

**861. Richard Kuhn und Georg Ernst v. Grundherr: Einfluß der Acidität bei Einwirkung von Hefe-Auszügen auf konz. Traubenzuckerlösungen.**

[Aus d. Chem. Laborat. d. Bayer. Akad. d. Wissenschaften in München.]

(Eingegangen am 8. September 1924.)

Das synthetische Wirkungsvermögen der Enzyme ist von A. Croft Hill<sup>1)</sup> am Beispiel der Einwirkung von Hefe-Auszügen auf Glucose entdeckt worden. Die Natur des gebildeten Disaccharids ist aber noch umstritten. Ursprünglich glaubte Croft Hill, daß das Reaktionsprodukt Malzzucker sei. Wir halten seine diesbezügliche Schlußfolgerung nicht nur mit Rücksicht auf die Isolierung von Maltosazon, sondern auch im Hinblick auf die Übereinstimmung der Reduktions- und Drehungswerte, die sich von Glucose einerseits, von Maltose andererseits ausgehend ergeben, für überzeugend. Nach O. Emmerling<sup>2)</sup> soll dagegen kein Malzzucker, sondern Isomaltose gebildet werden, und in einer späteren Mitteilung spricht sich A. Croft Hill<sup>3)</sup> für die gleichzeitige Entstehung zweier Disaccharide, Maltose und Revertose, aus.

Wir haben die Versuche Croft Hills von neuem in Angriff genommen in der Absicht, die präparative Methodik durch Berücksichtigung der von R. Willstätter<sup>4)</sup> bei der Darstellung von Maltase-Lösungen aus Frisch-Hefe gemachten Erfahrungen zu verbessern und unsere Kenntnisse in kinetischer Hinsicht durch Berücksichtigung der Wasserstoffzahl im Sinne von S. P. L. Soerensen<sup>5)</sup> zu vertiefen.

Zur Lösung der eingangs erwähnten Widersprüche glauben wir durch die Feststellung beitragen zu können, daß bei wechselnder Acidität zwei Maxima für die Geschwindigkeit der Reduktionsabnahmen zu beobachten sind. Mit Auszügen aus Löwenbräu- und Sinner-Hefe fanden wir ein Maximum zwischen  $p_H$  4 und  $p_H$  6, gefolgt von einem Minimum bei  $p_H$  6,5—6,8 und einem zweiten Optimum bei  $p_H$  7,3—7,5 (Fig. 1). Die starke  $p_H$ -Abhängigkeit der Reduktionsabnahmen macht es verständlich, daß die von früheren Forschern benützten Hefe-Auszüge, die gegen Lackmus neutral reagierten, bald das eine, bald das andere Disaccharid in überwiegender Menge geliefert haben. Denn nach unserer Überzeugung handelt es sich um die Wirkungen mindestens zweier verschiedener Fermente, welche die Bildung verschiedener Reaktionsprodukte bewirken. Für die Unabhängigkeit beider Wirkungen scheint uns vor allem das Verhalten einer von der Zuckerraffinerie Frankenthal bezogenen Betriebshefe zu sprechen. Die aus ihr bereiteten Auszüge lassen nur ein  $p_H$ -Optimum, und zwar in der Nähe von  $p_H$  5 erkennen. Die in spurenweise alkalischer Lösung am besten wirkende Enzymkomponente scheint dieser Hefe abzugehen (Fig. 2).

Die Ausbeuten an Disaccharid sind nicht nur von Hefe zu Hefe ungemein verschieden, sondern sie hängen auch von der Konzentration der angewandten Glucose-Lösungen in hohem Maße ab. In der Nähe von  $p_H$  5 verläuft die Synthese in 40-proz. Lösung am schnellsten.

<sup>1)</sup> Soc. 73, 634 [1898].    <sup>2)</sup> B. 34, 600, 3810 [1901].    <sup>3)</sup> Soc. 83, 578 [1903].

<sup>4)</sup> R. Willstätter, Tr. Oppenheimer u. W. Steibelt, H. 110, 232 [1920].

<sup>5)</sup> Bio. Z. 21, 131, 279 [1909].

