

Untersuchungen über die in Weinblättern enthaltenen Kohlenhydrate und stickstoffhaltigen Körper.¹⁾

Von
N. T. Deleano.

(Aus dem agrikulturchemischen Laboratorium der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich.)

(Der Redaktion zugegangen am 1. Juli 1912.)

Die in der Folge mitgeteilte Arbeit ist die Fortsetzung einer Studie, welche in Pringsheims Jahrbüchern im Oktober 1912 erscheinen wird, und in welcher es als wahrscheinlich dargestellt wird, daß abgeschnittene lebende Laubblätter des Weinstockes in den ersten 100 Stunden nur Kohlenhydrate veratmen, dann aber auch zur physiologischen Verbrennung des Eiweißes schreiten. Die hier mitgeteilten Untersuchungen wurden mit Weinblättern ausgeführt, welche am Tage von den Weinstöcken entfernt und schnell getrocknet worden waren. Ich gedenke, später in gleicher Weise ähnliche Weinblätter zu untersuchen, welche nach der Abnahme vom Weinstocke eine Reihe von Tagen geatmet haben.

Die Arbeit wurde in dem Laboratorium von Herrn Prof. E. Schulze in Zürich ausgeführt; es sei mir gestattet, Herrn Prof. E. Schulze und Herrn Prof. E. Winterstein für ihre lebenswürdige Hilfe meinen wärmsten Dank auszusprechen.

Kohlenhydrate: In unserer Arbeit «Studien über den Atmungsstoffwechsel abgeschnittener Laubblätter» haben wir die direkt reduzierenden in den Weinblättern vorkommenden Kohlenhydrate als Dextrose berechnet. Ob diese Menge reine Dextrose oder ein Gemisch mehrerer direkt reduzierender Körper war, konnten wir nicht wissen. Über die in Weinblättern vorhandenen

¹⁾ Die Blätter waren direkt nach kräftiger Assimilationsarbeit gesammelt worden.

Kohlenhydrate war bisher fast nichts bekannt, weil diese Körper bisher nur nach ihrem Reduktionsvermögen bestimmt wurden, welches aber kein Kriterium für die Natur der untersuchten Kohlenhydrate ist. So sagt Petit (1869, S. 760), daß die Weinblätter auf 1 kg Frischgewicht 20—30 g Zucker (Glykose) enthielten; und weiter (1873, S. 944):

«L'examen des feuilles de vigne m'a prouvé qu'elles ferment outre le sucre interverti une quantité très notable de sucre non réducteur. Le dosage par la liqueur de Fehling, avant et après l'inversion, par les acides, et les notions polarimétriques montrent que ce sucre non réducteur est du sucre de canne. Après l'action des acides le pouvoir rotatoire est sensiblement égal à -26 .» und er gibt für 1 kg frische Weinblätter folgende Zahlen:

| | |
|---------------|---------|
| 1. Rohrzucker | 9,20 g |
| Glukose | 26,55 » |
| 2. Rohrzucker | 15,80 » |
| Glukose | 17,49 » |

Roß und Thomas (1892, S. 593) sagen: «Il existe une saccharose pendant les dix ou douze premières semaines de la végétation, dans les feuilles, le sarment et même le raisin» (also ungefähr Ende Juli), «cette saccharose disparaît dans les trois organes précédés pendant le quatrième mois de la végétation; il contient alors une mélange de sucre, où domine le dextrose.»

Wie wir schon in voriger Arbeit (1912) mitgeteilt haben, finden wir Mitte Juli ebenso viele invertierbare Kohlenhydrate wie Ende September, und zwar im Mittel 0,20% des Frischgewichts, manchmal noch mehr; so haben wir in einer Probe, die am 28. September geerntet war, 0,33% des Frischgewichts gefunden.

Mach und Kurmann (1877, S. 51) sagen nur, daß der Weinblätterextrakt links dreht, und zwar im Mittel $-2,5^{\circ}$; sie geben aber die Konzentration des Extraktes nicht an.

Macagno (1877) bestimmt nur die direkt reduzierenden Kohlenhydrate und findet folgende Werte für 1 kg Blätter:

| | |
|-----------------|----------------|
| am 20. Juni | 14,24 g Zucker |
| » 4. August | 15,31 » » |
| » 16. » | 15,96 » » |
| » 15. September | 20,50 » » |
| » 5. Oktober | 23,70 » » |
| » 22. » | 19,04 » » |

Neubauer (1873, S. 436) extrahiert den Zucker von dem verdampften Weinblätterextrakt mit absolutem Alkohol, fällt den alkoholischen Extrakt mit Bleizucker, filtriert und entfernt das überschüssige Blei mit Schwefelwasserstoff. «Die so erhaltene Lösung zeigt nicht nur alle Zuckerreaktionen am schönsten, sondern läßt sich auch mit ausgewaschener Bierhefe mit Leichtigkeit in Gärung versetzen, nach deren Beendigung der entstandene Alkohol durch Destillation gewonnen werden kann.» So findet er in 1 Pfund frischer, zu verschiedenen Vegetationsperioden gesammelter Blätter einen Zuckergehalt von 3,5—6 g und sagt: daß man in dem wässerigen Auszug der Blätter den Zuckergehalt nach Fehlings Methode nicht bestimmen kann, da hierin sicherlich andere Stoffe enthalten sind, welche die Kupferlösung reduzieren. Er hätte aber die Analysenbelege vor und nach der Zuckerextraktion bringen müssen, ohne die kein Beweis erbracht ist.

