

Zur Kenntniss der Trehalose.

Von

E. Winterstein.

(Aus dem agricultur-chemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)
(Der Redaction zugegangen am 17. Januar 1894.)

Die Trehalose oder Mykose, ein in wohlausgebildeten rhombischen Prismen krystallisirendes Kohlenhydrat, wurde bekanntlich von Berthelot¹⁾ in der Trehala²⁾, dem Cocon eines Rüsselkäfers, später von Mitscherlich³⁾ im Mutterkorn aufgefunden und untersucht. Schon Wiggers⁴⁾ hatte vor der Entdeckung Berthelot's beobachtet, dass der weingeistige Extract des Mutterkorns Krystalle absetzt, welche in ihren Eigenschaften einem Kohlenhydrat glichen; Pelouze und Liebig⁵⁾ aber erklärten dasselbe für Mannit. Müntz⁶⁾ fand die Trehalose dann in einer Reihe anderer Pilze⁷⁾, ihm verdankt man den sicheren Nachweis, dass Trehalose und Mykose identisch sind⁸⁾.

Versuche zur Lösung der Frage nach den bei Inversion der Trehalose entstehenden Producten machte zuerst Ber-

¹⁾ Sur le tréhalose, nouvelle espèce de sucre. Compt. rend. 1858, 46, p. 1276. Annales de chim. et phys. 1859 (3), p. 273.

²⁾ Notice sur une matière pharmaceutique nommée le Trehala Guibourt, Compt. rend. 1858, 46, p. 1213.

³⁾ Annalen der Pharm., Bd. 106, S. 15; Journ. f. pr. Chem., Bd. 73, S. 15.

⁴⁾ Annalen der Chem. u. Pharm., Bd. 1, S. 129.

⁵⁾ Annalen der Chem. u. Pharm., Bd. 19, S. 285.

⁶⁾ Compt. rend. 76, p. 648.

⁷⁾ Müntz constatirte das Vorhandensein der Trehalose in folgenden Pilzen: Agaricus Eryngii, sulfureus, muscarius, columbetta, Lactarius viridis, Mucor Mucedo, Aethalium septicum.

⁸⁾ Ann. chim. et phys. 1876, 8, p. 59.

thelot¹⁾). Derselbe erhielt nach fünfstündigem Kochen der Trehalose mit circa 5procentiger Schwefelsäure eine gährfähige, die Fehling'sche Lösung reducirende Flüssigkeit; bei kürzerer Kochdauer bekam er unter gleichen Versuchsbedingungen ein Product, welches schwächere Reduction, aber stärkeres Drehungsvermögen zeigte. Berthelot schloss daraus, dass die Trehalose bei längerem Kochen mit Säuren einen Zucker liefere, welcher dem Traubenzucker analog oder mit demselben identisch sei.

Mitscherlich²⁾ erhielt bei Inversion der Trehalose mit Schwefelsäure einen in warzenförmigen Aggregaten krystallisirenden Zucker, welcher mit Hefe ebenso schnell gährte als Stärkezucker, daraus schliesst er, dass der Zucker des Mutterkorns durch Kochen mit Säuren in Stärkezucker umgewandelt wird.

G. Apping³⁾ versuchte zur Kenntniss der Inversionsproducte der Trehalose auf folgendem Weg zu gelangen: Er kochte eine 10procentige Lösung der Trehalose mit 1procentiger Schwefelsäure verschieden lange Zeit, entfernte die Säure mit Baryumcarbonat und untersuchte die Flüssigkeiten im Polarisationsapparat; aus der stets abnehmenden Drehung auch bei länger fortgesetztem Kochen schloss er, dass die Trehalose nur sehr langsam invertirt wird. Einen Theil der bei obigen Versuchen erhaltenen Flüssigkeiten verdunstete er und übergoss den erhaltenen Syrup mit 80procentigem Alkohol, worauf sich nach einigen Tagen charakteristische Krystalle in den Formen der Trehalose ausschieden; die anderen bei längerem Kochen mit Säure erhaltenen Flüssigkeiten lieferten, auf die gleiche Weise behandelt, kurze prismatische zu Drusen vereinigte Krystalle. Auf Grund dieser Resultate spricht Verfasser aus, dass bei Behandlung der Trehalose mit Schwefelsäure neue Zuckerarten entstehen, deren Gemenge die Polarisationsebene mehr nach rechts dreht als Traubenzucker, dass eine dieser Glycosen weit leichter krystallisire als Traubenzucker und dass

¹⁾ Loc. cit.

²⁾ Loc. cit.

