

es sehr schwer beim Erwärmen mit violetter Farbe aufgenommen. Leicht lösen, bei schwachem Erwärmen, Pyridin, Anilin und Nitrobenzol mit violetter Farbe. In konz. Schwefelsäure löst es sich mit grüner Farbe und fällt auf Zusatz von Wasser wieder aus.

0.1550 g Sbst.: 0.3360 g CO₂, 0.0430 g H₂O.

C₁₄H₈O₃N₂S (248). Ber. C 59.15, H 2.81.

Gef. » 59.12, » 3.10.

68. Martin Jacoby: Über den vermeintlichen Abbau der Stärke durch Formaldehyd.

[Aus dem biochemischen Laboratorium des Krankenhauses Moabit in Berlin.]

(Eingegangen am 30. Januar 1919.)

Auf Grund von Versuchen, die sie in diesen »Berichten« beschrieben hat, hält Gertrud Woker¹⁾ es für sehr wahrscheinlich, daß Formaldehyd Modelleigenschaften der Diastase besitzt. v. Kaufmann²⁾ konnte die Wokerschen Angaben nicht bestätigen. Seine Versuche ließen sich am ungezwungensten dahin deuten, daß die Stärke vom Formaldehyd nicht hydrolysiert wird, sondern eine Verbindung mit dem Aldehyd eingeht. Jedoch will Woker die Beweiskraft der v. Kaufmannschen Versuche nicht anerkennen.

Wenn die Annahme Wokers richtig wäre, würden ihre Versuche einen entschiedenen Fortschritt der Fermentforschung bedeuten. Es schien mir daher wünschenswert, die Beobachtungen der Autoren nachzuprüfen. Nach meinen Befunden muß ich den Behauptungen Wokers durchaus widersprechen und mich dem Standpunkte v. Kaufmanns anschließen.

Wokers Grundversuch ist folgender: Bringt man je 2 ccm einer 10-proz. Lösung von löslicher Stärke mit verschiedenen Mengen von Formaldehyd zusammen, so beobachtet man nach Zusatz einiger Tropfen einer $\frac{1}{10}$ -n. Jodlösung, daß bei genügendem Formaldehyd-gehalt der Proben nicht mehr die Jod-Stärke-Blaufärbung eintritt, sondern mit wachsendem Formaldehyd-gehalt rote bis gelbe Farbtöne auftreten, die endlich bei einer bestimmten Formaldehydmenge der reinen Jodfarbe entsprechen.

Diesen schon von Syniewski beschriebenen Versuch Wokers kann ich ebenso, wie es auch v. Kaufmann bereits getan hat, bestätigen. Eine derartige Formaldehydreihe ähnelt einer Versuchsreihe, bei der man steigende Mengen Diastase zu Stärke hinzufügt und

¹⁾ B. 49, 2311 [1916]; 50, 679 [1917].

²⁾ B. 50, 198 [1917].

dann zum Schluß mit Jod untersucht, ob noch unveränderte Stärke oder Abbauprodukte der Stärke nachweisbar sind. Setzt man nebeneinander zwei Versuchsreihen an, die sich nur dadurch unterscheiden, daß man einmal Formaldehyd, im anderen Falle Taka-Diastase anwendet, so erhält man ähnliche Bilder.

v. Kaufmann bestreitet, daß durch Formaldehyd die Stärke abgebaut wird, und zeigt, daß man nach Entfernung des Aldehyds die Jodreaktion der unveränderten Stärke wiedererhält. Seine Versuche sucht Woker durch komplizierte Hilshypothesen ihrer Beweiskraft zu entkleiden. Überzeugend sind die Einwendungen Wokers durchaus nicht. Nun habe ich aber Versuche angestellt, bei denen es ganz sicher ist, daß von einer Aufspaltung der Stärke durch Formaldehyd nicht die Rede ist.

