nicht in Betracht kommen können.« Die Zuckerzersetzung schien somit der Gleichung:



zu entsprechen und war »ein Spaltungsvorgang, wie er für Zucker ähnlich bislang nur bei den Gährungen beobachtet werden konnte«.

Um engere Analogie mit der alkoholischen Gährung herzustellen, blieb noch zu prüfen, ob sich etwa Acetaldehyd und Ameisensäure in Alkohol und Kohlensäure würden überführen lassen. Unter glücklicher Anlehnung an den Zerfall der Ameisensäure bei Gegenwart von Rhodiumohr in Kohlendioxyd und Wasserstoff nach H. Sainte-Claire Deville und H. Debray¹⁾ gelang es H. Schade thatsächlich, bei gleichzeitiger Anwesenheit von Acetaldehyd die gewünschten Producte, Kohlendioxyd und Alkohol, letzteren in einer Ausbeute von 60—70 pCt., zu erhalten. Fasst man die beschriebenen zwei Vorgänge zusammen, so schien demnach der in zwei Phasen verlaufende Zuckerzerfall in Alkohol und Kohlendioxyd erwiesen als »eine durch Katalyse merkbar gewordene freiwillige Zerfallsreaction des Zuckers«.

H. Schade hat sich nun weiter gefragt, ob der beschriebene Weg der Zuckerzerlegung auch identisch ist mit der Art, wie die Kohlenhydrate bei der alkoholischen Gährung durch Hefe zerfallen, was als um so wahrscheinlicher gelten konnte, da die Resultanten der ersten Phase als Nebenproducte bei der alkoholischen Gährung aufgefunden sind. Zur experimentellen Prüfung dieser Frage musste zunächst festgestellt werden, ob äquimolekulare Mengen von Ameisensäure und Acetaldehyd durch Hefe bezw. Hefepresssaft in Alkohol und Kohlendioxyd verwandelt werden. Auf Wunsch des Hrn. Schade hatten wir (Buchner und Meisenheimer) die Lösung dieser Aufgabe in Aussicht genommen. Zuvor hielten wir es aber für angezeigt, nachdem einige Punkte, betreffend ausschliesslich die erste Phase des Vorganges, in der Mittheilung von H. Schade unserer Meinung nach unklar geblieben waren, die angeblich glatte Zuckerspaltung unter Bildung von

¹⁾ Compt. rend. 78, 1782 [1874]; vergl. auch F. Hoppe-Seyler, diese Berichte 16, 120 [1883].

Ameisensäure und Acetaldehyd, bezw. Essigsäure, nachzuprüfen, was alsbald zu völlig abweichenden Resultaten führte.

Zuckerzerfall in alkalischer Lösung bei Gegenwart
von Hydroperoxyd.

Unter genauer Anlehnung an Schade's Anordnung wurden zunächst eine Anzahl von Versuchen bei Zimmertemperatur mit je 2 g Fructose, 200 ccm 2-proc. Natronlauge und unter allmählichem Zusatz von 40—50 ccm 3-proc. Hydroperoxyd angestellt. Zu den Versuchen wurde ausschliesslich Fructose benutzt, weil dieselbe wegen ihrer grösseren Zersetzlichkeit einen rascheren Ablauf der Reaction versprach; auch ist es in Folge der Befunde von Lobry de Bruyn und van Eckenstein ohne principielle Bedeutung, von welchem Zucker man ausgeht, da unter dem Einflusse des Alkalis eine wechselseitige Umlagerung stattfindet. Es gelang durch den Zusatz des Oxydationsmittels die sonst eintretende Braunfärbung vollkommen hintanzuhalten. Die Unterbrechung erfolgte nach 6—8 Tagen; dann war die Reducionswirkung auf Fehling'sche Lösung derart herabgesunken, dass sich auf die Anwesenheit von nur mehr etwa 10 pCt. unzerlegter Fructose schliessen liess. Ebenfalls in vollkommener Uebereinstimmung mit H. Schade's Befunden ergab die directe Titration, dass auf 1 Molekül Zucker annähernd 4 Aequivalente Säure entstanden waren. Der scharfe Umschlag beim Titriren deutete auf die Abwesenheit irgend erheblicher Mengen Kohlensäure unter den Zerfallsproducten. Es erschien uns aber unerlässlich, sofort festzustellen, ob es sich thatsächlich nur um die Bildung von einbasischen, flüchtigen Säuren, von Ameisensäure und Essigsäure, wie Schade annimmt, handelt. Die Destillation mit Wasserdampf ergab, dass aus der mit Phosphorsäure angesäuerten Lösung in allen Fällen nur etwa zwei Drittel der Gesamtsäuremenge übergetrieben werden konnten. Die Ameisensäure wurde anfangs durch Reduction von Quecksilberchlorid in ursprünglich neutraler Lösung nach Scala¹⁾ unter Berücksichtigung der wichtigen Angaben von Lieben²⁾ bestimmt. Später erwies es sich als viel zweckmässiger, die frei werdende Säure durch Natriumnitrit unschädlich zu machen³⁾. Beide Wege ergaben übereinstimmend, dass überhaupt keine Essigsäure vorhanden ist, sondern alle flüch-

¹⁾ Zeitschr. für analyt. Chem. 31, 346 [1892]; Gazz. chim. Ital. 20, 393 [1890].

²⁾ Monatsh. für Chem. 14, 753 [1893].

