

Ueber die Farbenreactionen von Zuckern.

Von
Carl Neuberg.

(Aus dem chemischen Laboratorium des pathologischen Instituts zu Berlin.)

Der Redaction zugegangen am 16. December 1900.

Die Farbenreactionen (Furfurohreactionen) auf Kohlehydrate finden wegen der Leichtigkeit ihrer Anstellung ausgedehnte Anwendung, insbesondere macht die physiologische Chemie einen wichtigen Gebrauch von derselben bei dem Nachweis von Kohlehydratgruppen in Eiweisskörpern und complicirten Substanzgemischen, wo sie an Feinheit alle übrigen Proben weit übertreffen und oft das einzige brauchbare Reagens bilden.

Da diese Farbenreactionen nicht nur zur Erkennung von Kohlehydraten im Allgemeinen, sondern bis zu einem gewissen Grade auch zur Differenzirung einzelner Zuckerarten dienen, so ist die Frage nach ihrer Eindeutigkeit nicht unwichtig. Die natürlich vorkommenden Zuckerarten und Oxyaldehydsäuren sind bereits nach dieser Richtung hin geprüft, bei den synthetischen,¹⁾ besonders bei den niederen Gliedern dieser Gruppe steht eine solche Untersuchung noch aus und soll im Folgenden mitgetheilt werden.

Für den vorliegenden Zweck sind nur die vier wichtigsten

¹⁾ In der Natur sind diese Substanzen bisher nicht beobachtet, aber ihr Vorkommen erscheint durchaus nicht ausgeschlossen, zumal nahestehende Derivate derselben weit verbreitet sind, z. B. die Weinsäure, der Erythrit, das Glycerin, die Glycolsäure u. s. w. Wie leicht diese aber durch biologische Processe in Zuckerarten übergehen können, zeigen die Arbeiten von Bertrand (Compt. rend. de l'Acad. 129. 311) und Boutroux (Compt. rend. de l'Acad. 102. 924 und 127. 1224).

Farbenreactionen herangezogen, die Proben mit α -Naphtol, Resorcin, Phloroglucin und Orcin.

Angestellt sind dieselben in der zur Zeit üblichen Art, die kurz beschrieben sei, da sie bisweilen etwas von der ursprünglich angegebenen Form verschieden ist.

I. α -Naphtolprobe von Molisch-Udránszky.¹⁾

1/2 ccm. der verdünnten wässerigen Kohlehydratlösung wird mit einem Tropfen kaltgesättigter alkoholischer α -Naphtol-lösung versetzt und vorsichtig mit 1 ccm. concentrirter Schwefelsäure unterschichtet; an der Berührungsstelle beider Schichten tritt alsbald ein violetter Ring auf. (Sind Spuren von salpetriger Säure zugegen, so entsteht gleichzeitig ein hellgrüner Saum.) Bewirkt man nun durch Schütteln gleichmässige Mischung beider Schichten, wobei man durch Eintauchen in kaltes Wasser zu starker Erwärmung vorbeugt, so nimmt die Flüssigkeit einen rothen bis blauvioletten Farbenton an und zeigt vor dem Spektroskop eine Totalabsorption des blauen und violetten Theils, sowie einen schmalen Streifen zwischen den Fraunhofer'schen Linien D und E, der alsbald verschwindet.

II. Resorcinprobe von Seliwanoff.²⁾

Man erhitzt eine Spur der Zuckerlösung mit 2 ccm. eines Gemisches von rauchender Salzsäure und dem gleichen Volumen Wasser und fügt einige Krystalle Resorcin hinzu. Beim Erwärmen färbt sich die Flüssigkeit tiefroth und lässt allmählich einen braunrothen Farbstoff ausfallen, der sich in Alkohol wieder mit tiefrother Farbe löst.

III. Phloroglucinprobe von Tollens.³⁾

Zu einigen Cubikcentimetern rauchender Salzsäure fügt man soviel verdünnte wässerige Zuckerköslung, dass der Salzsäuregehalt der Flüssigkeit ungefähr gleich dem einer Säure

1) Molisch, Wien. Monatshefte f. Chemie, 7. 198.

v. Udránszky, diese Zeitschrift, Bd. XII, S. 358.

2) Seliwanoff, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch., 20, 181.

