

Ueber das pflanzliche Amyloid.

Von

E. Winterstein.

(Aus dem agricultur-chemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)
(Der Redaction zugegangen am 27. Juli 1892.)

Mit dem Namen Amyloid bezeichnen die Botaniker einen Zellwandbestandtheil, welcher gleich dem Stärkemehl durch Jod blau gefärbt wird. Derselbe unterscheidet sich durch diese Reaction von der Cellulose, welche bekanntlich nur bei Gegenwart gewisser Reagentien (Chlorzink, Schwefelsäure) durch Jod eine blaue Farbe annimmt.

Als amyloidhaltig werden folgende Objecte angegeben¹⁾: die Cotyledonen von *Hymenaea Courbaril*, *Schotia latifolia*, *Mucuna urens*, *Tamarindus Indica*, bisweilen auch die Cotyledonen von *Lupinus*, ferner die Membranen des Endosperms des *Paeonia*-Samens, der Samen von *Balsamina*-Arten, *Tropaeolum majus* und einiger *Primulaceen*, sowie von *Asparagus*, *Gladiolus segetum*, *Iris acuta*, *Cyclamen neapolitanum*, endlich die Membranen des Cambiums zahlreicher Laub- und besonders Nadelhölzer. Im Lichenin ist gleichfalls Amyloid enthalten.

Das Amyloid fungirt in den Samen als Reservestoff, wie zuerst von Godfrin²⁾ für *Schotia latifolia*, desgleichen

¹⁾ A. Tschirch, *Angewandte Pflanzenanatomie*, S. 173.

Trécul (*Compt. rend.*, Bd. 47, S. 687) beobachtete die directe blaue Färbung mit Jod ausserdem am Zellgewebe mehrerer Phanerogamen, an den Epidermiszellen und dem Unter-Cuticulargewebe von *Ornithogalum pyrenaicum*, *O. narbonense*, *Scilla autumnalis*, jedoch nicht constant; verschieden stark, doch nicht immer deutlich an den Endospermzellen von *Hyacinthus orientalis*, *Gladiolus psittacus* und anderen.

²⁾ *Ann. de sc. nat.*, 6 Sér., T. 19, S. 1 ff.

von Frank¹⁾ für die Samen von *Tropaeolum majus*, von R. Reiss²⁾ für diejenigen von *Impatiens Balsamina* L., *Cyclamen europaeum*, *Paeonia officinalis* L., nachgewiesen wurde.

Im Uebrigen liegen über das Verhalten und die Eigenschaften des Amyloids nur unvollständige Angaben in der Litteratur vor. Von denselben seien hier folgende erwähnt. J. Vogel und M. J. Schleiden³⁾ fanden, dass beim Kochen der Cotyledonen von *Schotia latifolia*, *Mucuna urens*, *Tamarindus indica*, *Hymenaea Courbaril* mit Wasser ein Kleister gebildet wird, der bei bedeutender Verdickung in der Kälte nicht gelatinirte. Die beim Kochen erhaltene klebrige Flüssigkeit wurde durch Jod, je nach der Menge des letzteren, blass- bis dunkelgelb gefärbt; auf Zusatz einer alkoholischen Jodlösung wurde eine blaue Gallerte gefällt. Absoluter Alkohol fällte aus der schleimigen Lösung eine klare, helle Gallerte, welche durch Jod nicht blau gefärbt wurde. Eine vollständige Extraction des Amyloids aus den Cotyledonen von *Schotia latifolia* und *Tamarindus indica* war ihnen, selbst nach andauerndem Kochen und öfterem Wechsel des Wassers nicht gelungen, da die übrigbleibenden Zellschichten noch durch Jod blau gefärbt wurden. Frank⁴⁾ beobachtete, dass die durch Jod sich direct bläuenden secundären Membranen der Cotyledonen von *Tropaeolum majus* mit Schwefelsäure oder Kupferoxydammoniak aufquellen, ohne sich jedoch zu lösen. Er stellte das Amyloid aus diesem Samen auf folgendem Wege dar. Die von der korkigen Hülle befreiten Samen wurden fein pulverisirt, die körnige, stickstoffhaltige Substanz durch Waschen in Leinwand entfernt und das Amyloid aus dem Rückstand durch kochendes Wasser ausgezogen; die erhaltene gummöse Lösung wurde durch Filtration vom Rückstand getrennt. Auf Zusatz von Alkohol wurde aus dieser Lösung eine durchsichtige Gallerte gefällt. Diese amyloidhaltige Flüssig-

¹⁾ Journ. f. pract. Chemie, Bd. 95, S. 493.

²⁾ Landw. Jahrbücher, Bd. 18, S. 733.

³⁾ Annalen d. Physik u. Physik u. Chemie, Bd. 46, S. 398.

⁴⁾ Journ. f. prakt. Chemie, Bd. 95, S. 493.

keit wurde durch Jod erst nach einigen Tagen dunkelgrün gefärbt. Durch Eintrocknen der Amyloidlösung erhielt er eine glasartige amorphe Masse, die durch Jod sofort blau gefärbt wurde.

Auch Frank hatte eine vollständige Auflösung der secundären Membran nicht erreichen können; ein Theil verharrte in einem weichen aufgelockerten Zustande.

Nach Reiss¹⁾ ist Amyloid in 30procentiger Salpetersäure bedeutend leichter löslich, als die Reservecellulose.

Genannter Forscher glaubt, dass aus dem Amyloid durch Hydrolyse Dextrose²⁾ entstehe und zwar auf Grund folgender Versuche. Er trug die feingepulverten Samen in die gleiche Gewichtsmenge 70procentiger Schwefelsäure ein, verdünnte die Masse nach 24 Stunden mit viel Wasser, brachte sie auf ein Filter und neutralisirte die saure Flüssigkeit mit Baryumcarbonat; die vom Baryumsulfat getrennte Lösung wurde eingeeengt und dann mit 2procentiger Schwefelsäure eine Stunde im Wasserbade erhitzt. Die so erhaltene Zuckerlösung wurde mit Thierkohle entfärbt und mit Baryumcarbonat neutralisirt. Er bekam so einen stark rechtsdrehenden Zuckersyrup, der mit Phenylhydrazin ein bei 203° schmelzendes Osazon lieferte.

Durch die Untersuchungen, deren Resultate im Vorigen zusammengestellt worden sind, ist die chemische Beschaffenheit des Amyloids nicht vollständig aufgeklärt worden. Was insbesondere die Frage nach der Natur der bei Hydrolyse des Amyloids entstehenden Glukose betrifft, so liegen darüber nur Versuche von Reiss vor. Diese Versuche haben aber eine Entscheidung der Frage nicht gebracht. Denn, abgesehen davon, dass Reiss das Vorhandensein von Traubenzucker in der von ihm in beschriebener Weise dargestellten Lösung nur wahrscheinlich gemacht, nicht aber mit Sicherheit nachgewiesen hat, muss es auch für fraglich erklärt werden, ob die in dieser Lösung enthaltene Glukose ausschliesslich aus dem

¹⁾ Landwirthschaftl. Jahrbücher, Bd. 18, S. 735.

²⁾ L. c., S. 761.

Amyloid entstanden war. Denn Reiss behandelte die gepulverten Samen mit Schwefelsäure von solcher Stärke, dass darin ausser Amyloid auch Cellulose sich lösen konnte: die in diesem Versuche entstandene Glukose würde also nur dann ausschliesslich als Umwandlungsprodukt des Amyloids bezeichnet werden können, wenn die Zellwandungen der zur Verwendung gelangten Samen nur aus Amyloid bestanden hätten. Dass letzteres aber nicht der Fall war, geht aus den weiter unten gemachten Mittheilungen hervor.

Bei dieser Sachlage schien es angezeigt, das Amyloid einer erneuten Untersuchung zu unterwerfen. Eine solche habe ich auf Veranlassung von Professor E. Schulze unternommen. Sie schliesst sich an die Arbeiten¹⁾ an, welche der Genannte über die chemische Zusammensetzung der Pflanzenzellmembran ausgeführt hat.

Als Material verwendete ich vorzugsweise die Samen von *Tropaeolum majus* (Kapuzinerkresse), welche leicht und mit geringen Kosten in grösseren Quantitäten zu haben sind. Da es aber angezeigt schien, verschiedene Objecte zu untersuchen, so habe ich auch aus dem Samen von *Paeonia officinalis* und *Impatiens Balsamina* das Amyloid isolirt.

