

kirschrot, dann blaulila wird. Die gelbe Lösung in Pyridin zeigt auf Wasser-Zusatz keine Veränderung.

Wird die kressengelbe alkohol. Lösung mit einer Mineralsäure versetzt, so verschwindet die gelbe Farbe, um beim Verdünnen mit Wasser zurückzukehren. In konz. Schwefelsäure löst sich die Verbindung mit gelbgrüner Farbe, die auf Wasser-Zusatz verschwindet und bei weiterer Verdünnung rötlichgelb wird. Versetzt man die so verdünnte Lösung wieder mit Schwefelsäure, so wird sie wieder farblos, zum Zeichen, daß der Stickstoff nicht abgespalten wurde (Unterschied von allen stickstoff-haltigen Abkömmlingen der bisher behandelten Glucoside). Von konz. Ameisensäure wird das Aceto-glucosid mit kressengelber Farbe gelöst, die sich auf Wasser-Zusatz nicht verändert, auf Zusatz von konz. Schwefelsäure dagegen verschwindet, um beim Verdünnen wieder zu erscheinen.

Wird das 1-Amino-2-[aceto-glucoxy]-anthrachinon mit der gleichen Menge wasser-freiem Natriumacetat und der 10-fachen Menge Essigsäure-anhydrid 3 Stdn. auf dem Wasserbade erwärmt, so bleibt die kressengelbe Farbe der entstandenen Lösung bestehen, und auf Wasser-Zusatz scheidet sich das Ausgangsmaterial (Schmp. 153⁰) unverändert wieder ab.

221. H. Pringsheim und W. G. Hensel: Über Inulin (XI., vorläufige Mitteil.).

[Aus d. chem. Institut d. Universität Berlin.]

(Eingegangen am 8. April 1931.)

Kürzlich haben wir mitgeteilt¹⁾, daß wir bei der enzymatischen Spaltung des Inulins durch die Pilz-Inulinase bis zu ca. 90-proz. Spaltung gelangt sind, wobei im Hydrolysat keine Glucose nachweisbar war.

Wir betrachteten es jetzt als unsere Aufgabe, in den 10% des durch das Ferment unspaltbaren Restes nach den schön krystallisierenden Fructose-anhydriden zu suchen, welche Jackson²⁾ kürzlich aus dem Säure-Hydrolysierrückstand des Inulins isoliert hat. Zu diesem Zwecke brauchten wir eine wesentlich größere Menge des refrakteren Enzym-Rückstandes des Inulins, als uns bisher zur Verfügung gestanden hatte. Wir suchten deshalb zuerst in der von Green³⁾ beschriebenen Dahlien-Inulinase ein aktiveres Ferment für unsere Zwecke zu gewinnen. Wir wandten hierbei die Dahlien in verschiedenen Entwicklungsstadien an, gelangten aber auch so, wie schon in früheren Versuchen und wie auch Boselli⁴⁾, nur zu einem außerordentlich schwachen Enzym, das sich für unsere Zwecke nicht eignete. Der besondere Nachteil dieser Inulinase-Gewinnung besteht hier besonders darin, daß man das Ferment nicht von dem in den Dahlien immer noch restierenden Inulin befreien kann. Die Einzelheiten über diese Versuche werden später in der Dissertation von Hensel angegeben werden.

Wir sind jedoch dadurch zum Ziele gelangt, daß wir dazu übergingen, den *Aspergillus niger* in Massenkulturen bei 30⁰ zu züchten. Zu diesem Zwecke zogen wir erst auf steriler 2-proz. Rohrzucker-Nährlösung in Erlenmeyer-Kolben einen Pilz-Rasen heran, den wir auf einer in offenen Schalen

¹⁾ X. Mitteil.: B. 63, 2636 [1930].

²⁾ R. F. Jackson u. Sylvia M. Goergen, Bureau Standards Journ. Research 5, 1151 [1930].

³⁾ Green, Ann. Botany 1, 223 [1887].

⁴⁾ Ann. Inst. Pasteur 25, 695 [1911].

