

mit meiner Hypothese: Jenes Absorptionsmaximum, das wir an der Grenze des sichtbaren Rots haben verschwinden sehen, befindet sich tatsächlich im Infrarot<sup>6)</sup>.

Man kann also auf spektroskopischem Wege die Zugehörigkeit eines gelben Farbstoffes zu einer vielleicht unbekanntem Familie feststellen, deren Glieder die gewöhnliche Reihenfolge der Farben chemischer Farbstoffe bereits durchlaufen haben, und man kann darauf eine neue Definition der Farbstoffe zweiter Ordnung gründen, welche sich mit der ursprünglichen decken muß: Die Farbe einer chemischen Verbindung ist Absorptionsfarbe zweiter Ordnung zu nennen, wenn deren Spektrum eine starke Absorption im Infrarot an der Grenze des sichtbaren Spektrums (also bei  $\lambda = 0.8 \mu$  bis  $1 \mu$ ) aufweist. — Die Versuche haben ferner gezeigt, daß auch nach dieser Definition weder Fuchsin noch Auramin zu den Farbstoffen zweiter Ordnung gehören.

#### Darstellung von *p*-Nitroso-triphenylamin.

Die Darstellung eines so einfachen Homologen des wichtigen *p*-Nitrosodimethylanilins ist jedenfalls vom chemischen Standpunkte aus von Interesse. Auch bin ich, wie aus der Literatur zu ersehen ist, nicht der erste, der versucht hat, die Verbindung zu isolieren. Da ich seit jener Publikation die Darstellung bedeutend verbessern konnte, so sei es mir gestattet, meine neue Vorschrift hier anzugeben:

20 g Triphenylamin werden in 170 g heißem, absol. Alkohol gelöst und rasch gekühlt. Die so erhaltene Suspension wird mit 300 ccm gesättigter absolut-alkohol. Salzsäure versetzt und auf  $-5^{\circ}$  gekühlt. Nun wird Amylnitrit vorsichtig zugegeben und kräftig geschüttelt. Das Ende der Operation wird durch die übliche Jodkalium-Stärke-Reaktion einer mit Wasser verdünnten Probe bestimmt. Man läßt 2 Stdn. bei  $-20^{\circ}$  stehen und gießt — unbekümmert um eine etwaige Ausscheidung von *p*-Nitroso-triphenylamin-Chlorhydrat — in viel Wasser. Die ausgefällte Base, welche stets auch *p*-Nitro-triphenylamin enthält, wird abgesaugt, mit Wasser gewaschen, getrocknet, in absol. Äther gelöst und durch Chlorwasserstoffgas gefällt. (Wie man sieht, ist *p*-Nitroso-triphenylamin im Gegensatz zu Triphenylamin und zu *p*-Nitro-triphenylamin basisch, und zwar etwa ebenso stark wie Diphenylamin). Das Chlorhydrat kann aus Methylalkohol umkrystallisiert werden (1 g aus 30 ccm). Durch 2-stdg. Behandeln mit kaltem Wasser erhält man wieder die Base, die man aus 30 Teilen Methylalkohol umkrystallisiert: Lange, braune Nadeln. Pulverfarbe orange. Schmp.  $120.5^{\circ}$  (korr.).

Die Verbindung läßt sich auch ohne Anwendung von Amylnitrit darstellen. Man erhält aber dann, d. h. bei Verwendung von Natriumnitrit, hauptsächlich die Nitroverbindung. Für Konstitutionsbeweis und Analyse siehe l. c. unsere erste Mitteilung.

### 262. Richard Kuhn und Georg Ernst von Grundherr: Die Konstitution der Melezitose und Turanose.

[Aus d. Chem. Laborat. d. Bayer. Akad. d. Wissenschaften in München.]  
(Eingegangen am 22. Mai 1926.)

In Palästina und Arabien, in Persien, Turkestan und anderen Ländern des Orients tritt als wesentlicher Bestandteil verschiedener Manna-Arten<sup>1)</sup>, die der Araber als „terenjabin“ oder „turjanbin“ bezeichnet, ein eigentüm-

<sup>6)</sup> Hierüber wird demnächst im Am. Soc. berichtet werden.

<sup>1)</sup> Insbesondere der Manna von *Alhagi maurorum* bzw. *camelorum*.

licher Zucker auf. Marcellin Berthelot<sup>2)</sup>, der an eine Beobachtung von Bonastre<sup>3)</sup> anknüpfte und diesen Zucker zuerst aus der Briançon-Manna der Lärche (*Pinus larix*, franz.: *mélèze*) in reinem Zustande abschied, gab ihm den Namen Melezitose. Die Beziehung des „turjanbins“ zur Manna, von der die biblische Geschichte berichtet, ist noch nicht klargelegt. Die erste naturwissenschaftliche Erwähnung des melezitose-haltigen Zuckergemisches, die nach dem Abendlande gelangt zu sein scheint, finden wir in den Schriften des arabischen Arztes und Philosophen Jbn Sina (Avicenna; geb. 980), der die Heilwirkungen des Naturproduktes beschreibt<sup>4)</sup>. Im späteren Mittelalter lieferte der Orient „terenjabin“ als Naschwerk nach Europa<sup>5)</sup>. Nach L. Maquenne<sup>6)</sup> tritt Melezitose im Honigtau der Linden auf. Eine neue Quelle des seltenen Zuckers haben vor einigen Jahren C. S. Hudson und S. F. Sherwood<sup>7)</sup> in der Manna der Douglas-Föhre und im Bienenhonig von *Pinus virginiana* gefunden.

