

Grundzüge der Chemischen Pflanzenuntersuchung

DR. L. ROSENTHALER

 Springer

GRUNDZÜGE
DER CHEMISCHEN
PFLANZENUNTERSUCHUNG

VON

DR. L. ROSENTHALER
A. O. PROFESSOR A. D. UNIVERSITÄT BERN

ZWEITE
VERBESSERTE UND VERMEHRTE
AUFLAGE



SPRINGER-VERLAG BERLIN HEIDELBERG GMBH 1923

ISBN 978-3-662-35512-1 ISBN 978-3-662-36340-9 (eBook)
DOI 10.1007/978-3-662-36340-9
SOFTCOVER REPRINT OF THE HARDCOVER 2ND EDITION 1923

ALLE RECHTE, INSBESONDERE DAS DER ÜBERSETZUNG
IN FREMDE SPRACHEN, VORBEHALTEN.

Vorwort zur zweiten Auflage.

Als Doktorant mit einer pflanzenchemischen Arbeit befaßt, empfand ich es als Mangel, daß es eine kurze Anleitung für eine derartige Arbeit nicht gab. Ich habe deshalb, sobald ich dazu imstande war, diese „Grundzüge der chemischen Pflanzenuntersuchung“ geschrieben. Da das Büchlein seit einiger Zeit vergriffen war, habe ich es neu bearbeitet und die Änderungen und Zusätze angebracht, die sich durch das Fortschreiten der Wissenschaft als notwendig erwiesen. Neu aufgenommen sind die Kapitel über proteinogene Amine und Farbstoffe.

Möge sich dies Büchlein auch jetzt wieder denen nützlich erweisen, die sich seiner bedienen, und ganz besonders den Anfängern in der Kunst der Pflanzenuntersuchung, für die es recht eigentlich bestimmt ist.

Bern, März 1923.

Der Verfasser.

Inhaltsverzeichnis.

Einleitung	Seite 1
Regeln	4

Allgemeiner Teil.

Allgemeines über einige zur Darstellung der Pflanzenstoffe nötigen Arbeiten	5
Vorprüfungen	8
Das Verfahren von Stas-Otto	11
Nachweis von Rohrzucker und Glykosiden nach Bourquelot	15
Die Bleimethode	17
Gang	21

Spezieller Teil.

Alkaloide	26
Glykoside	32
Farbstoffe	40
Fette und fette Öle	41
Wachse	56
Lecithine (Phosphatide)	58
Ätherische Öle	59
Harze	63
Gerbstoffe	68
Phlobaphene	72
Organische Säuren	72
Kohlenhydrate und verwandte Körper	81
Eiweißstoffe	96
Spaltungsprodukte der Eiweißstoffe	100
Proteinogene Amine	101
Enzyme	105
Toxalbumine	108
Anorganische Bestandteile	108
Literatur	110
Sachverzeichnis	113

Einleitung.

Die chemische Zusammensetzung einer Pflanze ist erst dann vollständig ermittelt, wenn die Art und Menge sämtlicher chemischer Individuen bekannt ist, aus welchen sie besteht. Die Ausführung einer in diesem Sinne geplanten Untersuchung ist eine Aufgabe, deren vollkommene Lösung auch bei dem jetzigen hohen Stand der Naturwissenschaften und der Chemie insbesondere noch große, in mancher Hinsicht vorläufig unüberwindliche Schwierigkeiten bietet, da bei einer nicht unbeträchtlichen Anzahl von Stoffen, wie Enzymen und Membranstoffen, eine Zerlegung in chemische Individuen bis jetzt nicht mit Sicherheit möglich ist. Allein eine solche lückenlose Analyse ist bei den meisten pflanzenchemischen Arbeiten weder beabsichtigt noch notwendig, zumal die Inangriffnahme derartiger Untersuchungen aus sehr verschiedenen Beweggründen erfolgt. Der Pharmazeut und der Pharmakologe haben vielfach andere Ziele im Auge als der Pflanzenphysiologe und der Agrikulturchemiker. Der größte Teil der pflanzenchemischen Untersuchungen, wie sie in pharmazeutischen, chemischen und pharmakologischen Laboratorien vorgenommen werden, hat den Zweck, medizinisch, technisch oder wissenschaftlich wichtige und interessante Pflanzenstoffe in reinem Zustand darzustellen und ihre Zusammensetzung in mehr oder minder weitgehendem Maße zu erforschen.

Die Ermittlung der organischen Bestandteile einer Pflanze ist weitaus schwieriger als die ihrer anorganischen. Während bei der Untersuchung der letzteren nur eine verhältnismäßig kleine Anzahl von bekannten Elementen und Verbindungen in Betracht kommt, ist die Zahl der in den Pflanzen vorkommenden organischen Stoffe, wenn sie auch nur aus wenigen Elementen zusammengesetzt sind, eine ungeheuer große. Die Eigenschaften der Körper, deren Darstellung der Zweck der Untersuchung ist, sind meistens unbekannt, und die Entscheidung darüber, ob die endlich isolierten Körper chemische Individuen sind oder nicht, ist nicht immer leicht.

Außerdem ist der Pflanzenchemiker oft vor die Frage gestellt, ob die von ihm im Laufe der Untersuchung gewonnenen Körper in der Pflanze enthalten waren oder ob sie nur Zersetzungsprodukte sind. Denn die bei den Arbeiten selten völlig auszuschließende Einwirkung der Wärme, des Luftsauerstoffs, der Enzyme, möglicherweise auch die Reaktionen der gelösten Stoffe aufeinander und der oft sauren oder alkalischen Lösungsmittel können nicht selten Veränderungen in den ursprünglich vorhandenen Pflanzenstoffen hervorrufen, welche selbst bei Aufwand großer Mühe und eindringlichen Scharfsinns oft schwer nachzuweisen sind.

Dazu kommt, daß die Zusammensetzung einer Pflanze oder selbst eines Pflanzenteils nicht unter allen Umständen die gleiche ist. Der Wechsel der Jahreszeiten, die Verschiedenheiten der Standorte, die bei der Kultur der Gewächse durch die Menschen vorgenommenen Eingriffe können weitgehende Abweichungen sowohl der qualitativen als auch der quantitativen Zusammensetzung der Pflanzen bewirken. So schwankt der Glykosidgehalt der Digitalisblätter bei den in der gleichen Vegetationsperiode gesammelten Blättern nicht unbedeutend, wenn sie von verschiedenen Standorten herrühren. Auch ist es eine bekannte Tatsache, daß der Alkaloidgehalt der javanischen Chinarinden durch die Kultur sich beträchtlich vermehrt hat.

Endlich geben die quantitativen Bestimmungen häufig nur annähernde Resultate. Z. B. lassen die rein wissenschaftlich brauchbaren Bestimmungsmethoden für Gerbstoffe, Eiweiß und Membranstoffe noch manches zu wünschen übrig.

Bei der großen Mannigfaltigkeit der in den Pflanzen vorkommenden Stoffe ist es leicht verständlich, daß ein systematischer Gang, wie er in der anorganischen Chemie ausgearbeitet worden ist, in gleicher Vollendung für die Pflanzenchemie nicht existiert und nicht existieren kann, solange nicht vollständige Untersuchungen einer beträchtlichen Anzahl von Pflanzen aus allen Familien des Pflanzenreiches vorliegen. Denn es ist sonst nicht möglich, eine Untersuchungsmethode aufzustellen, bei deren Einhaltung man sicher wäre, alle in der Pflanzenwelt vorkommenden Körper in unverändertem Zustande aufzufinden, gewissermaßen ein sehr enges Netz, in dem sich alle aufzusuchenden Substanzen auffangen lassen. Wenn hier trotzdem ein solcher (in den Grundzügen von Dragendorffs Methode ausgehender) Gang mitgeteilt wird, so geschieht es in der Überzeugung, daß der Anfänger sich mit einem solchen Gang besser in den verschlungenen Verhältnissen der Pflanzenchemie orientieren wird, als ohne dieses Hilfsmittel, wenn er sich nur bewußt bleibt, daß er nicht sklavisch unter allen

Umständen daran festhalten darf. Eine große Dosis von Beobachtungsgabe und Findigkeit wird der Pflanzenchemiker immer besitzen müssen, wenn er nichts übersehen und seiner Aufgabe in jedem Fall gerecht werden will.

Andererseits finden sich Umstände, welche geeignet sind, die Aufgabe des Pflanzenchemikers zu erleichtern; aus der großen Menge der Pflanzenstoffe lassen sich Gruppen bilden, deren Individuen gemeinsame Eigenschaften besitzen. Auf unbekannte Glieder dieser Gruppen, wie sie z. B. in den Alkaloiden, Gerbstoffen, Zuckerarten und Eiweißkörpern vorliegen, fahndet man, indem man solche Untersuchungsmethoden anwendet, die bereits zur Auffindung bekannter Körper der gleichen Gruppe gedient haben, oder indem man unter Berücksichtigung der allen Gliedern der Gruppe gemeinsamen Eigenschaften eine neue Methode versucht. Eine große Anzahl von Pflanzenstoffen, deren Eigenschaften bekannt sind, ist im Pflanzenreich weit verbreitet. Es ist deshalb leicht (oft auch nebensächlich), ihre Gegenwart in dem Gegenstande der Untersuchung festzustellen. Derartige Körper sind Chlorophyll, Traubenzucker, Cellulose, Stärke u. dgl.

Oft ist es leichter, die Abwesenheit des Gliedes einer bestimmten Gruppe festzustellen, als seine Gegenwart einwandfrei nachzuweisen. Gibt z. B. ein konzentrierter, sauer reagierender Pflanzenauszug keine Fällung mit den gebräuchlichsten Alkaloidfällungsmitteln, so ist die Gegenwart eines Alkaloides ausgeschlossen.

Manchmal gewährt die Verwendungsweise einer Pflanze Anhaltspunkte für die Untersuchung. Nahrungsmittel enthalten verdauliche Kohlenhydrate, Fette oder Eiweißstoffe, in Genußmitteln finden sich häufig Substanzen mit basischen Eigenschaften und in pflanzlichen Waschmitteln wird man die Gegenwart saponinartiger Glykoside vermuten dürfen.