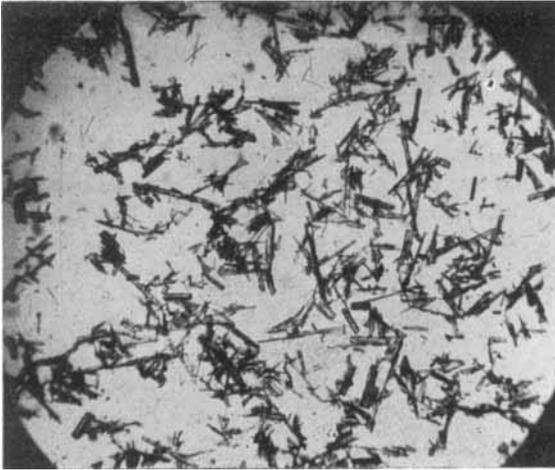


Fig. 1. Diffructose-anhydrid-acetat I nach Jackson u. Goergen.

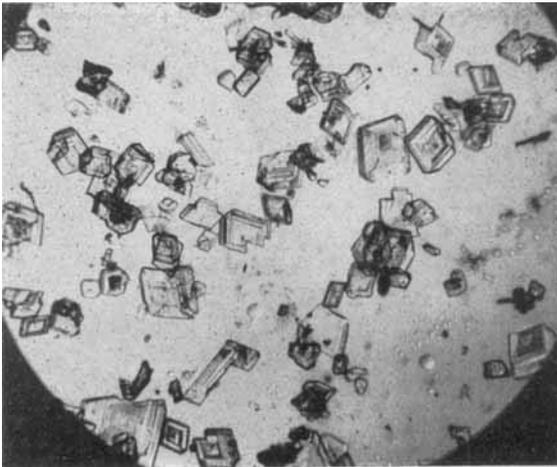


Fig. 2. Diffructose-anhydrid-acetat nach Pringsheim u. Hensel.

H. Pringsheim und W. G. Hensel, B. 64, 1431 [1931].

befindlichen Nährlösung verteilen. Auf diese Weise erzielten wir ein so schnelles Wachstum des Pilzes, daß eine Infektionsgefahr fast ausgeschlossen wurde, die uns im übrigen ja auch wenig geschadet hätte. Nach 5 Tagen gewannen wir dann eine große Menge Mycel (vergl. Versuchs-Teil), aus der wir das Ferment auf dem früher beschriebenen Wege isolierten und auf Inulin zum Ansatz brachten. So ließen sich z. B. 15 oder 22 g Inulin zu 90% spalten und ein Rückstand gewinnen, welcher für unsere Versuche ausreichte.

Um uns auf die Isolierung krystallisierter Abbau-Produkte des Inulins vorzubereiten, wiederholten wir zuerst den von Jackson beschriebenen Versuch. Hierzu brauchten wir, was eine große Erleichterung war, die Inulin-Hydrolyse gar nicht selbst vorzunehmen, da uns Hr. W. Schoeller⁵⁾ Rückstände aus technischen Inulin-Hydrolysaten in genügender Menge zur Verfügung stellte.

Nach dem von Jackson beschriebenen Verfahren, in dem wir nur an einer Stelle eine kleine Modifikation einführten (vergl. Versuchs-Teil), gelang es uns, das Difructose-anhydrid-acetat I in schön krystallisierter Form (Fig. 1⁶⁾) abzuscheiden und daraus auch den freien krystallisierten Zucker zu gewinnen, und zwar beide Präparate mit den von Jackson angegebenen Konstanten.

Auch beim Enzym-Rückstand geschah die Aufarbeitung ganz in der von Jackson beschriebenen Weise. Nach dem Weggären des Zuckers im Hydrolysat acetylierten wir den Rückstand und krystallisierten das Acetat aus Alkohol. Dabei erhielten wir jedoch ein anderes Ergebnis: wir gewannen nicht das von Jackson in Nadeln krystallisierte Präparat I, sondern ein besonders schön krystallisierendes anderes Hexosan-acetat, welches wir in Fig. 2 abbildeten. Wir stellten fest, daß es in der Drehung um 25° vom Acetat I abweicht und die elementare Zusammensetzung eines Hexosan-acetates besitzt. Zu einer völlig verlässlichen Bestimmung des Molekulargewichts waren die bisher zu unserer Verfügung stehenden Substanzmengen zu klein. Wir versuchten deshalb die Molekulargewichts-Bestimmung in Campher nach Rast, zogen dabei zum Vergleiche das Acetat I heran und fanden für beide Werte, welche die 2-mal C₆-Stufe zum mindesten sehr wahrscheinlich machen. Wir werden dieses Resultat nach Gewinnung größerer Substanzmengen sichern und dann auch den zugehörigen Zucker isolieren.

