

5. Die Verdaulichkeit der stickstofffreien Extraktivstoffe kann bei Milchsäuregärung oder Milchsäuremaceration bis 100% ansteigen.

6. Die Futterstoffherstellung aus Holz gehört in die Hand des Selbstverbrauchers.

Die vorstehend skizzierten Futterstoffarbeiten erstrecken sich über einen sehr langen Zeitraum, in welchem eine Reihe von Mitarbeitern eifrigst an dem Problem gearbeitet hat. Ihnen allen, insbesondere Fräulein *Berling*, gebührt herzlicher Dank. [A. 104.]

## Über Darstellung und Bedeutung der Glycerinsäure-mono-phosphorsäure.

Von Prof. CARL NEUBERG und Dr. MARIA KOBEL.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biochemie in Dahlem.)

(Eingeg. 24. August 1933.)

Es ist das große Verdienst *A. Wohls*<sup>1)</sup>, den lange gesuchten, aber vor ihm von niemandem erhaltenen racemischen Glycerinaldehyd dargestellt und mit seinen Schülern diese Triose sowie deren aktive Formen sorgfältig beschrieben zu haben<sup>2)</sup>. Im Anschluß an diese für die Entwicklung der Kohlenhydratchemie grundlegenden Arbeiten ist auch die Oxydation der verschiedenen Glycerinaldehyd-Modifikationen zu den entsprechenden Säuren, den Glycerinsäuren, ausgeführt worden<sup>3)</sup>, <sup>2)</sup>.

Die Glycerinsäure hat neuerdings eine unerwartete Bedeutung dadurch erlangt, daß sie als Naturprodukt erkannt wurde. Sie kommt zwar nicht in freiem Zustande vor, sondern gebunden an Phosphorsäure. (Weit verbreitet ist auch die ihr zugehörige Aminosäure Serin, die nach *Lipmann* und *Levene* z. T. gleichfalls als Phosphorsäure-ester auftritt.)

Zuerst begegnete *Greenwald*<sup>4)</sup> der Di-phosphoglycerinsäure,  $\text{CH}_2 \cdot \text{O}(\text{PO}_3\text{H}_2) \cdot \text{CH} \cdot \text{O}(\text{PO}_3\text{H}_2) \cdot \text{COOH}$ , bei Untersuchungen über die Vorgänge in roten Blutkörperchen, und *Jost*<sup>5)</sup> verdankt man eine genauere Untersuchung über die biologische Bedeutung dieser phosphorylierten Glycerinsäure.

Sodann wurde d,l-Mono-phospho-glycerinsäure von *Neuberg*, *Weinmann* und *Vogt*<sup>6)</sup> synthetisch bereitet; ihre Lävogyre Form fanden *Nilsson*<sup>7)</sup> im ional beeinflussten Stoffwechsel der Hefe, später *Embden*, *Deuticke* und *Kraft*<sup>8)</sup> sowie *Meyerhof* und *McEachern*<sup>9)</sup> im vergifteten Muskel auf.

Durch biochemische Versuche mit der synthetischen d,l-Glycerinsäure-mono-phosphorsäure<sup>6)</sup> war erstmalig dargetan, daß diese Substanz von Fermenten angegriffen wird. Versuche von *Neuberg* und *Kobel*<sup>10)</sup> haben gelehrt, daß bei Wahl von Fermenten, die ein zymatisches System einschließen, die Reaktion weiter fortschreitet als eine einfache Hydrolyse, indem Brenztraubensäure und — unter anderen Bedingungen — deren Umwandlungsprodukte Acetaldehyd und Kohlendioxyd bzw. Acetoin (Acetyl-methyl-carbinol) gebildet werden.

<sup>1)</sup> *A. Wohl*, Ber. Dtsch. chem. Ges. 31, 1800, 2394 [1898].

