

erhalten: Das eine war ein braunes, krystallinisches Pulver, das sich bei 185—195° zersetzte. Es löste sich in Alkohol, Alkali, noch besser in alkohol. Alkali. Die Lösungen sind zunächst rot, werden schnell violett und nach einiger Zeit rein blau. Diese Farbänderung vollzieht sich schneller beim Erhitzen unter Rückbildung der Dioxyverbindung.

5.426 mg Sbst.: 9.822 mg CO<sub>2</sub>, 1.649 mg H<sub>2</sub>O. — 1.988 mg Sbst.: 0.360 ccm N (16°, 741 mm). — 2.811 mg Sbst.: 0.493 ccm N (16°, 743 mm). — 4.516 mg Sbst.: 0.782 ccm N (14°, 752 mm).

C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>O<sub>7</sub>N<sub>6</sub> (Monoacetylverbindung).

Ber. C 49.27, H 3.38, N 20.28. Gef. C 49.37, H 3.40, N 20.85, 20.25, 20.38.

Das andere Produkt ist ein hellgelbes, krystallinisches Pulver, in Alkohol leicht löslich, Zers.-Pkt. 244°; in Alkalien unter Rotfärbung leicht löslich; beim Erhitzen geht die Farbe in Grün über. Die Lösungen in alkohol. Alkalien färben sich bei schwachem Erwärmen rotviolett, dann rein blau (Rückbildung der Dioxyverbindung).

11.198 mg Sbst.: 20.543 mg CO<sub>2</sub>, 6.424 mg H<sub>2</sub>O. — 4.600 mg Sbst.: 0.730 ccm N (17°, 752 mm). — 5.205 mg Sbst.: 0.831 ccm N (18°, 751 mm).

C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>O<sub>8</sub>N<sub>6</sub> (Diacetylverbindung).

Ber. C 50.00, H 3.50, N 18.42. Gef. C 50.04, H 3.21, N 18.48, 18.51.

2. Versuch. Die Lösung von 0.5 g des Pyridins in 15 ccm Essigsäureanhydrid wurde unter Zusatz von 0.5 g Natriumacetat unter Rückfluß auf dem Sandbad 3 Stdn. auf 137—140° erhitzt. Das Produkt wurde wie im vorigen Versuch aufgearbeitet. Wir erhielten fast ausschließlich das Diacetyl-Derivat; die Bestimmung der Acetylgruppen erfolgte durch Kochen mit 10-proz. Ätzlauge, Ansäuern mit Phosphorsäure und Abtreiben der Essigsäure mit Wasserdampf. Im Destillat wurde die Essigsäure mit Methylrot und 1/100-n. Natronlauge titriert.

10.418 mg Sbst.: 2.780 mg Essigsäure.

C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>O<sub>8</sub>N<sub>6</sub>. Ber. Acetylgruppen 18.85. Gef. 19.08 %.

## 238. Hans Pringsheim und Paul Ohlmeyer: Über Inulin und die Inulinase (XII. Mitteil.).

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

(Eingegangen am 10. Juni 1932.)

In der XI. vorläufigen Mitteilung<sup>1)</sup> beschrieben wir die Züchtung des *Aspergillus niger* in Massenkulturen, um mit dem aus seinem Mycel gewonnenen Ferment Inulin in größerem Maßstabe fermentativ zu hydrolysieren. Wir beschrieben dann die Gewinnung eines krystallisierten Acetates aus den Rückständen der Inulin-Spaltung. Inzwischen hat es sich herausgestellt, daß bei unserer Versuchs-Anordnung nicht unbeträchtliche Mengen von Mannit in unseren Ferment-Extrakt gelangt sind.

Nach den Angaben der Literatur<sup>2)</sup> wurden neben anderen Pilzen auch *Aspergillus*-Arten reich an Mannit gefunden. Dieser Zucker-alkohol muß in den Pilz-Mycelien so stark festgehalten werden, daß er nicht in die Kulturflüssigkeit übergeht und selbst beim

<sup>1)</sup> Pringsheim u. Hensel, B. 64, 1431 [1931].

