

Beim Zusammengeben der Lösungen von 5 g Säure in 50 ccm Eisessig und 25 ccm Wasser und 7 g etwa 70-proz. Benzopersäure in 5 ccm Eisessig trat bald eine vorübergehende Violettfärbung auf, die nach 2 Stdn. in hellgelb umgeschlagen war. Die klare Lösung wurde nach 7-tägigem Stehen im Vakuum fast zur Trockne eingengt, das Auskrystallisierte abgesaugt, mit Äther, mit Chloroform und nochmals mit Äther zur Entfernung der Benzoe- und Benzopersäure gewaschen. Es blieben 4.6 g einer farblosen Verbindung zurück, die sich bei 150° bräunte und bei 162—168° zersetzte. Beim Umkrystallisieren von 1 g aus Wasser wurden 0.8 g vom Zers.-Pkt. 180—183° erhalten.

0.2870 g luft-trockn. Subst. verloren im Vakuum bei 100° 0.0167 g an Gewicht.

$C_{14}H_{18}O_4NS + 1H_2O$ (311.2). Ber. H_2O 5.79. Gef. H_2O 5.82.

0.1380 g getrockn. Subst.: 0.2891 g CO_2 , 0.0702 g H_2O . — 0.1232 g getrockn. Subst.: 5.25 ccm trockn. N (18°, 738 mm).

$C_{14}H_{18}O_4NS$ (293.2). Ber. C 57.30, H 5.16, N 4.78. Gef. C 57.14, H 5.69, N 4.85.

0.5 g vom Zers.-Pkt. 180—183° wurden aus Alkohol umkrystallisiert. Beim Kochen der klaren Lösung trat plötzlich eine Trübung auf. Jedenfalls wird dabei Krystallwasser abgegeben, und die schwerer lösliche, wasser-freie Verbindung fällt aus. Aus der rasch filtrierten Lösung krystallisierten beim Erkalten 0.4 g vom Zers.-Pkt. 200° aus. Die Substanz war jetzt lösungsmittel-frei.

0.1256 g Subst.: 0.2627 g CO_2 , 0.0628 g H_2O . — 0.1283, 0.1242 g Subst.: 5.2, 5.05 ccm trockn. N (19°, 738 mm; 19°, 736 mm).

$C_{14}H_{18}O_4NS$ (293.2). Ber. C 57.30, H 5.16, N 4.78. Gef. C 57.04, H 5.60, N 4.60.

Durch erneutes Umkrystallisieren aus Wasser wurde die Verbindung vom Zers.-Pkt. 182—184° zurückerhalten.

359. Hans Pringsheim und Harry Weiß: Über die Kryoskopie von Glykogen und Inulin in Acetamid.

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

(Eingegangen am 3. Oktober 1932.)

Im Laufe der letzten zwei Jahre haben wir unsere früheren Untersuchungen¹⁾ über die Kryoskopie von Glykogen und Inulin, unterstützt von den HHrn. Burmeister, Ganzlin und Bondi und in dauernder Verständigung mit den HHrn. Reilly und Donovan in Cork, fortgesetzt und den Versuch gemacht, eine möglichste Vermeidung aller Fehlerquellen zu erreichen. Diese können betreffen einmal die kryoskopische Bestimmung an sich und andererseits den Reinheits-Zustand der zu prüfenden Polysaccharide.

Was die Bestimmung der Gefrierpunkts-Depression betrifft, so verwandten wir ein bis zum konstanten Schmelzpunkt aus Alkohol-Äther umkrystallisiertes und bei 78° über Phosphorpentoxyd bei 14 mm getrocknetes Acetamid. Die Bestimmung wurde in einem nur mit Glasschliffen verschlossenem Apparat mit eingeschmolzenem Beckmann-Thermometer vorgenommen; sie lieferte bei Rohrzucker als Prüfsubstanz ein mit der Theorie gut übereinstimmendes Molekulargewicht (ber. 342, gef. 338) bei einer Unterkühlung von $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{2}$ °, die in allen unseren Bestimmungen eingehalten wurde. Die Lösung der Substanzen dauerte bei laufendem Rührer ca. $\frac{1}{4}$ Stde. Eine Verbesserung bestand darin, daß wir zum Aufschmelzen

¹⁾ B. 62, 2378 [1929], 63, 1096, 1093, 2636, 3210 [1930].

ein bei 88° konstant siedendes Heizbad einer geeigneten Mischung von Äthyl- und Amylalkohol benutzten. Aber auch beim Aufschmelzen bei 96° wurden dieselben Resultate erhalten. Bei der Einführung der hygroskopischen Polysaccharide wurde kein Wasser angezogen, was daraus hervorgeht, daß die hierfür benötigte Zeit kürzer war als die Überführung der getrockneten Substanzen in den Verbrennungsofen (vergl. die Analysen).

