

## Zur Kenntnis der Invertinwirkung.

Von

Dr. Niro Masuda aus Tokio.

(Aus der chem. Abteilung des pathologischen Instituts der Universität zu Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 12. April 1910.)

Bei den Versuchen von E. Salkowski über das Invertin der Hefe<sup>1)</sup> hatte es sich hauptsächlich um die Frage gehandelt, ob, wie eine Reihe von Autoren annimmt, ein Kohlehydrat und zwar Hefegummi zu dem Molekül des Invertins gehört, einen integrierenden Bestandteil desselben bildet, oder nur eine Verunreinigung desselben darstellt. Diese Frage konnte dahin entschieden werden, daß das Invertin keine Kohlehydratgruppe enthält. Es gelang nämlich in einigen Fällen, durch Extraktion von frischer Hefe und Trockenhefe (an der Luft getrocknet, dann 6 Stunden bei 110° erhitzt) mit Chloroformwasser bei annähernd 0° Auszüge zu erhalten, welche völlig gummifrei waren und doch Rohrzucker kräftig invertierten.

Bei dem Vergleich des Inversionsvermögens der gummifreien und gummihaltigen Auszüge zeigte es sich aber — am deutlichsten bei den Auszügen aus frischer Hefe —, daß die gummihaltigen Auszüge eine stärkere Wirksamkeit entfalteten, als die gummifreien, wenn auch die Bedingungen bei der Herstellung der Auszüge und Prüfung ganz dieselben waren. Die Wirksamkeit der Auszüge war so festgestellt worden, daß 1 ccm derselben 1 Stunde lang bei 40° mit 50 ccm einer 10%igen Rohrzuckerlösung digeriert und dann die Quantität des gebildeten Invertzuckers bestimmt wurde. Um die Wirksamkeit verschiedener Auszüge vergleichen zu können, wurde der Gehalt derselben an organischer Trockensubstanz bestimmt

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. LXI, S. 124.

und das Verhältnis derselben zur gebildeten Invertzuckermenge berechnet. Bei den gummifreien Auszügen betrug dasselbe 1 : 75 resp. 1 : 55 (zweiter Auszug), bei zwei stärker gummihaltigeren dagegen 1 : 232 und 1 : 221, während a priori bei dieser Art der Berechnung eine geringere Wirksamkeit zu erwarten gewesen wäre, da das Gummi ja den organischen Trockenrückstand vergrößert und nicht Ferment ist.

Es lag nun nahe, zu versuchen, ob Auszüge, denen man Hefegummi hinzusetzte, stärker wirkten, als die Kontrollproben ohne Gummizusatz. Auf Veranlassung von Prof. E. Salkowski und unter seiner Leitung habe ich Versuche hierüber angestellt und noch einige andere dem behandelten Gegenstand naheliegende Fragen untersucht. Das zu den Versuchen erforderliche Hefegummi wurde mir von Prof. Salkowski zur Verfügung gestellt. Es war nach dem in den Ber. d. d. chem. Ges. Bd. XXVII, S. 502 beschriebenen Verfahren durch Fällung eines alkalischen Hefeauszuges mit alkalischer Kupferlösung usw. dargestellt.

### I. Einfluß des Hefegummis auf die Invertierung.

Was die Herstellung der Hefeauszüge betrifft, so kann auf die erwähnte Arbeit von E. Salkowski verwiesen werden. Auch im übrigen lehnte sich die Versuchsanordnung an die dort beschriebene an, mit der geringen Abweichung, daß zum Sammeln des  $\text{Cu}_2\text{O}$  nicht Papierfilter, sondern Goochtiiegel benutzt wurden.

Es gelang nicht, einen Rohrzucker im Handel zu erhalten, der ohne Einwirkung auf Fehlingsche Lösung war, auch nach dem Umkrystallisieren aus Alkohol war dieselbe noch zu konstatieren. Aus 5 g verschiedener Rohrzuckerproben wurden erhalten: 0,0507—0,0444—0,0670 (indischer Zucker) 0,0431  $\text{Cu}_2\text{O}$ , entsprechend 0,0260—0,0255—0,0342—0,0214 Invertzucker (scheinbarer?). Zu den Versuchen diente nur der letzte Zucker.

