

ist eine Frage, die mit der Tatsache der Inaktivierung in keinem Zusammenhange zu stehen braucht; denn für den Modus der Inaktivierung existiert ja mehr als eine Möglichkeit, und ich habe selbst in striktem Gegensatz zu den Behauptungen, die mir Hr. van der Haar zuschreibt, nicht eine Koagulation, sondern eine chemische Veränderung des Peroxydasemoleküls vermutet<sup>1)</sup>. Wenn daher Hr. van der Haar angibt, daß Kartoffel- und Efeuperoxydasen nicht koagulierbar sind, so läßt sich daraus noch lange nicht der Schluß ziehen, daß jener Identitätsbeweis für Katalase und Peroxydase, der sich auf die gleiche Inaktivierungstemperatur stützt, nicht zu Recht besteht, so lange nicht der Beweis erbracht ist, daß sich die Inaktivierung nur auf Grund eines Koagulationsprozesses vollzieht. Wenn ich endlich auf die Labilität des Fermentmoleküls hingewiesen habe und auf den Einfluß, den eingreifende Reinigungsoperationen auf das labile Molekül besitzen dürften, so mag dies wohl eine Vermutung sein, aber eine solche, die durch zahlreiche Erfahrungen von verschiedenster Seite gestützt und durch keinen Gegenbeweis widerlegt ist.

**100. Gertrud Woker: Über die Reaktion der Stärke mit Formaldehyd und über die diastatischen Eigenschaften des Formaldehyds. Erwiderung an Hrn. W. v. Kaufmann.**

(Eingegangen am 7. Februar 1917.)

Vor kurzem habe ich in diesen Berichten<sup>2)</sup> eine Reihe von Beobachtungen und Vorversuchen erwähnt, die, wie ich mich in meiner Arbeit ausdrückte, »zugunsten der Auffassung« sprach, »daß der Formaldehyd Modelleigenschaften der Diastase besitze«. Ich habe aber auch mögliche Einwände angeführt und zum Schluß bemerkt: »Trotz der angegebenen Gründe möchte ich mir jedoch erst nach Abschluß der eingehenden Versuche von Hrn. Maggi ein Urteil darüber gestatten,

<sup>1)</sup> So schrieb ich in den Archives des sciences phys. et nat. 39, 407 [1915]: »Le principe fondamental qui agit, aussi bien pour la catalase que pour la peroxydase, subit un changement graduel avec l'élévation de la température. Pendant cette métamorphose, il se produit d'abord une substance qui n' a pas la faculté de dédoubler le peroxyde d'hydrogène ni d'avoir un effet peroxydant. Cependant, lorsqu'on élève la température, un corps nouveau se produit, qui est capable d'un effet peroxydant en présence du peroxyde d'hydrogène, mais qui ne peut décomposer ce même peroxyde. Cette matière thermostable est sans doute d'une individualité différente de celle du ferment thermolabile dont elle est issue«.

<sup>2)</sup> B. 49, 2311 [1916].

ob der Formaldehyd wie als echtes Peroxydasemodell, so auch als echtes Diastasemodell zu fungieren vermag.« Auch habe ich selbst in dieser Arbeit die Möglichkeit einer Stärke-Formaldehyd-Verbindung in Erwägung gezogen und inbezug auf die Schlußfolgerungen jenes Maß von Vorsicht walten lassen, die meine Zweifel an der Eindeutigkeit mancher Versuchsergebnisse geboten erscheinen ließen.

Leider läßt die im ersten Heft des Jahrgangs 1917 dieser Berichte (S. 198) publizierte Arbeit des Hrn. W. v. Kaufmann eine solche Vorsicht in keiner Weise erkennen. Gestützt auf seine »zufälligen Erfahrungen auf diesem Gebiete« zieht er Schlüsse, die ich als eine einseitige und experimentell unzulänglich gestützte Deutung eben jener »zufälligen Erfahrungen« zurückweisen muß.

Was zunächst die Beeinflussung der Jodstärke-Reaktion durch den Formaldehyd betrifft, so ist es selbstverständlich, daß ich diese unter den verschiedensten Bedingungen habe untersuchen lassen, und daß von unserer Seite die Abhängigkeit festgestellt worden ist von der Formaldehyd- und Stärke-Konzentration (2% — 1‰), von der Temperatur (−2 bis 100°), sowie die Beeinflussung durch den Zeitfaktor (1 Minute bis 3 Monate), durch Dialyse, durch die Reaktion des Mediums und durch jodbindende Substanzen, zu denen nach eigenen wie nach fremden Beobachtungen<sup>1)</sup> auch der Formaldehyd gerechnet worden ist.

Die Untersuchung der Formaldehyd-Stärke-Gemische erfolgte bei allen Versuchen außer den ersten in der erwähnten Vorpublikation angegebenen (die sich streng an die Wohlgemuthsche Methode der Serum-Diastase-Bestimmung mit 1-prozentiger Stärkelösung<sup>2)</sup> und Zusatz derselben Menge Jodlösung zu allen Gläschen anschlossen) nach der Methode<sup>3)</sup>, die zur Ermittlung einer eventuellen diastatischen Wirkung im Magensaft benutzt wird. Diese Methode basiert bekanntlich auf dem ungleichen Bindungsvermögen, das die Achroodextrine und Stärke gegenüber Jod besitzen. Eine blaue Jodreaktion unangegriffener Stärke tritt demgemäß erst nach der Absättigung dieser Dextrine mit Jod zutage, und die Jodmenge, die bis zum Eintritt der reinen Blaufärbung verbraucht wird, ist ein direktes Maß für den Achroodextrin-Gehalt der zu untersuchenden Flüssigkeit. Nach dieser Methode hat mein Mitarbeiter Hr. Maggi nun eine mit steigender Temperatur

<sup>1)</sup> So hat mich Hr. Prof. Weinland (Tübingen) durch gütige briefliche Mitteilung auf diesen Punkt noch besonders aufmerksam gemacht, wofür ich ihm an dieser Stelle meinen besten Dank ausspreche.

