

40267-i

945

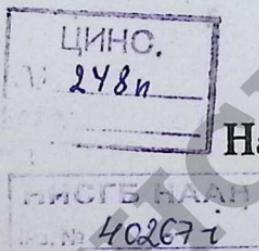
88

1928: 7

Über die Bildung von Milchsäure aus Zucker durch Einwirkung von Alkalien.

WZ
Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der hohen philosophischen Fakultät
der Friedrich-Alexanders-Universität Erlangen



vorgelegt von

Hans Ruckdeschel
aus Kulmbach.



Tag der mündlichen Prüfung: 6. März 1926.

K U L M B A C H.

Buchdruckerei A. Hertel, in Firma Fr. Dacherl's Buchdruckerei.
1926.

Referent: Geheimrat Professor Dr. Max Busch.
Dekan: Universitäts-Professor Dr. O. Witte.

Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit gewidmet!

Vorliegende Arbeit entstand im chemischen Laboratorium
des Instituts für Gärungsgewerbe zu Berlin.

Herrn Prof. Dr. W. Windisch und Herrn Dipl.-Ing. P. Kolbach
danke ich verbindlichst für die Anregung zu dieser Arbeit und die
mir erteilten Ratschläge.

Zu aufrichtigem Danke bin ich auch meinem hochverehrten
Lehrer, Herrn Geheimrat Prof. Dr. M. Busch, Erlangen, verpflich-
tet, der meinen Studien stets die wohlwollendste Förderung zu
Teil werden ließ.

Inhalt:

Einleitung

I. Methodik der Milchsäurebestimmung

II. Hexosen und Alkalien

 A. Invertzucker und Alkalien

 B. Glukose und Alkalien

 C. Fruktose und Alkalien

 D. Studien über den Einfluß von Alkalien auf Hexosen,
 welche durch vorheriges Kochen mit Bleihydroxyd in wäss-
 riger Lösung eine konfigurative Umwandlung erfahren
 haben.

 E. Theorie der Zuckерumwandlung.

III. Zusammenfassung.

Vorliegende Arbeit beschäftigt sich nur mit der Spaltung von Hexosen in Milchsäure auf chemischem Wege durch Einwirkung von Alkalien unter Ausschluß von Oxydationsmitteln. Es ist bekannt, daß beispielsweise bei Einwirkung von Natronlauge auf wässrige Hexoselösungen unter Ausschluß von Oxydationsmitteln Milchsäure entsteht und daß die Reaktion um so schneller verläuft, je höher die Temperatur und je konzentrierter das Alkali ist. Es sind von zahlreichen Forschern Versuche in mannigfaltigster Art, mit verschiedenen Zuckerarten und Metallhydroxyden unter wechselnden Bedingungen ausgeführt worden, teils um den chemischen Mechanismus der Spaltung, teils die Bedingungen, unter welchen diese Spaltung vor sich geht, aufzuklären. Diese Versuche haben sehr viel interessantes Tatsachenmaterial zutage gefördert. So sind wir über die Art der entstehenden Reaktionsprodukte schon recht gut unterrichtet. Was aber die Bedingungen betrifft, unter welchen die Bildung der Milchsäure vor sich geht, welches die kinetischen Zusammenhänge zwischen Zucker- und OH- Jonenkonzentration sind, wie sich unter den verschiedensten Bedingungen insbesondere die Menge des Hauptreaktionsproduktes, nämlich der uns interessierenden Milchsäure gestaltet — in all diesen Fragen, die einen wichtigen Einblick auch in den chemischen Mechanismus der Spaltung und in die Verteilung der insgesamt entstehenden Reaktionsprodukte geben könnten, ist die Forschung über das Stadium der Vorversuche nicht hinausgekommen. Zweck der vorliegenden Arbeit war, diese Fragen systematisch durchzuprüfen, um zu fester begründeten Urteilen zu kommen.

Nach Ausarbeitung einer Methode zur raschen Trennung und Bestimmung von Milchsäure stellten wir zunächst Versuche mit Invertzucker und Alkalien an und studierten den Einfluß von Temperatur, Konzentration und verschiedenen Alkaliarten auf die

Milchsäurebildung. Dann gingen wir zu Versuchen mit Glukose und Alkalien über. Hierbei richteten wir unser Hauptaugenmerk auf die Prüfung der Frage, inwieweit das Massenwirkungsgesetz bei unserer Reaktion Gültigkeit hat. Auch machten wir Versuche über die Beeinflußbarkeit der Milchsäurebildung durch Anwendung von Phosphat und Bleiacetat als Kontaktsubstanzen. Einen Begriff von der Abhängigkeit des Mechanismus der Spaltung von der Konfiguration des Zuckers sollten uns die Versuche mit Fruktose und Alkalien geben. Anschließend hieran machen wir Versuche mit 3- und 6-normalem Natriumkarbonat zur Ermittlung kritischer Alkalikonzentrationen. Zuletzt beschäftigten wir uns ausschließlich mit dem Einfluß der Konfiguration des Zuckers auf die Milchsäurebildung und stellten eine Reihe von Versuchen an, bei welchen der Zucker durch Kochen mit Bleihydroxyd in wässriger Lösung zunächst konfigurativ umgewandelt und dann mit freien Alkalien von bestimmter Konzentration behandelt wurde.

Zum Schluß befaßten wir uns mit den bestehenden Theorien über den Zuckerzerfall.

I. Methodik der Milchsäurebestimmung.

Da bei unseren Untersuchungen eine Unzahl von Milchsäurebestimmungen erforderlich war, mußten wir nach einer rasch und genau gehenden Bestimmungsmethode suchen. Die Bestimmung der Milchsäure zerfällt in die rasche und vollständige Trennung der Milchsäure aus dem komplizierten Reaktionsgemisch und die Bestimmung der Säure selbst.

Was die Trennung der Milchsäure aus dem komplizierten Reaktionsgemisch anlangt, so muß hier auf die bei der Einwirkung von Alkalien auf Zucker unter Ausschluß von Oxydationsmitteln entstehenden Reaktionsprodukte näher eingegangen werden. Wir beschränken uns hierbei auf die Einwirkung der Alkalien und Erdalkalien auf Hexosen in wässriger Lösung und sehen von der Einwirkung fester Alkalien bei Abwesenheit von Wasser ab.

1. Die Reaktionsprodukte.

Bei Einwirkung von sehr verdünntem Alkali, Alkalikarbonat oder Acetat wird die Rotation des Zuckers aufgehoben und es tritt die von Lobry de Brüyn und van Ekenstein¹⁾ entdeckte Umlagerung in andere Zucker (Isomerisation) ein. Die d-Glukose beispielsweise wandelt sich in d-Fruktose, d-Mannose, d-Glutose und d-pseudo-Fruktose um, wobei ein umkehrbares Gleichgewicht zwischen all diesen Zuckern entsteht, welches nur gestört wird, wenn konzentriertes Alkali zugesezt wird. Ebenso erhält man, wenn man von d-Fruktose ausgeht, in ganz verdünnter alkalischer Lösung ein Gleichgewicht zwischen den Zuckern d-Fruktose, d - Glukose, d - Mannose, d - Glutose und d - pseudo-Fruktose.

Läßt man konzentriertes Alkali, zum Beispiel starke Natronlauge oder konzentrierte Baryllösung, auf Hexosen einwirken, dann wird zunächst auch die Drehung vernichtet. Die Umlagerung in andere Hexosen (Isomerisation) tritt gleichfalls ein, wird aber

¹⁾ B. 28, 3078.

gestört, weil sich die Hexosen und die durch die Isomerisation gebildeten neuen Zucker unter dem Einfluß des starken Alkalis gleichzeitig in Säuren umwandeln. Daneben tritt Aufspaltung der Hexosemoleküle (Dissoziation) ein, sodaß Spaltstücke von kürzerer Kohlenstoffkette entstehen, welche ihrerseits wieder durch den Einfluß des starken Alkalis in Säuren umgewandelt werden. Durch die umfassenden Arbeiten der Amerikaner Nef¹⁾ und Fred Upsilon²⁾ ist nachgewiesen, daß bei Alkalikonzentrationen von normal - Barytlauge bis achtfach normaler Natronlauge aus den Hexosen stets dieselben Reaktionsprodukte gebildet werden. Diese sind neben Zuckerharzen in der Hauptsache vier C₆-Saccharinsäuren, eine C₄- und eine C₃-Saccharinsäure. Die C₅- und C₂-Saccharinsäuren konnten nicht aufgefunden werden. Ameisensäure wurde stets nur in Spuren nachgewiesen. Dagegen waren die C₆, C₄ und C₃-Saccharinsäuren und die Harze je nach der Konzentration des Alkalis in wechselnden Mengen vorhanden.

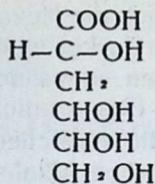
Die Säuren tragen alle den Sammelnamen «Saccharinsäure», weil sie wie die Hexosen die Bruttoformel C_n H_{2n} O_n besitzen. Sie haben nur ein Karboxyl und im Gegensaß zu den Aldonsäuren ein hydroxylfreies Kohlenstoffatom. Die C₆- und C₄-Saccharinsäuren gehen in freiem Zustand in ihre γ -Laktone über. Die C₃-Saccharinsäure ist sonst bekannt unter dem Namen dl-Milchsäure, CH₃. CH. OH. COOH. Die C₃-Saccharinsäure stellte sich als die in Äther unlösliche dl- α , γ -Dioxybuttersäure heraus, CH₃. OH. CH₂. CH. OH. COOH. Die vier C₆-Saccharinsäuren besitzen die folgenden Strukturformeln:

1) Saccharinsäure (Glukosaccharinsäure)	COOH CH ₃ - C - OH CHOH CHOH CH ₂ OH
2) Isosaccharinsäure	COOH CH ₂ OH - C - OH CH ₃ CHOH CH ₂ OH

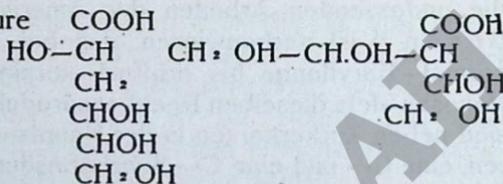
¹⁾ Ann. 335. 218—330, 357. 214—312, 376. 1—106, 403. 205—242.

²⁾ C. 1911. III. 533.

3) Metasaccharinsäure



4) Parasaccharinsäure



Formel v. Nef

Formel von Kiliani

Von diesen Saccharinsäuren sind die Iso- und gewöhnliche Saccharinsäure in kaltem und siedendem Äther nur ganz wenig löslich, die Metasaccharinsäure gänzlich unlöslich, während die stereoisomere Parasaccharinsäure in Äther leicht löslich ist.

Die Parasaccharinsäure bildet sich nur aus Galaktose, nicht aus Glukose oder Fruktose. Nef¹⁾ erhielt bei Einwirkung von 8-fach normaler Natronlauge auf Galaktose eine mit der Metasaccharinsäure stereoisomere Parasaccharinsäure von normaler Kohlenstoffkette (s. obige Formel). Kiliani²⁾ erhielt dagegen bei Einwirkung von Kalk auf Galaktose eine Parasaccharinsäure mit verzweigter Kohlenstoffkette (s. Strukturformel), welche sich nur schwer von der Metasaccharinsäure trennen ließ. Sie geht bei der Oxydation mit Salpetersäure zunächst in die zweibasische Parasaccharinsäure und dann in die dreibasische Oxyzitronensäure über.

Die bei der Einwirkung von Alkalien auf Zucker entstehenden braun gefärbten Harze sind teilweise in Äther löslich. Ihre Zusammensetzung ist noch nicht aufgeklärt. Nef³⁾ machte wahrscheinlich, daß sie Polymerisationsprodukte der Zuckeralz sind.

Nef hat fernerhin beobachtet, daß gewisse alkalisch-wirkende Salze der Alkalien und Erdalkalien bei bestimmter OH-Konzentration spezifische Wirkungen ausüben. So hat er bei An-

¹⁾ Ann. 357. 294, 376. 58

²⁾ B. 37. 1200, 1202, 3612, 41. 120

³⁾ Ann. 403. 210, 223, 240

wendung von $\frac{1}{2}$ —1 Aequivalent Natriumkarbonat pro Liter oder 1—3 Aequivalenten Kalziumacetat pro Liter in 60 Tagen ca. 15—20 Prozent Polysaccharide erhalten. Auch mit $\frac{1}{2}$ bis 1 Aequivalent Kalziumhydroxyd konnte er Polysaccharidbildung beobachten. Der Prozeß der Saccharidbildung geht äußerst langsam vor sich. Es bilden sich 2 Arten von Polysacchariden: a) »Kondensationsprodukte« der Hexosen von der Art des Rohrzuckers, welche mit Spuren Säure (Essigsäure) leicht hydrolysierbar sind und b) »Polymerisationsprodukte« von der Art der Maltose und des Milchzuckers, welche schwerer hydrolysierbar sind. Beide Arten haben gegenüber Fehlingscher Lösung ein bedeutend geringeres Reduktionsvermögen als die Hexosen, aus denen sie hervorgehen. Sie sind unlöslich in Aether.

Zusammenfassend können also bei Einwirkung von Alkalien auf Hexosen unter Ausschluß von Oxydationsmitteln die folgenden wesentlichen Reaktionsprodukte auftreten:

Polysaccharide,
Isomere Zucker,
Harze,
 C_6 — Saccharinsäuren,
dl — α , γ — Dioxybuttersäure,
dl — Milchsäure.

Von diesen möglichen Reaktionsprodukten sind in Aether unlöslich: die noch unveränderten Zucker und isomeren Zucker, die Polysaccharide, die Metasaccharinsäure und die dl - α , γ - Dioxybuttersäure,

in Aether löslich: teilweise die Harze, die Gluko- und Isosaccharinsäure; leicht löslich die Parasaccharinsäure und die dl - Milchsäure.

2. Die Methodik der Milchsäurebestimmung.

Wie man aus dem vorhergehenden ersieht, könnte es gelingen, durch Extraktion des Reaktionsgemisches mittels Aether die Milchsäure von einer großen Anzahl von Nebenprodukten, insbesondere auch von der dl - α , γ - Dioxybuttersäure, welche bei der Oxydation mit Kaliumpermanganat unter Umsständen Aldehyd liefert, zu befreien. Da beabsichtigt war, die Milchsäure nach dem Aldehydverfahren von Fürth - Charnass¹⁾ zu bestimmen, weil es das einfachste Verfahren unter den vielen Methoden darstellt,

¹⁾ Siehe Seite 19

welche für die Bestimmung der Milchsäure ausgearbeitet worden sind, mußte geprüft werden, ob die bei der Aetherextraktion mitgehenden Aether löslichen Nebenprodukte (Harze, Saccharinsäuren) nicht störend wirken. Die Methode beruht darauf, daß die Milchsäure mit sehr verdünnter Kaliumpermanganatlösung zu Acetaldehyd oxydiert und letzterer durch Bindung an Kaliumbisulfit quantitativ bestimmt wird. Sollte diese Methode für unsere Zwecke anwendbar sein, so durften die Harze und die Saccharinsäuren bei der Oxydation mit Permanganat unter den von Charnass angegebenen Bedingungen keinen Aldehyd liefern.

Dies war glücklicherweise der Fall. Man stellte sich zur Prüfung dieser Frage nicht nur die Aether löslichen, sondern auch die Aether schwer löslichen Saccharinsäuren her; die gewöhnliche Saccharinsäure, auch Peligot- oder Glukosaccharinsäure genannt, nach Kilianni¹⁾ aus Invertzucker; die Isosaccharinsäure und Metasaccharinsäure nach Kilianni²⁾ aus Milchzucker. Die nach Kilianni³⁾ schwer darzustellende Parasaccharinsäure, ebenso die von Nef beschriebene Parasaccharinsäure wurden nicht hergestellt. Vielmehr wurde aus dem Verhalten der Zitronensäure und der gewöhnlichen Metasaccharinsäure gegenüber Permanganat deduktiv auf ein analoges Verhalten der Parasaccharinsäure geschlossen. Die Prüfung der Parasaccharinsäure war auch nicht unbedingt erforderlich, da sich unsere späteren Untersuchungen nur auf Glukose, Fruktose und Invertzucker erstreckten.

Eine größere Harzmenge gewann man durch mehrstündigtes Kochen von 10 Gramm Invertzucker mit 20 Gramm Aeßnatron in 100 ccm Wasser auf dem Wasserbad unter Rückflußkühlung und Fällung des Harzes durch Ansäuern mit Salzsäure, Auswaschen mit salzsäurehaltigem, dann mit warmem reinen Wasser. Der Aether lösliche Teil des Harzes wurde nicht besonders abgetrennt. Auch Barytharz, welches fast ganz ätherlöslich ist, wurde dargestellt, indem man 39,44 g Baryt in 100 ccm Wasser auf 10 g Invertzucker 2 Stunden lang bei 160—180° einwirken ließ.

Es wurden nun Mengen von ca. 0,2 g der Glukosaccharinsäure, Metasaccharinsäure, Isosaccharinsäure, der Zitronensäure und des isolierten Harzes, in der von Fürth und Charnass angege-

¹⁾ C. r. 89, 918, 90, 1141, B. 13, 2213, 15, 2954

²⁾ B. 16, 2625, 18, 631, 642, 2514.

³⁾ B. 35, 3528, 26, 1649

benen Weise einzeln mit $\frac{1}{20}$ Kaliumpermanganat oxydiert und das Destillat in reinem eisgekühlten Wasser aufgefangen und geprüft. Die Reaktion auf Acetaldehyd¹⁾ wie auf Formaldehyd²⁾ verlief vollkommen negativ. Auch der Versuch, den etwa entstandenen Aldehyd mittels einer Kaliumbisulfatlösung von bestimmtem Gehalt zu binden und auf diese Weise die gebildete Aldehydmenge festzustellen, führte zu negativem Ergebnis. Es war somit nachgewiesen, daß die bei der Extraktion der Milchsäure mitgehenden Aether löslichen Nebenprodukte die quantitative Bestimmung der Milchsäure nach Fürth-Charnass nicht stören. Die Anwendung dieser Methode schien also möglich zu sein. Sie wurde später auch mit kleinen Aenderungen und Vorsichtsmaßregeln, die sich als vorteilhaft erwiesen und auf welche noch eingegangen wird, angewandt.

Schwierigkeiten bereitete aber zunächst noch die quantitative Extraktion der Milchsäure aus dem Reaktionsgemisch. Die Milchsäure ist nämlich im Wasser 10-mal so leicht löslich wie in Aether. Ausschütteln kam nicht in Frage, weil hierbei wegen des nötig gewesenen häufigen Ausschüttelns unvermeidliche Verluste entstanden wären. Den kontinuierlich wirkenden Extraktionsapparaten für Flüssigkeiten, welche in großer Zahl konstruiert worden sind, stand man anfangs auch skeptisch gegenüber, da es bei dem ungünstigen Verteilungsverhältnis der Milchsäure zwischen Wasser und Aether nur unter Aufwendung sehr langer Zeit möglich erschien, eine einigermaßen quantitative Extraktion aus der wässrigen Lösung zu erreichen. Wenngleich uns auch bekannt war, daß man das Verteilungsverhältnis durch Zusatz von Ammoniumsulfat zu Gunsten des Aether löslichen Anteils verschieben kann. Dennoch machten wir eine große Zahl von Extraktionsversuchen mit dem kontinuierlich arbeitenden Extraktionsapparat von Doornkaat³⁾. Wir verwandten eine wässrige Lösung von bekanntem Milchsäuregehalt, welche wir teils mit, teils ohne Ammoniumsulfatzusatz extrahierten. Aber wir gewannen im besten Falle nur 80% von der angewandten Menge Milchsäure wieder, und hierzu war eine 3–5-tägige Extrahierung nötig. Es war auch nicht möglich, mit diesem Apparat konstante und reproduzierbare Extraktionswerte zu bekommen. Er war daher für unsere Zwecke völlig unbrauchbar.

¹⁾ Abderh., Handbch. S. 1059. C. 1910. I. 729

²⁾ C. r. (1910) 150, 529, 832. C. 1906. I. 90

³⁾ Wochenschr. f. Brauerei 1914 u. Abderh. Arbeitsmethoden Bd. VIII S. 836

Es wurde nun eine Mitteilung von Pinnow¹⁾ herangezogen. Dieser arbeitete unter Benutzung des für Milchsäure in Wasser und Aether geltenden konstanten Verteilungsverhältnisses eine neuartige Methode zur raschen Bestimmung der Milchsäure aus. Indem er ein bestimmtes Volumen der milchsäurehaltigen Flüssigkeit mit einem bestimmten Volumen Aether mischte und durch kräftiges Schütteln eine dem Verteilungskoeffizienten entsprechende Verteilung der Milchsäure im Aether erwirkte, dann den aetherischen Teil abtrennte und in diesem die Milchsäuremenge quantitativ bestimmte, konnte er mittels des gegebenen Verteilungskoeffizienten die in der wässrigen Flüssigkeit verbliebene Milchsäuremenge, somit die insgesamt vorhanden gewesene Menge Milchsäure, berechnen.

Dieses Verfahren, welches gegenüber allen Extraktionsmethoden den großen Vorzug hat, daß die zeitraubende Extraktion wegfällt, schien für unsere Zwecke besonders geeignet zu sein, sofern die vielen Nebenprodukte, welche bei unserer Reaktion entstanden und in der Menge stets wechselten, die Konstanz des Verteilungskoeffizienten nicht störend beeinflußten. Versuche zeigten aber leider, daß dies der Fall ist.

Wir kehrten abermals zur Anwendung eines Extraktionsapparates zurück und gaben uns dem Bestreben hin, aus der Fülle von den in der Literatur angegebenen Apparaten zunächst ohne Rücksicht auf die Extraktionsdauer einen solchen auszusuchen, der quantitative Extraktionsresultate liefert. Zwei Apparate fanden wir geeignet, den Embden-Lindschen Apparat und den Partheil-Rose-Apparat, letzteren allerdings erst dann, als wir die Ausmaße entsprechend änderten.

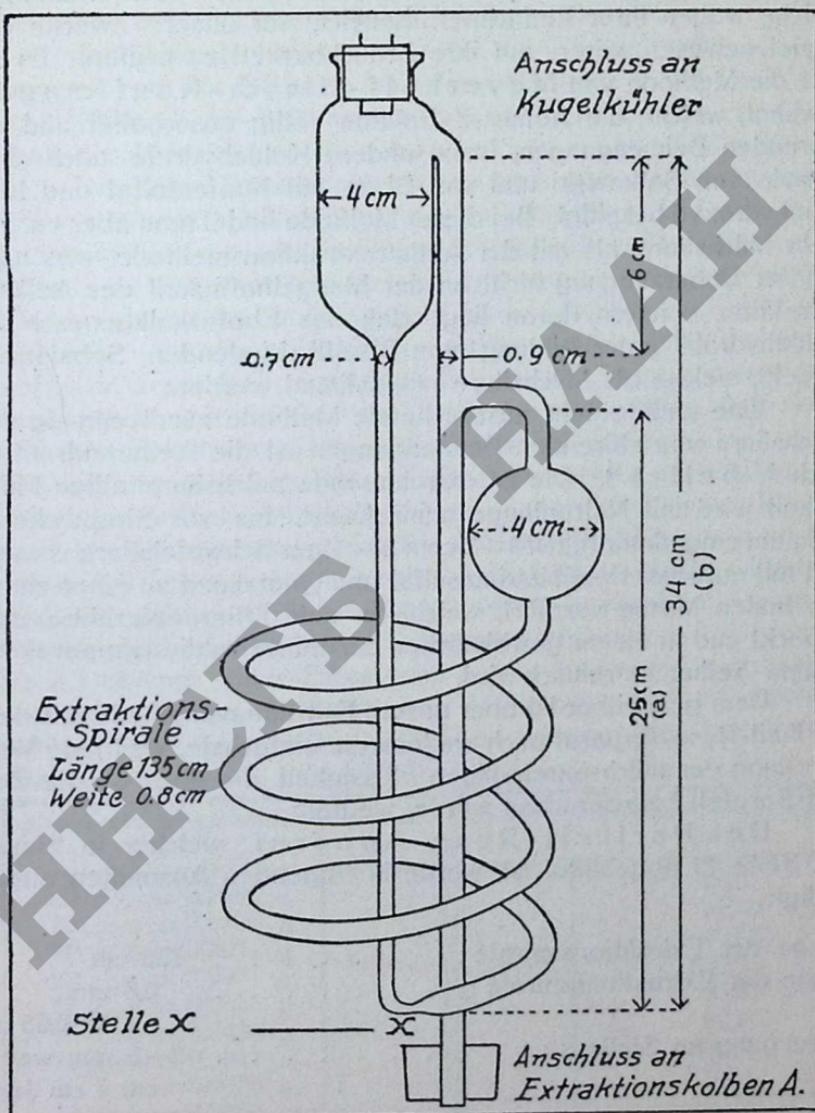
Der Embden-Lindsche-Apparat²⁾ arbeitet vorzüglich, liefert stets 98–99-%-ige Milchsäureausbeuten bei einer Extraktionsdauer von nur 6–8 Stunden. Er hat aber den Nachteil, daß man zu seinem Betriebe einen Motor verwenden muß, was vor allem unbequem wird, wenn man mehrere Apparate in Betrieb setzen muß.

Wir gaben auch diesen Apparat auf, nachdem es uns gelang, durch entsprechende Änderung der Ausmaße des Partheil-

¹⁾ Biochem. Z. 134. 476.

²⁾ Abderh. Arbeitsmethoden Bd. III S. 931

Partheil-Rose-Extraktionsapparat



Rose - Apparates einen in jeder Hinsicht idealen Extraktionsapparat zu erhalten.

Wir sahen, als dies erreicht war, davon ab, andere Methoden, welche wegen ihrer Einfachheit vielleicht für unsere Zwecke geeignet gewesen wären, auf ihre Brauchbarkeit zu prüfen. Es sei hier die Methode von Meyerhoff - Hirsch - Kauffmann¹⁾ erwähnt, welche die Aether-Extraktion völlig ausschaltet und die störenden Beimengungen, insbesondere Kohlehydrate nach dem Prinzip von Salkowski und van Slyke mit Kupfersulfat und Kalziumhydroxyd beseitigt. Bei dieser Methode findet man aber ca. 5 % mehr Milchsäure, als mit der Aetherextraktionsmethode, was nach unserer Überzeugung nicht an der Mangelhaftigkeit der Aetherextraktion, sondern daran liegt, daß das Kupferkalkgemisch die Kohlehydrate unter Bildung von Bisulfit bindenden Substanzen zerstört, welche als Milchsäure mitbestimmt werden.

Eine andere sehr ansprechende Methode zur Trennung der Milchsäure von störenden Beimengungen ist die Aetherextraktion nach A. Bellet²⁾. Die zu extrahierende milchsäurehaltige Flüssigkeit wird mit Natronlauge neutralisiert, bis zur Sirupdicke in Vakuum eingedampft, mit 1-2 ccm 20-%iger Schwefelsäure versezt und mit entwässerterem Natriumsulfat und Quarzsand zu einer ziemlich festen Masse verrührt, welche in eine Filterpapierhülse eingeschlagen und in einem gewöhnlichen Soxlethextraktionsapparat mit reinem Aether extrahiert wird.

Dem gegenüber ist aber unsere Extraktionsmethode mit dem Partheil-Rose-Apparat noch weitaus die einfachste, weil jede Vorbereitung der milchsäurehaltigen Flüssigkeit, die doch wieder Zeit und Sorgfalt beanspruchen würde, wegfällt.

Der Partheil-Rose-Apparat, welcher in Skizze auf Seite 15 abgebildet ist, wurde in folgenden Ausmaßen angefertigt:

Länge der Extraktionsspirale :	135 cm
Weite der Extraktionsspirale :	0,8 cm, 1. W. 0,65 cm
Verengung an Stelle x :	2-3 mm weit ca. 1 cm lang

¹⁾ C. 1924. II. 26. 84. und Z. f. physiol. Ch. 1924. 140. 35

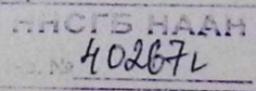
²⁾ Bull. soc. chim. France (4). 18. 565

Weite des sich an der Stelle x anschließenden senkrechten Rohres :	0,7 cm
Durchmesser der Kugel :	3,5—4 cm
Weite des in den Extraktionskolben A mündenden Ablaufrohres :	0,9 cm
Länge a von der Stelle x bis zum Ueberlauf :	25 cm
Gesamtlänge b des Ablaufrohres bis zur Stelle x:	34 cm
Inhalt des Extraktionskolben A :	250 ccm

Die Extraktionsspirale wurde, was sehr wichtig ist, an der Stelle x mit einer Verengung von 2—3 mm Weite und 1 cm Länge versehen, um ein gleichmäßiges tropfenweises Durchperlen des Aethers zu erreichen und um ein kommunizierendes Ueberlaufen der zu extrahierenden Flüssigkeit in den Extraktionskolben A zu verhüten. Auf die angegebene innere lichte Weite des Spiralrohres ist besonders zu achten. Die an der Stelle x durchperlenden Aetherropfen waren im Durchmesser so groß, daß sie die I. W. des Spiralrohres fast ganz ausfüllten und sich durch die zu extrahierende wässrige Flüssigkeit hindurchzwängen mußten. Der Extraktionskolben wurde mit einer untergestellten elektrischen Kohlenfadenlampe angeheizt. Die entwickelte Wärme war so groß, daß in der Sekunde ca. 1 Tropfen Aether an der Stelle x hindurchging. Es gelang mit dem so konstruierten Apparat bei Anwendung von 10—30 ccm Flüssigkeit mit einem Milchsäuregehalt von 0,01 bis 0,3 Gramm unter Zusatz von 5 ccm 50-%iaer Phosphorsäure und 140—200 ccm Aethyläther in 16 Stunden eine 99—100-%ige, also praktisch quantitative Extraktion zu erreichen, wie Tabelle I zeigt.

T a b e l l e I.

Angewandte Menge Milds. g	Extraktions-Dauer Std	Extrahierte Menge Milds. in %
20 ccm = 0,1438 g	32	99,6
20 ccm = 0,1438 g	16	99,45
20 ccm = 0,207 g	16	99,85
20 ccm = 0,207 g	16	100,2
30 ccm = 0,207 g	16	99,62
20 ccm = 0,0434 g	16	99,5
10 ccm = 0,0065 g	16	95,5
10 ccm = 0,0065 g	16	98,2
10 ccm = 0,0065 g	16	101,6
10 ccm = 0,0065 g	16	99,8



Die in Spalte 1 der Tabelle I angegebenen Milchsäurewerte (= die in den Apparat eingeführten Milchsäuremengen) wurden nach einem von uns etwas abgeänderten Verfahren von Lunge (s. S. 22) bestimmt. Die Milchsäurewerte der Spalte 3 (= extrahierte Milchsäuremengen) wurden nach der Aldehydmethode von Fürlh-Charnass ermittelt. Die in dem Extraktionsapparat eingeführte Milchsäurelösung wurde vorher zur Beseitigung des Milchsäureanhydrids verseift. In den Extraktionskolben wurden 25 ccm Wasser zur Vermeidung der Anhydridbildung gegeben, so daß bei der Milchsäurebestimmung kein Anhydridfehler unterlaufen konnte und die Milchsäurewerte der Spalte 1 und 3 direkt vergleichbar waren. Wenn bei der Extraktion von 6,5 mg Milchsäure, einer sehr kleinen Menge, so schwankende und fehlerhafte Werte gefunden wurden, lag dies nicht an der Extraktion, sondern daran, daß die Aldehydmethode in diesem Bereich anfing, sehr schwierig zu werden. Es gelang nur bei peinlich sorgfältigem Arbeiten brauchbare Werte zu erhalten. Die Aldehydmethode wurde, wie später näher beschrieben (s. S. 21), der Bestimmung sehr kleiner Mengen Milchsäure angepaßt. Milchsäuremengen von 0,03 g an ließen sich dagegen schon recht genau bestimmen.

Es sei noch besonders hervorgehoben, daß wir mit einem nach der Abbildung in der Chemikerzeitung¹⁾ konstruierten Extraktionsapparat von Partheil-Rose, dessen Extraktionsspirale größer und erheblich dicker war und welchem die Verengung an der Stelle x fehlte, eine sehr ungleichmäßig verlaufende Extraktion und stets zu niedrige Extraktionswerte erzielten. Erst als wir obige Größenverhältnisse und Konzentrationen der Flüssigkeiten anwandten, gelangten wir zu den in Tabelle I dargelegten Ergebnissen. Wahrscheinlich ist die Extraktion schon in weniger als 16 Stunden beendet. Dies haben wir aber nicht untersucht, da uns die Extraktionsdauer von 16 Stunden befriedigte. Denn wir konnten jetzt bequem die Extraktion über Nacht gehen lassen, ohne Arbeitszeit am Tage zu verlieren.

Zu bemerken ist zur Extraktion noch folgendes:

Der Zutritt der von der Heizlampe herrührenden Lichtstrahlen zu dem Extraktionskolben, in welchem sich die extrahierte Milchsäure befindet, muß völlig vermieden werden, da sich Milch-

¹⁾ s. Z. f. Nahrungs- und Genußmittel Bd. 5, S. 1049 und Bd. 26, S. 648

säure im Licht unter Umständen zersetzt. Ferner müssen in den Extraktionskolben 25 ccm destilliertes Wasser gegeben werden, um zu vermeiden, daß die extrahierte Milchsäure in Anhydrid übergeht. Tut man das nicht, so muß man später das Anhydrid eigens verseifen. Denn Milchsäureanhydrid verursacht bei der quantitativen Bestimmung der Milchsäure nach der Aldehydmethode Fehler. Auch säuerte man, wie schon oben angegeben, die zu extrahierende milchsäurehaltige Flüssigkeit zweckmäßig mit Phosphorsäure und nicht mit Schwefelsäure oder Salzsäure an, da sich Phosphorsäure am mildesten gegen Milchsäure und insbesondere gegen die Beimengungen, von welchen die Milchsäure befreit werden soll, verhält.

Daß das Milchsäureanhydrid der genauen Bestimmung nach der Aldehydmethode von Fürth-Charnass zum großen Teil entgeht und daher Fehler verursachen kann, zeigt Tabelle II.

T a b e l l e II.

Milchsäure-Gehalt von 30 ccm Milchs.-Lösg., welche durch Verseifg. vom Anhydrid befreit worden sind.	Milchsäure-Gehalt derselben 30 ccm Milchs.-Lösung, welche das Anhydrid noch enthalten.
0,1937 g	0,1773 = 91,5 %
0,2148 g	0,1969 = 91,67 %
0,203 g	0,185 g = 91,13 %

Es wurden 4 ccm einer 85 % igen Milchsäure von Merck-Darmstadt mit einem Anhydridgehalt von ca. 15 % auf 100 ccm mit Wasser verdünnt und hiervon eine bestimmte Menge zur Bestimmung der Milchsäure nach der Aldehydmethode entnommen. In einem Falle wurde die Milchsäurelösung zur Beseitigung des Anhydrids mit n/10 Natronlauge nach Lunge verseift. Im anderen Falle wurde die Milchsäurelösung nicht verseift und mit dem gesamten Anhydridgehalt der Aldehydbestimmung unterworfen. Es zeigte sich, daß man nur ca. 91,5 % der tatsächlich vorhandenen Milchsäure findet, wenn man nicht das Anhydrid durch Verseifung mit n/10 Natronlauge vorher in freie Milchsäure verwandelt.

Wir gehen nun zur quantitativen Bestimmung der Milchsäure nach der Aldehydmethode von Fürth - Charnass über. Obwohl

diese Methode in der Literatur ¹⁾ verschiedene Male mit kleinen Aenderungen und Verbesserungen beschrieben worden ist, sei das in unserem Falle angewandte Verfahren genau beschrieben.

Die Apparatur bestand in einem 500 ccm fassenden Fraktionierkolben mit aufgesetztem 250 ccm fassenden graduierten Tropftrichter für die Kaliumpermanganatlösung. Der Fraktionierkolben war mittels Gummistopfen mit einem Liebigschen Kühler und dieser mittels Gummistopfen und einem bis zum Boden reichenden Vorstoß mit einem $\frac{1}{2}$ —1 Liter fassenden Meßzylinder verbunden, auf welchen noch ein Kugeltrichter aufgesetzt war.

In den Fraktionierkolben wurden 0,05—0,3 g Milchsäure gegeben und mit 200 ccm 1 % iger Schwefelsäure versetzt. In den Meßzylinder wurden 100 ccm reinstes destilliertes Wasser und soviel einer genau eingestellten n/10 Kaliumbisulfatlösung gegeben, daß nach beendigter Destillation noch ein Ueberschuß von 10—20 ccm n/10 Kaliumbisulfat verblieb. Der Meßzylinder wurde von außen völlig mit Eis gekühlt. Den Kugeltrichter füllte man mit reinstem destilliertem Wasser, um den Meßzylinder von dem Zutritt der Außenluft abzuschließen. Nachdem man die Apparatur völlig zusammengefügt und sich von der Dichtigkeit aller Verbindungsstellen überzeugt hatte, brachte man die Flüssigkeit im Fraktionierkolben langsam zum Sieden und ließ dann unter mäßigem Sieden tropfenweise n/40 Kaliumpermanganatlösung zulaufen. Man regulierte den Zulauf der Permanganatlösung in der Weise, daß der nächste Tropfen erst hinzukam, als der vorhergehende Tropfen sich entfärbt hatte. Bei Bestimmung von Milchsäuremengen von 0,005—0,05 g ließ man das Permanganat noch langsamer zulaufen. Auch hatten wir hier statt 200 ccm immer nur 100 ccm 1 % ige Schwefelsäure in den Fraktionskolben gegeben, um zu vermeiden, daß geringe Mengen Aldehyd gelöst blieben und bei weiterem Zu-tropfen von Permanganatlösung zu Essigsäure oxydiert wurden. Man ließ Permanganatlösung zutropfen bis Braunfärbung durch das überschüssige Permanganat eingetreten war und ließ noch 10 Minuten sieden. Dann spülte man die am Kühler und Vorstoß anhaftenden Aldehyd- und Bisulfatreste mit reinstem destilliertem Wasser, ebenso den Inhalt des Kugelrichters in den Meßzylinder, verschloß mit Kork- oder Glassstopfen und schüttelte kräftig um,

¹⁾ Biochem. Z. 26. 350, 45. 183, 50, 472 und 61, 347. Abderh. Handbch. V. 1257

damit der Acetaldehyd an das Bisulfit gebunden wurde. Nach 20 Minuten langem Stehenlassen in Eis konnte man den Ueberschuß des unverbrauchten Bisulfits mit n/20 Jodlösung zurückfiltrieren und in üblicher Weise die gesuchte Milchsäuremenge feststellen.

