

Reversion der Saccharide und Transglycosidierung im sauren Milieu¹⁾. II

Zur Transglycosidierung im sauren Milieu

Von K. TÄUFEL, H. IWAISKY und H. RUTTLOFF

Mit 6 Abbildungen

Inhaltsübersicht

1. Es werden die Vorgänge der enzymatischen Synthese und der enzymatischen Transglycosidierung bei Sacchariden an verschiedenen Modellen systematisch untersucht und die Angaben der Literatur im wesentlichen bestätigt.

2. Bei der Säureeinwirkung auf verschiedene Disaccharide (Maltose, Cellobiose, Lactose) wird chromatographisch festgestellt, daß vor dem Sichtbarwerden von höhermolekularen Reversionsprodukten Oligosaccharide anderer Bildungsweise auftreten.

3. Durch zeitlich abgestufte Hydrolyse gelingt es, die Produkte der sauren Transglycosidierung von denen der Reversion abzugrenzen.

4. Es wird gezeigt, daß die bei der sauren Übertragung gebildeten Produkte wahrscheinlich im weiteren Verlauf der Umsetzungen um- oder abgebaut werden.

5. An Hand der vergleichenden Auswertung der Ergebnisse über die enzymatische und die saure Transglycosidierung wird gefolgert, daß sich im sauren Milieu ähnliche Prozesse abspielen wie bei der enzymatischen Übertragung von Sacchariden von einem Donator- auf ein Acceptor-Saccharid.

Den Kohlenhydraten kommt auf Grund ihres bifunktionellen Charakters (Polyoxycarbonyl-Verbindungen) eine recht große Umsatzbereitschaft zu, die nicht nur das Interesse des Theoretikers, sondern auch das des Praktikers in Anspruch nimmt. Die Verarbeitung saccharidhaltiger Produkte unter den verschiedensten Bedingungen umfaßt Maßnahmen, die vor allem bei der technologischen und küchenmäßigen Verarbeitung von Lebensmitteln eine sehr große Rolle spielen; auch viele andere Industriezweige gründen sich wenigstens teilweise auf diesen Rohstoff. Von seinem Verhalten sind Ablauf der technologischen Prozesse, Art und Eigenschaften der Halb- und Fertigprodukte usw. abhängig. Neben den einflußnehmenden Vorgängen der Saccharidhydrolyse sowie der desmolytischen Zersetzung (Caramelisierung usw.) gewinnen insbesondere auch die Prozesse der „Reversion“ sowie der „Transglycosidierung“ zunehmend an Interesse, weil man mehr und mehr beobachtet, daß solche Umsetzungen an Kohlenhydraten, z. B. in der

¹⁾ Auf der Jahreshauptversammlung der Chem. Gesellschaft in der DDR in Leipzig, Oktober 1955, ist das vorliegende Thema in einem Vortrag behandelt worden.

Zucker- und Süßwarenindustrie, das Verhalten der Erzeugnisse mitbestimmen.

Was die „Reversion“ anlangt, so haben wir in der 1. Mitteilung²⁾ über unsere Versuche näher berichtet. In der vorliegenden Abhandlung werden unsere Ergebnisse zur „Transglycosidierung“ dargestellt. Reaktionen dieser Art sind nach dem Schrifttum bisher fast ausschließlich auf fermentativem Wege durchgeführt worden. Wir legten uns die Frage vor, ob in Analogie dazu eine solche Übertragung auch im sauren, d. h. im enzymfreien Milieu möglich ist. Dies läuft auf den Nachweis hinaus, ob unter dem Einfluß von Wasserstoffionen neben dem Abbau von Sacchariden ein Aufbau erfolgt, ehe die Hydrolyse der ursprünglich eingesetzten Verbindungen zu den Elementarbausteinen vollzogen ist. Auf Grund der in der 1. Mitteilung erörterten Erfahrungen ist ein durch mannigfache Zwischen- und Endprodukte überladenes und deshalb nur schwer zu deutendes Chromatogramm vermeidbar, wenn man als Untersuchungssubstrat Disaccharide aus gleichartigen Konstituenten wählt und die Zahl der Reversionsaccharide möglichst niedrig zu halten sich bemüht. Nach solchen Gesichtspunkten sind die im folgenden beschriebenen Versuche durchgeführt worden; zusätzlich seien einige für die Auswertung wichtige Ergebnisse von chromatographischen Versuchen für die fermentative Transglycosidierung mitgeteilt.