³⁾ Untersuchungen über die Trehalamanna, Inaugural-Dissertation, Dorpat 1885.

vielleicht eines der Spaltungsproducte der Trehalose auf alkalische Kupferlösung nicht einwirke.

Ausführlichere Versuche über die bei Inversion der Trehalose entstehenden Zuckerarten wurden dann von C. Böning¹⁾ im Laboratorium Dragendorffs angestellt. Derselbe erhitzte 30 gr. Trehalose mit 300 cbcm. 4procentiger Schwefelsäure 6 Stunden lang gelinde am Rückflusskühler; die mittelst Baryumcarbonats von der Säure befreite Flüssigkeit kochte er mit Thierkohle, dampfte zum Syrup ein und extrahirte Letzteren mit 90procentigem Alkohol; aus dieser alkoholischen Lösung wurde durch Aether ein Product gefällt, welches durch Umkrystallisiren gereinigt wurde. Aus einer gesättigten 70procentigen weingeistigen Lösung dieser Producte konnte er auf Zusatz von absolutem Alkohol Krystalle zur Abscheidung bringen, welche in ihrer Krystallform mit der Trehalose übereinstimmten. Böning ermittelte nun die Löslichkeit seines erhaltenen Inversionsproductes in Wasser und Alkohol verschiedener Concentration, bestimmte seine specifische Drehung²⁾, sowie den Wirkungswerth gegen Fehling'sche Lösung und gelangte auf Grund seiner Versuchsergebnisse zum Resultat, dass das erhaltene Inversionsproduct kein einheitlicher Körper sei und dass, wie auch Apping schon ausgesprochen, eines dieser Producte auf Fehling'sche Lösung nicht einwirkt.

Nachdem aus dem erhaltenen Inversionsproduct noch Acetylderivate und Verbindungen mit Basen dargestellt und untersucht worden waren, spricht Böning die Vermuthung aus, dass möglicherweise eines der Producte unveränderte Trehalose sein könne; es gelang ihm aber nicht, durch Fällen mit Bleiessig oder Umkrystallisiren aus Alkohol eine Trennung der Producte zu bewerkstelligen. Erst nach einem Jahre machte er die zufällige Beobachtung, dass sich aus den vereinigten alkoholischen Mutterlaugen Krystalle abgesetzt hatten. Dieselben zeigten bei der Untersuchung im Polarisationsapparat ein

¹⁾ Untersuchungen des Inversionsproductes der aus *Trehala manna* stammenden Trehalose, Inaugural-Dissertation, Dorpat 1888.

²⁾ Die erhaltenen Producte zeigten ein Drehungsvermögen von $+69,2^{\circ}$ bis zu einem Maximum von $+76,9^{\circ}$.

Drehungsvermögen von $+53^\circ$, sie reducirten Fehling'sche Lösung beinah ebenso stark, wie Traubenzucker und schmolzen bei $145,5^\circ$ C. Aus diesen Resultaten folgert Böning, dass die Trehalose bei der Inversion Dextrose liefere und dass das von der Dextrose abweichende Verhalten des beim Kochen mit Säuren entstandenen Productes sich auf rückständige, unveränderte Trehalose zurückführen lässt.

Einen weiteren Beitrag zur Lösung der Frage über die Inversionsproducte der Trehalose machte Maquenne¹⁾, derselbe bestimmte die Menge des aus dem Inversionsproducte der Trehalose beim Erhitzen mit essigsäurem Phenylhydrazin gebildeten Osazons und verglich die Quantität an letzterer mit derjenigen aus reinem Traubenzucker entstehenden Osazonsmenge; die Uebereinstimmung der in beiden Fällen erhaltenen Ausbeuten veranlasste ihn zur Schlussfolgerung, dass die Trehalose bei der Inversion lediglich Glucose — worunter hier wahrscheinlich Traubenzucker gemeint ist — liefere.

Es liegt über diesen Gegenstand auch eine Aeusserung Dragendorff's²⁾ vor; derselbe erklärte, dass bei der Inversion der Trehalose eine der Dextrose nahestehende Zuckerart entstehe, welche sich aber von der letzteren durch ihr Krystallisationsvermögen und dadurch unterscheide, dass ihre Hydrazinverbindung einen abweichenden Schmelzpunkt zeigt²⁾: Man darf wohl annehmen, dass diese Aeusserung Dragendorff's sich auf die Ergebnisse stützt, welche Böning anfangs bei seinen Untersuchungen erhalten hat.