Die ersten Versuche stellte ich mit den Samen von *Tropaeolum majus* an.

Als eine Hauptaufgabe musste es betrachtet werden, über die Beschaffenheit der aus dem Amyloid entstehenden Glukosen Aufklärung zu bekommen.

Es schien, dass dieses Ziel sich leicht würde erreichen lassen, indem man einen aus den genannten Samen dargestellten wässerigen Extract von Amyloid mit verdünnter Schwefelsäure kochte und die dabei entstandene Glukose nach den Methoden untersuchte, welche wir den Arbeiten von E. Fischer, Tollens und Anderen verdanken.

Ich erhitzte daher die feingepulverten Samen, welche vorher mit Aether entfettet und mit kaltem Wasser behandelt worden waren, einige Stunden lang mit Wasser, setzte der

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 14, S. 227—273; ebendas.; Bd. 15, S. 386—436. Ber. d. D. Chem. Gesellschaft, Bd. 22, S. 609; Bd. 24, S. 2277.

durch ein Sehtuch gegossenen schleimigen Lösung so viel concentrirter Schwefelsäure bei, dass sie 3 Procent Schwefelsäure enthielt, kochte die Flüssigkeit 3 Stunden am Rückflusskühler, entfernte die Schwefelsäure mittelst Barythydrats, filtrirte vom ausgeschiedenen Baryumsulfat ab und engte die zuckerhaltige Flüssigkeit vorsichtig auf dem Wasserbade ein, wobei ich Sorge trug, dass die Lösung ganz schwach sauer blieb.

Der dunkelgefärbte, nicht rein süß schmeckende Syrup, welchen ich so erhielt, wurde in der Wärme mit 90procentigem Alkohol ausgezogen, der Extract vom Ungelösten abfiltrirt und die alkoholische Flüssigkeit 12 Stunden stehen gelassen, wobei noch eine kleine Ausscheidung entstand; es wurde nun von dem Ausgeschiedenen abgegossen und über Schwefelsäure im Exsiccator der Verdunstung überlassen. Der so erhaltene, noch stark gefärbte Syrup, schmeckte nicht rein süß, reducirte aber die Fehling'sche Lösung stark. Mit Thierkohle konnte keine Reinigung erzielt werden¹⁾.

Das durch Erhitzen mit einer Lösung von essigsaurem Phenylhydrazin, aus einem Theil des Syrups, dargestellte Osazon schmolz bei 188°.

Die Versuche, durch Oxydiren mit Salpetersäure vom specifischen Gewicht 1,15 nach den Vorschriften von Gans und Tollens²⁾, Zuckersäure zu erhalten, lieferten kein positives Resultat: es ist zwar möglich, dass eine geringe Menge der genannten Säure entstanden war, aber meine Bemühungen, das Kalisalz rein zu erhalten, waren vergebens: es war stets oxalsaures Kali vorhanden, und nach Entfernen desselben durch Auswaschen mit Wasser hinterblieb eine so unbedeutende Substanzmenge, dass sie nicht hinreichend war, um daraus das zur Analyse nothwendige Silbersalz darzustellen.

Auf Grund dieser Versuchsergebnisse gewann ich die Ueberzeugung, dass man nach dem beschriebenen Verfahren

¹⁾ Es schien, dass die vorhandenen Glukosen durch andere Stoffe verunreinigt waren. Der Grund liegt offenbar darin, dass aus den zwar mit Aether und kaltem Wasser extrahirten Samen beim Auskochen mit Wasser neben dem Amyloid noch andere Stoffe in Lösung gehen.

²⁾ Ann. d. Chem., Bd. 245, S. 215.

keine zur Untersuchung geeignete Zuckerlösung erhalten kann und ich wandte mich daher einer anderen Methode zu.

Zunächst bemühte ich mich, das Amyloid möglichst rein darzustellen.

Einen Theil der dabei gewonnenen Präparate benutzte ich, um die Eigenschaften des Amyloids möglichst vollständig kennen zu lernen, einen anderen verzuckerte ich mit verdünnter Schwefelsäure, um die dabei entstandenen Glukosen zu untersuchen.

Im Folgenden mache ich zunächst Mittheilung über die Darstellung des Amyloids und über die zur Ermittlung der Eigenschaften angestellten Versuche; später lasse ich dann die Ergebnisse folgen, die ich bei den aus dem Amyloid entstehenden Glukosen gewonnen habe.

Darstellung des Amyloids.

Die zuvörderst getrockneten Samen von *Tropaeolum majus* wurden auf einer Mühle gemahlen, das feine Pulver von dem gröberen abgeseibt und eine jede Portion bei den nachfolgenden Operationen getrennt gehalten.

Es kamen 1500 gr. fein gemahlener und 2500 gr. gröber gemahlener Samen zur Verarbeitung.

Behufs Entfettung und Entfernung eines grünen Farbstoffes wurden die gemahlene Samen unter Aether gebracht und mehrere Tage unter öfterem Umrühren darin belassen, darauf der dunkelgrün gefärbte, fetthaltige Aether abgegossen und noch einmal mit Aether auf angegebene Weise extrahirt, auch beim zweiten Male war der Aether noch stark gefärbt und fetthaltig; es wurden daher die Samen auf ein Tuch gebracht, gut abgepresst und mit Aether nachgewaschen. Durch wiederholtes Auspressen und Nachwaschen gelang es, die Samen von der färbenden Substanz zu befreien.

Bei den Eingangs beschriebenen Versuchen hatte ich bemerkt, dass der wässrige amyloidhaltige Auszug stets braun gefärbt war und die Lösung einen eigenthümlichen, stechenden Geruch besass. Ich versuchte daher, durch Kochen mit Alkohol

die Stoffe, welche diese Erscheinung bedingen, zu entfernen, was auch den gewünschten Erfolg hatte. Die entfetteten Samen wurden in einem mit Deckel verschliessbaren Kupferkessel am Rückflusskühler mehrere Stunden mit 80procentigem Weingeist gekocht, der dabei entstandene braun gefärbte Extract abgegossen, der Rückstand auf ein Tuch gebracht, mehrere Male mit warmem Weingeist ausgewaschen und jedesmal gut abgepresst.

Die so vorbereiteten Samen wurden sodann in mehrere Glasylinder vertheilt, erst einige Male mit kaltem Wasser durch Decantation ausgewaschen, dann mit verdünntem Ammoniak (100 cbcm. Ammoniak auf 4 Liter Wasser) zwei Tage stehen gelassen und zuweilen gut durchgerührt, die hierbei entstandenen dunkelbraunen Extracte wurden von den Samen abgehebert, der Rückstand ausgewaschen, sodann zur möglichsten Entfernung der Proteinstoffe noch mit $\frac{1}{2}$ procentiger kalter Natronlauge behandelt und endlich bis zur vollständigen Entfernung des Alkalis mit kaltem Wasser ausgewaschen.

Die auf solche Weise von Fett, Eiweiss, Farbstoffen etc. möglichst befreiten Samen kochte ich nun mit destillirtem Wasser; nach ungefähr $\frac{1}{2}$ stündigem Kochen nahm die Flüssigkeit eine kleistrige Beschaffenheit an. Die Masse wurde in einem geräumigen verzinnnten Kupfergefäss, das mit einem Deckel versehen war, 8 Stunden im ständigen Kochen erhalten. Dabei entstand eine dicke schleimige Flüssigkeit, dieselbe wurde durch ein grobes Tuch gegossen. Der Rückstand wurde noch mehrfach mit kochendem Wasser extrahirt. Es zeigte sich nämlich, dass wiederholtes Auskochen mit Wasser nothwendig war, um das Amyloid auch nur einigermaßen vollständig in Lösung zu bringen.