Wir benützten den von Fürth und Charnass zur Umrechnung des Acetaldehyds in Milchsäure ermittelten Faktor von $f = 0,005$ und kamen hierbei zu den in Tabelle III zusammengestellten Ergebnissen, die zugleich die Genauigkeit der Methode darlegen.

T a b e l l e III.

Milchsäure n. Lunge	Milchsäure n. Charnass	Fehler in %
0,2182 g	0,2187	+ 0,25
0,2182	0,2176	- 0,3
0,223	0,2222	- 0,4
0,2544	0,2541	- 0,01
0,2544	0,2550	+ 0,25
0,04354	0,044	+ 1,0
0,04354	0,044	+ 1,0
0,04354	0,0488	+ 0,6
0,04354	0,0484	- 0,32
0,0065	0,0068	+ 4,6
0,0065	0,0064	- 1,5
0,0065	0,0067	+ 3,1

Man kann Milchsäuremengen von 0,04—0,500 g mit einer Genauigkeit von $\pm 1,0 \%$ feststellen. Je kleiner die Milchsäuremengen werden, desto größer wird die Fehlergrenze und beträgt bei Milchsäuremengen von 6—10 mg ca $\pm 5 \%$. Die Fehlerquelle liegt einerseits darin, daß der entstehende Aldehyd unter Umständen weiter zu Essigsäure oxydiert wird, wodurch zu niedrige Werte entstehen oder anderseits darin, daß die vorgelegte Kaliumbisulfatlösung sich etwas zersetzt, wodurch zu hohe Milchsäurewerte gefunden werden.

Zum Gelingen der Methode sei ausdrücklich bemerkt, daß, wie schon Meyerhoff¹⁾ fand, zwecks Vermeidung der Zer-

seßung des Bisulfits und damit eintretender schwerer Fehler reinstes, stets dicht verschlossen aufbewahrtes Kalium- oder Natriumbisulfat und reinstes, eisgekühltes destilliertes Wasser zu verwenden ist, welches frei ist von katalytisch oxydierend wirkenden Metallspuren. Das gewöhnliche destillierte Laboratoriumswasser enthält meist noch schädliche Kupferspuren. Die Brauchbarkeit des Wassers prüft man folgendermaßen: Man gibt in einem 500 ccm Stehkolben zu 300 ccm des zu prüfenden Wassers 10 ccm n/10 Kaliumbisulfatlösung, verschließt dicht mit einem Gummistopfen, schüttelt kräftig durch, stellt den Kolben 3 Std. in Eis, schüttelt in dieser Zeit noch mehrmals durch und titriert dann mit n/10 Jod. Es dürfen in dieser Zeit höchstens 0,05 ccm n/10 Kaliumbisulfat verloren gehen. Ist das Wasser schlecht, dann destilliert man es am besten in Glasgefäßen und setzt zur Bindung der Kohlensäure soviel Barytwasser hinzu, daß das Wasser schwach alkalisch reagiert.

Zu den in Spalte 1 der Tabelle III angegebenen Milchsäurewerten nach Lunge ist noch folgendes zu bemerken: Sie wurden in reinen, verdünnten, wässrigen Milchsäurelösungen nach der Methode von Lunge¹⁾ zur Feststellung des Milchsäuregehaltes einer wässrigen Milchsäurelösung ergab nämlich sehr schwankende Werte, je nach der Anzahl von ccm Milchsäurelösung und je nach der Menge n-Natronlauge, welche man zur Bestimmung verwendete. Bei Zugabe von viel n-Natronlauge wurden höhere Werte gefunden als bei Zugabe von weniger n-Natronlauge. Dies fand auch schon Degener²⁾.

Die Methode wurde in der Weise abgeändert, daß die Milchsäurelösung, deren Milchsäuregehalt bestimmt werden sollte, zunächst mit n/10 Natronlauge unter Zugabe eines Tropfens Phenolphthalein als Indikator neutralisiert wurde. Dann gab man noch 1 ccm n/10 Natronlauge im Ueberschuß zu, wobei Rotfärbung eintrat, und setzte die Lösung in das siedende Wasserbad, bis Entfärbung eintrat. Dann gab man wieder 1 ccm n/10 Natronlauge hinzu und erwärme wieder auf dem kochenden Wasserbad. Trat innerhalb 10 Minuten keine Entfärbung mehr ein, so war die Verseifung beendet und der Ueberschuß von n/10 Natronlauge konnte zurück-

¹⁾ Lunge, Untersuchungsmethoden. Bd. III. 1911. 936

²⁾ C. 1897 II. 936

titriert werden. Traf aber wieder Entfärbung ein, so wurde nochmal 1 ccm n/10 Natronlauge zugegeben und in gleicher Weise fortgefahren. Auf diese Weise war es möglich, konstante Milchsäurewerte zu ermitteln, welche auch mit den Werten der Aldehydmethode von Fürth-Charnass übereinstimmten.

Der ganze Analysengang zur Bestimmung der Milchsäure von der Trennung bis zur eigentlichen Bestimmung, wie er bei unseren späteren Untersuchungen für die Zucker-Alkaligemische angewandt wurde, sei nun in Kürze geschildert.

Das alkalische Zuckergemisch, welches man nach beendigter Reaktionsdauer dem Thermostaten entnahm, wurde zunächst mit 37 % iger Salzsäure rasch abgestumpft und dann genau neutralisiert und mit Wasser auf 200 ccm aufgefüllt. Von dieser Lösung wurden gewöhnlich 10 ccm entnommen, in ein 50 ccm Kölbchen gebracht, mit 5 ccm 50 % iger Phosphorsäure versetzt und nach dem Umschütteln unter fleißigem Nachspülen mit Aether quantitativ in den Extraktionsapparat gebracht. Wenn der Milchsäuregehalt der Lösung sehr gering war, wurden statt 10 ccm von der neutralisierten Lösung 20 ccm genommen. Es sollten mindestens 0,010 gr Milchsäure im Extraktionsapparat vorhanden sein. Im Höchstfalle wurden 0,3—0,500 gr Milchsäure extrahiert. Im ganzen wurden 150—200 ccm Aether zugegeben. In den Extraktionskolben gab man 25 ccm Wasser. Dann extrahierte man 16 Stunden über Nacht. Am Morgen wurde der Aether von dem gewöhnlichen wässrigen Milchsäureextrakt abdestilliert, etwaige Spuren flüchtiger Säuren wurden durch 10 Minuten langes Abdampfen auf dem kochenden Wasserbad verjagt. Dann spülte man den wässrigen Milchsäureextrakt quantitativ in den Fraktionierkolben des Milchsäure-Bestimmungsapparates von Fürth-Charnass und führte weiterhin die Oxydation mittels n/40 Kaliumpermanganat, die Destillation und Bestimmung des Aldehyds und die Berechnung der Milchsäure, wie oben beschrieben, aus.

Der hier angewandte Analysengang zur Bestimmung der Milchsäure wurde geprüft, indem die Milchsäure auch mehrmals als Zinklaktaat nach dem von Buchner und Meissner¹⁾ beschriebenen Verfahren bestimmt wurde. Hierbei wurden Proben von verschiedenartigen Versuchen herangezo-

¹⁾ B. 41. 1009. Abderh. Arbeitsmethoden II, 1 S. 30

gen. Die Milchsäure wurde zunächst in der oben angegebenen Weise in unserem Extraktionsapparat extrahiert, dann von Aether und flüchtigen Säuren abgedunstet und im kochenden Wasserbad mit reinem Zinkhydroxyd versetzt. Auskristallisierung, Wägung und Identifizierung des Zinklaktates erfolgte nach der Vorschrift von Meisenheimer. Dabei ergaben sich die in Tabelle IV verzeichneten Resultate, welche mit den nach unserer Methode ermittelten Werten in Vergleich gestellt wurden. Man erhält nach Buchner-Meisenheimer ein klein wenig niedrigere Resultate, was wohl daran liegt, daß beim Waschen des Zinklaktates mit Alkohol Spuren von Zinklaktat in Lösung gehen. Doch ist die Uebereinstimmung, wie Tabelle IV zeigt, immerhin noch recht gut.

T a b e l l e IV.

10 g Invertzucker + 10 g NaOH in 100 ccm H ₂ O, 2 Tage bei 40° C.	
Milchsäure-Ausbeute nach unserer Methode %	nach Meisenheimer %
49,8 %	49,1 %
49,6 %	49,4 %
5 g Glukose + 40 g NaOH in 100 ccm H ₂ O, 14 Tage bei 25°	
Milchsäure-Ausbeute nach unserer Methode	nach Meisenheimer
55,8 %	55,0 %
56,0 %	54,8 %

Z u s a m m e n f a s s u n g .

Es war hiermit erwiesen, daß der ausgearbeitete Analysengang für die Bestimmung der Milchsäure in alkalischen Zuckerlösungen richtig ist. Es gelang mit Hilfe dieses Analysenganges die Bestimmung der Milchsäure derart zu verkürzen, daß die Trennung der Milchsäure durch Extraktion mit Aether höchstens 16 Stunden, die eigentliche Bestimmung der Milchsäure 2 — 3 Stunden

dauerle, während die bisher zur Bestimmung der Milchsäure in alkalischen Zuckerlösungen üblich gewesene Methode von Buchner-Meisenheimer zur Trennung der Milchsäure durch Extraktion mit Aether 1—2 Tage und die eigentliche Bestimmung der Milchsäure als Zinklaktat 3—4 Tage beanspruchte. Unser Extraktionsapparat arbeitete mit 99—100 % Ausbeute, die Milchsäure selbst konnte in Mengen von 0,040—0,5 gr mit \pm 1,0 % Fehler bestimmt werden.

HHCRB HAAH

II. Hexosen und Alkalien.

A. Invertzucker und Alkalien.

Kilian¹⁾ beobachtete, daß beim Stehen von Glukose- oder Fruktoselösungen mit Kali oder Natron bei gewöhnlicher Temperatur etwas Milchsäure gebildet wird; mehr bei höherer Temperatur. Tramm²⁾ fand, daß die Zufuhr von Luft ausgeschaltet werden müsse, denn bei genügender Zufuhr von Luft wird eine alkalische Zuckerlösung ohne jede Dunkelfärbung schon bei 45° völlig zerstellt und liefert fast ausschließlich Ameisensäure und Aldehyd, aber keine Milchsäure. Eine alkalische Zuckerlösung ist stark absorptionsfähig für Sauerstoff³⁾ und sehr empfindlich gegen Oxydationsmittel⁴⁾. Bei Gegenwart von Oxydationsmitteln, insbesondere oxydierend wirkenden Metallhydroxyden, konnte Milchsäure nicht nachgewiesen werden. Wenn sie sich bildete, wurde sie durch Oxydation zerstellt.

Begünstigend wirkt auf die Milchsäurebildung neben der erhöhten Temperatur auch die erhöhte Alkalikonzentration. Während Kiliani⁵⁾ bei ca. 7-stündigem Erhitzen von einem Teil Glukose und einem Teil KOH mit einem Teil Wasser auf 68° 30—40 Prozent Milchsäure fand, konnten Nencki und Sieber⁶⁾ bei Anwendung von 2 Teilen KOH, obwohl die zugeseigte Menge Wasser 5-mal so groß war und die Temperatur nur 30—40° betrug, in 48 Stunden bereits 47% Milchsäure gewinnen. Bei genügend langer Reaktionsdauer kann die Konzentration des Alkalins und auch die Temperatur erniedrigt werden, ohne daß die Milchsäureausbeute entsprechend sinkt. Meisenheimer⁷⁾ erhielt bei Einwirkung von 20 gr 4% iger Natronlauge auf 10 gr Glukose bei gewöhnlicher Temperatur in 40 Tagen 41,5% Milchsäure; bei Einwirkung von nur 8 gr 4% iger Natronlauge auf 10 gr Glukose in

¹⁾ B. 15. 701

²⁾ Pflügers Archiv 64. 575

³⁾ J. pr. 24. 498, 26. I; Z. f. physiol. Ch. 13. 66

⁴⁾ B. 41. 1009, 38. 620, Ann. 357. 214. 287, 335. 823

⁵⁾ B. 15. 136. 699, Z. 32. 893

⁶⁾ J. pr. 24. 498

⁷⁾ B. 41. 1009

91 Tagen 53 % Milchsäure. Fruktose liefert unter gleichen Verhältnissen mit 20 gr 4 % iger Natronlauge in 40 Tagen 50,6 % Milchsäure und mit 8 gr 4 % iger Natronlauge in 139 Tagen 54 % Milchsäure.

Fred Upson¹⁾ machte die Entdeckung, daß man bei Anwendung von n-Baryllauge nur kleine Mengen der α - und β -Metasaccharinsäure und der α - und β -Isosaccharinsäure, dagegen erheblich mehr dl - Milchsäure und dl - α , γ - Dioxybuttersäure erhält, während man mit 8 n-Natronlauge mehr Saccharinsäure und weniger Milchsäure findet. Upson führt dieses Ergebnis darauf zurück, daß verdünnteres (nicht zu verdünntes) Alkali zu Gunsten der Milchsäurebildung, während zu konzentrierteres Alkali derselben entgegenwirkt.

Mochte nun die größere Verdünnung des Alkalies die Hauptursache der erhöhten Milchsäurebildung gewesen sein, so war trotzdem die Frage nicht unberechtigt, ob auch das Kation des Alkalies bei dieser Reaktion eine Rolle spielte. Kiliani²⁾ insbesondere behauptete wiederholt im steten Gegensaß zu Nef³⁾, daß Unterschiede in der Wirkung der verschiedenen Alkalien, welche er spezifische Wirkungen nannte, bestehen. So schrieb Kiliani dem Kalziumhydroxyd eine spezifische Wirkung zu und behauptete, Saccharinsäure sei nur mit Kalziumhydroxyd erhältlich, nicht mit NaOH, oder Ba(OH)₂. Milchsäure fand er nur in geringen Mengen. Nef⁴⁾ konnte dagegen bei Benutzung irgend eines löslichen Metallhydroxydes neben dl-Milchsäure genau wie bei Kalziumhydroxyd immer eine ganze Anzahl von isomeren Saccharinsäuren feststellen. Nef⁵⁾ bezeichnete die spezifische Wirkung des Kalziumhydroxydes auf den Zucker, welche Kiliani beobachtet haben wollte, als einen Irrtum und behauptete, diese Wirkung hing mit der Konzentration des Kalziumhydroxydes zusammen. Die Konzentration des angewandten Metallhydroxydes hätte einen auffallenden Einfluß auf die Natur und relative Menge der entsprechenden Saccharinsäuren. Wären die Konzentrationen der angewandten Metallhydroxyde wie Pb(OH)₂, Ca(OH)₂, Ba(OH)₂, KOH, NaOH

¹⁾ C. 1911, III. 533

²⁾ B. 13. 2212, 41. 158

³⁾ Ann. 357. 801—818

⁴⁾ Ann. 376. 1—11

⁵⁾ Ann. 376. 9—10

u. a. annähernd gleich, so würden sich aus den Zuckerarten selbstverständlich dieselben Saccharinsäuren und in derselben relativen Menge bilden.

Daß aber spezifische Wirkungen der Kationen nicht ausgeschlossen scheinen, geht u. a. aus den Versuchen von D u c l a u x¹⁾ und Z i k e s²⁾ hervor, welche beobachteten, daß KOH oder NaOH bei gleichzeitiger Sonnenbelichtung aus Glukose Alkohol und Kohlensäure bilden, während Ba(OH)₂ unter gleichen Bedingungen 50 — 60 % Milchsäure liefert.

Wie man sieht, sind die Zusammenhänge ziemlich verwinkelt. Die Art und Weise des Zuckerzerfalles hängt offenbar von vielen Faktoren ab. Wir versuchten, etwas mehr Licht in die Verhältnisse zu bringen durch das Studium der Kinetik der Milchsäurebildung. Wir beschränkten uns im Verlaufe unserer Untersuchungen ausschließlich auf diese und verschafften uns über andere Fragen, z. B. Saccharinsäurebildung, sowie über die Art und Menge anderer Reaktionsprodukte, nur einen allgemeinen Ueberblick.

Wir studierten zunächst folgende Einflüsse auf die Milchsäurebildung:

- 1) den Einfluß der Temperatur
- 2) den Einfluß der Alkalikonzentration
- 3) den Einfluß der Zuckerkonzentration
- 4) den Einfluß der verschiedenen Alkaliarten und machen
- 5) Versuche bei hohen Temperaturen.

Was den letzten Punkt anlangt, so nahmen wir besonders auf die Versuche von M. Schüe n b e r g e r³⁾ Rücksicht, welcher unter Anwendung sehr energischer Bedingungen, nämlich bei der Einwirkung konzentrierten Baryhydrates oder KOH auf Glukose oder Rohrzucker bei 150° und 160° 60 % Milchsäure, nach einer anderen Angabe⁴⁾ bei Verwendung von Rohrzucker und Baryhydrat bis 80 % Milchsäure gefunden haben will.

Wir begannen unsere Versuche mit dem aus Rohrzucker leicht darzustellenden Invertzucker, welcher zu gleichen Teilen aus d-Glukose und d-Fruktose besteht.

¹⁾ C. 1894. 196; 1897. 265. 1071; Centr. f. Bakt. II. Bd. 12. 292

²⁾ Ann. d. l'inst. Pasteur 10. 168 und 7. 751

³⁾ Bull. soc. chim. France 1876. T. XXV. S. 289; C. 76. 470

⁴⁾ B. 9. 448

Kapitel I.

Einfluß der Temperatur auf die Milchsäurebildung.

Inversion des Rohrzuckers. Zu den Versuchen wurden immer je 9,615 g reinste Saccharose in 25 ccm destilliertem, kohlensäurefreiem Wasser mit einem Zusatz von 0,2 ccm 10n-HCl eine Stunde auf dem Wasserbad bei 85 °C invertiert. Die Inversion lieferte hierbei genau 10 g Invertzucker, wie die Invertzuckerbestimmung nach Bertrand¹⁾ ergab. Theoretisch sollen 9,5 g Saccharose bei der Inversion 10,0 g Invertzucker ergeben. Da aber unsere Saccharose etwas wasserhaltig war, mußten wir von 9,615 g Saccharose ausgehen, um 10,0 g Invertzucker zu erhalten.

1. Versuche bei 25—60 °C.

Versuchsanordnung. Die Inversion von 9,615 g Saccharose wurde in gewogenen 100 ccm Erlenmeyerkölbchen (Jena) vorgenommen. Nach der Abkühlung auf 20 ° wurden 10 g Natriumhydroxyd in Form einer nach Sörensen²⁾ hergestellten ca. 15n-kohlensäurefreien Natronlauge mittels Pipette zugegeben, wobei sich das Gemisch auf 40 ° erwärmt und sich gelb färbte. Es wurde rasch mit kohlensäurefreiem destillierten Wasser verdünnt und auf 113,03 g aufgewogen. Das Gemisch kühlte sich dabei auf ca. 30 ° ab und hatte bei 25 ° ein dem Gewicht entsprechendes Volumen von genau 100 ccm. Wir erhielten also auf diese Weise eine Versuchslösung, bei welcher eine 2½ n - NaOH auf eine 10 % ige Invertzuckerlösung einwirkte. Nach dem Aufwiegen setzte man einen dichtschließenden Gummistopfen mit Glashahn auf, pumpte mit Hilfe einer Wasserstrahlpumpe den über der Flüssigkeit sich befindlichen 2—3 ccm großen Luftrest heraus und brachte das Kölbchen vor Licht geschützt in einen Ostwald'schen Thermostaten, welcher auf die jeweilige Versuchstemperatur mit einer absoluten Genauigkeit von ± 1/10 ° C eingestellt war.

NB. Es sei bemerkt, daß wir bei allen Versuchen dieser Arbeit kohlensäurefreies, destilliertes Wasser und kohlensäurefreie Natron- oder Kalilauge benutzt, auch wenn wir es nicht besonders angaben.

¹⁾ Euler, Chemie d. Enzyme, Anhang

²⁾ Biochem. Z. 21, 168

Das Ferligstellen des Reaktionsgemisches vom Beginn des Einfüllens der Natronlauge in die Invertzuckerlösung bis zum Einstellen in den Thermostaten wurde stets gleichmäßig vorgenommen und dauerte 10 Minuten (diese Zeit wird später Einfüllzeit genannt). Die eigentliche Reaktionsdauer rechnete man vom Augenblick des Einstellens des Kölbchens in den Thermostaten bis zu dem Augenblick, wo das alkalische Reaktionsgemisch neufralisiert wurde.

Die Neutralisation wurde so vorgenommen, daß man zunächst 10 ccm der Versuchslösung entnahm, um darin das bei der Reaktion verbrauchte Alkali zu bestimmen. Den Rest (90 ccm) goß man in 25 ccm 10 n - HCl, wobei ein kleiner Überschuß von HCl verblieb, welcher mit Natronlauge gegen Lakmus genau neutralisiert wurde. Die so erhaltene neutralisierte Lösung füllte man in einem Meßkölbchen mit Wasser auf 200 ccm auf und entnahm hiervon 10 ccm zur Extraktion und Bestimmung der Milchsäure nach der auf S. 23 angegebenen Methode.

Die zur Bestimmung des unverbrauchten Alkalis dem Reaktionsgemisch entnommenen 10 ccm verdünnte man mit kohlensäurefreiem destillierten Wasser auf 100 ccm, entnahm hiervon 10 ccm zur Titration mit n/10 HCl. Die Titration wurde einmal mit Thymolphthalein als Indikator und einmal mit Methylorange als Indikator vorgenommen (Stufentitration), um unter Umständen einen Einblick in die Natur der entstandenen Säuren zu bekommen. Thymolphthalein hat seinen Umschlagspunkt bei $\text{pH} = 9,3$, während Methylorange bei $\text{pH} = 4,0$ umschlägt. Man könnte also mit Hilfe dieser beiden Indikatoren schwache Säuren fassen. Mit Thymolphthalein als Indikator wurde aber deshalb in erster Linie titriert, weil es einen deutlichen Farbumschlag (blau-farblos) ergibt und es mit seiner Hilfe gelingt, die bei der Reaktion unverbrauchte Lauge unter möglichster Vermeidung eines Fehlers zu bestimmen, welcher dadurch entsteht, daß alkalisch reagierende Salze von schwachen Säuren mitfiltriert und als freie unverbrauchte Natronlauge berechnet werden. Alkalisch reagierende Salze sind sicher stets vorhanden; denn die bei der Einwirkung von Alkalien auf Zucker entstehenden Saccharinsäuren sind schwache Säuren und werden von der anwesenden Lauge nur unter Bildung alkalisch reagierender Salze gebunden. Man darf annehmen, daß die Dissoziationskon-

stante der meisten Saccharinsäuren zwischen 10^{-4} und 10^{-5} liegt, sodaß eine Titration der alkalischen Salze dieser Säuren bei Verwendung von Thymolphthalein als Indikator nicht in Frage kommt. Sofern aber noch schwächere Säuren mit einer Dissoziationskonstante kleiner als 10^{-8} vorhanden sind, entsteht auch bei Verwendung von Thymolphthalein ein Titrationsfehler. Dieser eventuelle Fehler ist nicht vermeidbar.

Kohlensäure, welche mit der anwesenden Lauge Natriumkarbonat bilden und Fehler bei der Titration mit Thymolphthalein verursachen würde, da die Hälfte des Natriumkarbonats mittitriert werden würde, entsteht bei unserer Reaktion nicht.

Die in den späteren Tabellen angegebenen Werte für unverbrauchtes Alkali, d. h. für noch nicht in Reaktion getretenes Alkali, sind der besseren Uebersicht wegen in ccm n/10-NaOH ausgedrückt und geben die Menge Natronlauge an, welche in 1 ccm Versuchslösung als noch unverbraucht festgestellt wird. Auch bei den mit anderen Alkaliarten (KOH oder Ba(OH)₂) angestellten Versuchen wurden die verbrauchten und nicht verbrauchten Alkalimengen in Natronlauge umgerechnet. Es ist auch jeweils in den Tabellen angegeben, wieviel ccm n/10 NaOH ein ccm Versuchslösung zu der Zeit = 0 entspricht, d. h. zu einer Zeit, wo die Reaktion noch nicht begonnen hat und die Natronlauge noch nicht in Reaktion getreten ist. In der ersten Spalte dieser Rubrik befinden sich die mit Thymolphthalein als Indikator ermittelten Zahlen. Diese geben mit der oben gemachten Einschränkung die bei der Reaktion noch nicht verbrauchte Lauge an. Die Inversions-Salzsäure, welche einen kleinen Teil des zugegebenen Alkalis zu Beginn des Versuches neutralisierte, wurde bei Feststellung der noch nicht verbrauchten Lauge in Rechnung gesetzt. In der zweiten Spalte dieser Rubrik befinden sich die mit Methylorange ermittelten Zahlen. In der Rubrik rechts daneben stehen die aus der Thymolphthalein- und Methylorange - Titration (Stufen-Titration) ermittelten Differenzwerte, welche ein Maß für die relative Menge der entstandenen schwachen Säuren, insbesondere Saccharinsäuren sind. Man muß dabei allerdings berücksichtigen, daß auch ein kleiner Teil des Natriumlaktaates bei der Titration mit Methylorange mittitriert wird.

Eine Vorstellung von dem Fortschreiten der Saccharinsäurebildung suchten wir auch dadurch zu bekommen, daß wir den Nat-

ronlaugeverbrauch für die Restprodukte heranzogen. Zu den Restprodukten zählen neben der α , γ -Dioxybuttersäure und den Zuckerharzen (polymeren Zuckerresten) in erster Linie die Saccharinsäuren. Wir stellten den Natronlaugeverbrauch für diese Produkte durch Abzug der an Milchsäure gebundenen Natronlaugemenge von der bei der Reaktion insgesamt verbrauchten Natronlaugemenge fest.

Auch über die relative Menge der gebildeten ätherlöslichen Harze konnten wir uns ganz gut unterrichten, indem wir die Anzahl von ccm n/40 Kaliumpermanganat bestimmten, welche zur Entfärbung des Harzes notwendig waren. Die Entfärbung des gelben Harzes mittels Permanganat erfolgt im Gegensaß zur Oxydation der Milchsäure mittels Permanganat äußerst leicht, sodaß man Harze neben Milchsäure mittels n/40 Permanganat titrieren kann. Die Bestimmung der Harze wurde immer gleichzeitig mit der Milchsäurebestimmung ausgeführt. Man verwandte die mit Aether extrahierte und mit Schwefelsäure angesäuerte Milchsäurelösung, welche das gelbe ätherlösliche Harz mitenthält und bei dem Milchsäurebestimmungsverfahren mit n/40 Permanganat titriert wird. In den späteren Tabellen ist immer die Anzahl ccm ursprüngliche Versuchslösung bzw. die in der Anzahl ccm Versuchslösung zu Beginn des Versuches vorhanden gewesene Zuckermenge angegeben, welche zur Aether - Extraktion verwandt wurde und auf welche sich der Permanganatverbrauch bezieht.

Unter den oben angegebenen Konzentrationsverhältnissen, Anwendung einer 2½ n - NaOH und einer 10 % igen Invertzuckerlösung, wurden Versuche bei 25°, 40°, 50° und 60° angestellt. Vorweg bemerken wir, daß die Versuche bei 25° als die genauesten anzusehen sind, da hier die Reaktion am langsamsten verläuft und die durch Temperaturschwankungen eintretenden Versuchsfehler vermieden werden konnten. Nach Ablauf der Einfüllzeit von 10 Minuten hatte das alkalische Zuckergemisch die Temperatur von 25° angenommen und wurde in den Thermostaten bei 25° gebracht. Von diesem Zeitpunkt an wurde die Reaktionsdauer gerechnet; auch bei den Versuchen, welche wir bei 40°, 50° und 60° ausführten.

Wir seßlen unsere Versuche bei der jeweiligen Versuchstemperatur immer solange fort, bis die Milchsäureausbeute und

der Alkaliverbrauch nicht mehr zunahmen und somit Stillstand der Reaktion eingetreten war.

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in den Tabellen 1 a, b, c; 2 a, b, c; 3 a, b; 4 a, b und 5 niedergelegt.

Die mit dem Index b versehenen Tabellen sind aus den mit a bezeichneten Tabellen und die mit dem Index c versehenen Tabellen aus den mit b bezeichneten Tabellen hervorgegangen.

In den mit b bezeichneten Tabellen finden sich die Werte für an Milchsäure und Restprodukte gebundene Natronlauge in g. Die Werte für an Milchsäure gebundene Natronlauge wurden aus den gefundenen Milchsäuremengen errechnet. Die Werte für an Restprodukte gebundene Natronlauge erhielten wir durch Abzug des an Milchsäure gebundenen Alkalis vom Gesamtverbrauch an Alkali. Die jeweils gefundenen Natronlaugewerte wurden noch in % vom Gesamtverbrauch an Natronlauge ausgedrückt. In den mit c bezeichneten Tabellen finden sich die Werte für an Milchsäure und Restprodukte gebundene Natronlauge umgerechnet in % vom maximalen Laugeverbrauch für Milchsäure bzw. Restprodukte.

Tabelle 1a.

2½ n - NaOH und 10 % ige Invertzuckerlösung bei 25°

Vers.-Zeit Std.	Milchs.-Ausb. %	Unverbr. NaOH in 1 ccm Vers.-lösung		Stufen-titration Diff. ccm	ccm n/40 Permanganat pro 4,5 ccm Vers.lösg. oder 0,45 g Zucker	zur Entfärbung des Harzes	Gesamtverbr. f. Milchs.-bestimmung und Harz
		Thymolph-talein n/10 ccm	Methyl-orange n/10 ccm				
0	0	25,0	25,0	0	0	0	0
1/2	2,42	23,75	—	—	0	50	
1	3,13	23,35	—	—	0	60	
3	7,25	22,9	—	—	0	70	
5	11,1	22,5	23,3	0,8	0	80	
7	14,3	22,1	22,9	0,8	0	100	
16	23,7	20,65	21,9	1,25	0	150	
24	30,1	19,5	20,9	1,4	5	180	
48	41,5	17,6	20,25	2,65	10	240	
3 Tg.	47,2	16,6	19,15	2,55	15	290	
6 Tg.	50,6	16,2	18,8	2,6	15	300	
8 Tg.	50,5	16,2	18,8	2,6	15	300	

Tabelle 1b. Ergänzung zu Tabelle 1a.
 $\frac{1}{2}$ n - NaOH und 10 % ige Invertzuckerlösung bei 25 °

Zeit	Gesamt-verbrauch an NaOH g	an Milchs. gebundene NaOH g	in % vom Gesamt-verbrauch	an Restprod. gebundene NaOH g	in % vom Gesamt-verbrauch
0	0	0	0	0	0
$\frac{1}{2}$ Std.	0,500	0,108	21,6	0,392	78,4
1 "	0,660	0,160	24,3	0,500	75,7
3 "	0,840	0,322	38,3	0,518	61,7
5 "	1,000	0,493	49,3	0,507	50,7
7 "	1,160	0,636	54,8	0,524	45,2
16 "	1,740	1,053	60,5	0,687	39,5
24 "	2,200	1,338	60,8	0,862	39,2
48 "	2,960	1,844	62,3	1,116	37,7
3 Tage	3,360	2,098	62,4	1,262	37,6
6 "	3,520	2,240	63,6	1,280	36,4
8 "	3,520	2,240	63,6	1,280	36,4

Tabelle 1c. Ergänzung zu Tabelle 1a.
 $\frac{1}{2}$ n - NaOH und 10 % ige Invertzuckerlösung bei 25 °

Zeit	an Milchs. geb. NaOH in % vom maximalen Verbr. an NaOH f. Milchs.	an Restprod. geb. NaOH in % vom maximalen Verbr. an NaOH f. Restprodukte
$\frac{1}{2}$ Std.	4,8	30,6
1 "	7,1	39,1
3 "	14,4	40,5
5 "	22,0	39,6
7 "	28,4	40,9
16 "	47,0	53,7
24 "	59,7	67,3
48 "	82,3	87,2
3 Tage	93,7	98,6
6 "	100,0	100,0
8 "	100,0	100,0

Tabelle 2a.

 $2\frac{1}{2}$ n - NaOH und 10 % ige Invertzuckerlösung bei 40°

Vers.-Zeit Std.	Milchs.-ausb. %	Unverbr. NaOH in 1 ccm Vers.-lösung		Stufen-titration Diff. ccm	ccm n/40 Permanganat pro 4,5 ccm Vers.lösg. oder 0,45 g Zucker	z. Entfärbung des Harzes	Gesamtverbr. f. Milchs.-bestimmung und Harz
		Thymolph-talein n/10 ccm	Methyl-orange n/10 ccm				
0	0	25,0	25,0	0	0	0	0
1/4	6,1	23,6	24,2	0,6	1	50	
1/2	11,9	22,9	23,7	0,8	2	90	
1	18,2	21,7	23,1	1,4	4	130	
2	26,9	20,25	21,9	1,65	6	200	
3	34,1	19,35	21,3	1,95	10	250	
5	41,6	17,9	19,85	1,95	15	260	
7	42,9	17,3	19,1	1,8	24	270	
16	48,4	16,55	18,9	2,35	24	300	
24	50,4	16,1	18,8	2,7	24	320	
30	50,8	16,2	18,9	2,7	24	320	

Tabelle 2b. Ergänzung zu Tabelle 2a.

 $2\frac{1}{2}$ n - NaOH und 10 % ige Invertzuckerlösung bei 40°

Zeit Stunden	Gesamt-verbrauch an NaOH g	an Milchs. gebundene NaOH g	in % vom Gesamt- verbrauch	an Restprod. gebundene NaOH g	in % vom Gesamt- verbrauch
1/4	0,560	0,271	48,4	0,289	51,6
1/2	0,840	0,529	63,0	0,311	37,0
1	1,320	0,809	61,3	0,511	38,7
2	1,900	1,196	62,9	0,704	37,1
3	2,360	1,516	64,2	0,844	35,8
5	2,840	1,849	65,1	0,991	34,9
7	3,080	1,907	61,9	1,173	38,1
16	3,380	2,151	63,6	1,229	36,4
24	3,520	2,240	63,6	1,280	36,4
30	3,520	2,240	63,6	1,280	36,4

Tabelle 2c. Ergänzung zu Tabelle 2b.

2½ n - NaOH und 10 % ige Invertzuckerlösung bei 40°

Zeit Stunden	an Milds. geb. NaOH in % vom maximalen Verbr. an NaOH f. Milds.	an Restprod. geb. NaOH in % vom maximalen Verbr. an NaOH f. Restprodukte
1/4	12,1	22,6
1/2	23,6	24,3
1	36,1	40,0
2	58,4	55,0
3	67,7	65,9
5	82,5	77,4
7	85,1	91,6
16	96,0	96,0
24	100,0	100,0
30	100,0	100,0

Tabelle 3a.

2½ n - NaOH und 10 % ige Invertzuckerlösung bei 50°

Vers.- Zeit	Milds. ausb.	Unverbr. NaOH in 1 ccm Vers.- lösung		Stufen- titration Diff.	ccm n/40 Permanganat pro 4,5 ccm Vers.-lösg. oder 0,45 g Zucker		
		Thymolph- talein n/10 ccm	Methyl- orange n/10 ccm		ccm	z. Entfärb- ung des Harzes	Gesamtverbr. f. Milds.- bestimmung und Harz
Std.	%						
0	0	25,0	25,0	0	0	0	0
1/2	27,9	21,05	22,6	1,55	30	190	
1	38,1	17,7	19,15	1,45	40	260	
2	44,3	16,6	19,1	2,5	40	290	
3	47,0	16,25	18,8	2,55	45	320	
5	48,3	16,2	18,8	2,6	40	340	
7	48,4	16,2	18,9	2,7	40	340	

Tabelle 3 b. Ergänzung zu Tabelle 3 a.
2½ n - NaOH und 10 % ige Invertzuckerlösung bei 50°

Zeit Stunden	Gesamt- verbrauch an NaOH g	an Milchs. gebundene NaOH g	in % vom Gesamt- verbrauch	an Restprod. gebundene NaOH g	in % vom Gesamtver- brauch
½	1,580	0,796	50,4	0,784	49,6
1	2,920	1,693	58,0	1,227	42,0
2	3,360	1,969	58,6	1,391	41,4
3	3,480	2,089	60,0	1,391	40,0
5	3,520	2,135	60,7	1,385	39,3
7	3,520	2,135	60,7	1,385	39,3

Tabelle 4 a.
2½ n - NaOH und 10 % ige Invertzuckerlösung bei 60°

Vers.- zeit Std.	Milchs.- ausb. %	Unverbr. NaOH in 1 ccm Vers.- lösung		Stufen- titration Diff. ccm	ccm n/40 Permanganat pro 4,5 ccm Vers.-lösungen oder 0,45 g Zucker	
		Thymolph- talein n/10 ccm	Methyl- orange n/10 ccm		z Entfärbung des Harzes	Gesamt- verbr. f. Milchs.- bestimmung und Harz
0	0	25,0	25,0	0	0	0
½	30,7	19,30	21,4	2,1	30	230
¾	42,4	17,75	19,8	2,05	50	290
1	46,7	17,2	19,4	2,2	55	320
2	46,6	16,5	19,4	2,9	50	340
3	46,8	16,3	19,9	3,6	50	345
5	46,6	16,3	19,9	3,0	50	345

Tabelle 4 b. Ergänzung zu Tabelle 4 a.
2½ n - NaOH und 10 % ige Invertzuckerlösung bei 60°

Zeit Std.	Gesamt- verbrauch an NaOH g	an Milchs. gebundene NaOH g	in % vom Gesamt- verbrauch	an Restprod. gebundene NaOH g	in % vom Gesamt- verbrauch
¼	2,280	1,364	59,8	0,916	40,2
½	2,980	1,884	63,2	1,096	36,8
1	3,240	2,076	64,1	1,164	35,9
2	3,400	2,071	60,9	1,329	39,1
3	3,480	2,080	59,8	1,400	40,2
5	3,480	2,080	59,8	1,400	40,2

T a b e l l e 5.
Maxima aus den Versuchen bei 25°, 40°, 50° und 60°.