3) Tollens und seine Mitarbeiter, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch., 22. 1046; 29. 1202. Ann. d. Chem., 254, 329; 260, 304.

vom specifischen Gewicht 1.09 — ca. 18% ist, und setzt soviel Phloroglucin hinzu, dass in der Wärme etwas ungelöst bleibt. Beim Erhitzen tritt bald eine kirschrothe Färbung auf und allmählich scheidet sich ein dunkler Farbstoff ab. Nach dem Erkalten schüttelt man diesen¹⁾ am besten mit Amylalkohol aus; die rothe amyalkoholische Lösung zeigt vor dem Spektroskop einen Absorptionsstreifen in der Mitte zwischen D und E.

IV. Orcinprobe von Tollens.²⁾

Beim Erwärmen der Zuckerlösung mit etwas Orcin und soviel Salzsäure, dass der Gehalt an derselben in der Flüssigkeit ungefähr 18% beträgt, treten nach einander erst Roth-, dann Violett- und schliesslich Blaugrünfärbung auf und bald beginnt die Abscheidung blaugrüner Flocken. Man löst auch diese nach E. Salkowski am besten in Amylalkohol zu einer blaugrünen Flüssigkeit, die einen Absorptionsstreifen zwischen C und D zeigt, derart, dass ein Theil des Gelb noch sichtbar bleibt.

Die Erfahrungen, die man bisher mit den angegebenen Reactionen in der beschriebenen Form gemacht, sind folgende:

I. Die α -Naphtholprobe wird in mehr oder minder schöner Weise von allen Kohlehydraten gegeben, die daraufhin geprüft sind.

II. Die Resorcinprobe fällt positiv aus nur mit den Ketosen (Galactose³⁾, Tagatose, η -Tagatose, Sorbose und Fruchtzucker oder mit den Polysacchariden, die bei der Hydrolyse Fructose liefern, wie Rohrzucker und Raffinose.

III. und IV. Die Phloroglucin- und Orcinreaction gelten als charakteristisch für Pentosen und die Pentosen-carbonsäure Glucuronsäure, resp. für Verbindungen, die durch Hydrolyse diese Produkte liefern, d. h. die Pentosane und die gepaarten Glucuronsäuren.⁴⁾

1. E. Salkowski, Centralbl. f. d. med. W., 1892, Nr. 32.

2. Tollens, Ann. d. Chem., 260, 395.

3. Lobry de Bruyn u. A. van Ekenstein, Rec. des trav. chim. des Pays-Bas, 16, 262.

4. Ueber das Verhalten der gepaarten Glucuronsäuren im Harn bei der Orcin- u. Phloroglucinprobe siehe: E. Salkowski, Diese Zeitschrift, Bd. XXVII, S. 514 u. 517; F. Blumenthal, Zeitschr. f. klin. Medic., 37.

Auf ihr Verhalten bei den erwähnten vier Farbenreactionen sind nun folgende Substanzen aus der Zuckergruppe untersucht: Glycolaldehyd, Glycerinaldehyd, Glycerose, l-Erythrose, i-Tetrose, d-Lyxose, d-Oxyglucosäure, Aldehydschleimsäure und Formose.

Soweit sie bekannt, sind alle diese Körper in reiner wässriger Lösung zur Anwendung gekommen. Ueber ihre Darstellung sei Folgendes bemerkt:

Glycolaldehyd wurde nach der Angabe von Fenton¹⁾ aus Weinsäure über Hydroxymaleinsäure bereitet und in ca. 5%iger Lösung geprüft.

Glycerinaldehyd wurde nach der Vorschrift von Wohl und Neuberg²⁾ aus Acrolein dargestellt und in ca. 5%iger Lösung untersucht.

Glycerose wurde auf zwei verschiedenen Wegen gewonnen: a) nach der älteren Vorschrift von Fischer und Tafel³⁾ aus Glycerin und Natriumhypobromit; b) nach den späteren Angaben derselben Autoren⁴⁾ durch Einwirkung von Bromdampf auf Bleiglycerat. Beide Produkte zeigen entsprechend ihrer verschiedenen Zusammensetzung etwas abweichendes Verhalten. Beide wurden in wässriger Lösung untersucht, die ca. 5% reducirende Substanz, als Traubenzucker titirt, enthielt.