Ueber die Behandlung der in dieser Weise erhaltenen Amyloidextracte ist Folgendes anzugeben. Die ersten hellgelben Extracte liess ich in hohen Cylindern stehen, bis die durch das Filtrirtuch gegangenen feinen Samentheilchen sich abgesetzt hatten, da eine Filtration durch Papier unmöglich war. Nach einigen Stunden hebte ich vom Bodensatz ab und versetzte die nochmals durch Tuch filtrirte Flüssigkeit mit

80—90procentigem Alkohol, wobei sich eine steife Gallerte bildete, die sich, wenn man den Alkohol vorsichtig zufließen lässt, oben ansammelt und dann herausgenommen und durch Ausdrücken leicht von der Flüssigkeit befreit werden kann. Die dritten und weiteren Extracte dunstete ich vorsichtig im Wasserbade ein und fällte sie ebenfalls nach vorangegangener Filtration mit Alkohol aus, doch wollte es auf keine Weise gelingen, aus diesen verdünnten Lösungen eine leicht filtrirbare Masse zu erhalten, und ich konnte die dünnflüssige Gallerte nur mit Hilfe eines weitmaschigen Filtrirzeuges (Stramin) von der Flüssigkeit trennen. Zur Reinigung wurde die Gallerte noch einmal in kochendem Wasser gelöst und abermals mit Weingeist ausgefällt, wobei eine beinahe ungefärbte Gallerte resultirte. Die wässerige Lösung der letzteren war aber noch getrübt. Eine Filtration dieser Flüssigkeit war infolge ihrer schleimigen Beschaffenheit durch Papier nicht gut möglich. Dagegen erhielt ich eine leichter filtrirbare Flüssigkeit, als ich sie einige Stunden im Dampfopf bei 3—4 Atmosphären erhitzte. Ich behandelte daher einen grossen Theil des von mir zur Abscheidung gebrachten Amyloids in dieser Weise; es wurde sodann mit 95procentigem Weingeist ausgefällt, die Gallerte mit absolutem Alkohol behandelt, wobei sie bedeutend an Volumen abnahm und allmählig ihre schleimige Beschaffenheit verlor; sie wurde nun unter Aether gebracht, nach einiger Zeit von demselben abgossen und schliesslich stark abgepresst; ich bekam so eine faserige, dehnbare, weisse Masse, die nach mehrtägigem Stehen über Schwefelsäure ausgetrocknet war.

Eigenschaften und Zusammensetzung des Amyloids.

Aus der wässerigen Lösung mit Alkohol gefällt, bildet das Amyloid eine ungefärbte durchscheinende, ausserordentlich voluminöse Gallerte. Ueber Schwefelsäure trocknet sie zu einer faserig-blasigen amorphen Masse ein, die sich nur schwer pulverisiren lässt. Mit kaltem Wasser übergossen quillt es auf und nimmt eine schleimige Beschaffenheit an. Mit kochendem Wasser entsteht eine schleimige, schwerbewegliche, etwas

opalisirende Flüssigkeit; dieselbe wird durch Erhitzen im Dampftopf bei 3 Atmosphären dünnflüssiger und ist dann durch Papier leichter zu filtriren; doch geht die Filtration einer nur 1procentigen Lösung immerhin noch langsam von Statten.

Auf Zusatz einer geringen Menge Jod färbt sich die Lösung des Amyloids schön blau, bei noch stärkerem Zusatz entsteht eine dunkelblau gefärbte Gallerte.

Die Blaufärbung der Lösung mit Jod verschwindet in der Wärme und kommt nach Erkalten der Lösung wieder zum Vorschein, eben so wie diejenige des Stärkemehls.

Ammoniak, Schwefelsäure, Chlor, Laugen, sowie concentrirte Mineralsäuren zerstören die Farbe sofort.

Selbst nach andauerndem Kochen mit destillirtem Wasser im Dampftopf reducirt die Lösung des Amyloids nicht die Fehling'sche Flüssigkeit.

Diastase wirkt nicht auf Amyloid ein, wie aus folgendem Versuche hervorgeht. 1 gr. Amyloid wurde in 200 cbcm. kochendem Wasser gelöst und die Lösung nach Abkühlen auf 45° mit wirksamer Diastase 2 Stunden bei dieser Temperatur belassen. Diese Flüssigkeit reducirte Fehling'sche Lösung nicht. Nach längerem, etwa 10stündigem, Einwirken wurden nur Spuren von Kupferoxydul ausgeschieden.

Amyloid ist schon nach eintägigem Einwirken von Kupferoxydammoniak in demselben löslich; aus dieser Lösung wird das Amyloid, im Gegensatz zur Cellulose, durch Säuren nicht ausgeschieden, wohl aber durch Alkohol als faserig-flockiger Niederschlag gefällt, nicht wie aus wässriger Lösung in Form einer blasigen Gallerte. In concentrirten Laugen ist es nach längerem Digeriren löslich und wird daraus durch Alkohol schleimig gefällt.

F. Schulze'sches Reagenz zerstört es allmählig, wie folgender Versuch zeigt: 2 gr. Amyloid wurden mit 24 gr. Salpetersäure vom spec. Gew. 1,15 und 1,6 gr. Kaliumchlorat 14 Tage bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach mehrtägigem Stehen nahm die Masse eine breiige Beschaffenheit an und verflüssigte sich allmählig. Nach Verdünnen mit Wasser

blieb nur ein unbedeutender weisser Rückstand, der abfiltrirt und mit Ammoniak behandelt, sich bis auf Spuren in letzterem löste.

Bemerkenswerth ist, dass das Amyloid mit dem Stärkemehl in folgenden von Griessmayer¹⁾ für das letztere aufgefundenen Reactionen vollständig übereinstimmt: Versetzt man eine Lösung von Amyloid in Wasser mit verdünnter wässriger Gerbsäurelösung, so entsteht ein weisser faseriger Niederschlag, welcher sich bei gelindem Erwärmen vollständig auflöst und nach dem Erkalten der Flüssigkeit wieder auftritt. Fügt man zu einer Amyloidlösung eine wässrige Jodlösung hinzu, so wird diese, wie schon erwähnt, prachtvoll blau gefärbt; lässt man zu dieser blauen Flüssigkeit tropfenweise eine verdünnte wässrige Tanninlösung hinzufliessen, so tritt ein auffallender Farbenwechsel ein: anfänglich bleibt die Flüssigkeit blau, beim Schütteln wird sie roth, dann rosa und nach einiger Zeit verschwindet die Färbung vollständig²⁾. Auf Zusatz von Jod tritt die blaue Farbe wieder auf. Ganz das Gleiche gilt in allen Punkten, nach den Angaben Griessmayer's, für das Stärkemehl.

Da das Amyloid sich in einigen Punkten den Pflanzenschleimen analog verhält, untersuchte ich das Verhalten der wässrigen Amyloidlösungen gegen Neutralsalze. Es stellte sich heraus, dass das Amyloid auf Zusatz von Natriumsulfat, Magnesiumsulfat, Ammonphosphat und Ammonsulfat aus der wässrigen Lösung ausgefällt wird; es wäre demnach das Amyloid nach der Classification der Saccharocolloide, wie sie J. Pohl³⁾ aufgestellt hat, in die Gruppe D zu rechnen.

Alkoholische Jodlösung fällt das Amyloid aus seiner wässrigen Lösung als hellgelbgefärbte Gallerte.

Durch 2—3stündiges Kochen mit verdünnten Mineralsäuren wird das Amyloid vollständig gelöst. Nach einstündigem Kochen mit verdünnter ($2\frac{1}{2}$ procentiger) Schwefelsäure besitzt

¹⁾ Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 160, S. 48.

²⁾ Wässrige Jodlösung wurde unter gleichen Versuchsbedingungen sofort entfärbt.

³⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 14, S. 154.

die Lösung immer noch eine schleimige Beschaffenheit und lässt sich kaum durch Papier filtriren.

Dieses Verhalten des Amyloids gegen verdünnte Säuren darf wohl als ein Unterschied des Amyloids von den in manchen Punkten ihm verwandten Pflanzenschleimen betrachtet werden, denn die letzteren zersetzen sich nach den Untersuchungen von Kirchner und Tollens¹⁾ beim Kochen mit verdünnten Säuren unter Bildung von Glukose und Abscheidung von Cellulose.

Erhitzt man das Amyloid mit mässig concentrirter Salzsäure oder Schwefelsäure, so erhält man beträchtliche Mengen Furfurol. Die Bestimmung der Furfurolausbeute nach den von de Chalmot und Tollens²⁾ ausgearbeiteten Verfahren gab folgende Resultate:

- a) 2 gr. längere Zeit über Schwefelsäure und einige Stunden bei 60° getrocknetes Amyloid gaben 0,5460 gr. Hydrazon = 0,3069 gr. oder 15,34 % Furfurol.
- b) Die gleiche Substanzmenge gab 0,5540 gr. Hydrazon = 0,3110 gr. oder 15,55 % Furfurol.

Daraus berechnet sich ein Gehalt von 29,62% an Pentaglycosen.