Versuch bei	25°	40°	50°	60°
Halbwertzeit in Min.	1080	107	24	9,9
Milchsäureausbeute in % . . .	50,6	50,4	48,3	46,6
AetherlösL Harz in ccm n/40				
Permanganat	15	24	40	50
Gesamtalkaliverbrauch g . . .	3,52	3,52	3,52	3,48
a) an Milchsäure gebund. Teil	2,24	2,24	2,135	2,08
b) an schw. SS. " "	1,28	1,28	1,385	1,40
Durchschn. Aequiv.-Gew. der				
Restprodukte	156	156	140	130

Tabelle 5 enthält die Zusammenstellung einiger Maxima aus den Versuchen bei 25°, 40°, 50° und 60°, u. a. die Halbwertzeit, d. i. Reaktionsdauer bis zur Bildung von 50 % der maximal gebildeten Milchsäuremenge, welche ein Maß für die Geschwindigkeit der Milchsäurebildung ist, ferner das durchschnittliche Äquivalentgewicht der Restprodukte am Schluß der Reaktion, welches aus dem Natronlaugeverbrauch für Restprodukte ermittelt wurde. Hierbei nahmen wir als Restprodukte alle Produkte an, welche nicht Milchsäure und Zucker waren. Bei einer Milchsäureausbeute von 50,6 % z. B. betrachteten wir den Rest = 49,4 % als Restprodukte; denn Zucker war keiner mehr vorhanden. S. Kap. III, S. 55.

Die Halbwertzeit wurde aus den Milchsäurekurven des Diagramms Nr. I ermittelt.

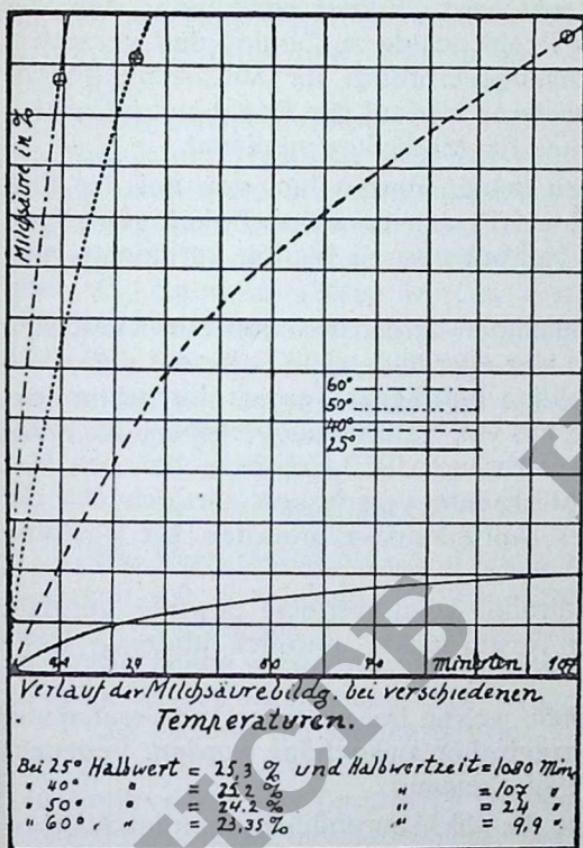
Es ergibt sich aus den Versuchen folgendes:

Die Milchsäureausbeute läßt sich unter den angewandten Temperaturen und Bedingungen nicht über 50 % hinaus steigern.

Das Milchsäuremaximum sinkt etwas mit steigender Temperatur. Im Einklang hiermit steht die geringe Abnahme des Gesamtnatronlaugeverbrauches mit der Temperaturerhöhung und die entsprechende Zunahme des Natronlaugeverbrauches für die Restprodukte, sowie die Zunahme der durch die Stufentfiltration ermittelten Differenzwerte, welche die relative Menge der gebildeten

schwachen Säuren, insbesondere Saccharinsäuren, zum Ausdruck bringen.

Diagramm I.



Restprodukte hervorgeht. Die Steigerung des Natronlaugeverbrauches für Restprodukte hat aber auch noch einen anderen Grund, wie weiter unten hervorgeht.

Hinsichtlich des Natronlaugeverbrauches für Restprodukte macht man bei den bei 25° angestellten Versuchen noch besondere Beobachtungen.

Zunächst erkennt man, daß der Natronlaugeverbrauch für Restprodukte zu Beginn des Versuches eine gewisse Zeit, von $\frac{1}{2}$ bis 7 Stunden, konstant bleibt, während der Natronlaugeverbrauch für Milchsäure stetig wächst; s. Tab. 1 b und c. Erst von der 7.

Die Harzbildung nimmt mit steigender Temperatur etwas zu.

Die Geschwindigkeit der Milchsäurebildung steigt mit der Temperaturerhöhung, s. Tab. 5. Bei Erhöhung der Temperatur von 25° auf 40° steigt die Geschwindigkeit um das 10-fache, von 40° auf 50° um ungefähr das 5-fache, von 50° auf 60° um ungefähr das 2-fache. Desgleichen steigt die Bildung der an Natronlauge gebundenen Restprodukte mit der Temperaturerhöhung, wie aus dem mit steigender Temperatur zunehmenden Alkali-

Verbrauch für

bis 16. Stunde an beginnt der Natronlaugeverbrauch für Restprodukte wieder langsam zu steigen. Es scheint, als ob die Bildung der Restprodukte eine zeitlang zum Stillstand kommt und nur die Milchsäurebildung fortgesetzt wird. Ferner sieht man, daß der Natronlaugeverbrauch für Restprodukte zu Beginn des Versuches im Verhältnis zum Natronlaugeverbrauch für Milchsäure bedeutend größer ist, aber im weiteren Verlauf der Reaktion zu Gunsten des Natronlaugeverbrauches für Milchsäure abnimmt.

Diese Erscheinungen deuten darauf hin, daß bei der Einwirkung von Natronlauge auf Zucker zunächst Zwischenprodukte gebildet werden, welche Natronlauge zu binden vermögen, also Säurecharakter besitzen.

Die gleichen Erscheinungen zeigen sich bei den Versuchen bei 40 °, s. Tab. 2 a, b, c; hier allerdings nicht mehr mit derselben Deutlichkeit, weil die Reaktion bei dieser Temperatur schon sehr rasch verläuft. Das Verhältnis von Natronlaugeverbrauch für Restprodukte zu Natronlaugeverbrauch für Milchsäure hat sich hier bereits zu Gunsten der Milchsäure verschoben. Jedoch ist die anfängliche Konstanz des Natronlaugeverbrauches für Restprodukte noch erkennbar.

Auch in der Stufentitration zeigt sich eine gewisse, mit dem Natronlaugeverbrauch für Restprodukte parallel laufende Konstanz; s. Tab. 1 a.

In späteren Versuchen, welche bei niederer Temperatur und mit geringerer Laugenkonzentration ausgeführt wurden, begegnet uns noch einmal dieselbe Erscheinung.

In Tabelle 4a, welche die Milchsäurebildung und den Natronlaugeverbrauch bei 60 ° angibt, fällt auf, daß nach 1-stündiger Reaktionsdauer, d.h. zu einer Zeit, wo die Milchsäurebildung schon ihr Maximum erreicht hat, der Natronlaugeverbrauch immer noch zunimmt und erst nach 2½ Stunden sein Ende erreicht. Es scheinen, nachdem die Milchsäurebildung zum Stillstand gekommen ist, die hochmolekularen Zuckerharze, welche bei 60 ° in großen Mengen vorhanden sind, durch den Einfluß der überschüssigen Natronlauge bei längerer Reaktionsdauer noch eine Veränderung zu erfahren, wobei Natronlauge verbraucht wird. Wir stellten auch bei der Titration der ätherlöslichen Harze mittels n/40 Permanganat eine Abnahme derselben fest. Bekannt ist ja auch, daß die Fär-

bung der alkalischen Zuckerlösung bei langer Reaktionsdauer wieder abnimmt, was auf eine Veränderung der Harze durch den Einfluß der Natronlauge hindeutet. Im Zusammenhang hiermit stellen wir mit Hilfe der Stufentfiltration eine weitere Zunahme der schwachen Säuren nach dem schon erreichten Milchsäuremaximum fest.

Das durchschnittliche Aequivalentgewicht der Restprodukte am Schluß der Reaktion sinkt mit steigender Temperatur. Dies deutet auf stärkere Zersetzung des Zuckers bei höherer Temperatur hin, wobei mehr Säuren mit kürzerer Kohlenstoffkette, event. C₅-Säuren, welche das Aequivalentgewicht 120 besitzen, gebildet werden. C₅-Saccharinsäuren würden das Aequivalentgewicht 150, C₆-Saccharinsäuren das Aequivalentgewicht 180 besitzen.

Die Bildung von Säuren mit niedrigerem Aequivalentgewicht ist auch mit ein Grund, warum der Natronlaugeverbrauch für Restprodukte größer ist.

2. Versuche bei 120 — 180 ° im Autoklaven.

Die Versuchslösungen wurden in eine Glasbirne aus Jenaer Glas von 100 ccm Inhalt und dann durch Zusammelzen der Birne luftdicht verschlossen in den Autoklav gebracht.

Wir ließen wieder eine kohlensäurefreie 2½n-NaOH auf eine 10 % ige Invertzuckerlösung einwirken.

Die Füllung der Birnen mit der Versuchslösung geschah im einzelnen wie bei den Versuchen bei 25—60 °. Vor dem Abschmelzen wurde der in der Birne noch vorhandene Luftrest mittels einer Wasserstrahlpumpe herausgesaugt. Die Zeit zum Füllen der Birne betrug 10 Minuten. In ein Tuch eingeschlagen, wurde die gefüllte Birne in den Autoklav verbracht, welcher mit Wasser gefüllt und bereits auf Kochtemperatur erhitzt war. Nun verschloß man denselben, erhitzte durch entsprechende Regulierung der Bunsenflammen in ½ Stunde auf die Versuchstemperatur 120 °, bzw. 140, 160 und 180 ° und hielt die Temperatur solange konstant, als es der Versuch erforderte. Dann entließ man langsam den Dampf zwecks Abkühlung, was bei den bei 120 und 140 ° angestellten Versuchen ¼ Stunde, bei den bei 160 und 180 ° angestellten Versuchen ½ Stunde dauerte, öffnete den Autoklav und kühlte die Birne in ½ Stunde auf Zimmertemperatur ab. Dann wurde sie

durch Abschlagen der an beiden Enden befindlichen Schmelzspitzen geöffnet und der Inhalt quantitativ in ein 200 ccm Meßkölbchen, welches zum Abstumpfen der alkalischen Versuchslösung 25 ccm 10n-HCl enthielt, entleert. Nach genauer Neutralisation füllte man die Lösung mit Wasser auf 200 ccm auf und entnahm ihr 10 ccm zur Bestimmung der Milchsäure.

Das Ergebnis dieser Versuche ist in den Tab. A, B verzeichnet. Als Reaktionsdauer haben wir in den Tabellen nur die Zeit angegeben, während welcher die Versuchstemperatur eingehalten wurde. Die Zeit, welche zum Erhitzen des Autoklaven auf die Versuchstemperatur und zum Abkühlen desselben und der Birne notwendig war, wurde, da sie bei allen Versuchen die gleiche war, nicht mit in die Reaktionsdauer eingerechnet. In Tab. B haben wir den bei 160 ° erfolgenden Natronverbrauch angegeben. Die ermittelten Zahlen sind aber ungenau, insbesondere ist die bei dem 2-stündigen Versuch ermittelte Zahl sehr ungenau. Bei 160 ° wird das Jenaer Glas schon sehr stark angegriffen und es gelangt sehr viel Natriumsilikat in die alkalische Zuckerlösung, welches die Alkalität der Lösung beträchtlich erhöht. Bei Bestimmung der unverbrauchten Natronlauge durch Titration wird also das in Lösung gegangene Natriumsilikat mittitriert.

Als Ergebnis der Versuche kann folgendes festgestellt werden:

Tabelle A.
Milchsäureausbeute in % bei den Temperaturen 120 °, 140 °,
160 ° und 180 ° nach verschiedenen Zeiten.

Reaktionsdauer in Stunden	1/2	1	1 1/2	2	2 1/2
Milchsäureausbeute in %					
bei 120 °	47	48	47	47	47,5
„ 140 °	48	—	—	—	—
„ 160 °	48	—	—	48	—
„ 160 °	48,5	—	—	48,3	—
„ 180 °	—	—	—	48,5	—
„ 180 °	—	—	—	49	—

Tabelle B.
Ergänzung zu Tabelle A.

Versuchs- Temp. und Zeit	Milchs- ausbeute %	ccm n/40 Permanganat pro 5 ccm Vers.-lösung		NaOH- verbrauch %
		z. Entfärbung des Harzes	Gesamtverbr. für Harz und Milchsäure	
Bei 160 °				
$\frac{1}{2}$ Std.	48,5	200	—	26,56
" 160 °				
2 Std.	48,3	80	500	25,0
" 180 °				
2 Std.	49	100	560	—

Das Milchsäuremaximum ist bei den Temperaturen 120 ° bis 180 ° schon nach $\frac{1}{2}$ Stunde erreicht und es geht, wie bei den Versuchen unter 100 °, nicht über 50 % (47—48,5 %) hinaus.

Das alkalische Zuckergemisch färbt sich stets tief schwarzbraun unter Bildung großer Mengen ätherlöslicher Harze. Der Gehalt an ätherlöslichem Harz nimmt mit zunehmender Verlängerung der Reaktionsdauer ab und das Reaktionsgemisch färbt sich heller (bis rotgelb-braun). Der Abnahme der Harze steht keine Zunahme der Milchsäurebildung gegenüber. Die verschwundenen Harze können also nicht in Milchsäure übergegangen sein. Es ist daher auch die Annahme als irrig zu bezeichnen, daß die Harze Uebergangsprodukte bei der Milchsäurebildung sind. Milchsäurebildung und Harzbildung sind zwei getrennt nebeneinander herlaufende Prozesse.

Wirstellten fest, daß bei der mit längerer Reaktionsdauer unter dem Einfluß des überschüssigen Alkalies eintretenden Veränderung der Harze weder Kohlensäure noch Oxalsäure gebildet wird. Diese Produkte entstehen bei der Einwirkung von Natronlauge auf Invertzucker unter den bei uns angewandten Bedingungen überhaupt nicht. Mit großer Wahrscheinlichkeit gehen die Harze bei längerer Reaktionsdauer zum Teil in schwache Säuren, vielleicht Saccharinsäuren, über. Dies wäre nach der Theorie von Nef über die Entstehung der Saccharinsäuren (s. S. 103) durchaus

möglich. Der Saccharinsäurebildung geht nach Nef «Methylen-Bildung» voraus, und die Harze sind polymere Methylenderivate. Bei längerer Reaktionsdauer und auch infolge der hohen Temperatur könnten die Harze unter dem Einfluß des Alkalis wieder in Methylenderivate zerfallen, welche sich in Saccharinsäuren umwandeln. Zu dieser Annahme berechtigen auch die Ergebnisse der bei 60° angestellten Versuche, welche, wie schon erwähnt, eine geringe Abnahme der ätherlöslichen Harze nach bereits erfolgter Stagnation des Milchsäurebildungsprozesses bei gleichzeitig erfolgender weiterer Zunahme des Alkaliverbrauches und der Stoffentfiltrationsdifferenz, welche auf die Neubildung von schwachen Säuren hindeutete, ergaben.

Mit Bestimmtheit können wir schließlich annehmen, daß die Milchsäurebildung nicht wie Tollen's¹⁾ angenommen hat, über intermediäre Glukosaccharinsäure geht, wenigstens nicht unter den von uns angewandten Bedingungen. Denn erstens ist durch die Versuche von Nef und Upson festgestellt, daß die Glukosaccharinsäure auch bei noch so langer Reaktionsdauer stets in den Endprodukten vorhanden ist. Zweitens ist die maximale Milchsäureausbeute bei niedrigen wie hohen Temperaturen (von 25°—180°) dieselbe und geht nicht über 50% hinaus. Wäre die Glukosaccharinsäure das Zwischenprodukt, aus dem sich die Milchsäure bildet, dann müßte bei den hohen Temperaturen, wo doch die Einwirkung des Alkalis eine viel energischere ist, die Glukosaccharinsäure verschwinden und die Milchsäureausbeute zunehmen. Da letzteres nicht der Fall ist, müssen wir annehmen, daß die Glukosaccharinsäure bei den hohen Temperaturen noch ebenso unverändert vorhanden ist wie bei den niederen Temperaturen, 25—60°. Die Glukosaccharinsäurebildung ist demnach als ein selbständiger Prozeß anzusehen, der mit der Milchsäurebildung nichts zu tun hat. Er beginnt mit der Methylenbildung und endet mit der Saccharinsäurebildung.

Das hier Gesagte wird noch durch die im Kapitel III angestellten Versuche über die Feststellung des Zuckerverbrauches gestützt, indem sie zeigen, daß mit der Erreichung des Milchsäuremaximums sämtlicher Zucker in der Lösung aufgebraucht ist und sich umgesetzt hat. Sobald das Milchsäuremaximum eingetreten

¹⁾ B. 18, 1333.

und der Zucker völlig verbraucht ist, könnte eine weitere Steigerung der Milchsäureausbeute nur durch Zerfall der Glukosaccharinsäure erfolgen. Da diese aber nicht eintritt, kann Glukosaccharinsäure nicht das Zwischenprodukt bei der Milchsäurebildung sein.

Kapitel II.

Einfluß der Konzentration des Alkalis auf die Milchsäurebildung.

Wir stellten zum Studium dieser Frage ausschließlich Versuche bei 25° an und ließen bei dieser Temperatur einwirken:

- 1) eine 1,25 n - NaOH auf eine 10 % ige Invertzuckerlösung,
- 2) eine 2 ½ n - NaOH auf eine 10 % ige Invertzuckerlösung,
- 3) eine 5 n - NaOH auf eine 10 % ige Invertzuckerlösung.

Die Herstellung und Untersuchung der Versuchslösungen geschah wie bei den Versuchen des Kapitels I. Die Einfüllzeit betrug wieder 10 Minuten.

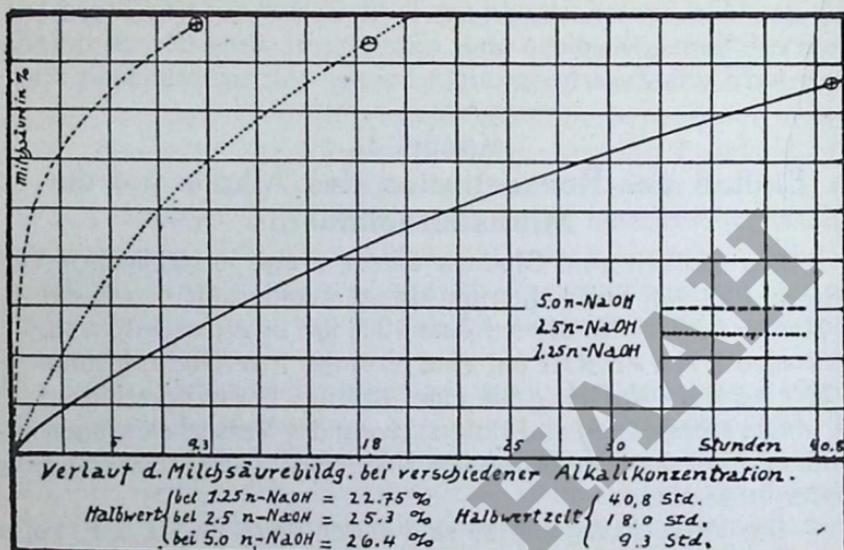
Die Versuchsergebnisse sind in den Tabellen 5 a, b, c, 1 a, b, c, 6 a, b und 7 niedergelegt.

Tabelle 7 enthält in der ersten Reihe die zu Beginn des Versuches herrschende Natronlaugekonzentration, in der zweiten Reihe die vorherrschende Natronlaugekonzentration nach Bildung von 50 Prozent der maximal gebildeten Milchsäuremenge und in den folgenden Reihen sonstige aus den Versuchen sich ergebende Zahlen, welche den Tabellen 5, 1 und 6 entnommen sind.

Zunächst ergibt sich aus den Versuchen, daß die maximale Milchsäureausbeute bei Anwendung einer größeren Alkalikonzentration steigt und zwar über 50 %.

Die Geschwindigkeit der Milchsäurebildung ist bei Anwendung von 5 n - NaOH 2 mal so groß wie bei Anwendung von 2 ½ n - NaOH und ungefähr 4 mal so groß wie bei Anwendung von 1,25 n - NaOH. Vergl. Halbwertzeiten in Tab. 7, welche aus den Milchsäurekurven des Diagramms Nr. II ermittelt wurden. Die Geschwindigkeit der Milchsäurebildung wächst also proportional mit der Alkalikonzentration. Für die niedrige Alkalikonzentration von 1,25 n - NaOH stimmt dieses Gesetz nicht mehr ganz genau, da in diesem Falle die Alkalikonzentration bis zur Erreichung von 50 % der maximal gebildeten Milchsäuremenge ziemlich stark, um über $\frac{1}{2}$, abnimmt, siehe Tab. 7.

Diagramm II.



Aus dem bei höherer Alkalikonzentration steigenden Natronlaugeverbrauch für Restprodukte zu Beginn der Reaktion lässt sich ferner schließen, daß auch die Bildung der Saccharinsäure mit der Zunahme der Alkalikonzentration beschleunigt wird, wobei das durchschnittliche Aequivalentengewicht dieser Säuren ungefähr erhalten bleibt, siehe Tab. 7.

Besonders bemerkenswert ist der im Verhältnis zum Natronlaugeverbrauch für Milchsäure sehr große Natronlaugeverbrauch für Restprodukte in dem Versuch mit 1,25 n - NaOH nach 1 Stunde, siehe Anhang z. Tab. 7 sowie Tab. 5 b im Vergleich zu Tab. 1 b und 6 b. Die Zuckersalze und die bei diesem Versuch stark auftretenden Zuckerharze (polymeren Zuckerreste) scheinen an diesem Natronlaugeverbrauch stark beteiligt zu sein. Die Zuckerharze bilden sich in größerer Menge in verdünnter Natronlauge. Im weiteren Verlauf der Reaktion beobachtet man bei diesem Versuch ein Steigen des Natronlaugeverbrauches für Milchsäure, somit eine Zunahme der Milchsäurebildung, nicht aber eine gleichzeitige Steigerung des Natronlaugeverbrauches für Restprodukte. Man hat dieselbe Erscheinung vor sich wie beim analogen Versuch mit 2,5 n - NaOH: einen zeitweisen Stillstand des Natronlaugeverbrauches für

die Restprodukte zu Beginn des Versuches bei gleichzeitig fortlaufender Zunahme des Natronlaugeverbrauches für Milchsäure. Der Stillstand dauert hier von der ersten bis 24. Stunde an, also 3 mal solange wie bei dem analogen Versuch mit 2,5 n - NaOH. Diese Erscheinung weist, wie schon erwähnt, auf Zwischenprodukte mit Säurecharakter hin.

Tabelle 5a.

1,25 n - NaOH und 10 % ige Invertzuckerlösung bei 25°.

Vers.-zeit	Milchs.-ausbeute %	Unverbr. NaOH in 1 ccm Vers.-lösung		Stufen- titration Diff. ccm	ccm n/40 Permanganat pro 4,5 ccm Vers.-Lösg. oder 0,45 g Zucker	Gesamt- verbr. für Milchs.- bestimmg. und Harz
		Thymolph- talein n/10 ccm	Methyl- orange n/10 ccm			
0	0	12,5	12,5	0	0	0
1 St.	1,5	11,05	11,55	0,5	0	30
7	6,07	10,9	11,4	0,5	5	60
1 Tg.	16,1	9,25	10,25	1,0	10	110
3 "	30,7	6,4	8,4	2,0	30	210
6 "	39,7	4,8	7,5	2,7	30	—
9 "	48,0	4,35	7,2	1,85	50	330
19 "	45,7	4,22	6,9—7,2	2,7—3,0	35	280
77 "	46,3	4,15	6,9—7,2	2,75—3,0	30	300

Tabelle 5b. Ergänzung zu Tab. 5a.

1,25 n - NaOH und 10 % ige Invertzuckerlösung bei 25°.

Zeit	Gesamt- verbrauch an NaOH g	an Milchs. gebundene NaOH g	in % vom Gesamt- verbrauch	an Restprod. gebundene NaOH g	in % vom Gesamt- verbrauch
1 Std.	0,580	0,066	11,4	0,514	88,6
7 "	0,640	0,270	42,2	0,370	57,8
1 Tg.	1,300	0,716	55,1	0,584	44,9
3 "	2,440	1,364	55,9	1,076	44,1
6 "	3,080	1,764	57,3	1,316	42,7
9 "	3,260	1,911	58,6	1,349	41,4
19 "	3,320	2,081	61,2	1,289	38,8
77 "	3,340	2,044	61,2	1,296	38,8

Tabelle 5c. Ergänzung zu Tab. 5a.
1,25 n - NaOH und 10 % ige Invertzuckerlösung bei 25°.

Zeit	an Milchs. geb. NaOH in % vom maximalen Verbr. an NaOH f. Milchs.	an Restprod. geb. NaOH in % vom maximalen Verbr. an NaOH f. Restprodukte
1 Std.	3,2	39,7
7 "	13,2	28,6
1 Tg.	35,0	45,1
3 "	66,7	83,0
6 "	86,3	101,5
9 "	93,5	104,6
19 "	99,4	99,6
77 "	100,0	100,0

Tabelle 6a.
5 n - NaOH und 10 % ige Invertzuckerlösung bei 25°.

Vers.-Zeit	Milchs.-ausbeute	Unverbr. NaOH in 1 ccm Vers.-lösung		Stufen-titration Diff.	ccm n/40 Permanganat pro 4,5 ccm Vers.-Lösg. oder 0,45 g Zucker	
		Thymolph-talein n/10 ccm	Methyl-orange n/10 ccm		ccm	zur Entfärbung des Harzes
0	0	50,0	50,0	0	0	0
1 Std.	14,9	46,95	48,0	1,05	1	100
7 "	23,9	45,4	46,5	1,1	4	150
1 Tg.	36,7	42,9	44,2	1,3	10	220
3 "	48,0	40,65	42,5	1,85	10	270
6 "	52,8	39,9	41,6	1,7	10	300
9 "	52,6	39,95	41,8	1,85	10	300

Das durchschnittliche Äquivalentgewicht der Restprodukte am Schluß der Reaktion steigt bei Erniedrigung der Alkalikonzentration von 2,5 n - auf 1,25 n - NaOH, was darauf hindeutet, daß die Zersetzung des Zuckers bei niedriger Alkalikonzentration geringer ist und eventl. mehr C - Säuren gebildet werden.

Tabelle 6 b. Ergänzung zu Tab. 6 a.
5 n - NaOH und 10 % ige Invertzuckerlösung bei 25 °.

Zeit	Gesamt-Verbrauch an NaOH g	an Milchs. gebundene NaOH g	in % vom Gesamt- verbrauch	an Restprod. gebundene NaOH g	in % vom Gesamt- verbrauch
1 Std.	1,220	0,662	54,3	0,558	45,7
7 "	1,840	1,062	55,7	0,778	42,3
1 Tg.	2,560	1,631	63,7	0,929	36,3
3 "	3,340	2,133	63,9	1,207	36,1
6 "	3,560	2,347	65,9	1,213	34,1
9 "	3,540	2,340	66,1	1,200	33,9

Tabelle 7.
Maxima aus den Versuchen mit verschiedenen Alkalikonzentrationen bei 25 °.

Normalität zu Beginn des Versuches	1,25n-NaOH	2,5n-NaOH	5n-NaOH
Normalität n. Bildung v. 50 % der maxim. gebild. Milchs.-Menge	0,78 n- NaOH	2,0 n- NaOH	4,5 n- NaOH
Halbwertzeit in Stunden	40,8	18,0	9,3
Milchsäureausbeute in %	46,0	50,6	52,7
AetherlösL. Harz in ccm n/40			
Permanganat	35	15	10
Stufentitrationsdifferenz ccm	2,7—3,0	2,6	1,85
Gesamtalkaliverbrauch g	3,340	3,52	3,54
a) an Milchsäure gebund. Teil	2,044	2,24	2,34
b) an schwache SS.	1,296	1,280	1,20
Durchschnittl. Aequivalentgew. f.			
Restprodukte	166	156	157
Alkaliverbrauch n. 1 St.	0,580	0,660	1,220
a) an Milchsäure gebund. Teil	0,066	0,160	0,662
b) an schwache SS.	0,514	0,500	0,558

Gleichfalls sehr bemerkenswert ist bei dem Versuch mit 1,25 n - NaOH die Erscheinung, daß die Milchsäurebildung nur noch geringfügig ist, wenn die Natronlaugekonzentration auf 0,48 n bis 0,41 n - NaOH gesunken ist. Die Milchsäureausbeute steigt innerhalb dieser Konzentrationsgrenzen von 39,7 % auf 46,3 %, also nur

um 6 % und es bedarf hierzu eines Zeitraumes von 71 Tagen. Nach 77 Tagen Gesamtreaktionsdauer scheint der Endpunkt der Reaktion erreicht zu sein. Die Zuckerreaktion mittels der Osazonprobe (s. Kap. III, S. 59) verläuft nicht mehr positiv. Die Alkalikonzentration entspricht an diesem Punkt einer 0,41 n - NaOH und einem pH = 13,54. Sie ist für die Milchsäurebildung offenbar schon sehr ungünstig.

Dagegen ist sie für die Harzbildung sehr günstig. Mit erhöhter Alkalikonzentration vermindert sich die Harzbildung. Hohe Alkalikonzentration wirkt offenbar der von Nef angenommenen Polymerisation entgegen.

Die Zuckerlösung mit dem geringsten Alkal Gehalt war in unserem Falle am dunkelsten gefärbt (dunkelbraun), wodurch die Titration mit Methylorange als Indikator zur Ermittlung der schwachen Säuren erschwert wurde.

Der Endpunkt der Reaktion, bezw. das Maximum der Milchsäurebildung wird bei Anwendung der doppelten Alkalikonzentration (5 n - NaOH) nicht eher erreicht als bei Anwendung von 2½ n - NaOH, trotzdem die anfängliche Geschwindigkeit der Milchsäurebildung 2 mal größer ist.

Der Zucker wird infolge der größeren Reaktionsgeschwindigkeit rascher verbraucht, sodaß gegen Ende der Reaktion die Zuckerkonzentration verhältnismäßig geringer sein muß als bei dem Versuch mit niedriger Alkalikonzentration.

Im nächsten Kapitel beschreiben wir Versuche mit geringeren Zuckerkonzentrationen, um die Verhältnisse unter diesen Bedingungen näher kennen zu lernen.

Kapitel III.

Einfluß der Zuckerkonzentration auf die Milchsäurebildung.

a) Versuche mit wechselnder Zuckerkonzentration.

Bei unseren Versuchen wurde die Zuckerkonzentration abnehmend verringert und wurde schließlich so klein gewählt, daß die vorhandene Alkalikonzentration, welche stets einer 2½ n - NaOH und in der letzten Versuchsreihe einer 1,25 n - NaOH entsprach, gegenüber jener während der ganzen Versuchsdauer als konstant

angesehen werden konnte. Die Temperatur war stets 25° und die Versuchsanordnung dieselbe wie bei den früheren Versuchen.

1. Versuchsreihe:

10 % ige Invertzuckerlösung und 2½ n - NaOH bei 25°,
siehe Tab. 1 a, b, c.

2. Versuchsreihe:

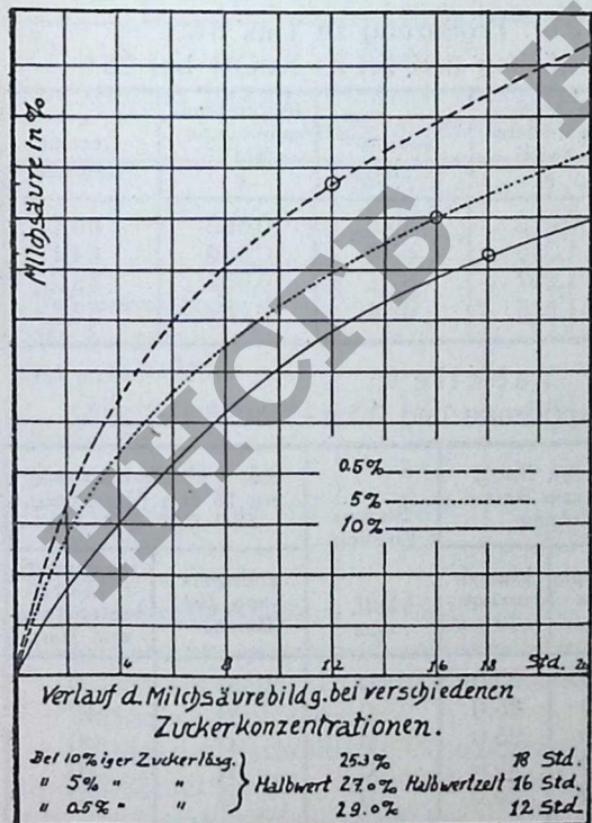
5 % ige Invertzuckerlösung und 2½ n - NaOH bei 25°,
siehe Tab. 8 a, b.

3. Versuchsreihe:

0,5 % ige Invertzuckerlösung und 2½ n - NaOH bei 25°,
siehe Tabelle 9.

4. Versuchsreihe:

0,5 % ige Invertzuckerlösung und 1,25 n - NaOH bei 25°,
siehe Tab. 10.



Aus den Tabellen 1 a, b, c; 8 a, b; 9, 10 und 11 geht zunächst hervor, daß (bei gleichbleibender Alkalikonzentration) die Geschwindigkeit der Milchsäurebildung mit abnehmender Zuckerkonzentration nur wenig geändert wird (geringe Zunahme). Vergleiche Halbwertzeiten in Tab. 11, welche aus Diagramm Nr. III hervorgehen.

Tabelle 8 a.

· 5 % ige Invertzuckerlösung und 2½ n - NaOH bei 25°.

Vers.-zeit	Milchs.-ausbeute %	Unverbr. NaOH in 1 ccm Versuchs- lösung		Stufen- titration Diff. ccm	ccm n/40 Permanganat pro 9 ccm Vers.-Lösg. oder 0,45 g Zucker	z. Entfärbung des Harzes	Gesamtverbr. f. Milchs.- bestimmung und Harz
		Thymolph- talein n/10 ccm	Methyl- orange n/10 ccm				
0	0	25,0	25,0	0	0	0	0
6 Std.	16,9	23,1	23,6	0,5	1	100	
3 Tg.	49,5	21,0	22,05	1,05	20	260	
6 "	54,3	20,5	21,65	1,15	20	290	
9 "	54,0	20,5	21,70	1,2	20	290	

Tabelle 8 b. Ergänzung zu Tab. 8 a.

5 % ige Invertzuckerlösung und 2½ n - NaOH bei 25°.

Zeit	Gesamtverbrauch an NaOH g	an Milchs. gebundene NaOH g	in % vom Gesamt- verbrauch	an Restprod. gebundene NaOH g	in % vom Gesamt- verbrauch
6 Std.	0,760	0,375	49,3	0,385	50,7
3 Tg.	1,600	1,055	65,9	0,545	34,1
6 "	1,800	1,207	67,1	0,593	32,9
9 "	1,800	1,213	67,4	0,587	32,6

Tabelle 9.

0,5 % ige Invertzuckerlösung und 2,5 n - NaOH bei 25°.

Vers.-zeit	Milchs.-ausbeute %	Unverbr. NaOH in 1 ccm Vers.- lösung		Stufen- titration Diff. ccm	ccm n/40 Permanganat pro 18 ccm Vers.-Lösg. oder 0,09 g Zucker	z. Entfärbung des Harzes	Gesamtverbr. f. Milchs.- bestimmung und Harz
		Thymolph- talein n/10 ccm	Methyl- orange n/10 ccm				
0	0	25,0	25,0	0	0	0	0
6 Std.	20,95	25,0	25,0	0	0	0	40
3 Tg.	54,55	25,0	25,0	0	0	0	60
6 "	59,0	25,0	25,0	0	0	0	70
9 "	59,0	25,0	25,0	0	0	0	70

Tabelle 10.
0,5 % ige Invertzuckerlösung und 1,25 n - NaOH bei 25 °.

Vers.-zeit	Milch.-ausb. %	Unverbr. NaOH in 1 ccm Vers.-lösung		Stufen-titration Diff. ccm	ccm n/40 Permanganat pro 18 ccm Vers.-Lösg. oder 0,09 g Zucker	
		Thymolph-talein n/10 ccm	Methyl-orange n/10 ccm		z. Entfärbung des Harzes	Gesamtverbr. f. Milchs.-bestimmung und Harz
0	0	12,5	12,5	0	0	0
3 Tg.	52,3	12,5	12,5	—	0	55
6 Tg.	57,1	12,45	12,5	—	0	60
9 Tg.	58,5	12,45	12,5	—	0	60
12 Tg.	58,5	12,45	12,5	—	0	60

Tabelle 11.
Maxima aus den Versuchen mit verschiedenen Zucker-konzentrationen bei 25 °.

Versuch mit	10 % ige Inv. und 2½ n-NaOH	5 % ige Inv. und 2½ n-NaOH	0,5 % ige Inv. u. 2½ n-NaOH	0,5 % ige Inv. u. 1,25n-NaOH
Halbwertzeit in St.	18	16	12	—
Milchsäureausb. %	50,6	54,0	59,0	58,5
Atherlös. Harz ccm n/40 Permanganat	15	20	—	—
Stufentitr. Diff. ccm	2,6	1,2	—	—
Gesamtalkaliverbr.	3,52	1,8	—	—
a) an Milchs. geb. Teil	2,24	1,213	—	—
b) an schw. SS. „ „	1,28	0,59	—	—
Durchschn. Äquiv.				
Gew. d. Restprodukte	156	156	—	—

Das Maximum der Milchsäureausbeute steigt mit abnehmender Zuckerkonzentration.

