

Zur Kenntniss der Thiercellulose oder des Tunicins,

Von

E. Winterstein.

(Aus dem agricultur-chemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)
(Der Redaction zugegangen am 12. März 1893.)

Bekanntlich bestehen die Mäntel der Tunicaten zum grossen Theil aus einer stickstofffreien Substanz, die zuerst von C. Schmidt¹⁾ isolirt und später von Berthelot²⁾ mit dem Namen Tunicin bezeichnet wurde. C. Schmidt³⁾ verwendete für seine Versuche die häutigen Hüllen der *Ascidia mammillaris*, dieselben wurden successive mit Wasser, Alkohol, Aether, verdünnten Säuren und Alkalien behandelt; nach dieser Behandlung hinterblieb eine farblose stickstofffreie Substanz, dieselbe erwies sich unlöslich in Salpetersäure, Salzsäure, Essigsäure und concentrirter Kalilauge. In concentrirter Salpetersäure oder concentrirter Schwefelsäure löste sie sich langsam auf. Mit Wasser unter Druck bei 200° erhitzt blieb sie unverändert. Die Elementaranalyse ergab, nach Abzug der Asche, folgende Resultate: C — 45.38%, H — 6.47%. Diese Zahlen stimmen mit den für Pflanzencellulose gefundenen annähernd überein. Veranlasst durch die Mittheilung C. Schmidt's nahmen Löwig und Kölliker⁴⁾ ein Jahr später diesen Gegenstand wieder auf und untersuchten mehrere Species der ver-

¹⁾ Ann. der Chem. u. Pharm., Bd. 54, S. 318.

²⁾ Ann. de chim. phys. 1859, Bd. 56, S. 149; Compt. rend. 47, S. 227.

³⁾ Loc. cit.

⁴⁾ Journ. f. prakt. Chem., Bd. 37, S. 439; Ann. des sciences nat. III Série, Bd. 5, S. 193.

schiedenen Tunicatengattungen¹⁾. Sie fanden, dass beim Behandeln der Thiere mit verdünnten Laugen und Säuren dieselben ihre äussere Form vollständig beibehalten und nach genügender Einwirkung der Reagentien eine stickstofffreie Substanz hinterlassen; dieselbe haben sie dann aus den in kleine Stücke zerschnittenen Mänteln durch angegebene Behandlung isolirt. Bei der Elementaranalyse der aus den Mänteln von *Ascidia mammillaris* und *Cynthia papillata* dargestellten Präparate erhielten sie folgende Zahlen: C — 43,40%, H — 5,68% bzw. C = 43,20%, H — 6,16%

Weitere Untersuchungen hat Payen²⁾ im Verein mit Dumas, Boussingault und Milne Edwards ausgeführt. Sie verwendeten dafür die Mäntel von *Phallusia intestinalis*, dieselben wurden wiederholt mit Kalilauge vom spec. Gewicht 1,02 und Salzsäure vom specif. Gewicht 1,06 behandelt und schliesslich mit Wasser ausgewaschen, der nach dieser Extraction verbleibende Rückstand enthielt jedoch im Mittel noch gegen 3% Stickstoff und erst nach längerem Digeriren mit genannten Agentien bekamen sie eine stickstofffreie Substanz, die folgende Zusammensetzung hatte: C — 44,5%, H 6,4% sie war unlöslich in concentrirter HNO_3 , wurde mit alkoholischer Jodlösung gelb gefärbt, diese Färbung ging beim Betupfen mit concentrirter Schwefelsäure in violette Farbe über, weiter constatirten sie die Löslichkeit ihres Präparats in concentrirter Schwefelsäure, wobei eine dextrinähnliche Masse resultirte, welche wegen Mangel an Material nicht weiter untersucht wurde.

Während die genannten Forscher die von ihnen dargestellte Thiercellulose mit der Pflanzencellulose für identisch betrachteten, glaubte Berthelot eine Verschiedenheit aufgefunden zu haben. Berthelot untersuchte die Mäntel von *Cynthia papillata*; um daraus die stickstofffreie Substanz zu

¹⁾ Es gelangten folgende Species zur Untersuchung: *Phallusia mammillaris*, *Phallusia intestinalis*, *Phallusia monachus*, *Cynthia papillata*, *Clavelina lepadiformis*, *Diazona violacea*, *Botryllus polyecylus*, *Pyrosoma giganteum*, *Salpa maxima*.