Als Bausteine der Melezitose, die A. Alekhine<sup>8)</sup> als Trisaccharid erkannte, nahm man lange Zeit 3 Glucose-Reste an. Alekhine fand nämlich bei durchgreifender Hydrolyse mit Mineralsäure eine Abnahme des Drehungsvermögens von +88.5<sup>0</sup> auf 51<sup>0</sup>, den Endwert also sehr nahe übereinstimmend mit  $[\alpha]_D$  des Traubenzuckers. G. Tanret<sup>9)</sup> zeigte jedoch, daß diese Übereinstimmung zufällig ist, bedingt durch teilweise Zersetzung des Zuckers. Unter milderer Bedingungen konnte er die Melezitose in 2 Mol. Glucose und 1 Mol. Fructose auflösen. Dieses Ergebnis der Säure-Hydrolyse findet im enzymatischen Abbau, den wir durchgeführt haben, eine vollkommene Bestätigung.

Die Verknüpfungsart der Hexosen wird näher beleuchtet durch die Einwirkung von verdünnter Säure in der Kälte, wobei nach A. Alekhine<sup>10)</sup> neben Traubenzucker ein reduzierendes Disaccharid entsteht, das er Turanose benannte. Die Turanose ist nach G. Tanret als Isomeres des Rohrzuckers aufzufassen. Unbekannt blieb, ob die Glucose oder die Fructose dem Disaccharid Reduktionsvermögen verleiht. Gelingt es, diese Frage zu entscheiden, dann ist die Anordnung der einzelnen Monosaccharide in der Turanose und damit auch in der Melezitose festgelegt.

Für ein nicht-reduzierendes Trisaccharid, das aus 2 Mol. Glucose und 1 Mol. Fructose aufgebaut ist, ergeben sich, wenn wir von der Spannweite der Sauerstoff-Brücken und von einer Verknüpfungsstelle<sup>11)</sup> absehen, folgende Konstitutionsmöglichkeiten:

- I. Fructose < Glucose <> Glucose  
 II. Glucose < Fructose <> Glucose  
 III. Glucose < Glucose <> Fructose

<sup>2)</sup> A. ch. [3] 46, 86 [1856], 55, 282 [1859].      <sup>3)</sup> Journ. Pharm. [2] 19, 443 [1833].

<sup>4)</sup> Avicennae arabum principis Canon Medicinæ, Teil I, Buch II, S. 404, Venedig 1595.

<sup>5)</sup> Näheres bei A. Alekhine, A. ch. [6] 18, 532 [1889], und zwar S. 536ff., Fußnote.      <sup>6)</sup> siehe Fußnote 17.

<sup>7)</sup> Am. Soc. 40, 1456 [1918], 42, 116 [1920].      <sup>8)</sup> A. ch. [6] 18, 532 [1889].

<sup>9)</sup> C. r. 142, 1424 [1906]; Bl. [3] 35, 816 [1906].      <sup>10)</sup> siehe Fußnote 8.

<sup>11)</sup> Unter dieser Verknüpfungsstelle ist z. B. bei Formel I jene OH-Gruppe der mittelständigen Glucose zu verstehen, die mit der Fructose in Reaktion getreten ist. Eine cyclische Anordnung der 3 Hexosen mit 1 Mol. Krystallwasser kommt nicht in Betracht, da die Melezitose ein Hendeka-acetat liefert; vgl. A. Alekhine (Fußnote 8).

Formel III scheidet für die Melezitose aus, weil nach Abspaltung einer Glucose ein nicht-reduzierendes Disaccharid entstehen sollte. Da Anordnung III für die Gentianose der Enzianwurzel bewiesen ist, folgt, daß die Isomerie von Melezitose und Gentianose nicht allein durch eine verschiedene Spannweite von O-Brücken oder durch Verschiedenheit der Verknüpfungsstellen bei gleicher Reihenfolge der drei Hexosen bedingt sein kann. Der Bildung von Traubenzucker neben einem reduzierenden Disaccharid wird sowohl Formel I wie II gerecht. I verlangt, daß bei der partiellen Hydrolyse 2 Aldehydgruppen frei werden, II dagegen, daß 1 Aldehyd-Gruppe und 1 Keto-Gruppe auftritt. Wir haben nun gefunden, daß das Gemisch von Turanose und Glucose, das bei gelinder Hydrolyse von Melezitose entsteht, nach der Titration mit Fehlingscher Lösung genau doppelt so viel reduzierenden Zucker (auf Glucose ber.) enthält als nach der Titration mit Hypojodit. Da die Hypojodit-Methode von R. Willstätter und G. Schudel<sup>12)</sup> nur die Aldosen erfäßt, die G. Bertrandsche Methode überdies noch die Ketosen, folgt für die Melezitose Formel II. Diese Schlußfolgerung wird erhärtet durch direkte Analyse der Turanose, die wir durch partielle Vergärung von Melezitose bereitet haben. Die Turanose wird von Hypojodit nicht angegriffen und stellt das erste Disaccharid mit freier Ketogruppe dar<sup>13)</sup>.