³⁾ Die Reduction geht dann in 2 Stunden zu Ende; Anlass zu dieser Modification gab eine Notiz von O. Blank u. H. Finkenbeiner, diese Berichte 31, 2980 [1898].

tige Säure aus Ameisensäure besteht und dass also aus einem Molekül Zucker etwa 2.5 Moleküle Ameisensäure gebildet werden. Die abweichenden Angaben von Schade sind auf Nichtberücksichtigung der Arbeit von Lieben zurückzuführen; wir haben uns überzeugt, dass man, nur nach Scala mit event. zu geringem Quecksilberchloridzusatz arbeitend, ähnlich zu niedrige Ameisensäurezahlen erhalten kann. Um jeden Zweifel bezüglich der Abwesenheit von Essigsäure auszuschliessen, wurde noch der directe Nachweis dieser Substanz zu führen versucht durch Behandlung der gesammten flüchtigen Säuren mit Chromsäure-Schwefelsäure-Gemisch nach D. S. Macnair¹⁾, wobei Essigsäure unverändert zurückbleiben müsste; es wurde dabei aber alles zerstört. Schade²⁾ hat, indem er wenig empfehlenswerther Weise die gesammte zersetzte Zuckerlösung direct mit dem kochenden Chromsäuregemisch behandelte, »eine erhebliche Menge einer flüchtigen Säure, welche nicht reducirte«, erhalten; ausserdem finden sich noch einige qualitative Reactionen³⁾ angeführt; eine Analyse des Silbersalzes oder ein Versuch zur quantitativen Bestimmung der Essigsäure liegt nicht vor. Die Irrthümer des qualitativen Nachweises sind wahrscheinlich auf die Anwesenheit der übrigen Zerfallsproducte des Zuckers zurückzuführen.

Zur Isolirung der nicht flüchtigen Säuren wurde ein Versuch mit 20 g Fructose, sonst aber genau wie oben beschrieben, ausgeführt. Die Ergebnisse, was Zersetzung des Zuckers, Auftreten von Säure insgesamt und speciell Bildung von flüchtigen Säuren anbelangt, stimmen mit den oben wiedergegebenen Resultaten annähernd überein. An nicht flüchtigen Säuren konnten isolirt werden⁴⁾: Geringe Mengen von Glykolsäure, isolirt als Zinksalz, ferner eine erhebliche Menge von *r*-Erythronsäure (Trioxybuttersäure), durch Calciumsalz und Phenylhydrazid identificirt; endlich blieb noch ein beträchtlicher syrupöser Rückstand, der einen wesentlichen Theil der Gesamtsäure repräsentirte und neben etwas Hexose (als Phenylglucosazon nachgewiesen) unserer Annahme nach hauptsächlich aus verschiedenen Hexonsäuren bestehen dürfte. Milchsäure wurde

¹⁾ Zeitschr. für analyt. Chem. 27, 398 [1888]; Chem. News 55, 229 [1887].

²⁾ A. a. O., S. 15.

³⁾ Ebenda.

⁴⁾ Da die Trennung der hier in Frage kommenden Säuren ausserordentlich schwierig ist und mit dem Ziele unserer Untersuchung direct nicht zusammenhängt, haben wir uns mit dem oben Beschriebenen begnügt; es mag wohl die eine oder andere, noch isolirbare Säure von uns übersehen worden sein, z. B. vielleicht Glycerinsäure. Die angewandten Methoden sind im experimentellen Theil beschrieben.

nicht aufgefunden, Oxalsäure war nicht entstanden, beide letzteren Befunde in Uebereinstimmung mit den Angaben Schade's. Die Resultate sind in folgender Uebersicht wiedergegeben. Aus 20 g Fructose wurden erhalten:

Flüchtige Säure:			
Ameisensäure	13.9 g,	entsprechend	9.1 g Zucker.
Aus dem Aetherextract:			
Glykolsäure	0.8 »	»	0.6 » »
Nicht krystallisirendes Zinksalz . . .	0.2 »	»	0.1 » »
Wasserunlösliches Harz	0.2 »	»	0.2 » »
Im Rückstand:			
Erythronsäure	4.1 »	»	3.6 » »
Nicht krystallisirter Syrup	4.2 »	»	4.2 » »
Wiedergefunden . . . 17.8 g Zucker.			

Es sei noch darauf hingewiesen, dass nur unter den von Schade genau ausprobirten Bedingungen, nämlich bei einer Versuchstemperatur von 0—20°, der angegebenen Concentration des Hydroperoxyds und Anwendung von 2-proc. Natronlauge (in hundertfacher Menge des Zuckers), thatsächlich gerade 4 Säureäquivalente auf ein Molekül Zucker entstehen, was die Bedeutung dieses ursprünglich überraschenden Befundes sehr herabsetzt.

Zuckerzerfall bei Gegenwart von Alkali unter Luftdurchleitung.

Nachdem unsere Zuckerzersetzungen mit Hydroperoxyd ein so abweichendes Resultat ergeben hatten, erschien es nothwendig, auch die Durchlüftungsversuche von Schade zu wiederholen. Es zeigte sich bald, dass die Verhältnisse hier durchaus so liegen, wie nach unseren Experimenten mit Hydroperoxyd zu erwarten. Wie auch H. Schade fand und wie bei Anwendung des schwächeren Oxydationsmittels (Luftsauerstoff) vorausszusehen war, wird dabei weniger Säure gebildet; es fanden sich lediglich 2.3 bezw. 2.5 Aequivalente, berechnet auf ein Molekül Zucker. Davon erwies sich aber nur ein verhältnissmässig kleiner Theil als Ameisensäure, nämlich 0.7 bezw. 1.1 Moleküle, wogegen alle übrige Säure nicht flüchtig war und daher im Gegensatz zu den Angaben von Schade keine Ameisen- oder Essig-Säure sein konnte. Es wurde 6 Tage lang in starkem Strome Luft durchgesaugt. Die Aufarbeitung, ähnlich ausgeführt wie oben beschrieben, ergab beim ersten Versuch aus 10 g Fructose:

Flüchtig: Ameisensäure	2.6 g,	entsprechend	1.6 g Zucker.
Aus dem Aetherextract:			
Glykolsäure	0.1 »	»	0.1 » »
Nicht krystallisirendes Zinksalz	0.5 »	»	0.3 » »
Im Rückstand:			
Erythronsäure	3.0 »	»	2.6 » »
Nicht krystallisirter Syrup	5.0 »	»	5.0 » »
Wiedergefunden			9.6 g Zucker.