Kayser (s. Lit.) behauptet, daß er in den Weinblättern ein Gemisch von Rohrzucker und Invertzucker nachgewiesen habe. Auch er hat den Rohrzucker nach dem Reduktionsvermögen des Extraktes bestimmt.

Boettinger (1901, S. 6) versetzt den alkoholischen Extrakt von Weinblättern mit geschlemmtem Bleioxyd und zersetzt die erhaltene Bleiverbindung mit Schwefelwasserstoff. Der erhaltene Extrakt wurde nach der Schotten-Baumannschen Benzoylierungsmethode (s. 2. Bd. Biochem. Arb.-Meth.) bearbeitet. Und er will ein Kohlenhydrat isoliert haben, welches die Zusammensetzung $C_{12}H_{22}O_{12}$ hat. Es wird durch Kaliumpermanganat zu Kohlensäure und Oxalsäure oxydiert, ergibt mit Hefe Kohlensäure und noch eine andere Säure, aber keinen Alkohol, liefert gelbliche amorphe, in Alkohol lösliche Acetate und Benzoate und wirkt schwach reduzierend. Ob Boettinger

tatsächlich ein Kohlenhydrat in Händen gehabt hat, ist sehr schwer zu sagen. Daß er von einem so komplizierten Gemisch, welches Gerbstoff, organische Säuren u. a. enthält, mit der genannten Methode ein Kohlenhydrat hätte isolieren können, ist sehr unwahrscheinlich. Der Gerbstoff und die organische Säure können mit der genannten Methode auch Oxydationsprodukte geben. Daß sein Präparat durch Permanganatlösung oxydieren konnte, ist kein Beweis dafür, daß es ein Kohlenhydrat war. Weiter findet er in seinem Präparat Ammoniak; also war sein Präparat nicht rein. Trotzdem schließt er auf ein Kohlenhydrat, das er Racefoloxy-Biose nennt.

Neubauer (1873, S. 435) fällt den mit Bleiessig gereinigten Weinblätterextrakt mit Bleiessig und Ammoniak und zersetzt den erhaltenen Niederschlag mit Schwefelwasserstoff. Nachdem er die filtrierte Lösung eingedunstet hat, bilden sich nach einiger Zeit Krystalle, die als Inosit erkannt wurden. Von 50 kg Weinblätter erhielt er 1,5 g reines Inosit.

Daß in den Weinblättern ein invertierbares Kohlenhydrat vorhanden ist, ist sicher, weil wir auch nach unseren Bestimmungen (1912) gefunden haben, daß durch Einwirkung von Säuren das Reduktionsvermögen des Extraktes erhöht wird. Ob dieses invertierbare Kohlenhydrat Rohrzucker ist, konnten die vorgenannten Autoren nicht wissen, weil die mineralischen Säuren auch auf ein Tri- oder Polysaccharid Einwirkung haben können. Wie wir weiter zeigen werden, war in den von uns untersuchten Weinblättern kein Rohrzucker vorhanden; und von den direkt reduzierenden Kohlenhydraten haben wir Dextrose als Hydrazon und Lävulose als Osazon isoliert.

Untersuchung von Weinblättern auf Kohlenhydrate.

I. Rohrzucker.

1 kg gepulverte und bei 40—45° getrocknete Weinblätter (die im September geerntet waren) wurden mit 60 g Calciumcarbonat gemischt und bei 50° 1—2 Stunden mit absolutem Alkohol extrahiert, filtriert und abgepreßt. Da der Extrakt noch Säurereaktion zeigte, wurde er mit Natronlauge neutralisiert.

Der meiste Alkohol wurde abdestilliert und der Rückstand in einer Schale weiter verdampft. Der heiße Rückstand wurde mit Wasser versetzt und erkalten gelassen. Das Fett, das nach oben stieg, wurde entfernt. Die Lösung zeigte noch schwache Säurereaktion, sie wurde mit Baryumhydroxyd so lange versetzt, bis kein Niederschlag mehr entstand, in die abfiltrierte Lösung wurde Kohlensäure zur Entfernung des Baryums eingeleitet. Die letzte Lösung wurde weiter bis zur Sirupkonsistenz verdampft und einige Wochen stehen gelassen. In dieser Zeit bildeten sich keine Krystalle. Um aus diesem Sirup eventuell vorhandenen Rohrzucker isolieren zu können, wurde er weiter bearbeitet. Hier konnten wir die Strontianmethode von E. Schulze und Frankfurt (1895) nicht anwenden, weil der Sirup viele direkt reduzierende Kohlenhydrate enthielt.