Das durchschnittliche Äquivalentgewicht für Restprodukte am Schluß der Reaktion stimmt bei den Versuchen mit 10- und 5 %-iger Invertzuckerlösung überein.

Für die 0,5 % ige Invertzuckerlösung ist es nicht ermittelt worden, da der Natronlaugeverbrauch nicht bestimmt wurde.

Bei dem Versuch mit 5 % iger Invertzuckerlösung gewahrt man, daß der Natronlaugeverbrauch für Restprodukte nur wenig, um ca. $\frac{1}{2}$, bis zum Endpunkt der Reaktion zunimmt, während der Natronlaugeverbrauch für Milchsäure noch um über das 3 fache zunimmt. Aehnliche Beobachtungen machten wir schon bei dem Versuch mit 10 % iger Invertzuckerlösung. Das Verhältnis von Na-tronlaugeverbrauch für Restprodukte zum Natronlaugeverbrauch für Milchsäure ist zunächst noch etwas größer zu Gunsten des Verbrauchs für Restprodukte, kehrt sich aber dann zu Gunsten des Verbrauchs für Milchsäure um. Die Saccharinsäurebildung ist dem-nach auch hier zu Beginn der Reaktion viel größer als die Milch-säurebildung und wird erst im weiteren Verlauf der Reaktion von der Milchsäurebildung überfroffen.

b) Ueber den Verbrauch des Zuckers bei Einwirkung von 2,5 bis 15 n - NaOH auf 10 % ige Invertzuckerlösungen.

1. Versuch. Zu einer Lösung von 10 g Invertzucker in 25 ccm Wasser, welche auf 5° temperiert war, wurde eine Lösung von 10 g Äeßnatron in 60 ccm Wasser, welche gleichfalls auf 5° abge-kühlt war, zugegossen. Es trat sofort Gelbfärbung ein und die Temperatur stieg auf 11°. Unmittelbar nach dem Zugießen der Na-tronlaugelösung, was in 15 Sekunden geschah, wurde mit 25 ccm 37 % iger Salzsäure neutralisiert und mit Wasser von 5° auf 100 ccm verdünnt. Die Lösung war nun wieder völlig farblos. Bei der Zuckerbestimmung nach Lintner, s. S. 59, wurden 99,5—99,6 % Zucker wieder gefunden.

2. Versuch. Zu einer Lösung von 10 g Invertzucker in 25 ccm Wasser, welche auf 25° temperiert war, wurde eine Lösung von 10 g Äeßnatron in 15 ccm Wasser, welche auch auf 25° tempe-riert war, zugegossen. Dann wurde sofort mit Wasser von 25° auf 100 ccm verdünnt, wobei das Gemisch die Temperatur 30° annahm und mittels Eis auf 25° abgekühlt. Es vergingen vom Augenblick des Zusammengießens der beiden Lösungen bis zum Abkühlen auf 25° 2,5 Minuten. Nach dieser Zeit wurde die 1. Zuckerbestimmung gemacht, welche 92,5 % Zucker ergab. Nach weiteren 30 Minuten, während welcher Zeit das Gemisch im Thermostaten bei 25° stand, wurde die 2. Zuckerbestimmung gemacht, welche 88,0 % Zucker ergab.

Die tief dunkelgelb gefärbte, alkalische Zuckerlösung blieb nach dem Neutralisieren mit Salzsäure hellgelb gefärbt.

3. Versuch. Zu einer Lösung von 10 g Invertzucker in 25 ccm Wasser von 20° wurde mittels Pipette eine Lösung von 10 g Äeßnatron in 15 ccm Wasser, welche auf 20° temperiert war, zugegeben. Es trat starke Gelbfärbung ein und die Temperatur der Lösung erhöhte sich auf 40°. Nach dem Verdünnen der Lösung mit Wasser von 20° auf 100 ccm erniedrigte sich die Temperatur auf 30° und nach Ablauf von 10 Minuten von Beginn des Zugebens der Natronlauge zur Zuckerlösung nahm leichtere im Thermostaten die Temperatur 25° an. Nach Ablauf von weiteren 5 Minuten wurde die 1. Zuckerbestimmung gemacht, welche 88,5 % Zucker ergab und nach Ablauf von weiteren 25 Minuten die 2. Zuckerbestimmung gemacht, welche 81,0 % Zucker ergab. Die Zuckerbestimmungen wurden in bestimmten Zeitabständen weiter fortgesetzt, bis schließlich die Osazonprobe ergab, daß sämtlicher Zucker verschwunden war (s. Tab. 12).

Der 1. Versuch zeigt, daß eine ca. 3 n - NaOH spontan auf den Zucker einwirkt; denn es tritt sofort Gelbfärbung ein. Bei der kurzen Einwirkungsdauer von 15 Sekunden ist die Einwirkung aber offenbar nur physikalisch-chemischer Natur, da Zucker hierbei so gut wie gar nicht verloren geht. Dieser Versuch bietet eine Stütze für die Theorie der Färbung und Harzbildung, indem er wahrscheinlich macht, daß die Gelbfärbung nicht auf einer Zersetzungerscheinung beruht, sondern als Veränderung des Zuckers in physikalisch-chemischem Sinne anzusehen ist, wobei, wie Nef annimmt, eine Anlagerung von NaOH an das Zuckermolekül unter Bildung eines Derivates mit freien Valenzen stattfindet, welch leichtere Polymerisation und damit Färbung hervorrufen. Bei sofortiger Zugabe von Salzsäure zu der alkalisch gemachten Zuckerlösung wird die Natronlauge aus den Polymerisationsprodukten wieder abgespalten und der polymerisierte Zustand aufgehoben. Die Harzbildung stellt eine höhere Stufe des Polymerisationsvorganges dar. Die Aufspaltung der polymeren Bindungen durch Zugabe von HCl gelingt hier nicht mehr oder nur zum Teil.

Beim 2. Versuch wirkte eine 6 n - NaOH, welche hinterher auf 2½-fache Normalität verdünnt wurde, ein. Der Zuckerverbrauch ist hier schon ein erheblicher. Nach 2,5 Minuten sind 7,5 % und nach weiteren 30 Minuten, während welcher Zeit das Gemisch im Thermostaten bei 25° stand, schon 12,0 % Zucker verbraucht.

Beim 3. Versuch ließ man eine ca. 15 n - NaOH innerhalb 5 Minuten mittels Pipette zu einer 40 % igen Invertzuckerlösung zu laufen und verdünnte dann mit Wasser auf 2½ fache Normalität, sodaß nach Abkühlung auf 25° eine 2½ n - NaOH auf eine 10 % ige Invertzuckerlösung einwirkte. Es wurden, nachdem das alkalische Zuckergemisch die Temperatur 25° angenommen hatte (nach 10 Min.) und bei dieser Temperatur im Thermostaten verblieb, nach 5 Min., 30 Min., nach 3, 7, 24, 72, 120 und 144 Stunden Zucker- und Milchsäurebestimmungen ausgeführt, welche die in Tabelle 12 verzeichneten Resultate lieferten.

Dieselbe Tabelle 12 enthält eine Spalte für »Restprodukte«. Die Restprodukte wurden durch Subtraktion der angewandten Zuckermenge minus der Summe aus der in Milchsäure umgewandelten Zuckermenge plus der noch vorhandenen Zuckermenge ermittelt. Ferner enthält diese Tabelle den Natronlaugeverbrauch für Restprodukte in g, sowie das durchschnittliche Äquivalentgewicht derselben, wie es sich aus den Restprodukten und dem Natronlaugeverbrauch errechnet. Als Umrechnungsfaktor wurde einmal $f = 135$, ein andermal $f = 125$ benutzt, s. u. S. 55.

Die Versuche dieser Tabelle stellen eine Ergänzung der in den Tab. 1 a, b, c niedergelegten Versuche dar und sind mit diesen unmittelbar zu vergleichen.

Tabelle 12. Ergänzung zu Tabelle 1 a.
10 % ige Invertzuckerlösung und 2½ n - NaOH bei 25°.

Vers.-Zeit	Milchs.-ausb. %	Noch vorhandener Zucker %		Osazons- menge g	Restprodukte %		Natron- lauge- verbr. f. Rest- produkte g	Durchschnittl. Äquivalentgew. der Restprodukte	
		f=135	f=125		f=135	f=125		f=135	f=125
0	0	100	100	13,5	0	0	0	0	0
5 Min	0	88,6	95,6	11,95	11,45	4,4	—	—	—
1/2 St.	2,42	81,0	87,7	10,96	16,58	9,9	0,392	169	101
3 „	7,25	70,1	75,7	9,46	22,65	17,1	0,518	175	182
7 „	14,3	59,2	64,0	7,99	26,5	21,8	0,524	202	166
24 „	30,1	32,4	35,0	4,37	37,5	35,0	0,862	174	162
72 „	47,2	5,1	5,5	0,69	47,7	47,3	1,262	151	150
120 „	50,0	Spur	Sp.	Sp.	—	—	—	—	—
144 „	50,6	0	0	0	49,4	49,4	1,280	154	154

Die Tabelle 12 läßt folgendes erkennen :

Nach 5 Minuten ist noch keine meßbare Menge Milchsäure gebildet, obwohl schon eine große Menge Zucker verbraucht ist. Dies geht aus den Zahlen für Restprodukte hervor. Nach $\frac{1}{2}$ Stunde sind insgesamt 19 % Zucker verbraucht, wovon 2,42 % in Milchsäure übergegangen sind. Der Rest von 16,6 % ist in andere Produkte, die wahrscheinlich zum großen Teil an Lauge gebunden sind, übergegangen.

Wenn nun auch die für die Restprodukte ermittelten Zahlenwerte nicht genau stimmen (jedenfalls zu hoch sind, wie weiter unten noch erläutert werden wird), so darf man dennoch annehmen, daß die mit dem Fortlauf der Reaktion steigende Tendenz der Restprodukte ein Merkmal des Versuches ist und es ist dann bemerkenswert, daß der Natronlaugeverbrauch für Restprodukte von der 1. bis 7. Stunde fast ganz konstant bleibt, während die Restprodukte selbst in dieser Zeit an Menge stetig zunehmen.

Die ermittelten Zahlenwerte für Restprodukte, welche aus der Zuckerbestimmung hervorgegangen sind (s. S. 59), entsprechen deshalb den tatsächlichen Werten nicht, weil bei Einwirkung von Natronlauge auf Invertzucker der Fruktoseteil rascher angegriffen wird als der Glukoseteil, weshalb ein Zuckergemisch zurückbleibt, welches nicht mehr Invertzucker ist und daher auch nicht als Invertzucker bestimmt werden kann. Die Osazonfällung wird zwar genau, aber die Umrechnung der gefundenen Osazomenge in Zucker kann nicht genau erfolgen, da weder der Fruktose- noch der Glukose- noch der Invertzuckerfaktor angewandt werden kann. In der Tab. 12 ist einmal der Invertzuckerfaktor $f = 135$ angewandt, in Wirklichkeit liegt der Faktor näher beim Glukosefaktor $f = 105$, ungefähr zwischen 135 und 115. Nimmt man als mittleren Faktor $f = 125$ an, so resultieren die nebenan stehenden Werte für noch vorhandenen Zucker, bezw. für Restprodukte und Äquivalentgewicht für Restprodukte.

Was den Isomerisationsvorgang und seine Berücksichtigung bei der Zuckerbestimmung betrifft, so glauben wir auf Grund der späteren Versuche mit Glukose und Fruktose annehmen zu dürfen, daß dieser bei Invertzucker vernachlässigt werden kann. Die Isomerisationszucker d-Glukose und pseudo-Fruktose würden wasserlösliche Osazone ergeben und daher bei der Zuckerbestimmung nach

Lintner als nicht mehr vorhandner Zucker figurieren. Die Berechnung der Restprodukte würde dann eine zu hohe Zahl ergeben.

Bei Berücksichtigung aller dieser Fehlerquellen bleiben die zwei Tatsachen bestehen:

1. daß zu einer Zeit (nach $\frac{1}{2}$ Std.), wo die Milchsäurebildung noch sehr gering und vermutlich im Anfangsstadium steht, schon eine große Menge Zucker verbraucht und in Produkte umgewandelt worden ist, welche an Natronlauge gebunden sind, aber nicht Milchsäure sind.

2. daß der Natronlaugeverbrauch für Restprodukte und Säuren, welche nicht Milchsäure sind, eine zeitlang konstant bleibt, während die Restprodukte an sich, sowie die Milchsäure während dieser Zeit an Menge zunehmen.

Die beiden Tatsachen bestärken uns in der schon auf S. 40 und 46 gemachten Annahme, daß Zwischenprodukte gebildet werden, welche Säurecharakter besitzen.

Eventuell handelt es sich um Methylenlderivate mit den von Nef beschriebenen Eigenschaften (s. S. 103), welche dadurch entstehen, daß am 2. oder 3. Kohlenstoffatom des Hexosemoleküls Wasser intramolekular entzogen wird, wodurch Methylenvalenzen gebildet werden, welche der Aldehydgruppe sauere Eigenschaften verleihen. Solche Derivate würden bei der Osazonbestimmung nach Lintner gleichfalls wie die entsprechenden Hexosen wasserunlösliche Osazone geben, sofern der Umwandlungsprozeß noch nicht weiter vorgeschritten war.

Die angegebenen durchschnittlichen Aequivalentgewichte für Restprodukte in der letzten Spalte rechts der Tab. 12 sind mit Vorsicht aufzunehmen, da diese sich ja auf die ungenaue Ermittlung der Restprodukte gründen. Ihre Veränderlichkeit, Zunahme von $\frac{1}{2}$ —7 Stunden bis zur Bildung von 14,3 % Milchsäure und Abnahme von 7—120 Std. bis zur Bildung von 50 % Milchsäure, kann nicht mit Bestimmtheit in irgend einem Sinne gedeutet werden.

Wir würden zu der Annahme neigen, daß ein langsames Fallen des durchschnittlichen Aequivalentgewichtes von Beginn der Reaktion an, nicht erst von der 7. Stunde an, das Normale gewesen wäre. Denn aus der langsamem Zunahme der gebildeten Milchsäure, welche ein Spaltprodukt des Zuckers ist, konnte man schließen, daß auch die Umwandlung der anderen Spaltstücke, z. B. der

C₄-Spaltstücke in C₄-Säuren langsam vor sich geht, und zwar langsamer als die Bildung der C₄-Saccharinsäuren. Ein solcher Verlauf der Reaktion würde sich in einem ständigen Fallen des durchschnittlichen Äquivalentgewichtes der Restsäuren äußern.

Die niedrigen, vielleicht merkwürdig niedrigen durchschnittlichen Äquivalentgewichte zu Beginn der Reaktion sind unter Umständen auch ein Hinweis darauf, daß bestimmte Zwischenprodukte vorhanden sind.

Schließlich ist noch zu bemerken, daß die Osazonprobe auf noch vorhandenen Zucker ergab, daß der ganze Zucker verschwunden ist, wenn die Milchsäurebildung ihr Ende und Maximum erreicht hat. Bei dem Versuch bei 25° fällt der Punkt, wo das Milchsäuremaximum erreicht ist, mit dem Punkt zusammen, wo kein wasserunlösliches Osazon mehr nachweisbar ist.

c) Zum Nachweis von Zucker in alkalischer Lösung und zur Methodik der Zuckerbestimmung.

Wir benützten zur quantitativen Bestimmung des in dem alkalischen Zuckergemisch vorhandenen unverbrauchten Zuckers die Osazonmethode von C. J. Lintner und E. Köhler¹⁾, wenngleich sie mit Fehlern behaftet war. Die sonst sehr genaue Gärmethoden von Jodlbauer konnten wir nicht anwenden, da wir Natriumlaktat in der Lösung hatten. Dieses ist durch Hefe vergärbar. Die Reduktionsmethode mit Fehlingscher Lösung war ebenfalls nicht brauchbar, da in unseren Lösungen neben Zucker noch andere reduzierende Substanzen, insbesondere Harze vorhanden waren. Die Polarisationsmethode konnten wir wegen der starken Braunkärbung der zu untersuchenden Lösungen auch nicht verwenden.

Die Osazonmethode von Lintner liefert bei sorgfältiger und gleichmäßiger Arbeit Resultate mit nicht größer als $\pm 1\%$ Fehler. Sie gestattet aber auch — das ist mit das Wesentliche — den rein qualitativen Nachweis von Spuren Invertzucker und zwar in sehr sicherer Weise. Die Methode beruht darauf, daß das Osazon des Invertzuckers (ein Gemisch von Glukosazon und Fruktosazon) in siedendheißem Wasser unlöslich, die anderen Hydrazinverbindungen, insbesondere die Hydrazide der Saccharinsäuren, in heißem Wasser sehr leicht löslich sind²⁾. Man kann also den Nieder-

¹⁾ Z. f. ges. Brauwesen 1895. S. 153.

²⁾ Emil Fischer, Untersuchungen über Kohlenhydrate und Fermente 1909 S. 227—228

schlag des Invertzuckerosazons, der aus feinen goldgelben Nadeln besteht, durch Waschen mit siedendheißem Wasser von den anderen Hydrazinverbindungen befreien.

Zur Prüfung der Methode stellten wir zunächst fest, daß die Osazonbildung unter den von uns angewandten Bedingungen nach 2 Stunden beendet ist, und zwar sowohl in reinen Invertzucker-, reinen Fruktose- und Glukoselösungen, als auch in alkalischen Lösungen dieser Zucker, welche noch die bei der Einwirkung von Alkali entstehenden Nebenprodukte, Saccharinsäure u. s. w., enthalten. Ferner stellten wir fest, daß 0,1 g reiner Invertzucker unter den von uns angewandten Bedingungen 0,135 g Osazon liefert, während unter denselben Bedingungen

0,1 g reine d - Glukose	0,105 g Osazon,
0,1 g reine d - Fruktose	0,165 g Osazon liefert.

Angesichts des verschiedenen Osazonbildungsvermögens dieser Zucker war es unmöglich, in alkalischen Invertzuckerlösungen den bei der Reaktion unverändert gebliebenen Zucker absolut genau zu bestimmen. Denn wir wußten ja nicht, ob bei der Einwirkung des Alkalis der Invertzucker in seiner ursprünglichen Zusammensetzung erhalten blieb. Wie aus späteren Versuchen mit Fruktose hervorgeht, ist Fruktose bedeutend reaktionsfähiger als Glukose, d. h. Fruktose wird bei Einwirkung von Alkali viel rascher verbraucht als Glukose. Wir werden also in einer alkalischen Invertzuckerlösung nach längerer Reaktionsdauer keinen Invertzucker mehr haben, der sich zu gleichen Teilen aus Glukose und Fruktose zusammenseßt. Man weiß nicht, wenn man das Osazon in einer alkalischen Invertzuckerlösung quantitativ bestimmt hat, mit welchem Faktor man nun dieses Osazon in Zucker umrechnen soll. Wir haben es daher vorgezogen, die gefundene Osazonmenge als Maß für die Menge des noch vorhandenen Zuckers anzugeben, und haben die Umrechnung in Zucker stets mit dem Faktor des Ausgangszuckers vorgenommen, sodaß die für das Osazon gefundenen Prozentzahlen mit den Zuckerprozenten identisch waren.

Bemerken müssen wir, daß wir mit Hilfe der Osazonmethode diejenigen Hexosen, welche kein dem Glukosazon entsprechendes Osazon liefern, nicht fassen können, also z. B. nicht die bei der

Einwirkung von Alkali auf Glukose und Fruktose sich bildende Glutose und pseudo-Fruktose.

Die Methode zur quantitativen Bestimmung des Zuckers wurde nun stets in folgender Weise ausgeführt: Es wurden in einem Erlenmeyerkölbchen einige ccm der zu untersuchenden Lösung, welche ca. 0,1 g Zucker (nicht unter 0,060 g und nicht über 0,140 g Zucker) enthielt, zunächst neutralisiert und mit Wasser auf 20 ccm verdünnt, dann 1 g Phenylhydrazin und 1,5 g 50 % ige Essigsäure zugegeben und mit aufgesetztem Luftkühlungsrohr zwei Stunden auf dem kochenden Wasserbade erhitzt. Dann wurden 20 ccm kochendes Wasser zugesezt; man filtrierte rasch durch ein vorher getrocknetes und gewogenes Filter und wusch mit kochendem Wasser solange nach, bis das Filtrat 100 ccm betrug. Der auf dem Filter sich befindliche goldgelbe Osazonniederschlag würde samt dem Filter 3 Stunden bei 110 ° getrocknet und dann gewogen.

Kapitel IV.

Einfluß verschiedener Alkaliarten auf die Milchsäurebildung. (Spezifische Wirkungen.)

a) Versuche mit NaOH, KOH und Ba(OH)₂, bei niederen Temperaturen.

1. Versuchsreihe :

Einwirkung einer 2½ n - KOH auf eine 10 % ige Invertzuckerlösung bei 60 °; siehe Tab. 13 a, b.

2. Versuchsreihe :

Einwirkung einer 2½ n - NaOH auf eine 10 % ige Invertzuckerlösung bei 60 °; siehe Tab. 4 a, b.

3. Versuchsreihe :

Einwirkung einer 1,25 n - NaOH auf eine 0,5%ige Invertzuckerlösung bei 25 °; siehe Tab. 9.

4. Versuchsreihe :

Einwirkung einer 1,25 n - KOH auf eine 0,5%ige Invertzuckerlösung bei 25 °; siehe Tab. 14.

5. Versuchsreihe :

Einwirkung einer $n\text{-Ba(OH)}_2$ -Lösung auf eine 0,8 % ige Invertzuckerlösung bei 40° ; siehe Tab. 15 a, b, c, d.

Zu Versuchsreihe 1, 2: Bei Vergleich der in Tab. 13 a, b niedergelegten Versuchsergebnisse mit denjenigen der Tab. 4 a, b des analogen Versuches mit NaOH ersieht man, daß in Bezug auf Geschwindigkeit und Maximum der Milchsäurebildung ein außerhalb der Fehlergrenzen liegender Unterschied zwischen der Wirkung von KOH und NaOH nicht besteht. Dagegen beobachtet man bei den Versuchen mit KOH einen größeren Laugenverbrauch für die Restprodukte, welcher darauf hindeutet, daß mehr schwache Säuren von kürzerer Kohlenstoffkette gebildet worden sind. Auch in der größeren Stufentitrationsdifferenz kommt dies zum Ausdruck,

bei NaOH 2,1 — 2,2 — 2,9 — 3,6 — ccm,

bei KOH 2,85 — 3,45 — 3,8 — 3,8 — ccm.

Das durchschnittliche Äquivalentgewicht der Restprodukte am Schluß der Reaktion beträgt 126,6 gegenüber 133 beim analogen Versuch mit Natronlauge.

Zu Versuchsreihe 3, 4: Auch hier ergibt der Vergleich mit Natronlauge bezüglich des Maximums der Milchsäurebildung keinen Unterschied in der Wirkung von KOH und NaOH.

Zu Versuchsreihe 5: Zur Versuchsanordnung müssen wir bemerken, daß wir in einem gewogenen 100 ccm Erlenmeyerkölbchen zunächst die erforderliche Menge Baryhydrat, $\text{Ba(OH)}_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$, feinst pulverisiert, mit 50 ccm kohlensäurefreiem Wasser von 20° versetzten, dann mittels Pipette 4 ccm 20 % ige Invertzuckerlösung zugaben und mit kohlensäurefreiem Wasser auf 100 ccm, entsprechend dem Gewicht 110,10 g, aufwogen. Es wurde ein Gummistopfen mit Glashahn aufgesetzt, der Luftrest aus dem Kölbchen herausgepumpt und dasselbe im Thermostaten bei 40° umgeschüttelt, bis $\frac{1}{2}$ Stunde, vom Zeitpunkt des Zusammenbringens der Invertzuckerlösung mit der Barytlösung an gerechnet, verflossen war. Das Füllen des Kölbchens bis zum Einstellen und Umschütteln desselben im Thermostaten dauerte 4 Minuten, sodaß zum Umschütteln im Thermostaten noch 11 Minuten übrig blieben. In dieser Zeit hatte sich das Baryhydrat vollkommen aufgelöst und das Reaktionsgemisch hatte die Temperatur 40° angenommen.

Das von uns verwandte pulverisierte Baryhydrat war nicht völlig karbonatfrei. Wir bestimmten den Karbonatgehalt desselben durch Titration mit n/10 - HCl und Thymolphthalein als Indikator und berechneten dann die bei unseren Versuchen anzuwendenden Barytmengen derart, daß der Gehalt an freiem Baryhydrat der theoretisch zuzusehenden Menge Baryhydrat entsprach.

Bei der Zuckerbestimmung wurde das Barium vorher durch vorsichtigen Zusatz von Schwefelsäure entfernt und das Filtrat wieder genau neutralisiert.

Tabelle 13 a.

2½ n - KOH und 10 % ige Invertzuckerlösung bei 60°.

Vers.-zeit Std.	Milchs.-ausb. %	Unverbr. NaOH in 1 ccm Vers.-lösung		Stufen-titration Diff. ccm	ccm n/40 Permanganat pro 4,5 ccm Vers.-Lösg. oder 0,45 g Zucker	
		Thymolphthalein n/10 ccm	Methyl-orange n/10 ccm		z. Entfärbung des Harzes	Gesamtverbr. f. Milchs.-bestimmung und Harz
0	0	25,0	25,0	0	0	0
1/4	31,8	19,2	21,3	2,1	40	240
1/2	41,6	16,75	19,6	2,85	50	290
1	45,7	16,6	20,05	3,45	55	320
2	46,5	16,3	20,1	3,8	50	340
3	46,3	16,2	20,05	3,85	50	340
5	46,2	16,2	20,0	3,8	50	340

Tabelle 13 b. Ergänzung zu Tabelle 13 a.
2½ n - KOH und 10 % ige Invertzuckerlösung bei 60°.

Zeit Stunden	Gesamt-verbrauch an NaOH g	an Milchs. gebundene NaOH g	in % vom Gesamt- verbrauch	an Restprod. gebundene NaOH g	in % vom Gesamt- verbrauch
1/4	2,320	1,413	60,9	0,907	39,1
1/2	3,180	1,849	58,1	1,331	41,9
1	3,460	2,031	58,7	1,429	41,3
2	3,480	2,066	59,4	1,414	40,6
3	3,520	2,058	58,5	1,462	41,5
5	3,520	2,058	58,5	1,462	41,5

NB. KOH-Laugeverbrauch zum besseren Vergleich in NaOH-Verbrauch umgerechnet.

Tabelle 14.

1,25 n - KOH und 0,5 % ige Invertzuckerlösung bei 25°.

Vers.-zeit Tag	Milchs.-ausbeute %	Unverbr. NaOH in 1 ccm Vers.-lösung		Stufen-titration Diff. ccm	ccm n/40 Permanganat pro 18 ccm Vers.-Lösg. oder 0,09 g Zucker	
		Thymolph-talein n/10 ccm	Methyl-orange n/10 ccm		z. Entfärbung des Harzes	Gesamt-verbrauch f. Milchs.-bestimmung und Harz
0	0	12,5	12,5	0	0	0
3	52,3	12,5	12,5	—	0	55
6	57,9	12,45	12,5	—	0	60
9	58,5	12,5	12,5	—	0	60
12	58,5	12,5	12,5	—	0	60

Tabelle 15 a.

n - Ba(OH)₂ und 0,8 % ige Invertzuckerlösung bei 40°.

Vers.-zeit Std.	Milchsäure-ausbeute %	Noch vorh. Zucker %	Rest-prod. Sacch. %	Unverbr. Baryt in 1 ccm Vers.-lösung		Stu-fen-titration Diff. ccm	ccm n/40 Permanganat pro 15 ccm Vers.-Lösg. oder 0,12 g Zucker	
				Thymolph-talein n/10 ccm	Methyl-orange n/10 ccm		z. Entfärb. des Harzes	Gesamt-verbr. f. Milchs.-bestimmung und Harz
0	0	100	0	10	10	0	0	0
11 Min.	12,15	46,7	41,15	—	—	—	0	20
16	19,3	36,8	44,4	9,6	9,9	0,3	0	25
7	50,2	geringe Mengen	—	9,35	—	—	0	70
24	53,0	Spuren	—	9,3	9,8	0,5	0	80
48	54,2	—	45,8	9,25	9,8	0,55	0	80
96	55,0	—	45,0	9,25	9,8	0,55	0	90
144	55,0	0	45,0	9,25	9,8	0,55	0	90

Tabelle 15 b. Ergänzung zu Tabelle 15 a.
n - Ba(OH)₂ und 0,8 % ige Invertzuckerlösung bei 40°.

Zeit	Gesamtverbrauch an NaOH g	an Milchs. gebundene NaOH g	in % vom Gesamtverbrauch	an Restprod. gebundene NaOH g	in % vom Gesamtverbrauch
11 Min.	—	—	—	—	—
16 "	0,160	0,069	43,1	0,091	56,9
7 Std.	0,260	0,178	68,5	0,082	31,5
24 "	0,280	0,188	67,2	0,092	32,8
48 "	0,300	0,193	64,5	0,107	35,5
96 "	0,300	0,194	64,7	0,106	35,3
144 "	0,300	0,194	64,7	0,106	35,3

NB. Barytverbrauch der besseren Uebersicht wegen auf Natronlauge umgerechnet.

Tabelle 15 c. Ergänzung zu Tabelle 15 a.
n - Ba(OH)₂ und 0,8 % ige Invertzuckerlösung bei 40°.

Zeit	an Milchs. geb. NaOH in % vom maximalen Verbr. an NaOH f. Milchs.	an Restprod. geb. NaOH in % vom maximalen Verbr. an NaOH f. Restprodukte
11 Min.	—	—
16 "	35,6	85,8
7 Std.	91,8	77,4
24 "	96,9	86,8
48 "	99,5	100,5
96 "	100,0	100,0
144 "	100,0	100,0

Die in den Tabellen 15 a, b, c, d festgelegten Resultate ergeben, was die maximale Milchsäureausbeute anlangt, keine erkennbare spezifische Wirkung des Bariums.

Die Versuchslösungen waren gegenüber den mit 1,25 n - NaOH und 0,5 % igen Invertzuckerlösungen bei 25° hergestellten Versuchslösungen, welche gelb gefärbt waren, viel heller. Die Anzahl ccm n / 40 Permanganat zur Entfärbung der in 15 ccm unverdünnter Versuchslösung enthaltenen Harze konnte in der bisher geübten Weise nicht mehr angegeben werden, da die Färbung zu gering und der Entfärbungspunkt nicht mehr genau erkennbar war. Die Harzbildung war bei diesen Versuchen sehr minimal.

Hinsichtlich des Laugeverbrauches für Restprodukte bemerkt man zunächst wieder die schon bei den Versuchen der Tabellen 1 b, 2 b und 5 b beobachtete Konstanz des Laugeverbrauches für die Restsäuren zu Beginn des Versuches. Im weiteren Verlauf der Reaktion bemerkt man, daß die Zunahme des Laugeverbrauches für Restprodukte nur gering ist, woraus man schließen darf, daß die Bildung der Restsäuren bei Einwirkung von n - Barytlauge sehr leicht vorstatten geht und zum großen Teil schon zu Beginn der Reaktion erfolgt.

Auffallend ist auch die rasche Abnahme des noch vorhandenen Zuckers. Wenn diese, mit Hilfe der Osazonmethode festgestellte Abnahme auch nicht den tatsächlichen Verhältnissen entspricht — denn die raschere Reaktionsfähigkeit der Fruktose sowie die bei dieser OH - Ionenkonzentration sicher teilweise stattfindende Isomerisation, welche Hexosen mit wasserlöslichen Osazonen liefert, ist nicht berücksichtigt, weshalb die mit Hilfe der Osazonmethode ermittelte Menge des «noch vorhandenen Zuckers» zu niedrig ist — so kann man dennoch feststellen, daß der Zuckerverbrauch sehr groß ist und daß aus dem verbrauchten Zucker neben Milchsäure noch andere Säuren (Restsäuren) gebildet werden, welche viel Alkali zu binden vermögen. Für die zu Beginn der Reaktion entstandenen Restprodukte errechnet sich ein durchschnittliches Äquivalentgewicht von 156—174, welches auf

Tabelle 15 d. Ergänzung zu Tabelle 15 a.
0,8 % ige Invertzuckerlösung und n - Ba(OH)₂ bei 40°.

Vers.-zeit	Milchs.-ausb. %	Alkaliverbrauch für Milchs. (g)	Restprod. %	Restprod. g	Alkaliverbrauch für Restprod. g	Durchschnittl. Äquivalent gewicht für Restprod.
11 Min.	12,15	—	41,15	0,3292	—	—
16 „	19,3	0,064	44,0	0,3552	0,091	156
7 Std.	50,2	0,178	—	—	0,082	174
24 „	53,0	0,188	—	—	0,092	157
48 „	54,2	0,193	45,8	0,3664	0,106	138
96 „	55,0	0,194	45,0	0,3600	0,106	136
144 „	55,0	0,194	45,0	0,3600	0,106	136

Säuren mit längerer Kohlenstoffkette, besonders C₆-Säuren, hinweist. Im Verlauf der Reaktion nimmt das durchschnittliche Äquivalentgewicht der Restprodukte ab und beträgt am Schluß der Reaktion 136, woraus offenbar hervorgeht, daß auch Säuren mit kürzerer Kohlenstoffkette, eventuell C₄-Säuren, in ziemlich großer Menge gebildet worden sind. Vergl. Tab. 15 d.

b) Versuche mit Natronlauge und Barythydrat bei hohen Temperaturen im Autoklaven.

Wir ließen eine 2½ n-NaOH, eine 5 n- und 2½ n-Barytlösung auf 10 % ige Invertzuckerlösungen bei 180 und 160 ° einwirken.

Die Versuchsanordnung war dieselbe wie bei den Autoklavversuchen des Kapitels 2. Bei den Barytversuchen wurden die erforderlichen Mengen Barythydrat zunächst in siedendem, kohlensäurefreiem Wasser aufgelöst, dann zur Invertzuckerlösung in die Glasbirne gegossen, mit siedend heißem Wasser auf 100 ccm verdünnt und sofort abgeschmolzen.

Wie die Tabelle 16 zeigt, ist die maximale Milchsäureausbeute bei Baryt um ca. 10 % niedriger als bei Natronlauge. Die Färbung der Zuckerlösung war bei den Barytversuchen hell-rotbraun, während sie bei den Natronlaugeversuchen stets tief schwarzbraun war. Das Barytharz schied sich beim Ansäuern mit Salzsäure sofort in zusammengeballten Flocken aus und war sehr leicht löslich in Aether, während das Natronharz nur langsam ausflockte, sich erst nach 1 — 2 Tagen zu größeren Flocken zusammenballte und in Aether nicht so leicht löslich war.

Ein Geruch nach Brenztraubensäure und bitteren Mandeln machte sich sowohl beim Natronlauge- wie beim Barytversuch nach dem Öffnen der Glasbirne bemerkbar. Oxalsäure als Reaktionsprodukt konnte nicht nachgewiesen werden. Kohlensäure war nur in geringen Mengen vorhanden und rührte wohl von dem Barythydrat her, welches nicht ganz kohlensäurefrei war.

Wir müssen annehmen, daß unter den Versuchsbedingungen, die hier vorgeherrscht haben, und unter dem Einfluß des Bariumhydroxyds die Saccharinsäure- begünstigt, während die Milchsäurebildung ungünstig beeinflußt worden ist. Diese Annahme liegt besonders nahe, weil wir schon bei unseren bei 40 ° ausgeführten Barytversuchen beobachteten, daß die Restprodukte gleich

zu Beginn der Reaktion einen großen Anteil am Laugeverbrauch nehmen. Die angewandte Zuckermenge war bei den bei 160 und 180 ° angestellten Versuchen nach 2 Stunden völlig verbraucht.

Tabelle 16.

2½ n - NaOH. bzw. 5 n - und 2½ n - Ba (OH)₂ und 10 %ige Invertzuckerlösungen bei 160 ° und 180 °.

Temp.	Vers.-zeit Std.	Milchsäureausbeute in % bei			ccm n/40 Permanganat pro 4,5 ccm Vers.-lösgr.	
		2½ n-NaOH	Ba (OH) ₂		z. Entfärbung des Harzes	Gesamtverbr. für Harz u. Milchs.-bestimmung
			5 n	2½ n		
160 °	½	48,5	32,0	—	—	—
160 °	2	48,5	—	—	80	500
160 °	2	—	—	38,0	200	600
180 °	2	49,0	—	—	—	—
180 °	2	—	—	40	—	—

Zusammenfassung: Aus den Versuchen dieses Kapitels geht hervor, daß die Alkalihydroxyde KOH und NaOH in Bezug auf die Milchsäureausbeute untereinander keine spezifischen Wirkungen aufweisen, während dem Bariumhydroxyd, als Vertreter der Erdalkaliklasse, in dieser Hinsicht spezifische Wirkungen zugesprochen werden müssen. Hinsichtlich der Saccharinsäurebildung scheinen auch KOH und NaOH in verschiedener Weise zu reagieren. Die Behauptung Nef's, daß es keine spezifischen Wirkungen gebe und die resultierenden Reaktionsprodukte, Milchsäure und Saccharinsäuren, in derselben relativen Menge entstehen würden, wenn die Konzentrationen der angewandten Metallhydroxyde gleich wären, können wir nicht bestätigen; vielmehr müssen wir Kilianis Ueberzeugung beipflichten, daß es solche gibt. Allerdings, die weitergehenden Behauptungen Kilianis, daß z. B. Saccharinsäure nur mit Ca (OH)₂ und nicht mit NaOH, KOH, oder Ba (OH)₂ erhältlich sei, und daß Milchsäure bei Anwendung von Ca (OH)₂ nur in geringen Mengen entsteht, glauben wir auf Grund unserer Versuche mit Bariumhydroxyd nicht unterstützen zu können. Die tatsächlichen Verhältnisse sind nach unserer Meinung so, daß zu Beginn der Reaktion die Saccharinsäureausbeute unverhältnismäßig groß ist.

nismäßig größer ist als die Milchsäureausbeute, sodaß, wenn der Versuch gleich zu Anfang abgebrochen wird, eine große Saccharinsäureausbeute und eine geringe Milchsäureausbeute resultiert.