Bei der Oxydation des Amyloids mit Salpetersäure entsteht Schleimsäure.

Ich habe die quantitative Ausbeute an Schleimsäure nach dem Verfahren von Kent und Tollens³⁾ bestimmt und dabei folgende Resultate erhalten:

1. 2,5 gr. trockenes Amyloid gaben 0,2536 gr. Schleimsäure oder 10,14 %.
2. Die gleiche Substanzmenge gab 0,2600 gr. oder 10,4 % Schleimsäure.

Daraus ergibt sich im Mittel ein Gehalt von 13,4% an Galactose⁴⁾.

Die bei diesen Versuchen erhaltene Schleimsäure bildete in allen Fällen ein weisses Krystallpulver, welches sich schwer in heissem Wasser, leicht in Alkali löste; dieselbe schmolz

1) Ann. d. Chemie, Bd. 175, S. 215.

2) Ber. d. D. Chem. Gesellschaft, Bd. 24, S. 3579.

3) Ann. d. Chemie, Bd. 227, S. 221.

4) Nach Tollens erhält man aus 100 Th. Galactose 75 Th. Schleimsäure.

bei raschem Erhitzen im Capillarröhrchen bei 208° . Nach Kent und Tollens schwankt der Schmelzpunkt der Schleimsäure je nach der Art des Erhitzens von $200-213^{\circ}$.

Verhalten des Amyloids gegen polarisirtes Licht. Die wässrige Lösung des Amyloids ist optisch aktiv und zwar rechtsdrehend. Eine genaue Ermittlung des specifischen Drehungsvermögens ist aber sehr schwierig, weil die Lösungen auch nach wiederholter Filtration schwach opalisiren; es lassen sich deshalb auch nur verdünnte Lösungen anwenden. Die klarsten Flüssigkeiten erhielt ich, indem ich Amyloid bei $3-4^{\circ}$ Atmosphären im Dampftopf mit destillirtem Wasser erhitzte. Eine in dieser Weise dargestellte Lösung, welche in 100 cbcm. 0,7460 gr. wasserfreie Substanz enthielt, dreht im 200 mm.-Rohr $+3,9-4,1$ (eine genaue Ablesung war nicht möglich), daraus berechnet sich $(\alpha)_D = +92,9^{\circ}$.

Um zu prüfen, ob etwa durch Erhitzen im Dampftopf die optischen Eigenschaften des Amyloids sich verändert hatten, habe ich eine Probe in kochendem Wasser gelöst; diese Lösung, welche in 100 cbcm. 0,2736 gr. Trockensubstanz enthielt, drehte unter gleichen Versuchsbedingungen $1,5^{\circ}$ nach rechts; daraus berechnet sich $(\alpha)_D = +94,8^{\circ}$, eine Zahl, welche mit der obigen innerhalb der Fehlergrenzen übereinstimmt.

Zur Ermittlung der Elementarzusammensetzung des Amyloids verbrannte ich das zerriebene, längere Zeit im Exsiccator gestandene und dann — um es vollständig vom Alkohol zu befreien — einige Stunden bei 60° getrocknete und schliesslich wieder lufttrocken gemachte Präparat¹⁾ im beiderseitig offenen Glasrohr mit Kupferoxyd im Luft-, beziehungsweise Sauerstoffstrom. Bei einer zweiten Analyse wurde in das Verbrennungsschiffchen etwas Bleichromat gebracht, um einen Fehler zu eliminiren, der durch den geringen

¹⁾ Verwendet man ein lufttrockenes Präparat für die Analyse, so wird ein Fehler vermieden, welcher dadurch verursacht werden kann, dass bei 100° oder einer noch höheren Temperatur getrocknete Substanzen solcher Art sehr schnell wieder Wasser anziehen; letzteres kann während des Abwägens und vor dem Einbringen in die Verbrennungsröhre erfolgen.

Aschengehalt hätte entstehen können. Die Resultate wurden dann in bekannter Weise auf wasserfreie Substanz umgerechnet.

1. 0,2248 gr. Substanz (nach Abzug der geringen Aschenmenge in Rechnung gestellt) gaben 0,1250 gr. H_2O und 0,3512 gr. CO_2 .
2. 0,2336 gr. Substanz gaben 0,1290 gr. H_2O und 0,3614 gr. CO_2 .
3. 1,8350 gr. Substanz verloren beim Trocknen bei 105° 0,0300 gr. = 1,63% an Gewicht.

Aus diesen Daten berechnet sich folgender C- und H-Gehalt:

	1.	2.	Mittel:
C	43,30	43,04	43,17.
H	6,09	6,07	6,08.
O	—	—	—

Ueber die den vorstehenden Zahlen entsprechende Formel ist Folgendes zu sagen: es ist denkbar, dass bei der Bildung solcher amorphen Kohlenhydrate mehrere Glukosenmolecüle unter Wasseraustritt sich vereinigen.

Nimmt man z. B. an, dass 2 Hexaglukosenmolecüle und 1 Pentaglukosenmolecül unter Austritt von 2 Molecülen Wasser sich vereinigen, so kann ein Körper von der Formel $C_{17}H_{30}O_{15}$ entstehen. Ein solcher $C_{17}H_{30}O_{15}$ -Körper würde 43,04% C, 6,33% H und 50,63% O enthalten, — Zahlen, welche denen des Amyloids, bei der Analyse gefundenen, sehr nahe stehen.

Uebrigens liegt es auf der Hand, dass die Aufstellung einer Formel nur dann einen Sinn hat, wenn man diesen Körper als eine einheitliche Substanz betrachtet; auf diese Frage werde ich weiter unten zurückkommen.

Amyloid aus *Paeonia officinalis*.

Das aus diesen Samen nach dem früher beschriebenen Verfahren gewonnene Amyloid war in seinem Verhalten und Aussehen dem aus *Tropaeolum majus* dargestellten ganz ähnlich. Doch war es mir nicht gelungen, dasselbe ebenso weiss zu erhalten. Es sei noch bemerkt, dass es hier längeren Kochens bedarf, um die schleimige Lösung zu erhalten.

Bei der Oxydation dieses Amyloids entsteht ebenfalls, wie bei dem vorigen Präparat, Schleimsäure. Die quantitative

Bestimmung ergab folgende Zahlen: 1 gr. trockenes Amyloid gab 0,1101 gr. Schleimsäure = 11,01%. Diese Ausbeute stimmt mit der aus dem Tropaeolum-Amyloid annähernd überein.

Auch die bei Destillation mit Säuren entstehende Furfurolmenge zeigt gute Uebereinstimmung, wie aus folgenden Zahlen zu ersehen ist: 1 gr. trockenes Amyloid gab 0,2610 gr. Hydrazon = 0,1598 gr. Furfurol oder 15,98%.

Amyloid aus Impatiens Balsamina.

Zur Darstellung verwendete ich nur eine kleine Quantität der Samen, aus denen ich nur sehr wenig Amyloid erhalten konnte, das sich, soweit ich constatiren konnte, von dem aus genannten Objecten isolirten nicht unterschied. Es war ebenso wie dasjenige aus Tropaeolum und Paeonia unlöslich in kaltem Wasser, löste sich darin beim Kochen auf; diese Lösung wurde durch wässrige Jodlösung prachtvoll blau gefärbt. Auf Zusatz von Alkohol wurde eine äusserst voluminöse Gallerte gefällt, welche durch Jod nicht gefärbt wurde. Beim Kochen mit 12 procentiger Salzsäure liess sich Furfurol nachweisen (Rothfärbung eines mit Anilinacetat getränkten Papierstreifens). Eine nähere Untersuchung konnte ich wegen der geringen Menge nicht anstellen.

Zu bemerken ist noch, dass sich die Samen von Impatiens Balsamina insofern anders verhielten, als sich das Amyloid relativ leichter durch kochendes Wasser ausziehen liess.

Inversion des Amyloids.

Nach den im Vorigen mitgetheilten Versuchsergebnissen musste ich erwarten, dass bei der Inversion des Amyloids nicht eine, sondern mindestens zwei Glukosen entstehen würden. Dies war auch in der That der Fall.