Wir verfahren in folgender Weise: Der Sirup wurde mit Wasser versetzt und mit Bleiessig gefällt, solange noch ein Niederschlag entstand. Dann wurde filtriert, zu der filtrierten Lösung wurde noch etwas Bleiessig hinzugesetzt und mit konzentriertem Ammoniak gefällt. In dem entstehenden Niederschlag kann der eventuell vorhandene Rohrzucker als Bleisaccharat gefällt werden. Der Niederschlag wurde filtriert, mit Wasser gewaschen, bis er nicht mehr nach Ammoniak roch, zwischen Filtrierpapier abgepreßt und mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Die filtrierte Lösung wurde etwas erwärmt, um sie von dem Schwefelwasserstoff zu befreien. Die Lösung war schwach sauer; sie wurde mit einigen Tropfen Natronlauge neutralisiert und weiter bis zur Sirupkonsistenz verdampft, dann über Schwefelsäure krystallisieren gelassen. Nach 2 Wochen hatten sich keine Krystalle gebildet. Darauf wurde der Sirup mehrmals mit heißem absolutem Alkohol extrahiert und der Alkohol verdampft; aus dem zurückgebliebenen Sirup haben sich nach 2 Monaten Stehens keine Krystalle gebildet.

Ia. 1,2 kg feingepulverte Weinblätter wurde mit 70 g Calciumcarbonat gemischt und 2 Stunden bei 45° mit 3 l absolutem Alkohol extrahiert, filtriert und abgepreßt. Die alkoholische Lösung wurde mit konzentrierter Baryumhydroxydlösung gefällt, es entstand ein voluminöser Niederschlag, der filtriert wurde;

in die schwach alkalische Lösung wurde Kohlensäure eingeleitet. Die neutrale Lösung wurde auf dem Wasserbade bei geringer Temperatur verdampft, mit Wasser versetzt und weiter erhitzt, bis sie nicht mehr nach Alkohol roch, dann filtriert und weiter bis zur Sirupkonsistenz verdampft. Der Sirup wurde ruhig stehen gelassen, nach 2 Wochen hatten sich keine Krystalle gebildet. Die Fällung mit Bleiessig und Ammoniak wurde auch bei diesem Sirup wie oben ausgeführt. Der erhaltene Sirup hat nach 2 Monaten Stehens keine Krystalle gebildet.

Also war in diesen Weinblättern höchstwahrscheinlich kein Rohrzucker enthalten.

II. Darstellung der direkt reduzierenden Kohlenhydrate.

500 g Blätterpulver (die Blätter waren im Sept. geerntet) wurden zur Entfernung des Fettes in einem Perkolator mit Äther extrahiert, dann mit 95%igem Alkohol bei 50° auf dem Wasserbade extrahiert. Nach Verdampfung des Alkohols wurde der Rückstand mit Wasser versetzt, mit Bleiessig gefällt und das überschüssige Blei mit Schwefelwasserstoff entfernt. Die so bereitete Lösung wurde mit Blutkohle entfärbt und bis auf 200 ccm verdampft. In 10 ccm dieser Lösung haben wir die direkt reduzierenden Kohlenhydrate nach Fehling bestimmt = 0,8950 g Cu_2O = 201 mg Dextrose; also in 100 ccm unseres Extrakts haben wir 4 g direkt reduzierender Kohlenhydrate berechnet als Dextrose.

Optische Drehung: Diese Lösung drehte bei 16° im 200 mm-Rohr 3,35° S. V. nach rechts; demnach ist $[\alpha]_D^{16^\circ} = +14,4^\circ$. Die Lösung wurde dann auf die Hälfte konzentriert, sie enthielt also dann 8% direkt reduzierende Kohlenhydrate, sie drehte bei 16° im 200 mm-Rohr 6,7° S. V. nach rechts. Demnach ist $[\alpha]_D^{16^\circ} = +14,5^\circ$.

Die Lösung gab mit Resorcin und Salzsäure eine starke Lävulosereaktion.

Durch Kombination der Resultate der Zuckerbestimmung mittels Fehlingscher Lösung und der Polarisation können wir nach der im «Handb. der biochem. Arbeitsmeth. Bd. II S. 145»

angegebenen Formel den Lävulose- und Dextrosegehalt unserer Lösung berechnen, und unter der Voraussetzung, daß nur d-Glukose und l-Fruktose vorlag, finden wir

2,91% Dextrose und 1% Lävulose.

Zur Trennung derselben wurde die Hydrazon- und Osazonmethode von Neuberg (s. Lippmann 1904, S. 895) angewandt.

IIa. Darstellung von Glukosehydrazon.