Wir sind aber auch zu der Ueberzeugung gekommen, daß zur Beurteilung eines Resultates außer der Angabe von Metallhydroxyd und Zuckerart die Angabe der Temperatur, der Reaktionsdauer und der Konzentration von Lauge und Zucker keinesfalls fehlen dürfe.

Schließlich müssen wir noch einiges zu Upsons Beobachtungen bei Anwendung von $n\text{-Ba(OH)}_2$ und $8n\text{-NaOH}$ bemerken. Nach Upson soll $n\text{-Ba(OH)}_2$ nur kleine Mengen Saccharinsäuren und große Mengen Milchsäure liefern, während umgekehrt $8n\text{-NaOH}$ größere Mengen Saccharinsäure und kleinere Mengen Milchsäure liefern soll. Auf Grund unserer Versuche mit $n\text{-Ba(OH)}_2$ glauben wir feststellen zu können, daß es bei solchen Angaben wiederum sehr auf die angewandten Konzentrationsverhältnisse zwischen Lauge und Zucker und auch auf andere nähere Angaben ankommt, die Upson nicht gemacht hat. Unsere Versuche mit $n\text{-Ba(OH)}_2$ haben ergeben, daß die Saccharinsäurebildung, dem Natronlaugeverbrauch nach zu schließen, zu Anfang 4 mal größer ist als die Milchsäurebildung. Bricht man zu dieser Zeit den Versuch ab, so resultiert: 4 mal mehr Saccharinsäure als Milchsäure. Verfolgt man aber die Saccharinsäure- und Milchsäurebildung von dem Zeitpunkt an, wo die Zuckerkonzentration nur noch ca. 0,04 % — 0,35 % beträgt, so beobachtet man, daß der noch vorhandene Zucker zu 70-90 % in Milchsäure und zu ca. 10-30 % in andere Säuren umgewandelt wird. Wenn man also von geringen Zuckerkonzentrationen und großen Laugenkonzentrationen ausgeht, resultiert eine größere Menge Milchsäure und eine kleinere Menge Saccharinsäure.

Kapitel V.

Einfluß von konzentriertem NaOH und konzentriertem Ba(OH)₂ bei hohen Temperaturen.

(Versuche von M. Schüffenberger.)

Die Versuche dieses Kapitels lehnen sich an die von M. Schüffenberger unternommenen Versuche an, welcher nach einer

Angabe¹⁾ auf 1 Teil Rohrzucker 2½—3 Teile Baryhydrat mit etwas Wasser 48 Stunden bei ca. 160° einwirken ließ und dabei ca. 60% Milchsäure, nach einer anderen Angabe²⁾ bis 80% Milchsäure erhielt.

Wir prüften zunächst die Frage, ob der Rohrzucker bei Temperaturen von 150° an aufwärts andere Milchsäureausbeuten liefert als Invertzucker. Zu diesem Zwecke ließen wir 23,75 g Ba(OH)₂.8H₂O auf 9,615 g Rohrzucker, bzw. 10 g Invertzucker unter Zusatz von 30 ccm Wasser bei 150° einwirken.

Wir benützten wieder eine Birne aus Jenaer Glas, in welcher wir das eingebrachte pulvrisierte Baryhydrat mit der Zuckermenge mischten, das Wasser zugaben, dann in üblicher Weise die Birne auspumpten, zuschmolzen und in den Autoklav brachten.

Tabelle 17 a.

Rohrzucker und Invertzucker gegen Baryhydrat bei 150°.

Zuckerart und Menge g	Baryt- hydrat- menge g	Wasser- menge ccm	Temp. 150°	Vers- zeit Std.		Milchs.- ausb. %	ccm n/40 Perman- ganat pro 0,5 g Invertzucker	Gesamt- verbr. f. Harz u. Milchs.- bestimmung
				a	b			
9,615 g Rohrz.	23,75	30	150°	1/2	4	34	40	400
10,0 g Inv.	23,75	30	150	1/2	4	34	270	600
9,615 g Rohrz.	23,75	50	150	1/2	2	26	10	280
10,0 g Inv.	23,75	50	150	1/2	2	27	300	—

N.B. Versuchszeit a bedeutet: Zeit zum Erhitzen des Autoklaven von Kochtemperatur auf die Versuchstemperatur. Versuchszeit b bedeutet: Zeit, innerhalb welcher die Versuchstemperatur eingehalten wurde.

Die Versuche ergaben, wie Tab. 17 a zeigt, daß Rohrzucker bei einer Temperatur von 150° dieselben Milchsäureausbeuten wie Invertzucker liefert. Der Rohrzucker erleidet bei dieser Temperatur von selbst Inversion.

¹⁾ Bull. soc. chim. France 1876. T. XXV. S. 289; C. 76. 470

²⁾ B. 9. 448

Alle Milchsäureausbeuten sind in den Tabellen, auch wenn von Rohrzucker ausgegangen worden ist, auf Invertzucker bezogen worden. Denn Rohrzucker reagiert gegen Alkali in unserem Falle nicht als Rohrzucker, sondern als Invertzucker. Aus 9,615 g unseres Rohrzuckers entstanden immer 10 g Invertzucker; daher verwandten wir zu unseren Vergleichsversuchen entweder 9,615 g Rohrzucker oder 10 g Invertzucker.

Die Bildung von ätherlöslichem Harz ist bei Rohrzucker erheblich geringer als bei Invertzucker. Das Maximum der gebildeten Milchsäure wird aber hierdurch nicht in merkbarer Weise beeinflußt.

In den folgenden Versuchen unterliegen wir fast durchwegs die vorherige Inversion des Rohrzuckers und ließen das Alkali direkt auf den Rohrzucker einwirken.

Wir untersuchten nun den Einfluß des Zusatzes geringerer Wassermengen auf die Milchsäurebildung, d. h. den Einfluß gleichzeitiger Steigerung der Zucker- und Baryhydratkonzentration.

Wir führten diese Versuche in gleicher Weise wie diejenigen der Tabelle 17 a aus, nur setzten wir dem Zucker-Baryhydratgemisch bei den einzelnen Versuchen jeweils geringer werdende Wassermengen zu.

Es ergab sich, wie die entsprechende Tabelle 17 b zeigt, daß die Milchsäureausbeute bei geringerem Zusatz von Wasser besser

Tabelle 17 b.

Gleichzeitige Steigerung der Zucker- und Baryhydratkonzentration bei 150 °.

Zuckerart und Menge g	Bary- hydrat- menge g	Wasser- menge ccm	Temp. 150°	Vers.- zeit Std.		Mildhs. ausb. %	ccm n/40 Perma- ganat pro 0,5 g Invertzucker	
				a	b		z. Entfärbung des Harzes	Gesamt- verbr. f. Harz und Mildhs.- bestimmung
10,0 g Inv.	23,75	50	150°	1/2	2	27	300	—
9,615 g Rohrz.	23,75	50	150°	1/2	2	26	40	400
10,0 g Inv.	23,75	30	150°	1/2	2	33	240	500
9,615 g Rohrz.	23,75	15	150°	1/2	1	24	10	200

NB. Wegen Bedeutung von Versuchszeit a und b siehe Tab. 17 a.

ist und bei Zusatz von 15 ccm Wasser am günstigsten ist. Es wurde auch ein Versuch ohne Zusatz von Wasser gemacht, indem man Baryhydrat in Substanz 1 Stunde lang unter Luftabschluß in der Glasbirne bei einer Temperatur von 150 bis 180° auf Rohrzucker einwirken ließ. Bei diesem Versuch war also nur Kristallwasser zugegen. Die Glasbirne, in welcher sich das Reaktionsgemisch befand, zeigte sich nach Beendigung des Versuchs beim Herausnehmen aus dem Autoklaven noch völlig harmlos. Als sie aber nach der Abkühlung geöffnet werden sollte, explodierte sie mit heftigem Knall. Der Inhalt der Birne sprang über den Tisch. Eine rohe Analyse des Inhalts ergab ca. 50—55 % Milchsäure. Ein typischer Geruch nach Brenztraubensäure wurde bemerkbar. Der Rohrzucker hatte sich zum Teil unter Bildung von Gasen zersetzt.

Bei den folgenden Versuchen gingen wir nicht unter 15 ccm Wasserzusatz herunter. Wir studierten unter Beibehaltung dieser Wassermenge den Einfluß größerer Mengen Baryhydrats auf die Milchsäurebildung, d. h. wir erhöhten die Konzentration des Bariumhydroxydes unter Beibehaltung der Zuckerkonzentration. Aus Tab. 17 c, welche die diesbezüglichen Versuchsergebnisse enthält, ist ersichtlich, daß die Milchsäureausbeute mit der Zunahme der zugesezten Baryhydratmenge, d. h. mit der Zunahme der Baryhydratkonzentration steigt.

Tabelle 17 c.

Steigerung der Baryhydratkonzentration unter Beibehaltung der Zuckerkonzentration bei 150°.

Zuckerart und Menge g	Baryt- hydrat- menge g	Wasser- menge ccm	Temp. 150°	Vers.- zeit Std.		Milchs.- ausbeute %	ccm n/40 Perman- ganat pro 0,5 g Invertzucker	
				a	b		z. Entfärb- ung des Harzes	
9,615 g Rohrz.	23,75	15	150°	1/2	1	24	10	200
9,615 g Rohrz.	89,44	15	150°	1/2	1	28	—	—

NB. Wegen Bedeutung von Versuchszeit a und b siehe Tab. 17 a.

Wir stellten nun Versuche bei höherer Temperatur als 150°, mit verschiedenen Barythydratmengen und längerer Reaktionsdauer an, um zu sehen, wie weit sich die Milchsäureausbeute steigern lässt und unter welchen Bedingungen das Milchsäuremaximum erreicht wird.

Die Ergebnisse dieser Versuche finden sich in Tab. 17 d. Das Milchsäuremaximum ist bei 180° schon nach 1 Stunde erreicht und beträgt 56,0 %. Bei 200° ist es gleichfalls schon nach einer Stunde erreicht und beträgt 60 %. Diese Versuche, welche bei etwas höheren Temperaturen und kürzerer Reaktionsdauer als die Schützenbergerschen Versuche, aber sonst unter gleichen Verhältnissen ausgeführt wurden, ergaben also das von Schüßenberger erreichte Resultat. Die eine Literaturangabe über die Schützenbergerschen Versuchen Versuch e¹⁾, wonach unter diesen Bedingungen eine Steigerung der Milchsäureausbeute bis zu 80 % möglich ist, scheint

Tabelle 17 d.

Höhere Barythydratmengen bei den Temperaturen 180° und 200°.

Zuckerart und Menge g	Baryt- hydrat- menge g	Wasser- menge ccm	Temp.	Vers- zeit Std.		Milchs.- ausbeute %	ccm n/40 Perman- ganat pro 0,5 g Invertzucker	
				a	b		z. Entfärbung des Harzes	Gesamt- verbr. f. Harz und Milchs.- bestimmg.
9,615 g Rohrz.	39,44	15	180°	1	1	56	60	550
" "	39,44	15	180°	1	2	57	50	550
" "	39,44	15	180°	1	4	56	0	500
" "	39,44	15	180°	1	4	56	0	500
" "	78,88	15	180°	1	4	56	0	500
" "	39,44	15	200°	1	1	60	70	500
" "	39,44	15	200°	1	2	60	60	500

NB. Wegen Bedeutung von Versuchszeit a und b siehe Tab. 17 a.

aber unseres Erachtens nicht richtig zu sein. Die Verlängerung der Reaktionsdauer um 48 Stunden, wie dies Schüßenberger getan hat, hätte nach unseren bisherigen Erfahrungen keinen besseren Erfolg gezeitigt. Die Feststellung der Konstanz des Milchsäuremaximums

¹⁾ B. 9. 448.

während 3 Stunden Versuchsdauer war für uns genügend Beweis dafür, daß die Milchsäureausbeute nicht mehr steigt.

Weiter unternahmen wir Versuche, welche feststellen sollten, ob bei den hohen Temperaturen von 180° — 200° Milchsäure durch den Einfluß des Alkalies teilweise zerstört wird. Zu diesem Zweck ließen wir auf eine bekannte Menge Milchsäure die stark wirkenden Alkalien KOH und NaOH unter den von Schüßenberger eingehaltenen Bedingungen bei 180 — 200° einwirken.

1. Versuch: 6,612 g Milchsäure mit 10 g NaOH und 15 ccm Wasser in eingeschmolzener Glasbirne 2 Stunden bei 180° erhitzt. Die Lösung blieb farblos wie am Anfang. Es bildete sich kein Harz und es wurden 6,616 g Milchsäure wiedergefunden.

2. Versuch: 6,612 g Milchsäure mit 14 g KOH und 15 ccm Wasser im Kupfergefäß unter Luftabschluß 2 Stunden bei 200° erhitzt. Die Lösung blieb farblos und es hatten sich keine Harze gebildet. Es wurden 6,612 g Milchsäure wiedergefunden.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß Milchsäure bei 180° bis 200° unter dem Einfluß konzentrierten Alkalies (ca. 15 n - Lauge) nicht im geringsten zersetzt wird.

Zum Schluß machten wir noch vergleichende Versuche mit Natronlauge und Baryhydrat bei 150° und 180° und hoher Konzentration. Sie sind in Tab. 17 e verzeichnet.

Wir können aus ihnen entnehmen, daß das Baryhydrat unter sonst gleichen Bedingungen eine von der Natronlauge verschiedene Wirkung auf die Milchsäurebildung hat. Wir kommen wiederum zu dem Ergebnis, daß die Nefsche Behauptung nicht stimmt, welche besagt, daß «die relative Menge der entstehenden Reaktionsprodukte gleich sein muß, wenn die Konzentrationen der angewandten Metallhydroxyde gleich sind». Während das Maximum der Milchsäureausbeute durch Natronlauge von den hier angewandten Konzentrationen so gut wie gar nicht verändert und ziemlich konstant zwischen 47—48 % bleibt, bemerken wir bei Anwendung von Baryhydrat eine Steigerung des Maximums der Milchsäureausbeute mit höherer Konzentration (bis 56 %) und ein Fallen des Maximums unter den mit Natronlauge erreichten Wert (auf 34 %) mit geringerer Konzentration. Dem Baryhydrat müssen «spezifische» Wirkungen zugesprochen werden, welche der

Tabelle 17 e.

Vergleichende Versuche mit Natronlauge und Baryhydrat
bei 150 ° und 180 ° und hoher Konzentration.

Zuckerart und Menge g	Baryt- hydrat- menge g	Wasser- menge ccm	Temp.	Vers.- zeit Std.		Milch- ausb. %	ccm n/40 Perman- ganat pro 0,5 g Invertzucker	z. Entfärb- ung des Harzes	Gesamt- verbr. f. Harz und Milchs.- bestimmng.
				a	b				
10,0 g Inv.	23,75	30	150°	1/2	4	34	270	600	
9,615 g Rohrz.	23,75	15	150°	1/2	1	24	10	200	
" "	39,44	15	180°	1	1	56	60	550	
" "	39,44	15	180°	1	4	56	0	500	
" "	78,88	15	180°	1	4	56	0	500	
	NaOH- menge								
9,615 g Rohrz.	6,022	30	150°	1/2	4	47,5	90	560	
" "	6,022	15	150°	1/2	0	45,0	90	500	
" "	6,022	15	150°	1/2	1	47,0	90	550	
" "	10,0	15	180°	1	1	48,0	70	550	

N.B. 6,022 g NaOH entsprechen 23,75 g Baryhydrat,

10,0 g NaOH entsprechen 39,44 g Baryhydrat.

Wegen Bedeutung von Versuchszeit a und b siehe Tab. 17 a.

Natronlauge nicht eigen sind. Die spezifische Wirkung liegt offenbar in der OH-Ionenkonzentration begründet. Eine 10 %ige Baryhydratlösung besitzt eine andere OH - Ionenkonzentration als beispielsweise eine 10 %ige Natronlaugelösung.

Mit Alkalimengen, welche der Baryhydratmenge äquivalent sind, lassen sich entgegen den Beobachtungen von M. Schüzenberger nur Milchsäureausbeuten erzielen, welche nicht über 50 % gehen.

Aus den Versuchen dieses Kapitels ergeben sich schließlich noch die folgenden, teilweise schon im Kapitel 4 gewonnenen Ergebnisse :

Die Milchsäureausbeute wird umso besser, je größer die Konzentration des Baryhydrates im Verhältnis zur Zuckerkonzentration ist. Bei sehr großer Laugenkonzentration, d. h. bei völliger

oder fast völliger Abwesenheit von Wasser und Einwirkung von Alkali und Zucker in Substanz, tritt zwar auch noch in erheblichem Maße Milchsäurebildung ein, aber gleichzeitig unter Zersetzung des Zuckers und Entwicklung von Zersetzungsgasen.

Die Temperatur spielt bei den Baryhydratversuchen dieses Kapitels auch eine Rolle. Sie beeinflußt die Lösungsgeschwindigkeit des Baryhydrats, damit die Konzentration und den Reaktionsverlauf. Baryhydrat ist in den bei diesen Versuchen angewandten Mengen bei gewöhnlicher Temperatur nur in geringem Maße in der angewandten Wassermenge löslich und löst sich erst allmählich im Autoklaven mit Erreichung der hohen Versuchstemperatur völlig auf. Infolge der beschränkten Löslichkeitsverhältnisse des Baryhydrates ist es für die Milchsäureausbeute belanglos, die Menge Baryhydrat bei gegebener konstanter Wassermenge, (die in unserem Falle gemäß den Schüllengerger'schen Versuchen sehr gering war), über das Maß hinaus zu steigern, wo keine Auflösung des Baryhydrates, auch bei den hohen Temperaturen nicht mehr stattfindet.

Wir konnten bei längerer Reaktionsdauer eine fortschreitende Abnahme der Harzmenge ohne entsprechende Zunahme der Milchsäuremenge feststellen, woraus wir abermals entnehmen, daß die ätherlöslichen, gefärbten Harzprodukte keine Zwischenprodukte bei der Milchsäurebildung sind.

B. Glukose und Alkalien.

Zu den Versuchen mit Glukose und Alkalien verwandten wir ein d-Glukosepräparat von Merck, Darmstadt, welches, wie die Analyse ergab, 100 % ig war. Nach der jodometrischen Zuckerbestimmungsmethode von Kolthoff¹⁾ ergaben sich

- | | | |
|-----------------------------|-------------|----------|
| a) | 99,76 % | Glukose, |
| b) | 100,2 % | Glukose, |
| nach Bertrand ²⁾ | a) 100,15 % | Glukose, |
| | b) 99,5 % | Glukose. |

¹⁾ Z. f. Nahrungs- und Genußmittel 1923 S. 134

²⁾ Euler, Chemie der Enzyme, Anhang 1920

Kapitel I.

Einfluß von besonders starker Natronlauge, $2\frac{1}{2}$ n bis 10n-NaOH, auf die Milchsäurebildung.

a) Einwirkung einer $2\frac{1}{2}$ n-NaOH auf eine 10%ige d - Glukoselösung bei 25° .

Versuchsanordnung : Sie wurde etwas anders wie früher getroffen. Wir verwandten keine Erlenmeyerkölbchen mehr, sondern brachten das Zucker-Alkaligemisch in ein Meßkölbchen von 100 ccm Inhalt. Hierdurch vermieden wir das umständliche Aufwiegen der Kölbchen durch Zusatz von Wasser. In das 100 ccm Meßkölbchen brachten wir zunächst 10 g Glukose, welche wir in 25 ccm kohlensäurefreiem Wasser auflösten. In ein kleines Erlenmeyerkölbchen brachten wir 10 g Äquivalent (entsprechend 15,6 ccm nach Sörensen hergestellter kohlensäurefreier Natronlauge), welche wir durch Zugabe von 25 ccm Wasser verdünnten. Beide Lösungen temperierten wir auf 20° . Beim Zugießen der NaOH-Lösung zur Zuckerlösung in das Meßkölbchen stieg die Temperatur etwas und erreichte nach dem Auffüllen des Gemisches mit Wasser auf 100 ccm und Durchschütteln desselben die Temperatur 25° . Es wurde nun ein dünnes, U-förmig gebogenes Rohr auf das Meßkölbchen gesetzt und über das Ende des U-Rohrs stülpten wir noch ein mit Wasser gefülltes Reagenzglas, nachdem wir das gefüllte Meßkölbchen in den Thermostaten gestellt hatten, welcher uns als pneumatische Wanne diente. Mit dieser Vorrichtung erreichten wir einen luftdichten Abschluß und konnten eventuell bei der Reaktion sich bildende Gase, die nicht Kohlensäure waren, auffangen. Den im Meßkölbchen über der Flüssigkeit stehenden 2–3 ccm großen Luftrest pumpten wir nicht heraus, da wir feststellten, daß er auf den Verlauf der Reaktion keinen Einfluß hat. Die Füllung des Meßkölbchens dauerte stets 2 Minuten. Nach Ablauf dieser Zeit wurde das Meßkölbchen in den Thermostaten bei 25° gestellt und von hier ab wurde die Reaktionsdauer gemessen.

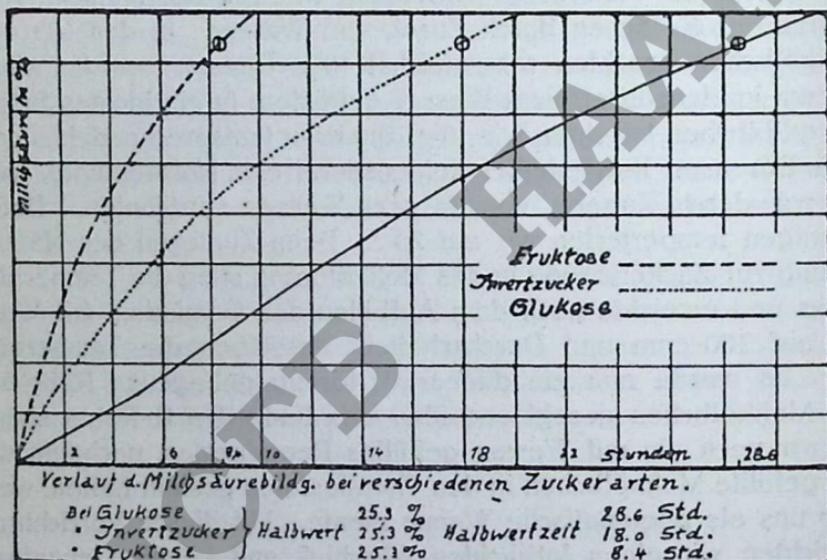
Die Einwirkung des Alkalis auf die Glukose machte sich bei diesen Versuchen, wie bei den Invertzuckerversuchen, äußerlich durch zunehmende Gelb- und Dunkelfärbung kenntlich. Jedoch trat die

Dunkelfärbung viel langsamer ein als bei den analogen Invertzuckerversuchen. Auch war die Färbung am Schluß der Reaktion niemals so tief braun wie bei den Invertzuckerversuchen. Gasbildung beobachteten wir nicht.

Die analytischen Ergebnisse dieser Versuche sind in den Tabellen 18 a, b, c, d niedergelegt.

Die Geschwindigkeit der Milchsäurebildung ist bedeutend geringer als bei Invertzucker. Die Halbwertzeit beträgt beim Glukoseversuch 28,6 Stunden, beim Invertzuckerversuch 18,0 Stunden. Vergleiche Diagramm Nr. IV.

Diagramm IV.



Das Verhältnis von Natronlaugeverbrauch für Milchsäure zu Natronlaugeverbrauch für Restprodukte beträgt

beim Glukoseversuch nach 5 St. 1 : 0,91,
nach 24 St. 1 : 0,636,

beim Invertzuckerversuch nach 5 St. 1 : 1,03,
nach 24 St. 1 : 0,644.

Das Verhältnis der Prozente vom maximalen Verbrauch für Milchsäure bzw. Restprodukte, aus Tabelle 18 c und 1 c ermittelt, beträgt

beim Glukoseversuch nach 5 St. 1 : 1,6,
nach 24 St. 1 : 1,109,

beim Invertzuckerversuch nach 5 St. 1 : 1,8,
nach 24 St. 1 : 1,127.

Das durchschnittliche Äquivalentgewicht der Restprodukte am Schluß der Reaktion beträgt bei Glukose 153 und bei Invertzucker 154—156. Es besteht also kein wesentlicher Unterschied.

Die maximale Milchsäureausbeute beträgt wie beim Invertzuckerversuch 50,6 %.

Milchsäure und Restprodukte scheinen nicht nur am Schluß, sondern auch während des Reaktionsverlaufes im gleichen Verhältnis wie beim Invertzuckerversuch gebildet zu werden. Die Reaktion verläuft offenbar mit Glukose ganz ähnlich wie mit Invertzucker, nur eben viel langsamer.

Tabelle 18 a.

2½ n - NaOH und 10 % ige Glukose-Lösung bei 25 °.

Vers.-zeit	Milch-säure-aus-beute %	Unverbr. NaOH in 1 ccm Vers.-lösung		Stu-fen-titra-tion Diff. ccm	ccm n/40 Permanganat pro 4,5 ccm Vers.-Lösg. oder 0,45 g Zucker		Noch vorh. Zucker %	Rest-prod. %
		Thymolph-talein n/10 ccm	Methyl-orange n/10 ccm		z. Entfärb. des Harzes	Gesamt-verbr. f. Milchs.-bestimmung und Harz		
0	0	25,0	25,0	0	0	0	100	0
5 Std.	4,2	24,15	24,5	0,35	0	22	94,8	1
1 Tg.	22,3	20,75	22,1	1,35	0	130	51,4	26,3
5	50,0	16,15	18,75	2,6	10	285	Sp.	—
7 "	50,6	16,15	18,85	2,7	10	285	0	49,4
14 "	50,6	16,15	18,85	2,7	10	285	0	49,4

Auf die Unstimmigkeit zwischen Natronlaugeverbrauch für Restprodukte nach 5 Stunden und den Restprodukten selbst, welche letztere wir mit Hilfe der Osazonmethode ermittelten, müssen wir noch hinweisen. Es ist unmöglich, daß 4 % Milchsäure und nur 1 % Restprodukte entstanden sein sollen, während der Natronlaugeverbrauch für Restprodukte und Milchsäure gerade das Gegen teil wahrscheinlich macht; nämlich, daß erheblich mehr Restprodukte als Milchsäure gebildet worden sind. Da die Osazon-

bestimmung, welche wiederholt ausgeführt wurde, und das in Tabelle 18 d verzeichnete Resultat lieferte, als richtig bezeichnet werden muß, könnte der Fehler nur in der Umrechnung des Osazons in Zucker liegen. Würde man annehmen, daß durch den Einfluß der Natronlauge Isomerisation eintritt und hierbei z. B. ein Gemisch von 1 Teil Fruktose und 8 Teile Glukose gebildet wird, so würde eine entsprechende Umrechnung der Osazonmenge in Zucker schon 7 % Restprodukte ergeben. Eine verhältnismäßig geringe Isomerisation würde also genügen, das Ergebnis schon deutlich zu Gunsten der Restprodukte zu verschieben. Diese Erwägungen geben zu der Annahme Anlaß, daß man es bei der oben festgestellten Unstimmigkeit mit einem Fehler zu tun hat, welcher durch eintretende Isomerisation hervorgerufen wird.

Tabelle 18 b.

Ergänzung zu Tabelle 18 a.

$2\frac{1}{2}$ n - NaOH und 10 % ige Glukose-Lösung bei 25 °.

Zeit	Gesamt-Verbrauch an NaOH g	an Mildhs. gebundene NaOH g	in % vom Gesamtverbrauch	an Restprod. gebundene NaOH g	in % vom Gesamtverbrauch
5 Std.	0,840	0,178	52,4	0,162	47,6
1 Tg.	1,620	0,990	61,1	0,630	38,9
5 "	3,540	2,245	63,4	1,295	36,6
7 "	3,540	2,250	63,6	1,290	36,4
14 "	3,540	2,250	63,6	1,290	36,4

Tabelle 18 c.

Ergänzung zu Tabelle 18 a.

$2\frac{1}{2}$ n - NaOH und 10 % ige Glukose-Lösung bei 25 °.

Zeit	an Mildhs. geb. NaOH in % vom maximalen Verbr. an NaOH f. Mildhs.	an Restprod. geb. NaOH in % vom maximalen Verbr. an NaOH f. Restprodukte
5 Std.	7,9	12,56
1 Tg.	44,0	48,8
5 "	99,8	100
7 "	100	100
14 "	100	100

T a b e l l e 18 d.

Ergänzung zu Tabelle 18 a. .

2½ n - NaOH und 10 % ige d-Glukose-Lösung bei 25 °.

Vers.-Zeit	Milds.-ausb. %	Noch vorhan- dener Zucker %	Restprodukte %	Natron- laugeverbr. f. Rest- produkte g	Durchschnittl. Äquivalentgew. der Restprodukte
5 Std.	4,2	94,8	1	0,162	25
1 Tg.	22,3	51,4	26,3	0,630	169
7 „	50,6	0	49,4	1,290	158

Die ermittelten Zahlen für Restprodukte und auch die durchschnittlichen Äquivalentgewichte für Restprodukte in Tab. 18d sind jedenfalls mit Vorsicht zu beurteilen. Mit dem Fortschreiten der Reaktion werden die Fehlerquellen verringert. Die nach 24 Std. ermittelten Zahlenwerte dürften schon annähernd den Tatsachen entsprechen. Wir fanden nach 24 Std. bei Glukose ein durchschnittliches Äquivalentgewicht für Restprodukte von 169, gegenüber einem durchschnittlichen Äquivalentgewicht von 162–174 bei Invertzucker. Ferner stellten wir auch bei dem Glukoseversuch gegen Schluß der Reaktion ein Fallen des durchschnittlichen Äquivalentgewichtes fest. Wir erwähnten schon, daß diese Erscheinung darauf hindeutet, daß die Bildung von Säuren mit kürzerer Kohlenstoffkette langsamer vor sich geht als die Bildung der C₆-Säuren.

Die in Bezug auf das Äquivalentgewicht sonderbaren Verhältnisse zu Beginn der Reaktion weisen unter Umständen auf die Bildung von Zwischenprodukten hin.

b) Einwirkung einer 5 n - NaOH auf eine 5 % ige d - Glukose- Lösung bei 25 °.

Versuchsanordnung. 5 g Glukose im 100 ccm Meßkölbdien in 10 ccm Wasser gelöst und in Eis gekühlt. Dann zur Glukoselösung eine eisgekühlte Lösung von 20 g kohlensäurefreier Natronlauge in 60 ccm Wasser gegossen und mit kohlensäurefreiem Wasser auf 100 ccm aufgefüllt, gut durchgeschüttelt und mit unserer unter a) geschilderten Vorrichtung luftdicht verschlossen. Die Temperatur stieg auf ca. 23–25 °. In 2 Minuten war die Füllung been-

det und das Meßkölbchen wurde in den Thermostaten bei 25° gestellt.

Die Ergebnisse dieser Versuche befinden sich in Tab. 19.

Tabelle 19.
5 n - NaOH und 5 % ige d-Glukose-Lösung bei 25°.

Vers.-zeit Tage	Milchs.-ausbeute %	Unverbr. NaOH in 1 ccm Vers.-lösung		Stufen-titration Diff. ccm	ccm n/40 Permanganat pro 4,5 ccm Vers.-Lösg. oder 0,225 g Zucker		Noch vor-han-dener Zucker %
		Thymolph-talein n/10 ccm	Methyl-orange n/10 ccm		z. Entfärbung des Harzes	Gesamt-verbrauch f. Milchs.-bestimmung und Harz	
0	0	—	—	—	0	0	100
8	53,9	—	—	—	0	180	0
14	54,4	—	—	—	0	180	0

c) Einwirkung einer 10 n - NaOH auf eine 5 % ige d - Glukose-Lösung bei 25°.

Versuchsanordnung. Zu 5 g Glukose in 10 ccm eisgekühltem Wasser 62,4 ccm nach Sörensen hergestellter Natronlauge, entsprechend 40 g kohlensäurefreiem NaOH, eisgekühlt gegeben. Die Weiterbehandlung geschah wie bei den vorhergehenden Versuchen.

Das Ergebnis dieser Versuche ist in Tabelle 20 verzeichnet.

Tabelle 20.
10 n - NaOH und 5 % ige d-Glukose-Lösung bei 25°.

Vers.-zeit Tage	Milchs.-ausb. %	Unverbr. NaOH in 1 ccm Vers.-lösung		Stufen-titration Diff. ccm	ccm n/40 Permanganat pro 4,5 ccm Vers.-Lösg. oder 0,225 g Zucker		Noch vor-han-dener Zucker %
		Thymolph-talein n/10 ccm	Methyl-orange n/10 ccm		z. Entfärbung des Harzes	Gesamt-verbr. f. Milchs.-bestimmung und Harz	
0	0	—	—	—	0	0	100
8	56,0	—	—	—	0	200	0
14	56,0	—	—	—	0	200	0

E r g e b n i s s e a u s a), b) und c).

Mit wachsender Alkalikonzentration wird die maximale Milchsäureausbeute erhöht und die Harzbildung verringert. Bei den Versuchen mit 5 n - und 10 n - NaOH wird letztere so gering, daß sie mit n/40 Permanganat nicht mehr meßbar ist. Es werden also die schon mit Invertzucker gemachten Erfahrungen bestätigt.

Wesentlich unterscheidet sich die Glukose von Invertzucker durch ihre geringere Reaktionsfähigkeit, welche sich in geringerer Anfangsgeschwindigkeit der Milchsäure- und Saccharinsäurebildung und in dem geringeren Harzbildungsvermögen äußert.

Kapitel II.

Einfluß eines Zusatzes von milchsaurem Natrium auf die Milchsäurebildung.

Nach dem Massenwirkungsgesetz kann man den Verlauf einer Reaktion, d. h. die Geschwindigkeit und den Gleichgewichtszustand einer Reaktion durch Erniedrigung oder Erhöhung der Konzentration eines der an der Reaktion beteiligten Stoffe ändern.

Bei unserer Reaktion konnten wir durch Erhöhung der Konzentration des Alkalis sowohl die Geschwindigkeit der Milchsäurebildung als auch das Maximum der gebildeten Milchsäuremenge steigern. Es war nun interessant zu untersuchen, ob durch Zusatz von beispielsweise sehr viel Natriumlaktaat die Geschwindigkeit der Neubildung von Milchsäure bzw. Natriumlaktaat aus Glukose gehemmt, sowie der Gleichgewichtszustand im Sinne einer Erniedrigung der auf Grund der angewandten Zuckermenge möglichen Gesamtausbeute an Natriumlaktaat geändert würde. Wie aber da hin gehende Versuche zeigten (s. u.) hatte ein Zusatz von Natriumlaktaat weder auf die Geschwindigkeit der Milchsäurebildung noch auf das Maximum der gebildeten Milchsäuremenge einen Einfluß und er wirkte so, als ob er gar nicht gemacht worden wäre.

Die Konzentration des Endproduktes Natriumlaktaat beeinflußt die Geschwindigkeit der Milchsäurebildung also nicht. Man muß daraus schließen, daß das Maximum der Milchsäurebildung unter den von uns angewandten Versuchsbedingungen nur von der Geschwindigkeit der Saccharinsäurebildung abhängig ist, welche stets neben der Milchsäurebildung als Sonderreaktion einhergeht und den Zucker mitverbraucht, welcher sich in Milchsäure umsetzen

könnte. Da die Geschwindigkeit der Milchsäurebildung und die Geschwindigkeit der Saccharinsäurebildung mit der Änderung der Versuchsbedingungen, z. B. mit der Erhöhung oder Erniedrigung der Alkalikonzentration, nicht im gleichen Maße steigen oder fallen, müssen höhere oder niedrigere Milchsäuremaxima resultieren.

Wir führten die Natriumlaktatversuche derart aus, daß wir 10 g NaOH auf 10 g Glukose zu 100 ccm in Wasser gelöst bei 25° mit einem Zusatz von 11,630 g milchsaurem Natrium, entsprechend 9,344 g Milchsäure, einwirken ließen.

Zum Vergleich machten wir einen Parallelversuch ohne Natriumlaktatzusatz und es ergaben sich folgende Resultate:
Mit Natriumlaktatzusatz:

Nach 1 Tg. Reaktionsdauer aus Glukose gebildet: 23,4 % Milchsäure
noch vorhandene Glukosemenge: 53,3 %

Nach 6 Tg. Reaktionsdauer aus Glukose gebildet: 50,3 % Milchsäure
noch vorhandene Glukosemenge: 0,0 %

Ohne Natriumlaktatzusatz.

Nach 1 Tg. Reaktionsdauer aus Glukose gebildet: 24,3 % Milchsäure
noch vorhandene Glukosemenge: 51,4 %

Nach 6 Tg. Reaktionsdauer aus Glukose gebildet: 50,6 % Milchsäure
noch vorhandene Glukosemenge: 0,0 %

Der geringe Unterschied, welcher während des Reaktionsverlaufes zwischen Milchsäurebildung und Zuckerverbrauch besteht, ist auf die Beeinflussung der OH-Ionenkonzentration der Natronlauge durch das zugesezte Natriumlaktat zurückzuführen.

Kapitel III.

Einfluß von Phosphat und Bleiacetat als Kontaktsubstanzen auf die Milchsäurebildung.

Der Zucker hat die Eigentümlichkeit, mit Natronlauge gleichzeitig nach 2 verschiedenen Richtungen zu reagieren, in der Richtung der Saccharinsäurebildung, bei welcher keine Aufspaltung des Zuckermoleküles stattfindet, und in der Richtung der Milchsäure- und α , γ -Dioxybuttersäurebildung, bei welcher die Aufspaltung stattfindet. Beide Reaktionsrichtungen werden begünstigt durch Erhöhung der Natronlaugekonzentration, die Milchsäurebildung mehr als die Saccharinsäurebildung. Bei Abnahme der Natronlaugekonzentration sinkt die Geschwindigkeit der Milchsäure-

bildung, ebenso die Geschwindigkeit der Saccharinsäurebildung, bis die Alkalikonzentration so gering wird, daß die Milchsäurebildung ganz aufhört und nur noch Salz- und Harzbildung eintritt.