Die Melezitose erscheint als Abkömmling des Rohrzuckers, durch Paarung der Fructose-Hälfte mit Glucose entstanden. Es ist beachtenswert, daß sowohl im „terenjabin“<sup>14)</sup> als auch im pennsylvanischen Bienenhonig<sup>15)</sup> Glucose und Saccharose als Begleiter des Trisaccharids angetroffen wurden.

Für das Vorliegen eines Rohrzucker-Derivates spricht auch die Geschwindigkeit der Säure-Hydrolyse. Ordnet man unter diesem Gesichtspunkt die daraufhin untersuchten Glucoside und Saccharide<sup>16)</sup>, so lassen sich 2 Gruppen unterscheiden: Eine große, zu der, neben  $\alpha$ - und  $\beta$ -Methyl-glucosid, die Mehrzahl der bekannten Glucoside und Disaccharide gehört, und eine kleinere, in der wir, neben dem  $\gamma$ -Methyl-glucosid von E. Fischer, den Rohrzucker und die Raffinose finden. Die Vertreter der zweiten Gruppe werden durch Mineralsäure rund 1000-mal rascher hydrolysiert als die der ersten Gruppe. Die kinetische Verfolgung der Melezitose-Spaltung, die wir im Versuchsteil beschreiben, verweist dieses Trisaccharid eindeutig in die Rohrzucker-Gruppe. Setzen wir die monomolekulare Reaktionskonstante für die Hydrolyse des Rohrzuckers durch  $n/2$ -Salzsäure bei 25° gleich 1, so beträgt die Konstante für Raffinose etwa 0.85 und für Melezitose 0.50.

An welchem C-Atom der Fructose der Traubenzucker in der Turanose verankert ist, steht noch nicht fest, doch können wir eine Reihe von Möglichkeiten mit Bestimmtheit ausschließen. Die Turanose gibt nämlich ein Phenyl-osazon, das schon L. Maquenne<sup>17)</sup> und E. Fischer<sup>18)</sup> beschrieben haben. Unter der Annahme, daß die Osazon-Bildung in der bisher ausschließ-

<sup>12)</sup> B. 51, 780 [1918].

<sup>13)</sup> F. Czapek, Biochemie der Pflanzen, 3. Aufl., Bd. I, 291, Jena 1922, beschreibt die Turanose als Aldobiose. Es ist nicht ersichtlich, aus welcher Quelle diese unzutreffende Ansicht stammt.

<sup>14)</sup> A. Villiers, A. ch. [5] 12, 433 [1877].

<sup>15)</sup> C. S. Hudson und S. F. Sherwood, Am. Soc. 40, 1456 [1918], 42, 116 [1920].

<sup>16)</sup> vergl. E. F. Armstrong und R. J. Caldwell, Proc. Roy. Soc. B 73, 526 [1904], 74, 195 [1905].

<sup>17)</sup> C. r. 117, 127 [1893]; Bl. [3] 9, 723 [1893].

<sup>18)</sup> B. 27, 2486 [1894].

beobachteten Art vor sich geht, folgt, daß eine Verknüpfung in 1- oder 2-Stellung nicht vorliegen kann. Bei normaler Osazon-Bildung muß ferner auf Grund unserer Turanose-Formel Glucose < Fructose < das Turanosazon identisch sein mit dem Osazon der entsprechenden Diglucose. Es unterscheidet sich jedoch von den bekannten Disaccharid-Osazonen, denen 2 Glucosen zu Grunde liegen, durch die große Löslichkeit in heißem Wasser und die Höhe des Schmelzpunktes (215—216°), insbesondere von den zum Vergleich herangezogenen Osazonen der Maltose, Gentiobiose und Cellobiose, die tiefer schmelzen und viel schwerer löslich sind<sup>19)</sup>. Damit scheidet für die weitere Diskussion der Turanose-Formel auch die Verknüpfungsarten, die in den 3 letztgenannten Disacchariden vorliegen, aus.