l-Erythrose wurde nach Wohl's⁵⁾ Vorschrift aus l-Erythrodiacetamid dargestellt. Für Ueberlassung der letzten Verbindung bin ich Herrn Prof. A. Wohl zu bestem Danke verpflichtet. Benutzt wurde eine Lösung von ca. 5%.

i-Tetroselösung wurde aus i-Erythrit mit Brom und Soda nach der Vorschrift bereitet, die Fischer und Tafel für die Glycerose (l. c.) angegeben haben. Die Ausbette ist,

Heft 5 u. 6: P. Mayer, Berl. klin. Wochenschr., 1900, Nr. 1; Mayer und Neuberg, Diese Zeitschrift, Bd. XXIX, S. 265.

1) Chem. News, 72, 47 u. Journ. chem. soc. London, 67, 774.

2) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch., 33, 3095.

3) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch., 20, 3384.

4) 21, 2634.

5) 32, 3669.

wie durch die erhaltenen Mengen i-Erythrosazon festgestellt wurde, so besser, als bei der Oxydation mittelst Salpetersäure.¹⁾

d-Lyxose verdanke ich der Liebenswürdigkeit des Herrn Ollendorff, der sie nach der Methode von Ruff und Ollendorff²⁾ aus Galactonsäure dargestellt hat. Untersucht wurde eine 0,5%ige Lösung.

d-Oxygluconsäure gewann ich nach Ruff's Vorschrift³⁾ mittelst Wasserstoffsperoxyd aus Gluconsäure. Durch Zerlegung des Kalksalzes mit Oxalsäure wurde eine 2%ige Lösung bereitet.

Aldehydschleimsäure stellte ich nach Fischer's Vorschrift⁴⁾ durch Reduction des Schleimsäurelactons mit Natriumamalgam dar. Durch Zerlegung des in Wasser suspendirten basischen Bleisalzes mit H₂S erhielt ich eine ca. 3%ige Lösung.

Formose⁵⁾ wurde nach der Vorschrift von O. Löw durch Condensation einer 4%igen Formaldehydlösung mittels Kalk gewonnen und direkt als Rohprodukt untersucht.

Das Verhalten der angeführten Substanzen bei den erwähnten vier Farbenreactionen, das am Ende der vorliegenden Mittheilung in einer Tabelle zusammengestellt ist, ist folgendermassen:

I. Die Molisch-Udránszky'sche Reaction wird in Uebereinstimmung mit den Erfahrungen, die an den natürlich vorkommenden Zuckern und Oxyaldehydsäuren gemacht sind, mit allen untersuchten Substanzen erhalten.

II. Die Resorcinprobe fällt bei der Glycerose, der i-Tetrose, der Formose und der d-Oxygluconsäure positiv aus.

Die Glycerose besteht nach den Untersuchungen von Fischer und Tafel,⁶⁾ Piloty,⁷⁾ Wohl und Neuberg⁸⁾ im Wesentlichen aus Dioxyaceton, das man aus Glycerin durch

1) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch., 20, 1090.

2) „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ 33, 1799.

3) „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ 32, 2269.

4) „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ 23, 937 u. 24, 2142.

5) Journ. f. prakt. Chem. (II), 33, 321 u. 37, 203.

6) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch., 22, 106.

7) „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ 30, 3161.

8) „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ 33, 3098.

Einwirkung des Sorbosebacteriums nach Bertrand's Versuchen¹⁾ rein erhält.

Der oxydirte i-Erythrit (i-Tetrose) enthält nach allen bisherigen Erfahrungen eine inactive Ketotetrose, deren eine Componente, die d-Erythrulose,²⁾ Bertrand ebenfalls mit Hilfe des Sorbosebacteriums aus i-Erythrit rein gewonnen hat.

Die Formose von Löw enthält ungefähr 3—4 % sogenannte Methose,³⁾ die nach Fischer's Untersuchungen⁴⁾ identisch mit α -Acrose = r-Fructose ist.

Diese Resultate zeigen, dass allgemein Ketosen eine positive Seliwanoff'sche Probe geben, die deshalb mit Recht den Namen «Ketosenreaction» führt.