Es erschien unter diesen Umständen interessant zu erfahren, ob die beiden Reaktionsrichtungen oder eine von den beiden durch Kontaktsubstanzen beeinflußbar ist. Wir untersuchten das Natriumphosphat und das Bleiacetat in ihrer Wirkung als Kontaktsubstanzen.

a) Die Wirkung des Phosphates als Kontaktsubstanz.

Was das Phosphat als Kontaktsubstanz anlangt, so hatte man schon früher¹⁾ gefunden, daß in der Natur sowohl Hexose-di-phosphorsäure-, als auch Hexose-mono-phosphorsäureester auftreten und Stärke, wie Glykogen, einen, wenn auch kleinen Gehalt an Phosphorsäure aufweisen, welcher allem Anschein nach organisch gebunden ist. Man fand ferner, daß die Phosphorsäureester fermentativ spaltbar sind und bei der Hefe- wie Milchsäuregärung eine wichtige Zwischenrolle spielen.

Neuberg²⁾ gelang es künstlich phosphorilierte Zucker darzustellen, welche gleichfalls fermentativ spaltbar waren. Es lag daher nahe, auch in unserem Falle bei der Einwirkung von Natronlauge auf Zucker den Einfluß der Phosphorsäure zu studieren. Es war denkbar, daß eine vorherige Vereinigung des Kohlenhydrats mit der Phosphorsäure zu einer organischen Verbindung die Milchsäure- oder Saccharinsäurebildung irgendwie beeinflußte.

Wir bedienten uns nicht des bekannten Verfahrens, mit Hilfe von Phosphoroxychlorid und Kalk zunächst Phosphorsäureester darzustellen, sondern wir versuchten, ähnlich wie es Neuberg in neueren Versuchen³⁾ anstrebt, durch Zugabe von Natriumphosphat zu der alkalisch gemachten Zuckerlösung eine Kontaktwirkung zu erreichen, welche sich in der Geschwindigkeit der Milchsäurebildung äußert.

Wir ließen bei unseren Versuchen 10 g Äthnatrion auf 10 g Glukose zu 100 ccm in Wasser gelöst unter Zusatz von 0,250 g sekundärem Natriumphosphat (nach Sörensen) bei 25° einwirken. Zum Vergleich machten wir unter denselben Bedingungen Versuch

¹⁾ Biochem. Z. 23. 515.

²⁾ Biochem. Z. 26. 514

³⁾ Biochem. Z. 155. 499.

Tabelle 21. Versuche mit und ohne Phosphatzusatz bei 25°.

Vers.-Zeit	Milchs.-Ausb. %	Unverbr. NaOH in 1 ccm Vers.-lösung		Stufen-titration Diff. ccm	ccm n/40 Perman-ganat pro 4,5 ccm Vers.lösg. oder 0,45 g Zucker		Noch vor-han-dener Zucker %	Rest.-prod. %
		Thymolph-talein n/10 ccm	Methyl-orange n/10 ccm		zur Entfärbung des Harzes	Gesamt-verbr. f. Milchs.-bestimmg. und Harz		
Mit Phosphatzusatz.								
0	0	25,0	25,0	0	0	0	100	0
5 Std.	4,0	24,0	24,55	0,55	0	22	95,3	1
1 Tg.	23,5	20,4	21,7	1,3	0	135	52,9	23,6
5 "	50,0	15,95	18,6	2,65	10	285	Sp.	—
7 "	50,9	15,95	18,65	2,7	10	285	0	49,1
Ohne Phosphatzusatz.								
0	0	25,0	25,0	0	0	0	100	0
5 Std.	4,2	s.	s.	s.	s.	s.	94,8	1
1 Tg.	22,3	Tab.	Tab.	Tab.	Tab.	Tab.	51,4	26,3
5 "	50,0	18a	18a	18a	18a	18a	Sp.	—
7 "	50,6						0	49,4

Tabelle 22. Versuche mit und ohne Bleiacetatzusatz bei 25°.

Vers.-zeit	Milchs.-ausb. %	Unverbr. NaOH in 1 ccm Vers.-lösung		Stufen-titration Diff. ccm	ccm n/40 Perman-ganat pro 4,5 ccm Vers.-Lösg. oder 0,45 g Zucker		Noch vor-han-dener Zucker %	Rest.-prod. %
		Thymolph-talein n/10 ccm	Methyl-orange n/10 ccm		z. Entfärbung des Harzes	Gesamt-verbr. f. Milchs.-bestimmg. und Harz		
Mit Bleiacetat								
0	0	25,0	25,0	0	0	0	100	0
1	24,5	20,4	21,6	1,2	0	135	53,1	22,4
14	51,0	15,8	18,3	2,5	10	290	0	49,0
Ohne Bleiacetat.								
1	22,3	20,55	21,9	1,35	0	130	51,4	26,3
14	50,6	15,95	18,65	2,7	10	285	0	49,4

ohne Phosphatzusatz. Im einzelnen war die Versuchsanordnung so, daß 10 g Glukose in 25 ccm Wasser von 20° in einem 100 ccm Meßkölbchen aufgelöst und dazu in einem Falle 10 g NaOH in 25 ccm 20grädigem Wasser, im anderen Falle 10 g NaOH in 25 ccm 1 % iger Phosphatlösung von 20° gegeben wurden.

Das Ergebnis der Versuche war nun, wie aus Tab. 21 hervorgeht, ein völlig negatives. Die Erwartung, daß die geringe Menge Phosphat katalytisch wirken, d. h. durch Bildung intermediärer Glukosephosphorsäureester den Verlauf der Milchsäure- oder Saccharinsäurebildung beeinflussen würde, war nicht eingetroffen. Die Milchsäure-, sowie die Zuckerbestimmung ergab in beiden Fällen dieselbe Zunahme bzw. Abnahme, sodaß angenommen werden mußte, daß das Phosphat unter diesen Bedingungen mit dem Zucker gar nicht in Reaktion getreten war.

Bemerkt sei noch, daß wir nicht in dem Glauben sind, mit diesen wenigen Versuchen das Kapitel der Phosphorilierung mittels anorganischem Phosphat erschöpft zu haben. Vielmehr sind wir der Ansicht, daß das Problem der künstlichen und natürlichen Phosphorilierung in seinem Zusammenhang mit der Aufspaltung des Zuckers in Milchsäure dem Forscher noch viele aussichtsreiche Möglichkeiten bietet.

b) Die Wirkung des Bleiacetates als Kontaktsubstanz.

Wir ließen 10 g NaOH auf 10 g Glukose zu 100 ccm in Wasser gelöst bei 25° unter Zusatz von 0,5 g Bleiacetat einwirken. Zum Vergleich machten wir dieselben Versuche ohne Bleiacetat-zusatz. Im einzelnen geschah die Ausführung der Versuche derart, daß in einem 100 ccm Meßkölbchen 10 g Glukose in 25 ccm Wasser von 20° aufgelöst und mit einer Lösung von 15,6 ccm kohlensäurefreier Natronlauge nach Sörensen, entsprechend 10 g Aegnatron, in 25 ccm 2 % iger Bleiacetatlösung, welche auf 20° temperiert war, versezt wurden. Die Weiterbehandlung geschah wie früher. Einfüllzeit 2 Minuten. Versuchstemperatur 25°.

Das Ergebnis dieser Versuche war wie bei den Phosphatversuchen ein negatives. Aus den ermittelten Daten, welche in Tab. 22 verzeichnet sind, geht hervor, daß eine ersichtliche Kontaktwirkung des Bleies weder auf die Geschwindigkeit der Milchsäurebildung noch auf die Geschwindigkeit der Saccharinsäurebildung stattgefunden hat.

C. Fruktose und Alkalien.

Zu den Versuchen mit Fruktose verwendeten wir ein 100 % -iges d - Fruktosepräparat von Merck, Darmstadt. Wir führten zunächst Versuche mit $2\frac{1}{2}$ n - NaOH aus, um das Verhalten der Fruktose im Vergleich zu Glukose und Invertzucker kennen zu lernen. Dann gingen wir zu Versuchen mit 3 n - und 6 n - Na₂CO₃ über.

1. Verhalten einer 10%igen Fruktoselösung gegen $2\frac{1}{2}$ n-NaOH bei 25°.

Die Versuchsanordnung war dieselbe wie bei den Glukoseversuchen. Es wirkten 10 g kohlensäurefreie NaOH, entsprechend 15,6 ccm Sörensenscher Natronlauge, auf 10 g Fruktose zu 100 ccm in Wasser gelöst bei 25° ein.

Die erhaltenen Versuchsresultate finden sich in den Tabellen 23 a, b, c, d.

Vergleicht man die Ergebnisse mit den bei Glukose und Invertzucker erhaltenen Ergebnissen, s. Tab. 18 a, b, c, d, bzw. 1 a, 5 und 12, so bemerkt man, daß, soweit Maxima in Betracht kommen, das Ergebnis bei allen 3 Zuckerarten dasselbe ist. Auch beim Fruktoseversuch beträgt die maximale Milchsäureausbeute 50,5 bis 51,0 %, der Gesamtalkaliverbrauch etwa 3,5 g = 35 % und die Stufentitrationsdifferenz pro 1 ccm Versuchslösung 2,7—2,75 ccm und das durchschnittliche Aequivalentgewicht der Restprodukte am Schluß der Reaktion 158 gegenüber 153 bei Glukose und 154—156 bei Invertzucker. Das Harzbildungsvermögen ist etwas größer als bei Invertzucker und Glukose.

Was aber auffällt, ist die enorme Reaktionsfähigkeit der Fruktose. Fruktose ist weitaus reaktionsfähiger als Glukose und Invertzucker, was sowohl in der Geschwindigkeit der Milchsäurebildung als auch im Zuckerverbrauch und Natronlaugeverbrauch für Restprodukte zum Ausdruck kommt.

Die Geschwindigkeit der Milchsäurebildung ist bei Fruktose entsprechend der Halbwertzeit, s. Diagramm Nr. IV, fast 4 mal so groß wie bei Glukose und doppelt so groß wie bei Invertzucker.

Das Verhältnis von Natronlaugeverbrauch für Milchsäure zu Natronlaugeverbrauch für Restprodukt beträgt

- bei F r u k t o s e nach 24 St. 1 : 0,576 (1 : 1,057)
 bei G l u k o s e nach 24 St. 1 : 0,636 (1 : 1,109)
 bei I n v e r t z u c k e r nach 24 St. 1 : 0,644 (1 : 1,127).

Die in Klammern angegebenen Zahlen geben das Verhältnis der Prozente vom maximalen Natronlaugeverbrauch für Milchsäure zu den Prozents des maximalen Natronlaugeverbrauches für Restprodukte, welches aus den Tab. 1 c, 18 c und 23 c ermittelt wurde, an.

Man bemerkt in der Verteilung des Natronlaugeverbrauches auf Milchsäure und Restprodukte nach 24 Std. eine auffallende Uebereinstimmung bei allen 3 Zuckerarten.

T a b e l l e 23 a.

2½ n - NaOH und 10 % ige Fruktoselösung bei 25°.

Vers.-Zeit Tage	Milchs.-ausb. %	Unverbr. NaOH in 1 ccm Vers.-lösung		Stufen-titration Diff. ccm	ccm n/40 Perman-ganat pro 4,5 ccm Vers.lösg. oder 0,45 g Zucker		Noch vor-han-dener Zucker %	Rest- prod. %
		Thymolph-talein n/10 ccm	Methyl-orange n/10 ccm		z. Entfärbung des Harzes	Gesamt-verbr. f. Milchs.-bestimmg. und Harz %		
0	0	25,0	25,0	0	0	0	100	0
1	40,0	18,0	20,05	2,05	5	230	13,3	46,7
6	50,5	16,8	19,0	2,7	20	290	0	49,5
14	51,0	16,25	19,0	2,75	20	290	0	49,0

T a b e l l e 23 b. Ergänzung zu Tab. 23 a.

2½ n - NaOH und 10 % ige d - Fruktoselösung bei 25°.

Zeit	Gesamt-verbrauch an NaOH g	an Milchs. gebundene NaOH g	in % vom Gesamt-verbrauch	an Restprod. gebundene NaOH g	in % vom Gesamt-verbrauch
1 Tg.	2,800	1,777	63,5	1,023	36,5
6 "	3,480	2,244	64,5	1,236	35,5
14 "	3,500	2,266	64,7	1,234	35,3

Tabelle 23c. Ergänzung zu Tab. 23 a.
 $2\frac{1}{2}$ n - NaOH und 10 % ige d - Fruktoselösung bei 25°.

Zeit	an Milds. geb. NaOH in % vom maximalen Verbr. an NaOH f. Milds.	an Restprod. geb. NaOH in % vom maximalen Verbr. an NaOH f. Restprodukte
1 Tg.	78,4	82,9
6 "	99,00	100
14 "	100	100

Tabelle 23d. Ergänzung zu Tab. 23 a.
 $2\frac{1}{2}$ n - NaOH und 10 % ige d - Fruktoselösung bei 25°.

Zeit	Mildsäure- ausbeute %	noch vor- handener Zucker %	Rest- produkte %	Natronlauge- Verbrauch f. Restprod. g	Durchschnittl. Aequivalent- gewicht der Restprodukte
1 Tg.	40,0	13,3	46,7	1,023	182
6 "	50,5	0	49,2	1,234	158

Das durchschnittliche Aequivalentgewicht der Restprodukte beträgt bei Fruktose nach 24 Std. 182, bei Glukose 169 und bei Invertzucker 162–174. Gegen Ende der Reaktion sinkt dasselbe auch bei Fruktose und beträgt schließlich 158.

Nachdem wir bei allen 3 Zuckerarten das Abnehmen des durchschnittlichen Aequivalentgewichtes der Restprodukte von der 24. Stunde an bis zum endgültigen Reaktionsablauf nach 6 Tagen festgestellt haben, steht unseres Erachtens fest, daß die Erscheinung des Abnehmens des Aequivalentgewichtes eine Tatsache ist, welche von Fehlern unbeeinflußt ist, die sich aus der Zuckerbestimmungsmethode ergeben und durch Isomerisationsvorgänge in der alkalischen Zuckerlösung hervorgerufen werden.

Für die Tatsache des Sinkens des durchschnittlichen Aequivalentgewichtes der Restprodukte gibt es 2 Erklärungen:

- 1) die C₆-Säuren (Saccharinsäuren) werden teilweise zu Säuren mit kürzerer Kohlenstoffkette aufgespalten;
- 2) die Bildung der C₆-Säuren erfolgt rascher als die Bildung der Säuren mit kürzerer Kohlenstoffkette, weil bei letzteren vorher Aufspaltung stattfinden muß.

Nach unserer Ansicht kommt die erste Möglichkeit nicht in Frage. Die C₆-Saccharinsäuren kommen, wie schon aus unseren Ausführungen auf S. 44 hervorgeht, unter den Versuchsbedingungen, welche wir anwandten, als Zwischenprodukte für Säuren mit kürzerer Kohlenstoffkette nicht in Betracht. Dagegen dünkt uns die 2. Möglichkeit nach wie vor sehr wahrscheinlich. Wir sprachen diese Möglichkeit schon im 3. Kapitel des Teiles A, S. 51, aus.

Eine tabellarische Zusammenstellung der Halbwertzeiten der 3 Zuckerarten, sowie der Milchsäureausbeuten und des Nafronlaugeverbrauches für Restprodukte ergibt, wie Tab. 24 zeigt, folgendes: Die Geschwindigkeiten der Milchsäure- u. Saccharinsäurebildung liegen bei Invertzucker gerade in der Mitte zwischen Glukose und Fruktose. Invertzucker reagiert gegen Nafronlauge wie ein künstliches Gemisch aus gleichen Teilen Glukose und Fruktose. Bezuglich der Reaktionsfähigkeit steht Fruktose an erster und Glukose an letzter Stelle.

T a b e l l e 24.

Zuckerart	Halbwertzeit Std.	Milchsäureausbeute nach 24 Std.	NaOH-Verbrauch für Restprod. nach 24 Stunden
Fruktose	8,4	40 %	1,023 g
Glukose	28,6	22 %	0,620 g
Invertzucker	18,0	30 %	0,862 g
Arithmet. Mittel a. Frukt. u. Glukose	18,5	31 %	0,822 g

Die in der Literatur, z. B. Lippmann: Chemie der Kohlenhydrate Bd. I. S. 819, zu lesende Angabe, daß man aus Fruktose bei Einwirkung von freien Alkalien merklich größere Mengen Milch- und Saccharinsäure erzeugen kann als aus Glukose, muß dahin berichtigt werden, daß zwar Fruktose zu Beginn der Einwirkung bedeutend rascher unter Bildung von Milch- und Saccharinsäure reagiert, daß aber die maximal zu gewinnende Ausbeute an Milch- und Saccharinsäure nicht größer ist als bei Glukose und Invertzucker.

2. Das Verhalten von Fruktose gegen 3n- und 6n-Na₂CO₃.

Es war von Interesse, das Verhalten eines so reaktiven Stoffes wie der Fruktose auch bei geringer OH - Ionenkonzentration in 3n- und 6 n - Natriumkarbonatlösung kennen zu lernen. Die Zuckerkonzentration wählten wir sehr klein und die Natriumkarbonatkonzentration so groß, daß sie während des Versuchs als konstant angesehen werden konnte.

a) Versuche mit 1 % iger d-Fruktoselösung und 3 n - bzw. 6 n - Na₂CO₃ bei 40 °.

Wir lösten in einem Meßkölbchen zu 100 ccm 1 g Fruktose in 50 ccm 20-grädigem Wasser auf, gaben 15,9 g bzw. 31,8 g entwässertes Natriumkarbonat, entsprechend 3n - bez. 6n-facher Normalität, in Substanz zu, wobei Erwärmung bis 45 ° eintrat, füllten mit 20-grädigem Wasser sofort auf 100 ccm auf, lösten das noch ungelöste Natriumkarbonat durch Schütteln auf, prüften nochmals, ob genau auf 100 ccm aufgefüllt ist, verschlossen das Meßkölbchen luftdicht und stellten dann dasselbe in den Thermostaten bei 40 ° C. Die Einfüllzeit betrug 5 Minuten.

Die Versuchslösungen waren am Anfang farblos und färbten sich erst schwach gelblich, nachdem sie 1 Stunde im Thermostaten bei 40 ° standen. Nach 1—3 Wochen waren sie hellbraunrot gefärbt. Nach 7 und 21 Tagen Einwirkungsdauer wurden Versuchslösungen herausgenommen und untersucht. Die Analyse ergab die in Tabelle 25 niedergelegten Resultate.

Es war sowohl bei Einwirkung von 3 n - als auch bei Einwirkung von 6 n - Na₂CO₃ Milchsäurebildung festzustellen. Sie war in der 1. Woche ergiebiger als in den 2 darauffolgenden Wochen, in denen die Milchsäureausbeute bei dem Versuch mit 3 n - Na₂CO₃ nur um 1 %, bei dem Versuch mit 6 n - Na₂CO₃ um 3 % stieg. Die Osazonprobe verlief bei dem Versuch mit 3 n - Na₂CO₃ nach 3 Wochen noch ganz schwach positiv; bei dem Versuch mit 6 n - Na₂CO₃ nach 1 Woche wie nach 3 Wochen negativ. Bei diesem Versuch war also aller Zucker verschwunden. Die Harzbildung war gegenüber den Versuchen mit freien Alkalien äußerst groß. Sie war bei dem Versuch mit 3 n - Natriumkarbonat noch größer

als bei dem Versuch mit 6 n - Natriumkarbonat. Dieses Ergebnis in Verbindung mit der geringen, nur äußerst langsam zunehmenden Milchsäurebildung ließ vermuten, daß die Fruktose unter dem Einfluß des schwachen Alkalies durch viele Nebenreaktionen, Harzbildung u. a., verbraucht wird und daher die Milchsäureausbeute nicht erheblich über 10 % gesteigert werden kann. Um uns darüber schnell Klarheit zu verschaffen, führten wir Versuche mit 3 n - und 6 n - Na₂CO₃ bei 200° aus.

T a b e l l e 25.

3 n - und 6 n - Na₂CO₃ und 1 % ige Fruktoselösung bei 40°.

Na ₂ CO ₃ Norma- lität	Vers.- Zeit	Zucker- probe	ccm n/40 Permanganat pro 10 ccm Vers.-Lösg. bezw. 0,1 g Zucker		Milchs.- ausbeute %
			z Entfärbung des Harzes	Gesamtverbr. f. Harz und Milchsäure- bestimmung	
3n	7 21	positiv "	5—10 15	37,5 55	5,95 7,03
6n	7 21	negativ "	0 10	35 55	7,4 10,0

b) Versuche mit 2 % iger Fruktoselösung und 3 n - bzw. 6 n - Na₂CO₃ bei 200°.

Wir lösten in einer auf 100 ccm geeichten Glasbirne aus Jenaer Glas 15,9 g bzw. 31,8 g entwässertes Natriumkarbonat in 50 ccm Wasser auf, kühlten die Lösung auf 20° ab, gaben 10 ccm 20 % ige Fruktoselösung hinzu und füllten mit Wasser auf 100 ccm auf, pumpten den über der Flüssigkeit stehenden Luftrest heraus und schmolzen rasch ab. Bis zum Abschmelzen vergingen 10 Minuten. Es wurde nun kräftig durchgeschüttelt, um das noch ungelöste Natriumkarbonat aufzulösen, wobei weitere 5 Minuten vergingen. Dann brachte man die Birne, in ein Tuch eingewickelt, in den bereits auf Kochtemperatur erhitzten Autoklaven und erhitzte in 1 Stunde weiter auf 200°, welche Temperatur 2 Stunden gehalten wurde. Dann öffnete man zwecks Abkühlung langsam den Dampf-

hahn des Autoklaven und ließ auf 100° abkühlen, was in $\frac{1}{2}$ Stunde geschah. Dann wurde die Birne herausgenommen, in einer weiteren $\frac{1}{2}$ Stunde auf 20° abgekühlt und geöffnet. Es machte sich wieder der schon bei den früheren Autoklavversuchen beobachtete charakteristische brenzliche Karamelgeruch bemerkbar und die alkalische Zuckerlösung war braun gefärbt. Das Glas war schwach geäfft. Die Analyse ergab die in Tabelle 26 verzeichneten Resultate.

T a b e l l e 26.

3 n - und 6 n - Na₂CO₃ und 2 % ige Fruktoselösung bei 200°.

Na ₂ CO ₃ -Norma-lität	Vers.-Zeit Std.	Zucker-probe	ccm n/40 Permanganat pro 5 ccm Vers.-Lösung bzw. 0,1 g Zucker		Milchs-ausbeute %
			z. Entfärbung des Harzes	Gesamtverbr. für Harz und Milchsäure-bestimmung	
3n	2	negativ	75	160	8,1
6n	2	negativ	80	160	10,0

Es hatte sich nicht mehr Milchsäure gebildet als bei den Versuchen bei 40°, trotzdem die Temperatur 1 Stunde bei 20–200°, 2 Stunden bei 200°, dann wieder 1 Stunde bei 200–20° gehalten wurde. Es wird demnach der Zucker unter dem Einfluß des schwachen Alkalis in ganz anderer Weise zersetzt. Die schwache Alkalikonzentration ist in Verbindung mit der hohen Temperatur der Harzbildung besonders günstig, welch letztere auch dafür verantwortlich zu machen ist, daß die Milchsäureausbeute nicht über 8–10 % steigt. Die sich bei 3 n- und 6 n-Natriumkarbonatlösung einstellende OH-Ionenkonzentration pH = 12,43 – 12,44 bzw. pOH = 1,7 – 1,8 nähert sich dem Konzentrationsbereich, innerhalb welchem der für die Milchsäurebildung ungünstige Wendepunkt eintritt.

Aus den von uns angewandten Versuchsbedingungen ist ferner zu schließen, daß Polysaccharide mit den von Nef beschriebenen Eigenschaften bei unseren Natriumkarbonatversuchen nicht

vorhanden sein konnten; denn solche wären bei der hohen Temperatur von 200° wieder hydrolisiert worden. Auch hätten sie, wenn sie vorhanden gewesen wären, durch die Osazonprobe festgestellt werden müssen; denn bei der Osazonprobe findet durch den Einfluß der zugeseßten Essigsäure Hydrolyse statt, wodurch wieder einfache Zucker entstanden wären, welche durch die Osazonprobe hätten festgestellt werden können.

Die im Lippmann, Chemie der Kohlenhydrate, zu findende Angabe, daß Natriumkarbonat genau so wirke wie freies Alkali, nur 2—3-mal langsamer, ist auf Grund unserer Versuche als unrichtig zu bezeichnen. Natriumkarbonat wirkt, soweit es die Milchsäurebildung betrifft, erstens nicht 2—3-mal langsamer, sondern mindestens 50-mal so langsam; außerdem reagiert es in ganz anderer Weise mit Hexosen, wobei nur geringe Mengen Milchsäure, sehr viel ätherlösliche Harze und viele andere noch unaufgeklärte Reaktionsprodukte entstehen.

D. Studien über den Einfluß von Alkalien auf Hexosen, welche durch vorheriges Kochen mit Bleihydroxyd in wässriger Lösung eine konfigurative Umwandlung erfahren haben.

Wir stellten schon fest, daß die Fruktose der Umwandlung in Milchsäure durch den Einfluß des Alkalis erheblich zugänglicher ist als Glukose und müssen die Erscheinung auf die Konfiguration zurückführen. Daß die Konfiguration für die Art und Weise der Zuckerumwandlung eine Rolle spielt, dafür haben wir schon in der Literatur Beispiele. Meisenheim¹⁾ z. B. fand, daß Galaktose unter gleichen Bedingungen wesentlich geringere Milchsäureausbeuten liefert als Glukose und Fruktose. Kiliani²⁾ stellte fest, daß aus Galaktose bei Einwirkung von Alkalien, besonders von Kalk, unter Luftabschluß eine Parasaccharinsäure gewinnbar ist, welche aus Glukose oder Fruktose niemals erhalten werden kann. Nef³⁾ konnte weiterhin feststellen, daß Galaktose nur Meta- und Parasaccharinsäure, aber keine Isosaccharinsäure bilden kann. Er fand für diese Eigentümlichkeiten der Umwandlung auch einleuchtende theoretische Erklärungen. Sie alle nehmen ihren Ausgang von der Konfiguration der betreffenden Zuckerart.

Bei der Wichtigkeit der Konfiguration für den Verlauf der Zuckerumwandlung war es angezeigt, besondere Studien über den Zusammenhang zwischen Konfiguration und Milchsäurebildung zu unternehmen. Infolge des Umfanges dieses Gebietes beschränkten wir uns bei unseren Studien darauf, den Einfluß des Kochens von Glukose, Fruktose und Invertzucker mit Bleihydroxyd in wässriger Lösung auf die Konfiguration dieser drei Zuckerarten kennen zu lernen, seßten uns aber nicht direkt die Aufklärung der eintretenden Konfigurationsänderungen zum Ziel, sondern untersuchten erst

¹⁾ B. 41. 1009.

²⁾ B. 37. 1200. 3612, 41. 120.

³⁾ Ann. 357. 294, 376, 58

die Wirkungen dieser Konfigurationsänderungen auf den Verlauf der Milchsäurebildung und versuchten dann einen Rückschluß auf die Art der Konfigurationsänderungen und deren Beziehung zur Milchsäurebildung zu ziehen.

Bevor wir auf die diesbezüglichen Versuche eingehen, wollen wir die Nef'sche Theorie des Zuckerzerfalles und auch die älteren Theorien über den Zuckerzerfall, soweit sie die Milchsäurebildung angehen, besprechen, da sich aus ihnen Konsequenzen ergeben, die für die Beurteilung der erhaltenen Versuchsergebnisse von Bedeutung sind.

I.

Die Theorien über den Zuckerzerfall, im besonderen die neuere Theorie von Nef.

In der Literatur existieren zwei grundsätzlich verschiedene Theorien über den Zuckerzerfall in alkalischer Lösung bei Ausschluß von Oxydationsmitteln.

Die eine Theorie, welche von Löb¹⁾ vertreten wird, nimmt an, daß die Hexosen unter dem Einfluß des Alkalis durch Lösung der Aldolbindungen in Formaldehydbruchstücke zerfallen, welche sich je nach den Versuchsbedingungen wieder zu größeren Bruchstücken vereinigen. Bei der Wiedervereinigung spielt nach seiner Ansicht die Natur des Alkalis eine große Rolle. Natronlauge begünstigt die Bildung von C₆-Reihen, während Zinkkarbonat die Bildung von C₄-Reihen begünstigt.

Die andere Theorie, welche von Buchner und Meisenheimer²⁾, dann von Wohl³⁾ und später von Nef⁴⁾ in ausführlicher Weise entwickelt wurde, vertritt den Löb'schen Standpunkt einer vorherigen Aufspaltung mit nachfolgender Synthese nicht, sondern nimmt an, daß unter dem Einfluß des Alkalis eine intramolekulare H- und OH-Verschiebung stattfindet, welche einerseits zur Umwandlung in andere Zucker und in Saccharinsäuren, andererseits zur Aufspaltung in Bruchstücke führt.

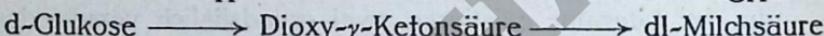
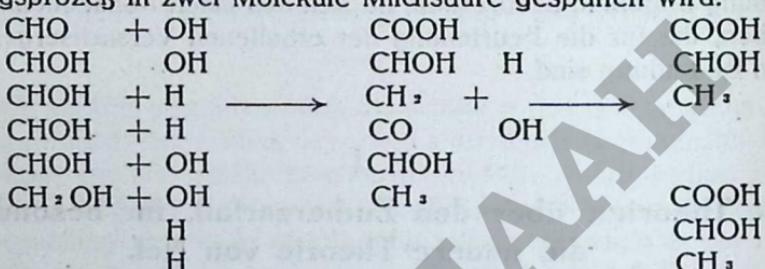
¹⁾ Biochem. Z. 12. 78. 466, 23. 20, 26. 231

²⁾ B. 37. 417, 41. 1009

³⁾ Biochem. Z. 5. 45

⁴⁾ Ann. 376. und Bd. 403. Bd. 335. S. 323

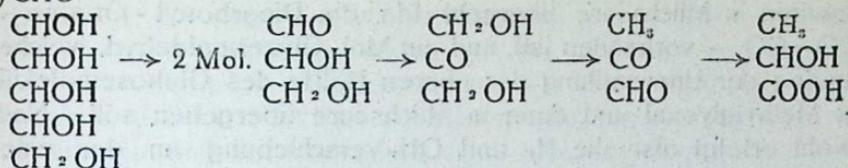
Buchner und Meisenheimer geben zuerst an, daß die Zuckerspaltung Ähnlichkeit habe mit der Säurespaltung des Acetessigesters und in dem Sinne verlaufen müßte, daß OH-Ver-
schiebung stattfinde, welche zur Spaltung der Kohlenstoffkette an
der Stelle führt, wo der Sauerstoff angehäuft ist. Die Spaltung
der Glukose z. B. würde in der Weise vor sich gehen, daß die hypo-
thetische Dioxy- γ -Ketonsäure entsteht, welche durch einen Ver-
seifungsprozeß in zwei Moleküle Milchsäure gespalten wird.



Später verlassen sie diesen Standpunkt, indem sie annehmen, daß sich Glukose in zwei Moleküle Glyzerinaldehyd (also durch einfache Lösung der Aldolbindung) spaltet, welcher sich dann über Dioxyacetone und Methylglyoxal nach Art einer Benzilsäureumlagerung in Milchsäure verwandelt. Sie konnten nämlich übereinstimmend mit anderen Forschern ¹⁾ feststellen, daß als Zwischenprodukt bei der Milchsäurebildung Methylglyoxal entsteht. Ferner sahen sie ihre Theorie gestützt durch die Versuche von Nef, welcher fand, daß dl-Glyzerinaldehyd, d-Glukose und d-Fruktose bei 24ständiger Behandlung mit 1½ Teilen 5 % iger Nafronlauge im Einschmelzrohr bei 40–50° C dieselben Produkte in etwa gleicher Menge, unter anderem auch dl-Milchsäure lieferten. Außerdem glaubten sie noch Dioxyacetone als Zwischenprodukt annehmen zu müssen, auf Grund ihrer Versuche mit Hefepresssaft. Für die Bildung der α , γ -Dioxybuttersäure, welche bei der Einwirkung von Alkalien auf Hexosen besteht, nahmen sie gleichfalls eine Aldolspaltung an, welche Erythrose und Glykolaldehyd liefert. Die Erythrose würde durch entsprechende Umwandlung in α , γ -Dioxybuttersäure übergehen. Sie geben für die beiden Spaltungsmöglichkeiten folgende Schémen an:

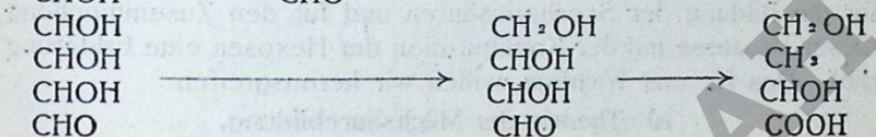
¹⁾ B. 21. 1416, 31. 31, 38, 1166; C. 1913. III. 794 u. 1908. 345 Bull. l'inst Pasteur 12, 657

1) CHO



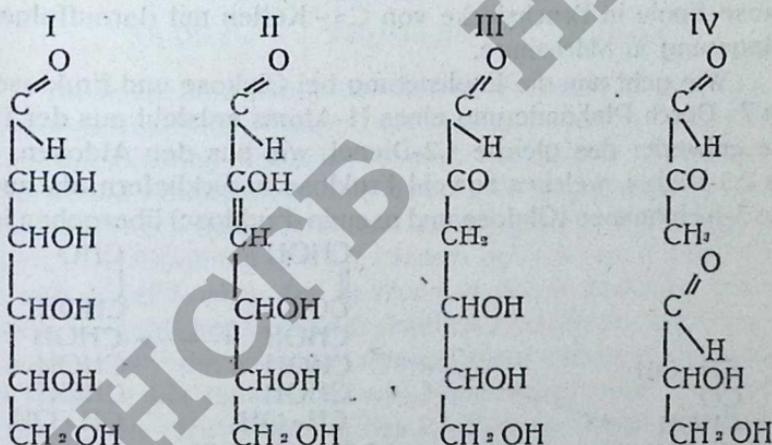
d-Glukose \rightarrow d-Glyzerinald. \rightarrow Dioxyaceton \rightarrow Methylglyox. \rightarrow dl-Milchs.

2) CH₂OH \longrightarrow CH₂OH
CHOH \longrightarrow CHO



d-Glukose \rightarrow Glykolaldehyd \rightarrow Erythrose \rightarrow Dioxybuttersäure

Wohl nimmt folgende 4 Phasen bei der Milchsäurebildung aus d-Glukose an:



Die Umwandlung von Phase I in Phase II geschieht unter dem lockernen Einfluß der $\text{C}=\text{O}$ -Gruppe. Phase II geht spontan in Phase III über. Phase III stellt eine Aldolkondensation von Glyzerinaldehyd und Methylglyoxal dar. «Die durch Aldolkondensation entstandenen Produkte lassen sich erfahrungsgemäß leicht und gerade unter den Bedingungen, die die Kondensation herbeigeführt haben, an der Stelle der Aneinanderfügung wieder

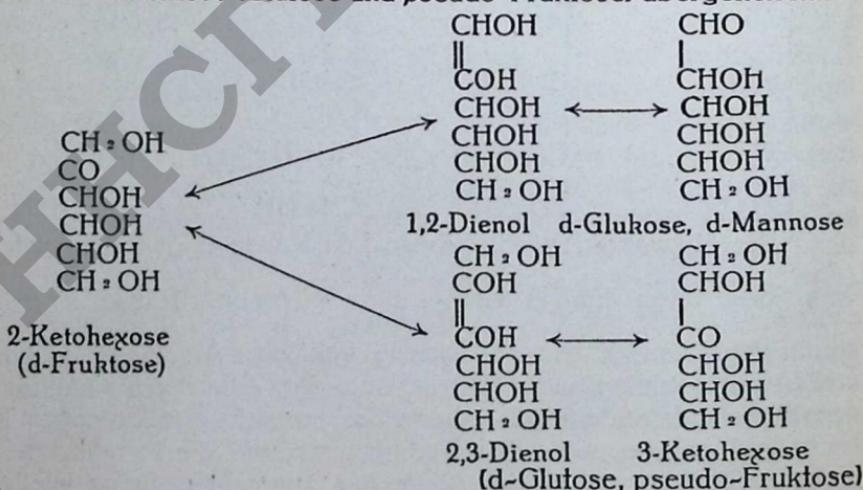
frennen." Daher bildet Phase III ein Mol. Methylglyoxal, welches spontan in Milchsäure übergeht (da die Dicarbonyl - Gruppe – CO – CO – vorhanden ist), und ein Mol. Glyzerinaldehyd, welches analog der Umwandlung der oberen Hälfte des Glukosemoleküls in Methylglyoxal und dann in Milchsäure übergehen soll. Nach Wohl erfolgt also die H- und OH-Verschiebung an der einen Hälfte der Glukose vor der Spaltung, an der anderen Hälfte nachher.

Nef erweitert nun diese Theorie, indem er nicht nur für die Art und Weise der Aufspaltung der Hexosen, sondern auch für die Bildung der Saccharinsäuren und für den Zusammenhang dieser Prozesse mit der Konfiguration der Hexosen eine Erklärung gibt. Das für uns Wichtige wollen wir herausgreifen.

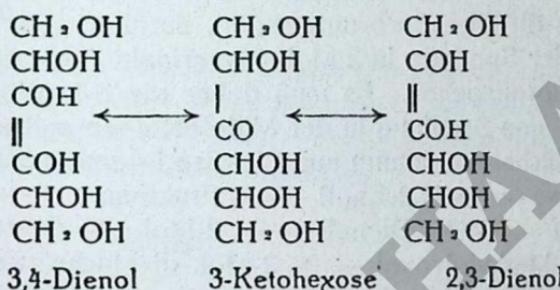
a) Theorie der Milchsäurebildung.

Die Milchsäurebildung verläuft nach Nef in zwei Phasen. Die eine besteht in der Enolisierung der Hexose in alkalischer Lösung, die andere in der Dissoziation der gebildeten Hexose-Enole in Bruchstücke von C₃-Ketten mit darauffolgender Umlagerung in Milchsäure.