Als mögliche Verunreinigung der Polysaccharide kommen in Frage Alkohol, Asche und Wasser. Die Abwesenheit von Alkohol wurde durch den negativen Ausfall der Äthoxylbestimmung erwiesen. Beim Inulin handelt es sich um ein mehrfach aus Wasser ausgefrorenes Präparat.

Das uns von Hrn. Donovan zur Verfügung gestellte Glykogen-Präparat war durch Dialyse gereinigt und enthielt 0.176% Asche, während unsere früheren Versuche²⁾ mit einem Glykogen von 1.6% Asche ausgeführt wurden, ohne daß sich das Ergebnis geändert hätte. Andere Beobachtungen machten wir beim Inulin: Wir arbeiteten jetzt mit einem Inulin von ca. 0.07% Asche, während von Kahlbaum bezogenes Inulin, das den früheren Präparaten entsprochen haben dürfte, 0.23% Asche enthielt. Das Glykogen mit 0.176% Asche verlor beim Trocknen bei 78° und 14 mm bereits in 35 Min. das gesamte Wasser, so daß selbst nach 8-stdg. Trocknen bei 110° im Hochvakuum nichts mehr ausgetrieben wurde. Ebenso verhielt sich das asche-arme Inulin, während das asche-reichere unter den Trocknungs-Bedingungen (78°, 11 mm, 35 Min.) von den ursprünglichen 10.3% Wasser noch 1.7% zurückhielt. Hier liegt also eine mögliche Fehlerquelle für die früheren kryoskopischen Bestimmungen am Inulin, und zwar für die Fälle, in denen das Molekulargewicht gleich 2-mal $C_6H_{10}O_5$ gefunden wurde, vor. Wenn man von diesem Verhalten des asche-reicheren Inulins absieht, so ergab sich kein prinzipieller Unterschied zwischen dem kürzere Zeit (35 Min.) milde und dem lange Zeit (2,5 Stdn.) scharf getrockneten Inulin.

Weder elementar-analytisch, noch durch Drehwerts-Bestimmung ließen sich zwischen dem schwach und scharf getrockneten Präparat Unterschiede auffinden. Als wir die Kinetik der Ferment-Spaltung des milde und des stark getrockneten Inulins unter genau gleichen Bedingungen gegenüber der gereinigten Inulinase³⁾ verfolgten, beobachteten wir in zwei Versuchsreihen eine etwas gesteigerte Spaltbarkeit des hoch getrockneten Inulins, woraus hervorgeht, daß Inulin bei der hohen Temperatur von 110° nicht $2\frac{1}{2}$ Stdn. lang völlig resistent ist.

Als Ergebnisse unserer Messungen, die wir auf eine von uns nicht mehr bewußt zu verbessernde Genauigkeit gebracht haben, fanden wir unsere früheren Resultate am Glykogen bestätigt. Aus der gefundenen Gefrierpunkts-Erniedrigung errechnete sich wieder sehr genau der einem Glucoseanhydrid entsprechende Verteilungs-Zustand des Glykogens in geschmolzenem Acetamid.

Weit schwankender war das Ergebnis unserer Messungen beim Inulin, wie die nachstehende Zusammenstellung zeigt. Ohne daß wir imstande wären, eine konstante Beziehung zu irgendeinem uns bekannten äußeren Faktor herauszufinden, beobachteten wir Molekulargewichte, die etwa zwischen 3-mal und 10-mal $C_6H_{10}O_5$ schwankten. Ob hier noch experimentelle Verbesserungsmöglichkeiten vorhanden sind, oder ob prinzipielle Unstimmig-

²⁾ B. 63, 1094 [1930].

³⁾ Pringsheim u. Ohlmeyer, B. 65, 1242 [1932].

keiten die genaue Gefrierpunkts-Depression des Inulins in Acetamid hindern, vermögen wir nicht zu sagen. Jedenfalls sind die Versuche nicht so beweisend für die Dispergierbarkeit des Inulins bis zu einem scharf definierten Verteilungs-Zustand wie die ausgezeichneten Messungen von Leopold Schmid in flüssigem Ammoniak, der für Glykogen gleichfalls 1-mal C_6 und für Inulin 2-mal C_6 fand und seine früheren, durch Leitfähigkeits-Bestimmung gestützten Versuche neuerdings bestätigt⁴⁾ und durch Viscositäts-Messungen⁵⁾ erweitert hat.