²⁾ *Annales des sciences naturelles* III Série, Bd. 5.

isoliren wurden die Mäntel einige Stunden mit concentrirter Salzsäure gekocht, alsdann mit kochender 30 proc. Kalilauge ¹⁾ behandelt. Letztere wurde durch Decantiren entfernt und der unlösliche Rückstand mit destillirtem Wasser bis zum Verschwinden der alkalischen Reaction ausgewaschen. Er beschreibt die erhaltene Substanz ²⁾ als eine weisse durchscheinende Masse von hornartiger Beschaffenheit, unlöslich in allen Lösungsmitteln. In feuchtem Zustand geschmeidig wie Handschuhleder. Unter dem Mikroskop zeigte sie faserige Structur analog dem Thiergewebe; diese Eigenschaft betrachtet Berthelot als eine Verschiedenheit von der Pflanzencellulose; ferner unterscheidet sie sich nach seiner Ansicht von der Pflanzencellulose durch die bedeutendere Widerstandsfähigkeit gegen Säuren und durch die schwächere Blaufärbung, welche mit Jod und concentrirter Schwefelsäure auftritt. «Da der Stoff» schreibt Berthelot ¹⁾ «in Bezug auf seine physikalischen Eigenschaften, Structur und chemischen Charakter von der Pflanzenfaser ganz verschieden ist, habe ich für nöthig gefunden, um Irrthum zu vermeiden, ihn mit einem bezeichneten Namen zu belegen und nannte ihn Tunicin».

Eine Zusammenstellung der bis dahin erschienenen Arbeiten, sowie einige neue Beiträge über die Thiercellulose lieferte Schäfer ³⁾. Zur Untersuchung gelangten hauptsächlich Pyrosomen, einige Salpen und mehrere Exemplare von *Phalusia mammillaris*. Die Isolirung der fraglichen Substanz geschah im wesentlichen nach den schon vorliegenden Angaben: die Mäntel wurden einige Tage lang unter erhöhtem Druck im Papinschen Topf gekocht, behufs Entfernung der anorganischen Bestandtheile längere Zeit mit verdünnter Salzsäure gekocht, die stickstoffhaltigen Körper wurden durch mehrtägiges Kochen mit concentrirter Kalilauge ausgezogen und zwar wurde so lange gekocht bis sich beim Schmelzen der Substanz mit metallischem Kalium kein Stickstoff mehr nach-

¹⁾ In der Originalarbeit heisst es Lauge von 32° und 32grädige Lauge enthält 30% KHO.

²⁾ Die Elementaranalyse ergab 44,6% C, 6,1% H.

³⁾ Ann. der Chemie und Pharm., Bd. 160, S. 312.

weisen liess; der verbleibende Rückstand wurde nun vollständig mit Wasser ausgewaschen und schliesslich mit Alkohol behandelt. Schäfer beschreibt die erhaltene Cellulose als eine weisse durchsichtige Masse, die in ihrer Beschaffenheit eine Aehnlichkeit mit starkem Papier aufweist; mit Jod und Schwefelsäure nahm sie eine violette Farbe an, analog der Pflanzencellulose; eine weitere Uebereinstimmung mit der Letzteren fand Schäfer in der Löslichkeit in Kupferoxydammoniak und Fällbarkeit dieser Lösung durch Salzsäure; er stellte ferner fest, dass durch concentrirte Salpetersäure oder ein Gemisch dieser mit concentrirter Schwefelsäure ein Nitrirungsprodukt entsteht; dasselbe verpuffte beim Anzünden wie Schiessbaumwolle und löste sich in einem Gemisch von Alkohol und Aether, beim Verdunsten dieser Lösung hinterblieb eine dünne, durchsichtige Haut. So ergeben sich aus den Untersuchungen Schäfer's verschiedene Punkte, in denen das Tunicin mit der Pflanzencellulose übereinstimmt.

Eine Arbeit neueren Datums über die Mäntel der Tunicaten liegt von R. Schütze¹⁾ vor. Nach seinen Untersuchungen enthalten die Mäntel neben stickstoffhaltigen Substanzen und Cellulose noch Cholesterin, Fett, freie Oel-Valerian-, Palmitin- und Stearinsäuren. Die Asche der Mäntel enthält 2.76% Kieselsäure; 12.72% Phosphorsäure; 15.81% Eisenoxyd; 9.52 Thonerde; 3.91% Calciumphosphat, 49.22% Calciumcarbonat und 0.3% Magnesiumcarbonat. Die Reingewinnung der Cellulose gelang ihm durch Digeriren der Mäntel mit 20 proc. Kalilauge, darauffolgender Behandlung mit 10 proc. Salzsäure und Fluorwasserstoffsäure. Diese Cellulose hatte folgende Zusammensetzung: C 43.47% H 6.25%.