I. Experimenteller Teil

1. Zur Neubildung von Oligosacchariden in enzymfreier, saurer Lösung

a) Arbeitsweise (Einzelheiten siehe bei H. RUTTLOFF³⁾). Unter Anlehnung an das Schrifttum⁴⁾ und unter Auswertung der eigenen Erfahrungen sind folgende Saccharidsysteme der Untersuchung unterworfen worden:

- | | |
|--------------------------------------|-------------------------------|
| α) Maltose 20proz. | mit 5proz. Salzsäure erhitzt |
| Maltose 20proz. + Glucose 20proz. | mit 5proz. Salzsäure erhitzt, |
| β) Maltose 43proz. | mit 5proz. Salzsäure erhitzt, |
| Maltose 43proz. + Glucose 43proz. | mit 5proz. Salzsäure erhitzt, |
| γ) Maltose 60proz. | mit 1proz. Salzsäure erhitzt, |
| Maltose 40proz. + Glucose 20proz. | mit 1proz. Salzsäure erhitzt, |
| δ) Cellobiose 40proz. | mit 1proz. Salzsäure erhitzt, |
| Cellobiose 40proz. + Glucose 20proz. | mit 1proz. Salzsäure erhitzt, |
| ε) Lactose 60proz. | mit 1proz. Salzsäure erhitzt, |
| Lactose 40proz. + Glucose 20proz. | mit 1proz. Salzsäure erhitzt, |
| Lactose 40proz. + Galactose 20proz. | mit 1proz. Salzsäure erhitzt. |

²⁾ 1. Mitt., Biochem. Z. **327**, 531 (1956).

³⁾ H. RUTTLOFF, Studien über die Hydrolyse und Resynthese von Mono- und Oligosacchariden. Dipl.-Arbeit Humboldt-Universität, Berlin 1955.

⁴⁾ M. ARONSON, Arch. Biochem. Biophysics **39**, 370 (1952); G. MALYOTH u. H. W. STEIN, Angew. Chem. **64**, 399 (1952).

In Kontrollreihen ist parallel dazu jeweils die Reversion der konstituierenden Monosaccharide überprüft worden. Die den Ansätzen nach definierten Zeiten entnommenen Proben werden chromatographiert. Die aufgetragene Menge beträgt etwa 1,2 mg, bezogen auf das ursprünglich eingesetzte Saccharid. Die Erhitzungsdauer (100°) mit Säure ist zu 3, 8, (10), 20 und 60 Minuten gewählt worden. Bei der Versuchsreihe mit Cellobiose wird wegen der langsameren Hydrolyse die Behandlung auf 2 Stunden ausgedehnt; wegen der relativ schwereren Löslichkeit dieses Disaccharides haben sich bei der Papierchromatographie gewisse Schwierigkeiten ergeben.

b) Ergebnisse. Es hat sich gezeigt, daß für die angestrebte Zielsetzung die Versuchsreihen α) und β) ungeeignet sind; denn nach 1 Minute ist die Maltose bereits etwa zur Hälfte hydrolysiert, nach 10 Minuten ist sie kaum noch nachweisbar. Das übliche Reversionschromatogramm der Glucose tritt relativ rasch in Erscheinung. Die Gemische Maltose und Glucose verhalten sich grundsätzlich ähnlich.