Wie geht nun die Enolisierung bei Glukose und Fruktose vor sich? Durch Plażänderung eines H-Atoms entsteht aus der Fruktose entweder das gleiche 1,2-Dienol, wie aus den Aldosen, oder das 2,3-Dienol, welches sowohl Fruktose zurückliefern als auch in eine 3-Ketohexose (Glutose und pseudo-Fruktose) übergehen kann:



Diese Art der Enolisierung in schwach alkalischer Lösung haben, soweit sie die gegenseitige Umwandlung von Glukose, Fruktose und Mannose ineinander betrifft, schon Lobry de Bruyn und van Ekenstein¹⁾ angenommen. Michaelis und Rona²⁾ haben in neuerer Zeit den experimentellen Beweis geliefert, daß die Umlagerung (Isomerisation) der Zucker auf einer Abspaltung von H-Ionen beruht. Nef sagt nun weiter: ebenso wie die Fruktose 1,2- und 2,3-Dienole bilden kann, kann die 3-Ketohexose neben 2,3-Dienol auch ein 3,4-Dienol bilden:



Diese Dienole können — das ist die zweite Phase des Umwandlungsprozesses — unter dem Einfluß stärkeren Alkalis an der Enoldoppelbindung dissoziieren, wobei aus dem 1,2 Dienol eine Pentose und Formaldehyd, aus dem 2,3-Dienol Erythrose und Glykolaldehyd, aus dem 3,4 Dienol zwei Mol. Glyzerinaldehyd entstehen. Die Spaltung des 1,2 Dienols geht nur in geringem Maße vor sich. Nef konnte die Spaltung in dieser Richtung erst nach langem vergeblichen Suchen feststellen, nachdem es bereits Löb³⁾ gelungen war, die Bildung von geringen Mengen Formaldehyd und Pentose bei Einwirkung von Natronlauge oder Bleihydroxyd nachzuweisen. Die Spaltung des 2,3-Dienols konnte dagegen Nef stets beobachten. Jedoch fand er unter seinen Versuchsbedingungen immer nur den C₄-Rest als α, γ -Dioxybuttersäure und niemals den C₂-Rest. Fred Upson konnte feststellen daß auch bei Anwendung von n-Bariumhydroxyd keine C₂-Resie entstehen. Nef⁴⁾ nahm daher an, daß der Glykolaldehyd zu Erythrose kon-

¹⁾ B. 28. 8078

²⁾ Biochem. Z. 47. 448

³⁾ Biochem. Z. 23. 26

⁴⁾ Ann. 376. 9

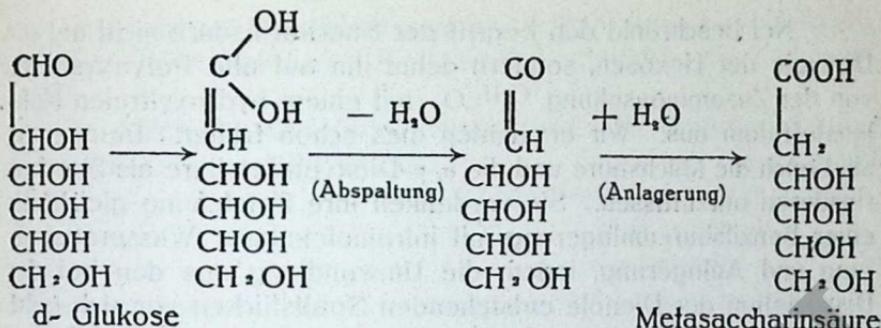
densiert wird. Ebenso nahm er an, daß das bei der Spaltung des 1,2-Dienols zunächst auftretende Oxymethylen=CHOH durch Kondensation zum größten Teil in das Dienol CHOH=CHOH übergeht, welches sich in Glykolaldehyd umwandelt und dann zu Erythrose kondensiert, woraus sich die dl- α , γ -Dioxybuttersäure bildet. Er nähert sich also in diesem Punkte der Theorie von Löb.

Das 3,4-Dienol nun, meint Nef, geht, einmal gebildet, durch Dissoziation spontan in 2 Mol. dl-Glyzerinaldehyd über, woraus sich dann die dl-Milchsäure bildet. Ob sich nun dl-Glyzerinaldehyd restlos in dl-Milchsäure umwandelt, darüber sagt Nef nichts. Er sagt nur: der Spaltung in 2 Mol. Glyzerinaldehyd muß eine 3,4-Enolisierung vorausgehen. Es muß daher die 3-Ketohexose vorhanden sein, wenn Spaltung in der Mitte erfolgen soll und es werden bei der Milchsäurebildung aus Glukose folgende Stufen durchlaufen: Glukose \longrightarrow (1,2-Enol) \longrightarrow Fruktose \longrightarrow (2,3-Enol) \longrightarrow Glutose \longrightarrow (3,4-Dienol) \longrightarrow 2 Mol. dl-Glyzerinaldehyd \longrightarrow 2 Mol. Methylglyoxal \longrightarrow 2 Mol. dl-Milchsäure. Die Bildung der 3-Ketohexose geht schon in ganz verdünnter alkalischer Lösung vonstatten.¹⁾ Die 3-Ketohexose d-Glutose ist daher in jeder alkalischen d-Glukose- oder d-Fruktoselösung vorhanden und kann sehr wohl dasjenige Uebergangsprodukt sein, welches die C₆-Reste liefert, aus denen dann Milchsäure gebildet wird. Aus d-Glukose erhält man in alkalischer Lösung immer nur d-Glutose und aus d-Galaktose immer nur d-Galtose. Die 3,4-Enolisierung geht bei d-Glutose viel leichter vor sich als bei d-Galtose, was mit der stereometrischen Konfiguration zusammenhängt. Infolgedessen findet die Milchsäurebildung in der d-Glutzosereihe viel leichter und in größerem Maßstabe statt als in der d-Galtosereihe.

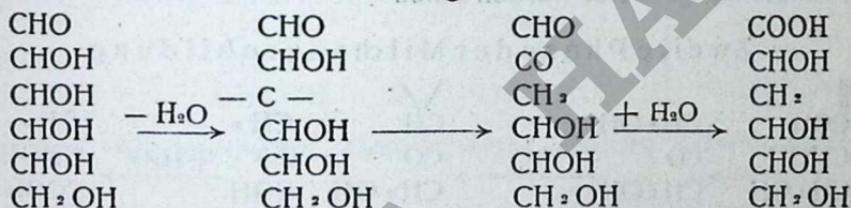
b) Theorie der Saccharinsäurebildung.

Die Saccharinsäurebildung beruht nach Nef im Gegensatz zu der unter a) besprochenen Enolisierung und Isomerisation der Hexosen, bei welcher ein H-Atom wandert, auf der Wanderung eines Hydroxyls. Aus der Glukose entsteht hierbei z. B. folgendes Enol, welches unter intramolekularer Wasserabspaltung und Wiederanlagerung in Saccharinsäure übergeht:

¹⁾ Lippmann, Chemie d. Kohlenhydrate Bd. I S. 964

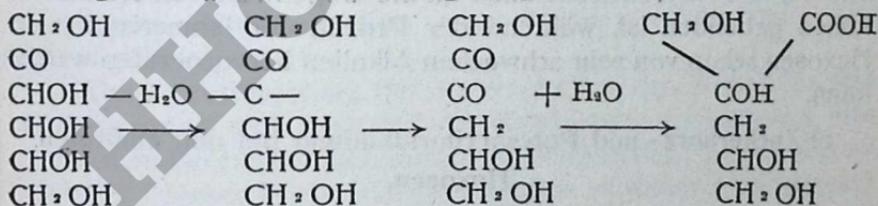


An anderer Stelle gibt er auch die Bildung eines hypothetischen Methylenlderivates an, welches durch intramolekularen Wasserentzug entsteht und spontan in die Orthodikarbonylverbindung, dann in Metasaccharinsäure übergeht:



d-Glukose Methylenderivat Orthodikarbonyl Metasaccharinsäure

Die Entstehung von Saccharinsäuren mit verzweigter Kohlenstoffkette erklärt Nef ausschließlich durch die intermediäre Bildung von vic. Dikarbonylverbindungen—CO—CO— mit einer darauf folgenden „Benzilsäureumlagerung“:

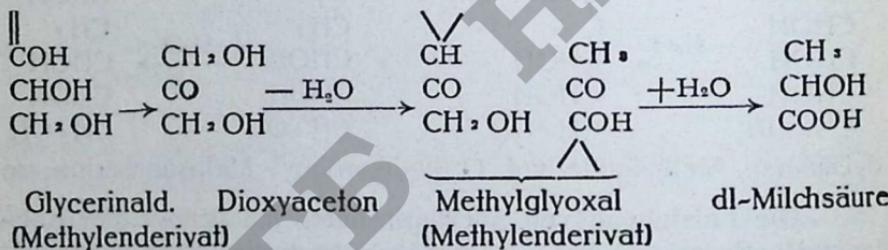


d-Fruktose Methylenderiv. Orthodikarbonyl α,β -d-Isosaccharins.

Aus den Aldohexosen entsteht die Metasaccharinsäure, aus den 2-Ketohexosen die Isosaccharinsäure, während aus den 3-Ketohexosen vermutlich die gewöhnliche Saccharinsäure gebildet wird.

Nef beschränkt den Begriff der Saccharinsäure nicht auf die Derivate der Hexosen, sondern dehnt ihn auf alle Polyoxyssäuren von der Zusammensetzung $C_nH_{2n}O_n$ mit einem hydroxylfreien Kohlenstoffatom aus. Wir erwähnten dies schon früher. Demgemäß sind auch die Milchsäure und die α , γ -Dioxybuttersäure als Saccharinsäuren aufzufassen. Sie verdanken ihre Entstehung gleichfalls einer Benzilsäureumlagerung mit intramolekularer Wasserabspaltung und Anlagerung, indem die Umwandlung aus den bei der Dissoziation der Dienole entstehenden Spaltstücken vor sich geht. In der Tat konnte von mehreren Forschern ¹⁾ das Methylglyoxal $CH_3 \cdot CO \cdot CHO$, also eine Verbindung mit einer Orthodikarbonylgruppe, mit großer Wahrscheinlichkeit nachgewiesen werden, wodurch die Milchsäurebildung in ihrer 2. Phase als Benzilsäureumlagerung gedeutet werden kann.

Zweite Phase der Milchsäurebildung.



Bemerkenswert ist noch die Ansicht Nefs, daß die Saccharinsäurebildung und Hexosedissoziation an die Gegenwart von starken Alkalien gebunden ist, während der Prozeß der Isomerisation der Hexosen schon von sehr schwachen Alkalien hervorgerufen werden kann.

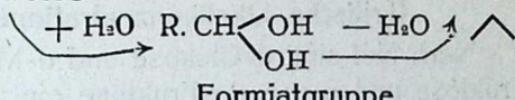
c) Zuckerharz- und Polysaccharidbildung bei den einfachen Hexosen.

1) Harzbildung. Bei einer Alkalität von 1/30 bis 1/6- $n\text{-M(OH)}_x$, z. B. von NaOH, KOH, Ba(OH)₂, Ca(OH)₂, Pb(OH)₂, zerfallen die Hexosen nicht in Bruchstücke. Die bei dieser Alkalität bestehende Harzbildung kann also nicht auf die Entstehung von Diose-(Acetol)-Harz beruhen. Die Färbung der Zuckerlösung

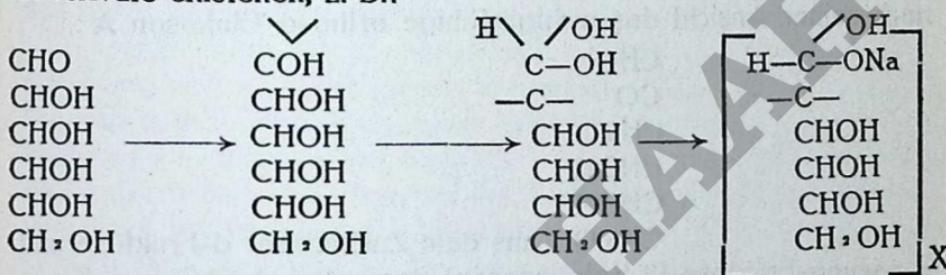
¹⁾ s. S. 98, Index 1.

ist eine Folge der Harzbildung, nicht der Enolisierung des Zuckers, und diese eine Folge der Methylenderivaṭabildung und Polymerisation.

Alle Aldehyde, auch die Aldosen, bilden in wässriger Lösung Alkylen-Enolmoleküle: R.CHO R.COH



Aus diesen können durch Einwirkung von Natronlauge leicht Methylenderivate entstehen, z. B.:



Glukose Alkylen-Enol Methylenderiv. Polymerisationsprodukt
= Zuckerharz

Wie das Schema zeigt, zieht das Aldehyd-Kohlenstoffatom das an das Nachbarkohlenstoffatom gebundene Wasserstoffatom und Hydroxyl unter Formiatbildung und Bildung des Methylenderivates herüber. Die Formiatgruppe hat saure Eigenschaften und bindet Natronlauge unter Salzbildung. Bei der Salzbildung wird die Methylendiſsoziation vergrößert und die freien Methylenevalenzen veranlassen Polymerisation zu Körpern folgender Art: $(\text{R.C}-\text{C}-\text{ONa})_x$.

Durch Verringerung der Konzentration des Alkalikalis und der Temperatur muß nach Nef die Harzbildung zurückgehen, was nach seinen Beobachtungen auch tatsächlich eintritt. In Sodalösungen unter 2 facher Normalität beobachtete er weder Färbung noch Salz- und Harzbildung.

2) Polysaccharidbildung. Wesentlich ist für uns die Beobachtung Nefs, daß in Lösungen von 1n-3n-Kalziumacetat Bis- und Tris-Osen, in Lösungen von n/2-2n-Natriumkarbonat und n/20-n-Ca(OH)₂ Polysaccharide entstehen. Unter n/2 Natriumkarbonat-Alkalität und über n-Ca(OH)₂-Alkalität konnte er offenbar

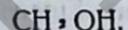
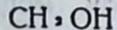
(er gibt dies nicht besonders an) keine Polysaccharidbildung feststellen.

d) Verhalten der ortho-dicarbonyl-Verbindungen
(ortho-Osone) gegen starke und schwache Alkalien
(kritische Alkalikonzentrationen).

Nach Nef sind d-Glukose und d-Mannose, beziehungsweise d-Fruktose und d-pseudo-Fruktose ein zusammengehöriges Zuckerpaar. Aus dem Aldose-Zuckerpaar d-Glukose und d-Mannose entsteht durch Einwirkung von Bleihydroxyd oder essigsaurem Blei nach seiner Ansicht das nichtgärfähige ortho-d-Glukoson A :



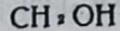
CH₂OH, aus dem Zuckerpaar d-Fruktose und d-pseudo-Fruktose (2-Ketohexosen) das ortho-d-Glukoson B :



aus α, β d-Glufose (3-Ketohexose) das ortho-d-Glukoson C :

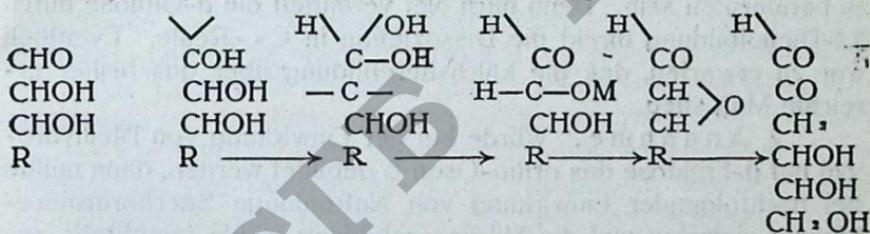


CH₂OH, bzw. durch ähnliche weitere Um-
lagerungen das bis-ortho-d-Glukoson C:



Diese ortho-Osone sind die Uebergangsprodukte bei der Saccharinsäurebildung. Sie sind in alkalischer Lösung unbeständig und verwandeln sich durch Benzilsäureumlagerung sofort in Saccharinsäure; das ortho-Oson A in Metasaccharinsäure, das ortho-Oson B in Isosaccharinsäure, und das ortho-Oson C in die gewöhnliche Glukosaccharinsäure. Wegen ihrer Unbeständigkeit in alkalischer Lösung lassen sich die ortho-Osone nicht mit Natronlauge oder Bariumhydroxyd darstellen, sondern nur mit nichtoxydierenden Metallhydroxyden, wie Bleihydroxyd oder Zinkhydroxyd, die mit Hexosen Salze bilden ohne alkalisch zu wirken.

Nach seiner zuletzt entwickelten Ansicht kommt die OH-Verschiebung und intramolekulare Wasserabspaltung, welche schließlich zum ortho-Oson führt, durch das aktive Eingreifen des Metallhydroxyds in den Zucker zustande. Es tritt erst Methylenbildung ein, in der Weise, wie oben bei der Zuckerharzbildung beschrieben, und durch intramolekulare Abspaltung und Wiederanlagerung des Metallhydroxydes wird so das ortho-Oson gebildet:



Es ist nun zu betonen, daß diese theoretischen Entwicklungen über ortho-Osonbildung bei Einwirkung von Bleihydroxyd noch nicht genug bewiesen sind. Lobry de Bruyn und van Ekenstein¹⁾ behaupten z. B. im Gegensatz zu Nef, daß d-Fruktose beim Kochen mit Bleihydroxyd bis zu 40 % in die nichtgärfähige d-Glutose übergeht, während Nef auf Grund seiner Theorie behauptet, daß die von Lobry de Bruyn und van Ekenstein gewonnene d-Glutose nur ortho-Oson B sein kann und mit ganz verdünnten Alkalien durch Benzilsäureumlagerung spontan in ein Gemisch von α und β -d-Isosaccharinsäure übergehen muß. Er bewies diese Annahme damit, daß d-Fruktose mit n/10 NaOH bei

¹⁾ Chem. Z. Rep. 1897. XXI. S. 279: Lippmann, Chemie d. Kohlenhydrate Bd. I 836, 890, 963, 964, 968 und 819

70° C und 3 Stunden Einwirkungsdauer ein ganz anderes Zuckergemisch ergibt, wie d-Fruktose mit n/7 Bleihydroxyd bei 100° C und 1 Stunde Einwirkungsdauer, ferner damit, daß, wenn mittels Bleihydroxyd ortho-Oson B gebildet worden ist, der Verbrauch von n/10 NaOH spontan sein muß, was auch tatsächlich der Fall ist. Dieser Beweis ist aber noch nicht eindeutig genug. Seine Eindeutigkeit scheiterte bisher an dem Mangel an Methoden zur quantitativen Trennung und Bestimmung der bei der Bleihydroxydbehandlung und nachfolgenden Einwirkung von Natronlauge entstehenden Saccharinsäuren.

Durch eigene Versuche suchten wir diesen Fragen näher zu treten. Wir gingen dabei von folgenden Erwägungen aus:

1. Annahme. Sollte bei der Einwirkung von Bleihydroxyd auf d-Fruktose d-Glukose entstehen, dann müßte bei nachfolgender Einwirkung von Natronlauge nicht nur ein starker Alkali-verbrauch, sondern auch ein rascher Anstieg der Milchsäurebildung zu beobachten sein. Denn nach Nef vermittelt die d-Glukose durch 3,4-Dienolbildung direkt die Dissoziation in C₃-Reste. Eventuell war zu erwarten, daß die Milchsäurebildung über das bisher erreichte Maß stieg.

2. Annahme. Würde bei der Einwirkung von Bleihydroxyd auf d-Fruktose das ortho-Oson B gebildet werden, dann müßte bei nachfolgender Einwirkung von Natronlauge Saccharinsäurebildung eintreten und die Milchsäurebildung müßte quantitativ zurückbleiben.

Neben der d-Fruktose studierten wir das Verhalten von d-Glukose und Invertzucker gegen Bleihydroxyd. Lobry de Bruyn und van Ekenstein¹⁾ wiesen darauf hin, daß bei Einwirkung von Bleihydroxyd auf d-Glukose im Gegensaß zur Einwirkung von schwachen Alkalien keine d-Fruktose, sondern nur d-Glukose neben etwas d-Mannose und geringen Mengen pseudo-Fruktose entsteht und erklärten dies damit, daß die sich bildende d-Fruktose sofort in d-Glukose übergeführt wird. Durch Kochen von d-Glukose mit Bleihydroxyd konnte es demnach gelingen, ein Zuckergemisch von d-Glukose, d-Glukose, d-Mannose und geringen Mengen pseudo-Fruktose zu erhalten, in welchem die d-Fruk-

¹⁾ Chem. Z. Rep. 1897, XXI, S. 299.

tose fehlte. War nun die entstandene Glutose in Wirklichkeit wieder nicht Glutose, sondern ortho-Oson, so mußte es interessant erscheinen, zu untersuchen, wie sich Alkalien gegen diesen stiftigen Körper verhielten, welche Milchsäuremengen er lieferte u. s. w. Aus seinem Verhalten gegen Natronlauge würde man wichtige Schlüsse auf seine chemische Natur und event. auch bestimmte Annahmen über seine Rolle als Zwischenprodukt bei der Milchsäurebildung machen können.

II.

Einwirkung von Alkalien auf Hexosen, welche mit Bleihydroxyd gekocht worden sind.

1. Invertzucker, mit n/6 Bleihydroxyd gekocht, und 2½n-Natronlauge bei 25° C.

Versuchsanordnung. 10 g Invertzucker in 50 ccm kohlensäurefreiem Wasser in einem Meßkölbchen von 100 ccm mit aufgesetztem Luftkühler unter Zugabe von 1 g feinpulvisiertem Bleihydroxyd ¹⁾ 1 Stunde auf dem kochenden Wasserbad erhält. In Abständen von 15 Minuten 4 mal kräftig durchgeschüttelt. Die gekochte Invertzuckerlösung eine Viertelstunde verschlossen in Eis gekühlt und eine Viertelstunde auf 20° temperiert. Dann 10 g Sodiumhydroxyd (entsprechend 15,6 ccm nach Sörensen hergestellter kohlensäurefreier Natronlauge) in 25 ccm kohlensäurefreiem Wasser aufgelöst zu der Zuckerlösung in das Meßkölbchen gegossen. Sofort mit Wasser auf 100 ccm aufgefüllt und in den Thermostaten bei 25° gestellt. U-Rohr mit Reagenzglas zum Auffangen event. entstandener Gase aufgesetzt. Einfüllzeit 5 Minuten.

Bemerkung: Die in dem Invertzucker enthaltene Inversionssalzsäure, pro 10 g Invertzucker = 0,2 ccm 10n-HCl, hat sich mit dem zugesezten Bleihydroxyd zu Bleichlorid umgesetzt, sodaß nicht 1 g, sondern nur 0,7588 g Bleihydroxyd zur Wirkung kamen. Bei den Versuchen mit Glukose und Fruktose kam stets 1 g Bleihydroxyd zur Wirkung. Das Bleihydroxyd wurde vor dem Zugeben der Natronlauge nicht entfernt, sondern stets in der Lösung belassen.

¹⁾ Biochem. Z. 23. 10

a) Veränderungen des Invertzuckers während des Kochens mit Bleihydroxyd.

Die Invertzuckerlösung färbte sich gelb und allmählich braun. Eine Harzausflockung erfolgte nicht. Das Bleihydroxyd löste sich zu einem kleinen Teil auf, der größere Teil blieb am Boden liegen. Nach beendigtem Kochen war die über dem Bleihydroxydniederschlag stehende Lösung klarbraun und hatte einen brenzlichen Geruch.

Eine Glukosazonbestimmung nach Lintner ergab (nach vorheriger Entfernung des Bleies mit Schwefelwasserstoff)

vor dem Kochen 0,270 g Osazon,
nach dem Kochen 0,185 g Osazon.

Es gingen also 31,5 % Zucker, als Osazon berechnet, verloren.

Tabelle 27 a.

Invertzuckerlösung mit n/6-Bleihydroxyd gekocht
und 2½ n - Nafronlauge bei 25 °.

Vers.-zeit	Mildhs-säure-aus-beute %	Noch vorh. Zucker		Rest- prod. %	Unverbr. NaOH in 1 ccm Vers.lösung		Stu-fen- titra-tion Diff. ccm	ccm n/40 Perman- ganat pro 4,5 ccm Versuchslösung	
		Osaz g	%		Thymolph- talein n/10 ccm	Methyl- orange n/10 ccm		z. Entfärb. des Harzes	Gesamt- verbr. f. Mildhs.- bestimmg. und Harz
Tg.				%					
—	—	13,5	100	—	—	—	—	—	—
0	0	9,25	68,5	31,5	25,0	25,0	0	0	0
1	25,8	2,7	20	54,2	19,55	21,85	2,3	8	185
7	46,0	0	0	54,0	16,35	20,35	4,0	45	325
14	45,9	0	0	54,1	16,35	20,35	4,0	45	310

Tabelle 27 b. Ergänzung zu Tabelle 27 a.
Invertzucker, mit n/6-Beihydroxyd gekocht,
und 2½ n - NaOH bei 25 °.

Zeit	Gesamtverbrauch an NaOH g	an Mildhs. gebundene NaOH g	in % vom Gesamt- verbrauch	an Restprod. gebundene NaOH g	in % vom Gesamt- verbrauch
1 Tg.	2,220	1,146	51,6	1,074	48,4
7 "	3,460	2,044	59,1	1,416	40,9
14 "	3,460	2,044	59,1	1,416	40,9

b) Einwirkung von 2½ n - Natronlauge auf die mit Bleihydroxyd gekochte 10 %ige Invertzuckerlösung.

Bei Zugabe von Natronlauge zu der mit Bleihydroxyd gekochten, auf 20° abgekühlten Lösung trat sofort tief dunkelbraunrote Färbung ein, welche während der Dauer des Versuchs nicht merklich zunahm. Die ermittelten Zahlenergebnisse befinden sich in Tabelle 27 a und b.

Die erste Zahlenreihe in Tabelle 27 a gibt die Zucker- und Osazonmenge vor dem Kochen mit n/6-Bleihydroxyd, die zweite Zahlenreihe die Zuckerosazonmenge nach dem Kochen und die folgenden Zahlenreihen geben die Versuchsergebnisse bei Einwirkung von 2,5 n - NaOH auf die mit Bleihydroxyd gekochte Zuckerlösung bei 25° an.

In Tabelle 27 c sind zum Vergleich die Ergebnisse des Invertzuckerversuches, welcher ohne vorheriges Kochen mit Bleihydroxyd, aber sonst unter gleichen Bedingungen ausgeführt wurde, den Ergebnissen des Bleihydroxydversuches gegenübergestellt.

Tabelle 27 c. Ergänzung zu Tabelle 27 a.

Invertzucker mit n/6-Bleihydroxyd gekocht
und 2½ n - NaOH bei 25°.

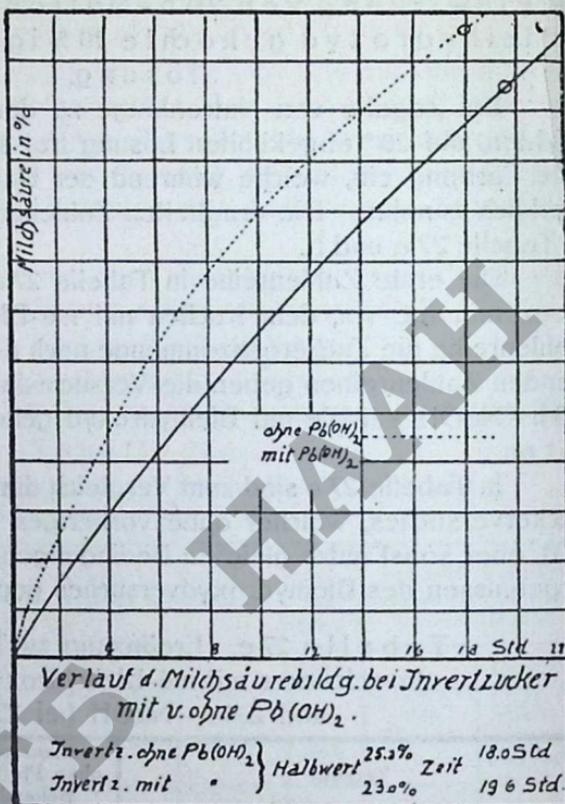
Versuch	Invertzucker ohne Pb(OH) ₂ - Behandlung	Invertzucker mit Pb(OH) ₂ behandelt
Halbwertzeit Std.	18,0	19,6
Milchsäureausbeute %	50,6	46,0
AetherlösL. Harz ccm	15	45
Maxim. Stufentitration ccm	2,7	4,0
Natronlaugeverbrauch für Restprod. nach 24 Std.	0,862 g	1,074 g
dito nach 6 Tagen	1,280 g	1,416 g
Durchschnittl. Aequivalentgewicht nach 24 Std.	162—174	202
dito nach 6 Tagen	154—156	152

Diese Ergebnisse verdeutlichen sich in den folgenden Versuchen, welche mit reiner Glukose und Fruktose ausgeführt wurden.

Beim Bleihydroxydversuch ist die Geschwindigkeit der Milchsäurebildung etwas geringer (s. Halbwertzeit in Diagramm Nr. V),

Diagramm V.

die maximale Milchsäureausbeute um 4 % niedriger, die Harzbildung 3 mal so groß. Der Natronlaugeverbrauch für Restprodukte nach 24 Stunden ist um $\frac{1}{4}$ größer, die Stuffiltrationsdifferenz um etwas mehr als $\frac{1}{3}$ gestiegen und das durchschnittliche Aequivalentgewicht der Restprodukte am Schluß der Reaktion hat sich nicht geändert (geringe Abnahme).



2. d-Glukose, mit n/6-Bleihydroxyd gekocht und
2½ n - Natronlauge bei 25° C.

Die Versuchsanordnung war dieselbe wie beim Invertzuckerversuch.

a) Veränderungen der d-Glukose während des Kochens mit Bleihydroxyd.

Außerlich verhielt sich die Glukoselösung beim Kochen mit Bleihydroxyd genau so wie die Invertzuckerlösung. Am Schluß war die Glukoselösung etwas dunkler braun gefärbt als die gleichbehandelte Invertzuckerlösung. Sie hatte gleichfalls einen brenzlischen Geruch.

Die Glukosazonbestimmung nach Lintner ergab (nach vorheriger Entfernung des Bleies mit Schwefelwasserstoff)

vor dem Kochen 0,210 g Osazon,
nach dem Kochen 0,172 g Osazon.

Es gingen also ca. 18 % Zucker, als Osazon berechnet, verloren.

Es sei erwähnt, daß Löb¹⁾ beim Kochen von Glukose mit Bleihydroxyd unter ganz ähnlichen Bedingungen folgende Reaktionsprodukte feststellen konnte:

Aus 20 g Glukose in 500 ccm Wasser mit 4 g Bleihydroxyd, in verschlossener Flasche 20 Stunden bei 70° gehalten

0,0253 g Ameisensäure = 0,13 % der Glukose,
ca. 2,8 g braunes Bleisalz, wahrscheinlich Salz der Zuckersäure oder Erythronsäure,
ca. 0,0118 g Formaldehyd, Acetol, Methylglyoxal = 0,06 %,
geringe Mengen Pentose und eine Polyoxyssäure, welche im Gegensaß zur Zuckersäure ein lösliches Bleisalz bildet.

Aus 20 g Glukose in 500 ccm Wasser mit 4 g Bleihydroxyd, 1 Stunde auf dem kochenden Wasserbad gehalten

0,0118 g Formaldehyd,
0,1109 g Pentose, Acetol, Methylglyoxal u. Ameisensäure,
ca. 0,150 g Pentit, Zuckersäure, Erythronsäure.

Es treten weder Glyzerinaldehyd, Dioxyacetone noch Milchsäure und Alkohol auf. Löb stellt fest, daß das Bleihydroxyd nur Umwandlungen intramolekularer Art hervorruft, soweit sie die Bildung von Polyoxyssäuren betreffen; gleichzeitig aber auch Spaltung in Formaldehyd und nicht gärfähige Pentose. Die Menge der bei der Einwirkung des Bleihydroxyds entstehenden Reaktionsprodukte ist gegenüber der angewandten Glukosemenge gering und übersteigt nicht 1 %. Auf die von Lobry de Bruyn bei Einwirkung von Bleihydroxyd festgestellten isomeren Zucker hat Löb nicht geprüft.

Nach den Angaben von Lobry de Bruyn soll beim Kochen von Glukose mit Bleihydroxyd von bestimmter Konzentration, welche wir bei unseren obigen Versuchen einhielten, eine Umwandlung der d-Glukose in d-Glucose nebst d-Mannose und sehr geringen Mengen pseudo-Fruktose eintreten, wobei d-Fruktose niemals auftritt. Unsere nach dem Kochen mit Bleihydroxyd ausgeführte Zuckerbestimmung ergab noch ca. 82 % als Glukosazon bestimmbarer Zucker. Rechnet man zu diesen 82 % auch das Osazon der Man-

¹⁾ Biochem. Z. 23. 11—26

nose, welches ja als Glukosazon mitbestimmt wird, so verbleiben ca. 18 % Zucker, welche d-Glucose sein müßten. d-Glucose ist mit Hilfe der Osazomethode von Lintner nicht bestimmbar, da sie ein wasserlösliches Osazon liefert; man kann daher ihre Menge indirekt durch Subtraktion feststellen.

b) Einwirkung von $2\frac{1}{2}$ n - NaOH auf die mit Bleihydroxyd gekochte 10 % ige Glukoselösung bei 25°.

Bei Zugabe von Natronlauge zu der mit Bleihydroxyd gekochten, auf 20° abgekühlten Lösung trat wie beim analogen Invertzuckerversuch sofort tief dunkelbraunrote Färbung ein. Die analytischen Zahlenergebnisse finden sich in den Tab. 28 a, b, c.

Die erste Zahlenreihe in Tabelle 28 a gibt wieder die Zucker- und Osazomenge vor dem Kochen mit n/6 - Bleihydroxyd, die zweite Zahlenreihe die Zucker- und Osazomenge nach dem Kochen und die folgenden Zahlenreihen geben die Versuchsergebnisse bei darauffolgender Einwirkung von 2,5 n - NaOH bei 25° an.

Tabelle 28 a.

d-Glukose mit n/6-Bleihydroxyd gekocht und $2\frac{1}{2}$ n - NaOH bei 25°.

Vers.-zeit Tage	Milch- säure- aus- beute %	Noch vorhan- dener Zucker		Rest- prod. %	Unverbr. NaOH in 1 ccm Vers.- lösung		Stu- fen- titra- tions- Diff. ccm	ccm n/40 Perman- ganat pro 4,5 ccm Versuchslösung	
		Osaz. g	%		Thymolph- talein n/10 ccm	Methyl- orange n/10 ccm		z. Entfärb- ung des „Harzes“	Gesamt- verbrauch f. Milchs.- bestimmg. und Harz
—	—	10,5	100	—	—	—	—	—	—
0	0	9,61	82	18	25,0	25,0	0	0	0
1	22,0	3,53	33,6	44,4	21,15	20,95	1,8	5	180
14	44,3	0	0	55,7	16,25	20,05	3,8	40	295

Tabelle 28 b. Ergänzung zu Tabelle 28 a.

d-Glukose mit n/6-Bleihydroxyd gekocht und $2\frac{1}{2}$ n - NaOH bei 25°.

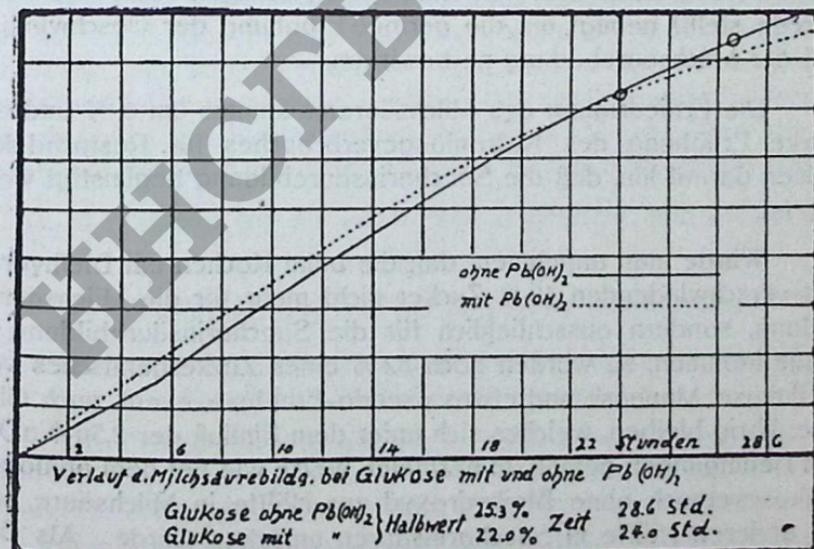
Zeit	Gesamt- verbrauch an NaOH g	an Milchs. gebundene NaOH g	in % vom Gesamt- verbrauch	an Restprod. gebundene NaOH g	in % vom Gesamt- verbrauch
1 Tg.	1,940	0,978	50,4	0,962	49,6
14 "	3,500	1,969	56,3	1,531	43,7

In Tabelle 28 c sind zum Vergleich die Ergebnisse des Glukoseversuches ohne Bleihydroxyd den Ergebnissen des Bleihydroxydversuches gegenüber gestellt.

T a b e l l e 28 c. Ergänzung zu Tabelle 28 a.
d-Glukose mit n/6-Bleihydroxyd gekocht und 2½ n-NaOH bei 25°.

Versuch	Glukose ohne Pb(OH) ₂ - Behandlung	Glukose mit Pb(OH) ₂ behandelt
Halbwertzeit Std.	28,6	24
Milchsäureausbeute %	50,6	44,3
Aetherlösliches Harz ccm	10	40
Maximal. Stufentitration ccm	2,7	3,8
Natronlaugeverbrauch für Rest- produkte nach 24 Std.	0,630 g	0,962 g
nach 7 Tagen	1,290 g	1,531 g
Durchschnittl. Aequivalentgewicht		
nach 24 Std.	169	184
nach 7 Tagen	158	146

D i a g r a m m VI.