100 ccm der oben beschriebenen Lösung wurden bis zur Sirupkonsistenz verdampft (die Essigsäure mit Natronlauge neutralisiert), mit 95%igem warmen Alkohol versetzt und filtriert. Zu der alkoholischen Lösung setzt man auf je 1 g Dextrose 1 g und auf je 1 g Lävulose 2 g Methylphenylhydrazin, verdampft das Ganze langsam auf dem Wasserbade bis zur Sirupkonsistenz und läßt es in einem kalten Raum zum Auskrystallisieren stehen. Wenn nach 1—2 Tagen keine Krystalle sich gebildet haben, setzt man ein Glukosehydrazonkrystall zu und beobachtet, daß nach kurzer Zeit große weiße charakteristische Krystalle erscheinen.

Der dicke Sirup wurde unter Umrühren mit etwas absolutem Alkohol vermischt, sodaß man ihn auf der Nutsche absaugen konnte. Die Krystalle wurden nach dem Absaugen mit absolutem Alkohol gewaschen und aus heißem 95%igem Alkohol umkrystallisiert. Wir erhielten: 2,5 g Glukosehydrazon.

Die Krystalle stimmten im Aussehen mit Glukosemethylphenylhydrazon überein und schmolzen bei 130—131°.

IIb. Darstellung von Fruktoseosazon.

Zu dem Rückstand von IIa wurden 2—4 ccm 50%ige Essigsäure hinzugesetzt, 10 Min. auf dem Wasserbade erhitzt und einige Tage stehen gelassen. Wenn nach dieser Zeit keine Krystalle entstanden sind, setzt man Wasser tropfenweise zu, bis eine trübe Mischung entsteht, und läßt diese noch einige Tage stehen. In dieser Zeit war ein öliger Niederschlag entstanden; er wurde filtriert, in 10%igem Alkohol gelöst und auskrystallisieren gelassen. Nach einiger Zeit krystallisierte das Osazon in charakteristischen feinen Nadeln, die auf einer Ton-

platte gereinigt und noch einmal aus 10^o/igem Alkohol umkrystallisiert wurden. Wir erhielten:

0,8 g Fruktoseosazon.

Die Krystalle stimmten im Aussehen mit Fruktosemethylphenylosazon überein und schmolzen bei 152—153^o. Dieser Schmelzpunkt ist auch von Neuberg angegeben.

Untersuchung über die mit Bleiessig und Ammoniak fällbaren Stoffe.

1 1/2 kg Weinblätter, welche mit Alkohol ausgewaschen waren, wurden mit 250 g Calciumcarbonat gemischt, mit Wasser 1—2 Stunden lang bei 70—80^o extrahiert, dann abgepreßt. Der erhaltene Extrakt wurde mit Bleiessig gereinigt. Die vom Bleiniederschlag getrennte Flüssigkeit wurde weiter mit Bleiessig versetzt und mit konzentrierter Ammoniaklösung gefällt. Der entstehende Niederschlag wurde auf einem Filter gesammelt, mit Wasser gut gewaschen, bis er nicht mehr nach Ammoniak roch, zwischen Filtrierpapier gepreßt, in Wasser verteilt und mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Die vom Schwefelblei abfiltrierte Lösung wurde mit Baryt neutralisiert, filtriert, das überschüssige Baryum mit Kohlensäure entfernt. Dann wurde die neutrale Lösung auf dem Wasserbade stark eingedunstet.

Als die Verdampfung bis zu genügender Konzentration fortgeschritten war, gossen wir die Lösung tropfenweise in absoluten Alkohol. Wenn nach einiger Zeit kein Niederschlag sich absetzt, setzt man einige Tropfen Natronlauge zu. Der Niederschlag wurde auf einem Filter gesammelt, mit absolutem Alkohol gewaschen, in Wasser gelöst und noch einmal mit absolutem Alkohol gefällt, so daß wir nach 2—3 Fällungen mit absolutem Alkohol ein gelblich-weißes amorphes Pulver erhalten haben, welches im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet wurde. Es betrug 20 g, gab sehr wenig Schleimsäure (nach Tollens, Bioch. Arb.-Meth. II. Bd., S. 112). So z. B. gaben 2,3091 g Substanz 0,0205 g Schleimsäure, d. h. = 0,88^o%, welche bei 212,5^o schmolz. Von 3 g Substanz haben wir (nach Tollens, Bioch. Arb.-Meth. II. Bd., S. 106) keine Zuckersäure erhalten.

Das Präparat wurde noch einige Male mit absolutem Alkohol wie oben gereinigt, bis ein rein-weißes Pulver entstand.