Die Inversion des Amyloids wurde in folgender Weise ausgeführt: 44 gr. trockenes Amyloid wurden mit einem Liter 2%, procentiger Schwefelsäure vier Stunden am Rückflusskühler gekocht. Nach Beendigung des Kochens beseitigte ich die

Schwefelsäure durch Eintragen von Baryhydrat und dunstete die vom Baryumsulfat abfiltrirte Lösung bei gelinder Wärme zum Syrup ein. Letzteren erhitzte ich zunächst mit einer nicht sehr grossen Menge absoluten Alkohols, wobei nur ein geringer Theil des Syrups in Lösung ging. Den Rückstand kochte ich sodann längere Zeit mit 95procentigem Weingeist; dabei ging derselbe bis auf einen kleinen Rest in Lösung.

Den ersten, mittelst absoluten Alkohols dargestellten Extract, engte ich im Wasserbade ein und verwendete den an Quantität nicht bedeutenden Syrup zur Darstellung eines Osazons. Zu diesem Zwecke löste ich ihn in wenig Wasser und erhitzte die Lösung eine Zeit lang mit der angemessenen Menge essigsäuren Phenylhydrazins im Wasserbade; es schied sich ein hellgelbes Osazon aus, welches abfiltrirt und zwischen Fliesspapier gut abgepresst wurde. Eine Probe krystallisirte ich aus 95procentigem Weingeist um; die so erhaltenen Krystalle schmolzen bei raschem Erhitzen bei 189° . Einen anderen Theil krystallisirte ich aus heissem Aceton um; die auf diese Weise gereinigten Krystalle schmolzen bei 202° .

Uebrigens ist auf Grund der nachfolgenden Mittheilungen zu entnehmen, dass dieses Product kein einheitliches war.

Den zweiten, mittelst 95procentigen Weingeistes erhaltenen Extract, welcher die Hauptmasse der bei Inversion des Amyloids gebildeten Glukosen enthielt, dunstete ich gleichfalls auf dem Wasserbade ein; es resultirte ein schwach gelbgefärbter, stark rechtsdrehender Zuckersyrup, welcher einen rein süssen Geschmack besass. Derselbe wurde zur Krystallisation hingestellt.

Erst nach Verlauf von 4 Monaten begannen Krystalle sich auszuscheiden; nachdem die Quantität derselben eine einigermaßen beträchtliche geworden war, wurde der flüssig gebliebene Theil von denselben abgegossen; die Krystalle brachte ich auf eine Thonplatte, um die Mutterlauge abzusaugen zu lassen; zur vollständigen Beseitigung der letzteren wurde mit wenig absolutem Alkohol übersprüht und dann das Product aus Weingeist umkrystallisirt.

Die Untersuchung der so erhaltenen Krystalle im Soleil-Ventzke'schen Polarisationsapparat gab folgendes Resultat:

Eine wässrige Lösung, welche in 20 cbcm. 1,533 gr. wasserfreie Substanz enthielt, drehte im 200 mm.-Rohr nach längerem Stehen $35,5^\circ$ nach rechts; daraus berechnet sich

$$(\alpha)_D \text{ nach der Formel: } (\alpha)_D = \frac{a \times 0,346 \times 100}{l \times p} = +81,2'$$

$$a = 35,5^\circ, l = 2, p = 7,665.$$

Die Krystalle wurden nun nochmals aus Weingeist umkrystallisirt; bei der Polarisation dieser Krystalle ergab sich folgendes Resultat. Eine Lösung, welche in 10 cbcm. 0,7600 gr. Trockensubstanz enthielt, drehte im 20 mm.-Rohr $35,8$ nach rechts; daraus berechnet sich $(\alpha)_D = +81,5^\circ$.

Bei der Oxydation mit Salpetersäure gaben diese Krystalle Schleimsäure; ich habe die Ausbeute davon quantitativ bestimmt und dabei folgende Zahlen erhalten: 1,100 gr. Substanz gab 0,6600 gr. Schleimsäure oder 60%.

Diese Versuchsergebnisse führen zur Schlussfolgerung, dass der vorliegende Zucker Galactose war. Nach der von Meissl¹⁾ ausgeführten Bestimmung ist für eine 10procentige Lösung von Galactose bei 15° $(\alpha)_D = +81,55$ — eine Zahl, welche der von mir gefundenen sehr nahe liegt. Auch die Schleimsäureausbeute entspricht dieser Annahme, obgleich aus reiner Galactose 70—75 Procent erhalten wurden²⁾; doch bekommt man bei Anwendung geringer Zuckermengen leicht zu niedrige Zahlen.

Aus der von den Krystallen abgegossenen Mutterlauge erhielt ich noch zwei Krystallisationen; dieselben wurden in der oben angegebenen Weise behandelt; dass diese Krystalle von den ersten verschieden waren, geht schon daraus hervor, dass Proben derselben beim Erhitzen mit Phloroglucin und Salzsäure kirschrothe Lösung gaben, was bei der ersten Krystallisation nicht der Fall war.

Die in einem Soleil-Ventzke'schen Apparat ausgeführte Polarisation ergab für die zweite Krystallisation nachstehende

¹⁾ Journ. f. prakt. Chemie, N. F., Bd. 22, S. 100.

²⁾ Ann. d. Chemie, Bd. 227, S. 221.

Zahlen. Eine wässrige Lösung, welche in 10 ccm. 0,2700 gr. Trockensubstanz enthielt, drehte im 200 mm.-Rohr $11,4^\circ$ nach rechts¹⁾; daraus berechnet sich $(\alpha)_D = +73^\circ$.

Die Polarisation der dritten Fraction ergab Folgendes: Eine Lösung, welche in 10 ccm. 0,5380 gr. Trockensubstanz enthielt, drehte im 200 mm.-Rohr $10,1^\circ$ nach rechts; daraus berechnet sich $(\alpha)_D = +30,1^\circ$.

Schliesslich erhielt ich noch eine vierte Krystallfraction, welche dem Aussehen und Verhalten nach zweifellos ein Gemenge war und nicht von dem anhaftenden Syrup befreit werden konnte. Für das spezifische Drehungsvermögen ergab sich $(\alpha)_D = +39,4^\circ$, wie aus folgenden Zahlen zu ersehen ist. Eine Lösung, welche in 10 ccm. 0,6586 gr. Substanz enthielt, drehte im 20 mm.-Rohr unmittelbar nach der Auflösung $21,5^\circ$ nach rechts, nach 12 Stunden nur noch 15° nach rechts. Die frisch bereitete Lösung dieser Krystallisation, wie auch der vorhergehenden, zeigte also starke Birotation.

Aus der Rothfärbung mit Phloroglucin und Salzsäure, sowie aus der starken Furfurolbildung beim Erhitzen mit 12procentiger Salzsäure geht hervor, dass hier eine Pentose vorlag. Das relativ niedrige Drehungsvermögen lässt vermuthen, dass die vorhandene Pentose nicht Arabinose war. Hätte ein Gemisch von Galactose und Arabinose vorgelegen, so müsste das Drehungsvermögen ein viel grösseres gewesen sein; es ist also wahrscheinlich, dass ein Gemenge von Xylose und Galactose vorlag. Eine Trennung der Ersten von der Galactose vermochte ich nicht auszuführen; um dieses Ziel zu erreichen, hätte ich ungleich grössere Substanzmengen haben müssen. Die Darstellung der letzteren hätte aber den Besitz einer bedeutenden Menge Amyloid vorausgesetzt. Um eine weitere Stütze für die Annahme zu gewinnen, dass Xylose vorlag, habe ich noch versucht, unter den bei Oxydation des Amyloids mit Salpetersäure entstehenden Producten Trioxyglutar-

¹⁾ Diese Bestimmung, wie alle übrigen wurden bei Zimmertemperatur, welche von $15-17^\circ$ schwankte, ausgeführt.

säure nachzuweisen, welche Säure aus Xylose bei der Oxydation mit Salpetersäure gebildet wird¹⁾.

Ich konnte mich bei diesen Versuchen nach den Vorschriften von Kiliani²⁾ und E. Fischer³⁾ richten, musste jedoch eine etwas grössere Säuremenge anwenden, weil das Amyloid schwieriger zu oxydiren ist als die von den Genannten angewendeten Materialien (Arabinose und Xylose).