Beim Bleihydroxydversuch ist die Geschwindigkeit der Milchsäurebildung etwas größer (s. Halbwertzeit in Diagramm Nr. VI), die maximale Milchsäureausbeute um 6 % geringer und die Harzbildung 4 mal so groß. Der Natronlaugeverbrauch für Restprodukte nach 24 Stunden ist um die Hälfte größer (nach 7 Tagen um $\frac{1}{3}$ größer), die Stufentitrationsdifferenz ist um $\frac{1}{3}$ gestiegen und das durchschnittliche Aequivalentgewicht der Restprodukte am Schluß der Reaktion ist von 153 auf 146 gesunken.

Die Tatsache, daß die Geschwindigkeit der Milchsäurebildung erhöht wird, weist darauf hin, daß bei Einwirkung von Bleihydroxyd ein Produkt entsteht, welches leichter Milchsäure bildet. Ob hierfür d-Glukose in Frage kommt, erscheint uns zweifelhaft, umso mehr, als die später beschriebenen Versuche mit Fruktose und Bleihydroxyd zu Ungunsten der d-Glukose ausgefallen sind. Man müßte die beim Kochen mit Bleihydroxyd entstehende d-Glukose nicht nur erst einmal ganz sicher identifizieren, sondern auch ihre Menge feststellen, um sich ein Bild machen zu können. Es hätten unter Umständen auch geringe Mengen Fruktose, welche beim Kochen von d-Glukose mit Bleihydroxyd hätten entstehen können (wenn auch Lobry de Bruyn das Auftreten von Fruktose in Abrede stellt), genügt, um die geringe Erhöhung der Geschwindigkeit der Milchsäurebildung zu bewirken.

Die Erniedrigung des Milchsäuremaximums um 6 % und die starke Erhöhung des Natronlaugeverbrauches für Restprodukte weisen darauf hin, daß die Saccharinsäurebildung begünstigt worden ist.

Würde man annehmen, daß die beim Kochen mit Bleihydroxyd verschwindenden 18 % Zucker nicht mehr für die Milchsäurebildung, sondern ausschließlich für die Saccharinsäurebildung in Frage kommen, so würden noch 82 % eines Zuckergemisches von d-Glukose, Mannose und etwas pseudo-Fruktose, event. auch Glutose, übrig bleiben, welches sich unter dem Einfluß der 2,5*n*-NaOH, den Bedingungen gemäß, in normaler Weise wie bei dem analogen Glukoseversuch ohne Bleihydroxyd zur Hälfte in Milchsäure und zur anderen Hälfte in Saccharinsäuren umsetzen würde. Als Gesamtergebnis würde sich dann nach Ablauf der Reaktion ergeben:

58—59 % Restprodukte (Saccharinsäuren), einschließlich der aus den 18 % verschwundenen Zucker entstehenden Saccharinsäuren und

41—42 % Milchsäure.

Durch Analyse stellten wir 44 % Milchsäure und 56 % Restprodukte fest. Diese Ziffern würden sich also von den durch die theoretischen Erwägungen ermittelten Ziffern nicht weit entfernen. Mit großer Wahrscheinlichkeit darf man daher annehmen, daß die beim Kochen von d-Glukose mit Bleihydroxyd verschwindenden 18 % Zucker bei Einwirkung von Natronlauge ausschließlich in Saccharinsäuren übergehen. Ob dabei aus diesen 18 % Zucker Saccharinsäuren mit kurzer Kohlenstoffkette gebildet werden oder ob hierbei C₆-Saccharinsäuren entstehen, kann nicht mit Bestimmtheit gesagt werden.

Für die Bildung der C₆-Säuren aus etwa entstandenem ortho-Oson spricht das hohe durchschnittliche Äquivalentgewicht für Restprodukte nach 24 Stunden, welches erheblich größer ist als beim Parallelversuch ohne Bleihydroxyd. Dieselbe Beobachtung kann man auch bei den Bleihydroxydversuchen mit Invertzucker machen. Doch scheint das Bleihydroxyd gerade auch bei dem Glukoseversuch eine besondere Wirkung dahingehend auszuüben, daß bei nachfolgender Einwirkung von Natronlauge Spaltprodukte entstehen, welche im Verlauf der Reaktion in Säuren mit kurzer Kohlenstoffkette übergehen, wodurch das durchschnittliche Äquivalentgewicht der Restprodukte am Schluß der Reaktion stärker herabgedrückt wird als beim Parallelversuch ohne Bleihydroxyd.

3. d-Fruktose, mit n/6 Bleihydroxyd gekocht, und 2½ - NaOH bei 25 °.

Versuchsanordnung wie bei den Glukoseversuchen.

a) Veränderungen der d-Fruktose während des Kochens mit Bleihydroxyd.

Die Fruktoselösung war nach dem Kochen rötlichbraun gefärbt und etwas heller als die gleichbehandelte Glukoselösung. Es wurde ein brenzlicher Geruch nach Methylglyoxal bemerkt.

Die Fruktosazonbestimmung nach Linner ergab (nach vorheriger Entfernung des Bleies mit Schwefelwasserstoff)

vor dem Kochen 0,330 g Osazon,
nach dem Kochen 0,141 g Osazon.

Es gingen ungefähr 57 % Zucker, als Osazon berechnet, verloren.

Nach Lobry de Bruyn sollen beim Kochen mit Bleihydroxyd in der von uns befolgten Weise etwa 40 % der d-Fruktose in d-Glucose übergeführt werden. Da wir nicht 40 %, sondern 57 % der Fruktose umgewandelt fanden, müssen noch 17 % andere Umwandlungsprodukte vorhanden sein. Lobry de Bruyn gibt außer d-Glucose noch geringe Mengen pseudo-Fruktose an. Seinen Mitteilungen ist ferner zu entnehmen, daß noch d-Glukose und Mannose gebildet werden. Da der von uns gefundene Osazonwert auf reine Fruktose umgerechnet ist, stimmt unsere Zuckerberechnung nicht ganz. Unter Berücksichtigung des Glukose- und Mannose-Umrechnungsfaktors kommen wir auf ungefähr 50—55 % Zucker, welche durch das Kochen mit Bleihydroxyd anderweitig umgewandelt werden. Nehmen wir nun die Angabe von Lobry de Bruyn als richtig an, daß 40 % d-Glucose gebildet werden, dann bleiben noch ca. 10—15 % andere Umwandlungsprodukte, hauptsächlich pseudo-Fruktose und ca. 45—50 % eines Gemisches von Fruktose, Glukose und Mannose, woran Fruktose den Hauptanteil hat.

b) Einwirkung von 2½ n - NaOH auf die mit Bleihydroxyd gekochte Fruktoselösung bei 25°.

Bei Zugabe der Natronlauge trat sofort wie bei den vorhergehenden Versuchen tief dunkelrotbraune Färbung ein, die sich während des Versuches nicht mehr änderte. Die analytischen Ergebnisse dieser Versuche sind in Tab. 29 a, b und c verzeichnet und zum Teil in Diagramm VII veranschaulicht.

Die erste Zahlenreihe in Tab. 29 a gibt die Zucker- und Osazongröße vor dem Kochen, die zweite Zahlenreihe die Zucker- und Osazongröße nach dem Kochen mit Bleihydroxyd und die folgenden Zahlenreihen geben die Versuchsdaten bei der darauf folgenden Einwirkung von 2,5 n - NaOH bei 25° an.

In Tabelle 29 c sind zum Vergleich die Ergebnisse des Fruktoseversuches ohne Bleihydroxyd den Ergebnissen des Versuches mit Bleihydroxyd gegenüber gestellt.

Tabelle 29 a.

d-Fruktose mit n/6 Bleihydroxyd gekocht und 2½ n - NaOH bei 25 °.

Vers.-zeit Tage	Mildhsäure-aus-beute %	Noch vorhan-dener Zucker		Rest-prod. %	Unverbr. NaOH in 1 ccm Vers.-lösung		Stu-fen-titra-tions-Diff. ccm	ccm n/40 Perman-ganat pro 4,5 ccm Versuchslösung	Gesamt-verbr. f. Milchs.-bestimmg und Harz
		Osaz. g	%		Thymolph-talein n/10 ccm	Methyl-orange n/10 ccm			
0	0	16,5	100	—	—	—	0	—	0
1	21,9	7,1	43	57	25,0	25,0	2,45	45	200
7	28,8	0	0	78,1	19,2	21,65	4,25	45	260
14	31,9	0	0	68,1	17,4	21,7	4,3	50	300
Ergänzungsversuch bei 40 °.									
21	31,0	0	0	69,0	17,4	18,2 ?	?	85	—

Tabelle 29 b. Ergänzung zu Tabelle 29 a.

d-Fruktose mit n/6 Bleihydroxyd gekocht und 2½ n - NaOH bei 25 °.

Zeit	Gesamt-Verbrauch an NaOH g	an Mildhs. gebundene NaOH g	in % vom Gesamt-verbrauch	an Restprod. gebundene NaOH g	in % vom Gesamt-verbrauch
1 Tg.	2,320	0,973	41,9	1,347	58,1
7 "	2,960	1,280	43,2	1,680	56,8
14 "	3,040	1,418	46,6	1,622	53,4

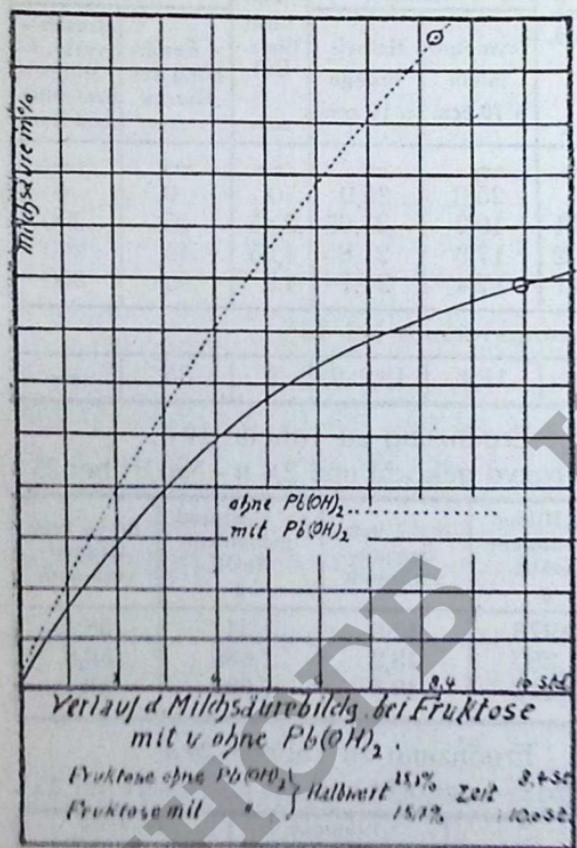
Tabelle 29 c. Ergänzung zu Tabelle 29 a.

d-Fruktose mit n/6 Bleihydroxyd gekocht und 2½ n - NaOH bei 25 °.

Versuch	Fruktose ohne Pb(OH) ₂ -Behandlung	Fruktose mit Pb(OH) ₂ -behandelt
Halbwertzeit Std.	8,4	10,0
Milchsäureausbeute %	50,5	31,4
Aetherlösliches Harz ccm	20	50
Maximal. Stufentitation ccm	2,7	4,3
Natronlaugeverbrauch für Restprod. nach 24 Std.	1,023 g	1,347 g
nach 7 Tagen	1,234 g	1,622 g
Durchschnittl. Äquivalentgewicht nach 24 Std.	182	207—230
nach 7 Tagen	158	166—170

Beim Bleihydroxydversuch ist die Geschwindigkeit der Milchsäurebildung geringer, s. Halbwertzeit in Diagramm Nr. VII, die maximale Milchsäureausbeute ist um fast 20 % (6 %) niedriger und

Diagramm VII.



die Harzbildung 2 bis 3 mal (4 mal) so groß. Der Nafronlaugeverbrauch für Restprodukte nach 1 und 7 Tagen ist um $\frac{1}{2}$ (½) bzw. $\frac{1}{4}$ (¼) größer, die Stufentitrationsdifferenz ist um $\frac{2}{3}$ ($\frac{1}{3}$) gestiegen und das durchschnittliche Äquivalentgewicht der Restprodukte am Schluß der Reaktion beträgt 166-170 (146). Die Zahlen in Klammern stellen die entsprechenden Ergebnisse des Glukoseversuches mit Bleihydroxyd dar.

Diese Ergebnisse zeigen zunächst, daß die Bleihydroxydbehandlung bei Fruktose, wenn vielleicht nicht eine andere, dann doch eine viel weitgehendere Wirkung hat.

Die Erniedrigung des Milchsäuremaximums und der Geschwindigkeit der Milchsäurebildung deutet an, daß beim Kochen mit Bleihydroxyd ein Körper gebildet wurde, welcher entweder überhaupt keine oder viel langsamer Milchsäure bildet.

Würde man annehmen, daß die beim Kochen mit Bleihydroxyd entstehenden 40 % Umwandlungsprodukte, welche nach Lobry

de Bruyn d-Glucose sein sollen, ausschließlich in Saccharinsäuren übergehen, so würden noch 60 % eines Zuckergemisches von Fruktose, Glukose, Mannose und pseudo-Fruktose übrig bleiben, welches sich unter dem Einfluß der 2½n-NaOH, den Bedingungen gemäß, in normaler Weise, wie beim analogen Fruktoseversuch ohne Bleihydroxyd, zur Hälfte in Milchsäure und zur anderen Hälfte in Saccharinsäuren umsetzen würde. Als Gesamtergebnis würde sich dann nach Ablauf der Reaktion ergeben:

etwa 70 % Restprodukte (Saccharinsäuren), einschließlich der aus den 40 % d - Glucose gebildeten Saccharinsäuren und
etwa 30 % Milchsäure.

Durch Analyse stellten wir 31 % Milchsäure und 69 % Restprodukte fest. Diese Ziffern entsprechen fast den theoretisch ermittelten Werten.

Es darf auf Grund dieser Erwägungen mit großer Wahrscheinlichkeit angenommen werden, daß die beim Kochen mit Bleihydroxyd entstehenden 40 % Umwandlungsprodukte, welche nach Lobry de Bruyn d-Glucose sein sollen, bei Einwirkung von Natronlauge ausschließlich in Saccharinsäuren übergehen, also überhaupt keine Milchsäure bilden.

Im Verfolg dieser Annahme darf weiterhin angenommen werden, daß diese 40 % d-Glucose wahrscheinlich gar keine d-Glucose sind. Würden sie Glucose sein, so müßten sie wie alle Hexosen der Glukoserie bei Einwirkung von Natronlauge Milchsäure bilden. Die Geschwindigkeit der Milchsäurebildung wäre hierbei eine sekundäre Frage.

Die Verlangsamung der Milchsäurebildung nach erfolgter Bleihydroxydbehandlung ist unseres Erachtens darauf zurückzuführen, daß aus der Fruktose beim Kochen mit Bleihydroxyd Aldosen gebildet werden.

Die bedeutende Erhöhung der Stufentitrationsdifferenz und des Natronlaugeverbrauches für Restprodukte, welcher letzterer im Vergleich zum Glukoseversuch durchschnittlich höher ist, und besonders auch das erhöhte durchschnittliche Äquivalentgewicht der Restprodukte nach 24 Stunden bzw. am Schluß der Reaktion (166 bis 170) sprechen sehr dafür, daß beim Kochen der Fruktose

mit Bleihydroxyd ein Körper (event. das ortho-Oson B) gebildet worden ist, welcher in C₆-Saccharinsäuren übergeht.

Bemerken wollen wir noch, daß wir bei den Bleihydroxyd-versuchen mit Fruktose die Beobachtung machten, daß bereits nach 1 Tag Reaktionsdauer kein Zucker mehr als wasserunlösliches Osazon nachweisbar war, obgleich die Milchsäureausbeute erst 21,9 % betrug und im Verlauf von 7 bis 14 Tagen noch um 10 % stieg.

Wir hatten weiter oben festgestellt, daß beim Kochen von Fruktose mit Bleihydroxyd unter den von uns angewandten Bedingungen ungefähr 57 % Fruktose verschwinden. Betrachten wir 40 % als event. in ortho-Oson umgewandelt, so bleiben noch 17 % Fruktose, welche anderweitig umgewandelt worden sind. Vielleicht befindet sich unter den letzteren Umwandlungsprodukten neben der pseudo-Fruktose auch die d-Glukose. Die d-Glukose und die pseudo-Fruktose sind beide Ketohexosen der Glukosereihe, welche wasserlösliche Osazone geben, daher nach der Methode von Lintner nicht quantitativ bestimmbar sind und welche der Theorie nach Milchsäure bilden können.

Zusammenfassung.

Faßt man die beim Kochen von Invertzucker, d-Glukose und d-Fruktose mit Bleihydroxyd in wässriger Lösung bei nachfolgender Einwirkung von Natronlauge erhaltenen Resultate nochmals zusammen, so ergibt sich folgendes:

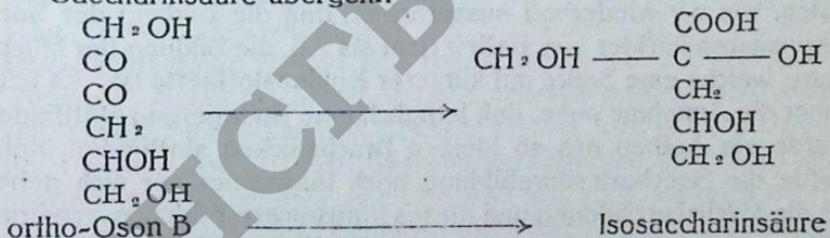
- 1) Es gelang nicht, aus dem Studium der Geschwindigkeit der Milchsäurebildung bei mit Bleihydroxyd vorbehandelten Zuckerkösungen Anhaltspunkte für die Hypothese Nefs zu gewinnen, daß die Glukose bei der Bildung von Milchsäure aus Glukose oder Fruktose Zwischenprodukt ist. Denn es bildete sich beim Kochen dieser Zucker mit Bleihydroxyd als wesentliches, charakteristisches Produkt offenbar nicht Glukose, welche wir gewinnen und auf ihr Milchsäurebildungsvermögen untersuchen wollten. Die Hypothese Nefs, daß die Milchsäurebildung aus Glukose bzw. Fruktose über Fruktose-Glukose — Glyzerinaldehyd geht, wird dann an Wahrscheinlichkeit gewinnen, wenn es gelingt, nachzuweisen, daß die Glukose (für welche erst noch eine befriedigende Darstel-

lungsweise gefunden werden muß), mit noch größerer Geschwindigkeit als die Fruktose Milchsäure bilden kann.

- 2) Die Versuche mit Glukose haben wahrscheinlich gemacht, daß beim Kochen mit Bleihydroxyd Umwandlungsprodukte entstehen, welche bei nachfolgender Einwirkung von Natronlauge ausschließlich in Saccharinsäuren übergehen. Die Einwirkung des Bleihydroxyds auf Glukose scheint dahin zu gehen, daß Körper gebildet werden, welche bei nachfolgender Einwirkung von Natronlauge sowohl höhere Saccharinsäuren (C_6 -Säuren) als auch sehr viel Säuren mit kurzer Kohlenstoffkette liefern.
- 3) Die Versuche mit Fruktose sprechen dafür, daß bei Einwirkung von Bleihydroxyd hauptsächlich ein Körper gebildet wird (eventl. das ortho-Oson B), welcher bei nachfolgender Einwirkung von Natronlauge keine Milchsäure, sondern Saccharinsäuren, jedenfalls C_6 -Säuren, liefert.

Nebenbei scheinen noch 3 Ketohexosen gebildet zu werden, unter denen sich eventl. die d-Glucose befindet.

Wir halten es für möglich, daß nach Nef beim Kochen von d-Glucose mit Bleihydroxyd das ortho-Oson B gebildet wird, welches bei Einwirkung von Natronlauge wie folgt in Saccharinsäure übergeht:



F. Theorie der Zuckerumwandlung.

Zunächst halten wir es für nicht recht wahrscheinlich, daß die Umwandlung des Zuckers im Sinne der von Löb aufgestellten Theorie vorsichgeht, also in der Weise, daß sich der Zucker in Formaldehydbruchstücke auflöst, welche sich dann unter den gegebenen Versuchsbedingungen in bestimmter Menge und in bestimmtem Verhältnis wieder zu Milchsäure und den Saccharinsäuren aufbauen. Es ist anzunehmen, daß bei der Milchsäurebildung die C₆-Kette durch einfache Teilung der C₆-Kette der Hexose entsteht und daß bei der Bildung der C₆-Saccharinsäure die C₆-Kette, welche in der Hexose schon vorgebildet ist, nicht erst völlig zerstört und dann wieder aufgebaut wird. Bei den C₆-Saccharinsäuren hat man eine Struktur festgestellt, die zeigt, daß die Zuckerreste im Saccharinsäuremolekül zum größten Teil noch vorhanden sind und nur unfernander eine Verschiebung erfahren haben. Nef hat aus dieser Tatsache seine Theorie von den ortho-Osonen als Zwischenprodukten bei der Saccharinsäurebildung abgeleitet. Auch unsere Versuche lassen es nicht wahrscheinlich erscheinen, daß erst eine Auflösung in Formaldehydbruchstücke erfolgt. Der starke Natronlaugeverbrauch für Restprodukte zu Beginn der Reaktion läßt vermuten, wie wir wiederholt aussprachen, daß die Bildung der Saccharinsäuren leichter von statten geht als z.B. die Bildung der Milchsäure, welche eine Säure mit kürzerer Kohlenstoffkette ist. Es liegt daher die Annahme nahe, daß lediglich eine Umlagerung stattfindet. Würde ein Aufbau aus so kleinen Bruchstücken stattfinden, dann müßte die Saccharinsäurebildung noch langsamer vor sich gehen als die Milchsäurebildung und dieses langsamere Bildungsvermögen müßte sich im Natronlaugeverbrauch für Restprodukte in entsprechender Weise äußern. Es war aber immer das Gegenteil der Fall.

Was die Nef'sche Theorie der Saccharinsäurebildung anlangt, so halten wir es für möglich, daß die Saccharinsäurebildung über ortho-Osone geht, wobei 2 Vorgänge unterschieden werden können: der primäre Vorgang, welcher in der Bildung des ortho-Osons durch das aktive Eingreifen der Base, welches Methylenbildung zur Folge hat, besteht, und der sekundäre Vorgang, welcher in der Umwandlung des Osons in Saccharinsäure

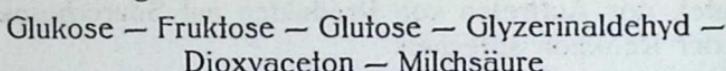
durch den Einfluß der OH-Ionen besteht. Die Bleihydroxydversuche weisen darauf hin. Für die Methylenbildung würde, wie auf S. 58 angedeutet, das Auftreten von Produkten mit Säurecharakter zu Beginn der Reaktion sprechen.

Gegen die Nef'sche Theorie der Milchsäurebildung kann man verschiedene Einwendungen machen. Oppenheimer¹⁾ stellte durch vergleichende Versuche fest, daß gleiche Mengen Glukose, dl-Glyzerinaldehyd und Dioxyaceton unter gleichen Bedingungen mit Natronlauge behandelt nach bestimmter Zeit dieselben Mengen Milchsäure, nämlich ungefähr 50 %, liefern. Aus den von ihm angewandten Versuchsbedingungen können wir schließen, daß die gefundenen Milchsäureausbeuten Maxima darstellen, d. h. Ausbeuten sind, welche unter den vorherrschenden Bedingungen durch längere Reaktionsdauer nicht gesteigert werden können. Es liegt also die bemerkenswerte Tatsache vor, daß gleiche Mengen Fruktose, Glukose, dl-Glyzerinaldehyd oder Dioxyaceton, also auch gleiche Mengen von beliebigen Gemischen dieser 4 Substanzen bei Einwirkung von Alkali unter gleichen Bedingungen nach genügend langer Reaktionsdauer dieselben maximalen Milchsäureausbeuten liefern. Oppenheimer stellte ferner fest, daß dl-Glyzerinaldehyd rascher als Glukose und Dioxyaceton fast doppelt so rasch wie Glukose Milchsäure bildet, daß aber dieser Unterschied in der Geschwindigkeit der Milchsäurebildung nur am Anfang zu erkennen ist und sich bei längerem Verlauf der Reaktion verwischt, sodaß schließlich gleiche Milchsäureausbeuten resultieren. Diese Feststellung ist deshalb wichtig, weil wir bei Vergleich der Fruktose mit Glukose ähnliche Erfahrungen machten, insbesondere auch feststellten, daß Fruktose fast 4 mal so rasch wie Glukose Milchsäure bildet. Fruktose steht bezgl. der Geschwindigkeit der Milchsäurebildung also dem Dioxyaceton nahe.

Man fragt sich daher, ob die Spaltung von Glukose und Fruktose nicht auch durch einfache Lösung der Aldolbindung stattfinden könnte, wie Meisenheimer angenommen hat, und ob die Ursache der größeren Geschwindigkeit der Milchsäurebildung bei Fruktose darin liegt, daß sie den Dioxyacetonrest abspaltet, welcher sich rascher in Milchsäure umwandelt als der aus Glukose abgespaltene

¹⁾ Biochem. Z. 45. 134.

Glyzerinaldehydrest. Störend wirkt in dem Nef'schen Schema der Milchsäurebildung:



die Annahme, daß Fruktose durch Umlagerung und Dissoziation 2 Mol. Glyzerinaldehyd bilden soll, welch letztere sich nach Oppenheimer mit geringerer Geschwindigkeit in Milchsäure umwandeln als Fruktose selbst.

Immerhin ist dadurch der Nef'schen Ansicht noch nicht völlig widersprochen. Zum Beispiel dürfte der bei der Isomerisation und Dissoziation entstehende Glyzerinaldehyd nicht als gewöhnlicher Glyzerinaldehyd anzusehen sein; denn ersterer besitzt 2 freie Valenzen, welche der gewöhnliche Glyzerinaldehyd nicht besitzt. Dadurch wird er gegen Natronlauge reaktionsfähiger und die dargelegten Verhältnisse bezüglich der Reaktionsgeschwindigkeit der Zwischenprodukte treffen nicht mehr zu.

Bedeutungsvoll in diesem Zusammenhange sind unsere Versuchsergebnisse bezüglich des Reaktionsverlaufes und der Reaktionsgeschwindigkeit bei Glukose und Fruktose. Es zeigte sich das sehr wichtige Ergebnis (S. 89), daß das Verhältnis von Natronlaugeverbrauch für Milchsäure zu Natronlaugeverbrauch für Restprodukte während des Reaktionsverlaufes bei Glukose und Fruktose fast ganz übereinstimmt und auch die maximalen Milchsäureausbeuten ganz gleich sind, woraus sich der Schluß zu ergeben scheint, daß die Reaktion bei Fruktose ganz ähnlich wie bei Glukose verläuft und nur in der Geschwindigkeit des Verlaufes eine Abhängigkeit von der Konfiguration besteht in der Weise, daß Glukose sich erst in Fruktose umwandeln muß, bevor die Bildung von Milchsäure und Saccharinsäure erfolgen kann. Eventuell geht die Umwandlung auch über ein anderes gemeinsames Zwischenprodukt, welches sich aus Fruktose schneller bildet als aus Glukose, vor sich und welches den Ausgangspunkt für die Milchsäure- und Saccharinsäurebildung bildet. Doch scheint bei der Annahme, daß sowohl bei der Saccharinsäure- als auch bei der Milchsäurebildung eine gemeinsame Zwischenstufe durchlaufen wird, die naheliegendere die zu sein, daß das gemeinsame Zwischenprodukt Fruktose selbst ist.

Es erscheint also möglich, daß die Bildung der Milchsäure aus Glukose im Nef'schen Sinne zunächst durch Umwandlung der Glukose in Fruktose erfolgt. Was hierbei die Saccharinsäurebildung betrifft, so gerät man allerdings zum Teil in Widerspruch mit der Nef'schen Theorie der Saccharinsäurebildung; insoweit nämlich, als die Entstehung der Metasaccharinsäure nicht mehr durch direkte Umlagerung aus der Aldose erklärt werden kann. Ueber den weiteren Verlauf der Milchsäurebildung, nachdem die Fruktose-Stufe erreicht ist, kann man noch weniger aussagen.

HAAR
ННСГБ

Zusammenfassung.

I. Es wurde ein Analysegang zur raschen, vollständigen Trennung und Bestimmung der Milchsäure in alkalischen Zuckerlösungen ausgearbeitet.

II. Bei Einwirkung von 1 n-bis 10 n-NaOH, KOH und Ba(OH)₂ auf die Hexosen, Invertzucker, Glukose und Fruktose in 0,5—10%iger wässriger Lösung bei Temperaturen von 25—200° unter Luftabschluß werden weder Kohlensäure noch Oxalsäure gebildet. In allen Fällen entsteht aber Milchsäure. Sie wird bei 200° in Gegenwart von konzentrierten Alkalien noch nicht zerstört.

Auch bei Einwirkung von 3 n- bis 6 n-Natriumkarbonat entsteht eine gewisse Menge Milchsäure. Natriumkarbonat wirkt aber nicht 2—3-mal langsamer als Alkalialkali, wie in der Literatur steht, sondern, soweit es die Milchsäurebildung betrifft, mindestens 50-mal so langsam. Außerdem reagiert es in ganz anderer Weise mit Hexosen, wobei Milchsäure nur als Nebenprodukt auftritt und als Hauptprodukt sehr viel ätherlösliche Harze und viele andere, noch unaufgeklärte Reaktionsprodukte entstehen. Polysaccharide scheinen mit 3 n- bis 6 n-Na₂CO₃ nicht zu entstehen.

Unter den während des Reaktionsverlaufes gegebenen Versuchsbedingungen erleiden die Harze eine Veränderung. Es wird vermutet, daß Saccharinsäuren gebildet werden.

Wir konnten entgegen den Behauptungen von Nef speziell die Wirkungen des Bariumhydroxydes auf die Milchsäurebildung feststellen. Unter den von M. Schüßenberger angegebenen Bedingungen erzielten wir mit Baryhydrat eine maximale Milchsäureausbeute von 60 %. Eine weitere Steigerung derselben, etwa bis 80 %, wie Schüßenberger einmal angibt, konnten wir unter diesen Bedingungen nicht erzielen. Mit Natronlauge erreicht man unter gleichen Bedingungen eine maximale Milchsäureausbeute von 48 %.

Upson's Behauptung, daß n-Bariumhydroxyd große Mengen Milchsäure und 8 n-NaOH nur kleine Mengen Milchsäure liefert, ist schlechthin unrichtig. Es kommt ganz auf die jeweilige Zucker-

konzentration an. Es ist zur Beurteilung einer besonderen Erscheinung bei Einwirkung von Alkalien auf Zucker neben der Angabe von Zucker- und Alkalikonzentration auch noch die Angabe der Versuchstemperatur und Reaktionsdauer notwendig.

Besondere Wirkungen beobachteten wir auch bei Einwirkung von Bleihydroxyd auf d-Glukose und d-Fruktose. Die Versuche mit Glukose und Bleihydroxyd machten wahrscheinlich, daß beim Kochen mit Bleihydroxyd Umwandlungsprodukte entstehen, welche bei nachfolgender Einwirkung von Natronlauge ausschließlich in Saccharinsäuren übergehen. Die Versuche mit Fruktose und Bleihydroxyd sprachen dafür, daß bei Einwirkung von Bleihydroxyd hauptsächlich ein Körper gebildet wird, eventuell ortho-Oson B, welcher bei nachfolgender Einwirkung von Natronlauge keine Milchsäure, sondern Saccharinsäure, jedenfalls C₆-Säuren, liefert.

III. Das Studium der Kinetik der Milchsäurebildung ergab interessante Einblicke in den Zusammenhang zwischen Zuckerkonzentration und Zuckerconfiguration einerseits und Alkalikonzentration bzw. OH-Ionenkonzentration andererseits und schließlich einen Einblick in den Umwandlungsprozeß der Hexosen überhaupt.

Der Verlauf der Reaktion zu Beginn der Einwirkung des Alkalis deutet darauf hin, daß Zwischenprodukte gebildet werden, welche Natronlauge zu binden vermögen, also Säurecharakter haben.

Im Zusammenhang mit dem Natronlaugeverbrauch für Restprodukte und dem durchschnittlichen Äquivalentgewicht der Restprodukte ließ sich feststellen, daß die Saccharinsäurebildung, insbesondere die Bildung der C₆-Säuren, rascher verläuft als die Milchsäurebildung.

Die Tollen'sche Annahme, daß die Glukosaccharinsäure das intermediäre Übergangsprodukt sein könnte, aus dem die Milchsäure gebildet wird, ist unhaltbar. Ebenso ist die anderwärts und auch von uns gemachte Annahme, daß die gelbgefärbten Harze Zwischenprodukte bei der Milchsäurebildung sein könnten, unhaltbar.

Allem Anschein nach kann das Hexosemolekül mit Alkalien gleichzeitig in der Richtung der Milchsäurebildung und in der Richtung der Saccharinsäurebildung reagieren.

Das Endresultat, soweit es die erreichbare maximale Milchsäureausbeute betrifft, ist nicht das Ergebnis eines Gleichgewichtszustandes zwischen Alkalikonzentration und gebildeter Milchsäure.

Die Faktoren, welche die Milchsäure- und Saccharinsäurebildung beeinflussen, sind folgende :

- 1) Temperatur,
- 2) Alkalikonzentration bzw. OH-Ionenkonzentration,
- 3) Zuckerkonzentration,
- 4) Zuckerkonfiguration.

Mit Erhöhung der Temperatur wird die Saccharinsäurebildung mehr begünstigt als die Milchsäurebildung, weshalb die maximalen Milchsäureausbeuten mit steigender Temperatur ein wenig sinken. Das durchschnittliche Äquivalentgewicht der Restprodukte wird gleichzeitig erniedrigt, was auf eine größere Zersetzung des Zuckers mit erhöhter Temperatur hinweist.

Mit Erhöhung der Alkalikonzentration wird die Milchsäurebildung mehr begünstigt als die Saccharinsäurebildung. Bei niedriger Laugenkonzentration, etwa 0,4 n-NaOH, entsprechend einem pH = 12,43, ist die Milchsäurebildung äußerst gering. Die Geschwindigkeit der Milchsäurebildung ist der Alkalikonzentration proportional.

Je geringer die Zuckerkonzentration im Verhältnis zur Laugenkonzentration wird, desto besser werden die Bedingungen für die Milchsäurebildung.

Der Versuch, durch Zugabe von anorganischem Phosphat künstlich phosphorilierte Hexosephosphorsäure-Ester herzustellen und dadurch die Milchsäurebildung zu begünstigen, gelang nicht. Ebenso mißlang der Versuch, durch Zusatz von geringen Mengen Bleiacetat als Kontaktsubstanz die Aufspaltung der Hexosen in Milchsäure zu begünstigen.

Die Konfiguration der Hexosen hat, soweit die Hexosen einer Reihe, z. B. der Glukosereihe, angehören, keinen Einfluß auf das Maximum der Milchsäureausbeute. Wohl aber zeigt sich ihr Einfluß in der Reaktivität, d. h. in der Geschwindigkeit der Milchsäure- und Saccharinsäurebildung. Von den 4 untersuchten Zuckern : d-Fruktose, Invertzucker, d-Glukose und Sac-

charose, ist Fruktose am reaktionsfähigsten. Fruktose bildet fast viermal so rasch Milchsäure wie Glukose. Dann folgen Invertzucker und Glukose. Invertzucker steht in allen Erscheinungen in der Mitte zwischen Glukose und Fruktose. Saccharose wirkt bei Temperaturen über 100 °, also unter Bedingungen, bei welchen Hydrolyse eintreten kann, wie Invertzucker.

Interessant ist auch, daß das Verhältnis von Natronlaugeverbrauch für Milchsäure zu Natronlaugeverbrauch für Restprodukte während des Reaktionsverlaufes bei Invertzucker, Glukose und Fruktose fast gleich ist, was darauf hindeutet, daß der Umwandlungsprozeß bei den drei Zuckern ganz ähnlich verläuft und nur in der Geschwindigkeit des Verlaufes eine Abhängigkeit von der Konfiguration besteht. Es scheint, als ob sowohl bei der Milchsäurebildung als auch bei der Saccharinsäurebildung eine gemeinsame Zwischenstufe durchlaufen wird.

Literatur - Verzeichnis.

1. Annalen der Chemie
2. Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft
3. Chemisches Zentralblatt
4. Comptes rendus
5. Annales de l'institut Pasteur
6. Bulletin de l'institut Pasteur
7. Bulletin de la société chimique de France
8. Biochemische Zeitschrift
9. Chemie der Zelle und der Gewebe
10. Zeitschrift für physiologische Chemie
11. Zeitschrift für angewandte Chemie
12. Zeitschrift der deutschen Zuckerindustrie
13. Zeitschrift für Nahrungs- und Genußmittel
14. Zeitschrift für das gesamte Brauwesen
15. Wochenschrift für Brauerei
16. Chemikerzeitung
17. Journal für praktische Chemie
18. Zentralblatt für Bakteriologie
19. Lunge, Untersuchungsmethoden
20. E. Abderhalden, Biochem. Handlexikon
21. E. Abderhalden, Biochem. Arbeitsmethoden

22. E. Fischer, Untersuchungen über Kohlenhydrate und Fermente
23. Tollens, Kohlenhydrate
24. Lippmann, Kohlenhydrate

Lebenslauf.

Als Sohn des Kommerzienrates Johann A. Ruckdeschel und seiner Ehefrau Louise, geb. Howeg, bin ich am 6. Januar 1901 zu Kulmbach geboren. Ich besitze die bayerische Staatsangehörigkeit und bin protestantischer Konfession. Von 1907 bis 1911 besuchte ich die Volksschule, bis 1917 die Realschule in Kulmbach, bis 1920 die Oberrealschule in Nürnberg, welche ich im Herbst gleichen Jahres absolvierte. Dann wandte ich mich dem Studium der Chemie an der Universität in Erlangen zu, woselbst ich mit Ausnahme des Herbstes 1922 und des Winters 1922/23 verblieb. Im Herbst 1922 praktizierte ich 3 Monate im chemischen Laboratorium und im Betrieb der Palminwerke H. Schlinck & Co., A.-G., Hamburg. Im Winter 1922/23 studierte ich an der Technischen Hochschule in Charlottenburg, von Januar 1924 bis Juli 1925 im Institut für Gärungsgewerbe in Berlin. Dort entstand auch vorliegende Dissertation.