Die Saccharase der Hefe wirkt auf Melezitose nicht im geringsten ein. Von dieser Tatsache, die wir durch Versuche mit großen Mengen gereinigten Enzyms bei optimalem  $p_H$  stützen, machten schon C. S. Hudson und S. F. Sherwood<sup>20)</sup> zur Analyse von Rohrzucker-Melezitose-Gemischen Gebrauch. Die Resistenz gegen Saccharase ist auffallend, da in der Melezitose eine Glucosido-saccharose vorliegt. Eine Erklärung hierfür scheint uns die über den Wirkungsmechanismus der Saccharasen geäußerte Auffassung<sup>21)</sup> zu geben. Aus reaktionskinetischen Messungen wurde geschlossen, daß das Hefe-Enzym durch Reaktion mit der Fructose-Hälfte die Hydrolyse des Rohrzuckers bewirkt<sup>22)</sup>. Den abweichenden Ansichten von H. v. Euler und K. Josephson<sup>23)</sup> wird der Boden entzogen durch den Nachweis<sup>24)</sup>, daß die gelegentlich auftretende Hemmung von Hefe-Saccharase durch  $\alpha$ -Glucose nicht auf Affinität des Enzyms zu diesem Zucker beruht. Der einheitlichen Auffassung der rohrzucker-spaltenden Hefe-Fermente als Fructo-saccharasen steht heute vom kinetischen Standpunkte aus nichts mehr im Wege. Diese Auffassung vermag nun das Verhalten der Saccharase zu Rohrzucker-Derivaten in anschaulicher Weise zu erklären. Derivate, bei denen die Fructose-Hälfte unberührt ist, werden wie Rohrzucker durch Hefe-Invertin gespalten<sup>25)</sup>. Gentianose, Raffinose, Stachyose<sup>26)</sup> und das Hesperonal<sup>27)</sup> gehören hierher. Umgekehrt sollte es Derivate des Rohrzuckers geben, bei denen die Fructose-Hälfte in Reaktion getreten ist und die der Fructo-saccharase keine Angriffsmöglichkeit mehr bieten. In der Melezitose haben wir ein solches unspaltbares Derivat vor uns.

Im Gegensatz zum Hefe-Invertin greift das Enzym-Gemisch von *Aspergillus oryzae*, dessen Saccharase auf Grund reaktionskinetischer Beobachtungen als Gluco-saccharase bezeichnet wurde<sup>28)</sup>, unserer Erwartung gemäß Melezitose an. Ob die Rohrzucker- oder die Turanose-Bindung

<sup>19)</sup> Maltosazon schmilzt bei 206°, Gentiobiosazon bei 180°, Cellobiosazon bei 208° bis 210°. <sup>20)</sup> Am. Soc. **42**, 116 [1920], und zwar S. 123.

<sup>21)</sup> R. Kuhn, H. **129**, 57 [1923]. <sup>22)</sup> R. Kuhn, Naturwiss. **11**, 732 [1923].

<sup>23)</sup> H. **132**, 301 [1923/24]; H. v. Euler, Chemie der Enzyme, I. Teil, 3. Aufl., München und Wiesbaden 1925, S. 152ff. und S. 311ff.

<sup>24)</sup> R. Kuhn und H. Münch, H. (im Druck) [1926].

<sup>25)</sup> Auch das Methyl-fructosid von R. Ch. Menzies, Soc. **121**, 2238 [1922], wie H. H. Schlubach und G. Rauchalles, B. **58**, 1842 [1925], gezeigt haben.

<sup>26)</sup> Naturwiss. **11**, 732 [1923].

<sup>27)</sup> J. Hatano, Bio. Z. **159**, 175 [1925]; R. Kuhn und H. Münch, H. **150**, 220 [1925]; C. Neuberg und S. Sabetay, Bio. Z. **162**, 479 [1925].

<sup>28)</sup> siehe Fußnote 21.

zuerst gespalten wird, müssen wir unentschieden lassen, da das zur Verfügung stehende Präparat von Taka-Diastase jedes der beiden Disaccharide schneller spaltet als das Trisaccharid. Die Verhältnisse scheinen günstiger zu liegen bei *Penicillium glaucum*<sup>29)</sup> und *Aspergillus niger*<sup>30)</sup>, welche nur die partielle Hydrolyse der Melezitose zu Turanose + Glucose bewirken. Nach einer Untersuchung von H. v. Euler, K. Josephson und B. Söderling<sup>31)</sup> über die Saccharase von *Penicillium glaucum* ist anzunehmen, daß hier Glucosaccharasen vorliegen, so daß wir in der Spaltung der Rohrzucker-Bindung in der Melezitose trotz Besetzung des Fructose-Restes eine erweiternde Bestätigung unserer Vorstellungen über die enzymatische Hydrolyse des Rohrzuckers erblicken.

Gereinigte, stark wirksame Emulsin-Präparate griffen unter verschiedenen  $p_{\text{H}}$ -Bedingungen weder Melezitose noch Turanose an. Letztere wurde von den daraufhin untersuchten Enzymen (vergl. Tab. 3) nur vom Enzym-Gemisch aus *Aspergillus oryzae*, und zwar ziemlich leicht und vollständig, in Glucose und Fructose gespalten.