Was nun das Vorkommen der Cellulose im Thierreich betrifft, so beschränkt sich dasselbe nicht auf die Gruppe der Tunicaten, sondern ist nach den neuesten Untersuchungen, die von H. Ambronn²⁾ an der zoologischen Station zu

¹⁾ Jahresbericht über die Fortschritte der Thierchemie, Bd. 19, S. 328; Mittheilung d. pharm. Inst. Erlangen, 2. Heft, S. 280—281.

²⁾ Mittheilung aus der zoologischen Station zu Neapel, 9, 475—478. Jahresbericht über die Fortschritte der Thierchemie, Bd. 20, S. 318.

Neapel ausgeführt worden weiter verbreitet; sie ist, wenn auch nicht isolirt, so doch durch qualitative Reactionen bei folgenden Thieren nachgewiesen worden: bei den Copepoden, Spinnen, Heuschrecken, Bienen und Myriapoden, weiter wurde die Cellulosereaktion an den Panzertheilen und besonders schön an den Sehnen der grösseren Crustaceen: Eupagurus, Squilla, Homarus, Munida, Scyllarus, ferner an der Schulp von Sepia und Loligo, auch bei einigen Muscheln und Schnecken beobachtet. Aus der Rückenschulpe der Cephalopoden liess sich, nach Entfernen des Kalkes, mit Kupferoxydammoniak ein Theil derselben ausziehen. Diese Lösung gab mit Salzsäure einen weissen, faserigen Niederschlag, der die Violettfärbung sehr stark zeigte und wohl thierische Cellulose war.

Erwähnt sei noch, dass nach den Versuchen von Krukenberg¹⁾ Tunicin weder von Pepsin, Trypsin, noch menschlichem Speichel angegriffen wird.

Da nun die Thiercellulose der pflanzlichen in ihren Eigenschaften so nahe steht, war es noch von Interesse zu erforschen, ob die Thiercellulose bei der Hydrolyse auch Traubenzucker liefert, wie dies schon früher für die Baumwollcellulose nachgewiesen und nach den neuesten Untersuchungen von E. Schulze²⁾ auch für eine grosse Anzahl anderer pflanzlichen Cellulosen verschiedener Herkunft gilt. Versuche zur Lösung dieser Frage sind von Berthelot (l. c.), Schäfer (l. c.), Franchimont (l. c.) und R. Schütze (l. c.) angestellt worden. Berthelot verrieb das Tunicin mit concentrirter Schwefelsäure, worin es sich allmählig löste, diese Lösung wurde nun tropfenweise in ein grösseres Quantum siedenden Wassers gegossen, die Flüssigkeit nach einiger Zeit mit Kreide neutralisirt und das Filtrat zum Syrup eingedunstet, er erhielt so ein Gemisch von Zucker und einer unbekanntenen Substanz. Dieser Zuckersyrup reducirte energisch die Fehling'sche Lösung und gab mit Hefe angerührt Kohlensäure und Alkohol,

¹⁾ Vergleichend — physiologische Studien, I. Reihe 5, S. 32. Anmerkung. Krukenberg (vgl. phys. Vorträge, III. Reihe, S. 196—198) gibt auch eine Zusammenstellung der einschlägigen Litteratur.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 16, S. 387—436; Ber. XXIV, 277.