Bei der Untersuchung von Pflanzen mit ausgesprochener physiologischer Wirkung ist es vorteilhaft, das biologische Experiment heranzuziehen. Man kann damit sowohl die Auszüge als die isolierten Stoffe darauf prüfen, ob sie die spezifische Wirkung besitzen.

Die Stellung der Pflanzen im natürlichen System bietet manchmal Aufschluß über die Art der Stoffe, deren An- oder Abwesenheit man in den Pflanzen erwarten darf. Bei Papaveraceen wird man hoffen dürfen, dem Protopin, ihrem Leitalkaloid, zu begegnen. Die Anwesenheit von Alkaloiden ist in Solanaceen, die von Amygdalin in Prunaceensamen von vornherein wahrscheinlich. Dagegen ist kaum damit zu rechnen, daß man etwa in der Familie der Umbelliferen eine Blausäurepflanze antrifft.

Kommen mehrere Stoffe derselben Art, etwa Alkaloide oder Glykoside, in einer Gattung oder gar in einer und derselben Pflanze vor, so kann man nach den bisher vorliegenden Erfahrungen annehmen, daß sie in ihrer chemischen Zusammensetzung einander nahe stehen. So leiten sich alle Blausäureglykoside der Prunaceen vom Benzaldehydcyanhydrin ab und bei allen Colomboalkaloiden ist derselbe Kern vorhanden.

Regeln.

1. Man prüfe jeden festen Körper, den man dargestellt hat, mit dem Mikroskop, um sich davon zu überzeugen, ob er äußerlich einheitlich ist.

2. Man reinige jeden Körper, ehe man ihn analysiert, solange, bis über seine Einheitlichkeit nicht der geringste Zweifel besteht. Das Analysieren mangelhaft gereinigter Körper ist der Fehler, der am häufigsten in der Pflanzenuntersuchung begangen wird.

3. Man analysiere keinen Körper, ehe man ihn nicht qualitativ geprüft hat. Man unterlasse es nie, ihn auf Stickstoff, Schwefel, Phosphor und Aschenbestandteile zu untersuchen.

Allgemeiner Teil.

Allgemeines über einige zur Darstellung der Pflanzenstoffe nötigen Arbeiten.

Die Darstellung beginnt mit der Extraktion oder bei flüchtigen Substanzen mit der Destillation; nur in einzelnen Fällen kann die Sublimation Verwendung finden, wie bei der Darstellung der Benzoesäure aus Benzoe.

Die Benützung von Perkulationsapparaten zum Ausziehen in der Kälte, die von Extraktionsapparaten bei warmer Extraktion erleichtert die Arbeit wesentlich. Wenn man bei der Extraktion die Anwendung von Wärme nicht vermeiden kann, so erwärme man doch möglichst nur auf dem Dampfbad.

Wie lange und wie oft man extrahieren soll, hängt von der Eigenschaft der zu gewinnenden Stoffe und der Art der Untersuchung ab. Man wird die Extraktion im allgemeinen immer bis zur völligen Erschöpfung des Materials fortsetzen. Diesen Moment kann man beim Arbeiten mit Extraktions- und Perkulationsapparaten oft daran erkennen, daß eine im Anfang gefärbte Flüssigkeit farblos abläuft. Sind die Extraktionen von Anfang an farblos, so verdunstet man von Zeit zu Zeit eine kleine Menge derselben auf einem Uhrglas. Hinterläßt die Flüssigkeit keinen festen Rückstand, so ist die Extraktion beendet. Bei Fettextraktionen läßt man die ablaufende Flüssigkeit auf ein Papier einwirken und hat an den entstehenden Fettflecken einen ungefähren Maßstab für das Fortschreiten der Extraktion. Sind Gerbstoffe auszuziehen, so kann man extrahieren, bis die Eisenchloridreaktion (s. S. 9) nicht mehr eintritt. Bei Saponinen wendet man die Schaumreaktion (s. S. 10) an, bei Alkaloiden die oft sehr empfindlichen Alkaloidfällungsmittel oder man prüft, da sie meist bitter sind (mit Vorsicht!) den Geschmack der Auszüge. Letztere Probe kann man selbstverständlich auch bei bitter oder anders schmeckenden Körpern nichtalkaloidischer Natur anwenden. Die Rückstände der Extraktion preßt man aus, da sie immer noch Flüssigkeit enthalten.

Die nun folgende Filtration der Auszüge ist, wenn man nicht eine Zentrifuge besitzt, oft eine sehr langwierige Sache. Am besten läßt man die Auszüge gut absetzen und zieht dann die klare Flüssigkeit ab, ehe man den trüben Rest auf ein Filter gibt. Als Klärungsmittel läßt sich Talk oder Kieselgur verwenden, welche die feinen Trübungen mit zu Boden reißen, wenn man die Flüssigkeit damit schüttelt. Bei schleimigen Flüssigkeiten hilft oft ein Zusatz von Weingeist.

Ein vorzügliches Filtrierverfahren ist das Pukallsche, das die Flüssigkeit mit Hilfe der Wasserstrahlpumpe durch Tonzellen (Pukallsche Zellen) saugt. Es ist oft anwendbar, wenn alle anderen Filtriermethoden versagen.

Das Abdampfen sollte, wenn möglich, im Vakuum erfolgen, um die durch hohe Temperatur begünstigte Oxydation und Spaltungen zu vermeiden.

Will man eine weingeistige Flüssigkeit eindampfen, um sie dann mit Wasser aufzunehmen, so achte man darauf, den Weingeist vollständig zu entfernen, da sonst das meist vorhandene Chlorophyll und evtl. andere in Weingeist lösliche, in Wasser unlösliche Körper in die wässrige Lösung übergehen und diese so trüben können, daß eine Klärung durch Filtration kaum mehr zu erzielen ist. Ähnliches gilt für den umgekehrten Fall. Ist eine Trübung trotzdem eingetreten, so kann man sie manchmal durch Ausschütteln mit Äther beseitigen¹⁾.

Wird die Entfärbung der Auszüge mit Kohle vorgenommen, so muß man die Kohle nachher sorgfältig mit verschiedenen Lösungsmitteln auskochen, da sie neben färbenden Bestandteilen auch Alkaloide und andere Stoffe aufnehmen kann.

In günstigen Fällen erhält man bei der Darstellung ohne weiteres krystallinische Produkte, die man nur mit Kohle reinigen und umkrystallisieren darf, um den Körper in reinem Zustand zu haben. In der Mehrzahl der Fälle wird die Krystallisation nicht so leicht vor sich gehen und es bedarf oft eines monatelangen Stehens im Vakuum über Schwefelsäure, bis die Krystalle auftreten. Handelt es sich um einen bekannten Stoff oder kommen nur wenige Stoffe in Betracht, so kann man die Krystallisation durch Impfung hervorrufen.

Wasserlösliche Stoffe, die in Weingeist nicht löslich sind, kann man zur Krystallisation bringen, wenn man sie in Wasser löst, die Lösung mit Weingeist versetzt, bis eine Trübung entsteht, dann diese durch Wasser beseitigt und die Flüssigkeit in einen mit ge-

¹⁾ Kolloidal gelöstes Chlorophyll beseitigt man am besten dadurch, daß man nach Zusatz von Kochsalz ausäthert.

branntem Kalk versehenen Exsiccator bringt. Das Wasser wird vom Kalk aufgenommen und die Flüssigkeit wird in demselben Maße relativ reicher an Weingeist.

Ein kristallisierter Stoff kann im allgemeinen als rein betrachtet werden, wenn er nach wiederholtem Umkristallisieren seinen Schmelzpunkt nicht mehr ändert.

Schwieriger ist die Reinheit festzustellen, wenn ein Stoff nicht unzersetzt schmilzt, amorph oder flüssig ist. Unzersetzt siedende Flüssigkeiten unterwirft man zur Prüfung und Reinigung der fraktionierten Destillation, und fängt die bei einer Temperatur oder innerhalb geringer Temperaturintervalle übergehenden Flüssigkeitsanteile gesondert auf. Diese Operation führt, auch bei öfterer Wiederholung, manchmal nicht zum Ziel, da auch Gemenge von Flüssigkeiten einen konstanten Siedepunkt haben können. In diesem Falle sucht man Derivate der Körper darzustellen, da diese sich dann vielfach leichter trennen lassen als ihre Muttersubstanzen. Ein solches Verfahren hat sich besonders für die terpenartigen Bestandteile der ätherischen Öle (s. S. 62) bewährt und findet auch zur Trennung nichtflüchtiger Körper vielfach Anwendung. Alkaloide kann man für diesen Zweck in Salze überführen, Glykoside in Acetylverbindungen, die Säuren in Ester u. dgl.

Ein weiterhin wichtiges Trennungsverfahren ist das auf den Prinzipien der fraktionierten Fällung und Lösung beruhende. Zur Ausführung der letzteren Methode stellt man zunächst mit einem kleinen Teil des Körpers fest, in wieviel Teilen des Lösungsmittels er sich vollständig löst. Dann behandelt man ihn fünfmal mit dem fünften (oder zehnmal mit dem zehnten) Teil der zur vollständigen Lösung erforderlichen Flüssigkeitsmenge und prüft die Eigenschaften der beim Konzentrieren jeder Lösung erhaltenen Substanz, besonders Schmelzpunkt und Elementarzusammensetzung. Ähnlich verfährt man bei der fraktionierten Fällung. Man stellt fest, wieviel des Fällungsmittels nötig wäre, um alle in Lösung befindliche Substanz auszufällen und fällt dann fünfmal mit dem fünften (oder zehnmal mit dem zehnten) Teil der zur vollständigen Fällung erforderlichen Menge des Fällungsmittels, indem man den nach jeder Fällung entstandenen Niederschlag abfiltriert. Bestand eine so behandelte Substanz aus zwei sich gegen die Lösungs- und Fällungsmittel etwas verschieden verhaltenden Substanzen, so wird man Verschiedenheiten in den ersten und letzten der bei den geschilderten Operationen erhaltenen Fraktionen konstatieren können und man wird durch eine Fortsetzung der Fraktionierung eine Trennung erzielen.