<sup>2)</sup> Czapek, Biochemie d. Pflanzen, II. Aufl. [1913], 1, 298.

reichlichen Waschen mit Wasser auch unter hydraulischem Pressen nicht aus der Pilzmasse entfernt wird. Erst bei der Ferment-Extraktion löst er sich in der Citrat-Säure-Pufferlösung von  $p_H$  3.8 auf; er gelangte so in den Ferment-Extrakt und erschien endlich im Hydrolysen-Rückstand des Inulins; bei der Entfernung der Eiweißstoffe durch Fällen mit Alkohol blieb er in der alkohol. Lösung, wurde nun mitacetyliert und kristallisierte schließlich aus Alkohol in Gestalt des Acetats aus, welches mit einem Difructose-anhydrid-acetat in der elementaren Zusammensetzung übereinstimmt:

Ber. Difructose-anhydrid-acetat	C 50.0, H 5.55.
„ Mannit-acetat .....	„ 49.8, „ 5.99.
Gef. ....	C 49.9, H 5.92.

Auch die Molekulargewichte der beiden Acetate sind nicht so beträchtlich verschieden, daß die Abweichung in den gefundenen Zahlen 532 resp. 479 unsere Aufmerksamkeit erregte. Inzwischen haben wir festgestellt, daß das von uns in der vorläufigen Mitteilung isolierte Acetat im Schmelzpunkt mit Mannit-acetat übereinstimmt, so daß wir an seinem Ursprung keinen Zweifel haben. Die Angabe der Isolierung eines Difructose-anhydrid-acetates aus den fermentativen Inulin-Rückständen muß also richtiggestellt werden.

Um uns von dieser Fehlerquelle wie von der Hauptmenge der anderen, besonders eiweißartigen Verunreinigungen des rohen Pilz-Extraktes zu befreien, sind wir zur Reinigung und Anreicherung der Inulinase aus den Massenkulturen des *Aspergillus* übergegangen. Mit elektro-osmotisch gereinigtem Kaolin wurde keine Adsorption des Ferments erzielt. Die Aluminiumhydroxyde A und B nach Willstätter gestatteten die Herausnahme des Ferments aus dem Pilz-Auszug im Zustand seiner ursprünglichen Pufferung von  $p_H$  3.8, und zwar ließ sich mit B eine vollkommene Adsorption erreichen. Hierzu genügten auf 10 ccm ca. 50 mg Aluminiumhydroxyd B. Um das Ergebnis der Elution aus dem Ferment-Adsorbat zu beurteilen, haben wir eine Inulinase-Einheit (I. A.) eingeführt und als solche diejenige Menge Ferment festgelegt, welche imstande ist, in 3 Stdn. bei 37° 150 mg Inulin in 1-proz. Lösung zu 30 % zu spalten.

Die Elution gelang am besten mit Phosphat-Puffer von  $p_H$  6.8, und zwar ohne Ferment-Verlust mit dem gleichen und dem halben Volumen des Pilz-Extraktes, was im zweiten Falle einer Anreicherung auf das Doppelte entspricht. Bei Verminderung der Elutionsflüssigkeit auf den 4. Teil der rohen Ferment-Flüssigkeit trat schon ein beträchtlicher Verlust an Ferment ein. Da eine stärkere Anreicherung für unsere chemischen Zwecke weniger bedeutungsvoll war als die Verwendung einer möglichst salzarmen Elutionsflüssigkeit, sind wir zu Versuchen mit wäßrigem Ammoniak übergegangen. Weil das Adsorbat durch Waschen mit Wasser nicht ohne einen sehr großen Ferment-Verlust vom anhaftenden Puffer befreit werden konnte, nahmen wir die Elution mit wäßrigem Ammoniak von der Acidität 8.4 vor, um auf diese Weise in die Elutionsflüssigkeit ein  $p_H$  6.8 zu bekommen. Bei Verwendung des gleichen Volumens Elutionsflüssigkeit verzeichneten wir einen Ferment-Verlust auf  $\frac{2}{3}$  des ursprünglichen, befanden uns nun aber im Besitz einer sehr reinen Enzym-Lösung.