welch letzterer rein dargestellt wurde. Schäfer (l. c.) hat versucht durch Kochen des Tunicins mit verdünnter Schwefelsäure Zucker zu erhalten, da er aber auf diesem Wege kein positives Resultat gewinnen konnte, versuchte er die Hydrolyse des Tunicins mit verdünnter Schwefelsäure unter Druck, konnte aber nur constatiren, dass die erhaltene Flüssigkeit die Fehling'sche Lösung reducirte. Zu einem günstigeren, obgleich nicht abschliessenden Resultat gelangte Franchimont¹⁾. Derselbe stellte das zu seiner Untersuchung nöthige Tunicin in der gewöhnlichen Weise durch Behandeln der Mäntel mit Säuren, Alkalien, Wasser und Alkohol dar; das resultirende Product wurde in Kupferoxydammoniak gelöst, die Lösung mit Salzsäure gefällt und der Niederschlag gut ausgewaschen, letzterer wurde nun mit concentrirter Schwefelsäure verrieben, das Gemisch 24 Stunden stehen gelassen, die mit viel Wasser verdünnte Flüssigkeit zeigte bedeutende Rechtsdrehung, dieselbe wurde 48 Stunden am Rückflusskühler gekocht, darauf mit Baryumcarbonat neutralisirt und das Filtrat eingedampft. Aus dem Syrup schieden sich nach 3 Tagen Krystalle aus, die das Aussehen der gewöhnlichen «Glucose» besaßen. Die wässrige Lösung dieser Krystalle zeigte starke Rechtsdrehung und Birotation. Auf Grund dieser Eigenschaften vermuthete Franchimont, dass sein Zucker Traubenzucker war. R. Schütze²⁾ erhielt durch Kochen mit 10proc. Schwefelsäure unter Druck eine die Fehling'sche Lösung reducirende Flüssigkeit, die mit Hefe versetzt Kohlensäure entwickelte. Diese Versuche bringen aber noch keinen endgültigen Beweis dafür, dass der entstandene Zucker Traubenzucker war, denn abgesehen davon, dass verschiedene Zuckerarten Birotation zeigen und mit Hefe vergähren, wäre es ja auch möglich, dass ein unbekannter Zucker entstanden wäre, da nun Franchimont auch keines der charakteristischen Umwandlungsproducte und keine Derivate seines Zuckers dargestellt hat, so ist die Frage nach der Natur der bei Hydrolyse des Tunicin entstehenden Zuckerart noch als eine offene

¹⁾ Ber. d. Deutsch. chem. Gesellsch., Bd. 12, S. 1938.

²⁾ Loc. cit.

zu bezeichnen. Ich habe daher auf Veranlassung von Prof. E. Schulze die Thiercellulose einer erneuten Untersuchung unterzogen. Das hierzu nöthige Material, bestehend in trockenen Ascidiemänteln¹⁾, erhielt ich durch Gefälligkeit der zoologischen Station zu Neapel. Die Mäntel wurden behufs Entfernung der anhaftenden Salze mehrere Tage in kaltem Wasser eingeweicht, dann einige Stunden mit Wasser gekocht und zuletzt einen Tag mit sehr verdünnter Salzsäure digerirt, bei dieser Behandlung waren die meisten Mäntel weich und durchscheinend geworden. Sie enthielten noch 1,30 % Asche und gaben bei der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl 4,02 % N, wie nachstehende Zahlen beweisen:

- a) 1 gr. Substanz gab 0,00391 gr. N = 7 cbcm. Lauge (1 cbcm. Lauge = 0,005593 gr. N).
 b) 1 gr. Substanz gab 0,0414 gr. N = 7,4 cbcm. Lauge (1 cbcm. Lauge = 0,005593 gr. N).

Bei den ersten Versuchen, die ich zur Gewinnung des Tunicins anstellte, verfuhr ich im wesentlichen nach den Angaben Berthelots (l. c.), ich erhielt aber dabei nur eine so geringe Ausbeute²⁾ an stickstofffreier Substanz, dass die Annahme, es sei durch die angewendeten starken Reagentien ein Theil des Tunicins zerstört worden, als eine berechtigte erscheint. Ich suchte daher zunächst festzustellen, ob man nicht durch viel schwächere Agentien die beigemengten stickstoffhaltigen Substanzen u. s. w. entfernen und die Cellulose rein erhalten kann. Ueber die Details dieser Versuche ist folgendes anzugeben: Die in beschriebener Weise präparirten Mäntel wurden, um sie pulverisiren zu können, mehrere Stunden lang bei 110° getrocknet, dann im Mörser zerstossen und schliesslich auf einer Mühle fein gemahlen.

2 gr. dieses Pulvers wurden 1 Stunde mit 1 proc. Kalilauge gekocht, nach Beendigung des Kochens die Flüssigkeit

¹⁾ Es kamen hauptsächlich die Mäntel von *Ascidia mentula* und *Ascidia mammillaris* zur Verwendung.