Trotzdem nun durch die mitgetheilten Untersuchungen bewiesen ist, dass bei Inversion der Trehalose Traubenzucker entsteht, so ist doch die Frage, ob die letztere Zuckerart das einzige Inversionsproduct der Trehalose ist, noch nicht entschieden worden. Die Schlussfolgerung Maquenne's kann nur unter der Voraussetzung gelten, dass nicht neben der Dextrose eine bisher unbekannte ähnliche Zuckerart entsteht, als einwurfsfrei bezeichnet werden.

¹⁾ Compt. rend. 112, p. 947.

²⁾ 60. Naturf.-Versammlung Wiesbaden, Sect. f. Pharm., Pharmaceutische Zeitung 32, S. 542.

Da ich bei Verarbeitung von Steinpilzen (*Boletus edulis*) in Besitz einer grösseren Quantität reiner Trehalose gelangte, so habe ich mich veranlasst gesehen, obige Frage einer experimentellen Prüfung zu unterziehen. Ich habe den Besitz eines reinen Trehalosepräparates aber auch benutzt, um die über die Eigenschaften dieses Kohlenhydrats in der Litteratur sich findenden Angaben zu controliren.

Im Folgenden mache ich zunächst Mittheilung über die Darstellung der Trehalose. Einige Kilogramm lufttrockener Pilze wurden zunächst, um sie recht fein pulverisiren zu können, 12 Stunden scharf getrocknet, darnach auf einer Mühle fein gemahlen. Das Pulver wurde nun mit Aether in der Kälte wiederholt extrahirt und schliesslich in einem Turner'schen Fettextractionsapparat in der Wärme noch möglichst vollständig entfettet; das so entfettete Pulver wurde nun in einem grossen Kupferkessel längere Zeit am Rückflusskühler mit circa 90proc. Alkohol ausgekocht und der gewonnene braune alkoholische Extract noch warm vom Ungelösten abfiltrirt; das Filtrat wurde sodann von dem ziemlich compacten, amorphen Bodensatz, welcher sich nach mehrstündigem Stehen gebildet, abgossen und die klare dichroitische Flüssigkeit an einem kalten Ort stehen gelassen. Der nach der ersten Extraction verbliebene Rückstand wurde nun noch einige Male auf beschriebene Weise mit Alkohol behandelt und zuletzt noch mit 80proc. Alkohol ausgekocht. Aus den ersten vermittelst 90proc. Alkohols gewonnenen Extracten schieden sich nach mehrtägigem Stehen an einem kalten Orte an den Wandungen der Gefässe grosse, deutlich ausgebildete, glänzende Krystalle aus; auch die letzten Auszüge setzten noch kleine Mengen derselben ab. Als die Quantität dieser Krystalle nicht mehr zunahm, wurde der Alkohol abgossen, die von den Wandungen abgelösten Krystalle mit kaltem 95proc. Alkohol und einige Male mit Aether abgewaschen, darauf in Wasser gelöst und diese Lösung mit etwas Bleiessig und Tannin versetzt¹⁾; ich filtrirte vom

¹⁾ Diese Behandlung ist nothwendig, um eine Verunreinigung zu entfernen, die in geringer Menge vorhanden war, aber doch die wässerige Lösung unfiltrirbar machte. In einigen Fällen bedurfte es wiederholten Ausfällens mit Bleiessig, um diese Beimengung zu entfernen.

Ausgeschiedenen ab und entfernte im Filtrat das überschüssige Blei durch Schwefelwasserstoff; die vom Bleisulfid getrennte Flüssigkeit dampfte ich zum Syrup ein und extrahirte letzteren in der Wärme mit 90—95 proc. Alkohol; die aus den alkoholischen Extracten gewonnenen Krystalle wurden wiederholt aus Wasser und zuletzt aus kochendem 95proc. Alkohol umkrystallisirt. Die so gewonnenen Präparate besaßen folgende Eigenschaften: es waren schöne farblose, glasglänzende, deutlich ausgebildete Krystalle des rhombischen Systems im Wasser ziemlich leicht, in warmem hochprocentigen Alkohol schwer, in kaltem beinahe unlöslich; in der Capillare erhitzt, schmolzen sie bei 101° , die wässrige Lösung dieser Krystalle reducirte Fehling'sche Lösung nicht, diese Lösung ist stark rechtsdrehend. Eine wässrige Lösung, welche in 10 ccm. 1 gr. enthielt, drehte im Soleil-Ventzke'schen Polarisationsapparat in 200 mm-Rohr bei Zimmertemperatur $102,5$ S.-V. nach rechts; daraus berechnet sich eine spezifische Drehung von $[\alpha]_D = +177,32^{01}$. Eine wässrige Lösung, welche in 10 ccm. 0,9 gr. enthielt, drehte im 200 mm.-Rohr bei Zimmertemperatur $92,1^{\circ}$ S.-V. nach rechts; daraus berechnet sich $[\alpha]_D = +177,03^{\circ}$. Eine wässrige Lösung, welche in 10 ccm. 0,8 gr. enthielt, drehte bei Zimmertemperatur im 200 mm.-Rohr $82,5^{\circ}$ S.-V. nach rechts; daraus berechnet sich $(\alpha)_D = +174,66^{\circ}$. Aus diesen 3 Zahlen ergibt sich im Mittel das spezifische Drehungsvermögen der krystallwasserhaltigen Trehalose für $[\alpha]_D = 176,33^{\circ}$. In verdünnterer Lösung ist das Drehungsvermögen geringer.