Bei Reihe γ) ist die angestrebte Verlangsamung der Hydrolyse erzielt und damit die Voraussetzung für den Nachweis möglicher Saccharidneubildungen geschaffen. Nach 3 Minuten wird die beginnende Spaltung chromatographisch manifest. Nach 8 Minuten (Abb. 1) tritt die Bildung zweier neuer Oligosaccharide (mit Pfeil markiert) mit verhältnismäßig niedrigem R_f -Wert in Erscheinung, denen im Chromatogramm der Kontrollansätze mit Glucose allein keine analogen Flecken entsprechen. Zu diesem Zeitpunkt ist das Reversionschromatogramm der Glucose nur in seinen niedermolekularen Gliedern nachweisbar; der revertierende Aufbau von Produkten tri-, tetra- und höhermolekularen Charakters; wie er zweifellos

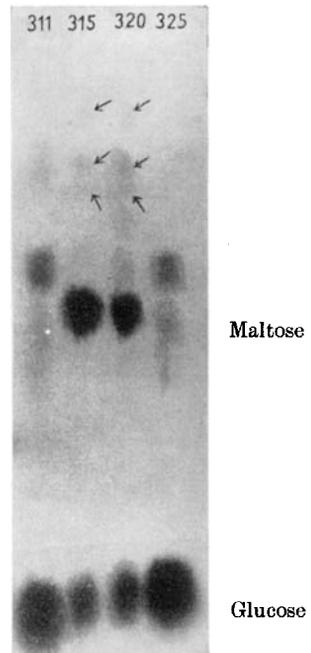


Abb. 1. Das chromatographische Verhalten wäßrig saurer Lösungen von Maltose und Glucose beim Erwärmen auf 100° (1proz. Salzsäure; 8 Minuten siedendes Wasserbad)

Erläuterungen: Fließmittel Butanol-Äthanol-Wasser (4:1:5); Papier Schleicher u. Schüll 2040 b. Versuch Nr. 311: Glucose, 60proz.; 1 Std. erhitzt (Vergleich); Versuch Nr. 315: Maltose, 60proz.; Versuch Nr. 320: Maltose, 40proz., Glucose, 20proz.; Versuch Nr. 325: Glucose, 60proz. Pfeile \surd = Begleitstoff in Maltose; Pfeile \surd = neu gebildete, nicht durch Reversion entstandene Saccharide

bei den in Abb. 1-3 mit \sphericalangle bezeichneten Sacchariden vorliegt, setzt erst später ein. Es ist ferner zu bemerken, daß sich bei der Farbreaktion mit dem Sprühreagenz Diphenylamin-Anilin-Phosphorsäure zwischen den Flecken nach Abb. 1 weitere Unterschiede ergeben, die dafür sprechen,

daß sich diese zusätzlichen Glieder auf Saccharide zurückführen lassen, die nicht durch Reversion im bisher dargelegten Sinne entstanden sind. Denn während sich die Flecken mit den neugebildeten Oligosacchariden ebenso wie Maltose beim Besprühen grün färben, zeigen die Reversionsprodukte braune Farbe.

Wie aus Abb. 2 ersichtlich, überlagert sich nach 20 Minuten des Erhitzens die Reversion der durch andere Vorgänge verursachten Neubildung von Sacchariden. Die Zahl der Flecke ist deshalb vermehrt, das Bild verwischt. Die Grünfärbung der primär gebildeten Stoffe (mit Pfeil markiert) ist aber noch nachweisbar. Nach 1 Stunde schließlich ergibt sich nach Lage, Art und Farbreaktion der Flecke das Chromatogramm der Glucosereversion. Es ist bemerkenswert, daß der Zusatz von Glucose zur Maltoselösung eine Verschiebung der Reaktion in Richtung der erhöhten Transglycosidierung nicht erkennen läßt.

Bei der Versuchsreihe δ (mit Cellobiose) hat die chromatographische Trennung, wie bereits berichtet, Schwierigkeiten bereitet. Beim Abkühlen fällt dieses Disaccharid aus der Lösung leicht aus. Dadurch neigen die Flecken zum Nachziehen von „Schwänzen“. Eine genaue Definition der Startmenge ist ebenfalls nicht möglich.