Glauht man einen festen Körper in reinem Zustand dargestellt zu haben, so prüft man zunächst, ob er anorganische Bestandteile enthält. Beim Erhitzen auf dem Platinblech verbrennen die organischen Bestandteile, während die anorganischen als Asche zurückbleiben¹⁾. Ist dies der Fall, so wird man den Körper von den Aschebestandteilen zu befreien suchen, falls diese nicht in seine Konstitution eingehen. Um ihn aschefrei zu erhalten, kann man ihn fraktioniert lösen oder fällen. Bei nicht dialysierenden wasserlöslichen Körpern kann man sich der Dialyse bedienen, wobei man zur Erleichterung des Vorganges freie Säure zusetzt, falls dies ohne Schaden für die Substanz geschehen kann.

Man stellt weiter fest, ob der Körper Stickstoff, Phosphor oder Schwefel enthält. Zur Prüfung auf Stickstoff erhitzt man 0,05 bis 0,1 g der Substanz in einem trockenen Reagensglas mit Natrium und zieht das Reaktionsprodukt, in dem sich der in der Substanz vorhanden gewesene Stickstoff als Cyannatrium vorfindet, mit Wasser aus. In der Lösung weist man das Cyan als Berlinerblau nach, indem man sie mit Ferrosulfat und Ferrichlorid einige Minuten kocht und dann mit Salzsäure ansäuert.

Durch Erhitzen mit Natrium läßt sich auch der Schwefel nachweisen. Es bildet sich dabei Schwefelnatrium, das man durch die mit Nitroprussidnatrium eintretende purpurviolette Färbung oder durch den schwarzen Fleck nachweist, der durch dasselbe auf einer blanken Silbermünze entsteht. Man kann auch den Schwefel durch Erhitzen mit rauchender Salpetersäure oder mit Ätzkali und Salpeter zu Schwefelsäure oxydieren und auf diese mit Bariumchlorid prüfen.

Durch die gleichen Oxydationsreaktionen wird der Phosphor in Phosphorsäure übergeführt und diese durch die Niederschläge erkannt, welche sie mit Magnesiamixtur oder molybdänsaurem Ammonium gibt.

Diesen Vorproben folgt die Ermittlung der elementaren Zusammensetzung des Körpers durch die Verbrennung und womöglich die seines Molekulargewichts. Weiterhin stellt man die Löslichkeitsverhältnisse des Körpers und sein Verhalten gegen Reagenzien fest.

Vorprüfungen.

a) Mikrosublimation. Man erhitzt ein wenig der zerkleinerten Substanz auf dem Tunmannschen Apparat²⁾, indem

¹⁾ Über Mikro-Veraschung siehe A. Schoeller: Berichte d. Deutsch. chem. Gesellschaft Bd. 55, S. 2191 (1922),

²⁾ Der Tunmannsche Apparat (Abbildung in O. Tunmann, Pflanzenmikrochemie und L. Rosenthaler, Qualitative pharmazeutische Analyse)

man die Objektträger, an welche die flüchtigen Stoffe sublimieren, häufig wechselt. Man betrachtet die etwa gebildeten Sublimate unter dem Mikroskope und prüft sie auf Reaktion, Löslichkeitsverhalten, Vorhandensein von Alkaloiden (s. S. 14) und Oxy-methylantrachinonen (mit Kalilauge Rotfärbung).

Einen Schluß darauf, ob die sublimierten Stoffe bereits in dem Untersuchungsmaterial vorgebildet waren, erlaubt dieses Verfahren nicht.

b) Man erwärmt eine kleine Menge (5 bis 10 g) des Untersuchungsgegenstandes mit Wasser auf dem Dampfbad und prüft den nach dem Erkalten filtrierten wässrigen Auszug

1. auf seine Reaktion. Die — meist vorhandene — saure Reaktion zeigt die Gegenwart von Säuren, sauren Salzen, Gerbstoffen oder phenolartigen Körpern an.

2. Mit Eisenchlorid. Färbungen treten mit sehr vielen Stoffen ein, blaue oder grüne Färbungen insbesondere mit Gerbstoffen.

3. Mit Bleiacetat. Tritt ein Niederschlag ein, so fällt man vollständig mit Bleiacetat (das Filtrat darf mit Bleiacetat keinen Niederschlag geben) und prüft, ob Bleiessig im Filtrat einen Niederschlag verursacht¹⁾.

Durch Bleiacetat werden viele Säuren, Gerbstoffe, Pflanzenschleime und Eiweißstoffe gefällt, während andere Körper wie arabisches Gummi und einige Glykoside erst durch Bleiessig niedergeschlagen werden.

4. durch Erhitzen mit frisch bereiteter Fehlingscher Lösung. Entsteht ein Niederschlag von Kupferoxydul, so sind reduzierende Substanzen z. B. Glykose anwesend. Wenn keine Reduktion eintritt, erhitzt man nach Zusatz von Salzsäure, macht dann die Flüssigkeit mit Natronlauge neutral²⁾ oder alkalisch und erhitzt wieder mit Fehlingscher Lösung. Wird diese jetzt redu-

besteht aus einem an einem Stativ befestigten Eisenring, auf dem eine Asbestplatte liegt. Auf letztere bringt man mit Hilfe eines Teils eines Objektträgers die zu erhitzende Substanz. Zum Auffangen der Sublimate benützt man Objektträger, die auf der Asbestplatte über der zu erhitzenden Substanz mit Hilfe eines Glas- oder Holzstäbchens ruhen.

¹⁾ Da in dem Filtrat der Bleiacetatfällung freie Essigsäure vorhanden ist, so muß man mindestens soviel Bleiessig zusetzen, daß die Flüssigkeit neutral oder schwach alkalisch reagiert.

²⁾ Gibt man zu erhitzter nicht frischbereiteter Fehlingscher Lösung eine saure Flüssigkeit, so tritt auch ohne die Gegenwart reduzierender Substanzen die Bildung von Kupferoxydul ein (1). Man muß deshalb entweder die Fehlingsche Lösung immer frisch bereiten oder zu solchen Versuchen eine alkalische Kupferlösung benützen, welche 3,5 g Kupfersulfat, 15,0 Glycerin, 25,0 citronensaures Natron und 20,0 (15proz.) Natronlauge in 100 ccm enthält.

ziert, so enthielt die Flüssigkeit einen oder mehrere Körper, welche beim Kochen mit Säuren ein reduzierendes Spaltungsprodukt liefern, z. B. Glykoside oder Disaccharide.

c) Man zieht einige Gramm des Untersuchungsmaterials warm mit angesäuertem Wasser aus. Das Filtrat prüft man auf dem Objektträger oder im Reagensglas mit Jodjodkalium und Kaliumquecksilberjodid (allgemeine Alkaloidreagenzien). Treten damit keine Niederschläge ein, so sind keine Alkaloide vorhanden.

d) Man schüttelt die Flüssigkeit stark. Bildet sich ein hoher Schaum, so kann dies unter anderem von Pflanzenschleimen, Gerb- und Eiweißstoffen und Saponinen herrühren. Der durch letztere Körper gebildete Schaum hat meist charakteristischen bienenwabenartigen Bau und bleibt unter gleichen Umständen länger stehen als der von anderen Körpern herrührende ¹⁾.

Der von Eiweißstoffen herrührende Schaum verschwindet, wenn man die Flüssigkeit kocht, wobei sich in dieser gleichzeitig Flocken bilden.

e) Man übergießt eine kleine Menge des zu untersuchenden Gegenstandes in einem Reagensglas oder einem kleinen Glaskölbchen mit Wasser. Das Gefäß wird mit einem Korken verschlossen, an dem ein mit Pikratlösung getränktes Papier²⁾ angebracht ist. In ein zweites ebenso vorbereitetes Reagensglas gibt man ein wenig verdünnte Schwefelsäure, in ein drittes etwas Emulsin. Haben sich die Pikratpapiere nach eintägigem Stehenlassen nicht rötlich gefärbt, auch nicht, nachdem man Glas 1 und 3 im Dampfbad erwärmt und den Inhalt des Glases 2 zum Sieden erhitzt hatte (der Kork darf dann selbstverständlich nur lose aufsitzen), so ist die Gegenwart blausäureabspaltender Körper ausgeschlossen³⁾. Färbt sich das Pikratpapier auf Glas 1 rötlich, wenn die Substanz mit kaltem Wasser übergossen und nach dessen Einwirkung leicht erwärmt war, während die Färbung nicht eintritt, wenn man die Substanz mit siedendem Wasser übergießt und erhitzt, so ist anzunehmen, daß die Pflanze neben einem Blausäure abspaltenden Glykoside ein die Spaltung bewirkendes Enzym enthält.

Diese Reaktionen sollen nur zu einer vorläufigen Orientierung dienen. Eine weitergehende Untersuchung, insbesondere die

¹⁾ Dieselbe Schaumbildung wie saponinhaltige Pflanzen zeigt *Musa paradisiaca*, welche diese Eigenschaften einem Gehalt an Kaliumoleat verdanken soll.

²⁾ Die Pikratlösung ist eine 1 proz. noch warm mit 10% krystallisierter Soda versetzte Pikrinsäurelösung.

³⁾ Weitere Reaktionen auf Blausäure und die anderen in diesem Buch genannten Pflanzenstoffe siehe L. Rosenthaler, Nachweis organischer Verbindungen, 2. Aufl., Stuttgart 1923.

Prüfung auf Glykoside, Bitterstoffe und Alkaloide, wird ermöglicht durch

das Verfahren von Stas-Otto.

Die Stas-Ottosche Untersuchungsmethode beruht einerseits darauf, daß die meisten Glykoside und Bitterstoffe in Weingeist und Wasser löslich sind und aus letzterem Lösungsmittel durch Äther oder andere mit Wasser nicht mischbare Flüssigkeiten ausgeschüttelt werden können, andererseits darauf, daß die weinsäuren Salze der Alkaloide ebenfalls in Weingeist und Wasser löslich sind, die Alkaloide aber in der Regel aus saurer, wässriger Lösung nicht mit Äther u. dgl. ausgeschüttelt werden können, und erst in diesen übergehen, wenn sie durch Alkalien aus ihren Salzen freigemacht worden sind. Zu beachten ist jedoch, daß einige Alkaloide mit schwachen basischen Eigenschaften, wie Colchicin und Veratrin, auch bei Gegenwart von freier Säure durch Äther ausgeschüttelt werden können, und daß es Alkaloide gibt, die, wie Morphin und Cephaelin, mit fixen Alkalien ätherunlösliche Verbindungen eingehen.