Die Krystalle konnten ohne Zersetzung längere Zeit über 130° erhitzt werden, wobei sie 9% Wasser, beim Erhitzen auf etwa 150° noch 0,42% Wasser²⁾ abgaben. Bei längerem Erhitzen mit Invertin auf 40° wurde die wässrige Lösung meiner Präparate invertirt.

¹⁾ Nach Berthelot (l. c.) beträgt das spezifische Drehungsvermögen der Trehalose für $[\alpha]_D + 208^{\circ}$, nach Mitscherlich $[\alpha]_D = +173,3^{\circ}$ (Tollens Handbuch der Kohlenhydrate, S. 154.) Appingl, c. S. 34 fand $[\alpha]_D = +180,6^{\circ}$. Diese Zahlen beziehen sich auf krystallwasserhaltige Substanz.

²⁾ Die Theorie verlangt 9,52% H_2O .

Aus den im Vorigen mitgetheilten Versuchsergebnissen kann mit aller Sicherheit geschlossen werden, dass das von mir erhaltene Kohlenhydrat Trehalose war. Die Auffindung von Trehalose in getrockneten Pilzen konnte insofern überraschen, als Bourquelot¹⁾ angibt, dass er das genannte Kohlenhydrat nur in frischen Pilzen gefunden habe; getrocknete Pilze lieferten ihm keine Trehalose mehr, er nimmt an, dass dieselben während des Trocknens durch einen Vorgang, welcher demjenigen des Reifens ähnlich sei, in Mannit umgewandelt werde. Worin diese Verschiedenheit der von Bourquelot und mir erhaltenen Resultate bedingt ist, vermag ich nicht zu entscheiden.

Nachdem ich auf angegebene Weise eine grosse Quantität sehr reiner Trehalose dargestellt hatte, suchte ich zunächst festzustellen, unter welchen Bedingungen eine vollständige Inversion dieses Kohlenhydrats zu erreichen und zugleich die grösste Ausbeute an Glucose zu erzielen ist. Zu diesem Zwecke stellte ich folgende Versuche an: Abgewogene Menge Substanz wurde eine bekannte Zeit mit einem bekannten Volumen verdünnter Säure bestimmter Concentration gekocht, die Flüssigkeit darauf neutralisirt und in einem aliquoten Theil derselben die gebildete Glucose nach der Allihn'schen Methode bestimmt und als Dextrose berechnet.

1 gr. Substanz wurde mit 100 ccm. $\frac{1}{5}$ normaler Salzsäure genau eine Stunde gekocht. 20 ccm. dieser Lösung gaben im Mittel aus zwei Bestimmungen folgende Resultate:

Nach 1stündigem Kochen	0,0984 gr. Cu = 0,0501 gr. Dextrose oder 25,05%.
2	» 0,1735 » » = 0,08875 » » 44,37 »
3	» 0,2390 » » = 0,1234 » » 61,70 »
4	» 0,2886 » » = 0,1503 » » 75,15 »
5	» 0,299 » » = 0,1560 » » 78,0 »
6	» 0,3180 » » = 0,1664 » » 83,20 »
7	» 0,3446 » » = 0,1813 » » 90,65 »

¹⁾ Comp. rend. 111, p. 534. Chem. Centralblatt 1890, II, 882. Aus getrocknetem *Cantharellus cibarius* (Pfifferling) habe ich keine Trehalose abscheiden können.