<sup>2)</sup> *A. Wohl* u. *C. Neuberg*, ebenda 33, 3095 [1900]. *A. Wohl* u. *Fr. Mombert*, ebenda 47, 3346 [1914]; 50, 455 [1917]. *A. Wohl* u. *R. Schellenberg*, ebenda 55, 1404 [1922]. *C. Neuberg* u. *H. Collatz*, Biochem. Ztschr. 223, 494 [1930]. *C. Neuberg*, ebenda 228, 259 [1930]. S. auch *Irene St. Neuberg*, ebenda 255, 1 [1932].

<sup>3)</sup> *J. Greenwald*, Journ. biol. Chemistry 63, 339 [1925].

<sup>4)</sup> *H. Jost*, Ztschr. physiol. Chem. 165, 201 [1927].

<sup>5)</sup> *C. Neuberg*, *F. Weinmann* u. *M. Vogt*, Biochem. Ztschr. 199, 248 [1928]. *M. Vogt*, ebenda 211, 1 [1929].

<sup>6)</sup> *R. Nilsson*, Ark. Kemi, Mineral., Geol. 10 A, 121 [1930].

<sup>7)</sup> *G. Embden*, *H. J. Deuticke* u. *G. Kraft*, Klin. Wchschr. 12, 213 [1933].

<sup>8)</sup> *O. Meyerhof* u. *D. McEachern*, Biochem. Ztschr. 260, 444 [1933].

<sup>9)</sup> *C. Neuberg* u. *M. Kobel*, Biochem. Ztschr. 260, 241 [1933]; 263, 219 [1933]; Ztschr. angew. Chem. 46, 220 [1933]; ferner in *Oppenheimers Handb. d. Biochem.*, Bd. I des Ergänzungswerks 1933, S. 907, u. in *G. Kleins Handbuch der Pflanzenanalyse IV*, 1933.

Dieser Übergang der phosphorylierten, also acylierten, Glycerinsäure in Brenztraubensäure  $\text{CH}_2 \cdot \text{O}(\text{PO}_3\text{H}_2) \cdot \text{CH}(\text{OH}) \cdot \text{COOH} \rightarrow \text{CH}_2 : \text{C}(\text{OH}) \cdot \text{COOH}$  ähnelt der von *Wohl* und *Oesterlin*<sup>10)</sup> festgestellten Atomverschiebung, bei der das Anhydrid der Diacetyl-weinsäure in Oxal-essigsäure umgewandelt wird:  $\text{HOOC} - \text{CH} \cdot \text{O}(\text{COCH}_3) \cdot \text{CH} \cdot \text{O}(\text{COCH}_3) \cdot \text{COOH} \rightarrow \text{HOOC} - \text{CH} : \text{C}(\text{OH}) - \text{COOH}$ . Weinsäure ist nichts anderes als Carboxy-glycerinsäure, Oxal-essigsäure nichts anderes als Carboxy-brenztraubensäure.

Bei Verwendung<sup>9)</sup> von Bazillen, insbesondere von Milchsäurebakterien, gelangt man ebenfalls von der Phosphoglycerinsäure zur Brenztraubensäure; sie bleibt im letzten Falle unverändert, da den Erregern — ebenso wie den meisten tierischen Zellen — die Carboxylase fehlt.

Die Glycerinsäure-mono-phosphorsäure muß als eine biologisch wichtige Substanz betrachtet werden, und da man sich in Zukunft vermutlich öfter mit ihr beschäftigen wird, haben wir ein Verfahren zur bequemen Darstellung dieser Estersäure ausgearbeitet (s. unten). Hierzu diente frische Unterhefe, doch sind, wie wir bereits angegeben haben<sup>6)</sup>, Trockenhefen und ferner daraus gewonnene Mercerationssäfte grundsätzlich ebenso brauchbar. Das gilt für jede bisher von uns geprüfte Hefe, die phosphoryliert und einen aktiven Saft liefert. Der als Akzeptor wirkende Acetaldehyd läßt sich dabei, ganz im Sinne der schon von *Nilsson* und *Jost* erörterten Theorien, durch andere Carbonylkörper bzw. chinoide Stoffe (Methylenblau) ersetzen. Das ist im Hinblick auf die gärungsbeschleunigende Kraft dieser Verbindungen (*Neuberg*, *Boysen-Jensen*) von Interesse und war nach den Erfahrungen<sup>11)</sup> bei den phytochemischen Reduktionen zu erwarten. Wir sind z. B. mit Isovaleraldehyd zum Ziele gelangt.