Die Salze dieser Alkaloide müssen mit Ammoniak zerlegt werden. In Berücksichtigung dieser Verhältnisse wird die Stas-Ottosche Methode in folgender Weise ausgeführt: Die zu untersuchende Substanz (ca. 25 bis 100 g) wird mit (dem etwa zwei- bis fünffachen) weinsäurehaltigem¹⁾ Weingeist $\frac{1}{2}$ Stunde lang am Rückflußkühler erhitzt. Das Filtrat wird auf dem Wasserbad vom Weingeist befreit und der Rückstand mit Wasser aufgenommen, d. h. erst mit wenig, dann mit mehr Wasser, nötigenfalls unter Erwärmen auf dem Dampfbad, angerührt und die wässrige Flüssigkeit kalt filtriert. Ist die Flüssigkeit nicht klar geworden, so dampfe man zur Extraktkonsistenz oder, wenn möglich, zur Trockene ein, nehme mit Weingeist auf und verfare wieder wie oben, um ein klares, wässriges Filtrat zu bekommen. Dieses wird zunächst im Scheidetrichter mit Äther mehrmals ausgeschüttelt²⁾. Die erste beim Ausschütteln erhaltene Flüssigkeit (A₁)

¹⁾ Man nehme nicht mehr Weinsäure als nötig ist, um die Flüssigkeit schwach sauer zu machen. Nach dem Kochen überzeuge man sich davon, ob die Flüssigkeit noch sauer reagiert. Ist dies nicht der Fall, so wiederhole man das Kochen nach Zufügung eines neuen Anteils der Säure.

²⁾ Man schüttele, um Emulsionsbildung zu vermeiden, nicht gerade hin und her, sondern mache mit dem Scheidetrichter ∞ -artige Bewegungen. Wird der Äther trotzdem emulgiert, so lasse man etwas Alkohol in den Scheidetrichter fließen. Manchmal trennen sich die Flüssigkeiten auch bei leichtem Erwärmen oder wenn man sie durch ein angefeuchtetes Filter fließen läßt.

bewahre man, wenn sie stark gefärbt ist, für sich auf, weil die folgenden (A_2) dann weniger gefärbt zu sein pflegen.

Man prüft eine Probe der wässerigen Flüssigkeit mit den Alkaloidreagentien wie S. 14. Treten keine Niederschläge ein, so kann man den Gang hier abbrechen; bilden sich Niederschläge, so macht man mit Natronlauge stark alkalisch und schüttelt, ohne etwaige Niederschläge abzufiltrieren, wiederholt mit Äther aus. Die so erhaltenen Ausschüttelungen werden vereint (B).

Man säuert dann eine Probe der Flüssigkeit an und prüft wiederum wie oben auf Alkaloide. Treten Niederschläge ein, so befreit man die alkalische Flüssigkeit durch Erwärmen vom Äther, gibt Chlorammonium hinzu¹⁾, um Ammoniak zu bilden, und schüttelt mit Chloroform oder Amylalkohol aus (C). Gibt die danach wieder angesäuerte wässrige Flüssigkeit nochmals Fällungen mit den Alkaloidreagentien, so sind — quantitative Ausschüttelung vorausgesetzt — noch quaternäre Ammoniumbasen vorhanden. Man fällt sie am besten aus der angesäuerten Lösung mit Alkaloidfällungsmitteln und verfährt weiter nach S. 29.

Von den Flüssigkeiten A, B und C destilliert man, nachdem man sie mit entwässertem Natriumsulfat getrocknet und von diesem abfiltriert hat, die Lösungsmittel bis auf etwa 5 ccm ab. Hat sich dabei noch nichts abgeschieden, so gießt man jede der restierenden Flüssigkeiten auf ein Uhrglas oder in eine Krystallisierschale. A und B läßt man vollends an der Luft verdunsten, C auf dem Dampfbad. Verbleiben hierbei Rückstände, was fast immer der Fall ist, oder sind bei der Konzentration der Flüssigkeiten Ausscheidungen entstanden, so muß untersucht werden, ob Ausscheidung und Rückstand A Glykoside, Alkaloide, Bitterstoffe u. dgl., ebenso ob Ausscheidungen und Rückstände²⁾ B und C Alkaloide enthalten.

Zu diesem Zweck stellt man mit dem Rückstand A zunächst die allgemeinen Kohlenhydratreaktionen an: Man fügt zu der in wenig Wasser oder Weingeist gelösten Substanz einige Tropfen einer etwa 20 proz. weingeistigen Lösung von α -Naphthol und unterschichtet mit konzentrierter Schwefelsäure. Sind Glykoside (oder Kohlenhydrate) vorhanden, so entsteht ein blauer oder violetter Ring; beim Umschütteln färbt sich die ganze Flüssigkeit

¹⁾ Statt dessen kann man auch mit Salzsäure neutralisieren und die Flüssigkeit mit Ammoniak alkalisch machen.

²⁾ Im Rückstand A finden sich auch die neutralen und sauren Stoffe, die mit Äther ausgeschüttelt werden können. Reagiert er sauer, so unterlasse man es nicht, auch auf Weinsäure (s. S. 76) zu prüfen; da auch diese in den Äther übergehen kann.

ebenso. Nimmt man statt α -Naphthol Thymol, so tritt rote Färbung auf.

Treten diese Färbungen nicht ein, so sind Glykoside (und Kohlenhydrate) nicht vorhanden. Treten sie ein, so reinigt man den Rückstand von etwa vorhandenen Spuren von Kohlenhydraten, indem man ihn in absolutem Äther¹⁾, wasserfreiem Essigäther oder Petroläther löst, die Lösung, wenn nötig, filtriert und wieder verdunsten läßt. Den Rückstand prüft man nochmals mit den allgemeinen Kohlenhydratreaktionen und erhitzt ihn bei deren positiven Ausfall mit Salzsäure, um das Glykosid zu spalten²⁾. Liegt in der Tat ein Glykosid vor, so müssen durch die Spaltung mindestens zwei Stoffe entstehen, ein reduzierender Zucker und ein Nichtzucker (Aglykon), letzterer oft schon ohne weiteres etwa als Flocken in die Augen fallend, wenn er in Wasser unlöslich ist. Auf den Zucker prüft man zunächst in der, wenn nötig, filtrierten und dann alkalisch gemachten Flüssigkeit durch Erhitzen mit alkalischer Kupferlösung und weiterhin durch Anstellen der Osazonprobe, die man mit der Flüssigkeit nach Filtrieren und Neutralisieren anstellt. Man löst in ihr in der Kälte 0,5 g Phenylhydrazinhydrochlorid und 0,75 g Natriumacetat auf, filtriert nochmals, wenn nötig, und erwärmt $\frac{1}{2}$ Stunde im siedenden Wasserbad. Man beobachtet, ob nicht schon in der Hitze ein Niederschlag entsteht, läßt aber auch dann mit dem Wasserbad erkalten und prüft vorhandene Niederschläge unter dem Mikroskop. Die Osazone bilden gelbe Krystalle verschiedener Form (s. auch S. 85).

Man kann den Rückstand A auch nach dem Bourquelot'schen Verfahren prüfen, mit dem man durch Emulsin spaltbare Glykoside neben durch Invertin spaltbaren Kohlenhydraten, z. B. Rohrzucker, nachweisen kann. Man löst in 50 bis 60 ccm Thymolwasser, teilt in zwei gleiche Teile und verfährt weiter wie S. 15 angegeben.

Weiterhin prüft man den Rückstand auf Alkaloide. Man löst ein wenig des Rückstandes in sehr verdünnter Salzsäure, filtriert die Flüssigkeit, wenn nötig, und bringt davon je einen Tropfen auf mehrere Kobaltgläser. Daneben bringt man je einen Tropfen

¹⁾ Absoluten Äther erhält man, wenn man käuflichen Äther erst durch Ausschütteln mit Wasser vom Weingeist befreit, das vom Äther gelöst gehaltene Wasser durch Natrium zersetzt und zuletzt den Äther über Natrium destilliert.

²⁾ Da manche Glykoside beim Erhitzen unter gewöhnlichem Druck nicht gespalten werden, so muß man den Versuch, wenn er negativ ausgefallen ist, in der Druckflasche oder zugeschmolzenen Glasröhre bei erhöhter Temperatur wiederholen.

eines Alkaloidfällungsmittels (Kaliumquecksilberjodid, Jodjodkalium, Gerbsäure, Pikrinsäure, Silikowolframsäure, vgl. a. S. 10) und bringt die beiden Tropfen mit einem Glasstab zur Berührung. Bei Gegenwart eines Alkaloids zeigt sich eine Trübung an der Berührungsstelle. Dabei ist folgendes zu beachten: Es kann trotz Gegenwart einer Base eine Fällung nicht eintreten. Beispielsweise fällt Coffein nicht mit Kaliumquecksilberjodid. Doch wird man bei geeigneter Auswahl der Fällungsmittel immer Fällungen erhalten können. Andererseits gibt es auch nichtalkaloidische Stoffe, die mit einigen dieser Reagenzien Fällungen geben. So werden einige Glykoside durch Tannin gefällt. Man sollte deshalb möglichst versuchen, bei positivem Ausfall der Alkaloidreaktionen den Stickstoff nach Lassaigne (s. S. 8) nachzuweisen.

Enthält der Rückstand A weder Glykoside noch Alkaloide, so prüfe man vorsichtig seinen Geschmack. Schmeckt er bitter, so kann es sich um einen Bitterstoff handeln.

Die Rückstände B und C untersucht man in derselben Weise wie A auf alkaloidische Beschaffenheit.

