

# Ein Beitrag zur Kenntnis der in den Pflanzensamen enthaltenen Kohlenhydrate.

Von

E. Schulze und U. Pfenninger.

Aus dem agrikulturchemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)

(Der Redaktion zugegangen am 3. Oktober 1910.)

Die nachfolgenden Mitteilungen bilden eine Ergänzung der vor kurzem in dieser Zeitschrift<sup>1)</sup> von E. Schulze und Ch. Godet publizierten Abhandlung «Untersuchungen über die in den Pflanzensamen enthaltenen Kohlenhydrate». In dieser Abhandlung ist gezeigt worden, daß wasserlösliche Kohlenhydrate, die bei der Oxydation durch Salpetersäure Schleimsäure liefern, in den Pflanzensamen sehr verbreitet sind; allem Anschein nach ist ihre Verbreitung in den Samen fast eben so groß, wie diejenige des Rohrzuckers. Wenn ein Kohlenhydrat bei der Oxydation Schleimsäure liefert, so darf man annehmen, daß unter den bei seiner Hydrolyse entstehenden Produkten Galaktose sich findet. Neben dieser Glukose sind unter den Produkten der Hydrolyse jener wasserlöslichen Kohlenhydrate in vielen Fällen D-Glukose (Traubenzucker) und Fruktose nachgewiesen worden.

Wie in der oben genannten Abhandlung dargelegt worden ist, stehen der Isolierung dieser wasserlöslichen Kohlenhydrate mannigfache Schwierigkeiten entgegen. Dies hat zur Folge gehabt, daß nur eines dieser Kohlenhydrate, nämlich die in Baumwollsamensamen und im Embryo des Weizenkorns enthaltene kürzlich auch in den Samen zweier Leguminosen<sup>2)</sup> gefundene

<sup>1)</sup> Bd. LXI, S. 279—351.

<sup>2)</sup> Bourquelot und Bridel fanden Raffinose in den Samen von *Erythrina fusca* und *Entada scandens* (Journal de Pharm. et de Chim., Bd. XXX, S. 162, 1909, Referat im Biochem. Zentralbl., Bd. IX, S. 164).

Melitose (Raffinose), bis jetzt in zweifellos reinem Zustande dargestellt worden ist. Letzteres kann für die in den Samen der Lupinusarten vorkommende Lupeose,<sup>1)</sup> die bis jetzt nicht zur Krystallisation gebracht werden konnte, nicht mit Sicherheit behauptet werden; immerhin ist es wahrscheinlich, daß die Lupeosepräparate einheitliche, wenn auch von Beimengungen nicht völlig freie Substanzen waren. Für die löslichen, bei der Oxydation Schleimsäure liefernden Kohlenhydrate, die aus den Samen von *Phaseolus vulgaris*, *Phaseolus multiflorus*, *Onobrychis sativa*, *Sinapis alba* und *Picea excelsa* dargestellt worden sind, ist es dagegen fraglich, ob dieselben einheitliche Substanzen oder Gemenge verschiedener Kohlenhydrate waren.

Um einen Beitrag zur Ausfüllung der Lücken zu liefern, die in unseren Kenntnissen über jene Kohlenhydrate sich noch vorfinden, haben wir die Untersuchung der Lupeose und des in den Samen von *Phaseolus vulgaris* enthaltenen löslichen Kohlenhydrats wieder aufgenommen. Die dabei erhaltenen Resultate teilen wir im folgenden mit.

### I. Lupeose.

Die Lupeose wurde in unserem Laboratorium aus Samen von *Lupinus luteus* und von *Lupinus angustifolius* dargestellt.<sup>2)</sup> Die Samen wurden entweder mit heißem verdünntem Weingeist oder mit Wasser extrahiert. Zur Abscheidung der Lupeose aus den Extrakten dienten verschiedene Verfahren, in betreff deren wir auf die bezüglichen Abhandlungen verweisen. In jedem Falle suchte man die Lupeose schließlich durch wiederholte Fällung aus wässriger Lösung mittels Alkohol zu reinigen. Nach dem Trocknen im Exsikkator bildeten alle Lupeosepräparate weiße, leicht zerreibliche Massen, die in Wasser sehr

<sup>1)</sup> Mitteilungen über dieses ursprünglich als  $\beta$ -Galaktan bezeichnete Kohlenhydrat sind von E. Schulze in den Landw. Versuchsstationen, Bd. XLI, S. 210—223, sowie in den Berichten d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XXV, S. 2213, gemacht worden.

<sup>2)</sup> Wir verweisen auf die oben schon zitierte Abhandlung von E. Schulze, sowie auf eine Abhandlung von M. Merlis, die in den Landw. Versuchsstationen, Bd. XLVIII, S. 419, publiziert worden ist.