Neuerdings ist von *Fischer* und *Baer*<sup>12)</sup> auch die ̢-Glycerinaldehyd-mono-phosphorsäure,  $\text{H}_2\text{PO}_3 \cdot \text{O} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CHOH} \cdot \text{COH}$ , dargestellt; *Smythe* und *Gerischer*<sup>13)</sup> taten dar, daß diese Verbindung, die als Racemkörper benutzt wurde, zur Hälfte vergärt. Es zeigt sich nun, daß sie, wie wir bereits<sup>6)</sup> erwogen hatten, in Gegenwart von NaF ohne P-Abspaltung dismutiert werden kann und Phosphoglycerinsäure ergibt. Das ist beachtenswert, weil der Glycerinaldehyd selbst, wie von seinem Entdecker *Wohl*<sup>14)</sup> bemerkt und seither mehrfach bestätigt ist, nicht oder kaum von Hefe angegriffen wird.

Während den calorimetrischen Messungen keine Anhaltspunkte für die Rolle der Triosen als zwangsläufige

<sup>10)</sup> *A. Wohl* u. *C. Oesterlin*, Ber. Dtsch. chem. Ges. 34, 1139 [1901].

<sup>11)</sup> *C. Neuberg* u. *H. Steenbock*, Biochem. Zeitschr. 52, 494 [1913]; 59, 188 [1914]. *C. Neuberg* u. *W. H. Peterson*, ebenda 67, 32 [1914]. *C. Neuberg* u. *F. F. Nord*, ebenda 62, 482 [1914]. *C. Neuberg* u. *M. Ringer*, ebenda 90, 388 [1918].

<sup>12)</sup> *H. O. L. Fischer* u. *E. Baer*, Ber. Dtsch. chem. Ges. 65, 337 u. 1040 [1932].

<sup>13)</sup> *C. V. Smythe* u. *W. Gerischer*, Biochem. Ztschr. 260, 414, [1933].

Zwischenstufen zu entnehmen waren, bestand eine solche Möglichkeit für den Phosphoglycerinaldehyd. Wir haben im Laufe der Jahre für das Gärungsschema wiederholt postuliert, daß Triose jederzeit eingefügt werden kann, falls sie jemals gefunden wird. Hingewiesen haben wir auch darauf, daß — wegen ungehemmter Wirkung der Phosphatase unter den gewählten Versuchsbedingungen der Abfangmethoden und Fermentausschaltungsverfahren — die Produkte der zweiten und vierten Vergärungsform, d. h. äquivalente Mengen von Glycerin und Brenztraubensäure, bzw. Glycerin und Acetaldehyd +  $\text{CO}_2$ , als solche und nicht in Gestalt ihrer phosphorylierten Vorstufen auftreten, indem diese bisher nur bei ionaler Vergiftung festgehalten werden konnten. Versuche darüber sind im Gange, ob bei der von uns zur Isolierung von Methylglyoxal gegebenen Vorschrift Phosphoglycerinaldehyd (Fischer u. Baer) sekundär Methylglyoxalderivate liefern kann. Zutreffendenfalls würde dann statt des Dehydrationsproduktes Methylglyoxal phosphorylierter Glycerinaldehyd treten. Vgl. hierzu v. Euler, Jost, Kluyver, Nilsson, von denen Jost bereits ausgesprochen hat, daß die Phosphorylierung nicht an freiem Glycerinaldehyd geschieht, sondern daß Phosphoglycerinsäure aus einer phosphorylierten Vorstufe hervorgeht. Aus Versuchen von Nilsson und uns folgt, daß diese nicht zugesetzte Hexosediphosphat zu sein braucht, sondern ein im Gärgemisch erzeugter Zuckerphosphorsäure-ester sein kann. Für die Aufstellung einer unter allen Umständen zutreffenden Gärungsformulierung scheinen uns die experimentellen Grundlagen noch nicht auszureichen.