²⁾ Ich erhielt aus 100 gr. nur 4 gr. Tunicin, während doch nach Löwig und Kölliker ungefähr $\frac{2}{3}$ der Mäntel aus stickstofffreier Substanz bestehen soll.

vom Rückstand abgehört, noch einige Male durch Decantation ausgewaschen, dann wurde der Rückstand auf ein getrocknetes und gewogenes Filter gebracht, mit Wasser vollständig ausgewaschen und zuletzt mit Alkohol und Aether übergossen. Ich erhielt hierbei 0,9940 gr., bei einem zweiten Versuche 1,000 gr. Rückstand; aus diesen Zahlen berechnet sich im Mittel ein Verlust von 47,91%. Der erhaltene Rückstand gab bei der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl folgende Resultate:

Je 1 gr. Substanz gaben 0,00167 gr. N = 0,3 cbcm. Lauge (1 cbcm. Lauge = 0,00593 gr. N), bzw. 0,001186 gr. N = 0,2 cbcm. der gleichen Lauge. Daraus berechnet sich im Mittel ein Gehalt von 0,13% Stickstoff.

Als ich die 1proc. Lauge durch 5proc. ersetzte, im Ubrigen aber wie oben verfuhr, betrug der Verlust 50,91%, wie aus folgenden Zahlen ersichtlich: 1,915 gr. Trockensubstanz gaben 0,9774 gr. Rückstand. Der Stickstoffgehalt dieses Rückstandes war derselbe geblieben. Weiter suchte ich nun das Verhalten der Mäntel gegen verdünnte Säuren festzustellen, dieses geschah wie folgt: Die in angegebener Weise gereinigten und zerkleinerten Mäntel wurden 1 Stunde mit 1 $\frac{1}{4}$ proc. Schwefelsäure am Rückflusskühler gekocht, der dabei verbleibende Rückstand auf ein getrocknetes und gewogenes Filter gebracht, die Säure vollständig ausgewaschen und darauf mit Alkohol und Aether behandelt, wieder getrocknet und gewogen. Ich erhielt folgende Resultate:

Je 1 gr. gemahlener Mäntel gaben in 2 Versuchen 0,6400 gr. bzw. 0,6420 gr. Rückstand, daraus berechnet sich ein Verlust von 35,9%.

Dieser Rückstand gab bei der Stickstoffbestimmung folgende Zahlen:

Je 1 gr. Substanz gaben 0,0100 gr. N = 1,8 cbcm. (1 cbcm. Lauge = 0,00593 gr. N), bzw. 0,0110 gr. N = 1,98 cbcm. der gleichen Lauge. Daraus berechnet sich im Mittel ein Gehalt von 1,05% Stickstoff.

Die beim Kochen mit verdünnter Säure entstandene Flüssigkeit enthielt eine die Fehling'sche Lösung reducirende Glucose; die Menge derselben wurde folgendermassen bestimmt: Das Filtrat und die ersten Antheile des Waschwassers wurden, behufs Entfernung der stickstoffhaltigen Körper, mit Bleiessig

ausgefällt, im Filtrat das Blei durch Schwefelsäure entfernt und in der vom Bleisulfat getrennten Flüssigkeit die Zuckermenge nach Allihn bestimmt. Ich erhielt folgende Zahlen:

a) 0,1310 gr. Cu = 0,0667 gr. Dextrose,

b) 0,1330 gr. Cu = 0,0677 gr. Dextrose.

im Mittel also 6,72% Glucose berechnet als Dextrose.

Ob dieser Zucker durch Umwandlung des Tunicins entstanden war, scheint zunächst fraglich, es liegt im Bereich der Möglichkeit, dass die Ascidienmäntel neben Tunicin ein gegen Säuren weniger widerstandsfähiges Kohlenhydrat enthalten.

Nach diesen Versuchsergebnissen erschien es unnöthig, stärkere Kalilauge als 1procentige anzuwenden; weiter schien es auch angezeigt, nach dem Kochen mit Lauge eine Behandlung mit stark verdünnter Säure folgen zu lassen, um nicht nur die Salze, sondern auch die etwaig vorhandenen leichter löslichen Kohlenhydrate zu entfernen. Demgemäss verfuhr ich wie folgt: Die fein pulverisirten Mäntel wurden 1 Stunde mit 1procentiger Kalilauge gekocht, der Rückstand bis zum Verschwinden der alkalischen Reaction ausgewaschen und Letzterer noch 1 Stunde mit 2procentiger Schwefelsäure gekocht, die Säure durch Auswaschen mit destillirtem Wasser entfernt und der Rückstand zuletzt mit Alkohol und Aether behandelt. Ich erhielt dabei das Tunicin als eine weisse, beinah aschenfreie Substanz, welche alle für Pflanzencellulose geltenden Reactionen gab. Sie war löslich im Kupferoxyd-ammoniak, wurde aus dieser Lösung durch Salzsäure ausgefällt, löste sich nicht in verdünnten Säuren und Alkalien, gab mit Jod und Schwefelsäure ebenso wie mit Chlorzink und Jod Blaufärbung, ferner löste sich die ganz fein zerriebene Cellulose, wenn auch sehr langsam, so doch beinah vollständig in dem von Cross und Bevan angegebenen Gemisch von Zinkchlorid und Salzsäure. Sie zeigte ferner auch die für Pflanzencellulose charakteristische Widerstandsfähigkeit gegen Oxydationsgemisch. Als ich 1 gr. der gemahlten Mäntel mit Salzsäure vom specifischen Gewicht 1,06 zu einem Brei anrührte und soviel Kaliumchlorat hinzufügte, dass noch ein Theil des Letzteren ungelöst blieb, dann 24 Stunden