Ich erhitzte 8 gr. Amyloid mit 32 gr. Salpetersäure vom specifischen Gewicht 1,2 12 Stunden im Wasserbade (in einer flachen Porzellanschale) bei 45°, versetzte darauf den erhaltenen Syrup mit 100 cbcm. Wasser und dunstete auf dem Wasserbade unter ständigem Umrühren in einer Platinschale ein. Um die bei der Oxydation entstehende Schleimsäure zu entfernen, versetzte ich die weisse Masse mit etwas Wasser und liess 24 Stunden stehen. Durch Filtration konnte die Schleimsäure von der hellgelben Lösung getrennt werden⁴⁾. Zur Isolirung der Trioxyglutarsäure wurde nun nach den Vorschriften E. Fischer's das Calciumsalz dargestellt und dieses mit der berechneten Menge Oxalsäure zersetzt, die vom Calciumoxalat abfiltrirte und vermittelst Thierkohle entfärbte Flüssigkeit lieferte nach dem Eindampfen im Vacuum einen Syrup, welcher in heissem Aceton gelöst und von dem geringen Rückstand durch Filtration getrennt wurde. Nach Verdunsten dieser Lösung hinterblieb ein farbloser Syrup, welcher mit kleinen Krystallen durchsetzt war.

Dieser Syrup zeigte alle Reactionen, welche E. Fischer für die Trioxyglutarsäure angibt. Barythydrat und Bleiacetat gaben mit der wässerigen Lösung eine weisse Fällung; mit Baryumacetat entstand ein im Ueberschuss desselben löslicher Niederschlag. Ammoniakalische Silbernitratlösung wurde in der Wärme unter Spiegelbildung reducirt.

1) Ber. d. D. chem. Gesellschaft, Bd. 24, S. 1842.

2) Ebendas., Bd. 21, S. 3006.

3) Ebendas., Bd. 24, S. 1842.

4) Es sei hier bemerkt, dass die Schleimsäureausbeute in diesem Falle eine etwas grössere war. Ich erhielt aus 8 gr. Amyloid 0,9600 gr. Schleimsäure = 12%.

Die im Vorigen beschriebenen Versuche führen zur Schlussfolgerung, dass in dem bei Inversion des Amyloids entstehenden Glukosegemenge Galactose und eine Pentose (Xylose) sich vorfinden, neben denselben scheint aber eine geringe Menge Dextröse vorhanden zu sein. Denn unter den bei Oxydation Zuckersyrup mit Salpetersäure erhaltenen Producten fand sich wahrscheinlich Zuckersäure vor.

Ueber den bezüglichen Versuch ist Folgendes anzugeben: 6,2 gr. Zuckersyrup dunstete ich auf dem Wasserbade mit 25 cbcm. Salpetersäure vom spec. Gew. 1,15 bis zum Syrup ein. Nach dem Erkalten wurde mit Wasser verdünnt, 12 Stunden stehen gelassen und von der ausgeschiedenen Schleimsäure abfiltrirt, das Filtrat eingedampft und nach der von Gans und Tollens¹⁾ gegebenen Vorschrift mit Kaliumcarbonat neutralisirt; aus der so erhaltenen Flüssigkeit schieden sich nach Verdunstung zum Syrup Krystalle aus, welche das Aussehen des zuckersauren Kaliums besaßen, sie wurden auf eine Thonplatte gebracht, durch Auswaschen mit Wasser von der Oxalsäure befreit, dann nach den erwähnten Vorschriften in das neutrale Silbersalz übergeführt. Die Silberbestimmung im letzteren gab folgendes Ergebniss; 0,2173 gr. zuckersaures Silber gaben 0,1114 gr. Silber = 51,27°. Diese Zahl stimmt nicht genau auf Zuckersäure, welche 50,94% Silber verlangt, was vielleicht im Vorhandensein einer geringen Menge Oxalsäure seinen Grund hat. Mannose entsteht bei der Inversion des Amyloids nicht: ein Theil meines Zuckergemenges gab mit essigsauerm Phenylhydrazin in der Kälte keine Fällung.

Dass auch kein Fruchtzucker bei der Inversion des Amyloids entsteht, ist aus Folgendem zu schliessen. Ich erhitzte 5 gr. Amyloid mit 45 cbcm. Wasser und 5 gr. Schwefelsäure vom spec. Gew. 1,156 eine Stunde im Wasserbade bei 80°; da eine Inversion bei dieser Behandlung noch nicht eingetreten war, wurde die Verzuckerung in derselben Weise noch 5 Stunden fortgesetzt. Dann entsäuerte ich die Flüssigkeit mit Barythydrat, dunstete die vom Baryumsulfat abfiltrirte Flüssigkeit

¹⁾ Ann. d. Chemie, Bd. 245, S. 215.

im Wasserbade zum Syrup ein und extrahirte denselben mit 95 procentigem Weingeist, wobei ein bedeutender Rückstand¹⁾ hinterblieb. Die vom Ungelösten abfiltrirte weingeistige Lösung versetzte ich mit Aether, wobei eine Ausscheidung stattfand. Nachdem dieselbe sich zu Boden gesetzt hatte, wurde die klare Flüssigkeit im Wasserbade abgedunstet, der zurückbleibende Syrup im Wasser gelöst und polarisirt; die Flüssigkeit war rechtsdrehend. Dieses Ergebniss schliesst also das Vorhandensein von Lävulose aus. Dass keine Lävulose bei der Inversion des Amyloids entsteht, lässt sich wohl noch daraus entnehmen, dass beim Kochen mit stärkeren Säuren die Zuckerlösungen sich nicht bräunen.

Unter den Inversionsproducten des Amyloids haben sich also Galactose und eine Pentose (Xylose) sicher nachweisen lassen; dass daneben Traubenzucker sich vorfindet, ist wenigstens wahrscheinlich.

Es ist noch darauf aufmerksam zu machen, dass vermuthlich neben diesen Glukosen noch andere entstehen. Denn aus der Schleimsäureausbeute, welche man bei Oxydation des Amyloids bekommt, lässt sich berechnen, dass dieses Kohlenhydrat bei der Inversion nur ungefähr 13,4% Galactose gibt; aus der Furfurolmenge ergibt sich andererseits, dass das Amyloid ungefähr 29,62% Pentosen geben kann. Galactose und Pentose machen also 43,02% des Amyloids aus. Dass der Rest der Glukosen Traubenzucker war, ist nicht sehr wahrscheinlich, da nur eine geringe Menge Zuckersäure erhalten wurde. Aus 6,2 gr. Amyloidzucker erhielt ich nur 0,2173 gr. zuckersaures Silber, während man nach Tollens aus 5 gr. Dextrose 2,5 gr. erhält. Wäre der Rest Traubenzucker gewesen, so hätte ich circa 2 gr. zuckersaures Silber erhalten müssen. Für das Entstehen einer nur geringen Menge Zuckersäure sprechen auch die von mir in der Einleitung mitgetheilten Versuche; wie dort erwähnt wurde, konnte ich kein zuckersaures Kalium isoliren, als ich einen

¹⁾ Dieser Rückstand wurde, ebenso wie die wässrige Lösung desselben, durch Jod nicht mehr blau gefärbt. Derselbe war optisch activ. Die Bestimmung des specifischen Drehungsvermögens gab für $(\alpha)_D = +51,9$.

wässerigen, amyloidhaltigen Extract aus den Tropaeolum-Samen mit Schwefelsäure erhitzte und den dabei erhaltenen Zuckersyrup sodann mit Salpetersäure oxydirte. Wäre eine nur einigermaßen beträchtliche Traubenzuckermenge vorhanden gewesen, so hätte ich bei diesen wiederholten Versuchen auch Zuckersäure erhalten müssen.

Man muss demnach vermuthen, dass andere Glukosen vorhanden waren, deren Nachweis mit den zu Gebote stehenden Mitteln nicht möglich war. Es ist wahrscheinlich, dass ein nicht krystallisirender Zucker sich gebildet hatte, denn es blieb eine starke syrupförmige Mutterlauge über. Für das Vorhandensein einer solchen nicht krystallisirenden Zuckerart scheint auch die Thatsache zu sprechen, dass der bei Inversion des Amyloids erhaltene Zuckersyrup, obwohl derselbe sehr wenig Beimengungen zu enthalten schien¹⁾ erst nach Verlauf von 4 Monaten zu krystallisiren begann und dass eine raschere Krystallisation auch dann nicht zu erreichen war, indem ich den Syrup in heissem Weingeist löste und die Lösung über Schwefelsäure verdunsten liess. Hätte nur ein Gemenge von Galactose, Xylose und etwas Traubenzucker vorgelegen, so wäre die Krystallisation erfahrungsgemäss viel schneller von Statten gegangen. Zu dieser Annahme ist man auch wohl auf Grund des folgenden Versuchs berechtigt. Ich trennte, so gut als möglich, einen Theil des flüssig gebliebenen Syrups von den Krystallen, brachte diesen auf Fliesspapier und presste ab; die zurückgebliebenen Krystalle wurden entfernt und das Papier mit Wasser ausgezogen; diese wässerige Lösung wurde filtrirt und mit essigsauerm Phenylhydrazin $\frac{1}{2}$ Stunde auf 80° erwärmt; das ausgeschiedene Osazon auf ein Filter gebracht, zwischen Fliesspapier gut abgepresst und im Exsiccator getrocknet²⁾; dasselbe schmolz bei raschem Erhitzen bei 145°.