Sollte sich der Beweis erbringen lassen, daß Glycerinaldehyd-mono-phosphat das erste Erzeugnis der hälftigen Teilung der Hexosen ist und als ein Zwischenprodukt fungiert, aus dem nach einer in nuce schon von Jost erörterten Theorie durch Dismutation phosphorylierte Glycerinsäure und Glycerin-phosphorsäure gebildet werden, so wären alle zur Reihe der phosphorylierten Aldotriose gehörigen Substanzen — außer dem Aldehyd selber auch ihre Säure und ihr Alkohol — in der Natur aufgefunden; für den Glycerinsäure-phosphorsäure-ester steht dies nunmehr fest, und für die Glycerin-phosphorsäuren ist diese Tatsache seit Dezennien bekannt.

#### Versuche.

1. In einem Gemisch von 100 cm<sup>3</sup> 40%iger Glucoselösung, 100 cm<sup>3</sup> Phosphatlösung von pH 7,0 und 40 cm<sup>3</sup> Wasser wurden 40 g frische Unterhefe (Patzenhofer) verteilt. Nach Zusatz von 20 cm<sup>3</sup> Toluol wurden 10 cm<sup>3</sup> des Gemisches in ein Eudiometer abgefüllt; zur colorimetrischen Bestimmung des Gehalts an anorganischem Phosphor wurde 1 cm<sup>3</sup> entnommen. Das Reaktionsgemisch blieb unter öfterem Umschütteln bei 37° stehen. Nachdem sich in 2½ h aus den entnommenen 10 cm<sup>3</sup> Gärgemisch 15,6 cm<sup>3</sup>  $\text{CO}_2$  im Gasmeßrohr angesammelt hatten, wurden 100 cm<sup>3</sup> 2%ige Acetaldehyd- und 20 cm<sup>3</sup> 0,2 m-Natriumfluoridlösung hinzugegeben; das Gemisch selber wurde unter öfterem Umschütteln bei 37° digeriert. Die Gärung hörte praktisch auf, jedoch wurde nach Fluoridzusatz Phosphat weiter in organische Bindung übergeführt. Zu Beginn war pro cm<sup>3</sup> Versuchslösung die 7,16 mg P entsprechende Menge freier Phosphorsäure vorhanden, und zwar in einem Anfangsvolumen von 269 cm<sup>3</sup>, so daß auf das nach Acetaldehyd- und Fluoridzusatz 389 cm<sup>3</sup> betragende Volumen pro cm<sup>3</sup> 4,95 mg P entfallen. Der Gehalt an anorganischem Phosphor belief sich nach der Acetaldehyd- und Fluoridzugabe nur noch auf 2,35 mg pro cm<sup>3</sup> und sank während der 3¼stündigen Fluoridperiode auf 1,13 mg P pro cm<sup>3</sup>. Während der ersten, mit  $\text{CO}_2$ -Entwicklung einhergehenden Phosphorylierung, bei der Hexose-diphosphat entsteht, waren also pro cm<sup>3</sup> 4,95 — 2,35 = 2,60 mg P, während der Fluoridperiode, in welche die Erzeugung der Phosphoglycerinsäure fällt, 2,35 — 1,13 = 1,22 mg P pro cm<sup>3</sup> in organische Bindung eingetreten. 3¼ h nach Zugabe des Fluorids wurde das Reaktionsgemisch zentrifugiert und das

Zentrifugat durch Filtrieren vom Toluol befreit. Aus 300 cm<sup>3</sup> des klaren Filtrats wurde das restliche anorganische Phosphat mit der nötigen Menge 20%iger Magnesiumacetatlösung und Ammoniak (bis zur phenolphthaleinalkalischen Reaktion) ausgefällt.