<sup>2)</sup> Das Mißverhältnis zwischen Formaldehyd- und Stärke-Konzentration bei jenen ersten Versuchen ist daher eine Folge der übernommenen Methode.

<sup>3)</sup> Siehe Sahli, Lehrb. d. klin. Untersuchungsmethoden. Verlag Deuticke, Leipzig und Wien 1913, 6. Aufl., I. Bd., S. 588/589.

und wachsender Konzentration des Formaldehyds zunehmende Menge der bis zum Eintritt der blauen Jodstärke-Reaktion verbrauchten Jodquantität konstatiert, wobei bei sofortiger Beobachtung hier ebenso wenig irgendein Unterschied zwischen dem entsprechenden Diastaseversuch wie bei der Serienversuchsanordnung nach Wohlgemuth konstatiert werden kann. Es treten in beiden Fällen — was nach der Gruppenbindungstheorie v. Kaufmanns völlig unerklärlich wäre — durch den bloßen Zusatz von Jod in steigenden Mengen sukzessive die typischen Farben der Stärkespaltgemische zutage, d. h. zunächst in den extremen Fällen die reine Jodfarbe der Achroodextrine, hierauf (wohl durch die Anteilnahme von Erythroextrinen an der Konkurrenz um das vorhandene Jod), Nüancen, die sich vom Gelb zu einem immer dunkler werdenden Braun vertiefen und danach allmählich in Rot übergehen. Dem Rubinrot der reinen Erythroextrinstufe folgt ein Purpurrot, in welches schon das Violett des Amylodextrins bezw. das Blau der Jodstärke-Reaktion hineinspielt. Dann kommen sukzessive die rotviolettten bis blauviolettten Mischnüancen und endlich das reine Blau der Jodstärke-Reaktion, das bei noch größeren Jodzusätzen häufig einen Rückgang zu den letzt durchlaufenen Nüancen zeigen kann (siehe auch im Folgenden). Ein Unterschied zwischen dem Diastase Stärke- und dem Formaldehyd-Stärke-Versuch tritt erst beim Stehen der Gemische auf, hier sowohl wie bei der Serienversuchsanordnung nach Wohlgemuth. Die Formaldehyd-Stärke-Gemische zeigen hierbei, wie wir regelmäßig konstatieren konnten, ohne irgend welchen Zusatz die Erscheinung der Nachbläuung, eine Erscheinung, die trotz ihrer Auffälligkeit von Hrn. v. Kaufmann nicht wahrgenommen worden ist. Die Nachbläuung äußert sich in der Weise, daß ein Gemisch von Formaldehyd und Stärke, welches mit so viel Jod versetzt worden ist, daß es sofort nach dem Zusatz die Erythroextrinfarbe erkennen läßt, allmählich von selbst beim bloßen Stehen die Aufeinanderfolge der Farbentönungen gibt, die man bei Jodzusatz rasch erzielen kann, und die in der blauen Jodstärke-Reaktion meist ihr Ende findet. Für diese Erscheinung ist die wahrscheinlichste Deutung die, daß eine Nachlieferung von Jod aus jodbindenden Substanzen im Reaktionsgemisch stattfindet. Eine solche kann zweierlei Ursachen besitzen: Sie kann durch einen weiteren über die Dextrine hinausgehenden Abbau und hierdurch aus solchen jodbindenden Spaltprodukten (Achroodextrine) in Freiheit gesetztes Jod veranlaßt sein, oder sie kann dadurch bedingt werden, daß der Formaldehyd nach Zusatz von Jodlösung zum Stärke-Formaldehyd-Gemisch mit den Dextrinen in Konkurrenz um das zur Verfügung stehende Jod tritt, derzufolge nur ein Teil des Jods an die Dextrine,

ein Teil dagegen an den Formaldehyd tritt. Die gebildeten Jod-Formaldehyd-Reaktionsprodukte sind nun aber wohl alle, wie dies für das von uns bisweilen im Reaktionsgemisch festgestellte Jodoform schon lange bekannt ist, imstande, allmählich wieder Jod abzugeben, und sie wirken dann also in demselben Sinne, nur langsamer als freies Jod. Die Frage der Jodbindung durch Formaldehyd und die Bedeutung dieses Faktors für die Formaldehyd-Stärke-Reaktion habe ich deshalb ebenfalls durch Hrn. Maggi untersuchen lassen. So hat er bei verschiedenen Temperaturen und verschieden lange Formaldehyd und Jod allein auf einander einwirken lassen, bevor die Stärke zugesetzt wurde, auch wurde nicht unterlassen, die Jodzerstörung für sich allein in den Kreis der Untersuchung zu ziehen. Ich habe also keineswegs, wie Hr. W. v. Kaufmann glaubt, andersartige Reaktionsmöglichkeiten des Formaldehyds übersehen. Was die Ergebnisse der zahlreichen und unter variierendsten Bedingungen angestellten Bindungsversuche zwischen Formaldehyd und Jod betrifft, so zeigte sich gleich nach Zusatz der Stärke lediglich eine durch die Jodbindung bewirkte Abschwächung der Blaufärbung, niemals aber das Auftreten der typischen Spaltungsfarben, diese zeigten sich erst nach einigem Stehen in der bekannten Reihenfolge und dürften mit der Annahme eines Abbaus der Jodstärke durch den Formaldehyd ihre wahrscheinlichste Deutung finden, wenngleich die Reaktion mit der Jodstärke einen langsameren Verlauf nimmt, als wenn das Jod erst nach vollendeter Reaktion hinzugefügt wird. Soweit die Deutung der Nachbläuung, wie sie bei den Versuchen von Hrn. Maggi und mir zutage getreten ist.