Beim Kochen mit 100 ccm. normaler Salzsäure erhielt ich, unter Anwendung gleicher Quantitäten von Zucker und Flüssigkeit wie oben, folgende Zahlen:

Nach 1stündigem Kochen 0,3510 gr. Cu = 0,1849 gr. Dextrose oder 92,45 %
 » 2 » » 0,3540 » » = 0,1860 » » » 93,30 »

Da man die Inversion am zweckmässigsten mit Schwefelsäure ausführt, so habe ich gleiche Versuche mit derselben angestellt. Die Resultate ergeben sich aus folgender Tabelle. 1 gr. Substanz wurden mit 50 ccm. $\frac{1}{2}$ -normaler Schwefelsäure gekocht, 10 ccm. gaben:

Nach 2stündigem Kochen 0,2250 gr. Cu = 0,1159 gr. Dextrose oder 57,95 %
 » 5 » » 0,3442 » » = 0,1810 » » » 90,50 »

Beim Kochen mit 100 ccm. 4procentiger Schwefelsäure gab 1 gr. Substanz folgende Resultate:

Nach 3stündigem Kochen 0,3185 gr. Cu = 0,1667 gr. Dextrose oder 83,35 %
 » 5 » » 0,3580 » » = 0,1889 » » » 94,45 »

Nach fünfstündigem Kochen mit normaler Schwefelsäure erhielt ich ebenfalls 94,45 % und nach siebenstündigem Kochen mit Säure angegebener Concentration hatte sich die Quantität der gebildeten Glucose vermindert: ich erhielt nur noch 91,85 % Dextrose.

Die gewonnenen Resultate zeigen also, dass die Inversion der Trehalose nur sehr allmähig verläuft, eine Thatsache, die bereits von C. Apping¹⁾ und G. Böning²⁾ beobachtet, wenn auch nicht quantitativ verfolgt worden ist. Es ist mir aber nicht gelungen, die theoretische Ausbeute³⁾ an Zucker ganz vollständig zu erhalten, was wohl auf eine partielle Zerstörung der gebildeten Glucose oder auf eine Reversion zurückzuführen ist.

Nach diesen Versuchsergebnissen erschien es angezeigt, behufs vollständiger Inversion die Trehalose 5 Stunden mit normaler Schwefelsäure zu kochen; ich habe es aber, da die Abnahme der Glucosequantität bei siebenstündigem Kochen nur eine unbedeutende war, angemessen gefunden, 6 Stunden zu kochen und verfuhr demgemäss wie folgt: Ich erhitzte 70 gr. reiner Trehalose mit 2 Liter 5procentiger Schwefel-

1) Loc. cit.

2) Loc. cit.

3) Die theoretische Ausbeute beträgt 95,24 %

säure 6 Stunden am Rückflusskühler, nach Beendigung des Kochens wurde die Flüssigkeit mit Barythydrat nahezu neutralisirt; das schwach saure Filtrat vom BaSO_4 concentrirte ich bei gelinder Wärme, entfernte die noch vorhandene Säure mit Baryumcarbonat und verdunstete die Flüssigkeit zur Syrupconsistenz. Ich erhielt auf diese Weise einen hellgelben Syrup, aus welchem sich nach Verlauf von 24 Stunden warzenförmige Krystalle ausschieden, nach einer Woche hatte sich der Syrup in eine feste Krystallmasse verwandelt, welche ganz das Aussehen von Traubenzucker besass. Die Quantität dieser Krystalle betrug circa 65 gr. Es war nun festzustellen, ob dieses Inversionsproduct neben Dextrose noch eine andere Glucose einschloss. Zur Entscheidung dieser Frage suchte ich auf folgendem Weg zu gelangen: Die fein zerriebene Krystallmasse wurde in einem Erlenmeyerkolben mit circa 200 ccm. 95procentigem Alkohol übergossen und eine kurze Zeit am Rückflusskühler gekocht; der so gewonnene alkoholische Auszug wurde, nachdem der entstandene ungelöste Syrup sich abgesetzt hatte, abgegossen und in einer flachen Schale zur Verdunstung über Schwefelsäure gebracht; den zurückgebliebenen Syrup kochte ich dann mit einer grösseren Quantität 95procentigem Alkohol längere Zeit, hierbei ging der grösste Theil in Lösung; den ungelösten Rest zog ich noch zwei Mal mit kleineren Quantitäten Alkohols aus und stellte auf diese Weise 4 weingeistige Lösungen dar; nach dieser wiederholten Extraction hinterblieb noch eine kleine Menge eines braunen Rückstandes, welcher nach einigen Wochen krystallinisch erstarrt war. Alle die 4 Extracte lieferten beim Verdunsten über Schwefelsäure Krystalle. Die Quantitäten der erhaltenen Krystalle differirten stark, da ich beim Auskochen nicht gleichviel Weingeist zur Anwendung brachte; die erste Fraction gab ungefähr 10, die zweite 34, die dritte 8 und die vierte 10 gr.

Ich untersuchte nun zunächst die 4 einzelnen Fractionen ohne sie von den Mutterlaugen abzupressen und ohne dieselben noch einmal umzukrystallisiren, da ja möglicherweise eines der entstandenen Producte dadurch hatte entfernt werden können.