leicht löslich waren; die Lösungen reduzierten erst nach dem Erhitzen mit einer Säure die Fehlingsche Lösung. Im Polarisationsapparat erwies sich die Lupeose als stark rechtsdrehend: für die verschiedenen Präparate wurde in 4—5% igen Lösungen  $[\alpha]_D = + 138—144^\circ$  gefunden (die Differenzen können wohl auf kleinen Beimengungen, die durch das in Anwendung gebrachte Reinigungsverfahren sich nicht entfernen ließen, zurückgeführt werden). Bei der Oxydation durch Salpetersäure lieferten die Lupeosepräparate 38—40% Schleimsäure; dies führt zu der Annahme, daß die Hälfte der bei Hydrolyse der Lupeose entstandenen Produkte aus Galaktose bestand. Diese Zuckerart wurde aber nicht nur durch die Schleimsäurebildung nachgewiesen, sondern aus den Produkten der Hydrolyse auch in Krystallen isoliert. Als zweites Produkt der Hydrolyse wurde Fruktose nachgewiesen. Der Versuch, unter den bei Oxydation der Lupeose entstandenen Produkten auch Zuckersäure, das Oxydationsprodukt des Traubenzuckers, nachzuweisen, schlug fehl. Die polarimetrische Untersuchung einer mit Schwefelsäure erhitzten Lupeoselösung, in der auch der Gehalt an reduzierendem Zucker bestimmt worden war, führte aber zu der Schlußfolgerung, daß in dieser Lösung neben Galaktose und Fruktose noch eine dritte Zuckerart sich vorfinden müsse, und daß demnach die Lupeose ein Polysaccharid sei.<sup>1)</sup> An der Richtigkeit dieser Auffassung stiegen jedoch später wieder Zweifel auf, nachdem die Elementaranalyse eines bei 100° im Wasserstoffstrom bis zur Konstanz des Gewichts getrockneten Lupeosepräparates Zahlen gegeben hatte, die der Formel eines Disaccharids,  $C_{12}H_{22}O_{11}$ , entsprechen. Bei Mitteilung dieses Resultates wurde jedoch darauf aufmerksam gemacht, daß vielleicht jenes Präparat noch ein Molekül erst in höherer Temperatur entweichendes Wasser enthielt und daß die verdoppelte Formel,  $C_{24}H_{44}O_{22}$ , nach Abzug dieses Moleküls in  $C_{24}H_{42}O_{21}$  (also in die Formel eines Tetrasaccharids) übergehen würde. Jedenfalls waren neue Versuche erforderlich, um mit Sicherheit

<sup>1)</sup> Die bezüglichen Angaben finden sich in den oben zitierten Abhandlungen von E. Schulze.

entscheiden zu können, ob die Lupeose ein Disaccharid oder ein Polysaccharid sei.

Bei Wiederaufnahme der Untersuchung wurde zunächst geprüft, ob die bei 100° im Wasserstoffstrom getrocknete Lupeose bei Erhöhung der Temperatur noch eine Gewichtsabnahme erlitt. Die bezüglichen Versuche,<sup>1)</sup> für welche ein von früher her in unseren Händen befindliches Lupeosepräparat verwendet wurde, zeigten, daß dieses Kohlenhydrat, nachdem es zuvor in der angegebenen Weise getrocknet worden war, im Wasserstoffstrom auf 120° erhitzt werden konnte, ohne daß eine weitere Gewichtsabnahme erfolgte. Erst bei Erhöhung der Temperatur auf 125—130° trat Gewichtsverlust ein; doch färbte sich die Lupeose bei dieser Temperatur gelb und sinterte etwas zusammen; sie schien also eine Veränderung erlitten zu haben. Es ist demnach fraglich, ob die bei 100° getrocknete Lupeose noch ein Molekül Hydratwasser enthielt. Trotzdem aber kann es keinem Zweifel unterliegen, daß die Lupeose ein Polysaccharid, nicht ein Disaccharid ist; denn es gelang uns, unter den bei ihrer Hydrolyse entstehenden Produkten auch Traubenzucker nachzuweisen (man vergleiche die weiter unten folgenden Angaben). Man muß daher fragen, ob die Übereinstimmung der bei Analyse der Lupeose erhaltenen Zahlen mit den von der Formel  $C_{12}H_{22}O_{11}$  geforderten Werten nicht in anderer Weise zu erklären ist, als durch die Annahme, daß in der bei 100° getrockneten Lupeose noch ein Molekül Hydratwasser enthalten ist. Es ist nun darauf aufmerksam zu machen, daß das für die Analyse verwendete Präparat nicht durch Krystallisation, sondern nur durch wiederholte Ausfällung mit Alkohol gereinigt werden konnte. Auf diesem Wege sind aber, wie kaum hervorgehoben zu werden braucht, Beimengungen nur schwierig ganz zu entfernen; der Beweis dafür liegt auch darin, daß die auf diesem Wege gereinigte Lupeose noch 2,0% Asche enthielt. Es muß nun für möglich erklärt werden, daß das Resultat der Elementaranalyse durch solche Beimengungen beeinflusst worden ist. Gesetzt zum Beispiel, daß die 2% Asche

<sup>1)</sup> Diese Versuche wurden unter Mitwirkung von G. Trier ausgeführt.

in dem analysierten Präparat in Verbindung mit einer organischen Säure sich vorfanden, so kann dadurch das Ergebnis der Elementaranalyse etwas verändert worden sein.