Wenn Formaldehyd das Stärkemolekül nicht abbaut, sondern nur durch seine Gegenwart die Stärke-Jod-Reaktion verhindert, so muß es möglich sein, auch nach Einwirkung den Formaldehyd aus den Gemischen wieder zu entfernen und dadurch die Stärke der Jodreaktion wieder zugänglich zu machen. Das gelingt leicht, wenn man zu den Gemischen Ammoniumacetat hinzufügt. Dann verbindet sich der Aldehyd damit unter Bildung von essigsauerm Hexamethylentetramin und stört nicht mehr die Reaktion der Stärke mit dem Jod. Ist die Stärke aber abgebaut, wie man es durch Diastase erreicht, so nutzt die Zufügung von Ammoniumacetat nichts. Das Ammoniumacetat als solches ist ganz bedeutungslos für die Jodreaktion. Darum ändert seine Zufügung in den Diastase-Versuchen nichts, während es bei den Formaldehyd-Versuchen durch die Beschlagnahme des Formaldehyds die Jod-Stärke-Reaktion wiederherstellt.

In weiteren Versuchen stellte ich Diastase-Stärke-Gemische her und ließ die Reihen 24 Stdn. im Brutschrank, so daß die Bedingungen für einen tiefen Abbau möglichst günstig gewählt waren. Nunmehr fügte ich zu einer Diastase-Stärke-Reihe in jede Probe je 5 ccm einer 50-proz. Lösung von völlig neutralem Ammoniumacetat, und außerdem verschiedene Mengen Formaldehyd, zu einer Kontrollreihe überall ebenso Ammoniumacetat, aber anstatt des Formaldehyds entsprechende Mengen Wasser.

Bei diesen Versuchen wird in beiden Fällen die Farbenskala erhalten. Hier, wo die Stärke abgebaut ist, bekommt man eben immer nur die Jod-Reaktionen, welche auf der Gegenwart der Abbaustufen beruhen. Die gleichzeitige Gegenwart von Ammoniumacetat oder essigsauerm Hexamethylentetramin ist ganz ohne Einfluß. Also auch der Einwand, daß etwa Ammoniumacetat oder Hexamethylentetramin

die Jod-Dextrin-Reaktion hindert, aber die Jod-Stärke-Reaktion zuläßt, ist hinfällig.

Auch Versuche, die ich mit unlöslicher Stärke ausführte, lassen sich durchaus nicht mit der Auffassung Wokers in Einklang bringen, während sie vollkommen mit den Befunden v. Kaufmanns harmonieren. Wenn die Stärke durch Formaldehyd abgebaut würde, so wäre es unmöglich, daß man sie durch Alkohol-Fällung quantitativ wiedergewinnen kann. Daß ist aber der Fall. Auch hier habe ich den direkten Beweis erbracht, daß Formaldehyd und Diastase sich prinzipiell verschieden verhalten. Denn wenn man anstatt Formaldehyd Diastase auf Stärke einwirken läßt, kann man leicht feststellen, daß der größte Teil der Stärke nach Beendigung der Diastaseeinwirkung nicht mehr durch Alkohol fällbar ist. Wie die Versuchsprotokolle zeigen, geht etwa 90 % der benutzten Stärke in alkohollösliche Produkte über, während bei Zusatz von Formaldehyd die Stärke genau so unlöslich bleibt, wie sie vorher war.

Versuchsbeispiele.

1. Zu dem Versuch wird hergestellt eine 10-proz. Lösung von löslicher Stärke. Als Formaldehyd kommt käuflicher ca. 38-proz. Formaldehyd zur Verwendung, der durch Natronlauge vorher genau neutralisiert wurde. — 100 ccm der Formaldehydlösung verbrauchten 2 ccm $\frac{1}{10}$ n. Natronlauge.

Es wurden zwei Reihen A und B von je 6 Proben angesetzt.