In maltase-haltigen Autolysaten aus frischer Löwenbräu-Hefe haben wir die Anwesenheit eines Enzyms festgestellt, das die Rohrzucker-Bindung der Melezitose löst. Eine Identität mit Hefe-Saccharase kommt nicht in Betracht, da gereinigtes Invertin unwirksam ist. Den beobachteten Effekt der Hefe-Maltase zuzuschreiben, ist auch nicht gut möglich, da Rohrzucker nach R. Willstätter und E. Bamann<sup>32)</sup> von Hefe-Maltase nicht angegriffen wird, eine Spaltbarkeit von Rohrzucker-Derivaten daher kaum anzunehmen ist. Es handelt sich offenbar um ein besonderes Ferment, das wir als „Melezitase“ bezeichnen. In der obergärigen Hefe der Sinner A.-G. kommt das Enzym, dessen Verbreitung jener der Melibiase ähnlich zu sein scheint, nicht vor. Melezitose-Spaltung durch Auszüge aus verschiedenen Hefen hat schon A. Kalanther<sup>33)</sup> in einer auf E. Fischers Anregung unternommenen Arbeit beschrieben. Seine Versuche berühren aber nicht die Frage nach der Spezifität des Enzyms und der Spaltungsstelle des Trisaccharids<sup>34)</sup>.

Während M. Berthelot<sup>35)</sup> eine langsame und unvollständige Vergärung von Melezitose durch Hefe beobachtete, wird der Zucker von A. Alekhine<sup>36)</sup> als unvergärbbar beschrieben. Hudson und Sherwood<sup>37)</sup> entfernten sogar beigemengten Rohrzucker mit Bäcker-Hefe. Mit Sinner-Hefe konnten auch wir nur außerordentlich langsame Vergärung beobachten. Mit Hefe der Löwen-Brauerei gelang es dagegen leicht, ein Drittel des Trisaccharids zu vergären. Die zurückbleibende Turanose ist auf diesem Wege sehr leicht zu gewinnen. Die Halbgärzeiten<sup>38)</sup> für äquimolare Mengen Glucose und Melezitose verhielten sich wie 1:6.

<sup>29)</sup> V. Markownikoff, *Hf.* [2] **16**, 300 [1884]; *Soc.* **48**, II, Abstracts, 943 [1885].

<sup>30)</sup> E. Bourquelot und H. Hérissey, *C. r.* **125**, 116 [1897]; *J. Pharm. Chim.* **4**, 385 [1897].

<sup>31)</sup> *H.* **139**, 1 [1924].

<sup>32)</sup> *H.* **151**, 273 [1925/26].

<sup>33)</sup> *H.* **26**, 88 [1898].

<sup>34)</sup> Maximal wurden 60% Spaltung nachgewiesen (mit Fehlingscher Lösung bestimmt), was einer annähernd vollständigen Aufspaltung zu Turanose und Glucose gleichkommt.

<sup>35)</sup> *A. ch.* [3] **55**, 282 [1859].

<sup>36)</sup> siehe Fußnote 8.

<sup>37)</sup> siehe Fußnote 7.

<sup>38)</sup> Nach R. Willstätter und W. Steibelt, *H.* **115**, 211 [1921], und zwar S. 219.

### Beschreibung der Versuche.

Die zur Verfügung stehende Melezitose war ein von der Digestive Ferments Co., Detroit, bezogenes, schön krystallisiertes Produkt, das bei langsamem Erhitzen bei 153—154° schmolz. Nach mehrtägigem Stehen über Phosphorpentoxyd, wobei das Gewicht um etwa 0.5% abnahm, fanden wir:

$$[\alpha]_D^{20} = (+7.43 \times 100) : (4.21 \times 2) = +88.2^\circ \text{ (in Wasser).}$$

$$[\alpha]_D^{26} = (+12.24 \times 100) : (7.288 \times 1.894) = +88.7^\circ \text{ (in Wasser).}$$

Mit Resorcin und Salzsäure erwärmt, trat die nach Seliwanoff<sup>39)</sup> für Ketosen charakteristische Rotfärbung auf<sup>40)</sup>. Dasselbe stellten wir für die durch Vergären des Trisaccharids gewonnene Turanose fest.

### Säure-Hydrolyse.

1.0525 g Melezitose wurden mit 25 ccm Wasser und 6 ccm Eisessig 2 Stdn. auf dem siedenden Wasserbade erhitzt. Nach dem Erkalten entfernten wir den größten Teil der Essigsäure durch wiederholtes Ausäthern und verdünnten auf 50 ccm. Je 5 ccm dieser Lösung verbrauchten nach R. Willstätter und G. Schudel bei einer Oxydationsdauer von 25, 30 und 40 Min. 4.15, 4.40 und 4.89 ccm  $n_{10}$ -Jod. Berechnet für die Hydrolyse des Trisaccharids in Aldose + Ketobiose sind 4.18 ccm  $n_{10}$ -Jod.