Die Ergebnisse aber — dies kann festgestellt werden — stimmen mit denen der Versuchsreihe γ (mit Maltose) im wesentlichen überein. Nach 3 Minuten langer Hydrolyse tritt Glucose in Erscheinung. Wie aus Abb. 3 ersichtlich, sind nach 10 Minuten — ähnlich wie bei Maltose — 3 bis 4 neu-

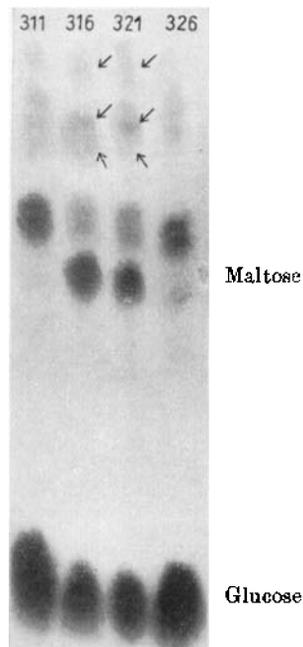


Abb. 2. Das chromatographische Verhalten wäßrig-saurer Lösungen von Maltose und Glucose beim Erwärmen auf 100° (1proz. Salzsäure; 20 Minuten siedendes Wasserbad). Erläuterungen: Fließmittel

Butanol-Äthanol-Wasser

(4:1:5); Papier Schleicher u. Schüll 2040 b. Versuch Nr. 311: Glucose, 60proz.; 1 Stunde erhitzt (Vergleich); Versuch Nr. 321: Maltose 40proz., Glucose, 20proz.; Versuch Nr. 316: Maltose, 60proz.; Versuch Nr. 326: Glucose, 60proz. Pfeile \sphericalangle = Begleitstoff in Maltose; Pfeile \sphericalangle = neu gebildete, nicht durch Reversion entstandene Saccharide

gebildete Saccharide nachweisbar, die sich hinsichtlich R_f -Wert und Anfärbbarkeit mit Diphenylamin-Anilin-Phosphorsäure eindeutig von den üblichen Reversionsprodukten unterscheiden. Nach 50 Minuten haben die Reversionsvorgänge gegenüber denen der Transglycosidierung den Vorrang.

Es ist ferner zu bemerken, daß auch bei Lactose neugebildete Oligosaccharide der erörterten Art nachzuweisen sind, und zwar deren 3. Da die Spaltung der Lactose verhältnismäßig rasch verläuft und die in Freiheit gesetzte Galactose, wie bereits erwähnt, stark zur Polykondensation neigt, werden die Chromatogramme mit zunehmender Reaktionsdauer mehr und mehr unübersichtlich und damit schwer auswertbar.

c) Auswertung der Ergebnisse. Ein der enzymatischen Transglycosidierung ähnlich ablaufender Vorgang (vgl. den folgenden Abschnitt I, 2) kann im sauren Milieu an Hand der Chromatogramme der vorliegenden Untersuchungsreihen als bestätigt angenommen werden. Die Ergebnisse sind vor allem beim Einsatz von Maltose und Cellobiose recht eindeutig, ebenfalls bei Lactose erkennbar. Es lassen sich regelmäßig höhermolekulare Saccharide als Neubildungen nachweisen, die sich von den üblichen Reversionsprodukten in charakteristischer Weise unterscheiden. Die Bildung der ersteren ist — im Gegensatz zum Verhalten der letzteren — in dem geprüften Bereich weitgehend konzentrationsunabhängig; sie wird, wie experimentell gezeigt, durch einen Zusatz der das Disaccharid aufbauenden Monosaccharide nicht beeinflusst. Man darf daraus folgern, daß nicht die freie Glucose der agierende Reaktionspartner ist, sondern das gerade aus dem Donator in Freiheit gesetzte Monosaccharid, das auf den Acceptor (Maltose, Cellobiose, Lactose) übertragen wird. Isolierung und Identifizierung

