

Säure auf 1 Mol. Tartrat aufgenommen, während auch in Lösung nicht mehr als 1 Mol. an die Weinsäure gebunden wird, was aus dem Sinken der Drehung bei weiterem Zusatz von Molybdänsäure ersichtlich ist.

Alle complexen Molybdän- und Wolfram-Tartrate haben das eine mit einander gemeinsam, dass sie alle Rechtsdrehung zeigen, wie die natürliche Weinsäure, wenn man von ganz concentrirten Lösungen dieser Säure absieht. Anders dagegen liegt der Fall bei den Wolfram- und Molybdän-Malaten, mit deren Studium ich zur Zeit beschäftigt bin. Hier treten häufig Wechsel von Links- und Rechts-Drehung auf. Ueber diese Verbindungen, wie über die analogen Uran-Tartrate und -Malate, hoffe ich demnächst berichten zu können.

## 207. Arthur Croft Hill: Bemerkungen zur Arbeit von O. Emmerling: Synthetische Wirkung der Hefenmaltase.

(Eingegangen am 16. April 1901.)

Im Heft 4 der diesjährigen »Berichte« (S. 600 — 605) erschien eine Abhandlung von O. Emmerling, in welcher derselbe mittheilt, er habe einige Versuche wiederholt, welche ich 1898 in den *Transactions of the Chemical Society* (73, 634) unter dem Titel »Reversible zymohydrolysis« beschrieben habe. Ich hatte gefunden, dass, wenn man Hefenmaltase auf concentrirte Glucose-Lösungen einwirken lässt, eine Zunahme der optischen Activität und eine Abnahme der reducirenden Kraft der Lösungen eintritt, und zwar stehen diese beiden Veränderungen in einer solchen Beziehung zu einander, wie sie die Voraussetzung, dass ein Theil der Glucose in Maltose verwandelt wird, erfordern würde. Ferner deuteten einige qualitative Reactionen darauf hin, dass am Schlusse der Versuche Maltose vorhanden war. Allerdings musste darauf hingewiesen werden, dass sich der synthetische Zucker selbst nicht isoliren liess, dass aber ein Osazon erhalten werden konnte, welches die Eigenschaften des Maltosazons besass. Die Bildung von Dextrinen war nicht ausgeschlossen, zumal das Verhältniss zwischen Zunahme der optischen Activität und Abnahme der reducirenden Kraft, welch' letztere mit Hülfe von ammoniakalischer Kupferlösung ermittelt wurde, sich nicht geändert haben würde, wenn sich ein Theil der Maltose in Dextrin verwandelt hätte. Die Analyse von Fällungen, welche nach einander mit immer stärkerem Aethylalkohol erhalten wurden, haben indessen, wenigstens bei meinen

Versuchen, eine irgendwie erhebliche Bildung derartiger Substanzen nicht erkennen lassen; wenn dies aber trotzdem der Fall sein sollte, so besteht doch kein zwingender Grund, deren Bildung gerade mit dem Enzym Maltase in Beziehung zu bringen.

O. Emmerling bestätigt meine Beobachtung bezüglich der synthetischen Wirkung der Hefenmaltase auf Glucose, behauptet aber: 1) dass das entstehende Disaccharid nicht gewöhnliche Maltose, sondern Isomaltose ist, und 2) dass gleichzeitig durch dasselbe Enzym beträchtliche Mengen von Dextrinen oder dextrinähnlichen Stoffen erzeugt würden. Als Beweis, dass der entstandene Zucker nicht Maltose, sondern Isomaltose ist, führt Emmerling an: 1) seine Beobachtung, dass der Zucker unvergährbar, d. h. durch Hefenmaltase nicht wieder rückwärts in Glucose spaltbar ist, und 2) die Thatsache, dass er ein »Isomaltosazon« erhielt. Da ich hoffe, in Kürze die Resultate von Untersuchungen veröffentlichen zu können, welche sich auf die Isolirung des Zuckers selbst richteten, so möchte ich mich hier auf Bemerkungen zu der Abhandlung Emmerling's beschränken, die mir nöthig erscheinen, weil ich die von ihm bekannt gegebenen experimentellen Thatsachen für unzulänglich halte, sowohl in Bezug auf die Identificirung des Disaccharids, als auch in Bezug auf den Nachweis, dass Maltose nicht das primäre synthetische Product der Reaction ist. Die Substanzen, welche Emmerling in einem Theile seiner Abhandlung als Dextrin und in einem anderen als dextrinähnliche Stoffe bezeichnet, will ich keiner Besprechung unterziehen; sie werden von ihm nicht beschrieben, und man kann nicht wissen, was der Ausdruck »dextrinähnlich« umfassen soll. Die Punkte, auf welche ich aber etwas näher eingehen möchte, sind die folgenden:

1. Die von Emmerling beobachtete Reversion ist sehr gering. Er arbeitete mit einer nur 32-procentigen Glucoselösung, während die von mir benutzten Lösungen 40 pCt. des Zuckers enthielten.