Nach dem Absaugen vom Ammonium-Magnesiumphosphat wurde mit Eisessig neutralisiert und ein Überschuß von 15 cm<sup>3</sup> Eisessig hinzugefügt. Nach Zugabe von 20 cm<sup>3</sup> 50%iger Bariumacetatlösung und etwas Fullererde wurde durch ein Machereyfilter filtriert. In dem klaren Filtrat begann bald, besonders auf Anreiben, die Ausscheidung des kristallisierten sauren Bariumsalzes der Phosphoglycerinsäure, die nach 15–30stündigem Stehen im Eisschrank beendet war. Die Kristalle wurden abgeschleudert, auf der Zentrifuge erst mit Wasser abgedeckt, bis die abgegossene Flüssigkeit Fehlingsche Mischung nicht mehr reduzierte, und zum Schluß mit Alkohol gewaschen. Ausbeute 4,81 g Rohprodukt, aus dem durch Lösen in der 70fachen Menge 0,05 n HCl und Zusatz des anderthalbfachen bis doppelten Volumens Alkohol 3,94 g analysenreines saures Bariumsalz der Phosphoglycerinsäure in glänzenden Kristallen erhalten wurden. Falls die salzsaure Lösung des Rohproduktes etwas trüb ist, wird sie vor dem Alkoholzusatz über Fullererde abgesaugt und dabei vollständig blank.

Zur Analyse und Polarisation wurde das Salz bei 56° im Hochvakuum zur Konstanz getrocknet.

191,8 mg Substanz gaben 0,1271 g  $\text{BaSO}_4$ .

13,333 mg Substanz gaben 0,1054 g Strychnin-Phospho-Molybdat.

3,586 mg Substanz gaben 1,364 mg  $\text{CO}_2$  und 0,901 mg  $\text{H}_2\text{O}$ .

$\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_7\text{PBA} + 2\text{H}_2\text{O}$ . Ber.: Ba 38,42; P 8,68; C 10,07; H 2,54.

Gef.: Ba 39,00; P 8,85; C 10,38; H 2,81.

(In den vorangegangenen Mitteilungen war ein Rechenfehler unterlaufen; das kristallisierte saure Bariumsalz der optisch aktiven Form enthält unter den angegebenen Bedingungen 2 Mol Kristallwasser.)

Für die Drehungsbestimmung wurden 0,5 g des sauren Bariumsalzes  $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_7\text{PBA} + 2\text{H}_2\text{O}$  in n-HCl zu 10 cm<sup>3</sup> gelöst; die Konzentration an freier Phosphoglycerinsäure betrug dann  $c = 2,60\%$ .  $\alpha = -0,36^\circ$  im 1-dm-Rohr.  $[\alpha]_D = -13,85^\circ$ .

2. Für einen Ansatz mit Saccharose, in dem die Zucker- und Acetaldehyd-Konzentration geringer war, verwendeten wir zur ersten, mit der Gärung einhergehenden Phosphorylierung in 300 cm<sup>3</sup> Gesamtvolumen:

60 cm<sup>3</sup> 20%ige Rohrzuckerlösung,

100 cm<sup>3</sup> ¾ m-Phosphatlösung von pH 7,02,

100 cm<sup>3</sup> Wasser,

40 g frische Unterhefe (Löwen-Böhmisch) und

20 cm<sup>3</sup> Toluol.