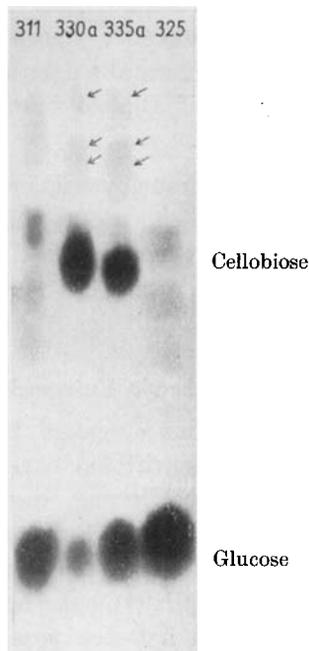


Abb. 3. Das chromatographische Verhalten wäßriger saurer Lösungen von Cellobiose und Glucose beim Erwärmen auf 100° (1proz. Salzsäure; 10 Minuten siedendes Wasserbad). Erläuterungen: Fließmittel Butanol-Äthanol-Wasser (4:1:5) Papier Schleicher u. Schüll 2040 b. Versuch Nr. 311: Glucose, 60proz.; 1 Stunde erhitzt (Vergleich); Versuch Nr. 330 a: Cellobiose, 40proz.; Versuch Nr. 335 a: Cellobiose, 40proz., Glucose, 20proz.; Versuch Nr. 325: Glucose, 60proz. Pfeile \swarrow = neu gebildete, nicht durch Reversion entstandene Saccharide

Cellobiose, Lactose) übertragen wird. Isolierung und Identifizierung der Neubildungen, womit

sich M. ARONSON schon beschäftigt hat, müssen zur Abrundung der Beweisführung noch vollzogen werden.]

Mit fortschreitender Säureeinwirkung werden die neugebildeten Zucker entweder durch die üblichen Reversionsprodukte überdeckt oder, wie man aus dem allmählichen Schwinden der Grünfärbung beim Prüfen mit Diphenyl-Anilin-Phosphorsäure schließen könnte, ab- bzw. umgebaut.

Die Transglycosidierungsvorgänge der beschriebenen Art benötigen offensichtlich, wie aus den negativen Befunden der Reihen α) und β) hervorgeht, eine gewisse Reaktionszeit; der Nachweis ist also erst dann zu führen, wenn die Hydrolyse des Disaccharides langsam vonstatten geht und damit der Acceptor für die Übertragung zur Verfügung steht.

2. Vergleichende Untersuchungen über die enzymatische Transglycosidierung

Aus den eingangs dargelegten Erörterungen sind unter Anlehnung an das Schrifttum⁵⁾ vergleichende Versuche über die enzymatische Transglycosidierung durchgeführt worden. Neben Maltaseauszügen aus untergäriger Bier- und aus Bäckereihefe, die sich für den beabsichtigten Zweck als weniger geeignet erwiesen haben, sind vor allem Schimmelpilzfermente herangezogen worden. Bei orientierenden Untersuchungen hat sich gezeigt, daß auf eine Isolierung der Enzyme verzichtet werden kann. Wenn die zu studierende Saccharidlösung mit Schimmelpilzen beimpft wird, genügt die in Lösung gegangene Menge des Fermentes, um die gewünschten Umsetzungen hervorzurufen. Störungen durch Stoffwechselprodukte der Schimmelpilze sind unter den vorliegenden Bedingungen nicht aufgetreten.

a) Arbeitsweise⁶⁾. Es werden bei den einzelnen Ansätzen dem Grundnährboden „HENNEBERG“⁷⁾ wechselnde Mengen Glucose bzw. Maltose (3, 20 und 50%) als organische Komponente zugesetzt; dann erfolgt Beimpfung mit *Aspergillus oryzae*.

⁵⁾ K. WALLENFELS, Gruppenübertragung im Bereich der Carbohydrasen. Biologie und Wirkung der Fermente. Springer-Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg 1953; K. WALLENFELS u. E. BERNT, Angew. Chem. **64**, 28 (1952); K. WALLENFELS, E. BERNT u. G. LIMBERG, Liebigs Ann. Chem. **579**, 113 (1953); **584**, 63 (1953); J. PFANNMULLER u. A. NOE, Science (Washington) **115**, 240 (1952); J. H. PAZUR u. D. FRENCH, J. Amer. chem. Soc. **73**, 3536 (1951).

⁶⁾ Herrn Dr. H. BAUMGÄRTNER, Institut für Ernährungsforschung in Potsdam-Rehbrücke, Mikrobiologische Abt., sei auch an dieser Stelle für Überlassung von Schimmelpilzkulturen und für freundliche Beratung bestens gedankt.

⁷⁾ W. HENNEBERG, Handbuch der Gärungsbakteriologie, Bd. I, S. 53, 2. Aufl. P. Parey, Berlin 1926.