Mit den gereinigten Ferment-Lösungen gelang die Spaltung des Inulins in noch wesentlich größerem Maßstabe als mit dem Rohextrakt des Pilz-Myceles; dieses mag zum Teil darauf zurückzuführen sein, daß die Beständigkeit des gereinigten Ferments eine erhöhte ist. Während wir früher mit dem Pilz-Mycel, herangezogen auf 10 l Nährlösung, zu einer Spaltung

von ca. 20 g Inulin gelangten, erzielten wir mit dem gereinigten Ferment jetzt eine maximale Hydrolyse von bis zu 60 g Inulin in 48 Stdn.

Unter genauer Berücksichtigung des Wasser-Gehalts des eingebrachten Inulins und des Kupferwertes der Fructose<sup>3)</sup>, den wir nachprüften, berechnete sich die Inulin-Hydrolyse bis zu 95 %. In diesen 95 % war nach der Differenz-Titration zwischen Fehlingscher Lösung und Hypojodit eine geringe Menge Glucose vorhanden, die wir im Durchschnitt zu 1.5 % des Inulins fanden, und zwar geprüft am Inulin von Kahlbaum und dem amerikanischen Inulin aus Detroit, aus denen bei der Säure-Hydrolyse nach den Angaben von Schlubach<sup>4)</sup> und Jackson<sup>5)</sup> mindestens 3 % Glucose gebildet worden war. Um dieses Resultat weiter zu sichern, versuchten wir zuerst, die Menge der gebildeten Fructose neben der Glucose nach der colorimetrischen Methode von Bredereck<sup>6)</sup> zu bestimmen. Mit reiner Fructose läßt sich das Verfahren offenbar gut zur Ausführung bringen, in Gegenwart von Phosphat-Puffer ist es selbstverständlich nicht anwendbar, aber selbst unsere schon so sehr reine Ammoniak-Elution hatte aus dem Adsorbat offenbar noch Verunreinigungen, wahrscheinlich Eiweißstoffe, wenn auch in sehr geringen Mengen, übernommen, derentwegen die Colorimetrie der Fructose mit Molybdat nicht anwendbar war. Dagegen gelang es uns nach entsprechender Reinigungsoperation (vergl. Versuchs-Teil), 83 % der Fructose aus dem Hydrolysat krystallinisch zu gewinnen und als Fructose zu charakterisieren. In der Mutterlauge hatte sich nun Glucose angereichert, die in entsprechender Weise durch Differenz-Titration und Drehungs-Bestimmung nachweisbar war und, auf das Inulin bezogen, wieder 1.5 % ausmachte.

Es steht aber immer noch die Möglichkeit offen, daß ein Teil der Glucose in den 5 % nicht hydrolysierten Inulin-Rückstände geblieben ist. Ausgehend von größeren Inulin-Ansätzen bis zu 60 g, denen ein Rückstand von 3 g entsprach, bemühten wir uns, nach der von Jackson beschriebenen Methode nach der Vergärung der Fructose mit Hefe und den entsprechenden Reinigungen durch Acetylierung sein Difructose-anhydrid I, das wir zum Vergleich und zum Impfen in den Händen hatten, zu isolieren. Dieses ist uns jedoch nicht gelungen. Wenn ein negativer Versuch auch keine endgültige Bedeutung hat, so sind wir doch der Meinung, daß der fermentative Inulin-Abbau wohl andere Wege beschritten hat als der Säure-Abbau, da uns das leicht krystallisierende Acetat von Jackson schwer hätte entgehen können.

Wir schließen uns also der Meinung von Haworth und Streight<sup>7)</sup> an, daß die von Jackson isolierten Difructose-anhydride erst während der Säure-Hydrolyse entstanden sind.