1.822 g Melezitose ließen wir mit 25 ccm  $n_{1/2}$ -Salzsäure 70 Stdn. bei 25° stehen. Die Aufspaltung zu Turanose und Glucose ist, wie kinetische Versuche zeigten, nach dieser Zeit vollständig. 2 ccm des Reaktionsgemisches, mit 10 ccm  $n_{10}$ -NaOH neutralisiert, verbrauchten in 15 Min. 5.66 ccm, in 20 Min. 5.82 ccm  $n_{10}$ -Jod. Der Mittelwert von 5.74 ccm entspricht genau der Theorie, die für die Bildung nur einer Aldehyd-Gruppe bei der Hydrolyse 5.78 ccm verlangt.

2.013 g Melezitose mit 10 ccm  $n_{1/1}$ -Salzsäure 50 Stdn. bei 30° gestanden, dann unter Zusatz von 10 ccm  $n_{1/1}$ -Natronlauge auf 100 ccm verdünnt. Je 5 ccm ergeben einen Jod-Verbrauch von 3.97 und 3.94 ccm  $n_{10}$ -Lösung, entspr. 35.7 und 35.5 mg Glucose (statt ber. 35.9 mg). Bei der Titration nach G. Bertrand, für deren Ausführung wir Hrn. R. Gießen zu Dank verpflichtet sind, lieferten je 5 ccm derselben Lösung 133.8 und 133.8 mg Cu = 72.4 und 72.4 mg Glucose, also genau doppelt so viel wie die Jod-Methode anzeigt.

Für den Vergleich der Spaltungsgeschwindigkeit von Melezitose und Rohrzucker durch Mineralsäure dienten eine 0.1197-n. Lösung des Trisaccharids und ein 0.1445-n. Lösung des Disaccharids in  $n_{1/2}$ -Salzsäure. Versuchs-Temperatur 25°.

Die Berechnung der Reaktionskonstanten erfolgte unter der Annahme, daß 504 g Melizitose ( $[\alpha]_D = 88.6^\circ$ ) bei der Hydrolyse 342 g Turanose ( $[\alpha]_D + 71.6^\circ$ ) und 180 g Glucose ( $[\alpha]_D = +52.5^\circ$ ) liefern. Die konstante Enddrehung (+9.38°) war aber höher als die in der angegebenen Weise berechnete (+9.33°), was bei Betrachtung des Ganges der Reaktionskonstanten zu berücksichtigen ist.

### Enzymatische Hydrolysen.

Als Hefe-Saccharase diente für den Versuch der Tabelle 3 ein maltase-freies Autolysat aus Löwenbräu-Hefe, deren Invertin-Gehalt von Hrn. H. Münch durch Züchtung mit Glucose nach dem Verfahren von R. Will-

<sup>39)</sup> B. 20, 181 [1887].

<sup>40)</sup> vergl. auch C. S. Hudson und S. F. Sherwood, Fußnote 7.

Tabelle 1.  
Hydrolysen-Geschwindigkeit des Rohrzuckers.

Zeit (Min.)	$\alpha_D$ (°) (1.894-dm-Rohr)	Drehungs- Abnahme (°)	Spaltung %	$K = \frac{10^5}{t} \log_{10} \frac{a}{a-x}$
0	5.18	—	0.0	—
42	4.20	0.98	14.4	162
62	3.70	1.48	21.8	174
72	3.47	1.71	25.1	176
92	3.03	2.15	31.6	179
192	1.55	3.63	53.3	173
257	0.80	4.38	64.3	174
297	0.45	4.73	69.5	174
332	0.25	4.93	72.4	169
$\infty$	—1.63 ber.	6.81	100.0	—

Tabelle 2.  
Hydrolysen-Geschwindigkeit der Melezitose.

Zeit (Min.)	$\alpha_D$ (°) (1.894-dm-Rohr)	Drehungs- Abnahme (°)	Spaltung %	$K = \frac{10^5}{t} \log_{10} \frac{a}{a-x}$
0	12.24	—	0.0	—
60	11.88	0.36	12.4	97
75	11.80	0.44	15.1	96
105	11.64	0.60	20.6	96
135	11.56	0.68	23.4	86
165	11.44	0.80	27.5	85
195	11.35	0.89	30.6	82
235	11.25	0.99	34.0	77
345	10.92	1.32	45.4	76
$\infty$	9.33 ber.	2.91	100.0	—

stätter, C. D. Lowry und K. Schneider<sup>41)</sup> vermehrt war. 5 ccm enthielten 0.17 S.-E., S.-W. = 0.05<sup>42)</sup>.