Bisher steht auch nicht fest, ob die Zucker-Konstituenten unseres Acetates ausschließlich aus Fructose bestehen, oder ob es sich um das Anhydrid eines Disaccharides aus Glucose und Fructose handelt. Jedoch ist es möglich, daß hier eines der beiden von Jackson⁷⁾ weiter isolierten Difructose-anhydride in Frage kommt, deren Beschreibung bis jetzt zum Vergleich nicht ausreicht. Wir wollen jedoch nicht versäumen darauf hinzuweisen, daß nach den bisherigen Beobachtungen das Vorkommen nur eines Zuckers im Rückstande des enzymatischen Inulin-Abbaus am wahrscheinlichsten ist. Hier wäre also ein weiterer interessanter Punkt, an dem die Untersuchung einzusetzen hätte.

⁵⁾ Wir danken Hrn. Prof. Schoeller und der Schering-Kahlbaum A.-G. für ihr Entgegenkommen.

⁶⁾ Hrn. G. Sallentien danken wir für die Herstellung der Mikrophotographien.

⁷⁾ R. F. Jackson u. Emma McDonald, Bureau Standards Journ. Research **5**, 1151 [1930].

Beschreibung der Versuche.

Gewinnung des Difructose-anhydrid-acetates I nach Jackson.

Wir gewannen das Präparat in verschiedenen Versuchsreihen zuerst genau nach den Vorschriften von Jackson und nachher mit der nach unserer Meinung praktischen, wenn auch prinzipiell nicht wesentlichen Modifikation, daß wir die Entfernung der Fructose aus dem Hydrolysat nicht zuerst in Gestalt des Calcium-fructosates vornahmen und nachher den Rest mit Hefe weggoren, sondern indem wir unter Überspringung der Calciumfällung gleich zur Hefegärung schritten. 200 g der uns zur Verfügung gestellten Inulin-Melasse mit 55% Fructose wurden auf 1 l aufgefüllt und unter Zusatz von Bäckerhefe bei 30° während 2 Tagen vergoren. Dann wurde die Hefe über Kieselgur abfiltriert, die Lösung mit Tierkohle entfärbt, darauf bis zum dicken Sirup im Vakuum abgedampft und endlich zur Entfernung der Hefeprodukte 300 ccm Alkohol zugesetzt. Das von diesen befreite Filtrat wurde wieder zum dicken Sirup eingedampft und unter Zusatz von 35 g Essigsäure-anhydrid und 17 g Pyridin zuerst 10 Min. bei 70° und dann über Nacht bei Zimmer-Temperatur acetyliert. Darauf wurde in 2 l Eiswasser eingegossen, das ölig ausfallende Acetat zuerst unter Dekantieren mit Wasser, verd. Bicarbonat-Lösung und wieder mit Wasser gewaschen und in etwa 200 ccm heißem Alkohol aufgelöst. Nach dem Klären mit Tierkohle krystallisierte das Acetat beim Stehen aus dem Alkohol und ließ sich durch 1-maliges Umkrystallisieren rein gewinnen. Die Drehung in Chloroform betrug +1°.

Nach der Verseifung mit wäßrigem Barythydrat gewannen wir auch den Zucker in der von Jackson angegebenen Krystallform und Drehung von durchschnittlich +30°. Von besonderer Bedeutung war für uns die Feststellung, daß dieses Difructose-anhydrid auch durch unser energischstes Pilzferment nicht gespalten wurde.

Gewinnung des neuen Difructose-anhydrid-acetates.

Wir verwandten 200 ccm unseres dialysierten Pilz-Inulinase-Fermentes, das auf 10 l Nährlösung herangezogen war, und das wir vor der Extraktion mit der Pufferlösung durch hydraulisches Pressen, Aufschwemmen mit Wasser und wieder hydraulisches Pressen von den zucker-haltigen Resten der Nährlösung befreiten. Diese brachten wir auf 15 g Inulin zum Ansatz und stellten schon nach 24 Stdn. eine etwa 90-proz. Hydrolyse fest, welche sich nach weiteren 20 Stdn. nicht vermehrte. In den 1500 ccm unseres Ferment-Ansatzes waren 70 ccm Citrat-Salzsäure-Puffer vorhanden. Um die Salzsäure und die Hauptmenge der Citronensäure zu entfernen, verdampften wir nach der Fermentation auf 150 ccm, vergoren dann mit Hefe und schüttelten darauf mit Silbercarbonat. Dann wurde filtriert, mit Essigsäure neutralisiert, Schwefelwasserstoff eingeleitet, schließlich zum Sirup eingengt und in der früher angegebenen Weise bis zur Gewinnung des Acetates verarbeitet. Von diesem erhielten wir $\frac{1}{2}$ g, das nach dem Umkrystallisieren bei 121.5° zu sintern begann und bei 122° geschmolzen war.