Bei der von v. Kaufmann beobachteten Nachbläuung, die er als Beweis einer Rückbildung von Stärke aus einer Formaldehyd-Stärke-Verbindung auffaßt, dürfte dagegen die andere vorhin genannte Ursache für diese Erscheinung in Betracht kommen, sind doch die Bedingungen, unter denen v. Kaufmann den Formaldehyd eliminiert und dabei diese »Rückbildung« von Stärke feststellt, derartig rigorose, daß die das Jod in lockerer Bindung enthaltenden Achroodextrine wohl kaum einer weiteren Spaltung entgehen dürften. Das hierbei freiwerdende Jod würde dann hinreichen, um die Bläuung der unveränderten Stärke zu bewirken, da die konkurrierenden Achroodextrine nunmehr in Wegfall kommen. Wenn nämlich v. Kaufmann von verdünnten Säuren spricht, welche aus der lockeren Stärke-Formalinverbindung die Stärke wieder in Freiheit setzen, so versteht er darunter z. B. eine hälftige Mischung mit 25-prozentiger Salzsäure, d. h. mit konzentrierter reiner Salzsäure. Und wenn er von gelinder Wärme, in der diese Säuren einwirken, spricht, so bedeutet das nach dem einen der beiden von ihm angeführten Protokolle Siedetempera-

tur. Das ist allerdings mehr, als ein Achroodextrin ertragen kann. Doch Hr. v. Kaufmann hat es nicht für nötig befunden, sich über die Wirkung der 25-prozentigen Salzsäure auf die Dextrine zu orientieren. Wenn in dem einen der beiden von ihm publizierten Versuche das Stärke-Formaldehyd-Gemisch, das den größten Formaldehydgehalt aufweist<sup>1)</sup>, mit 25-prozentiger Salzsäure gekocht werden muß, um wiederum eine Blaufärbung zu geben, so gründet vielmehr Hr. v. Kaufmann darauf eine Theorie über das Gleichgewicht der Formalin-Stärke Verbindung, für deren Existenz er auch nicht einen einzigen tatsächlichen Beweis erbringt. Was aber aus den erwähnten Dextrinen wird, welchen Einfluß ihr Abbau, der beim Kochen mit 25-prozentiger Salzsäure und unter viel weniger eingreifenden Bedingungen<sup>2)</sup> stattfinden muß, für die Jodstärke-Reaktion besitzt, das kümmert ihn nicht.

Hr. v. Kaufmann macht sich auch nichts daraus, zu den ungefärbten Gläsern »konzentriertes Ammoniak« zu setzen und obendrein noch abzudampfen. Auch die Frage legt er sich nicht vor, ob bei einer solchen Behandlung nicht mehr als eine der möglichen Reaktionen in Formaldehyd-Stärke-Ammoniak-Gemischen neben der Hexamethylen-tetramin-Bildung vor sich gehen könnte, und ob nicht eine solche — sagen wir — Nebenreaktion, alle seine Konklusionen über den Haufen wirft. Nicht nur um einen Achroodextrin-Abbau kann es sich handeln. Es genügt, daß diese Dextrine durch Ammoniak mit Beschlag belegt werden, um der Jodstärke-Reaktion zum Durchbruch zu verhelfen.

Was unsere eigenen Beobachtungen über die Einwirkung des Ammoniaks (in sehr geringem Überschuß über die zur Bildung des

---

<sup>1)</sup> Daß die weniger Formaldehyd enthaltenden Gläser diese Bläuung unter nicht so eingreifenden Bedingungen — doch immer noch mit konzentrierter Salzsäure — zeigen, ist selbstverständlich, gerade wenn es sich um eine Spaltung handelt, denn die mit weniger Formaldehyd erhaltenen Spaltgemische sind reicher an höheren Dextrinen und ärmer an Achroodextrinen, und es ist demgemäß weit weniger Säure notwendig, um diese letzteren jodbindenden Substanzen zu zerstören, und es genügen geringere Mengen des durch diese Säure in Freiheit gesetzten Jods, um die wenigen restierenden Dextrine dieser Art abzusättigen und die blaue Jodstärke-Reaktion zutage zu fördern.

<sup>2)</sup> Wie empfindlich die Dextrine gegenüber Säuren sind, zeigt der Umstand, daß, wie Schulze (Fr. 24, 261 [1885]) gezeigt hat, Dextrin schon durch Essigsäure eine sukzessive Umwandlung erfährt. Über die außerordentlich starke Wirkung von Mineralsäuren (noch dazu in der Siedehitze) ein Wort zu verlieren, muß an dieser Stelle völlig überflüssig erscheinen.