2. Die Ergebnisse seiner beiden Versuche stimmen mit einander nicht überein und lassen erkennen, dass er es, neben der Reversion, noch mit einer anderen Wirkung zu thun hatte.

3. Er hat es unterlassen, durch geeignete Controllversuche den Nachweis zu erbringen, dass eine relativ kleine Menge Maltose, falls sie in erheblichem Betrage mit verschiedenen Verunreinigungen, einschliesslich der concentrirten Nebenproducte einer vorhergegangenen Gährung vermenget ist, noch vergohren werden kann oder befähigt ist, ein charakteristisches Maltosazon zu liefern. Es ist nämlich von anderen Beobachtern darauf aufmerksam gemacht worden, dass unreines Maltosazon den Schmelzpunkt und auch die Krystallform annehmen kann, welche man verschiedenen Isomaltosazonen zuschreibt.

## I. Geringer Betrag der von O. Emmerling erzielten Reversion.

Die Lösungen für die Versuche wurden hergestellt durch Verdünnen von 200 ccm einer 40-procentigen Glucose-Lösung mit 50 ccm der Enzym-Lösung; daraus ergibt sich eine Zucker-Concentration von 32 pCt. Berechnet man jedoch die Concentration des Zuckers aus den anfänglichen polarimetrischen Messungen, so scheint es, als ob sie weit geringer gewesen wäre. Eine Erklärung dieses Umstandes ergibt sich nicht aus der Arbeit; denn die Differenz ist zu gross, als dass sie auf Rechnung eines Verlustes bei der sorgfältigen Sterilisation gesetzt werden könnte. Jedenfalls zeigen die Messungen, dass die Concentration bei dem zweiten Versuch etwas grösser war als bei dem ersten, und dieser Unterschied muss bei der Berechnung der relativen Aenderungen der Rotation aus den beobachteten absoluten Aenderungen in Rechnung gezogen werden. Der totale Zuwachs von  $[\alpha]_D$  war nicht grösser als  $5^\circ$  in dem ersten und  $4.5^\circ$  im zweiten Versuche.

## II. Mangel an Uebereinstimmung in den beiden Versuchen.

Oggleich die Zunahme der optischen Activität in den beiden Versuchen so gering ist — sie erreicht kaum die Hälfte der von mir erzielten —, ist die Abnahme der reducirenden Kraft sehr bedeutend, und zwar um ein Vielfaches grösser als die von mir bei irgend einem meiner Versuche beobachtete. Sie fiel beim ersten der beiden Versuche von 100 auf 71 (für die Glucose ist  $R = 100$  angenommen) und beim zweiten Versuch von 100 auf 58. Dass man es bei Emmerling mit der Zerstörung eines Theiles der Glucose, also mit einem Vorgang zu thun hat, welcher von der Aenderung der Reversion völlig unabhängig und gänzlich verschieden ist, wird durch die That-sache bewiesen, dass der Verlust von reducirender Kraft bei dem zweiten Versuche erheblich grösser ist als bei dem ersten, während die Zunahme der specifischen Drehung im Gegensatz hierzu bei dem zweiten Versuch kleiner als bei dem ersten ist. Dieser Mangel an Uebereinstimmung zwischen den beiden Versuchen ist natürlich völlig unabhängig davon, welche Werthe auch immer Emmerling den optischen und reducirenden Eigenschaften der Substanzen beilegt, deren Entstehung er annimmt, sowie von dem wirklichen Zuckerwerth seiner Fehling'schen Lösung. Uebrigens ist keine dieser Constanten in der Abhandlung angeführt. Entwirft man die Zeit-Curven, die sich aus den Resultaten seiner Versuche ergeben, so zeigen sich grosse Unregelmässigkeiten, allein der Grund für den Mangel an Uebereinstimmung lässt sich nicht erkennen. Augenscheinlich kann aus den Resultaten der Titrationsen kein Schluss auf den Umfang, in welchem sich die Reversion änderte, gezogen werden.

### III. Mangel einer genügenden Controlle.

Um die Abwesenheit von Maltose sicherzustellen, hätte Emmerling den Nachweis erbringen müssen, dass er mit Hilfe seiner Methode in der Lage war, auch unter den bei seinen Versuchen obwaltenden, ungünstigen Bedingungen, den in Rede stehenden Zucker mit Sicherheit zu erkennen. Diese Bedingungen sind etwa die folgenden: die mögliche Concentration der Maltose in den Lösungen, welche für die erste Gährung verdünnt wurden, betrug wahrscheinlich weniger als 1 pCt., während die Concentration der Glucose auf 10 pCt. zu schätzen war. Um die Glucose zu zerstören, wurde die Gährung dann mit maltasefreier Hefe zu Ende geführt. Der Name der betreffenden Hefe ist nicht angegeben, aber ich habe gefunden, dass wenn man *Saccharomyces Marxianus* für die Trennung der Maltose von beigemischter Glucose unter verschiedenen Bedingungen anwendet, zwar unter geeigneten Verhältnissen fast die gesamte Glucose vergohren werden kann, unter zahlreichen anderen Bedingungen jedoch die Menge der unverändert gebliebenen Glucose beträchtlich bleibt und zwar besonders dann, wenn die Gährung sofort nach der Klärung der Flüssigkeit unterbrochen wird.