Bei der Untersuchung der einzelnen Fractionen erhielt ich nun folgende Resultate:

I. Fraction.

Eine wässrige Lösung, welche in 10 ccm. 1,025 gr. enthielt, drehte nach 24 Stunden im 100 mm.-Rohr bei Zimmertemperatur + 13,8° S.-V. nach rechts, daraus berechnet sich $[\alpha]_D = +46,6^\circ$.

Das in bekannter Weise dargestellte Osazon schmolz bei 201°. 2 gr. wurden nach den von Gans und Tollens gegebenen Verfahren mit Salpetersäure vom spec. Gewicht 1,15 oxydirt, das erhaltene Product in das Kaliumsalz übergeführt und aus Letzterem das Silber-salz dargestellt. Bei der Silberbestimmung im Letzteren erhielt ich nachstehende Zahlen: 0,1416 gr. zuckersaures Silber gaben 0,0714 gr. Ag = 50,43^o 1).

Ferner prüfte ich noch das Verhalten gegen Hefe und zwar nach der von Stone und Tollens gegebenen Vorschrift 2). 0,2 gr. Zucker gaben 14,5 ccm. Gas, während aus der gleichen Menge Trauben-Zucker 15 ccm. erhalten wurden.

II. Fraction.

Eine wässrige Lösung, welche in 10 ccm. 0,860 gr. enthielt, drehte nach 24 Stunden bei Zimmertemperatur im 200 mm.-Rohr 26,2° S.-V. nach rechts, daraus berechnet sich $[\alpha]_D = 52,7^\circ$. Das Osazon schmolz bei 202°. Die Silberbestimmung im zuckersauren Silber ergab Folgendes: 0,3607 gr. Substanz gaben 0,1838 gr. = 50,94 %. Bei der Gährung mit Hefe gaben 0,1 gr. Zucker 14 ccm. Gas, reiner Traubenzucker lieferte 15 ccm.

III. Fraction.

Eine wässrige Lösung, welche in 10 ccm. 0,9798 gr. enthielt, drehte nach 24 Stunden im Rohr 30,5° S.-V. nach rechts, daraus berechnet sich $[\alpha]_D = +53^\circ$. Das Osazon schmolz bei 201°. Die Silberbestimmung im zuckersauren Silber ergab folgende Zahlen: 0,281 gr. Substanz gaben 0,1430 gr. Ag = 50,88 %. Bei der Gährung mit Hefe erhielt ich 13 ccm. Gas, während die gleiche Menge reiner Traubenzucker unter gleichen Versuchsbedingungen 15 ccm. lieferte.

IV. Fraction.

Eine wässrige Lösung, welche in 16 ccm. 1,0672 gr. enthielt, drehte nach 24 Stunden bei Zimmertemperatur im 200 mm.-Rohr 26,4° S.-V. nach rechts, daraus berechnet sich ein spezifisches Drehungsvermögen von $[\alpha]_D = +44,9^\circ$. Das, wie oben beschrieben, dargestellte Osazon schmolz bei + 200°. Bei der Silberbestimmung im zuckersauren Silber erhielt ich folgende Zahlen: 0,4460 gr. gaben 0,2236 gr. Ag

1) Die Theorie verlangt 50,94° Ag.

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

= 50,14%. Bei der Gährung mit Hefe lieferten mir 0,1 gr. Zucker 12 cbcm. Gas, ein paralleler Versuch mit reinem Traubenzucker gab 15 cbcm. Gas.

Es ist hier zunächst darauf aufmerksam zu machen, dass Krystallisation II, deren Quantität mehr als die Hälfte der ganzen Krystallmasse betrug, ein Drehungsvermögen zeigte, welches mit demjenigen des Traubenzuckers genau ubereinstimmt¹⁾. Die Fraction III zeigte ein etwas höheres, die Fractionen I und IV ein etwas geringeres Drehungsvermögen; doch sind die Differenzen nicht so gross, dass sie nicht auf das Vorhandensein geringer Mengen von Nebenproducten zurückgeführt werden könnten.

Die im Vorigen mitgetheilten Versuchsergebnisse sprechen schon dafür, dass Traubenzucker das einzige Inversionsproduct der Trehalose ist.

Ich krystallisirte nun die erste und zweite Fraction der in obigen Versuchen erhaltenen Krystalle aus Weingeist um, wobei ich sie wieder in mehrere Krystallisationen zerlegte, die durch Abpressen von der Mutterlauge getrennten und sorgfältig getrockneten Preparate gaben bei der Untersuchung im Polarisationsapparat folgende Resultate:

Eine wässerige Lösung des ersten Preparats aus der oben erwähnten ersten Fraction, welche in 10 cbcm. 0,4400 gr. enthielt, drehte nach 24 Stunden bei Zimmertemperatur im 200 mm.-Rohr 12,9° S.-V. nach rechts, daraus berechnet sich $[\alpha]_D = +50,72^\circ$.