Natürlich ging durch diese Operationen viel Substanz verloren, sodaß wir zuletzt nur 8 g eines ganz weißen, sehr hygroskopischen amorphen Pulvers erhalten haben, das 8—10% Asche enthielt. Es reduzierte nicht die Fehlingsche Lösung; im Polarisationsapparat untersucht, erwies es sich als nicht drehend; ebenso verhielt es sich nach 4-stündigem Kochen bei 100° mit 5%iger Schwefelsäure. Aber das Präparat zeigte starke Inositreaktion (s. Lippmann 1904, S. 1031). Eine Spur von unserm Präparat wurde auf einem Platinblech mit einigen Tropfen Salpetersäure (spez. Gew. 1,2) oder 2 Tropfen konzentrierter Salpetersäure + 1 Tropfen Wasser zum Trocknen verdampft, einige Tropfen Chlorcalcium wurden zugesetzt, dann wiederum zum Trocknen verdampft. Zum Schluß wurde kurze Zeit auf freier Flamme erhitzt. Falls Inosit vorhanden ist, bekommt man eine schöne rosenrote Färbung, die noch mit 0,5 mg Inosit mit Sicherheit eintritt. Die Reaktion ist viel deutlicher, wenn man nach Salkowski und P. Mayer (1907) verfährt, d. h. die zu untersuchende Substanz wird erst mit Chlorcalciumlösung verdampft, der Rückstand mit Salpetersäure angefeuchtet und wieder verdampft. Das Präparat reduzierte auch bei langsamem Erhitzen die ammoniakalische Silbernitratlösung und gab im Reagenzrohr einen schönen Spiegel.

Darstellung von Inosit.

Das oben beschriebene Präparat wurde mit 80—90%igem Alkohol gewaschen und mit verdünntem Alkohol extrahiert. Nach 24 Stunden krystallisierten aus der alkoholischen Lösung schöne große Krystalle aus, die dem Aussehen nach mit reinem Inosit übereinstimmten. Nach dem Trocknen auf einer Tonplatte haben wir 1,57 g erhalten. Sie schmolzen bei 225°; dieser Schmelzpunkt ist auch für den reinen Inosit angegeben (s. Bioch. Handlexikon 1911), sie reduzierten nicht die Fehlingsche Lösung, aber wohl ammoniakalische Silbernitratlösung.

Untersuchung über die in den Weinblättern ev. vorhandenen Aminosäuren.

1 kg gepulverte bei 40—45° getrocknete Weinblätter (sie waren in der Nähe von Zürich Anfang Oktober gesammelt

worden). Die Blätter, von denen ein Teil mit Kupfervitriol bespritzt gewesen war, wurden in einem Kolben mit siedendem 95%igen Alkohol extrahiert, filtriert, abgepreßt und, nachdem der Alkohol abdestilliert war, mit Wasser versetzt und ruhig stehen gelassen. Das Fett kam an die Oberfläche und wurde nach dem Erkalten entfernt. Die wässerige Lösung wurde mit Bleiessig gereinigt und das überschüssige Blei mit Schwefelwasserstoff entfernt, filtriert und auf dem Wasserbade bis zur Sirupkonsistenz verdampft. Es bildete sich nicht die für Aminosäuren charakteristische Haut an der Oberfläche. Auch bildeten sich nach einigen Tagen Stehens keine Krystalle.

Um die möglicherweise trotzdem vorhandenen Aminosäuren zu gewinnen, haben wir noch folgendes Verfahren angewandt. Der letzte Sirup wurde mit Wasser verdünnt, mit Mercurinitratlösung versetzt, der entstehende Niederschlag (1) mit Wasser gewaschen und zwischen Filtrierpapier getrocknet. (Er ist weiter unten beschrieben.) Die filtrierte Lösung wurde weiter mit Mercurinitrat versetzt und mit Natronlauge alkalisch gemacht; der entstehende Niederschlag (2) wurde filtriert, gewaschen und zwischen Filtrierpapier getrocknet.

Der Niederschlag 1 wurde mit Schwefelwasserstoff zersetzt, filtriert und eingedampft. Als die Verdampfung soweit vorgeschritten war, daß die Lösung etwas zähe geworden war, wurde mit Äther gewaschen. Der Rückstand wurde mit Wasser versetzt, bis zur Sirupkonsistenz verdampft und mehrere Tage über Schwefelsäure stehen gelassen. Nach 2 Wochen hatten sich keine Krystalle gebildet. Der Sirup, der auf eine Tonplatte gestrichen wurde, hinterließ keinen Rückstand. Also war wahrscheinlich keine Aminosäure vorhanden.

Wenn Aminosäuren in unserer Lösung vorhanden gewesen wären, so hätte ein Teil davon sich im Niederschlag 1 zeigen müssen. Trotzdem haben wir den Niederschlag 2 weiter bearbeitet. Er wurde wie Niederschlag 1 zersetzt, die filtrierte Lösung mit Ammoniak sehr schwach alkalisch gemacht und bis zur Sirupkonsistenz verdampft. Mit dem Sirup haben wir die Tyrosinreaktion mit dem Millonschen Reagens versucht; er zeigte keine Rotfärbung. Die sirupöse Lösung

wurde 2 Wochen über Schwefelsäure stehen gelassen; danach auf eine Tonplatte gestrichen, hinterließ sie einige kleine Krystalle, die aber als anorganisch erkannt wurden. Also war wahrscheinlich keine Aminosäure in den Blättern vorhanden.