¹⁾ Wofür auch der reine süsse Geschmack und die Farblosigkeit des Syrups spricht.

²⁾ Die Substanzmenge war nicht hinreichend, um aus Alkohol umzukrystallisiren.

Ist das Amyloid ein chemisch einfacher Körper?

Eine vollständig sichere Beantwortung dieser Frage ist für dieses Kohlenhydrat nicht zu geben. Es ist hier noch darauf aufmerksam zu machen, dass es unter denjenigen Kohlenhydraten, welche Tollens als Poly-Saccharide bezeichnet, überhaupt nur sehr wenige gibt, welche mit Sicherheit für chemisch einfache Körper erklärt werden können (man vgl. Tollens, Handbuch der Kohlenhydrate).

Für die Annahme, dass das Amyloid eine einheitliche Substanz ist, spricht zwar die Thatsache, dass die aus *Tropaeolum majus* dargestellten Amyloidpräparate eben so viel Schleimsäure und Furfurol gaben, wie ein aus *Paeonia* dargestelltes Präparat. Immerhin ist zuzugeben, dass die Uebereinstimmung eine zufällige gewesen sein kann; eine Entscheidung liesse sich wohl dadurch geben, dass man noch aus anderen Materialien Amyloid darstellte und sodann prüfte, ob auch die bei diesen Darstellungen gewonnenen Präparate eben so viel Schleimsäure und Furfurol geben und eventuell das optische Drehungsvermögen bestimmte. Im Uebrigen darf behauptet werden, dass für die Zwecke, welche man bei derartigen Untersuchungen verfolgt, die Entscheidung der Frage, ob man zu einheitlichen Producten gelangt, nicht als eine überaus wichtige zu bezeichnen ist.

Vergleichung des Amyloids mit anderen Kohlenhydraten.

Das Amyloid ist zu denjenigen Kohlenhydraten zu rechnen, welche Tollens als Saccharo-Colloide bezeichnet (Tollens' Handbuch der Kohlenhydrate). Da das Amyloid im Verhalten zu Jod mit dem Stärkemehl vollständig übereinstimmt, so hatte man wohl bisher fast allgemein angenommen, dass dasselbe ein dem Stärkemehl sehr nahe verwandter Körper ist. Mit völliger Bestimmtheit ist dieses von Trécul¹⁾ ausgesprochen worden; derselbe sieht die mit Jod sich direct bläuenden Zellmembranen als Uebergang vom amorphen Stärkemehl und

¹⁾ Compt. rend., Bd. 47, S. 687.

eigentlicher Cellulose an. In Uebereinstimmung damit steht es, dass man mit dem Namen Amyloid auch die mit Jod sich blau färbende Substanz bezeichnet, welche man aus Cellulose erhält, indem man letztere mit Schwefelsäure gewisser Concentration behandelt. Auch Reiss¹⁾ scheint vermuthet zu haben, dass das Amyloid dem Stärkemehl sehr nahe steht, da er auf Grund nicht entscheidender Versuche es für wahrscheinlich erklärt, dass das Amyloid bei der Hydrolyse Traubenzucker liefert²⁾).

Aus den von mir erhaltenen Versuchsergebnissen geht nun aber hervor, dass das genannte Kohlenhydrat in chemischer Hinsicht dem Stärkemehl keineswegs so nahe steht. Denn es liefert bei der Hydrolyse entweder gar keinen Traubenzucker oder nur geringe Menge davon; die Hauptproducte der Inversion aber sind andere Glukosen (Galactose und Xylose).

Als interessant darf es wohl bezeichnet werden, dass die Blaufärbung durch Jod auch einem Kohlenhydrat zukommt, welches durch seine Umwandlungsproducte sowohl vom Stärkemehl wie von der Cellulose sich unterscheidet, indessen kann dieser Befund nicht als ein ganz unerwarteter bezeichnet werden. Denn bekanntlich wird z. B. auch das Holzgummi, welches bei der Hydrolyse Xylose liefert, durch Chlorzinkjod oder Jod und Schwefelsäure blau gefärbt; man hat sich also zu denken, dass das Holzgummi durch gewisse Agentien in eine Substanz übergeführt wird, welche durch Jod direct blau gefärbt wird.

Untersuchung des nach Extraction des Amyloids verbleibenden Samenrückstandes.

Aus den im hiesigen Laboratorium ausgeführten Untersuchungen über die Beschaffenheit der pflanzlichen Zellmembran hat sich ergeben, dass sehr viele Pflanzen in ihren Zellwandungen in Wasser unlösliche Kohlenhydrate enthalten, welche beim Kochen mit stark verdünnten Mineralsäuren leicht

¹⁾ Landwirthschaftliche Jahrbücher, Bd. 18, S. 761.

²⁾ Uebrigens lag es nicht im Rahmen der Reiss'schen Arbeit, das Amyloid makrochemisch näher zu untersuchen.

in Lösung gehen und dabei in Glukosen übergeführt werden. Diese Kohlenhydrate sind von E. Schulze als Hemicellulosen bezeichnet worden.

Es schien nun von Interesse, zu prüfen, ob auch die für die vorstehenden Untersuchungen benutzten Samen neben dem Amyloid solche Hemicellulosen enthalten. Zu diesem Zwecke kochte ich die fein gepulverten Samen so lange, unter stetem Wechsel des Wassers, bis sie durch Jod nicht mehr blau gefärbt wurden¹⁾. Die nach dieser Behandlung verbleibenden Rückstände kochte ich mit verdünnter Schwefelsäure.

Es zeigte sich in der That, dass alle von mir zur Amyloid-darstellung benutzten Objecte bei dieser Behandlung eine zuckerreiche Lösung gaben, woraus hervorgeht, dass in der That neben dem Amyloid noch Hemicellulosen enthalten waren.

Ich habe mich nun bemüht, über die Beschaffenheit dieser Glukosen näheren Aufschluss zu erhalten. Die dabei erhaltenen Resultate theile ich im Folgenden mit.

Samen von *Tropaeolum majus*.

Wie oben erwähnt worden ist, wurden behufs möglichst vollständiger Extraction des Amyloids die fein gepulverten und zuvor mit Aether, Alkohol etc. behandelten Samen mit Wasser ausgekocht, bis die Samen keine Blaufärbung mehr gaben; die dabei verbleibenden Rückstände dienten für die im Folgenden beschriebenen Versuche.

Ich behandelte diesen Rückstand zunächst noch 2 Tage mit verdünnter (1 procentiger) Natronlauge, wusch ihn sodann bis zum völligen Verschwinden der alkalischen Reaction mit Wasser aus; dann kochte ich 2 Stunden mit 3 procentiger Schwefelsäure am Rückflusskühler; ich erhielt so eine rothbraune Lösung, welche, nachdem sie vom Ungelösten getrennt war, weitere 3 Stunden, behufs vollständiger Verzuckerung,

¹⁾ Um aus den feingepulverten Samen (1200 gr.) das Amyloid möglichst vollständig zu entfernen, bedurfte es eines wiederholten Kochens, erst nach dem 15—18 mal mit stets erneuerten Wassermengen gekocht worden war, liess sich unter dem Mikroskop keine Blaufärbung der Samentheilchen mehr erkennen.

gekocht wurde. Ich entfernte nun die Schwefelsäure durch Eintragen von Barythydrat, trennte die Flüssigkeit vom Baryumsulfat und dunstete auf dem Wasserbade zum Syrup ein; letzteren extrahirte ich in der Wärme mit 95procentigem Weingeist, wobei ein grosser Theil ungelöst blieb; nach 24 Stunden wurde vom Ungelösten abgegossen und die alkoholische Flüssigkeit im Exsiccator zur Verdunstung hingestellt. Ich erhielt auf diese Weise einen dunkelbraunen, nicht rein süss schmeckenden Syrup, der erst nach einigen Monaten zu krystallisiren begann.