Hexamethylentetramins erforderliche Menge) auf ein Stärke-Formaldehyd-Gemisch<sup>1)</sup> betrifft, so waren dieselben gleicher Art wie diejenigen an künstlichen Gemischen von Stärke und einem aus Erythrodextrin bestehenden Handelsdextrin-Präparat von Kahlbaum. Wie bei diesen letzteren die Dextrinjodfarbe, zum Unterschied von den Achroodextrin enthaltenden Stärkegemischen erst bei größerem Jodzusatz auftritt, während bei geringeren Jodzusätzen zunächst nur die Farbe der blauen Jodstärke festzustellen ist, so war dies auch bei dem mit Ammoniak abgesättigten Formaldehyd-Stärke-Gemisch der Fall, d. h. mit steigenden Jodzusätzen ging die Farbe von blau in violett und danach in rot, bei mehr Ammoniak sogar in braungelb über, wobei anfänglich, um die Lösung durchsichtig zu halten, Wasser zugesetzt werden mußte, doch änderte der Wasserezusatz in reinen Stärkekontrollen die Färbung nicht. Die Analogie mit einem künstlichen Stärke-Dextrin-Gemisch ist also auch hier bei diesem inversen Ausfall der Jodreaktion so vollkommen, daß sie nur als eine Stütze für die Annahme einer Spaltung betrachtet werden kann. Auch bei den Versuchen von Hrn. Maggi über die Jodreaktion von Stärke-Formaldehyd-Gemischen stellte sich in einem Fall bei der Dialyse dasselbe Bild heraus, und es dürften damit wohl ferner die häufig von unserer Seite beobachteten Maxima in der erzielten Blaufärbung bei steigenden Jodzusätzen zu Formaldehyd-Stärke-Gemischen und der danach eintretende Rückgang der Nuance gegen das rote Farbgebiet auf ein und dieselbe Stufe zu setzen sein. Als eine Ursache des scheinbar gegensätzlichen Verhaltens von Achroo- und Erythrodextrin-Gemischen mit Stärke dürfte man vielleicht den Umstand aussprechen, daß infolge einer wesentlich geringeren Empfindlichkeit der Jod-Erythrodextrin-Reaktion diese zunächst nur solange deutlich zum Vorschein kommt, als die Gegenwart von Achroodextrinen den Eintritt der Jod-Stärke-Reaktion hinausschiebt. Mit dem Einsetzen der Blaufärbung würde jedoch die Jod-Erythrodextrin-Reaktion trotz ihrer Vertiefung verdeckt und käme erst dann wieder zum Vorschein, wenn nach Absättigung der Stärke mit Jod und Verdünnen mit Wasser die Blaufärbung hinreichend herabgesetzt ist.

Doch Hr. v. Kaufmann hat auch ohne Säuren und basische Substanzen durch einfaches mehrmaliges Abdampfen der formaldehydhaltigen Stärkegemische mit frischem Wasser und schließlichem Zusatz von Alkohol die Blaufärbung zurückerhalten. Daß aber bei Siedetemperatur der Formaldehyd eine völlige Zerstörung der Dextrine

<sup>1)</sup> Dasselbe war vor dem Ammoniakzusatz ungefähr  $\frac{1}{2}$  Stunde und nach dem Ammoniakzusatz 16 Stunden sich selbst überlassen worden.

bewirkt haben könnte, bedenkt er nicht. Abgesehen von der von mir in Betracht gezogenen Wirkung des Formaldehyds selbst, abgesehen davon, daß dieses Reagens allein durch die in ihm enthaltene bei gelinderer Behandlung gegenüber Stärke und Dextrin indifferente Ameisensäure, die Dextrine weiter abbauen und durch das hierdurch aus der Achroodextrin-Jodverbindung in Freiheit gesetzte Jod die restierende, schwerer angreifbare Stärke bläuen könnte, kommt vor allem in diesem Fall die Nachbläuerung durch die Formaldehyd-Jodverbindung wie bei unseren Versuchen in Betracht. Auch könnten die Dextrine schon durch den Zusatz des dextrinfällenden Alkohols eliminiert worden sein.

Die »experimentellen Beweise« des Hrn. v. Kaufmann stehen daher auf der ganzen Linie in schroffem Gegensatz zu der Selbstverständlichkeit, mit der sie von diesem Autor als über jeden Zweifel erhaben hingestellt und in völlig einseitiger Weise zur Kritik meiner Arbeit benutzt worden sind. Mit dem Hinweis auf die im übrigen auf der Hand liegenden Fehlerquellen seiner Arbeit könnte ich daher diesen Angriff als erledigt betrachten. Um jedoch meine absolute Unvoreingenommenheit in Bezug auf die Frage, ob die Wirkung des Formaldehyds auf Stärke als eine Spaltung oder als eine Bindung zu betrachten sei, darzutun, will ich Hrn. v. Kaufmann aus den umfangreichen Versuchen von Hrn. Maggi über diesen Gegenstand dasjenige angeben, was ihm vielleicht für künftige Angriffe auf die in Diskussion stehende Theorie dienlich sein könnte. Es betrifft die Versuche über die Dialyse der Formaldehyd-Stärke-Gemische. Durch Dialyse gelingt es, den Formaldehyd aus dem innern Gefäß des Dialysators ohne jeden chemischen Eingriff zu entfernen, und in dem Maß wie er eliminiert wird, nähert sich die Jodreaktion im innern Gefäß derjenigen der Jodstärke, ohne sie jedoch völlig zu erreichen. Von unserer Seite ist dieser Befund so erklärt worden, daß mit dem ebenfalls Jod verbrauchenden Formaldehyd auch eben jene niedrigen Dextrine (Achroodextrine) die zum Jod größere Verwandtschaft besitzen, als die Stärke, durch die Dialysatormembran hindurchwandern, was zur Folge hat, daß nunmehr schon bei einem viel geringeren Jodzusatz die Bläuerung der Stärke eintritt. Doch wäre es immerhin möglich, daß Vorstellungen von der Art, wie sie Hr. v. Kaufmann entwickelt hat, hier zur Erklärung herangezogen werden könnten. Doch muß dem gegenüber wiederum der Einwand erhoben werden: wenn eine chemische Verbindung zwischen Formaldehyd und Stärke vorläge, so wäre eine Trennung derselben in ihre Komponenten durch einfache Dialyse nur dann möglich, wenn es sich um eine partiell dissoziierte Verbindung handelte. Dann ist aber nicht ersichtlich, warum die