Die bei 37° vorgenommene Gärung dauerte 2 h 40 min; während dieser Zeit waren aus 10 cm<sup>3</sup> Gärgemisch 18,5 cm<sup>3</sup>  $\text{CO}_2$  frei geworden. Dann wurden 50 cm<sup>3</sup> 2%ige Acetaldehyd- und 20 cm<sup>3</sup> 0,2 m-Natriumfluoridlösung sowie 30 cm<sup>3</sup> Wasser zugefügt. Die Aufarbeitung geschah nach weiteren 3¼ h in der vorher angegebenen Weise. Innerhalb der 2 h 40 min währenden, mit  $\text{CO}_2$ -Entwicklung verknüpften Phosphorylierung wurden pro cm<sup>3</sup> 0,54 mg P organisch gebunden, in der zweiten auf 3¼ h bemessenen Fluoridperiode 1,48 mg P pro cm<sup>3</sup>. Aus 300 cm<sup>3</sup> Versuchslösung wurden 3,70 g kristallisiertes Rohprodukt und daraus 3,14 g reines saures Bariumsalz der Phosphoglycerinsäure gewonnen.

3. Während der Ausarbeitung der Darstellungsmethode hatten sich die biochemischen Eigenschaften der Hefe in den letzten Monaten etwas geändert. Ein wie Ansatz 2 zusammengesetzter Versuch verlief folgendermaßen: Nach dreistündiger Gärung bei 37° waren aus 10 cm<sup>3</sup> 29,5 cm<sup>3</sup>  $\text{CO}_2$  entwickelt und pro cm<sup>3</sup> 0,95 mg P organische Bindung eingetreten; dann wurden 60 cm<sup>3</sup> 2%ige Acetaldehyd- und 20 cm<sup>3</sup> 0,2 m-Natriumfluoridlösung nebst 20 cm<sup>3</sup> Wasser zugesetzt. Während der wiederum 3¼ h dauernden Fluoridperiode wurden pro cm<sup>3</sup> 1,69 mg P organisch gebunden. Aus 300 cm<sup>3</sup> Reaktionsgemisch wurden 3,2 g rohes und 2,9 g reines kristallisiertes saures Bariumsalz der Phosphoglycerinsäure abgeschieden.

4. Gleich Glucose oder Rohrzucker ist auch Fructose ein brauchbares Ausgangsmaterial zur Bereitung der Phosphoglycerinsäure. Zu einem Ansatz, der wie die Versuche 2 und 3

zusammengestellt war, statt Rohrzucker aber Fructose enthielt, wurden nach 3½stündiger phosphorylierender Vorvergärung, während der aus 10 cm³ 24,2 cm³ CO₂ frei geworden und pro cm³ 2,90 mg P organisch gebunden waren, 80 cm³ 2%ige Acetaldehyd- und 20 cm³ 0,2 m-Natriumfluoridlösung gefügt. Die Phosphorylierung während der 3½stündigen Fluoridperiode war durch das Verschwinden von 0,56 mg P pro cm³ gekennzeichnet; die Ausbeute an kristallisiertem sauren Bariumsalz der Phosphoglycerinsäure betrug 2,92 g aus 300 cm³ Versuchslösung.