Für die weiter noch auszuführenden Versuche mußten wir uns neue Präparate von Lupeose verschaffen. Eines dieser Präparate stellten wir aus fein zerriebenen, von den Schalen größtenteils befreiten Samen von *Lupinus luteus* dar, die zur Entfernung von Phosphatiden und einigen anderen Bestandteilen zuvor bei 50° C. mit Alkohol behandelt worden waren. Sie wurden mit Wasser extrahiert. Den Extrakt befreiten wir von den durch Bleiessig fällbaren Bestandteilen, entfernten aus dem Filtrat vom Bleiniederschlage das Blei durch Schwefelwasserstoff, engten es sodann im Wasserbade stark ein und gossen es nun in absoluten Alkohol. Die dadurch hervorgebrachte starke Fällung wurde in Wasser gelöst, die Lösung mit Phosphorwolframsäure versetzt, der dadurch hervorgebrachte Niederschlag abfiltriert, das Filtrat zur Entfernung der Phosphorwolframsäure mit Barytwasser bis zum Eintreten alkalischer Reaktion versetzt. Nachdem zur Entfernung des überschüssigen Baryumhydroxyds Kohlensäure eingeleitet worden war, wurde filtriert; das Filtrat wurde zur Beseitigung einer darin noch vorhandenen kleinen Barytmenge mit etwas Ammoncarbonat versetzt, dann stark eingeeengt und hierauf in absoluten Alkohol gegossen. Das in dieser Weise zur Ausscheidung gebrachte Kohlenhydrat suchten wir sodann durch wiederholte Fällung mit Alkohol aus wässriger Lösung möglichst gut zu reinigen. Dabei verfahren wir stets in der Weise, daß wir die ziemlich konzentrierte, aber nicht sirupöse Lösung<sup>1)</sup> langsam,

<sup>1)</sup> Ist die Lösung zu konzentriert, so scheidet sie sich nach dem Eingießen in den absoluten Alkohol in sirupösen Tropfen aus. Bei stärkerer Verdünnung der Lösung fällt dagegen das Kohlenhydrat in feiner Verteilung aus, was selbstverständlich für seine Befreiung von Nebenbestandteilen von Bedeutung ist. Hin und wieder — insbesondere dann, wenn es schon mehrmals durch Alkohol gefällt worden ist — scheidet es sich in Alkohol in so feiner Verteilung ab, daß die Flüssigkeit milchig wird und sich nur schwer filtrieren läßt. Durch Zusatz von einigen Tropfen verdünnter Natronlauge kann man aber bewirken, daß die ausgeschiedene Substanz sich zusammenballt und sich in der Flüssigkeit absetzt. Man

in der Regel tropfenweise, in absoluten Alkohol einfließen lassen; das gefällte Kohlenhydrat wurde nach einiger Zeit abfiltriert und mit Alkohol ausgewaschen (über ein anderes Verfahren zur Reinigung des Kohlenhydrats machen wir weiter unten noch eine Mitteilung). Ein zweites Lupeose-Präparat stellten wir nach einem anderen Verfahren aus den Samen von *Lupinus angustifolius* dar. Der wässrige Samenextrakt wurde mit Bleiessig versetzt, solange als noch eine Fällung entstand: dem Filtrate fügten wir noch etwas Bleiessig, sodann konzentrierte Ammoniakflüssigkeit zu. Dabei entstand ein starker weißer Niederschlag, der die Lupeose einschloß. Nach dem Abfiltrieren und Auswaschen wurde dieser Niederschlag mittels Schwefelwasserstoff zersetzt. Die vom Schwefelblei durch Filtration getrennte Flüssigkeit wurde dann ebenso behandelt, wie es oben für die bei Verarbeitung der Samen von *Lupinus luteus* erhaltene lupeosehaltige Lösung angegeben worden ist. Die durch wiederholte Fällung mit Alkohol gereinigte Lupeose wurde schließlich im Exsikkator über konzentrierter Schwefelsäure getrocknet. Sie bildete ebenso wie das aus *Lupinus luteus* dargestellte Präparat eine weiße, leicht zerreibliche, in Wasser sehr leicht lösliche Masse.

Wie oben schon erwähnt worden ist, hatte der Versuch, unter den Oxydationsprodukten der Lupeose Zuckersäure nachzuweisen, früher ein negatives Resultat gegeben. Bei Wiederholung des Versuchs gelangten wir aber zu einem positiven Ergebnis; die in bezug auf diesen Punkt früher gemachte Angabe muß daher als irrtümlich bezeichnet werden.<sup>1)</sup> Für unsere Versuche verwendeten wir je 5—6 g der beiden von uns dargestellten Lupeosepräparate. Bei der Oxydation dieser Präparate durch Salpetersäure, ebenso auch bei der Darstellung des sauren Kaliumsalzes der Zuckersäure und des

kann später das zugefügte Natron durch Essigsäure neutralisieren, ohne daß die Flüssigkeit wieder milchig wird.

<sup>1)</sup> Das negative Resultat des früheren Versuchs ist wahrscheinlich auf zu starke Oxydation der Lupeose zurückzuführen. Vermutlich ist damals, um Material zu sparen, für die Prüfung auf Zuckersäure die Flüssigkeit benutzt worden, welche nach dem Abfiltrieren der bei Oxydation der Lupeose mit der 12fachen Menge Salpetersäure (spez. Gew. 1,11) entstandenen Schleimsäure übrig geblieben war.

zuckersauren Silbers verfahren wir genau nach den von B. Tollens<sup>1)</sup> gegebenen Vorschriften. Das saure Kaliumsalz wurde zweimal aus Wasser umkrystallisiert; es war sehr schwer löslich in Wasser und stimmte im Aussehen mit dem entsprechenden Salze der Zuckersäure überein. Die Analyse des zuckersauren Silbers gab folgende Resultate:

- |    |          |          |       |          |      |        |     |
|----|----------|----------|-------|----------|------|--------|-----|
| 1. | 0,5572 g | Substanz | gaben | 0,2810 g | oder | 50,43% | Ag. |
| 2. | 0,8122   | »        | »     | 0,4098   | »    | 50,60% | »   |
| 3. | 0,9594   | »        | »     | 0,4862   | »    | 50,68% | »   |

Die Theorie verlangt für zuckersaures Silber einen Silbergehalt von 50,9%. Zu bemerken ist noch, daß das für die erste Bestimmung verwendete Präparat nur im Vakuumexsikkator getrocknet worden war; die für die beiden anderen Bestimmungen benutzten Präparate haben wir zuerst im Vakuumexsikkator, dann im Luftbade bei ca. 60—70° getrocknet.