durch ihre große Empfindlichkeit ausgezeichnete Jodstärke-Reaktion in einem solchen freie Stärke enthaltenden Reaktionsgemisch ausbleiben sollte. Auch blieben die wenigen Fälle völlig ungeklärt, in denen Hr. Maggi auch im innern Gefäß des Dialysators nur eine im Höchsfalle mit violetter Färbung mit Jod reagierende Lösung vor sich hatte, eine Beobachtung, die ich als eine vollständige Dextrinisierung der Stärke gedeutet habe. Eher ist es daher eine Bindung zwischen Jod und Formaldehyd, die hier mit in Frage kommt, und mit ihr wie mit dem größern Gehalt an niedrigem Dextrin ist denn auch von unserer Seite der Umstand in Zusammenhang gebracht worden, daß Proben aus dem äußeren Gefäß des Dialysators unvergleichlich viel mehr Jod verbrauchen, als gleiche Mengen aus dem inneren Gefäß, um z. B. die Farbe der Erythrodestinstufe zu erreichen, über welche hinaus das Dialysat im allgemeinen nicht gelangt.

Natürlich haben hier noch andere Methoden ergänzend einzugreifen. Eine, die an erster Stelle in Betracht zu ziehen ist, ist die Moore-Hellersche Reaktion. Das Versuchsmaterial von Hrn. Maggi bezieht sich sowohl auf Stärke- wie auf Glykogen- und Dextrin-Formaldehyd-Gemische und hat zu den aus zahlreichen Protokollen<sup>1)</sup> sich ergebenden Resultaten geführt, die kurz zusammengefaßt, folgendermaßen lauten:

1. Stärke-Glykogen- und Dextrin-Formaldehyd-Gemische bräunen sich mit Alkalien nach mehr oder weniger fortgeschrittener Eliminierung des Formaldehyds durch Dialyse, durch Eiweißzusatz, durch Oxydation mit Jod in basischer Lösung<sup>2)</sup> oder mit einem die Alkalibindung durch Formaldehyd überkompensierenden Basenüberschuß im kochenden Wasserbad (bei weitgehender Eliminierung des Formaldehyds häufig auch schon unterhalb dieser Temperatur) intensiver als formaldehydfreie lösliche Stärke und bei den gewöhnlichen Stärkesorten des Handels und Glykogen unterbleibt eine Gelbfärbung der Kontrollen<sup>3)</sup> vollends. Um Formose, welche sich durch Formaldehyd und Alkali allein in den entsprechenden Kontrollen beim anhaltenden Kochen bilden kann, handelt es sich aller Wahrscheinlichkeit nach nicht, denn diese Kontrollen unterscheiden sich von einem Formaldehyd-Polysaccharid-Gemisch dadurch, daß die Bräunung bei ihnen, wenn überhaupt, bedeutend später auftritt.

2. In allen den genannten Polysaccharid-Formaldehyd-Gemischen tritt nach Zusatz von konzentrierter Schwefelsäure zu den mit Alkali

<sup>1)</sup> Von Hrn. Maggi an anderer Stelle publiziert.

<sup>2)</sup> Um den Zucker nicht vorzeitig zu zerstören, wurde nicht Kalilauge, sondern Kalkhydrat verwendet.

<sup>3)</sup> Nur Weizenstärke ergab eine ganz schwache Gelbfärbung.



behandelten Proben der für Zucker charakteristische Caramelgeruch auf, während dieser bei den gleich behandelten Kontrollen ohne Formaldehydzusatz nicht oder nur spurenweise wahrnehmbar ist.

Zu analogen Resultaten führte auch die für Zucker als sehr charakteristisch angesehene Rubnersche Probe. Auch hier machte sich eine hemmende Wirkung des Formaldehyds geltend und zwar in noch viel ausgeprägterem Grade als bei der Moore-Hellerschen Probe; denn es trat hier erst nach stundenlangem Kochen der frisch angesetzten Stärke- oder Dextrin-Formaldehyd-Gemische eine starke Farbenreaktion zutage, während die Kontrollen mit Formaldehyd allein und mit Stärke oder Dextrin allein nur eine geringe oder (beim Formaldehyd) gar keine Verfärbung ergaben. Wie bei den Gemischen, die mit Formaldehyd und Glucose oder Maltose angesetzt worden waren, und welche dieselbe Hemmungswirkung im Eintritt der charakteristischen Zuckerreaktion erkennen ließen, war die erhaltene Färbung infolge des anhaltenden Kochens stark nach dem Bräunlichen verschoben.