### Beschreibung der Versuche.

#### Inulinase-Einheit.

Wir züchteten auf 10 l Nährlösung in 8 Glasschalen von der Größe 19×25 cm einen Pilzrasen von *Aspergillus niger* heran, aus dem wir mit Citrat-Salzsäure-Puffer, pH 3.8, 500 ccm Extrakt unter hydraulischem Pressen bis 300 Atm. gewannen.

<sup>3)</sup> Róhny, Biochem. Ztschr. **199**, 53 [1928].

<sup>4)</sup> Schlubach u. Elsner, B. **62**, 1493 [1929].

<sup>5)</sup> Jackson u. Goergen, Bureau of Standards Journ. Research **5**, 1151 [1930].

<sup>6)</sup> B. **64**, 1730 [1931].

<sup>7)</sup> Helv. chim. Acta **15**, 695 [1932].

10 ccm einer 1½-proz. Inulin-Lösung, 5 ccm Preßsaft, Versuchs-Temperatur 37°. 5 ccm wurden nach Folin und Wu enteiweißt und nach Bertrand titriert.

Zeit in Stdn.	mg Cu	% Spaltung
0	—	—
3	32.0	30

### Ferment-Adsorption mit Kaolin und Aluminiumhydroxyd A und B.

1) 10 ccm Preßsaft wurden mit 80 mg elektro-osmotisch gereinigtem Kaolin 10 Min. geschüttelt, dann wurde zentrifugiert.

10 ccm Inulin-Lösung, 5 ccm Zentrifugat. 5 ccm wurden titriert.

Zeit in Stdn.	mg Cu	% Spaltung
0	—	—
3	32.0	30

2) 10 ccm Preßsaft wurden mit einer Suspension von 80 mg Aluminiumhydroxyd A in 3 ccm Wasser 25 Min. geschüttelt und dann zentrifugiert.

10 ccm Inulin-Lösung, 5 ccm Zentrifugat.

Zeit in Stdn.	mg Cu	% Spaltung
0	—	—
3	6.7	6

3) 10 ccm Preßsaft wurden mit 80 mg Aluminiumhydroxyd B (suspendiert in 5 ccm Wasser) 25 Min. geschüttelt und darauf zentrifugiert.

10 ccm Inulin-Lösung, 5 ccm Zentrifugat.

Zeit in Stdn.	mg Cu	% Spaltung
0	—	—
3	—	—

Es zeigte sich also, daß das Zentrifugat vom Aluminiumhydroxyd B keine Spaltung bewirkt hat und somit die Inulinase quantitativ adsorbiert war. Zur Ermittlung der Mindestmenge dieses Adsorbens, die das Ferment noch total festhält, diente folgende Versuchsreihe:

10 ccm Preßsaft wurden mit je 4, 3, und 2 ccm der B-Suspension (80 mg in 5 ccm) und 1 bzw. 2, bzw. 3 ccm Wasser geschüttelt und zentrifugiert.

10 ccm Inulin-Lösung, 5 ccm Zentrifugat.

Zeit in Stdn.	mg Cu	% Spaltung
3	B 4-, B 3-, B 2-	5.8 bei B 4-, bei B 3-, bei B 2-

Die Grenze lag also bei 3 ccm Suspension, bzw. bei 48 mg Aluminiumhydroxyd.

### Elution und Anreicherung mit Phosphat.

20 ccm Preßsaft wurden durch Schütteln an 96 mg Aluminiumhydroxyd B adsorbiert, dann dekantiert und das Adsorbat mit 20 ccm einer Phosphat-Lösung von pH 6.8 (davon 4 ccm *n*<sub>10</sub>-*prim*.-Kaliumphosphat und *sek*.-Natriumphosphat-Lösung zu gleichen Teilen) wieder aufgeschlämmt, 20 Min. geschüttelt und zentrifugiert.

10 ccm vom Zentrifugat, 0.68 ccm *n*<sub>10</sub>-HCl, entsprechend pH 3.8, und 300 mg Inulin (berechnet auf wasser-freies Inulin) wurden mit Wasser auf 30 ccm aufgefüllt.