Eine wässerige Lösung des zweiten Preparats, welche in 10 cbcm. 0,9067 gr. enthielt, drehte nach 24 Stunden bei Zimmertemperatur im 200 mm.-Rohr 26° S.-V. nach rechts. Daraus berechnet sich $[\alpha]_D = +49,60^\circ$.

Eine wässerige Lösung des ersten Preparats (aus der oben erwähnten zweiten Fraction), welche in 10 cbcm. 1,1003 gr. enthielt, drehte bei Zimmertemperatur im 200 mm.-Rohr + 33,1° S.-V. nach rechts. Daraus berechnet sich $[\alpha]_D = +52,05^\circ$.

Eine wässerige Lösung des zweiten Preparats, welche in 10 cbcm. 0,7039 gr. enthielt, drehte bei Zimmertemperatur im 200 mm.-Rohr + 20,4° S.-V. nach rechts. Daraus berechnet sich $[\alpha]_D = +50,19^\circ$.

¹⁾ Die Zahlen beziehen sich auf wasserfreie Substanz. Das anfängliche Drehungsvermögen war grösser, es war also Biorotation vorhanden.

Die Zahlen liegen den für das Drehungsvermögen des Traubenzuckers angegebenen sehr nahe. Das spezifische Drehungsvermögen reiner Dextrose beträgt in 10proc. wässriger Lösung $+ 52,74^{\circ}$, in verdünnterer Lösung etwas weniger. Bekanntlich erhält man ganz reine Dextrose nur durch wiederholtes Umkrystallisiren aus Aethyl- bzw. Methylalkohol. Es ist noch besonders hervorzuheben, dass keines der Präparate ein Drehungsvermögen zeigte, welches höher als dasjenige des Traubenzuckers ist¹⁾.

Ich bestimmte nun bei Fraction II (vergl. oben) die Ausbeute an zuckersaurem Silber; ich erhielt hierbei aus 5 gr. Substanz 1,2 gr. des genannten Salzes; bei ganz gleichen Versuchsbedingungen lieferten mir 5 gr. reiner Traubenzucker im Mittel 1,1 gr. Ein Befund, welcher im Verein mit den oben angeführten Versuchsergebnissen beweist, dass die Fraction II, deren Quantität mehr als die Hälfte ausmachte, aus Traubenzucker bestand.

Dass Fraction I, deren Drehungsvermögen anfänglich nur $= + 46^{\circ}$, gefunden war, der Hauptsache nach auch aus Traubenzucker bestand, geht aus dem Umstande hervor, dass bei dem Umkrystallisiren Präparate erhalten wurden, deren spezifisches Drehungsvermögen mit dem für Traubenzucker angegebenen Zahlen heinahe übereinstimmt. Dass Product III und IV, welche nur einen kleinen Theil des bei Inversion gewonnenen Productes ausmachten, im Wesentlichen aus Traubenzucker bestand, beweist die Gährfähigkeit derselben mit Hefe, die Bildung von Zuckersäure bei der Oxydation und der Schmelzpunkt der daraus erhaltenen Osazone. Dass in denselben neben Traubenzucker geringe Mengen von Reversions- oder Zersetzungsproducten sich vorfanden, kann als wahrscheinlich angenommen werden; dafür spricht auch die gelbe Farbe der wässrigen Lösungen dieser Krystallfractionen.

Ich habe nun endlich noch folgenden Versuch angestellt: 5 gr. reiner Trehalose wurden mit 200 ccm. 5proc. Schwefelsäure 6 Stunden am Rückflusskühler gekocht, die vermittelst Barythydrats von der Schwefelsäure befreite Flüssigkeit dunstete ich vorsichtig zum Syrup ein und oxydirte denselben nach

den von Gans und Tollens¹⁾ gegebenen Vorschriften mit Salpetersäure vom specif. Gew. 1,15, aus dem Oxydationsproducte wurde das Kaliumsalz dargestellt und das Letztere in das Silbersalz übergeführt. Ich erhielt auf diese Weise aus 5 gr. Trehalose 1,1 gr. zuckersaures Silber, also ungefähr diejenige Quantität, welche entstehen musste unter der Annahme, dass Traubenzucker das einzige Inversionsproduct der Trehalose ist.