Es sei hier noch darauf hingewiesen, daß in vielen Pflanzen sich basische, nicht den Alkaloiden im engeren Sinne zuzurechnende Stoffe finden, welche Niederschläge mit Alkaloidreagenzien geben. Viel verbreitet sind unter anderem Betain und Cholin (vgl. auch S. 103). Betain ist durch ein schwerlösliches Golddoppelsalz charakterisiert, gibt eine Blaufärbung mit Ferricyankalium und Eisenchlorid und reagiert neutral; das alkalisch reagierende Cholin gibt in weingeistiger Lösung einen Niederschlag mit weingeistiger Sublimatlösung. Beide Körper entwickeln mit Kalilauge Trimethylamin und geben (wie noch einige andere von ähnlicher Zusammensetzung) die Florencesche Reaktion (2). Einige Tropfen ihrer Lösung auf einem Objektglas eingedampft geben mit einer starken Lösung von Jod in Jodkalium versetzt Krystalle, die man, wenn man sie sofort unter dem Mikroskop beobachtet, wachsen und wieder verschwinden sieht.

Die Stas-Ottosche Methode ist nicht ohne Nachteile. Zunächst ist Äther für viele Glykoside und Alkaloide ein schlechtes Extraktionsmittel, das vorteilhaft durch Chloroform ersetzt wird. Da letzteres mehr als Äther beim Ausschütteln zur Emulsionsbildung neigt, so bedient man sich bei der Extraktion mit Chloroform am besten der Perforationsmethode (die übrigens auch bei der Verwendung von Äther von Nutzen ist). Man befestigt den Perforator mittels eines durchbohrten Korks im Hals eines Kölbchens, das etwa 40 bis 50 g Chloroform enthält, bringt in den Perforator zuerst etwas Chloroform, dann darüber die auszu-

ziehende wässrige Flüssigkeit. Mit dem oberen Ende des Perforators wird ein Rückflußkühler verbunden. Das Kölbchen wird auf dem Dampfbade so erwärmt, daß etwa 30 bis 40 Tropfen in der Minute aus dem Perforator abtropfen. Die Dauer der Perforation soll mindestens 2 Stunden betragen.

Ein weiterer Nachteil der Stas-Ottoschen Methode liegt darin, daß es Stoffe gibt, die sowohl beim Kochen mit Säuren als durch Behandlung mit Alkalien in der Kälte Zersetzungen erleiden. Der schwerste Übelstand der Methode ist aber dadurch bedingt, daß eine Anzahl Glykoside und Bitterstoffe teils in Wasser, teils in Alkohol nicht löslich sind und so überhaupt nicht in die zum Ausschütteln bestimmte Flüssigkeit gelangen.

Nachweis von Rohrzucker und Glykosiden nach Bourquelot (3).

Man bringt 90—95 proz. Weingeist, der mit einigen Gramm Calciumcarbonat versetzt ist, in einem genügend großen Kolben auf dem Wasserbad zum Sieden; sobald er zu sieden anfängt, zerschneidet man das zu untersuchende Pflanzenmaterial (250 g) und läßt die Stücke sofort so in den siedenden Weingeist fallen, daß das Sieden dadurch nicht unterbrochen wird. Wenn alles eingetragen ist, läßt man noch 20 Minuten am Rückflußkühler kochen. Durch diese Behandlung werden die Enzyme zerstört und die Glykoside ausgezogen.

Von der abfiltrierten Flüssigkeit wird der Weingeist im Wasserbad abdestilliert und der Rückstand mit Thymolwasser auf 250 ccm gelöst¹⁾.

Man teilt diese Lösung in einen Teil von 50 ccm, der zum Vergleiche dient (A) und einen von 200 ccm (B). Beide bringt man in kleine mit einem Korkstopfen zu verschließende Flaschen. Zu der Lösung B gibt man 1 g Hefepulver²⁾ und stellt die beiden Flaschen in einen Trockenschrank, dessen Temperatur 25—30° ist.

¹⁾ Hat man weniger Material, so nimmt man entsprechend weniger Thymolwasser.

²⁾ Das Hefepulver bereitet man aus frischer Bäckerhefe. Man rührt sie zunächst mit wenig sterilem Wasser an und saugt rasch ab. Dann rührt man sie mit der 8—10fachen Gewichtsmenge 95 proz. Weingeist an. Nach 12 bis 15 Stunden saugt man die Masse auf einem Büchnerschen Trichter mit der Pumpe ab, wäscht sie mit wenig Weingeist und dann mit Äther aus und trocknet sie schließlich bei 30—35° im Trockenschrank. Das getrocknete Produkt wird, vor Feuchtigkeit geschützt, in gut verschlossener Flasche aufbewahrt. Will man daraus eine Invertinlösung machen, so reibt man 1 g mit 100 ccm Thymolwasser an und filtriert.

Nach 2 Tagen entnimmt man jeder Flasche 20 ccm Flüssigkeit, fügt je 4 ccm Bleiessig hinzu, filtriert und prüft die Filtrate im 2-dm-Rohr polarimetrisch. War Rohrzucker vorhanden, so muß die Flüssigkeit B gegenüber der Flüssigkeit A eine Abweichung nach links zeigen. Zur Kontrolle, ob es sich in der Tat um Rohrzucker handelt, verfährt man folgendermaßen: „Man bestimmt den reduzierenden Zucker in den beiden Flüssigkeiten und findet aus der Differenz die Menge von reduzierendem Zucker, welche durch die Einwirkung des Invertins gebildet ist. Indem man diesen Zucker als Invertzucker betrachtet, berechnet man zunächst die Menge Rohrzucker, welche demselben entspricht, hierauf die Drehungsänderung, welche die Hydrolyse dieser Rohrzuckermenge hervorrufen muß. Der durch Rechnung erhaltene Wert muß alsdann gleich sein der beobachteten Drehungsänderung.“ Sind diese beiden Werte verschieden, so kann es sich um einen anderen durch Invertin spaltbaren Zucker (Raffinose, Gentianose, Stachyose) oder um ein α -Glykosid handeln. Wiederholt man die Beobachtungen täglich, bis zwei aufeinander folgende Versuche die gleichen Werte ergeben, so kann man den Rohrzucker damit quantitativ bestimmen.

Zum Nachweis von Glykosiden benutzt man die Flüssigkeit B, in der aller Rohrzucker invertiert ist. Man erhitzt sie zunächst 10 Minuten lang auf 100°, läßt erkalten und fügt dann 0,5 g Emulsin¹⁾ auf 100 ccm hinzu. Die weitere Untersuchung erfolgt genau so wie im vorhergehenden bei der Untersuchung auf Rohrzucker angegeben.

Da alle durch Emulsin spaltbaren Glykoside nach links drehen und durch die Aufspaltung Glykose liefern (Regel von Bourquelot), so kann man auf die Gegenwart eines Glykosides schließen, wenn die Einwirkung des Emulsins eine Vermehrung des

¹⁾ Das Emulsin kann man nach folgendem Verfahren (Robiquet-Hérissey) herstellen: 100 g süße Mandeln werden ungefähr 1 Minute lang in kochendes Wasser eingetaucht und nach dem Abtropfen sorgfältig geschält. Hierauf zerstoßt man sie in einem Marmormörser ohne Zusatz von Wasser so fein wie möglich und maceriert den Brei mit 200 ccm eines Gemisches gleicher Teile Wasser und Chloroformwasser. Nach 24 Stunden koliert man unter Auspressen durch ein angefeuchtetes Tuch. Der Kolatur (150—160 ccm) fügt man 10 Tropfen Eisessig zu, um das Casein zu fällen und filtriert durch ein angefeuchtetes Filter. Das klare Filtrat (120—130 ccm) fügt man zu 500 ccm 95 proz. Weingeist, sammelt den Niederschlag auf einem platten Filter und behandelt ihn nach dem Abtropfen mit einem Gemisch aus gleichen Raumteilen Weingeist und Äther. Man trocknet im Vakuum über Schwefelsäure und zerreibt zu einem weißen Pulver.

Über ein anderes Darstellungsverfahren s. S. 107.

reduzierenden Zuckers und einen Umschlag nach rechts (oder Verminderung der Linksdrehung) hervorruft.

Aus Drehungsänderung und Zuckermenge kann man den Index der enzymolytischen Reduktion (Reduktionsindex) berechnen, d. h. das Verhältnis der in 100 ccm entstandenen und als Glykose (in Milligramm) berechneten Zucker zu 1° Drehungsänderung (beobachtet im 2-dm-Rohr). Jedes durch Emulsin spaltbare Glykosid ist demnach durch einen bestimmten Reduktionsindex gekennzeichnet. Er ist im folgenden für einige verbreitete Glykoside angeführt:

Amygdalin	490	Arbutin	700
Coniferin	278	Mandelnitrilglykosid . . .	517
Methylarbutin	326	Salicin	321

Das Bourquelotsche Verfahren versagt naturgemäß gegenüber allen Glykosiden, die nicht durch Emulsin gespalten werden. Es führt in solchen Fällen zu Schwierigkeiten, in denen das Glykosid, wie z. B. Verbenalin oder das Aglykon, wie bei dem Arbutin reduziert.

Auch kann es vorkommen, daß das Aglykon das Emulsin unwirksam macht und so die völlige Aufspaltung des Glykosids verhindert. In diesem Fall muß man nochmals Emulsin zusetzen und dies so oft wiederholen, bis eine Drehungsänderung nicht mehr eintritt. Und schließlich muß man auch damit rechnen, daß Glykoside vorkommen können, welche durch Invertin aufgespalten werden.

Die Bleimethode.

Hatten die Vorprüfungen mit Bleiacetat und Bleiessig (s. S. 9) ein positives Ergebnis, so untersucht man einen Teil des zu untersuchenden Gegenstandes nach der (besonders von Rochleder ausgearbeiteten) Bleimethode. Man kocht das nötigenfalls erst mit Äther oder Petroläther extrahierte Untersuchungsobjekt mit Wasser aus und versetzt die durch Filtrieren geklärte, am besten siedend heiße Flüssigkeit mit einer Bleiacetatlösung in geringem Überschuß. Der so entstandene Bleiniederschlag (A) wird erst mit Bleiacetatlösung, dann mit Wasser ausgewaschen¹⁾, bis das Ablaufende nicht mehr sauer reagiert. Die vom Niederschlag

¹⁾ Da diese Bleiniederschläge sehr oft rasch das Filter verstopfen, so werden sie am besten in Glaszylindern mit dem Waschwasser geschüttelt, nach dem Absetzen von der Waschflüssigkeit durch Abheben derselben befreit und erst in ausgewaschenem Zustande auf ein Filter gebracht.

abgetrennte Flüssigkeit (inkl. der durch Abdampfen konzentrierten Waschwässer) wird mit Bleiessig gefällt, indem man dieselben Bedingungen wie bei der Bleiacetatfällung einhält, und der Niederschlag (B) in der gleichen Weise wie A von der Flüssigkeit (B) abgetrennt. Die Niederschläge A und B sowohl, als die Flüssigkeit B müssen nun weiter untersucht werden.