Zur Untersuchung auf etwaige flüchtige Substanzen, die von der durchgeleiteten Luft mitgerissen sein konnten, war Letztere während der ersten 15 Stunden der Versuchsdauer, innerhalb welcher Zeit sich erfahrungsgemäss ein sehr erheblicher Theil des Zuckers bereits zersetzt hat, durch ein schlangenförmig gewundenes Glasrohr, das sich in einer Kältemischung befand, geführt worden. Das in der Vorlage condensirte Wasser zeigte schwachen, nicht identificirbaren, jedenfalls nicht an Acetaldehyd erinnernden Geruch und gab Jodoformreaction, aber mit fuchsinschweflicher Säure nur eine sehr zweifelhafte Rothfärbung. Als man jedoch das in drei Waschflaschen, welche sich an das Kühlrohr sammt Vorlage anschlossen, enthaltene Ammoniakwasser (bestimmt zur Zurückhaltung von allenfalls entstehendem Formaldehyd) nach dem Ansäuern mit Schwefelsäure erhitzte, wurde ein Destillat erhalten, das deutlich fuchsinschweflige Säure färbte und ammoniakalische Silberlösung reducirte; auch die Jodoformreaction verlief damit positiv. Es war damit in Uebereinstimmung mit den Beobachtungen von H. Schade die Anwesenheit eines aldehydartigen Körpers festgestellt; bei der Empfindlichkeit der angewandten Reactionen schienen aber nur Spuren vorzuliegen.

Obwohl nun die obige quantitative Zusammenstellung für das Entstehen grösserer Mengen von Aldehyd keinen Raum lässt, haben wir doch einen zweiten Lüftungsversuch mit sorgfältigerer Kühlung der abgehenden Gase ausgeführt, welche während der ersten 11 Stunden der Versuchsdauer zuerst durch einen mit Eiswasser gekühlten Literkolben, anschliessend durch ein Schlangenrohr in Eis-Kochsalzmischung und endlich durch ein mit flüssiger Luft gekühltes Glasrohr geleitet wurden. Auch diesmal zeigte sich aus dem Gasstrom als Hauptbestandtheil nur Wasser condensirt, wie aus der Siedepunktsbestimmung sowohl des in der flüssigen Luft, wie des in den anderen Vorlagen zurückgehaltenen Antheils hervorging. Der Geruch war wieder der gleiche eigenthümliche, nicht an Acetaldehyd erinnernde; die drei oben angeführten Reactionen verliefen positiv. Es ist durch diese Versuche mit Sicherheit erwiesen, dass grössere Quantitäten von Acetaldehyd, wie sie nach H. Schade zu erwarten wären, nicht auf-

treten¹⁾. Wir halten es sogar für wahrscheinlich, dass auch die geringe Menge von nachgewiesenem Aldehyd nicht auf jene Substanz zurückzuführen ist, sondern auf die Gegenwart von etwas Furo^l²⁾. In der That zeigten beim Destilliren einer wässrigen Lösung von 2 g Fructose die ersten Cubiccentimeter des Destillats einen eigenthümlichen Geruch, der uns sehr an den bei den Durchlüftungsversuchen wahrgenommenen erinnerte, und gaben mit ammoniakalischer Silberlösung und fuchsinschwefliger Säure Aldehydreaction, offenbar in Folge von Furo^lbildung; auch die Jodoformreaction fiel positiv aus. Wie A. Windaus³⁾ im neuesten Heft dieser Berichte zeigt, entsteht aus Traubenzucker bei der Behandlung mit Zinkhydroxydammoniak Methylimidazol, wogegen bei gleichzeitigem Zusatz von Acetaldehyd daneben auch Dimethylimidazol auftritt. Durch Einwirkung von Zinkhydroxydammoniak auf Glucose wird demnach kein Acetaldehyd gebildet; man kann daraus eine Bestätigung unseres Befundes ableiten, während Windaus unter dem Eindruck der Mittheilung von Schade eine andere, uns unwahrscheinliche Erklärung versucht.

Hauptergebnisse.

Die beschriebenen Zuckerzersetzungen in alkalischer Lösung, einerseits durch Hydroperoxyd, andererseits durch Luftsauerstoff, schliessen sich enge an schon bekannte Oxydationsvorgänge bei Gegenwart von Alkali, z. B. an den Zerfall der Fructose mit rothem Quecksilberoxyd und Barytwasser⁴⁾ oder an die Oxydation des Zuckers mit Kupferhydroxyd und Natronlauge⁵⁾, an. Der Vorgang verläuft hier wie dort wenig glatt; Ameisensäure und Glykolsäure sind immer beobachtet worden: als eigentlich charakteristisches Product findet sich Erythronsäure⁶⁾. Sämmtliche nicht flüchtigen Säuren sind bei der Untersuchung von Schade übersehen worden, wodurch die hauptsächlichste Veranlassung zu den irrthümlichen Resultaten gegeben war. Auffallender Weise tritt Milchsäure bei diesen Zerlegungen niemals

¹⁾ Nach Angabe von H. Schade, Zeitschr. für physikal. Chem. 57, 13, Anm. 1 [1906] beabsichtigt Hr. Freundlich ausführliche Untersuchungen über die Mengenverhältnisse des fraglichen Aldehyds auszuführen.

²⁾ Vergl. K. Förster, diese Berichte 15, 323 [1882].

³⁾ Diese Berichte 39, 3887 [1906].

⁴⁾ E. Börnstein und A. Herzfeld, diese Berichte 18, 3353 [1885]; O. Ruff, ebenda 32, 3680 [1899].