## Beschreibung der Versuche.

### I. Ausführung der Versuche.

Die Hefe-Auszüge wurden in der Regel aus gewaschener, abgepreßter Frisch-Hefe mit der 5-fachen Menge Wasser, dem 5% Toluol zugesetzt wurden, unter sorgfältigem Neutralisieren mit 2-proz. Ammoniak bereitet. Die Extraktionsdauer betrug jeweils 24 Std. Die Konzentrationsangaben bei den folgenden Versuchen bedeuten g Traubenzucker (Kahlbaum, ger.) auf 100 ccm Hefe-Auszug + Phosphat-Gemisch. Die  $p_H$ -Werte wurden colorimetrisch geschätzt.

Beispiel für einen 40-proz. Ansatz mit Grünwinkler Verbandshefe (Sinner A.-G.) bei  $p_H = 7.4$ : 40 g Glucose, 40 ccm Wasser, 40 ccm 20-proz. Hefe-Auszug, 5 ccm  $^{115}$ -*prim.*-Kaliumphosphat, 15 ccm  $^{115}$ -*sek.*-Natriumphosphat, 10 ccm Toluol.

Zur Bestimmung der Reduktionsabnahmen bedienen wir uns des Hypojodit-Verfahrens von R. Willstätter und G. Schudel<sup>9)</sup>.

Dem Reaktionsgemisch werden Proben von 5 ccm entnommen und mit 5 ccm gesättigter Sublimat-Lösung (gelegentlich 10 ccm 10-proz. Kaolin-Suspension) und 10 ccm Wasser versetzt. Man filtriert in 100-ccm-Meßkölbchen und benutzt 5 ccm bzw. die etwa 0.1 g Traubenzucker enthaltende Menge der Lösung zur Messung des Jodverbrauches. Die Genauigkeit des Verfahrens beträgt, wenn man für 100-proz. Überschuß des Oxydationsmittels sorgt und die zur Neutralisation der zugesetzten Phosphate nötige Alkalimenge beachtet,  $\pm 0.05$  ccm  $^{110}$ -Jod, entsprechend  $\pm 0.5\%$  des gesamten Reduktionsvermögens.

Im angeführten Beispiel wurden unmittelbar nach Ansatz des Versuches 12.55 ccm, nach 10-tägigem Stehen bei Zimmertemperatur 11.91 ccm  $^{110}$ -Jod verbraucht. Daraus berechnet sich eine Abnahme der Aldehydgruppen um 5.1%, was einer Disaccharid-Synthese von 10.2% entspricht. Die Anwesenheit des Phosphats scheint auf die Reduktionsabnahmen ohne Einfluß, zu sein. Bei übereinstimmender Wasserstoffzahl ( $p_H = 4.8-5.0$ ) erhält man mit verd. Essigsäure und mit *prim.* Kaliumphosphat in gleichen Zeiten nahezu gleiche Abnahmen des Reduktionsvermögens. Durch 4-stg. Hydrolyse mit 0.5-n. Schwefelsäure im Dampfbade läßt sich der Anfangswert des Jodverbrauches wieder erreichen:

5 ccm eines 20-fach verdünnten, 8 Tage alten Ansatzes mit Sinner-Hefe (40% Glucose) verbrauchten 8.68 ccm, nach der Hydrolyse 9.20 ccm  $^{110}$ -Jod, während der Reduktionswert zu Beginn des Versuches 9.23 ccm derselben Jod-Lösung entsprach.

### II. Einfluß der Acidität und der Zucker-Konzentration.

Sinner- und Löwenbräu-Hefe gaben bei 8- bzw. 7-tägiger Versuchsdauer (20—25<sup>0</sup>) die in Figur 1 dargestellten Reduktionsabnahmen.  $p_H = 2.5$  wurde mit einem Gemisch von *prim.* Phosphat und freier Phosphorsäure,  $p_H$  3.9 mit verd. Essigsäure,  $p_H$  4.5 mit *prim.*,  $p_H$  8.5 mit *sek.* Phosphat eingestellt. Die bei  $p_H = 4-5$  und bei  $p_H = 7.3$  beobachteten Reduktionsabnahmen verhalten sich in beiden Fällen annähernd wie 7:5. Dieses Verhältnis gilt jedoch nicht allgemein. Ein Neutralautolysat einer 4 Jahre alten, getrockneten Probe von Löwenbräu-Hefe lieferte uns bei 24-stdg. Einwirkung auf 50-proz. Glucose-Lösungen bei  $p_H = 6.5$  9.5% Synthese,  $p_H = 6.8$  0.0% Synthese,  $p_H = 7.1$  0.7% Synthese.