Darstellung von Glutamin und event. vorhandenem Asparagin.

1 kg gepulverte und bei 40° getrocknete Weinblätter wurden bei 50° 2 Stunden lang mit Wasser extrahiert. Die Masse wurde mittels einer Presse stark gepreßt. (Es waren Blätter, die in der Nähe von Zürich Anfang Oktober gesammelt worden waren, und von denen ein Teil mit Kupfervitriol bespritzt gewesen war.) Der braun gefärbte Extrakt wurde mit Bleiessig versetzt, solange noch eine Fällung entstand. Die vom Bleiessig abfiltrierte klare Flüssigkeit wurde mit Mercurinitrat versetzt. Es entstand ein starker weißer Niederschlag, welcher auf einem Filter gesammelt, mit Wasser ausgewaschen und schließlich zwischen Filtrierpapier abgepreßt wurde. Dann wurde er in Wasser verteilt und mit Schwefelwasserstoff zersetzt; die filtrierte Lösung wurde mit Ammoniak neutralisiert und bei gelinder Wärme stark eingedunstet. Während des Eindunstens trat nach und nach Säurereaktion ein; es wurden von Zeit zu Zeit einige Tropfen Ammoniak zugefügt. Die konzentrierte Flüssigkeit wurde über Schwefelsäure stehen gelassen; nach ca. 12 Stunden setzte die Bildung von Krystallen ein, welche nach 2—3 Tagen mit dem Sirup eine breiartige Masse gaben. Die Krystalle wurden durch Aufstreichen der Masse auf eine Tonplatte von der Mutterlauge befreit und aus Wasser umkrystallisiert. Sie stimmten in ihrem Aussehen und Verhalten mit denjenigen von Glutamin überein. Das Präparat (0,8 g) war frei von Tyrosin: seine wässrige Lösung gab beim Erhitzen mit Millonschem Reagens keine Färbung. Die weißen prismatischen Krystalle waren schwer löslich in kaltem, leicht löslich in kochendem Wasser. In 95%igem Alkohol lösten sie sich nicht, dagegen in heißem verdünnten Alkohol sehr leicht, und beim Erkalten krystallisierten sie in feinen Nadeln.

Mit Nesslerischem Reagens zeigten sie keine Ammoniakreaktion, aber nach Erhitzen mit verdünnter Salzsäure trat die Reaktion ein. Bei Erwärmen der wässrigen Lösung mit Kupferhydroxyd entstand eine lasurblaue Flüssigkeit, aus welcher nach dem Erkalten Krystalle einer Kupferverbindung sich ausschieden. In diesen Krystallen, die einer Analyse unterworfen wurden, wurde ein Kupfergehalt gefunden, welcher der Formel des Glutaminkupfers $(C_5H_9N_2O_3)_2Cu$ entsprach.

1. 0,1765 g Substanz, bei 105° getrocknet, gaben nach dem Glühen 0,0400 g CuO.

2. 0,1770 g Substanz, bei 105° getrocknet, gaben in gleicher Weise 0,0402 g CuO.

| Cu: | gefunden | berechnet |
|-----|----------|--------------------------|
| 1. | 18,07% | für $(C_5H_9N_2O_3)_2Cu$ |
| 2. | 18,18% | 17,94%. |

Diese Resultate stimmen mit den von E. Schulze (1895) für Glutamin aus Farnkräutern gefundenen Zahlen überein.

Es war also in den Weinblättern Glutamin, aber kein Asparagin vorhanden.

Die filtrierte Lösung von Glutamin wurde nach der Fällung mit Mercurinitrat mit Natronlauge versetzt, solange noch ein Niederschlag entstand. Der Niederschlag wurde auf einem Filter gesammelt, gut gewaschen, zwischen Filtrierpapier abgepreßt, in Wasser verteilt und mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Die filtrierte Lösung wurde mit Ammoniak neutralisiert und eingedunstet. Der Sirup wurde über Schwefelsäure stehen gelassen; nach 3 Wochen hatten sich Krystalle gebildet, welche mittels einer Tonplatte von der Mutterlauge befreit wurden. Sie wurden in Wasser gelöst und mit Blutkohle entfärbt und umkrystallisiert. Die Krystalle zeigten folgende Eigenschaften: sie verbrannten völlig auf einer Platinspatul, gaben mit Lackmuspapier saure Reaktion; die Salzsäurereaktion mit Silbernitrat war negativ, die Nitratreaktion mit Schwefelsäure und Diphenylamin war positiv, die Ammoniakreaktion mit Nesslerischem Reagens war positiv.