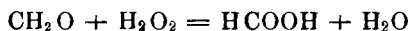
⁵⁾ J. U. Nef, Ann. d. Chem. 335, 331 [1904].

⁶⁾ Wie sich schliesslich ergab, ist diese Säure auch schon durch Einwirkung von Hydroperoxyd auf Kohlenhydrate erhalten worden, nämlich bei Zusatz von Ferrosulfat, also in saurer Lösung; R. S. Morrell und J. M. Crofts, Chem. Centralblatt 1902, II, 109.

auf, während sie sonst beim Behandeln von Zucker mit Alkali, teilweise in grossen Mengen, gebildet wird. Da bereits entstandene Milchsäure durch so schwache Agentien, wie Hydroperoxyd oder Luftsauerstoff kaum angegriffen werden dürfte¹⁾, muss ein ihrem Auftreten vorhergehendes Zwischenproduct durch jene Oxydationsmittel zerstört werden. Am einfachsten ist die Annahme, dass zuerst Glycerinaldehyd entsteht, welcher sich unter normalen Bedingungen über Methylglyoxal in Milchsäure verwandelt, hier aber sofort in drei Moleküle Formaldehyd zerfällt, die dann durch Oxydation zu Ameisensäure werden. Eine derartige Vorstellung über das Verhalten von Glycerinaldehyd hat auch J. U. Nef²⁾ geäussert. Die nachgewiesene Ameisensäure ist demnach nicht als primäres Spaltungsproduct, sondern als Oxydationsproduct des vorher gebildeten Formaldehyds entstanden zu denken, eine Annahme, die durch folgende Beobachtung äusserst wahrscheinlich geworden ist. Nach O. Blank und H. Finkenbeiner³⁾ lässt sich Formaldehyd bestimmen durch Oxydation in alkalischer Lösung mit Hydroperoxyd und Titiren der gebildeten Ameisensäure. Die Ameisensäure entsteht dabei überraschender Weise unter Wasserstoffentwicklung, wie wir bestätigen können. Wenn also bei unseren Hydroperoxydversuchen intermediär als Spaltungsproduct des Zuckers Formaldehyd auftrat, musste Wasserstoffentwicklung nachzuweisen sein. In der That zeigt sich beim Stehen der Mischung von alkalischer Zuckerlösung mit Hydroperoxyd Aufsteigen von Gasbläschen, die wir in 2 Fällen gesammelt haben und durch Explosion mit Luft als reinen Wasserstoff charakterisiren konnten. Die Gasentwicklung hat auch schon Schade⁴⁾ beobachtet, aber auf eine Selbstzersetzung des Hydroperoxyds zurückgeführt, also unter Annahme einer Entwicklung von Sauerstoff. Die Menge des Wasserstoffs entsprach nicht der gebildeten Ameisensäure; es scheint, dass die Reaction zwischen Formaldehyd und Hydroperoxyd nicht nur nach der Gleichung:



sondern auch nach



verläuft, wie schon Blank und Finkenbeiner erwägen. Die Bildung von Formaldehyd als intermediäres Product bei diesem Zucker-

¹⁾ Bezüglich Widerstandsfähigkeit der milchsauren Salze gegen Lüftung siehe F. Framm, Pflüger's Archiv für Physiologie 64, 598 [1896]. Auch hier ist schon auf den Zusammenhang der Milchsäurebildung mit der An- oder Abwesenheit von Luftsauerstoff hingewiesen.

²⁾ Ann. d. Chem. 335, 316 [1904]. ³⁾ Diese Berichte 31, 2979 [1898].

⁴⁾ Zeitschr. für physikal. Chem. 57, 2 [1906].

zerfall ist hierdurch bewiesen und damit die Umkehrbarkeit der berühmten Zuckersynthese auch für natronalkalische Lösungen dargethan; das Auftreten von Formaldehyd beim Behandeln von Zucker mit Zinkhydroxydammoniak ist schon von A. Windaus und F. Knoop¹⁾ beobachtet worden.

Nachdem somit die Verharzung von Acetaldehyd nicht mehr als Grund für die gewöhnlich eintretende Braunfärbung alkalischer Zuckerlösungen, welcher Framm und Schade wohl zu grossen Werth beilegen, angenommen werden konnte, tauchte die Frage auf, worauf sonst jenes Dunkelwerden der Flüssigkeit zurückzuführen sei. Wir haben nur festgestellt, dass es sich nicht um flüchtige Körper handeln kann. Zunächst wurde eine Lösung von Fruchtzucker in 100 Theilen zweiprocentiger Natronlauge unter fortwährendem Ersatze des abdestillirenden Wassers im luftverdünnten Raum (bei 12—15 mm Quecksilberdruck) und einer Badtemperatur von 40—45° zwei Tage lang zum lebhaften Sieden erhitzt. Die rückständige Lösung nahm allmählich tiefbraune Farbe an, wiewohl doch mit den massenhaft übergehenden Wasserdämpfen alle flüchtigen Körper fortgeführt worden sein müssten. Ferner haben wir durch eine alkalische Glucoselösung, hier absichtlich gewählt wegen ihrer geringeren Zersetzlichkeit (10 g Traubenzucker in einem Liter zweiprocentiger Natronlauge; die Flüssigkeit befand sich in einem hohen Cylinder, sodass die Schichthöhe 25 cm betrug), innerhalb 8 Stdn. 1200 L aus der Stahlflasche entnommenen Wasserstoff hindurchgejagt (4 capillare Austrittsöffnungen, Durchtrittsgeschwindigkeit 2—3 L in der Minute). Hier müssten doch alle flüchtigen Stoffe hinweggeführt sein? Trotzdem trat starke Gelbfärbung ein, anscheinend sogar etwas stärker als in einem Controllversuch, der in 10 cm hoher Schicht an der Luft stand (Luftsauerstoffwirkung?). In Uebereinstimmung mit Framm²⁾ ist hierdurch nachgewiesen, dass indifferente Gase unter diesen Bedingungen zur Farbloshaltung nicht dienen können; die gegentheiligen Ergebnisse von Schade³⁾ sind damit ihrer allgemeinen Gültigkeit entkleidet. Das Wesen der Durchlüftungsversuche beruht also auch auf Oxydation und zwar durch Luftsauerstoff⁴⁾. Als Ursache der Braunfärbung vermuthen wir das Auftreten

¹⁾ Diese Berichte 38, 1167 [1905]; 39, 3886 [1906].