1.	2 ccm Formaldehyd,	0 ccm Wasser,	2 ccm Stärke.
2.	1.5 »	» 0.5 »	» 2 »
3.	1.0 »	» 1.0 »	» 2 »
4.	0.5 »	» 1.5 »	» 2 »
5.	0.1 »	» 1.9 »	» 2 »
6.	0 »	» 2.0 »	» 2 »

Beide Reihen kommen für 24 Stdn. in den Brutschrank. Dann wird zu den Proben der Reihe A je 5 ccm von 50-proz. Ammoniumacetat hinzugefügt, zu den Proben der Reihe B je 5 ccm Wasser. Nach 15 Minuten werden alle Proben durchgeschüttelt und dann werden überall einige Tropfen einer $\frac{1}{10}$ -Jodlösung zugesetzt.

In Reihe A färben sich alle Proben gleichmäßig blau.

In Reihe B erhält man eine Skala von gelb bis blau.

2. Gleichzeitig wird ein Fermentversuch angesetzt, für den eine 1-promill. Lösung von Taka-Diastase verwandt wird.

Es werden wieder 2 Reihen C und D angesetzt mit je sechs Proben.

1.	1.0 ccm Diastase,	1 ccm Wasser,	2.0 ccm Stärke.
2.	0.7 »	» 1.3 »	» 2.0 »
3.	0.5 »	» 1.5 »	» 2.0 »
4.	0.2 »	» 1.8 »	» 2.0 »
5.	0.1 »	» 1.9 »	» 2.0 »
6.	0 »	» 2.0 »	» 2.0 »

Nach 24 Stdn. Verweilen im Brutschrank kommt zu Reihe C je 5 ccm einer Lösung von 50-proz. Ammoniumacetat, zu Reihe D je 5 ccm Wasser. Nach 15 Minuten werden die Reihen durchgeschüttelt und dann überall Jod zugefügt.

	Reihe C: 1—4 gelb	5 braun	6 blau
	Reihe D: 1—4 gelb	5 braungelb	6 blau.
3.	1. 1.0 ccm Diastase, 0 ccm Wasser, 2 ccm Stärke.		
	2. 0.7 » » 0.3 » » 2 » »		
	3. 0.5 » » 0.5 » » 2 » »		
	4. 0.2 » » 0.8 » » 2 » »		
	5. 0.1 » » 0.9 » » 2 » »		
	6. 0 » » 1.0 » » 2 » »		

Nach 24 Stdn. Brutschrank kommt zu 1.—6. in Reihe E je 5 ccm Ammoniumacetat, zu:

1. 4 ccm Formaldehyd, 2. 3 ccm, 3. 2 ccm, 4. 1 ccm, 5. 0.5 ccm, 6. —; in Reihe F anstatt des Formaldehyds entsprechende Mengen Wasser. Nach 15 Minuten wird durchgeschüttelt und Jod zugefügt.

In Reihe E und F wird die gleiche Farbenskala von gelb bis blau erzielt.

4. Je 10 ccm einer 0.9-proz. Aufkochung von unlöslicher Stärke wird einmal mit 5 ccm Formaldehyd (38-proz., neutralisiert), in einem Kontrollversuch mit 5 ccm Wasser gemischt. Beide Gemenge kommen für 24 Stdn in den Brutschrank. Durch Vorversuche war ausprobiert worden, daß die Formaldehydmenge vollkommen ausreichend ist, um die Jod-Stärke-Reaktion zu verhindern.

Nach Beendigung des Brutschrank-Aufenthaltes werden die Gemenge in je 150 ccm Alkohol gegossen. Die entstandenen Niederschläge werden abfiltriert, zur Gewichtskonstanz getrocknet und gewogen.

Es wird gefunden: in der Formaldehydprobe 0.0758 g,
in der Kontrollprobe 0.0734 g.

5. Wiederholung des vorigen Versuches nur mit dem Unterschiede, daß beide Proben doppelt angesetzt wurden.

Formaldehydprobe: 0.0758 g und 0.0720 g,
Kontrollprobe: 0.0704 g und 0.0718 g.

Qualitativ wurde mehrfach festgestellt, daß die ausgefällten Niederschläge mit Jod eine schöne Blaufärbung geben.