Auch die Reduktionsproben ergaben ein positives Resultat, soweit die Hemmungswirkung durch den Formaldehyd nicht eine vollständige war, wie bei der Methylenblau- und Pikrinsäure-Reduktion —, wo auch die künstlichen Zucker-Formaldehyd-Gemische völlig versagten —, und soweit nicht die Eigenreduktionsfähigkeit des Formaldehyds gegenüber dem untersuchten Reagens eine große Störungsquelle darstellte (Nylandersche Reaktion). Wie die Versuche von Hrn. Maggi zeigen, ist das Verhalten der Formaldehyd-Stärke-Gemische im Vergleich zum Verhalten der Komponenten bei den Fehlingschen und Pavyschen Proben eine weitere Stütze dafür, daß sich Zucker oder zum mindesten eine reduzierende Substanz aus Stärke gebildet hat. Auch hier sind künstliche Gemische von Zucker (Maltose und Glucose) und Formaldehyd oder Stärke, Diastase und Formaldehyd zum Vergleich herangezogen worden, und die auch hier beobachteten Hemmungswirkungen, die nicht nur auf Alkalibindung, sondern auf eine Wechselwirkung der beiden Reduktoren zurückzuführen sind, dürften eine ausreichende Erklärung für die beobachteten Anomalien bilden.

Da Hr. v. Kaufmann angibt, daß er abweichende Resultate erhalten habe, so dürfte die Divergenz vielleicht in einer Nichtberücksichtigung der hemmenden Wirkung liegen, welche Formaldehyd durch die schon erwähnte Alkalibindung<sup>1)</sup> oder durch die bei einige Zeit

<sup>1)</sup> Diese Alkalibindung geht so weit, daß man auch bei ursprünglich großem Alkalizusatz in den formaldehydreichen Gemischen beim Erhitzen eine saure Reaktion erhält, die dann natürlich das Eintreten der Moore-Hellerschen Reaktion unmöglich macht, doch kann man durch forcierte Alkalizusätze dieselbe schließlich zum Vorschein bringen.

gestandenen Gemischen besonders ausgeprägte Wechselwirkung mit der aus Stärke entstehenden reduzierenden Substanz veranlaßt, oder in einem Stärkepräparat von völlig abweichenden Eigenschaften, vielleicht gar in einem solchen, das mit Formaldehyd in die lösliche Form übergeführt worden ist.

Durch die mir bisher nicht bekannte Angabe, daß der Formaldehyd diese lösende Wirkung auf die Stärke besitzt — eine Angabe, die Hr. v. Kaufmann einer Arbeit von Syniewski<sup>1)</sup> entnommen hat —, hat Hr. v. Kaufmann für die Theorie des diastatischen Stärkeabbaus durch Formaldehyd im übrigen selbst eine sehr wertvolle Stütze angeführt. Denn es stehen ja den Methoden, die auf der Änderung der Jodstärke-Reaktion und dem Nachweis gebildeter Spaltprodukte beruhen, jene gegenüber, welche den diastatischen Abbau nur an Hand seiner ersten Phase, der Stärkeverflüssigung, ermitteln. Möglich ist es, daß die ersten Spaltungsphasen: Stärkeverflüssigung und Dextrinbildung, bei der Wirkung des Formaldehyds zunächst allein in Betracht kommen, und daß sich erst nach Änderung der Reaktion des Mediums, so bei der Moore-Hellerschen Reaktion, auch die saccharifizierende Wirkung geltend machen kann, die sich bei dem amphoteren Ferment aus eigenen Kräften vollzieht. Schon in meiner ersten Arbeit hatte ich auf Grund der Verbindung vom Schmelzpunkt ca. 180°, die sich aus den Formaldehyd-Stärke- und -Glykogen-Gemischen gewinnen ließ, geschlossen, daß es sich hier um ein Dextrinosazon handeln könne. Leider wirkt der Formaldehyd hier so störend, daß es erst, nachdem seine Eliminierung gelungen ist, möglich sein wird, größere Mengen jener Substanz herzustellen und zu identifizieren. Bisher wurden von Hrn. Maggi aus den Formaldehyd Stärke-Gemischen die in der a. a. O. publizierten Arbeit von ihm angeführten Krystallformen isoliert, deren höchstschmelzende wir vorläufig als Dextrinosazon oder Phenylhydrazon angesprochen haben, während in den niedriger schmelzenden das Formaldehyd-Phenylhydrazon in seinen schon in meiner früheren Arbeit erwähnten ungleich hoch schmelzenden Modifikationen vorliegen dürfte. Ich kann hier nichts anderes tun, als auf diese einfachen Tatsachen hinzuweisen, an denen selbstverständlich abweichende Befunde des Hrn. v. Kaufmann nichts zu ändern vermögen, da ich gerne bereit bin, jederzeit jene Krystalle zur weiteren Prüfung vorzulegen, oder auch die von Hrn. v. Kaufmann bestrittenen Befunde in breitester Öffentlichkeit experimentell zu demonstrieren.

Mit einem nur bis zu Dextrinen gehenden Abbau könnte man ferner die sehr geringe polarimetrische Veränderung der Stärke-Form-

<sup>1)</sup> Syniewski, A. 324, 201 [1902].

aldehyd-Gemische, die auch uns aufgefallen ist, in Beziehung bringen. Im übrigen ist immerhin eine schwache Abnahme der Rechtsdrehung zu konstatieren, wie dies aus den an anderer Stelle zu veröffentlichen Versuchen von Hrn. Maggi hervorgeht. Mit der Annahme, daß die ohne Alkalisierung des Mediums erhaltenen Spaltprodukte Dextrin und nicht Zucker sind, würde sich auch der von Hrn. v. Kaufmann angeführte negativ verlaufende Gärversuch mit untergäriger oder obergäriger Hefe erklären. Will man hier zu einem nicht von vornherein negativen Ergebnis gelangen, so kann man natürlich nur eine Dextrin angreifende Hefe (*Saccharomyces Pombe*) verwenden, ein Umstand, den Hr. v. Kaufmann gar nicht in Betracht gezogen hat. Doch auch hier müßte ein negatives Resultat mit größter Vorsicht aufgenommen werden, da es bekanntlich nur die allerniedrigsten Dextrine sind, wie das Honigdextrin, die diese Hefe angreift.