Man versucht zunächst, ob Niederschlag A in kaltem oder kochendem Weingeist wenn auch nur teilweise löslich ist. Hat sich etwas gelöst, was man daran erkennt, daß beim Abdunsten eines kleinen Teiles der alkoholischen Flüssigkeit auf einem Uhrglas ein Rückstand bleibt, so befreit man die Flüssigkeit ($A\alpha$) nötigenfalls durch Schwefelwasserstoff¹⁾ vom Blei²⁾, konzentriert das Filtrat und läßt es zuletzt im Vakuum über Schwefelsäure verdunsten. Den bei der Auskochung mit Alkohol etwa ungelöst gebliebenen Teil des Niederschlags A übergießt man mit verdünnter Essigsäure. Hat sich der Niederschlag A darin nicht völlig gelöst, so kann man durch Zusatz von Bleiessig zu der Flüssigkeit feststellen, ob überhaupt ein Teil desselben in Lösung gegangen ist³⁾. Tritt mit Bleiessig ein Niederschlag ein, so fällt man vollständig mit Bleiessig, wäscht den Niederschlag ($A\beta$) aus, suspendiert ihn in Wasser und behandelt ihn mit Schwefelwasserstoff. Das Filtrat dampft man ein⁴⁾ und läßt es ebenfalls zuletzt im Vakuum über Schwefelsäure verdunsten. Ebenso behandelt man den nach der Einwirkung des Alkohols und der Essigsäure etwa ungelöst gebliebenen Teil des Niederschlags A.

Mit dem Niederschlag B⁵⁾ verfährt man im allgemeinen ebenso wie mit dem Niederschlag A, unterläßt jedoch die Behandlung mit Essigsäure, da alle so mit Bleiessig gewonnenen Niederschläge völlig in Essigsäure löslich sind.

1) Statt der Entbleiung durch Schwefelwasserstoff empfiehlt es sich gelegentlich das Blei durch verdünnte Schwefelsäure, Phosphorsäure oder deren Natronsalze zu fällen.

2) Alles im Gang der Untersuchung gebildete Schwefelblei wird ausgewaschen und jedes für sich aufbewahrt, um weiter untersucht zu werden.

3) Bleicarbonat, das in dem Niederschlag vorhanden sein konnte, wenn das verwendete Wasser Kohlensäure enthielt, ist hier nicht berücksichtigt.

4) Zur Vermeidung der beim Abdampfen schwefelwasserstoffhaltiger Flüssigkeiten häufig eintretenden Abscheidung von Schwefel, der wegen seiner feinen Verteilung oft nur schwierig durch Filtrieren zu entfernen ist, kann man vor dem Abdampfen den Schwefelwasserstoff durch Einleiten von Kohlensäure verdrängen.

5) Vor der Zersetzung der Pb-Niederschläge mit H_2S empfiehlt es sich, sie mit CO_2 zu behandeln, um die Verbindungen der Kohlenhydrate und des Inosits zu zerlegen (Franzen und Helwert).

Die Flüssigkeit B, welche außer der durch den Gang bedingten Anwesenheit von Blei und Essigsäure noch Glykoside, Bitterstoffe, Alkaloide, Zuckerarten, Salze und dergleichen enthalten kann, wird in gewohnter Weise von Blei, Schwefelblei und Schwefelwasserstoff befreit¹⁾ und zur weiteren Behandlung in drei Teile geteilt. Die Säure des ersten stumpft man mit Natriumcarbonat so ab, daß er noch schwach sauer reagiert und behandelt ihn dann weiter nach der Stas-Ottoschen Methode. Den zweiten Teil konzentriert man und läßt im Vakuum über Schwefelsäure verdunsten. Scheiden sich Krystalle ab, so wird die Mutterlauge, nachdem sie von den Krystallen getrennt ist, nochmals eingedampft, von den etwa noch ausgeschiedenen Krystallen abfiltriert und zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wird mit Alkohol aufgenommen und die alkoholische Lösung zur Fällung eines etwa in Äther unlöslichen Körpers mit Äther versetzt. So kann man günstigenfalls noch einmal drei Anteile isolieren, einen in Alkohol unlöslichen, einen in Ätheralkohol unlöslichen und einen darin löslichen Bestandteil. Um zu kontrollieren, ob bei diesem Verfahren nicht durch die freie Essigsäure zuletzt Zersetzungen eingetreten sind, neutralisiert man den dritten Teil vor dem Eindampfen mit Natriumcarbonat und behandelt ihn im übrigen wie den zweiten, wobei man zu berücksichtigen hat, daß Natriumacetat in Wasser und Weingeist löslich ist.

Es ist jetzt noch nötig, das im Laufe der Untersuchung gewonnene Schwefelblei zu untersuchen. Bleisulfid besitzt im Statu nascendi die Eigentümlichkeit, allerlei Stoffe, besonders färbende und trübende Substanzen, mit sich niederzureißen und darauf beruht einer der Vorteile der Bleimethode. Man behandelt das Schwefelblei der Reihe nach mit kochendem Wasser, kochendem Alkohol und Ammoniak und ermittelt durch Abdampfen jeder der Flüssigkeiten, ob etwas in Lösung gegangen ist. Zuletzt oxydiert man das so vorbehandelte Schwefelblei mit Wasserstoff-superoxyd (4) und kocht das gebildete Bleisulfat mit Wasser und dann mit Alkohol aus. Selbstverständlich wird man durch Versuche in kleinem Maßstabe erst das Verhalten des Schwefelblei-niederschlags zu den erwähnten Agenzien feststellen, ehe man die ganze Menge des Niederschlags in Arbeit nimmt.

Auf diese Weise erhält man eine größere Anzahl von kristallinen Körpern und amorphen Rückständen, deren Natur man

¹⁾ Man kann vor dem Einleiten des Schwefelwasserstoffs in einem Teil der Flüssigkeit versuchen, ob nicht auf Zusatz von Ammoniak ein organische Bestandteile enthaltender Niederschlag entsteht, da einige Kohlenhydrate auf diese Weise gefällt werden können.

festzustellen hat. Dies wird durch die Berücksichtigung der Verhältnisse, unter denen die Körper gewonnen wurden, erleichtert. Im Niederschlag A können sich z. B. Pflanzensäuren, Gerbstoffe, schleimige Körper und Glykoside finden. Man prüft deshalb das Verhalten der aus Niederschlag A gewonnenen Körper ebenso in der früher (s. S. 9) geschilderten Weise gegen Fehlingsche Lösung, wie die aus Flüssigkeit und Niederschlag B gewonnenen Substanzen. Aus Niederschlag und Flüssigkeit B können unter anderem neben Zuckerarten basische Körper gewonnen werden (aus ersterem nur, wenn sie in freiem Zustand in Wasser schwer löslich sind).

Die nach meinen Erfahrungen vorwiegenden und selten zu umgehenden Nachteile der Bleimethode sind besonders die Anwendung des zur völligen Entfernung des Bleis benötigten Schwefelwasserstoffs, der auf manche organische Körper nicht ohne Einwirkung ist, und das bei der Fällung mit Bleiacetat und bei der letzten Entbleiung eintretende Freiwerden der Essigsäure, die gleichfalls Zersetzungen bewirken kann. Neutralisiert man sie, so hindern ihre in Wasser und Weingeist löslichen Salze häufig die Isolierung der anderen Körper. Wenn sich in den Auszügen nur mit dem einen der Bleisalze (sei es neutrales oder basisches Bleiacetat) Fällungen erzielen lassen, so kann man eine Einführung von Essigsäure häufig dadurch vermeiden, daß man als Fällungsmittel frisch gefälltes Bleihydroxyd (oder evtl. Bleicarbonat) verwendet. Niederschlag und Filtrat behandelt man weiter wie Niederschlag und Flüssigkeit B.

Abgesehen von der hier geschilderten systematischen Verwendung werden die genannten Bleiverbindungen¹⁾ in der Pflanzenanalyse vielfach benützt, um Klärung und Entfärbung von Flüssigkeiten zu erzielen.

In manchen Fällen mag es von Vorteil sein, die Bleimethode in weingeistiger Flüssigkeit durchzuführen.

In ähnlicher Weise wie die Bleiverbindungen wirken Salze, Hydroxyd und Carbonat des Kupfers. Es lassen sich mit ihrer Hilfe ebenfalls Trennungen erzielen. Man kann z. B. erst durch das Carbonat Gerbstoffe und Schleime fällen und dann mit dem Hydroxyd andere Körper niederschlagen (s. S. 37). Eine eingehende Untersuchung über die mit der Kupfermethode ausführbaren Trennungen liegt nicht vor.

¹⁾ An Stelle von Bleihydroxyd kann mitunter Magnesiumoxyd oder frisch gefälltes Aluminiumhydroxyd verwendet werden.

Gang.