Die „Taka-Saccharase“ war ein von Sankyo & Co., Tokio, hergestelltes Enzympräparat aus *Aspergillus oryzae*. Das angewandte Emulsin, Präparat Nr. 5 der Tab. 4 von R. Willstätter und G. Oppenheimer<sup>43)</sup>, besaß einen Salicin-Zeitwert von 25, das Emulsin Merck  $\beta$ -Gl.-W. 0.53. Maltase-Lösungen wurden nach R. Willstätter, Tr. Oppenheimer und W. Steibelt<sup>44)</sup> jeweils frisch aus Löwenbräu-Hefe bereitet. Für die Versuche mit Turanose benutzten wir das äquimolare Gemisch des Dissaccharids mit Glucose, das durch Hydrolyse mit verd. Säure aus Melezitose erhalten wird. In jedem Falle wurde ein Kontrollversuch mit Enzym und Puffer ohne Substrat angesetzt und gleichzeitig mit dem Hauptversuch die Änderung des Jod-Verbrauchs festgestellt. In Tabelle 3 sind nur die Differenzen Hauptversuch — Kontrollversuch verzeichnet.

<sup>41)</sup> H. 146, 158 [1925].

<sup>42)</sup> B. 56, 509 [1923].

<sup>43)</sup> H. 121, 183 [1922].

<sup>44)</sup> H. 110, 232 [1920].

Tabelle 3. Verhalten von Melezitose und von Turanose gegen Enzyme.  
Acetat-Puffer  $n/5$ ; Phosphat-Puffer  $m/5$ ; zur Titration je 5 ccm; 30°.

Nr.	Substrat	Enzym	Puffer	Reakt. vol. (ccm)	pH	Zeit Stdn.	ccm $n/10$ -Jod	% Spaltung
1	1.00 g Melezitose	5 ccm Hefe-Saccharase	5 ccm Acetat	50	4.6	0	0.29	—
	"	"	"	50	4.6	24	0.17	—
	"	"	"	50	4.6	48	0.09	—
	"	"	"	50	4.6	96	0.03	—
2	0.606 g Rohrzucker	5 ccm Hefe-Saccharase	5 ccm Acetat	30	4.6	24	5.90	100
3	1.00 g Melezitose	250 mg Taka-Saccharase	5 ccm Acetat	25	4.6	0	0.00	—
	"	"	"	25	4.6	24	0.87	11
	"	"	"	25	4.6	48	1.48	19
	"	"	"	25	4.6	88	2.16	27
4	0.50 g Melezitose	250 mg Taka-Saccharase	10 ccm Acetat	30	4.6	0	0.00	—
	"	"	"	30	4.6	70	0.66	20
	"	"	"	30	4.6	336	1.53	46
5	0.50 g Melezitose	250 mg Taka-Saccharase	10 ccm Phosphat	30	6.8	0	0.03	—
	"	"	"	30	6.8	70	0.34	10
	"	"	"	30	6.8	336	0.92	28
6	1.084 g Rohrzucker	250 mg Taka-Saccharase	10 ccm Acetat	100	4.6	0	0.05	—
	"	"	"	100	4.6	24	2.80	88
7	2.20 g Raffinose <sup>45)</sup>	250 mg Taka-Saccharase	10 ccm Acetat	100	4.6	0	0.40	—
	"	"	"	100	4.6	24	3.60	68 <sup>46)</sup>
	"	"	"	100	4.6	60	4.24	73 <sup>46)</sup>
8	0.50 g Melezitose	250 mg Euntulsin (E. Merck)	10 ccm Acetat	30	4.6	0	0.02	—
	"	"	"	30	4.6	72	0.08	—
	"	"	"	30	4.6	336	0.10	—

9	0.25 g $\beta$ -Methylglucosid	250 mg Emulsin (E. Merck)	10 ccm Phosphat	30	4.8	0	0.06	—
10	"	"	"	30	4.8	96	4.20	98
10	0.50 g Melezitose	10 ccm Hefe-Autolysat	10 ccm Phosphat	30	6.8	0	0.03	—
11	"	"	"	30	6.8	48	2.73	83
11	0.50 g Maltose <sup>47)</sup>	10 ccm Hefe-Autolysat	10 ccm Phosphat	30	6.8	0	4.60 <sup>48)</sup>	—
12	"	"	"	30	6.8	48	8.00	74
12	0.546 g Turanose	500 mg Taka-Saccharase	10 ccm Acetat	35	4.6	0	4.28	—
13	"	"	"	35	4.6	48	5.44	27
13	0.17 g Turanose	"	"	35	4.6	144	7.54	76
13	"	250 mg Taka-Saccharase	10 ccm Acetat	30	4.6	0	1.67 <sup>48)</sup>	—
14	"	"	"	30	4.6	96	2.94	76
14	0.17 g Turanose	250 mg Emulsin (Willstätter)	"	30	4.6	192	3.29	97
14	"	"	10 ccm Phosphat	30	4.8	0	1.65 <sup>49)</sup>	—
14	"	"	"	30	4.8	216	1.72	—
15	"	"	"	30	4.8	376	1.68	—
15	0.546 g Turanose	400 mg Emulsin (Willstätter)	10 ccm Acetat	30	4.6	0	3.67	—
16	"	"	"	30	4.6	48	3.76	—
16	0.17 g Turanose	10 ccm Hefe-Autolysat	10 ccm Phosphat	30	6.8	0	1.65 <sup>49)</sup>	—
17	"	"	"	30	6.8	48	1.68	—
17	0.226 g Turanose	10 ccm Hefe-Autolysat	10 ccm Phosphat	30	6.8	0	2.20	—
18	"	"	"	30	6.8	24	2.34	—
18	0.546 g Turanose	10 ccm Hefe-Autolysat	"	30	6.8	336	2.20	—
18	"	"	10 ccm Acetat	30	4.6	0	4.39 <sup>50)</sup>	—
18	"	"	"	30	4.6	48	4.47	—

<sup>46)</sup> Für vollständige Spaltung in Glucose, Fructose und Galaktose berechnet.