Die im vorigen mitgeteilten Versuchsergebnisse führen zu der Schlußfolgerung, daß unter den bei Hydrolyse der Lupeose entstehenden Produkten auch d-Glukose (Traubenzucker) sich vorfindet. Da nun unter diesen Produkten auch Galaktose und Fruktose nachgewiesen worden sind, so muß die Lupeose für ein Polysaccharid erklärt werden, wie es auch E. Schulze in den oben zitierten Abhandlungen getan hat.

Es schien unnötig, die bei der Hydrolyse dieses Kohlenhydrates entstehenden Produkte noch einmal auf Fruktose zu untersuchen; dagegen wurde noch einmal unter Befolgung der von Tollens gegebenen Vorschrift die Schleimsäurequantität bestimmt, die bei der Oxydation des Kohlenhydrates mittels Salpetersäure entstand. Dabei wurde folgendes Resultat erhalten:

3,9225 g Substanz (wasser- und aschenfrei in Rechnung gestellt) gaben 1,5228 g oder 38,8% Schleimsäure.

Die Zahl liegt zwischen den früher bei Bestimmung der Schleimsäureausbeute gefundenen Werten (38—40%) und führt wie die letzteren zu der Schlußfolgerung, daß die Hälfte des

<sup>1)</sup> Diese Vorschriften finden sich auch in dem von B. Tollens bearbeiteten Abschnitt von E. Abderhaldens Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden in Bd. II, S. 106.

bei Hydrolyse jenes Kohlenhydrates entstandenen Zuckers aus Galaktose bestand. Auf Grund dieses Befundes muß man es aber für sehr wahrscheinlich erklären, daß die Lupeose ein Tetrasaccharid ist.

Wir versuchten die Lupeose auch durch Fällung mit Methylalkohol zu reinigen. Wir fanden, daß sie in diesem Alkohol bedeutend löslicher ist, als in Äthylalkohol: als wir eine wässrige Lupeoselösung in Methylalkohol gossen, die dabei entstandene Fällung abfiltrierten und dem Filtrat Äthylalkohol zufügten, entstand noch ein starker Niederschlag. Da die geringe Menge färbender Substanz, die in dem zur Verwendung gelangten Lupeosepräparat sich noch vorfand, fast vollständig in die durch Methylalkohol erzeugte Fällung eingegangen war und da es für möglich erklärt werden mußte, daß auch andere etwa noch vorhandene Beimengungen das gleiche Schicksal hatten, so schien es angezeigt, diesen Weg zur besseren Reinigung der Lupeose zu benutzen. Wir lösten daher ein durch wiederholte Fällung mit Alkohol gereinigtes Lupeosepräparat in Wasser, gossen die Lösung in Methylalkohol, entfernten den dabei entstandenen Niederschlag durch Filtration und versetzten das Filtrat mit einer großen Menge von absolutem Alkohol. Die dabei entstandene, vollkommen weiße Fällung wurde abfiltriert, mit Alkohol ausgewaschen und sodann über konzentrierter Schwefelsäure getrocknet. Die Untersuchung dieses Präparates im Soleil-Ventzkeschen Polarisationsapparate gab folgendes Resultat:

Eine wässrige Lösung, die in 15 ccm 0,7474 g Substanz (wasser- und aschenfrei in Rechnung gestellt) enthielt, drehte im 200 mm-Rohr bei 16° C. 42,9° nach rechts. Demnach ist  $[\alpha]_D = +148,0^\circ$ .

Diese Zahl ist höher als die früher unter nahezu gleichen Bedingungen für die Lupeose gefundenen Werte ( $[\alpha]_D = +138$  bis  $+144^\circ$ ), was wohl auf einen höheren Reinheitsgrad des jetzt benutzten Präparates zurückzuführen ist.

Es schien angezeigt, auch noch das spezifische Drehungsvermögen des durch Methylalkohol gefällten Teils der Lupeose zu bestimmen. Wir lösten diesen Teil in Wasser auf; da die



Lösung etwas gefärbt war, so wurde sie mit Tierkohle behandelt, dann stark eingeengt und hierauf in absoluten Alkohol gegossen. Das dabei niedergefallene Kohlenhydrat wurde abfiltriert, mit Alkohol gewaschen und über Schwefelsäure getrocknet. Die Untersuchung im Polarisationsapparate gab folgendes Resultat:

Eine wässrige Lösung, die in 15,2 ccm 0,7804 g Substanz (wasser- und aschenfrei in Rechnung gestellt) enthielt, drehte im 200 mm-Rohr bei 18,05° C. 41,4° S. V. nach rechts: demnach ist  $[\alpha]_D = +138,7^\circ$ .