Unter den von Emmerling inne gehaltenen Bedingungen muss der Glucose-Rückstand mindestens 0.2 pCt. betragen haben; er kann also sehr leicht ebenso gross gewesen sein wie der Betrag von Maltose, der möglicherweise vorhanden war. Bevor es der Gährprobe unterworfen wurde, wurde das Disaccharid durch Eindampfen seiner Lösung concentrirt; mit ihm wurden die Nebenproducte der ersten Gährung, sowie die noch unverändert gebliebene Glucose, die Salze, der Rest coagulirbarer Substanzen des Hefenextractes und die sämmtlichen, nicht flüchtigen Oxydationsproducte der Glucose, welche von der Einwirkung des Hefe-Extractes auf die Glucose im ersten Theil der Versuche herstammten, concentrirt. Ich zweifle nicht, dass durch die Fällung mit Alkohol alsbald ein gewisser Theil dieser Verunreinigungen entfernt wurde; den Ergebnissen meines Versuches nach, wird hierbei aber auch etwas Zucker mit ausgefällt. Sicherlich war auf diesem Wege jedoch keine Trennung zu erzielen.

Emmerling behauptet, dass der auf Zusatz des Alkohols gewonnene Niederschlag aus Dextrinen besteht, aber er erwähnt nicht, dass derselbe ohne Einwirkung auf Fehling'sche Lösung war. Nach weiterem Concentriren des Filtrates behufs Entfernung des Alkohols, erhielt er einen syrupartigen Rückstand, welcher Fehling'sche Lösung reducirte, aber mit gewöhnlicher Hefe nur spurenweise Gährung zeigte. Seine optischen Eigenschaften sind nicht ermittelt worden. Bei dem Mangel einer genauen Controlle ist es keineswegs selbstverständlich, dass mehr als eine spurenweise Vergährung erwartet werden durfte; ebensowenig darf es als sicher gelten, dass

seiner Angabe gemäss, nach Ablauf dieser zweiten Gärung keine Glucose mehr vorhanden war.

In ähnlicher Weise muss der Mangel einer zweckdienlichen Controlle auch bei Emmerling's Identificirung des »Isomaltosazon« gerügt werden. Brown und Morris haben in ihrer Abhandlung über die Isomaltose von C. J. Lintner (Transact. chem. Soc. 67, 709 [1895]) gezeigt, wie leicht sich solche »Isomaltosazone« bilden, und Emil Fischer (diese Berichte 28, 3027 [1895]) sagt bei der Besprechung dieser Abhandlung: »Ich stimme dem Ausspruch der HHrn. Brown und Morris, dass die ausschliessliche Charakterisirung eines Kohlehydrates durch sein Osazon in manchen Fällen zu Irrthümern führen kann, gern bei. So habe ich z. B. beobachtet, dass das synthetische Isomaltosazon beim Umkrystallisiren mit der halben Menge Maltosazon in wässriger Lösung die Eigenschaften des letzteren auch so stark verändert, dass dasselbe nicht mehr wieder erkannt wird. Ohne die Unterscheidung durch Hefe würde man also die Verschiedenheit von Maltose und Isomaltose nicht sicher behaupten können.«

Emmerling lässt sich darüber nicht aus, ob er das von ihm gewonnene »Isomaltosazon« nach einmaligem Umkrystallisiren für eine reine Substanz hält. Brown und Morris zeigten, dass unreine Osazone, welche unzweifelhaft Maltosazon enthielten, jedoch bei für »Isomaltosazone« angegebenen Temperaturen schmolzen, selbst nach wiederholtem Umkrystallisiren den Schmp. 152° besaßen. Es ist keineswegs sicher, dass soweit die Osazonprobe in Betracht kommt, es nothwendigerweise von Vortheil ist, die Glucose durch Vergähren zu entfernen, denn bei diesem Process werden — falls derselbe nicht in ganz besonderer Weise durchgeführt wird — neue Verunreinigungen, d. h. Nebenproducte der Gärung, erzeugt, während die letzten Spuren Glucose doch nicht zu entfernen sind.

Die Bildung von Isomeren der Maltose, neben Maltose selbst, würde natürlich mit der Theorie eines umkehrbaren Processes völlig im Einklang stehen, und man müsste sogar in derartigen Fällen immer darauf gefasst sein, einem Isomeren zu begegnen, welches durch dasselbe Enzym wieder rückwärts in Glucose gespalten wird. Emmerling's Schlussfolgerung indessen, steht hierzu in directem Gegensatz, denn er nimmt an, dass sich ein Disaccharid bildet, welches durch das Enzym nicht wieder rückwärts gespalten wird. Die Thatsache, dass eine solche Substanz noch nicht isolirt worden ist, macht an sich diese interessante Schlussfolgerung nicht hinfällig, aber sie mahnt zu besonderer Vorsicht, wenn der experimentelle Beweis ein unvollständiger ist.

Davy-Faraday-Laboratorium. London.