Interessant ist, dass auch die d-Oxygluconsäure diese Reaction zeigt. Sie ist aller Wahrscheinlichkeit nach identisch mit dem von Boutroux⁵⁾ durch Pilzwachstum aus Gluconsäure erhaltenen Produkt. Die Erfahrung, dass derartige biochemische Prozesse die Ketosenbildung bevorzugen, erfährt in diesem Falle durch die Seliwanoff'sche Probe eine Bestätigung, gleichzeitig findet die von Boutroux aufgestellte Constitutionsformel (Ketosäure)



eine Stütze.

III. Die Phloroglucinreaction tritt mit Ausnahme des Glycolaldehyds bei allen untersuchten Substanzen ein, aber mit sehr verschiedener Stärke.

1) Compt. rend. de l'Acad., 126, 842 u. 984; 129, 341.

2) Compt. rend. de l'Acad., 130, 1330 u. 1472 u. Bull. Soc. Chim., Paris [3], 23, 681.

3) Ber. d. deutsch. chem. Ges., 22, 475.

4) Ber. d. deutsch. chem. Ges., 23, 386 u. 2127.

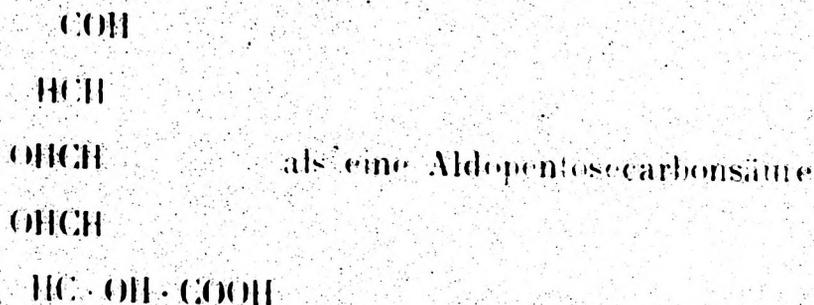
5) Compt. rend., 102, 924; 111, 185; 127, 1224 u. Ann. de Chimie et Phys., VI 21, 565.

Beim Glycerinaldehyd und der Glycerose fällt die Probe nur bei langem Kochen und bei Anwendung grösserer Materialmengen, als üblich, positiv aus, die mit Natriumhypobromit bereitete Glycerose lässt überhaupt keinen Absorptionsstreifen erkennen.

l-Erythrose und i-Tetrose geben zwar eine schöne Rosafärbung, doch bleibt der charakteristische Absorptionsstreifen auch bei längerem Erhitzen und ziemlich viel Substanz nur schwach, bei der l-Erythrose häufig nur angedeutet.

Die d-Lyxose dagegen gibt genau wie die bisher untersuchten Pentosen, die l-Arabinose und l-Xylose, die Reaction in typischer Weise.

Ebenso verhalten sich d-Oxygluconsäure und Aldehydschleimsäure, die ja der Glucuronsäure isomer sind und wie diese als Pentosecarbonsäuren aufgefasst werden können, und zwar die Aldehydschleimsäure:



und die d-Oxygluconsäure:



Die Thatsache, dass auch die Formose die Phloroglucinreaction gibt, findet wohl darin eine genügende Erklärung, dass Formose ein Gemisch verschiedener synthetischer Kohlehydrate darstellt, unter denen sich auch eine Pentose befindet, wie Fischer¹⁾ aus den Analysen der entstehenden Osazone wahrscheinlich gemacht hat.

¹⁾ Ber. d. deutsch. chem. Ges. 21, 990.

IV. Die Orcinreaction schliesslich fällt bei dem Glycolaldehyd und den Tetrosen absolut negativ aus. Die letzteren geben zwar einen grünen Niederschlag, der auch in den Amylalkohol mit hellgrüner Farbe übergeht, aber der charakteristische Absorptionsstreifen ist nicht vorhanden.

Der Glycerinaldehyd gibt dagegen die Orcinreaction mit derselben Schönheit wie eine Pentose. Die Grünfärbung des Amylalkoholauszugs ist ausserordentlich intensiv, der Absorptionsstreifen sehr kräftig, so dass er bei nicht gehöriger Verdünnung beiderseitig verbreitert erscheint.

Glycerose aus Bleiglycerat verhält sich wie Glycerinaldehyd, mittelst Natriumhypobromit gewonnene zeigt die Reaction schwächer.

d-Lyxose, d-Oxyglucensäure, Aldehydschleimsäure und Formose zeigen die Orcinreaction in typischer Weise aus Gründen, die bei der Phloroglucinprobe dargelegt sind.