Das Prinzip des Ganges besteht in der aufeinanderfolgenden Behandlung des grob gepulverten Untersuchungsmaterials mit einer Reihe verschiedener Lösungsmittel. Die Verdampfungsrückstände der durch Extraktion gewonnenen Flüssigkeiten werden nach demselben Grundsatz weiter untersucht oder nach der Bleimethode behandelt. Oft ist es einfacher, die Auszüge mit geeigneten Flüssigkeiten auszuschütteln, als sie einzudampfen und die Rückstände wieder aufzunehmen. Im allgemeinen genügen 50—100 g Substanz zu einer derartigen Voruntersuchung. Um einen Einblick in die durch Einwirken der warmen Extraktionsmittel etwa eintretenden Zersetzungen zu erhalten, kann man gleichviel Substanz mit denselben Flüssigkeiten gleichzeitig warm im Extraktionsapparat und kalt im Perkulator ausziehen. In der Regel läßt man jedes Extraktionsmittel so lange einwirken, bis die Substanz nichts mehr an dasselbe abgibt (s. S. 5); nur wenn die Einwirkung eines Lösungsmittels unbedeutend ist, kann man, ohne die Substanz damit erschöpft zu haben, zur Anwendung eines anderen Lösungsmittels schreiten. Um eine gleichmäßige Extraktion des Materials herbeizuführen, nimmt man es von Zeit zu Zeit aus den Apparaten, falls diese nicht nach dem Soxhletschen oder einem ebenso wirkenden Prinzip konstruiert sind, heraus, mischt es durch und bringt es wieder in die Apparate zurück. Beim Wechsel der Extraktionsmittel befreit man (ausgenommen von Extraktion 5 ab) die Substanz durch Verdunstenlassen oder Abdampfen vom vorhergehenden Extraktionsmittel. Das folgende Verfahren dürfte in den meisten Fällen zu einem genügenden Aufschluß über die in einer Droge vorhandenen Körper führen.

1. Extraktionsmittel: Petroläther vom Siedepunkt 35—40°, den man sich durch Fraktionieren der Handelsware leicht darstellen kann. In den Petroläther können übergehen: Fett und fettes Öl, Wachs¹⁾, ätherisches Öl, Farbstoffe, Phytosterin, seltener (in freiem Zustand vorhandene) Alkaloide, Glykoside und harzige Körper. Das Alkaloid entzieht man dem Petroläther durch Ausschütteln mit angesäuertem Wasser. Macht man dieses alkalisch und schüttelt es wieder mit Petroläther aus, dann geht das Alkaloid in freiem Zustand in den Petroläther über und wird daraus durch Abdunsten gewonnen. Falls ein wasserlösliches Glykosid anwesend wäre, würde dieses in dem gleichen Rückstand aufgesucht werden müssen. Dasselbe gilt für andere in Wasser und Petroläther lösliche Körper.

¹⁾ Auch Lecithin s. S. 58.

Von der nach dem Ausschütteln mit saurem Wasser verbleibenden Petrolätherlösung, die man durch Auswaschen mit Wasser von etwa aufgenommener Säure befreien kann, destilliert man den Petroläther ab und nimmt den Rückstand mit siedendem 90 proz. Weingeist auf, in dem sich alle noch vorhandenen Körper mit Ausnahme des Fettes und des fetten Öles lösen werden¹⁾. Wachs und Phytosterin werden zugleich mit etwas gelöst gewesenem Fett beim Erkalten des Weingeistes sich ausscheiden und nach S. 41 u. 56 identifiziert werden. Dann versucht man, ob man mit Äther etwas ausscheiden kann. Falls dies nicht gelingt, dunstet man wieder ein und behandelt den Rückstand mit Äther, Methylalkohol, Benzol u. dgl. Flüssigkeiten, um eine Trennung der noch vorhandenen Körper zu erzielen. In den meisten Fällen wird dies möglich sein; wenn nicht, treibt man mit Wasserdämpfen das ätherische Öl über, trennt das Harz (falls es kein Resen ist) durch Aufnehmen mit Kalilauge von dem Glykosid, von dessen Gegenwart man sich nach S. 12 vorher überzeugt hatte. Statt dieser Trennung kann man es auch versuchen, den Rückstand in Weingeist aufzunehmen und fraktioniert mit Wasser zu fällen. In den meisten Fällen wird man im Petroläther nicht so viele Körper gelöst finden, als in diesem Beispiel angenommen wurde und die vorzunehmenden Trennungen werden demgemäß leichter auszuführen sein.

2. Extraktionsmittel: Absoluter Äther. Hat man die in Petroläther löslichen Stoffe völlig ausgezogen, so kann der Äther evtl. andere Glykoside und Alkaloide, andere harzige Bestandteile und Farbstoffe, ätherlösliche Säuren wie Gallussäure und indifferente Körper aufnehmen. Man verdunstet zunächst den Äther und prüft den Rückstand auf die Anwesenheit von Glykosiden und Alkaloiden. Dann behandelt man den Rückstand der Reihe nach mit Wasser²⁾, angesäuertem Wasser (falls Alkaloide anwesend), Weingeist, Schwefelkohlenstoff und anderen Lösungsmitteln. Sind harzige Körper ausgezogen worden, so versucht man wieder, sie aus der ätherischen Lösung mit Kalilauge zu entfernen oder aus weingeistiger Lösung durch Wasser zu fällen.

3. Extraktionsmittel: Chloroform. Es wird im wesentlichen ähnliche Körper in Lösung bringen wie Äther und ist außerdem für kautschukartige Stoffe ein gutes Lösungsmittel.

¹⁾ Je nach der Natur des Öles und Fettes kann von heißem Weingeist ein größerer oder kleinerer Teil derselben gelöst werden. In diesem Fall kann man den Weingeist wieder verdunsten und versuchen, durch Anwendung von verdünntem Weingeist, Äther, Benzol u. dgl. eine Trennung von den übrigen Körpern zu erzielen.

²⁾ Die wässrige Lösung prüfe man mit Eisenchlorid.

4. Extraktionsmittel: Absoluter Weingeist. Man nimmt die Substanz aus dem Extraktionsapparat heraus und kocht sie mit Weingeist aus, der auf dem Heißwassertrichter abfiltriert wird. Beim Erkalten des Weingeistes¹⁾ wird man Abscheidungen von Salzen, Saponin oder sich ähnlich verhaltenden Glykosiden und Zuckerarten erhalten. Auf Salze prüft man vorläufig durch Versäuerung auf dem Platinblech, auf Glykoside und Zucker nach S. 12.

Das Filtrat befreit man durch Destillation von dem größten Teil des Weingeistes, filtriert von sich etwa noch abscheidenden Anteilen ab und fällt mit Äther. Der Niederschlag kann außer den genannten Stoffen unter anderem Gerbstoff oder Alkaloidsalze enthalten. Man löst ihn in Wasser auf und prüft auf diese Körper in bekannter Weise. Unter den sich etwa in Wasser nicht lösenden Körpern prüft man besonders auf Phlobaphene (s. S. 72), Zersetzungsprodukten von Gerbstoffen, die in Alkalien löslich sind und aus den Lösungen durch Säuren ausgefällt werden können.

Die in der wässrigen Lösung befindlichen Körper sucht man nach der Bleimethode zu trennen (s. S. 17).

Die ätherweingeistige Lösung konzentriert man, prüft den Rückstand gleichfalls auf Gerbstoff, Alkaloide, Glykoside u. dgl. und verwendet, falls man nicht mit Lösungsmitteln trennen kann²⁾, ebenfalls die Bleimethode.

Das 5. Extraktionsmittel ist kaltes destilliertes Wasser.

In Wasser werden sich außer den in den seither verwendeten Lösungsmitteln etwa noch nicht gelösten Bitterstoffen und Glykosiden vorfinden können: die durch Weingeist nicht gelösten Zuckerarten, Salze, Gummi, Schleim und Eiweiß, falls dieses nicht durch die vorhergehende Behandlung unlöslich geworden ist.

Auf Eiweiß prüft man durch die allgemeinen Eiweißreaktionen:

1. Erhitzen. Bei Gegenwart von Albuminen entsteht ein in Essigsäure und Salpetersäure unlöslicher Niederschlag.
2. Mit den Alkaloidreagenzien treten Fällungen ein, die der Albumosen können im Überschuß des Fällungsmittels sich wieder lösen.
3. Die Biuretreaktion. Man versetzt mit Kalilauge und einigen Tropfen Kupfersulfatlösung. Blaue oder blauviolette Färbung zeigt die Anwesenheit von Albumin, rote die von Albumosen an.
4. Beim Kochen mit Bleisalz und Kalilauge bildet sich meist Schwefelblei.

¹⁾ Da er Pflanzensäuren (s. S. 72) aufgelöst haben kann, so prüfe man seine Reaktion.

²⁾ Beim Aufnehmen mit Wasser können sich wieder Harze abscheiden.

5. Mit starker Salpetersäure erwärmt färben sich die Eiweißstoffe gelb und dann mit Ammoniak orangefarben.
6. Ein Teil der Eiweißkörper gibt eine Rotfärbung beim Erwärmen mit Millons Reagens.

Man versetzt, gleichgültig, ob Eiweißstoffe vorhanden sind oder nicht, mit dem gleichen Volumen Weingeist. Dadurch fallen Schleim, Eiweiß und ein Teil der Salze aus. Man löst sie wieder in Wasser und versucht, die Salze durch Dialyse von Eiweiß und Schleim, das Eiweiß durch Erhitzen mit etwas Essigsäure oder Aussalzen vom Schleim zu trennen. Falls dies nicht möglich ist, schlägt man die Bleimethode ein, da die Eiweißstoffe durch Bleiacetat, die Schleime häufig erst durch Bleiessig gefällt werden. Nicht selten ist es unmöglich, den Schleim gänzlich von stickstoffhaltigen Bestandteilen zu befreien. Von der wässrig-weingeistigen Flüssigkeit destilliert man den Weingeist ab und verfährt im übrigen nach der Bleimethode.

6. Man kocht mit Wasser aus. Dadurch verkleistert die Stärke; schwerlösliche Schleime, Xylan, Inulin, Pektinkörper, Glykogen u. dgl. gehen in Lösung. Das Inulin kann durch Abdampfen krystallisiert gewonnen werden. Die übrigen Körper werden durch Weingeist amorph ausgefällt. Über ihre Eigenschaften s. S. 92 ff.

7. Extraktionsmittel: Kaltes schwach salzsaures Wasser, mit dem man die Substanz mehrere Tage unter öfterem Schütteln digeriert. Diese Flüssigkeit löst die Alkaloide auf, die etwa sich bis jetzt der Extraktion entzogen hatten; ferner schwerlösliche Salze der Pflanzensäuren wie Calciumtartrat und Calciumoxalat und Eiweißstoffe. Auf letztere prüft man wie oben und fällt sie bei positivem Ausfall der Reaktionen durch Aussalzen mit Ammoniumsulfat. Die Flüssigkeit¹⁾ kocht man, um die Pflanzensäuren zu untersuchen, mit Natriumcarbonat aus und verfährt weiter nach S. 73.