Ohne im einzelnen auf die wiederholten Einwände, die E. Berner⁶⁾ gegen unsere Arbeiten erhoben hat, eingehen zu wollen, so halten wir sie durch unsere eingehenden experimentellen Untersuchungen für widerlegt. In unseren Arbeiten sind die uns von Berner vorgeworfenen trivialen Fehler nicht enthalten. Wir glauben nicht, daß es ohne besondere, in den Bernerschen Arbeiten nicht geschilderte Maßnahmen möglich ist, die Aussage zu machen, daß in einem Inulin-Präparat 0.007% Asche vorhanden ist, oder daß sich aus einer Bestimmung des spezif. Gew. $d_4^{20} = 0.99816$ 0.37 g/l Alkohol ablesen läßt, und wir sind ganz sicher, daß die Kryoskopie künstlich mit Alkohol versetzter Inulin-Lösungen⁷⁾ oder die Berechnung eines Molekulargewichtes unter Einbeziehung des angeblich vorhanden gewesenen Alkohols⁸⁾ falsch sein müssen, da nach unseren Versuchen Alkohol bei der Kryoskopie in Wasser ein ganz falsches Molekulargewicht — bei den in Frage kommenden Konzentrationen zwischen 27 und 33, statt 46 — anzeigt.

Beschreibung der Versuche.

Tabelle I.

Molekulargewichts-Bestimmungen des Glykogens.
(Präparat von Donovan mit 0.176% Asche.)

	g Acetamid	g Sbst.	Depress.	Molekulargewicht
1)	19.52	0.1750	0.226 ^o	144
2)	16.35	0.1478	0.206 ^o	163
3)	18.80	0.1159	0.142 ^o	157

Tabelle II.

Trocknungen des Glykogens.

	Einwäge	Gew.-Verlust	Vakuum	Temp.	Dauer	Wasser
1)	0.1897 g	0.0147 g	4 mm	110 ^o	2.5 Std.	8.4%
2)	0.1950 g	0.0149 g	14 „	78 ^o	35 Min.	8.4%
3)	0.1503 g	0.0128 g	4 „	110 ^o	8 Std.	8.5%

Analysen des Glykogens.

1) bei 78^o/14 mm zur Konstanz getrocknet. 0.1409 g Sbst.: 0.2309 g CO₂, 0.0764 g H₂O.

C₆H₁₀O₅. Ber. C 44.4, H 6.2. Gef. C 44.7, H 6.1.

2) bei 110^o/4 mm zur Konstanz getrocknet (2.5 Std.). 0.0608 g Sbst.: 0.0991 g CO₂, 0.0336 g H₂O. — Gef. C 44.45, H 6.2.

3) bei 110^o/4 mm 8 Std. zur Konstanz getrocknet. 0.1051 g Sbst.: 0.1720 g CO₂, 0.0581 g H₂O. — Gef. C 44.6, H 6.2.

⁴⁾ Schmid u. Haschek, Monatsh. Chem. 59, 328 [1932].

⁵⁾ Schmid u. Falke, ebenda S. 357.

⁶⁾ B. 63, 1356, 2760 [1930], 64, 842, 1531 [1931].

⁷⁾ z. B. B. 63, 1361 [1930].

⁸⁾ B. 64, 844 [1931].

Tabelle III.
Molbestimmungen des Inulins.

		g Acetamid	g Sbst.	Depress.	Molgewicht
Präp. I.	1)	15.54	0.1818	0.029 ⁰	1460
	2)	17.59	0.2096	0.036 ⁰	1200
	3)	19.77	0.2073	0.033 ⁰	1150
	4)	20.17	0.1870	0.054 ⁰	635
	5)	18.58	0.1120	0.040 ⁰	547
	6)	20.77	0.1367	0.045 ⁰	530
Präp. II.	7)	18.58	0.1643	0.018 ⁰	1770
	8)	18.89	0.1481	0.031 ⁰	918
	9)	18.2	0.1210	0.030 ⁰	804
g Acetamid g Sbst. Depress. Molgew.					
Präp. III. Kahlbaum, 0.23% Asche	10)	20.36	0.1376	0.064 ⁰	383 (auf wasser-frei ber. ...)
	11)	18.22	0.1819	0.275 ⁰	131 („ „ „ 478)
	12)	20.34	0.1388	0.204 ⁰	124 („ „ „ 386)
	13)	16.75	0.1369	0.079 ⁰	375 („ „ „ 551)
	14)	18.05	0.1360	0.054 ⁰	507

Tabelle IV.
Trocknung des Inulins.