5. Versuche mit Mannose führten ebenfalls zum Ziel, doch war der Ertrag geringer.

6. In Ergänzung der früher beschriebenen Erfahrungen mit Trockenhefe sei ein Versuch mit Saft geschildert. Zu 200 cm³ Macerationssaft wurden 30 cm³ ½ m-Phosphatlösung von pH 6,6, 10 cm³ 50%ige Rohrzuckerlösung, 100 cm³ 2%iger Acetaldehyd, 10 cm³ m-NaF und 50 cm³ 3%ige Natrium-hexosediphosphatlösung gefügt. Das Gemisch wurde 3½ h bei 37° digeriert, dann unter Zugabe von 2 cm³ Eisessig im siedenden Wasserbade koaguliert, zentrifugiert und in üblicher Weise aufgearbeitet. Die Kristallisation erfolgt ungestört, wenn auch bisweilen etwas langsamer als in den Ansätzen mit Frischhefe, in denen weniger kolloidale Bestandteile zugegen sind. Bei gleicher Phosphorylierung wie in Versuchen mit Frischhefe: Ausbeute 3,6 g Rohprodukt aus 300 cm³ Reaktionsgemisch, bzw. 3,2 g analysenreiner Substanz. Versuche mit stärker verdünntem Saft lieferte geringere Erträge. Diese nahmen auch mit sinkendem Gehalt an Hexosephosphat ab; die Menge des Fluorids muß in Saftversuchen höher bemessen werden als in Ansätzen mit lebenden Zellen.

7. Ansatz wie Versuch 6 mit Isovaleraldehyd statt mit Acetaldehyd. Ausbeute 2,1 g saures Bariumsalz der Phosphoglycerinsäure aus 300 cm³ Versuchslösung.

8. Für den Versuch mit Phosphoglycerinaldehyd diente selbstgärungsfreier Macerationssaft, um Intervention von Hefekohlenhydraten auszuschalten. Zu 80 cm³ Saft wurden 40 cm³ 10%ige Lösung von glycerinaldehydphosphorsaurem Natrium, 20 cm³ 2%iger Acetaldehyd, 4 cm³ m-NaF, 12 cm³ ½ m-Phosphatlösung von pH 6,6 und 4 cm³ H₂O gegeben. Versuchsdauer 3½ h bei 37°. Eine Veränderung des Gehaltes an anorganischem P war während dieser Zeit nicht zu beobachten. Aufarbeitung wie bei 6., Ausbeute 0,7 g reines phosphoglycerinsaures Barium auf 120 cm³ Reaktionsgemisch. — Bei Abwesenheit von Acetaldehyd war die Ausbeute unter sonst gleichen Verhältnissen um rund die Hälfte geringer.

Schließlich wurden auch Versuche mit Galactose (unter Benutzung von Galactose-Hefe) vorgenommen. Phosphoglycerinsäure wurde gebildet. Dies ist in theoretischer Hinsicht interessant; die gewöhnlichen Zymohexosen sind nämlich durch eine mit Phosphorylierung verbundene Lobry de Bruyn-Umlagerung miteinander verknüpft (Neuberg und Leibowitz). Wenn auch nicht in chemischer, so doch in biochemischer Hinsicht gliedert sich die Galactose dieser Reihe ein.

Weiterhin wurden besonders gute Resultate mit Maltose erhalten; dies ist im Hinblick auf die Beziehungen dieses Disaccharides zu Glykogen und Stärke erwähnenswert.

In allen Fällen wurde die gleiche lävogyre Raumform der Phosphoglycerinsäure gewonnen.

Der Rockefeller-Foundation in New York danken wir bestens für die Gewährung von Arbeitsmitteln. [A. 94.]

## Über Oxycellulose.

Von Dr. KARL HEINZ BERGMANN, Breslau¹).

(Eingeg. 4. Juli 1933.)

Der Zweck meiner Arbeit ist zunächst, eine quantitative, zuverlässige Bestimmungsmethode für Oxycellulose zu geben; andererseits wurde versucht, dem Begriff „Oxycellulose“ chemisch näher zu kommen. Die Bezeichnung „Oxycellulose“ wird beibehalten für alle Produkte, die durch irgendeinen Oxydationsprozeß aus der Cellulose entstanden sind.

Die quantitative Bestimmung des Gehaltes an Oxycellulose ist deshalb besonders schwierig, weil sie sich nicht unverändert von der Faser ablösen läßt. Nur die Bestimmung der „Kauffmannschen Permanganatzahl“, die Arbeitsweise von Minajeff und Medwiediew und die „Schwalbesche Kupferzahl“ haben bleibenden Eingang in die Praxis gefunden. Am gebräuchlichsten ist die „Kauffmannsche Permanganatzahl“.