Die Bebrütung findet in 100 ml-ERLENMEYER-Kolben bei 30° statt. Nach bestimmten Zeitabständen wird das Pilzmycel mit Hilfe einer Fritte (G 3) vom Kulturfiltrat abgetrennt und vom letzteren werden

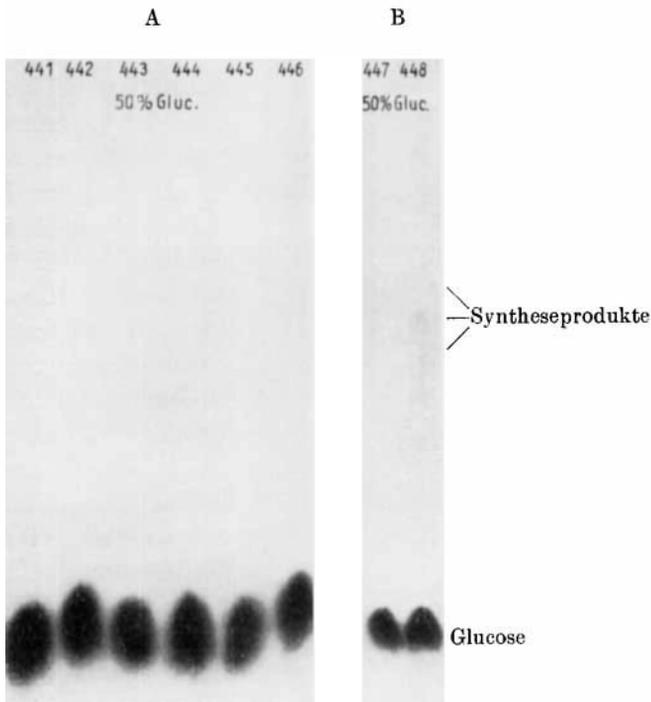


Abb. 4. Das chromatographische Verhalten von Glucoselösung nach Bebrütung mit *Aspergillus oryzae* (Glucose, 50proz.; Bebrütung bei 30°).

Erläuterungen: Fließmittel Butanol-Äthanol-Wasser (4:1:5); Papier Schleicher u. Schüll 2040 b. Versuch Nr. 441: nicht bebrütet (Kontrolle); Versuch Nr. 442: nach 7stündiger Bebrütung; Versuch Nr. 443: nach 24stündiger Bebrütung; Versuch Nr. 444: nach 48stündiger Bebrütung; Versuch Nr. 445: nach 3tägiger Bebrütung; Versuch Nr. 446: nach 5tägiger Bebrütung; Versuch Nr. 447: nach 7 tägiger Bebrütung; Versuch Nr. 448: nach 14tägiger Bebrütung. Bilder A und B entstammen 2 verschiedenen Versuchsreihen

definierte Mengen in beschriebener Weise papierchromatographisch untersucht.

b) Ergebnisse. Aus den weiter unten reproduzierten Chromatogrammen ist ersichtlich, daß bei Glucose (3- und 20proz. Lösung) auch nach 14tägiger Bebrütungsdauer Resynthesevorgänge, die sich durch

die Neubildung höhermolekularer Saccharide manifestieren, nicht nachweisbar sind. Dagegen läßt die Versuchsreihe mit 50proz. Glucoselösung nach gleicher Versuchsdauer deutlich 3 neugebildete Saccharide