3.857 mg Subst.: 7.060 mg CO₂, 2.055 mg H₂O.

Ber. C 50.0, H 5.55. Gef. C 49.9, H 5.92.

$[\alpha]_D^{20} = (1 \times +0.48^{\circ}) : (1 \times 0.0192) = +25.0^{\circ}$ (in Chloroform); ein weiterer Wert: +25.5°.

Molekulargewichts-Bestimmungen in Campher:

Neues Acetat: 0.0146 g Stbst. in 0.1540 g Campher.

Acetat von Jackson: 0.0147 g Stbst. in 0.1601 g Campher.

Die durchschnittliche Depression war im ersten Falle beim neuen Acetat 7.92° und beim Jackson-Acetat 6.91°, woraus sich Molgew. = 479 resp. 532 (Theorie 576) berechnet.

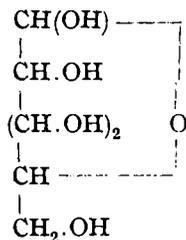
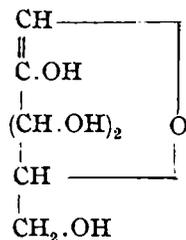
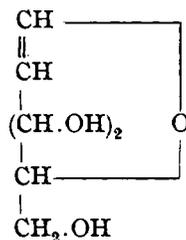
222. Max Bergmann und Leonidas Zervas: Neue Dismutationsprodukte der Zucker¹⁾.

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Lederforschung in Dresden.]

(Eingegangen am 18. April 1931.)

Die relative Beständigkeit der Zucker unter nicht-biologischen Bedingungen stellt dem Chemiker die Aufgabe, einfache Abwandlungsprodukte der Zucker zu suchen, die reaktions-beweglicher sind als die Zucker selbst, und die darum als Brücke zwischen den Zuckern und ihren verschiedenartigen biologischen Umformungsprodukten angesprochen werden können. Derartige reaktionsfähige Abwandlungsprodukte der Zucker sind die Glucale. Die von uns aus den Glucalen erhaltenen 2-Desoxyzucker (Desosen) sind verschiedentlich in der Pflanzen- und Tierwelt aufgefunden worden. Damit ist die biologische Bedeutung der Glucale hinreichend sicher-gestellt.

Eine strukturelle Zwischenstufe zwischen Zuckern und Glucalen repräsentieren die von K. Maurer entdeckten Oxy-glucale, wie folgende Formeln zeigen:

Glucose, $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$.Oxy-glucal, $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$.Glucal, $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4$.

Oxy-glucal enthält alle Struktur-Elemente des Glucals und außerdem noch ein Hydroxyl an Stelle eines Wasserstoffatoms neben der Doppelbindung. Man hat also bei den Oxy-glucalen eine ähnliche Umlagerungs-Tendenz zu erwarten, wie wir sie für die Glucale nachgewiesen haben. Darum sind die Oxy-glucale bisher nur in Form ihrer Acetylverbindungen bekannt geworden, und alle von Maurer angestellten Versuche, sie von den Acetylen zu befreien, hatten weitergehende Abwandlungen unbekannter Natur im Gefolge. Auch Bemühungen, zugleich mit der Verseifung der Acetylene Wasser an die Doppelbindung anzulagern und so zurück zu den Zuckern zu gelangen, blieben bisher völlig ergebnislos. Dagegen glaubt Maurer²⁾ bei vorsichtiger Behandlung von Tetracetyl-Oxy-glucal mit Phenyl-hydrazin unter

¹⁾ 16. Mittel. über ungesättigte Reduktionsprodukte der Zuckerarten, 15. Mittel. vergl. B. 64, 158 [1931].

²⁾ B. 62, 332 [1929].