Einen Theil dieses Syrups benutzte ich zur Bestimmung der Furfurolausbeute. Ich erhielt hierbei folgende Zahlen:

- a) 2 gr. Syrup, 0,7700 gr. Hydrazon = 0,4122 gr. oder 20,61% Furfurol.
- b) Die gleiche Substanzenmenge gab 0,7630 gr. Hydrazon = 0,4189 gr. oder 20,94% Furfurol.

Den anderen Theil des Syrups liess ich noch einige Wochen stehen. Nachdem die Krystallausscheidung eine bedeutende geworden war, brachte ich die Masse auf eine Thonplatte, übersprühte mehrere Male mit absolutem Alkohol, und krystallisirte schliesslich den so gereinigten Zucker aus 95procentigem Weingeist um.

Ich erhielt hierbei zwei Krystallfractionen, welche bei der Untersuchung im Polarisationsapparat folgende Resultate ergaben:

I. Fraction. Eine wässerige Lösung, welche in 10 cbcm. 0,2936 gr. enthielt, drehte im 100 mm.-Rohr $6,7^{\circ}$ nach rechts. Daraus berechnet sich $(\alpha)_D = +78,92^{\circ}$.

II. Fraction. Eine wässerige Lösung, welche in 10 cbcm. 0,2256 gr. Trockensubstanz enthielt, drehte im 200 mm.-Rohr 8° nach rechts. Daraus berechnet sich $(\alpha)_D = +61,34^{\circ}$.

Diese beiden Zuckerpräparate gaben bei der Oxydation Schleimsäure, welche bei 212° schmolz. Die quantitative Ausbeute an letzterer habe ich wegen der geringen Substanzenmenge nicht ausgeführt.

Da das Drehungsvermögen des ersten Präparats mit dem der Galactose ($+81,58^{\circ}$) nahezu übereinstimmt und dasselbe

bei der Oxydation Schleimsäure liefert, so darf man wohl annehmen, dass dieser Zucker Galactose war.

Die zweite Krystallfraction war wahrscheinlich ein Gemenge von Galactose und einer Pentose (Xylose), wofür die bedeutende Furfurolmenge, welche aus dem Syrup erhalten wurde, spricht.

Samenrückstand von *Paeonia officinalis*.

Dieser Rückstand, in gleicher Weise wie der von *Tropaeolum majus* behandelte, lieferte einen hellgelben Zuckersyrup. Der weingeistige Extract gab schon nach einigen Tagen Krystalle; dieselben wurden in bekannter Weise gereinigt, aus Alkohol umkrystallisirt und polarisirt.

Eine Lösung, welche in 10 ccm. 0,2390 gr. Trockensubstanz enthielt, drehte im 200 mm.-Rohr $11,2^\circ$ nach rechts. Daraus berechnet sich $(\alpha)_D = +81,07^\circ$.

Dieser Zucker gab beim Erhitzen mit Salpetersäure Schleimsäure, welche bei 208° schmolz. Es darf also auch dieser aus *Paeoniasamen*rückstand erhaltene Zucker für Galactose erklärt werden.

Das neben Galactose aus dem Rückstand noch eine andere Glukose entstanden war, beweist die Ausbeute an Furfurol.

- a) 2 gr. Zuckersyrup gaben 0,3030 gr. Hydrazon = 0,1815 gr. oder 9,07% Furfurol.
- b) Die gleiche Substanzenmenge gab 0,2906 gr. Hydrazon = 0,1761 gr. oder 8,80% Furfurol.

Der Rückstand der Samen von *Impatiens Balsamina* lieferte ebenfalls einen rechtsdrehenden Zuckersyrup, der bei der Oxydation mit Salpetersäure Schleimsäure (Schmelzp. 209°) lieferte. Wegen der geringen Menge dieses Syrups habe ich eine weitere Untersuchung nicht ausführen können.

Aus diesen Resultaten geht hervor, dass die Zellwandungen der im Vorigen genannten Samen neben dem durch Wasser extrahirbaren Amyloid auch noch Bestandtheile enthielten, welche dem kochenden Wasser widerstanden, durch verdünnte heisse Mineralsäuren aber unter Glukosebildung in

Lösung übergeführt wurden. Man darf diese Zellwandungen als Hemicellulosen bezeichnen. In Uebereinstimmung damit stehen Angaben Frank's¹⁾. Derselbe beobachtete, dass bei *Tropaeolum majus* die secundären Zellmembranen durch kochendes Wasser nicht vollständig gelöst wurden; es blieben gewisse Schichten in einem aufgelockerten Zustand zurück. Dass dies diejenigen Zellschichten waren, welche mir beim Erhitzen mit verdünnter Schwefelsäure die oben genannten Glukosen gaben, darf wohl für sehr wahrscheinlich erklärt werden.

Bemerkenswerth ist, dass diese neben dem Amyloid sich vorfindenden Hemicellulosen, eben wie das erste bei der Hydrolyse, Galactose und eine Pentose gegeben haben.

Die von mir gewonnenen Resultate liefern nun auch den vollgiltigen Beweis für die in der Einleitung schon ausgesprochene Ansicht, dass der dort erwähnte Versuch von Reiss²⁾ keine Entscheidung über die Frage geben konnte, was für Glukosen bei Hydrolyse des Amyloids entstehen. Denn R. Reiss verfuhr ja in der Weise, dass er die amyloidhaltigen Samen in 70% Schwefelsäure eintrug. Es ist aber klar, dass bei diesem Versuch nicht nur das Amyloid in Zucker übergeführt, sondern sowohl die Hemicellulosen als auch die eigentliche Cellulose. Demnach muss der von Reiss dargestellte Zucker durch Umwandlung verschiedener Zellwandbestandtheile entstanden und ein Gemenge mehrerer Glukosen gewesen sein.

Um den directen Beweis für vorstehende Annahme zu liefern, habe ich übrigens den von Reiss angegebenen Versuch wiederholt. Ich trug die gepulverten *Tropaeolum*-Samen, welche zuvor durch Extraction mit Aether, Alkohol, kaltem, verdünnten Ammoniak gereinigt worden waren, in die gleiche Gewichtsmenge 70% Schwefelsäure ein, nach 24 Stunden verdünnte ich die Masse mit Wasser und brachte sie dann aufs Filter. Das Filtrat wurde mit Baryumcarbonat neutralisirt,

¹⁾ Journ. f. prakt. Chemie, Bd. 95, S. 494.

²⁾ Landw. Jahrbücher, S. 748 u. 752.

nach mehrtägigem Stehen vom Niederschlag abfiltrirt und eingedunstet. Den Verdampfungsrückstand erhitzte ich, behufs Inversion, mit 2procentiger Schwefelsäure eine Stunde im Wasserbade, entfernte die Säure mit Baryhydrat und dunstete zur Syrupconsistenz ein. Dieser Syrup gab beim Erhitzen mit 12procentiger Salzsäure eine beträchtliche Menge Furfurol¹⁾; es war also in diesem Syrup eine Pentaglukose enthalten, was auch noch durch die Rothfärbung, welche auftrat, als ich einen Theil desselben mit Phloroglucin und Salzsäure erhitzte, bestätigt wurde. Ferner lieferte eine Probe dieses Zuckers beim Erhitzen mit Salpetersäure ein bei 212° schmelzendes Krystallpulver, welches in Wasser sehr schwer löslich war, dieses Oxydationsproduct war demnach Schleimsäure.

R. Reiss gibt an, dass er aus dem in gleicher Weise aus den Samen von *Tropaeolum majus* dargestellten Zuckersyrup ein Osazon erhalten habe, welches den Schmelzpunkt des Glukosazons (203°) zeigte; aus den von mir erhaltenen Resultaten geht hervor, dass es nur ein Zufall gewesen sein kann, wenn ein Osazon von solchem Schmelzpunkt erhalten wurde.

Wie weiter oben schon mitgetheilt wurde, habe auch ich beim Umkrystallisiren des aus dem Amyloidzucker dargestellten Osazons einmal eine Krystallisation erhalten, welche den Schmelzpunkt 202° zeigte; während das aus obigem Syrup dargestellte bei 185° schmolz.

Die von mir gewonnenen Versuchsergebnisse erbringen den vollgültigen Beweis dafür, dass der vorliegende Zuckersyrup ein Gemenge verschiedener Glukosen war.

¹⁾ L. c., S. 761.