Es fragte sich nun, ob die Gegenwart an Gummi in Invertzuckerlösung nicht die Bestimmung des Zuckers stört. Dieses war von vornherein nicht unwahrscheinlich, da das Hefegummi durch alkalische Kupferlösung gefällt wird und mit Kupfer-

hydroxyd eine, allerdings nicht sehr feste, Verbindung bildet. Dies ergab sich nun auch in der Tat, wenn man auf die Gegenwart von Gummi bei der Ausführung der Bestimmung keine Rücksicht nahm: die Werte fielen zu hoch aus. Es wurde nun zunächst so verfahren, daß man die gummihaltige Zuckerlösung zuerst in der Kälte mit Fehlingscher Lösung fällte, vom Niederschlag abfiltrierte und den Zucker im Filtrat bestimmte. Es zeigte sich aber bald, daß dieses Verfahren, welches wegen der Zunahme der Quantität des Filtrates immerhin Schwierigkeiten bot, nicht nötig war, wenn man nur die erhaltenen gummihaltigen Kupferoxydulniederschläge sehr energisch und anhaltend mit fast kochendem Wasser auswusch.

Es konnte daher auch von der naheliegenden Versuchsanordnung, der ohne Gummizusatz digerierten Probe vor der Bestimmung Gummi hinzuzusetzen, Abstand genommen werden.

#### Versuch I.

121,8 g frische Hefe wurde mit 240 ccm Chloroformwasser digeriert. Erhalten 196 ccm Filtrat I. Dasselbe enthielt sehr wenig Gummi. In 100 ccm ergaben sich 0,2096 g Trockenrückstand, wovon 0,0424 g Asche, also 0,1672 g organischer Trockenrückstand. Die rückständige Hefe wurde wieder mit 240 ccm Chloroformwasser angerührt: Filtrat II = 216 ccm. Sehr geringer Gehalt an Gummi. 100 ccm enthielten 0,096 g Trockenrückstand, wovon 0,0616 g organischer, 0,0344 g anorganischer.

Die nun gebliebene Hefe wurde wieder mit 240 ccm Chloroformwasser angerührt: Filtrat III = 214 ccm. Gummi nicht nachweisbar. 100 ccm enthielten 0,0944 g Trockenrückstand, wovon 0,0684 g organischer, 0,0296 g anorganischer.

Der Gummizusatz betrug in diesem Versuche 10 ccm einer 1%igen Lösung. Es wurde stets 1 ccm Filtrat mit 5 g Rohrzucker digeriert.

	Dauer der Digestion in Stunden	Ohne Gummi			Mit Gummi			Plus an Invertzucker bei Gummizusatz g
		Cu <sub>2</sub> O g	Cu g	Invertzucker g	Cu <sub>2</sub> O g	Cu g	Invertzucker g	
Filtrat I	18 °	2,864	2,543	1,372	3,096	2,794	1,490	0,118
• II	31	1,259	1,118	0,585	1,562	1,387	0,727	0,142
• III	66	1,288	1,144	0,598	1,593	1,408	0,745	0,157

Es ergab sich also regelmäßig ein Plus bei der mit Gummizusatz digerierten Mischung, dasselbe war aber unbedeutend, anscheinend um so größer, je mehr die ursprüngliche Mischung frei war von Gummi.

### Versuch II.

501,4 g Hefe mit 1 l Wasser. Filtrat 800 ccm. 100 ccm enthalten 0,1016 g Trockenrückstand, wovon 0,0112 g Asche, also 0,0904 g organisch. 1 ccm Filtrat mit 5 g Rohrzucker digeriert.