Die Zahl liegt innerhalb der früher für das spezifische Drehungsvermögen der Lupeose gefundenen Werte, ist aber niedriger als das Resultat, das bei Untersuchung des ersten Präparates im Polarisationsapparate erhalten wurde. Dies erklärt sich, wenn man annimmt, daß der durch Methylalkohol aus der wässrigen Lösung gefällte Teil der Lupeose noch Beimengungen enthielt.

Wir bestimmten auch noch die Schleimsäuremenge, die bei der Oxydation des zuletzt beschriebenen Lupeosepräparates mittels Salpetersäure entstand. Dabei erhielten wir folgendes Resultat:

2,4099 g Substanz (wasser- und aschenfrei in Rechnung gestellt) gaben 0,8360 g oder 34,7% Schleimsäure.

Die Schleimsäureausbeute war also hier niedriger als bei dem ersten Präparat.

Diese Beobachtungen erklären sich, wenn man folgende Annahmen macht: die nur durch Fällen mit Alkohol aus wässriger Lösung gereinigte Lupeose ist noch durch eine kleine Menge eines anderen Kohlenhydrats, welches ein schwächeres Drehungsvermögen besitzt und bei der Oxydation weniger Schleimsäure liefert, verunreinigt. Dieses Kohlenhydrat läßt sich größtenteils entfernen, indem man die wässrige Lupeoselösung in Methylalkohol gießt: wenn man die dabei entstandene Fällung, welche auch Lupeose enthält, abfiltriert und dem Filtrate absoluten Alkohol zusetzt, so fällt reinere Lupeose nieder.

Eine Stütze für diese Annahmen liefern in gewisser Hinsicht auch die im folgenden Abschnitt mitgeteilten Ergebnisse,

die wir bei Untersuchung der in den Samen von *Phaseolus vulgaris* enthaltenen Kohlenhydrate erhielten.

Die Wahrnehmung, daß die Lupeose in Methylalkohol sich mehr löst als in Äthylalkohol, veranlaßte uns noch, einen Versuch zur Überführung dieses Kohlenhydrats in Krystallform zu machen. Wir erhitzen das reinste der in unseren Händen befindlichen Lupeosepräparate mit einer zur völligen Lösung ungenügenden Methylalkoholquantität ca. 1 Stunde lang am Rückflußkühler. Die filtrierte Lösung wurde dann unter einer Glasglocke über konzentrierter Schwefelsäure der langsamen Verdunstung überlassen. Es gelang uns aber nicht, dabei eine krystallinische Ausscheidung zu erhalten.

## II. Kohlenhydrate aus den Samen von *Phaseolus vulgaris*.

In der oben zitierten Abhandlung von E. Schulze und Ch. Godet sind zwei Kohlenhydratpräparate beschrieben worden, die aus zwei verschiedenen Mustern der Samen von *Phaseolus vulgaris* dargestellt worden waren. Das eine dieser Präparate (a) war aus dem wässerigen, durch Versetzen mit Bleiessig gereinigten Samenextrakt durch Bleiessig und Ammoniakflüssigkeit gefällt worden, während das zweite (b) durch Erhitzen eines weingeistigen Samenextraktes mit Strontiumhydroxyd zur Abscheidung gebracht worden war; beide Präparate wurden durch wiederholte Fällung mit Alkohol aus wässriger Lösung gereinigt. Für Präparat a wurde, in ca. 4%iger wässriger Lösung, bei 18° C.  $[\alpha]_D = +104^\circ$ , für Präparat b in ca. 5<sup>1</sup>/<sub>2</sub>%iger Lösung bei 18° C.  $[\alpha]_D = +111^\circ$  gefunden. Bei der Oxydation durch Salpetersäure lieferte Präparat a 20,8%, Präparat b dagegen 23,6% Schleimsäure. Beide Präparate lieferten bei der Oxydation auch Zuckersäure. Ob unter den Produkten der Hydrolyse dieses Kohlenhydrats auch Fruktose sich vorfand, wurde nicht festgestellt; es wurde nur konstatiert, daß beide Präparate sehr stark die Seliwanoffsche Reaktion gaben. Es schien angezeigt, diese Frage noch einer Prüfung zu unterwerfen. Wir verwendeten dazu 7,6 g des Präparates b.<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Die Gewichtsangabe bezieht sich auf das wasserhaltige Kohlenhydrat. Die zur Verwendung gelangte Trockensubstanzmenge war also geringer.

Dieses Quantum wurde mit 4,5 ccm Schwefelsäure vom spezifischen Gewicht 1,156 und 58 ccm Wasser 1 Stunde lang auf 80° erhitzt.<sup>1)</sup> Dann wurde die Flüssigkeit mittels Baryumcarbonat von der Schwefelsäure befreit, filtriert und eingedunstet. Den dabei erhaltenen Sirup extrahierten wir in der Wärme mit absolutem Alkohol. Die alkoholische Lösung wurde mit soviel Äther versetzt, daß eine starke Ausscheidung entstand. Die von letzterer getrennte Flüssigkeit wurde eingedunstet, der sirupöse Verdampfungsrückstand in Wasser gelöst, die Lösung im Polarisationsapparate untersucht. Dabei ergab sich folgendes Resultat: eine Lösung, die in 25 ccm 2,59 g des Sirups enthielt, drehte im Soleil-Ventzkeschen Polarisationsapparate bei Zimmertemperatur 6,65° nach links; daraus berechnet sich für den Sirup  $[\alpha]_D = -18,4^\circ$ .