Die Zusammenstellung der Resultate zeigt, dass die gebräuchlichsten Farbenreactionen der Kohlehydrate nicht jene Eindeutigkeit besitzen, die man ihnen bisher beigelegt hat, und dass deshalb bei ihrer Benutzung eine gewisse Vorsicht angebracht erscheint.

Von den beiden wichtigsten Farbenreactionen, den Pentosenproben, ist die Orcinreaction eindeutiger als die Phloroglucinprobe, da sie nur von den Pentosen, ihren Carbonsäuren und den Triosen gegeben wird. Erstere besitzt daher vor der letzteren den Vorzug, den ihr E. Salkowski auch aus anderen Gründen¹⁾ zuerkannt hat.

Die mitgetheilten Ergebnisse werfen auch ein Licht auf die Frage, wie diese Farbenreactionen der Zucker zu Stande kommen, ob sie ihren Namen Furfurolreactionen mit Recht führen, ob die Farbstoffbildung wirklich auf einer Furfurolabspaltung beruht.

Die α -Naphtholprobe tritt allerdings mit Furfurol ein, die Orcinreaction nicht oder nur schwach: die Probe mit Phloro-

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXVII, S. 517.

glucin- und die von Seliwanoff fällt absolut negativ aus. Daher kann Furfurol kaum am Zustandekommen dieser drei letzten Reactionen¹⁾ betheiligt sein. Aber auch aus anderen Gründen erscheint die Annahme einer Furfurolbildung durchaus fragwürdig. Denn einmal ist es unverständlich, warum unter so ähnlichen Verhältnissen (Behandlung mit mässig concentrirten Säuren) bald immer (α -Naphtholprobe), bald nur in besonderen Fällen (Phloroglucin- und Orcinprobe) Furfurol entstehen soll, ferner liesse sich eine Bildung von Furfurol aus den niederen Zuckern (Glycolaldehyd und Triosen) nur gezwungen deuten. Gegen die Auffassung als Furfurolreaction sprechen auch die Beobachtungen von Tollens²⁾ und Tollens und Krüger,³⁾ dass die Oxycellulosen bei der Behandlung mit verdünnter Salzsäure zwar reichlich Furfurol liefern, aber keine Phloroglucinreaction geben. Viel wahrscheinlicher scheint die Annahme, dass die Farbstoffbildung auf einer Condensation der angewandten Phenole (Naphthol, Phloroglucin, Orcin etc.) mit den Humussäuren beruht, die nach den Untersuchungen von Berthelot und André⁴⁾ aus allen Kohlehydraten entstehen. Für diese Auffassung spricht auch ein Versuch von Tollens,⁵⁾ dass der durch Zersetzung von 500 g Rohrzucker entstehende Humus sich mit 150 g Phenol zu verbinden vermag.

Tabellarische Uebersicht.

Probe mit:	α -Naphthol	Resorcin	Phloroglucin	Orcin
Glycolaldehyd	positiv	negativ	negativ	negativ
Glycerinaldehyd	positiv	negativ	positiv (schwach)	positiv

1. Bei den Keto-hexosen könnte man die Farbstoffbildung mit ihrem leichten Uebergang in β -Oxy- δ -Methylfurfurol (Ch. Ztg., 19, 1003) in Verbindung bringen. Beim Dioxyaceton und der Ketotetrose hingegen kann man sie hierauf nicht zurückführen.

2. Ann., 286, 301.

3) Zeitschr. f. angew. Ch., 1896, S. 46.

4) Compt. rend. de l'Acad., 123, 567 u. 625.

5) Chem. Ztg., 11, 77.

	α -Naphthol	Resorcin	Phloro- glucin	Orcin	
Glycerose	a) mit NaOBr bereitet .	positiv	positiv	negativ	positiv
	b) aus Bleiglycerat . .	positiv	positiv	positiv (schwach)	positiv
l-Erythrose	positiv	negativ	positiv (schwach)	negativ	
i-Tetrose	positiv	positiv	positiv (schwach)	negativ	
d-Lyxose	positiv	negativ	positiv	positiv	
d-Oxygluconsäure	positiv	positiv	positiv	positiv	
Aldehydschleimsäure	positiv	negativ	positiv	positiv	
Formose	positiv	positiv	positiv	positiv	