Zeit in Stdn.	mg Cu	% Spaltung
0	—	—
3	27.2	27

Es ergibt sich also, daß ca. 9 % des Ferments durch die Elution verloren gegangen waren.

Die Anreicherung auf das Doppelte wurde mit Hilfe des folgenden Ansatzes erreicht:

30 ccm Preßsaft wurden an 144 mg Aluminiumhydroxyd adsorbiert. Die Elution geschah auf die oben beschriebene Weise mit 15 ccm Flüssigkeit, die 3 ccm Phosphat-Stammpuffer enthielt.

10 ccm vom Zentrifugat wurden mit 0.68 ccm  $n_{10}$ -HCl auf  $p_H$  3.8 umgestellt und mit 300 mg Inulin auf 30 ccm aufgefüllt.

Zeit in Stdn.	mg Cu	% Spaltung
0	—	—
3	63.4	62

#### Elution mit Ammoniak.

50 ccm Preßsaft wurden mit 240 mg Aluminiumhydroxyd adsorbiert. Das Adsorbat schüttelten wir mit 50 ccm Ammoniakwasser vom  $p_H$  8.4; wobei ein  $p_H$  von 6.8 resultierte. Dann wurde 20 Min. zentrifugiert.

10 ccm Zentrifugat mit 0.28 ccm  $n_{10}$ -HCl (zusammen  $p_H$  3.8) und 300 mg Inulin auf 30 ccm aufgefüllt.

Zeit in Stdn.	mg Cu	% Spaltung
0	—	—
3	22.5	20

Mit dem Ammoniak-Eluat aus 500 ccm Preßsaft haben wir in 48 Stdn. 25 g Inulin zu 95% gespalten.

#### Grad der Spaltung und Substrat-Maximum.

0.4218 g Inulin verloren beim Trocknen im Vakuum über  $P_2O_5$  bei 78° in 1 Stde. 0.0409 g = 9.7% Wasser. 2.0000 g Inulin hinterließen beim Verbrennen 0.0052 g = 0.26% Asche. Unter genauer Einrechnung dieser Fremdbestandteile wurde folgender Ansatz zusammengestellt:

10 ccm Phosphat-Eluat, 20 ccm Wasser, 300 mg Inulin. 5 ccm wurden titriert.

Zeit in Stdn.	mg Cu	mg Fructose	% Spaltung
0	—	—	—
24	94.5	52.5	95

Unter Berücksichtigung der Tatsache, daß in jede  $C_6$ -Gruppe des Inulins bei der Hydrolyse 1 Mol. Wasser eintritt, ergibt sich, daß statt 55 mg nur 52.5 mg Fructose, nämlich 95% der ursprünglich in 5 ccm vorhandenen 50 mg Inulin entstanden sind.

Zur annähernden Bestimmung der spaltbaren Maximalmenge Inulin diene folgender Ansatz:

5 ccm Phosphat-Eluat, 5 ccm Stammpuffer von  $p_H$  3.8 (52 Teile  $n_{10}$ -Kaliumcitrat und 48 Teile  $n_{10}$ -HCl), 600 mg Inulin und 50 ccm Wasser.

Zeit in Stdn.	mg Cu	% Spaltung
0	—	—
48	94.5	95

Da die mit 5 ccm Preßsaft zugegebene Inulinase-Einheit in den 500 ccm Ferment-Extrakt einer Pilzzüchtung 100-mal enthalten ist, so ist man imstande, mit dieser in 48 Stdn. 60 g Inulin zu spalten.

## Bestimmung der Glucose.

1) 10 ccm des rohen Fermentsaftes wurden mit 300 mg Inulin versetzt und auf 30 ccm aufgefüllt. Nach 48-stdg. Stehen bei 38° wurden 10 ccm nach der Methode von Willstätter und Schudel titriert. Verbrauch an  $n_{10}$ -Jodlösung: 0.66 ccm (weiterer Wert: 0.66 ccm).