6. Je 10 ccm einer 0.9-proz. Aufkochung von unlöslicher Stärke werden mit je 10 ccm einer 1-promill. Lösung von Taka-Diastase gemischt, 2 Kontrollen mit 10 ccm Wasser. Alle 4 Proben bleiben bis zum nächsten Tage im Brutschrank. Dann werden zu den beiden ersten Proben je 10 ccm Wasser, zu den Kontrollen je 10 ccm Diastaselösung hinzugetan. Sofort danach werden die Gemische in je 150 ccm Alkohol eingetragen und nach dem Umrühren noch weitere 150 ccm Alkohol zugefügt. Die beiden Hauptproben bleiben klar, während die Kontrollen sich trüben und allmählich einen erheblichen Niederschlag zu Boden sinken lassen. Nach 24 Stdn. werden die Niederschläge auf gewogenen Filtern gesammelt und bei 108° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Die Hauptversuche ergeben 0.0070 g und 0.0074 g,
die Kontrollen 0.0724 g und 0.0752 g.

Alle Versuche dieser Mitteilung stehen also durchaus in Einklang mit v. Kaufmanns Anschauung und im Widerspruch zu den Behauptungen Wokers. Dieses klare Ergebnis scheint um so bemerkenswerter, weil die Resultate auf einer anderen experimentellen Basis als bei den Voruntersuchern sich aufbauen.

Die Formaldehyd-Einwirkung auf Stärke hat mit der Diastase-Wirkung nichts zu tun; der Formaldehyd ist kein Diastase-Modell.

69. C. Wehmer: Über Fumarsäure-Gärung des Zuckers.

(Eingegangen am 24. Januar 1919.)

In einer Bemerkung¹⁾ zu meiner Mitteilung²⁾ über Fumarsäure-Gärung des Zuckers führt F. Ehrlich aus, daß in seinen früher mitgeteilten³⁾ beiden Versuchen seiner Meinung nach gleichfalls freie Fumarsäure zugegen gewesen sei. Demgegenüber bemerke ich vorweg, daß der auch von mir untersuchte *Rhizopus nigricans* gleich anderen Spezies dieser Gattung weder nachweisbare Mengen freier Säure bildete, noch aus zugesetzter Kreide faßbare Mengen von Calciumfumarat erzeugte, solche vielmehr unverändert ließ. Dieser Pilz ist also kein Säuregärungs-Erreger, selbst wenn er gelegentlich kleine Mengen fumarsaurer Salze abspaltet, ebensowenig wie andere Pilzarten, von denen Bildung solcher ja lange bekannt ist.

Übrigens hat Ehrlich auch an keiner Stelle seiner früheren Mitteilung den Nachweis des Vorhandenseins freier Fumarsäure geführt, ebensowenig, wie er diese Tatsache dort angegeben hat; daß man sie nicht aus einer Titrierung der Kulturflüssigkeit mit Phenolphthalein als Indicator folgern kann, brauche ich wohl kaum hervorzuheben; da können ja die verschiedensten Dinge in Frage kommen, die nichts mit Fumarsäure zu tun haben. Aber selbst wenn man einmal annehmen wollte, daß auch kleine Mengen freier organischer Säure beteiligt sind, so wäre es angesichts der Tatsache, daß sonstige saure Bestandteile notorisch vorhanden sind⁴⁾, doch

¹⁾ B. 52, 63 [1919].

²⁾ B. 51, 1663 [1918].

³⁾ B. 44, 3737 [1911].

⁴⁾ Oxyphenyl-milchsäure, sowie nach neuerer Angabe Ehrlichs auch Bernstein-, Äpfel-, Milchsäure und flüchtige Säuren (B. 52, 64 [1919]), so daß der Vorgang offenbar kompliziert und nichts weniger als eine glatte »Fumarsäure-Gärung« ist; die gefundene Fumarsäure von 2.6 g würde auch nur die Hälfte der beobachteten »Acidität« (82 cem *n*-NaOH) decken.