Zu dem mit einem Auszug aus Frankenthaler-Hefe ausgeführten Versuch der Figur 2 dienten die nämlichen Phosphat-Gemische;  $p_H = 5$  bezieht sich auf verd. Essigsäure.

<sup>9)</sup> B. 51, 780 [1918].

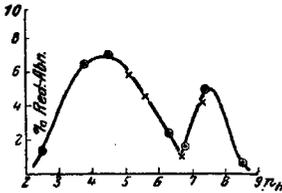


Fig. 1.

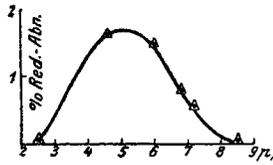


Fig. 2.

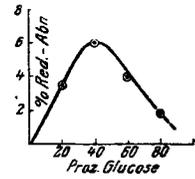


Fig. 3.

Nicht nur in bezug auf die Geschwindigkeit der Synthese, sondern auch in bezug auf das Ausmaß derselben bestehen zwischen den einzelnen Hefen bedeutende Unterschiede. Den von A. Croft Hill angegebenen Endwert von 15% erreichten wir wiederholt schon nach 8-tägiger Versuchsdauer (verschiedene Lieferungen von Sinner- und Löwenbräu-Hefe). Eine Münchener Bäckerhefe unbekannter Herkunft bewirkte sogar in 24 Stdn. Reduktionsabnahmen, die 23.1 und 22.8% Disaccharid-Bildung entsprachen. Die aus den Angaben O. Emmerlings berechenbaren Synthesen von bis weit über 40% haben wir nicht erreicht.

Der Einfluß der Zucker-Konzentration, wie er in Figur 3 dargestellt ist, bezieht sich nicht auf Gleichgewichtswerte. In 40-proz. Lösung ist vor allem die Geschwindigkeit der Synthese am größten. Wie die nachstehende Tabelle zeigt, sind die Reduktionsabnahmen in 20- und 80-proz. Lösung den Einwirkungsdauern noch annähernd proportional, während sie in 40-proz. Lösung zwischen dem 3. und 6. Tage nur noch von 5.6 auf 6.4% ansteigen.

Glucose	Reduktionsabnahme.	
	nach 3 Tagen	nach 6 Tagen
20%	1.9%	3.5%
40%	5.6%	6.4%
60%	1.8%	3.1%
80%	1.3%	2.7%

**362. Friedrich L. Hahn: Widersprüche und Irrtümer in der analytischen Chemie, V.<sup>1)</sup> G. Scheiderer: Die Fällung von Magnesium-ammoniumphosphat aus aluminium-haltiger Lösung.**

[Aus d. Chem. Institut d. Universität Frankfurt a. M.]

(Eingegangen am 16. September 1924.)

Es ist seit langem bekannt, daß man Magnesium bei Gegenwart von Aluminium bestimmen kann, indem man dieses durch Tartrat in Lösung hält, während man Magnesium-ammonium-phosphat ausfällt<sup>2)</sup>. Strittig ist, ob dies Verfahren auch zur Bestimmung kleinster Mengen (1% und weniger) Magnesium im Aluminium verwendet werden kann. Vor einiger Zeit fand ich gemeinsam mit Dornauf<sup>3)</sup>, daß es versagt; wir erhielten bald

<sup>1)</sup> IV.: B. 55, 3434 [1922].

<sup>2)</sup> Fresenius, Quantitative Analyse I, 562, Braunschweig 1910; Czochralski, Z. Ang. 26, I 501 [1913]; E. Wilke-Dörfurt, Wissensch. Veröff. a. d. Siemens-Konzern I, 84 [1921].

<sup>3)</sup> Z. Ang. 35, 229 [1922] (versehentlich unter W. Fresenius referiert) und Dissertation Dornauf, Frankfurt a. M. 1922.