stehen liess, darauf mit Wasser vollständig auswusch und den Rückstand mit verdünntem Ammoniak eine Stunde lang bei 60° digerirte, resultirten nach dem Auswaschen des Ammoniaks 0,4600 gr. eines farblosen Rückstandes. Ungefähr die gleiche Menge hinterbleibt, wenn man die Mäntel mit 1 proc. Kalilauge und 2 proc. Schwefelsäure behandelt, wie dies oben angegeben.

Da nun Berthelot der Thiercellulose eine grössere Widerstandsfähigkeit gegen Säuren zuschreibt, als der Pflanzen-cellulose, habe ich über diese Frage noch einige Versuche angestellt. Dies geschah wie folgt: Abgewogene Substanzmengen, deren Wassergehalt durch Trocknen bei 105° ermittelt worden war, kochte ich 1 Stunde mit $1\frac{1}{4}$ procentiger, bzw. 5 procentiger Schwefelsäure, brachte die Rückstände auf getrocknete und gewogene Filter, wusch auf den Filtern bis zum Verschwinden der sauren Reaction aus und übergoss die Filterinhalte zuletzt noch mit Alkohol und darauf mit Aether, trocknete bis zum constanten Gewicht und wog wieder. So ergab sich der beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure entstehende Gewichtsverlust. Ich habe aber auch noch die dabei gebildete Glucosemenge bestimmt. Zu diesem Zwecke wurden die Filtrate von den Rückständen nebst den ersten Antheilen der Waschwässer soweit eingedampft, dass die Flüssigkeiten etwa 2% Schwefelsäure enthielten, dann wurde zur vollständigen Inversion noch 2 Stunden gekocht und die Zuckermenge, nach vorangegangener Neutralisation, nach der Allihn'schen Methode ermittelt.

Ich erhielt folgende Resultate:

- a) 0,8462 gr. aschenfreie Trockensubstanz gaben nach einstündigem Kochen mit 200 cbem. $1\frac{1}{4}$ procentiger Schwefelsäure 0,8160 gr. Rückstand; daraus berechnet sich ein Verlust von 3,58%.

Die Dextrosemenge betrug 2,82%, wie aus nachstehenden Zahlen ersichtlich: $0,0460 \text{ gr. Cu} = 0,0239 \text{ gr. Dextrose}$.

- b) 1 gr. aschenfreie Trockensubstanz gaben nach 1stündigem Kochen mit 200 cbem. 5 procentiger Schwefelsäure 0,943 gr. Rückstand; der Verlust betrug also 5,70%.

Die Dextrosemenge ergab sich aus nachstehenden Zahlen zu 4,12%: $0,0808 \text{ gr. Cu} = 0,0412 \text{ gr. Dextrose}$. Aus diesen Versuchen geht also hervor, dass die Widerstandsfähigkeit der

Thiercellulose gegen 1 $\frac{1}{2}$ proc. und 5proc. Schwefelsäure keine grössere ist, als ich sie für eine Anzahl verschiedener Pflanzen-cellulosen¹⁾ gefunden habe. Ich habe also in dieser Hinsicht keinen Unterschied von der Pflanzencellulose finden können.