Hält man alle die mitgetheilten Thatsachen zusammen, so kann man nicht daran zweifeln, dass aus der Trehalose bei der Inversion keine andere Glucose als Traubenzucker entsteht. Im völligen Einklang damit stehen noch folgende Versuchsergebnisse: 5 gr. Trehalose wurden mit 60 ccm. Salpetersäure vom sp. Gew. 1,15 bei gelinder Wärme zum Syrup eingedampft, derselbe nach dem Erkalten mit Wasser versetzt und stehen gelassen; es hatten sich nach mehreren Tagen keine Krystalle von Schleimsäure ausgeschieden; dieser Befund beweist die Abwesenheit von Galactose. Bei der Destillation von 1 gr. Trehalose mit 100 ccm. 10proc. Salzsäure entstand kein Furfurol, woraus hervorgeht, dass die Trehalose keine Pentosen enthält. Die wässerigen Lösungen der erhaltenen 4 Fractionen (vergl. o.) gaben mit essigsauerm Phenylhydrazin in der Kälte keine Fällung; dieses Ergebniss endlich beweist die Abwesenheit von Mannose in dem aus Trehalose entstandenen Inversionsproduct. Ich erhielt also bei Prüfung auf Galactose, Mannose und Pentosen völlig negative Resultate.

Wenn nun andere Versuchsansteller²⁾ bei Inversion der Trehalose Producte erhielten, welche stärker als Traubenzucker drehten, so ist dies darauf zurückzuführen, dass diesen Producten noch unveränderte Trehalose beigemischt war, wie auch schon von Böning³⁾ vermuthet worden ist. Auch ich erhielt bei 5stündigem Kochen mit nur 3proc. Schwefelsäure Krystalle, deren specifisches Drehungsvermögen für $[\alpha]_D = 58,88^\circ$ war, wie aus nachstehenden Zahlen zu ersehen ist. Eine wässerige

¹⁾ Annalen 249, S. 218.

²⁾ Vergleiche G. Apping loc. cit. und G. Böning loc. cit.

³⁾ Loc. cit.

Lösung, welche in 10 ebem. 0,355 gr. enthielt, drehte nach 24 Stunden bei Zimmertemperatur im 200 mm-Rohr + 12,1° S.-V. nach rechts. Selbst nach mehrfachem Umkrystallisiren aus 95 proc. Weingeist zeigte dasselbe noch ein spezifisches Drehungsvermögen von $[\alpha]_D = +55^\circ$, wie aus nachstehenden Zahlen ersichtlich ist. Eine wässrige Lösung, welche in 10 ebem. 1,0845 gr. enthielt, drehte bei Zimmertemperatur im 200 mm.-Rohr 34,5° S.-V. nach rechts.

Ich habe auch noch das Moleculargewicht der Trehalose nach der Gefriermethode mittelst des Beckmann'schen Apparates bestimmt und Werthe erhalten, welche innerhalb der Fehlergrenzen auf die Formel $C_{12}H_{22}O_{11}$ stimmen, wie aus nachstehenden Daten zu erschen ist.

- I. Eine wässrige Lösung, welche in 20 gr. 0,9866 gr. Substanz enthielt, gab eine Temperaturerniedrigung von 0,29°. Daraus berechnet sich das Moleculargewicht zu 322.
- II. Eine wässrige Lösung, welche in 20 gr. 1,2830 gr. Substanz enthielt, gab eine Temperaturerniedrigung von 0,37°. Daraus berechnet sich das Moleculargewicht zu 326.
- III. Eine wässrige Lösung, welche in 20 gr. 1,6725 gr. Substanz enthielt gab eine Temperaturerniedrigung von 0,47°. Daraus berechnet sich das Moleculargewicht zu 336.

Maquenne erhielt bei der Moleculargewichtsbestimmung der Trehalose im Mittel 350.

Die Trehalose gleicht demnach in einigen Punkten der Maltose: sie hat dasselbe Moleculargewicht und gibt bei der Inversion ebenfalls nur Traubenzucker. Sie unterscheidet sich von der Maltose dadurch, dass sie die Fehling'sche Lösung nicht direct reducirt und beim Erhitzen mit essigsauerm Phenylhydrazin kein Osazon liefert¹⁾. Diese Verschiedenheit im Verhalten muss auf eine Verschiedenheit der Constitution zurückgeführt werden und es ist wohl sehr wahrscheinlich, dass bei der Bildung der Trehalose aus zwei Dextrose-Moleülen die beiden Aldehydgruppen durch Anhydridbildung verändert sind, während in der Maltose eine Aldehydgruppe erhalten ist.

¹⁾ E. Fischer, Ber. d. deutsch. chem. Gesellschaft, Bd. 17, S. 583.