Der Sirup wurde nun noch einmal in Alkohol gelöst, die Lösung wieder mit Äther versetzt, bis eine Ausscheidung entstand, die von letzterer getrennte Flüssigkeit wieder eingedunstet. Die Untersuchung des so gewonnenen Produktes im Polarisationsapparate gab folgendes Resultat: eine Lösung, die in 20 ccm 0,6748 g Substanz (berechnet aus dem spezifischen Gewicht der Lösung) enthielt, drehte bei 17° C. 4,0° S.-V. nach links: demnach ist  $[\alpha]_D = -20,4^\circ$ . Diese Angaben beweisen, daß bei der Hydrolyse des Kohlenhydrats auch ein linksdrehender Zucker entstand; eine Bestätigung der Annahme, daß dieser Zucker Fruktose war, wird durch die Reaktionen der in der beschriebenen Weise erhaltenen Zuckerlösung gegeben. Diese Lösung gab nicht nur die Seliwanoffsche, sondern auch die Pierertsche Reaktion (Reduktion einer nach Vorschrift bereiteten Lösung von Glykokoll-Kupfer in der Kälte); auch die Grün- bzw. Blaufärbung mit Ammonmolybdat, die als charakteristisch für Fruktose angegeben wird, trat ein.

Das aus den Samen von *Phaseolus vulgaris* zur Abscheidung gebrachte Kohlenhydrat lieferte also bei der Hydrolyse Galaktose, d-Glukose und Fruktose.

Nachdem wir gefunden hatten, daß die Lupeose sich bei

<sup>1)</sup> Unter Befolgung einer von Tollens für den gleichen Zweck gegebenen Vorschrift.

der Fällung durch Methylalkohol etwas anders verhält als bei der Fällung durch Äthylalkohol, schien es angezeigt, die darüber gemachten Beobachtungen auch zur Reinigung des aus Phaseolus-Samen dargestellten Kohlenhydrats zu verwerten. Für den bezüglichen Versuch mußten wir ein neues Präparat dieses Kohlenhydrats darstellen. Dazu verwendeten wir fein zerriebene Phaseolus-Samen, die zuvor bei 50° C. mit Alkohol extrahiert worden waren (durch diese Operation war neben den Phosphatiden auch ein großer Teil des in den Samen enthaltenen Rohrzuckers entfernt worden). Wir behandelten dieses Material bei einer Temperatur von ca. 50° mit Wasser. Für die Darstellung des Kohlenhydrats aus dem wässrigen Extrakt wurde dann dasjenige Verfahren verwendet, das wir auch bei der Darstellung von Lupeose aus den Samen von *Lupinus luteus* benutzten (m. vgl. die darüber oben gemachten Angaben), nur mit dem Unterschiede, daß wir das Produkt, nachdem es einmal mit Alkohol gefällt worden war, zur Entfernung des darin noch vorhandenen Restes des Rohrzuckers wiederholt mit kleinen Mengen 95%igen Alkohols auskochten. Den dabei ungelöst gebliebenen Teil des Kohlenhydrats reinigten wir dann durch wiederholte Ausfällung mit Alkohol aus wässriger Lösung.

Das in dieser Weise erhaltene Produkt zerlegten wir in zwei Teile, indem wir seine wässrige Lösung in Methylalkohol gossen, den dabei entstandenen Niederschlag abfiltrierten und dem Filtrat absoluten Alkohol in bedeutender Quantität zusetzten, wobei noch eine starke Fällung entstand. Jeder dieser beiden Teile wurde zur Reinigung noch einmal in Wasser gelöst und aus der Lösung wieder mit absolutem Alkohol gefällt. So erhielten wir zwei Präparate, die wir im folgenden mit I und II bezeichnen wollen. Bei der Untersuchung im Soleil-Ventzkeschen Polarisationsapparat gab das Präparat I folgendes Resultat:<sup>1)</sup>

Eine wässrige Lösung, die in 16 ccm 0,6252 g Substanz

<sup>1)</sup> Hier, wie bei allen anderen Bestimmungen, berechneten wir die für den Versuch verwendete Trockensubstanzmenge aus dem Resultat, das beim Trocknen des bezüglichen Präparates bei 100° im Wasserstoffstrom erhalten wurde.

(wasser- und aschenfrei in Rechnung gestellt) enthielt, drehte im 200 mm-Rohr bei 22° C. 23,8° nach rechts; demnach ist  $[\alpha]_D = + 104,7^\circ$ .

Vom Präparat II wurden zwei Bestimmungen gemacht; sie lieferten folgende Resultate:

a) Eine wässrige Lösung, die in 16 ccm 0,7332 g Substanz (wasser- und aschenfrei in Rechnung gestellt) enthielt, drehte im 200 mm-Rohr bei 18,5° C. 36,2° nach rechts; demnach ist  $[\alpha]_D = + 135,8^\circ$ .

b) Eine wässrige Lösung, die in 18,4 ccm 0,7140 g Substanz (wasser- und aschenfrei in Rechnung gestellt) enthielt, drehte im 200 mm-Rohr bei 22° C. 31,0° nach rechts; demnach ist  $[\alpha]_D = + 137,3^\circ$ .

Im Mittel wurde also für Präparat II  $[\alpha]_D = + 136,5^\circ$  gefunden. Diese Zahl weicht sehr weit von derjenigen ab, die bei Untersuchung des Präparates I für  $[\alpha]_D$  gefunden wurde: die Schlußfolgerung, daß hier zwei verschiedene Kohlenhydrate vorhanden waren, muß demnach als eine berechnete angesehen werden.