²⁾ Pflüger's Archiv für Physiol. 64, 577 [1896].

³⁾ A. a. O., S. 5.

⁴⁾ Nachschrift bei der Correctur: Hr. Prof. H. Kiliani macht uns freundlichst aufmerksam, dass auf die oxydirende Wirkung von Luft gegenüber einer mit Calciumhydroxyd versetzten Hexoselösung durch ihn schon vor längerer Zeit hingewiesen wurde. Diese Berichte 26, 1650, 1654 [1893].

vielleicht geringer Mengen von nicht flüchtigen, wohl hydroxylhaltigen, leicht oxydirbaren Aldehyden, z. B. Glycerinaldehyd, womit die Beobachtung von Schade¹⁾, dass sich alkalische Zuckerlösungen durch Zusatz von Ammoniak, Natriumbisulfit oder Cyankalium farblos halten lassen, gut übereinstimmt.

Die hier besprochenen Zuckerzersetzen sind Oxydationsvorgänge und können nicht in Parallele gestellt werden mit der alkoholischen Gährung. Wenn auch eine Nachahmung des letzteren Vorganges ohne Enzyme als sehr im Bereiche der Möglichkeit liegend betrachtet werden muss, so führen doch die eben beschriebenen Wege nicht in jener Richtung.

Experimentelles.

Die analytischen Methoden, welche zur Anwendung kamen, sind folgende: Der Zucker wurde gewichtsanalytisch bestimmt, als Kupferoxydul gewogen und nach den Kjeldahl'schen Tabellen²⁾ berechnet unter der Annahme, dass die gesammte reducirende Substanz am Schluss der Versuche aus Fructose bestand, was wenigstens annähernd richtige Resultate erwarten liess. — Die Destillation der flüchtigen Säuren mit Wasserdampf erfolgte nach Fresenius³⁾ unter Zusatz von 25-proc. Phosphorsäure; um alle flüchtige Säure überzutreiben, muss zunächst bis auf das Volumen der Phosphorsäure eingedampft und dann bis zur neutralen Reaction mit Wasserdampf destillirt werden. Die Anwesenheit von Glykolsäure erschwert das Erkennen des Endpunktes, da dieselbe etwas flüchtig ist; um eindeutige Resultate zu erlangen, war es meistens nöthig, das Destillat mit Baryumcarbonat einzudampfen und nach Ansäuern nochmals überzutreiben. — Die Ameisensäure wurde z. Th. vor der Destillation unter Zusatz von Quecksilberchlorid bestimmt nach der Methode von Scala⁴⁾ und Lieben⁵⁾, von deren Zuverlässigkeit auch bei Gegenwart von Fructose uns ein gleich zu beschreibender Controllversuch überzeugte. Im Destillate haben wir die Ameisensäure auch mit Quecksilberchlorid, aber, die Anregung einer Notiz von Blank und Finkenbeiner entnehmend, unter Zusatz von Natriumnitrit bestimmt, was in Folge Abstumpfung der frei werdenden Säure eine raschere Beendigung der

¹⁾ A. a. O., S. 6.

²⁾ Zeitschr. für analyt. Chem. **35**, 348 [1896].

³⁾ Zeitschr. für analyt. Chem. **14**, 172 [1875].

⁴⁾ Zeitschr. für analyt. Chem. **31**, 346 [1892]; Gaz. chim. ital. **20**, 393 [1890].

⁵⁾ Monatsh. für Chem. **14**, 753 [1893].

Reduction nach 2—3-stündigem Erhitzen im kochenden Wasserbade gestattet. Controllversuche:

0.2631 g HCO_2Na (entsprechend 0.1780 g Ameisensäure) gaben mit 8 g HgCl_2 10 Stunden erhitzt 1.7732 g HgCl , entsprechend 0.1731 g Ameisensäure.

0.2631 g HCO_2Na gaben unter Zusatz von 0.05 g Fructose mit 8 g HgCl_2 , wie oben erhitzt, 1.7940 g HgCl , entsprechend 0.1752 g Ameisensäure.

0.2631 g HCO_2Na gaben mit 8 g HgCl_2 und 10 g NaNO_2 5 Stunden erhitzt 1.8180 g HgCl , entsprechend 0.1775 g Ameisensäure.

Alkalische Zuckerlösungen und Hydroperoxyd.

Je 2 g Fructose wurden mit wechselnden Mengen und wechselnden Concentrationen der Natronlauge bei verschiedenen Temperaturen in geschlossenen Gefässen vor Licht geschützt, unter allmählichem Zusatz von 40—45 ccm 3-proc. Hydroperoxyd, genau nach den Angaben von Schade aufgestellt. Der Säuregehalt des Hydroperoxyds wurde bei den Titrationen in Anrechnung gebracht. Die Säuremenge nahm mit steigender Temperatur und ebenso mit wachsender Verdünnung der Natronlauge innerhalb enger Grenzen ab.