		Ein- wage	Gew.- Verlust	Vakuum	Temp.	Dauer	Wasser
zu Präp. I	1)	0.3430	0.0316	0.15 mm	110 ⁰	1.5 Stdn.	9.2
	2)	0.2322	0.0221	14 „	78 ⁰	35 Min.	9.5
	3)	0.2292	0.0213	14 „	78 ⁰	30 „	9.3
	4)	0.2062	0.0192	14 „	78 ⁰	35 „	9.3
	5)	0.1259	0.0130	0.1 „	110 ⁰	2.5 Stdn.	10.3
	6)	0.1535	0.0161	0.05 „	110 ⁰	2.5 „	10.5
zu Präp. II	7)	0.1843	0.0195	0.1 „	110 ⁰	2.5 „	10.45
	8)	0.1680	0.0201	0.1 „	110 ⁰	2.5 „	11.9
	9)	0.1379	0.0164	0.2 „	110 ⁰	2.5 „	11.9
zu Präp. III	10)	0.1528	0.0132	14 „	78 ⁰	35 Min.	8.6
	11)	wurde luft-trocken benutzt					
	12)	„	„	„			
	13)	0.1530	0.0136	14 „	78 ⁰	35 „	9.8
	14)	0.1615	0.0166	0.05 „	110 ⁰	2.5 Stdn.	10.3

Schmelztemperatur 1—4 96°, in allen anderen Fällen 88°.

Die spezif. Drehung einer 1-proz. Lösung betrug mit dem bei 110° getrockneten Inulin —38.5°, mit dem bei 78° getrockneten —39°.

Analysen des Inulins.

1) bei 78°/14 mm zur Konstanz getrocknet. 0.0947 g Sbst.: 0.1549 g CO₂, 0.0532 g H₂O.

C₆H₁₀O₅. Ber. C 44.4, H 6.2. Gef. C 44.6, H 6.3.

2) bei 110°/0.1 mm zur Konstanz getrocknet. 0.1348 g Sbst.: 0.2180 g CO₂, 0.0770 g H₂O. — Gef. C 44.1, H 6.2.

Kinetische Messungen der Spaltung von Inulin durch Inulinase.

1) Inulin 40 Min. bei 78°/14 mm getrocknet. 10 ccm einer 1-proz. Inulin-Lösung, 10 ccm Wasser und 40 ccm Ferment werden bei 37° stehen gelassen und die gebildete

Menge Fructose in je 10 ccm dieser Lösung nach Bertrand titriert. — Der gleiche Ansatz wurde mit bei 110°/4 mm getrocknetem Inulin gemacht.

	Stdn.	ccm n_{10} -KMnO ₄ -Lösg.	% Spaltung
bei 110° getrocknet:	1.5	1.35	22
	3	2.4	40
	4.5	3.42	58.5
	6	4.2	70.5
bei 78° getrocknet:	1.5	1.22	19.8
	3	2.2	34.4
	4.5	3.4	58.2
	6	4.12	69.3

2) Die gleichen Versuche wurden mit 35 ccm Ferment ausgeführt und zur Messung in kürzeren Abständen je 5 ccm der Lösung entnommen. Als Titerflüssigkeit diente n_{50} -KMnO₄-Lösg.

	Stdn.	ccm n_{50} -KMnO ₄ -Lösg.	% Spaltung
bei 110° getrocknet:	0.5	2.07	13.4
	1	2.74	17.6
	1.75	4.15	26.4
	3	5.30	32.2
	3.5	7.05	46.6
	4	7.75	51.5
bei 78° getrocknet:	0.5	1.72	10.9
	1	2.38	15.3
	1.75	3.51	23.8
	3	4.53	28.7
	3.5	6.43	42.1
	4	7.0	46.0

Der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft danken wir verbindlichst für ihre Hilfe.

360. J. Reilly und P. P. Donovan: Über die Kryoskopie von Glykogen und Inulin in Acetamid.

[Aus d. Chem. Laborat. d. University College, Cork.]

(Eingegangen am 12. November 1932.)

Im vergangenen Jahre wurden von uns weitere kryoskopische Bestimmungen von Glykogen und Inulin in Acetamid ausgeführt. Die Resultate stehen in prinzipieller Übereinstimmung mit den gleichzeitig in Berlin erhaltenen¹⁾ und werden nach Verabredung mit Hrn. Pringsheim von uns unabhängig mitgeteilt.

Zur Molekulargewichts-Bestimmung des Glykogens haben wir das von uns gereinigte Glykogen mit 0.176 % Asche verwandt und dabei Molekulargrößen zwischen $1 \times$ und $2 \times \text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$, meist jedoch näher dem bimolekularen Zustande, gefunden.

Mit dem Inulin machten wir die folgenden interessanten Beobachtungen: Inulin mit einem Aschen-Gehalt von 0.07 % gab Werte, die $4 \times \text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$ entsprachen. Weitere Herabsetzung des Aschen-Gehaltes führte zu Molekulargewichten zwischen $4 \times$ und $6 \times \text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$, in einem Falle wurde ein noch

¹⁾ vergl. B. 65, 1807 [1932].