Die bei Bestimmung des Drehungsvermögens des Präparats II erhaltene Zahl liegt dem für die Lupeose gefundenen Werte sehr nahe. Es muß daher für möglich erklärt werden, daß dieses Präparat aus Lupeose, die jedoch noch durch eine kleine Menge des weniger stark drehenden Kohlenhydrats verunreinigt war, bestand. War diese Vermutung richtig, so mußte Präparat II auch bei der Oxydation durch Salpetersäure ungefähr so viel Schleimsäure geben, wie die Lupeose. Dies war in der Tat der Fall, wie aus folgenden Angaben hervorgeht:

2,4761 g Substanz (wasser- und aschenfrei in Rechnung gestellt), gaben 0,8636 g oder 35,0% Schleimsäure.

Beim Eindunsten der von der Schleimsäure abfiltrierten Flüssigkeit wurden noch 0,086 g Schleimsäure erhalten; rechnet man dieses Quantum zu der zuerst erhaltenen Menge hinzu, so steigt die Schleimsäureausbeute auf 38,3%.

Wie aus den im vorigen Abschnitt gemachten Angaben zu ersehen ist, lieferte die Lupeose bei der Oxydation durch Salpetersäure 38—40% Schleimsäure.

Wir versuchten nun, das Präparat II noch einer Reinigung zu unterwerfen, indem wir seine wässrige Lösung in Methylalkohol gossen, die dabei entstandene Fällung abfiltrierten und das Filtrat mit einer großen Menge absoluten Alkohols vermischten. Die durch den Alkohol gefällte Substanz wurde abfiltriert, mit Alkohol gewaschen und hierauf im Exsikkator getrocknet. Bei Untersuchung dieses Präparates im Soleil-Ventzkeschen Polarisationsapparate erhielten wir folgendes Resultat:

Eine wässrige Lösung, die in 10,4 ccm 0,5920 g Substanz (wasser- und aschenfrei in Rechnung gestellt) enthielt, drehte im 200 mm-Rohre bei 18° C. 46,5° nach rechts: demnach ist  $[\alpha]_D = + 140,5^\circ$ .

Diese Zahl liegt dem für das Drehungsvermögen der Lupeose gefundenen Werte noch etwas näher, als die oben angegebenen.

Die im vorigen mitgeteilten Beobachtungen machen es sehr wahrscheinlich, daß das von uns aus den Samen von *Phaseolus vulgaris* dargestellte Kohlenhydratpräparat aus einem Gemenge von Lupeose mit einem anderen Kohlenhydrat bestand. Das letztere besaß ein weit niedrigeres Drehungsvermögen als die Lupeose und lieferte auch bei der Oxydation weniger Schleimsäure. Ohne Zweifel ist aber die Trennung dieser beiden Kohlenhydrate auf dem beschriebenen Wege keine vollständige gewesen; es muß daher das Präparat I etwas Lupeose, das Präparat II etwas von dem schwächer drehenden Kohlenhydrat eingeschlossen haben. Demgemäß ist auch anzunehmen, daß dieses zweite Kohlenhydrat, falls wir es ganz rein hätten darstellen können, ein noch geringeres Drehungsvermögen gezeigt haben würde als das Präparat I.

Die in der Abhandlung von E. Schulze und Ch. Godet beschriebenen Kohlenhydratpräparate aus den Samen von *Phaseolus vulgaris* bestanden höchstwahrscheinlich gleichfalls aus Gemengen von Lupeose mit dem schwächer drehenden Kohlenhydrat. Doch ist es möglich, daß diese beiden Gemengteile hier in anderem Verhältnis sich vorfanden, als in dem jetzt von uns untersuchten Präparat. <sup>1)</sup> Denn jene beiden Prä-

<sup>1)</sup> Für das eine dieser Präparate wurde  $[\alpha]_D = + 104^\circ$ , für das

parate sind in etwas anderer Weise und aus zwei anderen Mustern der Phaseolussamen dargestellt worden. Dies kann von Einfluß auf die Beschaffenheit der gewonnenen Produkte gewesen sein; insbesondere muß es für möglich erklärt werden, daß die verschiedenen Samenmuster jene beiden Bestandteile nicht stets in dem gleichen Mengenverhältnis enthielten. Als eine Stütze für eine solche Anschauung kann auch die Tatsache dienen, daß wir nur aus dem einen jener beiden Samenmuster, nicht aber aus dem anderen Rohrzucker zu isolieren vermochten. Daß in dem einen Falle der Rohrzucker vollständig fehlte, ist wohl nicht anzunehmen; wahrscheinlich aber fand er sich nur in so kleiner Menge vor, daß seine Isolierung mißlang.