Wie schon früher erwähnt worden ist, musste ich es als eine Hauptaufgabe betrachten, über die Beschaffenheit des bei Hydrolyse der Thiercellulose entstehenden Zuckers Aufschluss zu gewinnen. Für die bezüglichen Versuche verwendete ich Tunicin, welches in der oben beschriebenen Weise aus den Ascidienmänteln hergestellt war. 30 gr. des fein zerriebenen Materials wurden in 180 gr. eines Gemisches von 100 Theilen 98proc. Schwefelsäure und 30 gr. Wasser allmählich eingetragen, die Masse öfters durchgerührt, bis sich der anfänglich dicke Brei verflüssigt hatte, nun liess ich über Nacht stehen, verdünnte die Lösung mit soviel Wasser, dass sie circa 2 $\frac{1}{2}$ % Schwefelsäure enthielt, kochte die Flüssigkeit 3 Stunden am Rückflusskühler, die noch warme Flüssigkeit wurde mit pulverisirtem Barythydrat versetzt und vom ausgeschiedenen Baryumsulfat abfiltrirt. Die farblose, schwach saure Lösung dunstete ich vorsichtig zum Syrup ein; letzteren extrahirte ich wiederholt mit heissem Alkohol; die weingeistige Lösung wurde im Exsiccator der Verdunstung überlassen. Nach mehreren Tagen hatten sich warzenförmige Krystalle ausgeschieden; dieselben wurden zwischen Leinwand stark abgepresst, der Rückstand wiederholt aus 95proc. Weingeist und zuletzt 2mal aus Methylalkohol umkrystallisirt. Bei der Ermittlung des specifischen Drehungsvermögens für das so gewonnene Product wurde folgendes Resultat erhalten: Eine wässrige Lösung, welche in 10 ccm. 0,9860 gr. enthielt, drehte nach 24stündigem Stehen im 200 mm.-Rohr im Soleil Ventzke'schen Apparat 30° nach rechts; daraus berechnet sich $[\alpha]_D = + 52,64\%$. Diese Zahl stimmt mit dem für Dextrose gefundenen überein; nach Tollens¹⁾ ist $[\alpha]_D$ für eine 10proc. Traubenzuckerlösung = + 52,74²⁾.

¹⁾ Landwirthschaftliche Versuchsstation, Bd. XLI, S. 375—389.

²⁾ Die Drehung betrug gleich nach der Auflösung 48°; der Zucker zeigte also Birotation.

³⁾ Handbuch der Kohlenhydrate / S. 45.

Bei der Polarisation von zwei anderen Krystallisationen, welche nicht aus Methylalkohol umkrystallisirt waren und welche den grössten Theil des bei Hydrolyse des Tunicins gewonnenen Zuckers ausmachten, erhielt ich folgende Zahlen:

- I. Eine wässrige Lösung, welche in 10 cbcm. 0,933 gr. Substanz enthielt, drehte im 200-mm-Rohr $+24^{\circ}$. Daraus berechnet sich $[\alpha]_D = +45,04^{\circ}$.
- II. Eine wässrige Lösung, welche in 10 cbcm. 1,0285 gr. Substanz enthielt, drehte im 20-mm-Rohr $+26,9^{\circ}$. Daraus berechnet sich $[\alpha]_D = +45,25^{\circ}$.

Diese beiden etwa zehnmal aus Weingeist umkrystallisirten Zuckerpräparate gaben also bei der Untersuchung im Polarisationsapparat Zahlen, welche nicht genau auf Dextrose stimmten und erst nach zweimaligem Umkrystallisiren aus Methylalkohol konnte ein völlig reines Dextrosepräparat gewonnen werden, was darauf hindeutet, dass demselben anfänglich eine andere Zuckerart beigemischt war.

Bei der Oxydation des völlig gereinigten Zuckers mit Salpetersäure vom specif. Gew. 1,15 nach den Vorschriften von Gans und Tollens¹⁾ entstand Zuckersäure; dieselbe wurde in das saure Kaliumsalz übergeführt und aus letzterem das Silbersalz dargestellt. Die Analyse desselben gab folgendes Resultat:

0,527 gr. zuckersaures Silber gaben 0,268 gr. Ag. Daraus berechnet sich ein Gehalt von 50,88% Ag. Die theoretische Menge beträgt 50,94% Ag.

Ich erhielt aus 1,5 gr. Zucker 0,527 gr. zuckersaures Silber, eine Ausbeute, welche der von Gans und Tollens aus reiner Dextrose erhaltenen ungefähr entspricht.

Ich oxydirte nun noch zwei andere Krystallisationen und konnte in beiden Fällen zuckersaures Silber gewinnen. Die Analyse der Silbersalze ergab folgende Zahlen:

- I. 0,2866 gr. zuckersaures Silber gaben 0,1455 gr. Ag. Daraus berechnet sich ein Gehalt von 50,76% Ag.
- II. 0,2560 gr. zuckersaures Silber gaben 0,1300 gr. Ag. Daraus berechnet sich ein Gehalt von 50,78% Ag.