1. 2.00 g Fructose (kryst., Kahlbaum), 200 ccm $\frac{1}{2}$ Natronlauge, 6 Tage, 15—20°. Zu den Bestimmungen wurde die Versuchsflüssigkeit auf 250 ccm aufgefüllt. 25 ccm enthielten 12.64 ccm $\frac{1}{2}$ freies Alkali, bestimmt durch directe Titration und lieferten 0.0568 g Cu_2O . Zur Bestimmung der flüchtigen Fettsäuren wurden die übrigen 200 ccm verwandt; von dem Destillat (750 ccm) entsprachen 50 ccm 2.75 ccm $\frac{1}{2}$ NaOH . Daraus berechnet sich: Gesamtsäure (unter Berücksichtigung der im Hydroperoxyd enthaltenen Menge von 0.7 ccm $\frac{1}{2}$ -Säure): 72.9 ccm $\frac{1}{2}$ -Säure (entsprechend auf 1 Molekül verschwundener Fructose 3.80 Aequivalenten); Fructose verschwunden: 1.73 g; flüchtige Säure: 51.6 ccm $\frac{1}{2}$ -Säure.

2. Anordnung wie bei 1. Gefunden: Gesamtsäure 73.5 ccm $\frac{1}{2}$ -Säure (entsprechend 3.84 Aequivalenten); Fructose verschwunden: 1.72 g; flüchtige Säure 51.3 ccm $\frac{1}{2}$ -Säure.

3. Anordnung wie bei 1., aber Versuchsdauer 8 Tage. Gefunden: Gesamtsäure 76.9 ccm $\frac{1}{2}$ -Säure (entsprechend 3.85 Aequivalenten); Fructose verschwunden: 1.80 g.

4. Anordnung wie bei 1., aber immer in Eiswasser aufbewahrt. 7 Tage. Gefunden: Gesamtsäure 74.4 ccm $\frac{1}{2}$ -Säure (entsprechend 3.97 Aequivalenten); Fructose verschwunden: 1.69 g.

5. Anordnung wie bei 1.; es wurde in der flüchtigen Säure die Ameisensäure bestimmt. Gefunden: Gesamtsäure 71.8 ccm $\frac{1}{2}$ -Säure (entsprechend 3.84 Aequivalenten); Fructose verschwunden: 1.68 g; flüchtige Säure 52.0 ccm $\frac{1}{2}$ -Säure; Ameisensäure 1.19 g (aus der gesamten flüchtigen Säure berechnen sich 1.20 g).

6. 2.00 g Fructose, 400 ccm $\frac{1}{4}$ -Natronlauge; 9 Tage, 14—17°. Gefunden: Gesamtsäure 71.4 ccm $\frac{1}{2}$ -Säure (entsprechend 3.67 Aequivalenten); Fructose:

verschwunden: 1.75 g; flüchtige Säure 50.5 ccm $\frac{1}{2}$ -Säure; Ameisensäure, in der ursprünglichen Flüssigkeit bestimmt, 1.12 g, im Destillat bestimmt 1.13 g, aus der gesammten flüchtigen Säure berechnet 1.16 g.

7. 2.00 g Fructose, 200 ccm $\frac{1}{4}$ -Natronlauge, 9 Tage, 14–17°. Gefunden: Gesamtsäure 71.3 ccm $\frac{1}{2}$ Säure (entsprechend 3.64 Aequivalenten); Fructose verschwunden: 1.76 g; flüchtige Säure 51.5 ccm $\frac{1}{2}$ -Säure; Ameisensäure in der ursprünglichen Flüssigkeit bestimmt 1.17 g, im Destillat bestimmt 1.15 g, aus der gesammten flüchtigen Säure berechnet 1.19 g.

Zur Prüfung auf Essigsäure wurden die übrig gebliebenen Mengen von flüchtiger Säure der Versuche 5–7 vereinigt, neutralisirt, eingedampft und nach D. S. Macnair¹⁾ mit Chromsäure-Schwefelsäuregemisch eine halbe Stunde gekocht. Nachdem die flüchtige Säure wiederum mit Wasserdampf übergetrieben war, wurde mit 4.3 ccm $\frac{1}{2}$ -Natronlauge neutralisirt und mit Silbernitrat mehrere Stunden lang erhitzt. Abgeschiedenes Silber bewies, dass etwas Ameisensäure durch das Oxydationsgemisch unzerstört geblieben war. Das Filtrat davon wurde auf einen Cubiccentimeter eingedampft; es schied sich beim Erkalten nichts ab. Aus den Löslichkeitsverhältnissen des Silberacetats ergibt sich, dass nur höchstens 0.004 g Essigsäure (aus etwa 5 g Fructose) vorhanden gewesen sein können.

Behufs Untersuchung der nicht flüchtigen Säuren wurde ein Versuch mit grösseren Mengen Zucker angesetzt.

8. 20.00 g Fructose, 2000.5 g $\frac{1}{2}$ -Natronlauge (= 1957.4 ccm), schrittweiser Zusatz von im ganzen 470 ccm neutralem Hydroperoxyd, 6 Tage bei Zimmertemperatur unter Wasserkühlung. Gefunden: Gesamtsäure 839 ccm $\frac{1}{2}$ -Säure (entsprechend 4.21 Aequivalenten); Fructose verschwunden: 17.94 g; Ameisensäure, in der ursprünglichen Flüssigkeit bestimmt, 13.92 g.

Die Isolirung geschah in folgender Weise: Nachdem in einem Theile die Ameisensäure für sich bestimmt war, wurde die Hauptmenge mit Salzsäure nahezu neutralisirt, unter vermindertem Druck (13–15 mm Quecksilber) bei 30–35° auf etwa 1 L eingedampft, mit Salzsäure angesäuert und im Pip'schen Apparat 13 Stunden mit Aether extrahirt. Nachdem der Aetherauszug getrocknet und eingedampft war, wurde unter schwach vermindertem Druck (300–450 mm) aus siedendem Wasserbade fractionirt. Das Destillat, mit Bleicarbonat gekocht, lieferte 31.0 g ameisen-saures Blei; es hatte sich also etwa $\frac{1}{3}$ der Ameisensäure mit den Aetherdämpfen verflüchtigt.