Fassen wir zusammen, so ergeben die »zufälligen Erfahrungen« des Hrn. v. Kaufmann auch nicht einen einzigen stichhaltigen Grund gegen die Annahme, daß der Formaldehyd zwar nicht stark ausgeprägte, aber immerhin wahrnehmbare diastatische Wirkungen besitzt. Die Versuchsbedingungen, unter denen Hr. v. Kaufmann arbeitet, sind so beschaffen, daß sie die Annahme rechtfertigen, daß jodbindende Dextrine weiter gespalten worden sind, und daß die Nachbläuung der widerstandsfähigeren Stärke durch das hierbei in Freiheit gesetzte Jod veranlaßt wird. Diese experimentellen Ergebnisse stehen also mit der Spaltungstheorie in vollem Einklang. Was dagegen die Bindungstheorie des Hrn. v. Kaufmann betrifft, so muß hervorgehoben werden, daß wir keine Verbindung der Stärke kennen, die sich bei Jodzusatz durch eine der typischen Jod-Dextrinfarben auszeichnete und bei der sukzessive durch bloßen Jodzusatz eine ganze Aufeinanderfolge verschiedener neuer gefärbter Verbindungen durch die Aufhebung der von Hrn. v. Kaufmann behaupteten Bindungen bestimmter Gruppen des Stärkemoleküls durch den Formaldehyd erzeugt werden könnten. Die Annahme von Hrn. v. Kaufmann, daß es sich beim Zustandekommen der erwähnten Färbungen lediglich um das Vorhandensein von »gewissen für die Jodfärbung erforderlichen Gruppen handle«, und darum, ob dieselben noch frei oder durch Formaldehyd besetzt seien, steht also in der Luft. Wir wissen ja auch noch nicht einmal, ob für die Färbung chemische Faktoren oder physikalische maßgebend sind, und gerade hier dürfte es besonders wahrscheinlich sein, den Färbevorgang als einen physikalischen und das Kohlehydrat gleichsam als Lösungsmittel für das Jod (molekulare Aufteilungszustände) zu betrachten. Zudem ist die Annahme einer Formaldehyd-Stärke-Verbindung im allgemeinen und die Gruppentheorie

v. Kaufmanns im besonderen durchaus nicht leicht mit demjenigen in Zusammenhang zu bringen, was wir bisher über den Aufbau des Stärkemoleküls wissen. Der einzige »Beweis«, den Hr. v. Kaufmann für seine Bindungstheorie anzuführen vermag, ist seine willkürliche und wie gesagt, nicht stichhaltige Auslegung von beiläufigen Versuchen, die ich im vorigen im Sinne der Spaltungstheorie gedeutet habe. Andererseits wissen wir mit Bestimmtheit, daß durch eine Spaltung der Stärke eben jener Wechsel der Farbennüancen zu beobachten ist, wie er der Aufeinanderfolge der Jod-Dextrin-Reaktionen entspricht, und wo immer sich bei der Einwirkung eines Reagenzes auf Stärke eine solche Veränderung vollzieht, wird man mit Fug und Recht an das Auftreten von Dextrinen denken dürfen.

Wie ich in meiner Vorpublikation deutlich genug gesagt habe, hängt meine Entscheidung, ob der Formaldehyd diastatische Wirkungen besitzt oder nicht, von den Ergebnissen der Versuche, mit denen Hr. Maggi noch beschäftigt ist, ab. Bis diese abgeschlossen sind, habe ich noch keinen Grund, mich schon jetzt in bestimmterer Weise zu äußern, als dies in der früheren Arbeit geschehen ist. Um eine von Hrn. v. Kaufmann mir irrigerweise untergeschobene Behauptung einer diastatischen Hydrolyse handelt es sich auch im gegenwärtigen Moment noch nicht. Alles, was ich zur Stunde sagen kann und will, ist, daß die überwiegende Mehrzahl unserer Versuche für eine Spaltung spricht, und nicht ein einziger dagegen, wie dies aus der Zusammenstellung des bisherigen Materials in der an anderer Stelle zu veröffentlichenden Arbeit von Hrn. Maggi hervorgeht. Auch die in meiner Vorpublikation erwähnte, gelegentlich beobachtete Volumenabnahme von Formaldehyd-Stärke-Gemischen entspricht dem Verhalten bei der Spaltung durch Diastase<sup>1)</sup> und die anfänglich der Annahme einer Spaltung entgegenstehende Beobachtung einer Viscositätszunahme im Verlauf des Versuches hat sich entsprechend der in der Vorpublikation gegebenen Erklärung als eine Überkompensation herausgestellt, verursacht durch eine Volumenabnahme aus doppeltem Grunde, über die Hr. Maggi in seiner Arbeit des Näheren berichten wird. Ein Vergleich der Anfangswerte der Viscositätsbestimmungen an Formaldehyd-Stärke-Gemischen und ihren Komponenten ergibt in allen Fällen entsprechend der Spaltungstheorie eine unter dem arithmetischen Mittelwert der Komponenten liegende Viscosität des Gemisches<sup>2)</sup>.

Daß mir Hr. v. Kaufmann ein neues, sehr wertvolles Beweisstück für die Stärkespaltung durch seinen Hinweis auf die Arbeit

<sup>1)</sup> Siehe Galeotti, Ph. Ch. 76, 105 [1911].