Filtrat	Quantität des Gummizusatzes ccm	Dauer der Digestion in Stunden	Erhaltenes Cu <sub>2</sub> O		Invertzucker		Differenz g
			ohne Gummi g	mit Gummi g	ohne Gummi g	mit Gummi g	
Nach 24 Stunden	10	5	0,980	1,10	0,492	0,505	0,013
			1,088	1,119			
do.	10	18	5,348	5,528	2,52	2,60	0,08
			5,508	5,648			
Nach 48 Stunden	25	17	5,116	5,488	2,40	2,60	0,20
			5,220	5,496			
Nach 72 Stunden	50	4	6,32	8,68	3,01	4,26	1,25
			6,928	8,496			
do.	50	23	6,820	8,488	3,27	4,16	0,89

Auch hier ergab sich also regelmäßig ein Plus für die mit Gummi digerierte Probe, anscheinend am größten bei einem Gummigehalt von 0,5 g in 100 ccm Mischung.

### II. Einfluß der Zeit der Aufbewahrung des Hefeauszuges auf die Wirksamkeit.

#### Versuch III.

116,2 g Hefe, 208 ccm Filtrat. 100 ccm enthalten 0,1942 g Trockenrückstand, wovon 0,0582 g Asche, also 0,136 organische Trockensubstanz.

1 ccm lieferte mit 5 g Rohrzucker, gelöst in 50 ccm Wasser bei einstündiger Digestion bei 40°:

Zeit der Aufbewahrung in Tagen	0	1	4	5	6	7	8	10
Cu <sub>2</sub> O . . . . . in g	0,4837	0,3612	0,3670	0,3538	0,3506	0,3505	0,3444	0,3443
Cu . . . . . » »	0,4293	0,3207	0,3204	0,3142	0,3118	0,3112	0,3058	0,3057
Invertzucker » »	0,246	0,176	0,172	0,171	0,167	0,167	0,167	0,167

  

Zeit der Aufbewahrung in Tagen	11	12	13	14	22	30	102
Cu <sub>2</sub> O . . . . . in g	0,3440	0,3426	0,3393	0,3360	0,3265	0,3175	0,2285
Cu . . . . . » »	0,3055	0,3042	0,3013	0,2984	0,2899	0,2819	0,2029
Invertzucker . . . » »	0,167	0,166	0,166	0,163	0,158	0,153	0,107

Die Aufbewahrung geschah bis zum 30. Tage im Eisschrank, dann bei Zimmertemperatur. Die Lösung erwies sich bis zum 17. Tage (!) steril, die letzte Probe war völlig verfault.

## Versuch IV.

103 g Hefe, 176 ccm Filtrat. 100 ccm enthalten 0,1753 g Trockensubstanz, wovon 0,0515 g anorganisch, also 0,1238 g organisch.

1 ccm lieferte mit 5 g Rohrzucker nach einstündiger Digestion bei 40°:

Zeit der Aufbewahrung in Tagen	0	1	3	4	5	6
Cu <sub>2</sub> O . . . . . in g	0,3096	0,2260	0,2243	0,2228	0,2227	0,2225
Cu . . . . . » »	0,2749	0,2007	0,1992	0,1978	0,1975	0,1976
Invertzucker . . . » »	0,149	0,107	0,106	0,105	0,105	0,105

  

Zeit der Aufbewahrung in Tagen	7	8	11	22	95
Cu <sub>2</sub> O . . . . . in g	0,2221	0,2202	0,1963	0,1943	0,1372
Cu . . . . . » »	0,1972	0,1955	0,1743	0,1725	0,1218
Invertinzucker . . . » »	0,105	0,105	0,092	0,091	0,064

Die Aufbewahrung geschah bis zum 22. Versuchstage im Eisschrank, dann bei Zimmertemperatur. Die Lösung war schon am 2. Tage nicht mehr steril, wenn auch die Bakterienentwicklung sehr langsam erfolgte. Die nach 95 Tagen untersuchte Lösung war völlig verfault.

#### Versuch VI.

84,8 g Hefe, 140 ccm Filtrat. 100 ccm enthalten 0,2072 g Trockenrückstand, wovon 0,0536 g anorganisch, also 0,1636 g organisch.