0.3362 g Subst. (lufttrocken) verloren bei 105° nichts an Gewicht und gaben 0.3426 g PbSO_4 .

$(\text{CHO}_2)_2\text{Pb}$. Ber. Pb 69.69. Gef. Pb 69.60.

Das Filtrat vom ameisen-sauren Blei wurde zur Prüfung auf Essigsäure mit Schwefelwasserstoff vom Blei befreit und direct mit

¹⁾ Zeitschr. für analyt. Chem. 27, 398 [1888]; Chem. News 55, 229 [1887].

Silberoxyd mehrere Stunden auf dem Wasserbade erhitzt. Nach dem Filtriren und Eindampfen krystallisirte kein Silberacetat.

Der nicht flüchtige Rest des Aetherauszuges wurde mit Zinkcarbonat gekocht, vom Ueberschuss desselben und von 0.2 g braunem, wasserunlöslichem Harz abfiltrirt und ergab 1.26 g krystallisirtes, sowie 0.2 g gummiartiges Zinksalz. Ersteres erwies sich, durch einmaliges Umkrystallisiren aus verdünntem Alkohol gereinigt, als glykolsaures Zink; die erhaltene Menge entspricht 0.76 g Glykolsäure.

0.1819 g Sbst. (lufttrocken) verloren, bei 150° getrocknet, 0.0275 g H₂O und gaben 0.0596 g ZnO. — 0.1533 g Sbst. (lufttrocken) verloren, bei 105° getrocknet, 0.0219 g H₂O und gaben 0.0501 g ZnO.

(C₂H₃O₃)₂Zn + 2 H₂O. Ber. H₂O 14.32, Zn 26.01.
Gef. » 14.87, 14.29, » 25.91, 26.26.

Durch Entfernen des Zinks mit Schwefelwasserstoff und Behandeln des Filtrats nach dem Verjagen des Schwefelwasserstoffs mit Kupfercarbonat liess sich daraus das charakteristische Kupfersalz der Glykolsäure in prachtvollen, hellblauen Krystallen erhalten.

Der salzsaure, wässrige Rückstand der Aetherextraction wurde erneut im Vacuum nunmehr bis auf wenige Cubiccentimeter eingedampft, drei Mal mit einem Gemenge von 2 Theilen absolutem Alkohol und 1 Theil Aether, schliesslich noch drei Mal mit absolutem Alkohol ausgezogen, vom Chlornatrium abfiltrirt und das Filtrat nach dem Trocknen mit entwässertem Natriumsulfat wiederum im Vacuum bei einer Badtemperatur von 50° so lange destillirt, bis nichts mehr überging. Es hinterblieben etwa 11 g gelblicher, in Wasser leicht löslicher Syrup; durch Kochen mit viel Calciumcarbonat wurden die darin enthaltenen Säuren in die Calciumsalze verwandelt. Der ungelöst bleibende Antheil des Calciumcarbonats enthielt keinerlei organische Substanz, sondern nur etwas Sulfat und Phosphat; die Säuren müssen der angewandten Natronlauge entstammen. Die wässrige Lösung der Calciumsalze schied nach starkem Einengen und Verreiben mit absolutem Alkohol einen körnig-krystallinischen Niederschlag ab; es resultirten nach zweimaligem Wiederholen der Operation 5.2 g alkoholunlösliches Calciumsalz, welches durch Analyse und Ueberführung in das Phenylhydrazid als erythronsaures Calcium erwiesen wurde.

Zur Analyse wurde das Calciumsalz nochmals in wenig Wasser gelöst, mit absolutem Alkohol verrieben, mit demselben Lösungsmittel, schliesslich mit absolutem Aether gewaschen, eine Viertelstunde bis zur vollständigen Verflüchtigung des Aethers auf Thon getrocknet und sofort analysirt (I). Zur Analyse II diente ein Präparat, das noch einmal in der gleichen Weise umgefällt war.

I. 0.2275 g Sbst. verloren bei 105° 0.0310 g an Gewicht und gaben 0.0909 g CaSO_4 . — II. 0.2267 g Sbst.: 0.0279 g Gewichtsverlust; 0.0875 g CaSO_4 .

$(\text{C}_4\text{H}_7\text{O}_5)_2\text{Ca} + 2\text{H}_2\text{O}^1$. Ber. H_2O 10.40.

$(\text{C}_4\text{H}_7\text{O}_5)_2\text{Ca}$. » Ca 12.90.

Gef. H_2O 13.63, 12.31, Ca 13.63, 12.97.

1.26 g Sbst., zu 18.2 g in Wasser gelöst, zeigte, im Decimeterrohr polarimetrisch untersucht, keine Spur Drehung, die Säure war also inactiv. Hätte das Calciumsalz der activen Säure von O. Ruff²⁾ vorgelegen, so wäre unter obigen Bedingungen eine Drehung von etwa 0.6° zu erwarten gewesen. Die sichere Identificirung mit Erythronsäure gelang durch Uebersführung in das Phenylhydrazid. 1.2 g Sbst. wurden mit einem geringen Ueberschuss von Phenylhydrazin und Essigsäure $1\frac{1}{2}$ Stunden auf dem Wasserbade erwärmt, eingedampft und mit Essigester extrahirt. Nach dem Verjagen des grössten Theiles des Lösungsmittels krystallisirten 0.6 g noch rothgelb gefärbter Blättchen, welche durch einmaliges Umlösen aus heissem Wasser unter Zusatz von etwas Thierkohle in Form prächtiger, farbloser, flacher Nadeln vom Schmp. $126\text{--}128^\circ$ erhalten wurden (O. Ruff: 128° corr.).