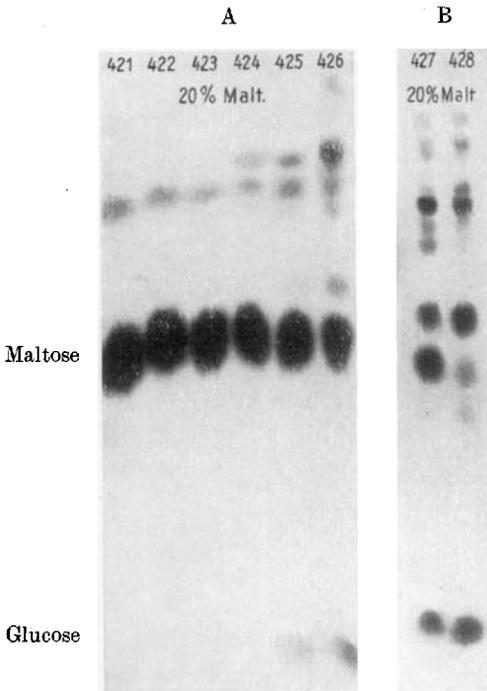


Abb. 5. Das chromatographische Verhalten von Maltoselösung nach Bebrütung mit *Aspergillus oryzae* (Maltose, 20proz.; Bebrütung bei 30°). Erläuterungen: Fließmittel Butanol-Äthanol-Wasser (4:1:5); Papier Schleicher u. Schüll 2040 b. Versuch Nr. 421: nicht bebrüet (Kontrolle) (Fleck von Maltose und einem Begleitstoff); Versuch Nr. 422: nach 7stündiger Bebrütung; Versuch Nr. 423: nach 24stündiger Bebrütung; Versuch Nr. 424: nach 48stündiger Bebrütung; Versuch Nr. 425: nach 3tägiger Bebrütung; Versuch Nr. 426: nach 5tägiger Bebrütung; Versuch Nr. 427: nach 7tägiger Bebrütung; Versuch Nr. 428: nach 14tägiger Bebrütung. Bilder A und B entstammen 2 verschiedenen Versuchsreihen

mit niedrigem R_f -Wert erkennen, die auch bei weiterer Einwirkungsdauer nicht verschwinden. Abb. 4 zeigt das Chromatogramm eines solchen Versuches.

Bei dem Disaccharid Maltose (Abb. 5) ist mit zunehmender Bebrütungsdauer ein kontinuierliches Anwachsen der Konzentration an höheren Sacchariden, deren R_f -Wert von dem der Glucose bzw. der Maltose verschieden ist, chromatographisch zu beobachten. Besonders deutlich ist dies bei der 20proz. Maltoselösung festzustellen. Maximal sind 8 solcher Zwischenprodukte nachweisbar, deren Intensitätsoptima zeitlich verschieden liegen. Abb. 5 bringt die Zusammenhänge zwischen Bebrütungsdauer und Konzentration der Transglycosidierungsprodukte zum Ausdruck.

Der analoge Versuch zu dem in Abb. 5 dargestellten mit 3proz. Lösung von Maltose zeigt, daß die neugebildeten Produkte mit der durch voranschreitende Hydrolyse verursachten Abnahme der Konzentration an

Disaccharid allmählich wieder verschwinden. Sie stellen — im Gegensatz zu den enzymatisch gebildeten Produkten der Synthese bei den Versuchen mit Glucose (Abb. 4) — also offensichtlich Intermediärglieder dar.

II. Vergleichende Betrachtungen über enzymatische und saure Transglycosidierung

Aus den Ergebnissen der vielfachen Versuchsreihen ist zu folgern, daß der enzymatischen Transglycosidierung ein analoger Prozeß im sauren Milieu an die Seite zu stellen ist. Der Nachweis stößt allerdings auf einige analytische Schwierigkeiten und gelingt nur, wenn die einflußnehmenden Faktoren, wie Hydrolysegeschwindigkeit, Art des eingesetzten höheren Saccharides, Reaktionsdauer u. a., sorgfältig aufeinander abgestimmt sind. Bei kritisch ausgewählten Beispielen ist unter Berücksichtigung aller die eindeutige Identifizierung der Neubildungen beeinträchtigenden Umstände die einwandfreie Abgrenzung des primären Vorganges der sauren Transglycosidierung möglich. Dies ist bisher nur in qualitativer Beweisführung geschehen, da mit zunehmender Säureeinwirkung immer stärker werdende Reversion in Erscheinung tritt. Die unterschiedliche Farbreaktion der im Chromatogramm sich markierenden Flecke mit Diphenylamin-Anilin-Phosphorsäure bestätigt mittelbar diese Anschauung.

Es ist anzunehmen, daß bei den ablaufenden Vorgängen das Wasserstoffion gleichsam als Katalysator fungiert. Seine kondensationsfördernden Eigenschaften sind bei den Reversionsvorgängen seit langem bekannt und in der 1. Mitteilung auch für die Kombination verschiedenartiger Monosaccharide (gemischte Reversion) sichergestellt worden.