<sup>2)</sup> Siehe die Arbeit von Hrn. Maggi, Abb. III.

Syniewskis bezw. die Überführung der Stärke in lösliche Stärke mittels Formaldehyds in die Hand gegeben und Hrn. Maggi der Aufgabe enthebt, die Modelleigenschaften des Formaldehyds in Bezug auf die Stärke verflüssigenden Wirkungen der Diastase durch ausführlichere Versuche, als die von ihm demnächst publizierten, zu belegen, hat mich außerordentlich gefreut, und ich möchte nicht verfehlen, Hrn. v. Kaufmann hierfür meinen aufrichtigen Dank auszusprechen.

Die lösende Wirkung des Formaldehyds läßt sich auch sehr schön mikroskopisch am Stärkekorn verfolgen und mit der echten diastatischen Wirkung vergleichen. Die Analogie ist auch hier eine vollkommene. Das Auftreten von Rissen, Sprüngen, Brüchen, Arrosionen, sichtbar werdender Schichtung (am Kartoffelstärkekorn), Zerfall und die verschiedenen Stadien tiefer greifender Quellungs- und Lösungszustände geben bei den untersuchten Stärkesorten (lösliche Stärke Kahlbaum, natürliche Kartoffel-, Reis-, Weizen- und Arrow-Rootstärke) unter dem Einfluß von Diastase und Formaldehyd auf der ganzen Linie dieselbe Aufeinanderfolge von Veränderungen, und komplettiert man das äußere Aussehen durch die Jodreaktion, so erhält man wiederum bei der diastatischen und der Formaldehydwirkung dasselbe Bild, d. h. im allgemeinsten Fall: ein Mosaik von blauen, violetten, roten, braunen, gelben und fast farblosen Stärkekörnern je nach dem Grad der Dextrinisierung, den das einzelne Stärkekorn gerade erreicht hat. Der Zusammenhang zwischen Arrosion und dem Ausfall der Jodreaktion ist unverkennbar.

Man kann also die bisherigen Stützen für die Annahme, daß der Formaldehyd Modelleigenschaften der Diastase besitzt, folgendermaßen zusammenfassen:

1. Formaldehyd und Diastase greifen das Stärkekorn in derselben Weise an im äußeren Bild, wie im Verhalten gegenüber Jod, so daß neben unveränderter blauer Jodstärke alle Abstufungen der Dextrinfärbung zu erkennen sind.
2. Formaldehyd und Diastase wirken verflüssigend auf Stärke.
3. Die Formaldehyd in größeren Konzentrationen oder Diastase enthaltende Stärkelösung verhält sich wie ein Achroo-Erythro-dextrin-Stärke-Gemisch gegenüber Jod.
4. Durch Dialyse kann man die Reaktionsgemische in 2 Fraktionen teilen, die sich einerseits wie Lösungen von Dextrin allein, oder solche mit Zucker oder Formaldehyd verhalten (Dialysat) und andererseits wie Gemische von Stärke mit Erythrodextrin und Achroodextrin oder Erythrodextrin allein.

5. Durch Alkohol kann man nach den gebräuchlichen Methoden der Dextrinbestimmung bei der echten diastatischen und der Formaldehyd-Wirkung eine analoge Fällung in Stärke-Formaldehyd-Reaktionsgemischen erhalten, auch in solchen, die keine Stärke-Reaktion mehr zu geben vermögen. Der Verdunstungsrückstand des Filtrats ist stärkefrei.

6. Der Formaldehyd liefert analog der Diastase mit Stärke Gemische, bei denen die Anfangswerte der Viscositätsbestimmung unter dem arithmetischen Mittelwert der Viscositäten der Komponenten stehen.

7. Die Formaldehyd-Stärke-Gemische zeigen wie die Diastase-Stärke-Gemische eine Volumenverringerung, die größer ist, als die durch die Formaldehyd-Polymerisation allein bedingte Volumenabnahme.

8. Frisch hergestellte Formaldehyd-Stärke-Gemische besitzen einen tieferen Gefrierpunkt als die Komponenten.

9. Stärke-, Glykogen- und Dextrin-Gemische mit Formaldehyd geben die Moore-Hellersche Reaktion, wenn für Beseitigung der namentlich durch Alkalibindung verursachten Hemmungswirkung des Formaldehyds Sorge getragen wird.

10. Die unter 9 genannten Reaktionsgemische geben im Gegensatz zu den formaldehydfreien Kontrollen, die farblos oder schwach gelb gefärbt sind, den bekannten Caramelgeruch beim Versetzen mit konzentrierter Schwefelsäure.

11. Die Rubnersche Reaktion fällt an Formaldehyd-Stärke und Formaldehyd-Dextrin-Lösungen<sup>1)</sup> im Gegensatz zu den Kontrollen positiv aus, doch muß wie bei künstlichen Maltose- oder Glucose-Formaldehyd-Gemischen wegen der Hemmungswirkung des Formaldehyds stundenlang gekocht werden, wodurch die Nüancen eine Verschiebung ins bräunliche erfahren.

12. Mit Fehlingscher und Pavyscher Lösung läßt sich an Formaldehyd-Stärke-Gemischen ein stärkeres Reduktionsvermögen feststellen als bei Formaldehyd-Wasser-Gemischen von gleicher Formaldehyd-Konzentration (auch bei dextrinfreien Stärkepräparaten).

Institut für physik.-chemische Biologie der Universität Bern.

---

<sup>1)</sup> Glykogen wurde noch nicht untersucht.