Das Präparat enthielt also Ammonnitrat. Zur Entfernung desselben wurde das Präparat in wenig Wasser gelöst, mit

reinem Baryumcarbonat gemischt und solange auf dem Wasserbade erhitzt, bis es nicht mehr nach Ammoniak roch, darauf erst mit absolutem, dann mehrmals mit 95%igem Alkohol extrahiert. Nach öfter wiederholter Extraktion mit Alkohol gab der Rückstand nicht mehr die Ammoniak- und Salpetersäurereaktion, auch nicht die Tyrosinreaktion, aber die Stickstoffreaktion von Lassaigne (Verbrennung mit metallischem Natrium). Die Krystalle gaben, in Wasser gelöst und mit gewaschenem Kupferhydroxyd auf dem Wasserbade erhitzt, eine lasurblaue Flüssigkeit, aus welcher nach dem Verdunsten kleine blaue Krystalle sich ausschieden. Leider war die Menge so klein, daß wir sie nicht einer Analyse unterwerfen konnten.

Untersuchungen über die in den Weinblättern enthaltenen organischen Basen.

5 kg gepulverte und bei 40—45° getrocknete Weinblätter wurden mit Wasser bei 65—70° 2—3 Stunden lang extrahiert. (Diese Blätter waren in der Nähe von Zürich Anfang Oktober gesammelt worden. Es waren Blätter, von denen ein Teil mit Kupfervitriol bespritzt gewesen war.) Die Masse wurde abgepreßt und das Extrakt mit Bleiessig gefällt. Aus der filtrierten Lösung wurde das überschüssige Blei mit Schwefelsäure entfernt. Die schwach saure Lösung wurde auf dem Wasserbade stark eingedunstet bis auf 1 l, Schwefelsäure wurde hinzugesetzt, bis die Lösung 5% davon enthielt, mit Phosphorwolframsäure versetzt, solange bis kein Niederschlag mehr entstand, und 2—3 Tage stehen gelassen. Dann wurde der Niederschlag auf der Nutsche abgesaugt, mit 5%iger Schwefelsäure gut gewaschen und mit Baryt in bekannter Weise zersetzt. Zur Entfernung des Ammoniaks wurde die Masse einige Tage lang durch ein mit Windflügeln versehenes Rührwerk aufgewirbelt, bis alles Ammoniak entfernt war. Dann wurde die alkalische ammoniakfreie Flüssigkeit filtriert, der Niederschlag gewaschen und durch die filtrierte Lösung ein Kohlensäurestrom hindurchgeleitet und wiederum filtriert. Die schwach alkalische Lösung wurde mit Salpetersäure neutralisiert, bis eine schwach saure Reaktion eintrat. Die Flüssigkeit, die nach diesen Operationen

ein Volumen von $3\frac{1}{2}$ l hatte, wurde bis auf $\frac{1}{4}$ l ihres Volumens auf dem Wasserbade eingedunstet. Die weitere Behandlung zur Fällung der Basen geschah in bekannter Weise nach Kossel und Kutscher (1900). Die Flüssigkeit wurde mit Silbernitrat versetzt, bis eine Probe mit Barytwasser eine braune Fällung von Silberoxyd ergab. Es entstand aus der sauren Flüssigkeit kein Niederschlag, also waren keine Alloxur-basen vorhanden.

Die Flüssigkeit wurde mit konzentrierter Barytlösung versetzt, solange bis kein Niederschlag mehr entstand, sodaß die Histidin- und die Argininfraktion zusammen gefällt wurden. Es entstand ein kleiner Niederschlag, welcher, nach den bekannten Methoden weiter verarbeitet, keine Krystalle ergab; auch die für Histidin charakteristische Reaktion war negativ; auch zeigte die Argininfraktion mit Kupferhydroxyd keine Blaufärbung. Es war also von diesen Basen höchstwahrscheinlich nichts vorhanden.

Das in dem Filtrat überschüssige Silber wurde mit Salzsäure gefällt; dann wurde die Lösung mit Barytwasser genau neutralisiert und auf dem Wasserbade eingedunstet, nach dem Erkalten mit Schwefelsäure versetzt, bis sie 5% davon enthielt, filtriert und mit Phosphorwolframsäure gefällt und über Nacht stehen gelassen. Dann wurde der Niederschlag auf der Nutsche gesaugt und mit 5%iger Schwefelsäure gewaschen. Die weitere Behandlung dieser Lysinfraktion geschah in folgender Weise.

Lysinfraktion.