Die in den oben zitierten Abhandlungen schon erörterte Frage, ob die Lupeose eine einheitliche Substanz ist, kann auch jetzt noch nicht mit Sicherheit entschieden werden; wahrscheinlich aber ist es, daß diese Frage zu bejahen ist. Denn man hat aus verschiedenen Samenarten unter Anwendung verschiedener Verfahren Lupeosepräparate darstellen können, die im spezifischen Drehungsvermögen nur relativ geringe, durch das Vorhandensein kleiner Beimengungen erklärbare Differenzen zeigten; auch lieferten diese Präparate sämtlich bei der Oxydation mittels Salpetersäure Schleimsäurequantitäten, aus denen geschlossen werden konnte, daß die Hälfte der bei Hydrolyse dieser Präparate gebildeten Produkte aus Schleimsäure bestand. Wäre die Lupeose kein einheitliches Produkt, so würde man kaum zu diesem Ergebnis gekommen sein — es sei denn, daß die bezüglichen Präparate aus zwei Kohlenhydraten bestanden

zweite  $+ 111^\circ$  gefunden. Die letztere Zahl liegt zwischen den von uns für die Präparate I und II gefundenen Werten, während die Zahl  $104$  mit demjenigen Werte übereinstimmt, den wir jetzt für Präparat I gefunden haben. Das Präparat, für welches  $[\alpha]_D = + 104^\circ$  gefunden wurde, kann ebenso wie das jetzt von uns untersuchte Präparat I aus einem Gemenge von wenig Lupeose mit einer größeren Quantität des niedriger drehenden Kohlenhydrats bestanden haben, während das Präparat, für welches  $[\alpha]_D = + 111^\circ$  gefunden wurde, wahrscheinlich mehr Lupeose und weniger von dem schwächer drehenden Kohlenhydrat einschloß.

hätten, die nicht nur fast das gleiche spezifische Drehungsvermögen besaßen und eine der obigen Angabe entsprechende Ausbeute an Schleimsäure lieferten, sondern auch bei der Fällung durch Äthyl- und durch Methylalkohol aus wässriger Lösung sich ganz gleich verhielten. Es ist aber nicht wahrscheinlich, daß zwei verschiedene Kohlenhydrate in allen diesen Punkten genau übereinstimmen.

Die Lupeose stimmt sowohl im spezifischen Drehungsvermögen wie in bezug auf die Schleimsäureausbeute fast ganz mit der Stachyose überein.<sup>1)</sup> Die letztere läßt sich aber in Krystallform überführen, was bei der Lupeose bis jetzt nicht gelungen ist. Die Gründe, aus denen die Lupeose für verschieden von der Stachyose zu erklären ist, sind übrigens in den oben zitierten Abhandlungen E. Schulzes schon aufgeführt worden. Wir haben jetzt noch einen Versuch ausgeführt, dessen Resultat gleichfalls eine Stütze für jene Annahme liefert. Man kann die Stachyose umkrystallisieren, indem man sie in der vierfachen Menge Wasser löst, die Lösung nach und nach mit so viel Alkohol versetzt, daß eine Trübung entsteht, und sodann einen Stachyose-Krystall in die Flüssigkeit bringt; an den Wandungen und am Boden des Gefäßes scheiden sich dann binnen 12—24 Stunden Krystalle aus. Auf dem gleichen Wege kann man auch die durch Alkohol aus wässriger Lösung gefällte Stachyose wenigstens partiell in Krystallform überführen. Wir haben nun das reinste unserer Lupeosepräparate der gleichen Behandlung unterworfen (auch in diesem Falle wurden einige Stachyosekrystalle in die Flüssigkeit gebracht). Es gelang uns aber nicht, auf diesem Wege die Lupeose in Krystallform überzuführen; dies spricht für ihre Verschiedenheit von der Stachyose.

Tanret<sup>2)</sup> hat gefunden, daß die Stachyose identisch mit einem aus *Eschenmanna* dargestellten Tetrasaccharid ist, und daß letzteres durch Erhitzen mit 20%iger Essigsäure in Fruk-

<sup>1)</sup> Vorausgesetzt, daß man die bezüglichen Zahlen auch bei der Stachyose für die wasserfreie Substanz berechnet.

<sup>2)</sup> Compt. rend., Bd. CXXXIV, S. 1586; Bull. soc. chim. [3], Bd. XXVII, S. 947, sowie Compt. rend., Bd. CXXXVI, S. 1569.



tose und ein Trisaccharid gespalten werden kann; dieses Trisaccharid läßt sich in Krystallen erhalten. Wir werden prüfen, ob die Lupeose sich ebenso oder ähnlich verhält. Ein vorläufiger Versuch schien zu ergeben, daß auch die Lupeose beim Erhitzen mit verdünnter Essigsäure Fruktose liefert. Gesetzt, daß daneben ein Trisaccharid sich bildet, so wird durch die nähere Untersuchung dieses Produktes wahrscheinlich auch die Frage, ob die Lupeose identisch mit Stachyose ist, oder nicht, endgültig zu entscheiden sein. Die interessanten Versuche, welche C. Neuberg, in Verbindung mit T. Marx und S. Lachmann,<sup>1)</sup> über das Verhalten der Raffinose und der Stachyose gegen Enzyme gemacht hat, lassen es wünschenswert erscheinen, auch das Verhalten der Lupeose gegen Enzyme zu untersuchen.

Zum Schluß sei noch erwähnt, daß N. Castoro<sup>2)</sup> aus den Samen von *Cicer arietinum* ein Kohlenhydrat dargestellt hat, dessen Identität mit Lupeose er für sehr wahrscheinlich erklären konnte.<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Biochem. Zeitschr., Bd. III, S. 519 u. 539, sowie Bd. XXIV, S. 171. Über das Verhalten der Stachyose gegen Enzyme liegen auch von anderer Seite noch einige in C. Neubergs Abhandlung erwähnte Versuche vor.

<sup>2)</sup> Gazzetta Chimica Italiana, Anno XXXIX, Parte I.