¹⁾ Ann. d. Chem. u. Pharm., 249, S. 218.

Es sei noch bemerkt, dass bei der Oxydation dieser Krystallfractionen weniger zuckersaures Silber erhalten wurde und zwar nur circa 70% bzw. 60%, der von Gans und Tollens aus Dextrose erhaltenen Quantität. Auch dieses deutet darauf hin, dass der Dextrose noch eine andere Substanz beigemischt war.

Ich prüfte nun ferner noch das Verhalten des völlig gereinigten Zuckers gegen Hefe und zwar nach der von Stone und Tollen's¹⁾ gegebenen Vorschrift. 0,2 gr. Zucker gaben 47 ccm. Gas, während aus der gleichen Menge Traubenzucker 50 ccm. erhalten wurden.

Schliesslich wurde noch das Osazon durch Erhitzen der wässerigen Zuckerlösung mit der angemessenen Menge essigsauren Phenylhydrazins dargestellt; das ausgeschiedene gelbe Product nach dem Abfiltriren aus kochendem 80proc. Weingeist umkrystallisirt. Dasselbe schmolz bei raschem Erhitzen bei 203°.

Die im Vorigen mitgetheilten Versuchsergebnisse machen es zweifellos, dass bei der Hydrolyse des Tunicins Traubenzucker entstanden war. Dass aber die Krystalle anfangs noch eine geringe Menge eines anderen Zuckers einschlossen, geht aus dem im Vorigen mitgetheilten hervor; dafür spricht ferner auch noch die Thatsache, dass ein Zuckerpräparat, dessen specif. Drehung $+ 45,25^\circ$ war, bei dem Gährversuch nur 37 ccm. Gas lieferte. Dieser Zucker war aber weder Galactose, noch Mannose, noch eine Pentose. Denn bei der Oxydation des Zuckers entstand keine Schleimsäure, die wässrige Lösung des Zuckers gab mit essigsaurem Phenylhydrazin in der Kälte keine Fällung und beim Kochen des Tunicins mit 12proc. Salzsäure liess sich kein Furfurol nachweisen.

Ueberblickt man die bei der Untersuchung des Tunicin bis jetzt gewonnenen Resultate, so muss man zur Ueberzeugung kommen, dass dasselbe eine der Pflanzencellulose in chemischer Hinsicht sehr nahe verwandte und vielleicht sogar

¹⁾ Ann. d. Chem. u. Pharm. 249, S. 259.

mit derselben identische Substanz ist. Denn dasselbe besitzt eine Elementarzusammensetzung, welche sich durch die Formel $C_6H_{10}O_5$ ausdrücken lässt; es wird durch Jod und Schwefelsäure oder Chlorzink und Jod blau oder blauviolett gefärbt; es löst sich in Kupferoxydammoniak, sowie in einem Gemisch von Zinkchlorid und Salzsäure; es ist unlöslich in verdünnten Säuren und Alkalien; es wird durch ein Gemisch von Kaliumchlorat und Salzsäure und darauffolgende Behandlung mit warmem verdünnten Ammoniak nicht aufgelöst; es gibt bei der Behandlung mit einem Gemisch von concentrirter Schwefelsäure und Salpetersäure ein Nitroproduct, welches der Nitrocellulose gleicht; endlich liefert es bei der Hydrolyse Traubenzucker. In allen diesen Punkten stimmt es also mit der Pflanzencellulose überein. Dass die Thiercellulose, wie Berthelot behauptet, eine grössere Resistenzfähigkeit gegen Säuren als die Pflanzencellulose besitzt, habe ich nicht beobachten können.

Dass sich neben Traubenzucker noch eine geringere Menge eines anderen Zuckers gebildet hat, steht mit der von mir entwickelten Ansicht nicht im Widerspruch, denn nach den Untersuchungen von E. Schulze¹⁾ gilt das Gleiche für manche Präparate von Pflanzencellulose.

Ich kann endlich noch mittheilen, dass nach Versuchen, welche Herr Prof. C. Cramer auszuführen die Güte hatte, die Substanz der Tunicatenmäntel, gleich den pflanzlichen Zellwandungen, unter dem Polarisationsmikroskop sehr schön die Erscheinung der Doppelbrechung zeigt²⁾.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 16, S. 427—429.

²⁾ Vergleiche auch die Arbeit von H. Ambronn (Mitthlg. der zoolog. Station zu Neapel, Bd. 9, S. 475).