<sup>45)</sup> 5 H<sub>2</sub>O enthaltend.

<sup>47)</sup> 1 H<sub>2</sub>O enthaltend.

<sup>48)</sup> Ber. aus der Einwaage sind 4.63 ccm.

<sup>49)</sup> Aus der Einwaage berechnen sich 1.66 ccm  $n_{10}^{20}$ -Jod.

<sup>50)</sup> Ber. 4.56 ccm.

## Gärversuche.

Wir haben 2 g Melezitose in 10 ccm CO<sub>2</sub>-gesättigtem Wasser gelöst und mit 2 g frischer Löwenbräu-Hefe versetzt. Die Gärkolben wurden ständig geschüttelt, die entwickelte Kohlensäure in Azotometern über CO<sub>2</sub>-gesättigtem Wasser aufgefangen. Versuchs-Temperatur 20°.

Zeit (Min.)	30	60	90	120	150	180	210	240	300	360
CO <sub>2</sub> (ccm)	13	24	34	43	52	61	70	79	96	111
Zeit (Min.)	420	480	540	600	720	840	960	1080		
CO <sub>2</sub> (ccm)	121	131	138	145	159	170	176	182.		

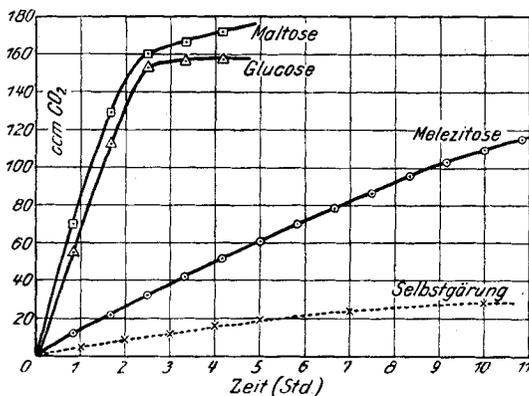


Fig. 1.

äquivalenter Mengen Glucose, Maltose und Melezitose verglichen. Dabei ließen wir je 2 g Frischhefe auf 0.7 g Glucose bzw. Maltose-Hydrat und 2 g Melezitose in 10 ccm einwirken. Das Ergebnis der bei 20° gleichzeitig ausgeführten Versuche ist aus Fig. 1 ersichtlich.

Nach 30 Stdn. waren 226.5 ccm CO<sub>2</sub> entwickelt (20°, 720 mm), wovon 42 ccm auf Grund eines Kontrollversuchs ohne Zucker auf Selbstgärung der Hefe entfielen. Es wurden somit 163 ccm CO<sub>2</sub> (0°, 760 mm) erhalten, was über 90% d. Th. entspricht. Für die vollständige Vergärung von 2 g Trisaccharid berechnen sich nämlich  $3 \times 178 = 534$  ccm CO<sub>2</sub>.

Mit einer anderen Probe von Löwenbräu-Hefe wurde die Gärgeschwindigkeit

263. Fritz Straus und Leo Kollek<sup>1)</sup>: Über Diacetylen.

[Aus d. Organ.-chem. Institut d. Techn. Hochschule Breslau.]

(Eingegangen am 16. Juni 1926.)

Ist bei Abkömmlingen des Di- und Tetra-acetylen, R.C:C.C:C.R und R.C:C.C:C.C:C:C.C:C.R, die Kohlenstoffkette nicht durch Alkyl bzw. Aryl, sondern durch leicht abzustößende Substituenten wie Carboxyl oder Halogen begrenzt, so lassen sich verhältnismäßig einfach die Umwandlungen auslösen, die durch diese erzwungene Anordnung der Kohlenstoffatome bedingt sind. A. v. Baeyer<sup>2)</sup> hat derartige Verbindungen mit bewunderungswürdiger Experimentierkunst zugänglich gemacht. Er ist bei ihrer Untersuchung vor allem durch ihre Unbeständigkeit und ihren leichten, mit überraschender Energie-Abgabe erfolgenden Übergang in Substanzen, die dem gewöhnlichen Kohlenstoff äußerlich ähneln, gefesselt

<sup>1)</sup> Der Inhalt der Arbeit wird einen Teil der Dissertation von Leo Kollek bilden.

<sup>2)</sup> B. 18, 674, 2269 [1885].