2) 10 ccm Preßsaft wurden mit Wasser auf 30 ccm aufgefüllt. Nach 48 Stdn. verbrauchten 10 ccm davon 0.20 ccm  $n_{10}$ -Jodlösung (weiterer Wert: 0.22 ccm).

3) 10 ccm einer 1.05-proz. Fructose-Lösung von  $p_H$  3.8 (1 ccm Stammpuffer Citrat-Salzsäure) verbrauchten nach 48 Stdn. 0.3 ccm  $n_{10}$ -Jodlösung (weitere Werte: 0.28 ccm, 0.31 ccm).

Subtrahiert man die durch Ferment und Fructose entstandenen Fehler vom Gesamtjodverbrauch, so bleibt ein Rest von 0.16 ccm, der 1.45 mg Glucose entspricht. 1.45 mg Glucose sind 1.4% des zur Spaltung verwandten Inulins.

Zur genauen Bestimmung der Glucose wurde die Hauptmenge der Fructose auf folgende Weise entfernt: Ein Inulin-Hydrolysat aus 20 g Inulin, das in 2 l 19.01 g Hexosen enthielt, wurde mit Ammoniak auf eine Acidität von  $p_H$  5.2 gebracht und dann im Vakuum auf 200 ccm eingengt. Die Phosphorsäure des Puffers fällten wir durch Schütteln mit 1 g Silbercarbonat und das Silber durch  $H_2S$  in der mit Essigsäure angesäuerten Lösung. 100 ccm der eingedampften Flüssigkeit ließen mit 200 ccm Alkohol die Eiweißstoffe der Ferment-Lösung fallen; von der Abwesenheit reduzierender Substanzen im Niederschlag überzeugten wir uns mittels Fehlingscher Lösung. Das Filtrat engten wir zum Sirup ein und kochten die Zucker zur Entfernung der Asche mit 300 ccm Methylalkohol aus. Die filtrierte methylalkohol. Lösung enthielt, wie wir durch Titrieren eines aliquoten Teiles mit Fehlingscher Lösung ermittelten, 19.01 g Hexosen (auf Fructose berechnet). Sie wurden zum steifen Sirup eingengt und mit Fructose beimpft. Nach 12-tägig. Stehen bei Zimmer-Temperatur war die Krystallisation beendet; wir rührten die Krystalle mit Methylalkohol an und trennten sie durch Abnutschen von der Mutterlauge. Wir gewannen 15.6 g krystallisierte Fructose; 5 ccm einer 1-proz. Lösung gaben 87.1 mg Cu, entsprechend 48.2 mg Fructose. Diese Lösung gab  $\alpha = 0.89^\circ$ . Demnach fanden wir als spezif. Drehung der Fructose  $-93^\circ$ .

Genau dieselben Zahlen erhielten wir mit getrockneter reiner Fructose von Kahlbaum, wenn wir durch Wägung eine 1-proz. Lösung herstellten. In 19.01 g Hexose waren unter Berücksichtigung der 1.4% Glucose 18.79 g Fructose enthalten, so daß wir also mit 15.6 g 83% dieser krystallinisch gewonnen haben.

Die alkohol. Mutterlauge, durch mehrmaliges Abdampfen mit Wasser von Alkohol befreit und schließlich mit Wasser auf 400 ccm gebracht, wurde nach Bertrand titriert. 5 ccm verbrauchten 12.5 ccm  $n_{10}$ -Permanganat, diese entsprechen 79.5 mg Cu. Nun ergibt sich aus den folgenden Versuchen, daß in 5 ccm 3.6 mg Glucose enthalten waren, die aus Fehlingscher Lösung 7.7 mg Cu als Oxydul abscheiden. Der Rest von 71.8 mg Cu kommt auf 39.2 mg Fructose, d. h. in den 400 ccm alkohol. Mutterlauge waren 3.136 g Fructose gelöst. Da sich aber im Sirup vor der Krystallisation 19.01 g Hexose befanden, von denen 98.5% oder 18.7 g Fructose waren, so ergibt auch diese indirekte Bestimmung, daß dieser Zucker zu 83% auskrystallisiert war. In zwei anderen Spaltungsversuchen mit 10 g amerikanischem Inulin resp.