Dieser Niederschlag, welcher vielleicht Betain und Cholin enthielt, wurde in bekannter Weise zersetzt, die entstehende Lösung der Chloride bis zur Trockene eingedunstet und über Schwefelsäure vollständig getrocknet, dann mit heißem Alkohol mehrmals extrahiert. Es blieben nur anorganische Salze zurück. Die alkoholische Flüssigkeit wurde mit konzentrierter alkoholischer Sublimatlösung versetzt. Der Niederschlag und die aus der alkoholischen Lösung erhaltenen Quecksilberdoppelsalze wurden mittels einer Tonplatte von der Mutterlauge befreit und

aus Wasser unter Zusatz von etwas Quecksilberchlorid umkrystallisiert, dann mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Die Chloride wurden vollständig im Vakuum getrocknet. Der Rückstand wurde in der Kälte mit wasserfreiem absoluten Alkohol extrahiert. Das Ganze war in Alkohol löslich. Es war also wahrscheinlich kein Betain vorhanden.

Die alkoholische Lösung wurde auf dem Wasserbade eingedunstet, mit Wasser verdünnt und mit Blutkohle entfärbt, filtriert, bis zur Sirupkonsistenz eingedunstet und über Schwefelsäure völlig getrocknet (es zeigten sich die charakteristischen Cholinkrystallformen). Die Krystalle wurden in absolutem wasserfreiem Alkohol gelöst; die alkoholische Lösung wurde mit einer konzentrierten Platinchloridlösung versetzt, solange bis kein Niederschlag mehr entstand, und einige Zeit stehen gelassen. Die Krystalle wurden auf der Nutsche abgesaugt und in Wasser gelöst; die Lösung wurde auf dem Wasserbade bis zur Sirupkonsistenz verdampft und einige Tage über Schwefelsäure stehen gelassen. Nach dieser Zeit haben sich die charakteristischen Cholindoppelsalzkrystalle gebildet. Sie wurden mittels einer Tonplatte von der Mutterlauge befreit, im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet und für die Analyse benutzt.

Von 5 kg Weinblättern haben wir 0,507 g Platindoppelsalz erhalten.

0,3070 g Substanz gaben 0,0975 g Platin, also 31,75%.

| | | |
|-----|----------|-----------------------------------|
| Pt: | gefunden | berechnet |
| | 31,75% | für $(C_5H_{14}NO_2Cl_2)_2PtCl_4$ |
| | | 31,65% |

Resultate.

In Anfangs September bis Anfangs Oktober am Tage gesammelten und sofort an der Luft getrockneten Weinblättern konnten wir nachweisen:

1. Dextrose,
2. Lävulose,
3. Inosit,
4. Glutamin,
5. Cholin.

Rohrzucker, Aminosäuren, Alloxurbasen, Histidin, Arginin und Betain konnten nicht gefunden werden.

Literaturverzeichnis.

- Boettinger, Chemische Zeitung, Bd. 52 (1901), S. 6.
- Deleano, N. T., «Studien über den Atmungsstoffwechsel abgeschnittener Laubblätter», Jahrbücher für wiss. Bot., 1912.
- Hilger und Gross, Landw. Versuchsst., Bd. 33 (1887), S. 170.
- Kayser, R., Landw. Versuchsst., Bd. 29, S. 461.
- Macagno, Recherches sur les fonctions des feuilles de vigne, C. R. Ac. Sc., Bd. 85, S. 763 und 810 (1877).
- Mach und Kurmann, Reifestudien bei Trauben und Früchten, Weinlaube (1877), S. 52.
- Neubauer, Beiträge zur qualitativen Analyse des Weinlaubs, Landwirtschaftl. Versuchsst., Bd. 16, S. 427 (1873).
- Aberhalden, Handb. der bioch. Arb.-Meth., Berlin 1910.
— Bioch. Handlex., Berlin 1911.
- Petit, De la disparition des acides du raisin et leur transformation en sucres, C. R. Ac. Sc., Bd. 61 (1869), S. 760.
— Sur le sucre contenu dans les feuilles de vigne, C. R. Ac. Sc., Bd. 77, S. 944 (1873).
- Ross und Thomas, C. R. Ac. Sc., Bd. 114 (1892), S. 593.
- Kossel und Kutscher, Beiträge zur Kenntnis der Eiweißkörper, Diese Zeitschrift, Bd. 31, S. 165 (1900).
- Lippmann, Chemie der Zuckerarten, III. Aufl. (1904).
- Neuberg, G., Über die Isolierung von Ketosen, Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. 35 (1902), S. 959.
- Salkowski und P. Mayer, Über das physiologische Verhalten von Inosit, Bioch. Zeitschr., Bd. 2, S. 398 (1907).
- Schulze, E., Diese Zeitschrift, Bd. 30, S. 249 (1900).
— Über das Vorkommen von Glutamin in grünen Pflanzenteilen, Diese Zeitschrift, 1895, S. 327.
— Zum Nachweis der Rohrzucker in Pflanzensamen, Diese Zeitschrift, Bd. 52, S. 405.
— und Frankfurt, Über die Verbreitung des Rohrzuckers in den Pflanzen usw., Diese Zeitschrift, Bd. 20 (1895), S. 511.
- Lassaigne, S. König, Untersuch. von Nahrungs- und Genußmitteln, Berlin, 4. Aufl.
-