Zwischen enzymatischer und saurer Transglycosidierung bestehen

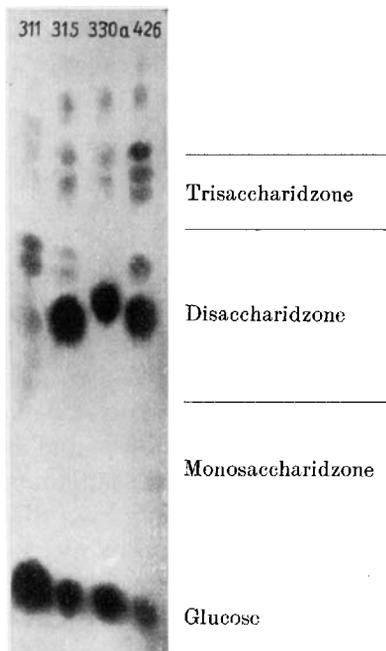


Abb. 6. Chromatographischer Vergleich hinsichtlich der Produkte der sauren und der enzymatischen Transglycosidierung.

Erläuterungen: Fließmittel: Butanol-Äthanol-Wasser (4:1:5); Papier Schleicher u. Schüll 2040 b. Versuch Nr. 311: Saure Reversion; Glucose, 60proz.; 1 Stunde erhitzt; 1proz. Salzsäure; Versuch Nr. 315: Saure Transglycosidierung; Maltose, 60proz.; 8 Minuten erhitzt; 1proz. Salzsäure; Versuch Nr. 330a: Saure Transglycosidierung; Cellobiose, 40proz.; 10 Minuten erhitzt; 1proz. Salzsäure; Versuch Nr. 426: Enzymatische Transglycosidierung; Maltose, 20proz.; 5 Tage bei 30° mit *Aspergillus oryzae* bebrütet

anscheinend gewisse Ähnlichkeiten⁸⁾, wie aus Abb. 6 gefolgert werden kann. Die Chromatogramme zeigen die Produkte der sauren Transglycosidierung von Maltose und von Cellobiose im Vergleich zur enzymatischen Behandlung von Maltose. Es tritt, wie in Abb. 6 zum Ausdruck gebracht, eine Zonenbildung der Flecke in Erscheinung. Der Nachweis der Neubildungen hinsichtlich Aufbau und Konstitution dürfte sehr schwer zu führen sein, da isomere Formen der Di-, Tri- und Tetrasaccharide zu erwarten sind.

Unsere Versuche lehren, daß der Ablauf der sauren Transglycosidierung — analog der enzymatischen Transglycosidierung — in gewissen Grenzen als konzentrationsunabhängig zu betrachten ist; die Neubildungen dürften also „Intermediärprodukte“ darstellen.

Trotz dieser Ähnlichkeiten kommt der enzymatischen Transglycosidierung wohl eine erhöhte Reaktionsmöglichkeit zu, die in der großen Zahl (von uns maximal 8 beobachtet) der neugebildeten Produkte und in der verschiedenen Anfärbbarkeit (teils grün, teils braun) mit dem Sprühreagenz Diphenylamin-Anilin-Phosphorsäure zum Ausdruck kommt. Der Abbau der Intermediärglieder ist bei der enzymatischen Transglycosidierung eindeutig verfolgt worden, noch nicht dagegen im sauren Milieu, und zwar deswegen, weil sich unter den bisher studierten Reaktionsbedingungen die Reversionsvorgänge komplizierend einschalten und auf diese Weise das weitere Schicksal der Transglycosidierungsprodukte nicht eindeutig verfolgt werden kann. Über die Möglichkeit, zugesetzte Saccharide, z. B. die aus Inulin freigewordene Fructose, in solche Transglycosidierungsprodukte einzubauen, was nach den Versuchen über gemischte Reversion (vgl. 1. Mitteilung) durchaus im Bereich des Möglichen liegt, sind weitere Untersuchungen im Gange.

⁸⁾ Vgl. auch K. TÄUFEL, H. IWAINSKY u. H. RUTTLOFF, Naturwiss. **42**, 626 (1955).

Berlin, Institut für Lebensmittelchemie und -Technologie der Humboldt-Universität.

Bei der Redaktion eingegangen am 30. April 1956.