20 g Inulin von Kahlbaum, waren 80 g bzw. 84% der fermentativ gebildeten Fructose in Krystallen vom gleichen Reinheitsgrade zu gewinnen.

Das Drehungsvermögen der wäßrigen Mutterlauge betrug im 1-dm-Rohr  $0.67^\circ$ . Unter Annahme von 1.5% Glucose (vergl. auch nahher), ber. auf 19.01 g, waren neben den 3.136 g Fructose 0.288 g Glucose vorhanden, in 5 ccm also neben 39.2 mg der Ketose 3.6 mg der Aldose. Nun drehen 3.6 mg Glucose im 1-dm-Rohr  $+0.04^\circ$ . Das Drehungsvermögen von 39.2 mg Fructose — in 5 ccm Wasser — beträgt dagegen  $-0.72^\circ$ . Die Summe der Drehungen  $-0.68^\circ$  stimmt gut mit der beobachteten Drehung  $-0.67^\circ$  überein, so daß sich auch aus den polarimetrischen Messungen die Bildung von 1.5% Glucose bei der Inulin-Hydrolyse ergibt.

Die Titration von 10 ccm der Mutterlauge nach Willstätter und Schudel ergab den Verbrauch von 1.05 ccm  $n/_{10}$ -Jodlösung. Bei Einrechnung eines Fructose-Fehlers (vergl. vorher) von 0.25 ccm bleibt ein Rest von 0.8 ccm, der 7.2 mg Glucose entspricht. In der Mutterlauge waren demnach 0.288 g Glucose bzw. ca. 1.44% vom Inulin.

Sämtliche Versuche wurden mehrfach auch mit dem amerikanischen Inulin Detroit ausgeführt. Bis auf die höhere Eigenreduktion dieses Inulins (5 ccm einer 1-proz. Lösung verbrauchten 0.45 ccm  $n/_{10}$ -Kaliumpermanganat gegenüber 0.2 ccm bei Kahlbaum-Inulin) verhielten sich beide Körper in den von uns untersuchten Eigenschaften gleich.

Frl. Charlotte Wilberg danken wir für ausgezeichnete Hilfe und der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft ehriebietig für die zur Verfügung gestellten Mittel.

### 239. Wilhelm Steinkopf: Zur Arbeit von Krause und Renwanz: Neue Metallderivate des Thiophens<sup>1)</sup>.

(Eingegangen am 9. Mai 1932.)

Krause und Renwanz machen in ihrer letzten Arbeit Bemerkungen zu ihrer früheren Angabe<sup>2)</sup> über die Darstellung des  $\alpha$ -Brom-thiophens, das man danach in einer Ausbeute von 27% d. Th. erhalten kann. Sie haben wohl übersehen, daß man nach der von mir<sup>3)</sup> schon vor 10 Jahren angegebenen Methode — Einwirkung von Bromcyan auf Thiophen — Brom-thiophen neben wenig Dibrom-thiophen leicht in einer Ausbeute von 45% gewinnen kann.

<sup>1)</sup> B. 65, 778 [1932].    <sup>2)</sup> B. 62, 1710 [1929].    <sup>3)</sup> A. 480, 98 [1923].

### Berichtigungen.

Jahrg. 65 [1932], Heft 6, S. 941, 15 mm v. o. lies „Methyl-glyoxal-diäthylacetal“ statt „-dimethylacetal“; 30 mm v. o. lies „200 ccm absol. Alkohol“ statt „20 ccm absol. Alkohol“.

Jahrg. 65 [1932], Heft 6, S. 973, 146 und 150 mm v. o. lies „L = 1.5 cal, d. i. 0.6°/° der Lösungswärme“ statt „ $\Delta L = 0.15$  cal, d. i. 0.6% der Lösungswärme“.