Die Mutterlauge von dem alkoholunlöslichen Calciumsalz wurde mit Schwefelsäure vom gelöstem Calcium, dann mit Bleicarbonat von der überschüssigen Schwefelsäure (das Gemenge von Bleicarbonat und Bleisulfat enthielt keine organische Substanz) und schliesslich mit Schwefelwasserstoff vom Blei befreit. Nach dem Eindampfen und 24-stündigem Trocknen im Vacuum hinterblieben 4.2 g hellgelber Syrup, aus welchem ein krystallisirendes Salz nicht mehr erhalten werden konnte. Die Gesamtmenge wurde daher einige Stunden mit Phenylhydrazin und Essigsäure auf dem Wasserbade erwärmt; es schieden sich beim Erkalten 0.5 g schwer lösliches Osazon ab, das aus Aceton in den bekannten, hellgelben Nadelchen des Phenylglucosazons vom Schmp. $203\text{--}204^\circ$ krystallisirte.

Zur Untersuchung des bei der Einwirkung von Hydroperoxyd auf alkalische Zuckerlösung sich entwickelnden Gases wurden 0.2, bezw. 0.6 g Fructose in 100 Theilen $\frac{1}{2}$ -Natronlauge und 10 Theilen dreiprocentigem, zur Vertreibung von gelöstem Sauerstoff ausgekochtem Hydroperoxyd gelöst und über Quecksilber abgesperrt; nach Verlauf von 7—8 Stunden gab man von neuem 5 Theile Hydroperoxyd zu. Die Gasentwicklung begann nach kurzer Zeit; binnen 24 Stunden waren 6.4, bezw. 24.6 ccm Gas entstanden, welche bei der Behandlung mit alkalischer Pyrogalllösung ihr Volumen nicht veränderten, also sauerstofffrei waren. Durch Be-

¹⁾ Vielleicht enthält das Salz nicht Krystallwasser, sondern Krystallalkohol; auf die Formel $(\text{C}_4\text{H}_7\text{O}_5)_2\text{Ca} + \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ berechnet sich ein Gewichtsverlust von 12.92 pCt.

²⁾ Diese Berichte 32, 3680 [1899].

stimmung mit Hilfe der Hempel'schen Explosionspipette ergab sich darin ein Gehalt von 5.3, bezw. 18.0 ccm Wasserstoff; der Rest bestand aus Stickstoff.

Zersetzung alkalischer Zuckerlösungen bei Durchlüftung.

9. Durch eine Lösung von 10.00 g Fructose in 1000 ccm $\frac{1}{4}$ -Natronlauge wurde zunächst 15 Stunden lang bei 32°, später bei Zimmertemperatur durch 4 capillare Oeffnungen ein heftiger, gut mit Natronlauge gewaschener und durch ein Wattefilter filtrirter Luftstrom hindurchgesaugt. Nach 6 Tagen wurde die wasserhelle Flüssigkeit auf 1 L aufgefüllt. Gefunden: Gesamtsäure 221.6 ccm $\frac{1}{2}$ -Säure (entsprechend 2.28 Aequivalenten); Fructose verschwunden 8.78 g; flüchtige Säure 63.6 ccm $\frac{1}{2}$ Säure; Ameisensäure, im Destillate bestimmt, 1.42 g, aus der gesammten flüchtigen Säure berechnet: 1.46 g; Oxalsäure, (zur Prüfung darauf wurden 50 ccm der ursprünglichen Versuchsflüssigkeit verwendet) war nicht vorhanden.

10. 10.00 g Fructose, 1027.8 g 2%_{v/v} Natronlauge (= 997.0 ccm); 6 Tage lang bei Zimmertemperatur durch 3 capillare Eintrittsröhren gelüftet. Gefunden: Gesamtsäure 244.5 ccm $\frac{1}{2}$ -Säure (entsprechend 2.48 Aequivalenten); Fructose verschwunden 8.88 g; Ameisensäure, in der ursprünglichen Flüssigkeit bestimmt, 2.55 g Fercer lieferten 50 ccm mit Chlorcalcium in essigsaurer Lösung keine Spur Niederschlag, Oxalsäure war also nicht vorhanden.

Zur Isolirung der nicht flüchtigen Säuren wurden die übrig bleibenden 900 ccm nach dem Ansäuern mit Salzsäure in dem Pip'schen Apparat 5½ Stunden lang mit Aether extrahirt, der Aetherauszug sofort nach dem Abdestilliren des Aethers in das Bleisalz umgewandelt und die Abscheidung des ameisen-sauren Bleis durch Zusatz von Alkohol vervollständigt. Erhalten 3.8 g Bleiformiat. Aus dem Filtrat davon wurde das Blei mit Schwefelwasserstoff gefällt, der Rest eingedampft, zur völligen Vertreibung der Ameisensäure einige Zeit auf dem Wasserbade erwärmt und schliesslich in das Zinksalz verwandelt. Es krystallisirten nur 0.1 g Zinksalz aus (glykolsaures Zink, entsprechend 0.06 g Glykolsäure); in der Mutterlauge davon verblieben 0.5 g einer hygroskopischen, gummiartigen Masse.

Der ätherunlösliche Antheil der Reactionsproducte wurde in ähnlicher Weise, wie in Versuch 8 beschrieben, aufgearbeitet. Der Alkohol-Aetherauszug enthielt etwa 8 g Substanz. Daraus gewonnen; 3.5 g alkoholunlösliches Calciumsalz (erythronsaures Calcium) entsprechend 2.7 g Erythronsäure). Das Filtrat davon hinterliess nach dem Eindampfen auf dem Wasserbade und Trocknen im Vacuum 4.5 g gelben, syrupösen Rückstand, der auch nach tagelangem Stehen keine Neigung zur Krystallisation zeigte.