1 ccm lieferte mit 5 g Rohrzucker nach einstündiger Digestion bei 40°:

Zeit der Aufbewahrung in Tagen	0	3	5	9	11	85
Cu <sub>2</sub> O . . . . . in g	0,3229	0,2756	0,2542	0,2170	0,2140	0,1774
Cu . . . . . > >	0,2867	0,2402	0,2257	0,1926	0,1900	0,1575
Invertzucker . . . > >	0,156	0,129	0,121	0,102	0,101	0,083

Die Aufbewahrung geschah bis zum 11. Tage im Eisschrank, dann bei Zimmertemperatur. Die letzte Probe war völlig verfault.

Aus diesen Versuchen ergibt sich übereinstimmend, daß die Wirksamkeit anfangs stark abnimmt — in den ersten 24 Stunden sank sie im Versuch IV und V auf 71% der früheren —, dann fast konstant bleibt, sehr langsam sinkt (das Auftreten von Bakterien ist dabei gleichgültig), ferner daß in Übereinstimmung mit den Angaben von E. Salkowski auch gänzlich verfaulte Lösungen noch ziemlich reichlich Invertin enthalten.

### III. Einfluß der Rohrzuckermenge.

In Übereinstimmung mit Barth <sup>1)</sup> und anderen Autoren wurde festgestellt, daß die Quantität des gebildeten Invertzuckers etwas größer ist, wenn man 10%ige Rohrzuckerlösung anwendet, als wenn sie nur 5%ig ist, und zwar gilt das sowohl für das Filtrat am ersten Tage, als auch für das aufbewahrte, wie aus folgender Tabelle hervorgeht. Die Quantität der Rohrzuckerlösung betrug dabei stets 100 ccm. 1 ccm Filtrat lieferte nach einstündiger Digestion bei 40°:

<sup>1)</sup> Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XI. S. 474.

Zeit der Aufbewahrung in Stunden	Quantität des Zuckers g	Cu <sub>2</sub> O g	Cu g	Invertinzucker g
0	5	0,3229	0,2867	0,156
do.	10	0,3432	0,3048	0,167
3 × 24	5	0,2765	0,2402	0,129
do.	10	0,2757	0,2448	0,132
5 × 24	5	0,2542	0,2257	0,1209
do.	10	0,2707	0,2404	0,129

#### IV. Einfluß der Dauer der Digestion.

Hierüber habe ich nur einige Versuche unter Anwendung von Chloroformwasserfiltrat und 100 ccm 10%iger Rohrzuckerlösung bei 19½ stündiger Digestion bei 40° angestellt.

1 ccm lieferte 0,183 Invertzucker

2 „ „ 0,299 „

4 „ „ 0,457 „

Eine direkte Proportionalität oder eine bestimmte Beziehung zwischen der Menge des Ferments und der Quantität des gebildeten Invertzuckers ließ sich danach nicht erkennen.

#### Zusammenfassung.

1. Der Zusatz von Hefegummi zu gummifreien oder schwach gummihaltigen Invertinlösungen befördert deren Wirksamkeit in merklichem, aber nur geringem Grade.

2. Beim Aufbewahren von Invertinlösungen (Hefefiltraten) nimmt ihre Wirksamkeit in den ersten 24 Stunden erheblich, etwa bis auf 70% ab, dann fällt sie äußerst langsam, selbst bis zum 30. Tage. Die Entwicklung von Bakterien hat dabei keinen Einfluß. Monate alte, völlig verfaulte Lösungen zeigen immer noch eine ziemlich starke Wirksamkeit in Übereinstimmung mit früheren Angaben von E. Salkowski.

3. In 10%igen Zuckerlösungen bildet sich etwas, aber nur unbedeutend mehr Invertzucker, wie in 5%iger.

4. Die Quantität des gebildeten Invertzuckers wächst mit der Steigerung des Fermentes, aber nicht proportional.