Da bei der von Kauffmann vorgeschlagenen Lauge von 3° Bé bis zu 30% Oxycellulose ungelöst bleiben, wurde 10°ige Lauge angewandt. Witz²) fand schon 1882, daß zur vollständigen Ablösung der Oxycellulose von der Faser siedende Natronlauge angewandt werden müsse. KMnO₄ ist außerdem handlicher als Chromsäure. MnO₂-Fällungen lassen sich vermeiden, indem man stärkere Schwefelsäure und etwas Manganosalz zusetzt.

Untersucht wurden Oxycellulosen³), die hergestellt worden waren mit: 1. KClO₃ und HCl. — 2. NaOCl, sauer und alkalisch. — 3. Brom und Kalk. — 4. H₂O₂. — 5. HNO₃. — 6. KMnO₄, sauer und alkalisch.

Die Untersuchungen erstreckten sich auf zwei Reihen: in der einen wurde die Oxycellulose mit kochendem Alkali von der Faser heruntergelöst, in der zweiten durch Behandlung in der Kälte.

Die kochende Behandlung lieferte in einer Ausbeute von 0,1—0,3% ein Produkt, dem nach Analyse

und Titration die Formel (C₆H₈O₆) zukommt. Die Vermutung, daß hier das Lacton der Glucuronsäure vorliegen könne, erwies sich als irrig; denn die Eigenschaften dieses Körpers sind von den in der Literatur⁴) beschriebenen des Glucuronsäurelactons gänzlich verschieden. Vor allem ist der aus heißer Natronlauge zurückerhaltene Körper (C₆H₈O₆)ₓ in Wasser unlöslich, während das Lacton wasserlöslich ist. Infolge der sehr geringen Ausbeute konnte dieser Stoff noch nicht identifiziert werden.

Bei Extraktion in der Kälte wurde dagegen in einer Ausbeute von 2—3% ein Produkt (C₆H₁₀O₇)ₓ erhalten, das als Polyglucuronsäure erkannt wurde. Es ist hiermit also ein Weg gegeben, aus Cellulose Polyglucuronsäure darzustellen.

Zum Vergleich diente eine von der I. G. Farbenindustrie A.-G., Abt. Leverkusen, hergestellte Glucuronsäure in folgenden Reaktionen: Schmelzpunkt, Löslichkeit, Analyse, K-, Ba-, Pb-Salz, Spaltung in d-Glucuronsäure. Die von der I. G. Farbenindustrie in entgegenkommender Weise zur Verfügung gestellte Glucuronsäure war, wie man mir mitteilte, nicht aus Cellulose dargestellt worden.

Der Nachweis, daß die aus Cellulose entstehende Oxycellulose mit Polyglucuronsäure identisch ist, dürfte erst möglich sein, wenn ein indifferentes Lösungsmittel für Oxycellulose gefunden sein wird. Kalb⁵) hat gelegentlich vermutet, daß bei Oxydation von Cellulose evtl. Glucuronsäure entstehen könne. Diese Vermutung bezog sich jedoch auch nur auf eine bestimmte Oxycellulose. K Heß⁶) trat dann dieser Auffassung entgegen.

Glucuronsäure aus d-Glucose zeigt die gleichen Eigenschaften, wie die aus Euxanthinsäure dargestellte.

¹) Beilstein III, S. 885.

²) Meyer-Mark, Hochpolymere Naturstoffe S. 151/52; Ber. Dtsch. chem. Ges. 60, 2514 ff.

³) Bull. Rouen 10, 447 [1882] u. 11, 222 [1883].

⁴) Angew. Chem. 45, 135 [1932].

⁵) Heß, Chem. g. Zell. S. 460; Ztschr. angew. Chem. 37, 994 [1924].