8. Durch Erwärmen mit 5prozentiger Natronlauge zieht man außer Eiweißstoffen Hemicellulosen, Pentosane und andere Membranstoffe aus. Näheres über diese Körper s. S. 92 ff. Auch Phlobaphene (s. S. 72) können in Lösung gehen.

9. Erwärmen mit verdünnten Säuren bringt Oxycellulosen (s. S. 94) in Lösung. Cellulose und ein Teil des Lignins bleiben zurück. Man prüft den Rückstand zunächst auf Lignin, bei dessen Anwesenheit er mit Anilinsulfat und Schwefelsäure gelb, mit Phenol

¹⁾ Waren in der Substanz noch Stärke oder andere in Salzsäure lösliche, in Wasser schwerlösliche Kohlenhydrate vorhanden, so werden in der konzentrierten Flüssigkeit Dextrin oder reduzierende Zucker vorhanden sein.

oder Thymol und Salzsäure grün oder blau und mit Phloroglucin und Salzsäure kirschrot wird.

10. Lignin kann auf verschiedene Weise von Cellulose getrennt werden; es wird sowohl durch eine Mischung von chlorsaurem Kalium und Salpetersäure als von Sulfitlauge¹⁾ gelöst, während Cellulose zurückbleibt. Umgekehrt geht nur Cellulose in Lösung (s. S. 95), wenn man den Rückstand mit Kupferoxydammoniak behandelt. Aus der Lösung fällt man die Cellulose durch Salzsäure aus.

¹⁾ Sulfitlauge erhält man, wenn man in ein Gemenge von 50 g Calciumcarbonat und 1500 g Wasser Schwefeldioxyd einleitet, bis alles Calciumcarbonat gelöst ist. Sie löst die Ligninsubstanzen nicht immer vollständig.

Spezieller Teil.

Alkaloide.

Hat man bei der Vorprüfung erkannt, daß das isolierte Alkaloid flüchtig ist, so kann man die zweckentsprechend zerkleinerte Droge nach Zusatz eines Alkali direkt der Destillation unterwerfen; oder man verwendet zur Destillation einen der (alkalisch gemachten) Auszüge, wie man sie bei den unten zu beschreibenden allgemeinen Darstellungsmethoden erhält, nach denen man auch die flüchtigen Alkaloide ohne Destillation herstellen kann, da diese meistens bei 100° (ohne Wasserdämpfe) nicht flüchtig sind.

Die Darstellung der Alkaloide zerfällt in drei Abschnitte: 1. Extraktion, 2. Darstellung des Rohalkaloides, 3. Reinigung des Rohalkaloides und evtl. Trennung mehrerer Alkaloide voneinander. Meist können die Operationen 2 und 3 nicht streng voneinander getrennt werden.

Für die Extraktion kommen drei Methoden in Betracht:

a) Extraktion mit neutralen Flüssigkeiten. In einigen Fällen lassen sich die Alkaloide oder deren Salze schon durch Äther, Alkohol oder Wasser ausziehen.

b) Extraktion mit sauren Flüssigkeiten. Die Säuren können zu 1 oder 2% in Wasser oder Alkohol gelöst sein. Man verwendet meistens Mineralsäuren, und zwar Salz- oder Schwefelsäure, seltener organische Säuren, letztere dann, wenn zu befürchten ist, daß das Alkaloid durch die Mineralsäuren zersetzt wird.

c) Extraktion bei alkalischer Reaktion. Man mischt entweder die auszuziehende gepulverte Droge mit dem Alkali, wobei man, um Zersetzungen zu vermeiden, sich der schwachen Alkalien, Calcium- oder Bariumhydroxyd bedient, indem man das Gemenge von Droge und Alkali befeuchtet, die Masse trocknet und dann mit einem geeigneten Lösungsmittel extrahiert. Solche Lösungsmittel sind: Kohlenwasserstoffe der Fettreihe (Petroläther, Benzin, Ligroin, Paraffinöl) und der Benzolreihe (Benzol, Toluol, Xylol u. dgl.), Alkohol, Tetrachlorkohlenstoff, Äther, Aceton u. dgl.

Oder man wendet alkalisch gemachte Lösungsmittel an. Als Alkali dient in diesem Fall am besten Ammoniak. Gute Erfolge

wurden schon mit ammoniakalisch gemachtem Weingeist und Chloroform¹⁾ erzielt. Zur Darstellung der ammoniakalischen Flüssigkeiten kann man sich des käuflichen Salmiakgeists bedienen. Man treibt aus ihm durch Erhitzen das Ammoniak aus, leitet es zur Entwässerung über gebrannten Kalk und dann in das Extraktionsmittel.

Man kann auch, ehe man bei Gegenwart von Alkali extrahiert, zunächst aus schwach saurem Medium saure und neutrale Begleitstoffe entfernen, so in dem (patentierten) Verfahren, das Stoll angewandt hat, um das Ergotamin aus dem Mutterkorn darzustellen. Durch Befeuchten mit einer Lösung von Aluminiumsulfat werden in der amphoteren Zelle zunächst basische Gruppen abgesättigt und saure in Freiheit gesetzt. Zieht man jetzt mit Äther und Benzol aus, so kann man saure und neutrale Begleitstoffe entfernen. Dann setzt man Alkali hinzu, um die Base in Freiheit zu setzen und zieht sie dann mit den genannten Lösungsmitteln aus.

Mit Hilfe der letzten Methoden ist es wohl in günstigen Fällen möglich, lediglich durch Verdunsten des Extraktionsmittels zu einem nicht allzusehr verunreinigten Rohalkaloid zu gelangen. Ebenso ist es nicht ausgeschlossen, daß man in einzelnen Fällen durch Ausschütteln der mit den Extraktionsmethoden a und b hergestellten wässerigen Flüssigkeiten²⁾ durch eine geeignete Flüssigkeit das in den ersteren gelöste Alkaloid in letztere überführen und aus dieser Lösung durch Abdampfen gewinnen kann. Man dampft jedoch nie bis zur Trockne ein, sondern läßt die durch Abdampfen konzentrierte Flüssigkeit im Vakuum langsam verdunsten, um die Bildung von Krystallen zu ermöglichen.

Meistens muß man jedoch bei Anwendung der Methoden a und b die Alkaloide durch ein Alkali zur Abscheidung bringen. Hierzu können in manchen Fällen auch die Carbonate der Alkalien verwendet werden und außer den Hydroxyden der Alkalien die der Erdalkalien und Ammoniak. Es ist bereits früher (S. 11) darauf aufmerksam gemacht worden, daß durch aufeinanderfolgende Anwendung dieser Fällungsmittel eine Trennung mehrerer gleichzeitig anwesender Alkaloide erzielt werden kann, ebenso darauf, daß einige Alkaloide in Ätzalkalien löslich sind. Die abgetrennten Alkaloide werden auf Filtern oder Nutschen ge-

1) Bei Anwendung von Chloroform ist zu beachten, daß manche Alkaloide imstande sind, mit Chloroform Verbindungen einzugehen oder es nach Art der Alkalien zu zersetzen.

2) Hatte man nicht Wasser zur Extraktion benützt, so verdunstet man das Lösungsmittel und nimmt mit Wasser auf.

sammelt und in gewohnter Weise von den Mutterlaugen befreit.

Oft zieht man es vor, die alkaloidhaltigen Flüssigkeiten einer Reinigung zu unterziehen, ehe man die Alkaloide abscheidet.

α) Man nimmt wie in der Stas-Ottoschen Methode wiederholt mit Wasser und Weingeist auf.

β) Man entfärbt mit Kohle, am besten Tierkohle, die man frisch ausgeglüht hat. Dies Verfahren empfiehlt sich nicht immer, da manche Alkaloide durch Tierkohle in nicht unbedeutendem Maße absorbiert werden. Auf alle Fälle muß die Kohle mit angesäuertem Wasser extrahiert und dieses mit Alkaloidreagentien auf die Anwesenheit von Alkaloiden geprüft werden.

γ) Man behandelt die wässrige oder weingeistige Flüssigkeit mit Bleiacetat oder Bleiessig. Entfernung des überschüssigen Bleisalzes durch Schwefelwasserstoff u. dgl. s. S. 18 und 33. Rochleder hat bereits darauf aufmerksam gemacht, daß man beim Fällen wässriger Flüssigkeiten mit Bleiessig solche Alkaloide, die in Wasser schwer löslich sind, in den Niederschlag hineinbekommen kann.

δ) Durch Ausschüttelung. Aus den neutralen oder sauren Flüssigkeiten lassen sich oft Verunreinigungen durch Ausschütteln mit geeigneten Flüssigkeiten (s. oben) entfernen, ohne daß ein wesentlicher Alkaloidverlust eintritt. Nach dem Alkalischemachen schüttelt man die Flüssigkeit wieder aus, das Alkaloid geht in das Lösungsmittel 2 über, ein großer Teil der Verunreinigungen bleibt in der wässrigen Flüssigkeit zurück. Aus Lösungsmittel 2 kann man das Alkaloid durch Ausschütteln mit angesäuertem Wasser in dieses überführen, dieses wieder alkalisch machen, wieder mit Lösungsmittel 2 ausschütteln und diese Operationen so lange wiederholen, bis eine genügende Reinigung erzielt ist. Diese wird bei farblosen Alkaloiden an der allmählich eintretenden Entfärbung der Flüssigkeiten zu kontrollieren sein. Die Ausschüttelungen wiederholt man bei jeder Einzeloperation so lange, bis die auszuschüttelnde Flüssigkeit kein Alkaloid mehr enthält, was man durch Fällungsversuche mit Alkaloidfällungsmitteln feststellt. Mit den wässrigen Flüssigkeiten kann man sie direkt anstellen, bei anderen Flüssigkeiten dunstet man einen kleinen Teil derselben auf dem Wasserbad ab und nimmt mit angesäuertem Wasser auf (s. S. 13).

ε) Eine sehr rasche und gründliche Reinigung erzielt man häufig dadurch, daß man das Alkaloid aus der es enthaltenden Flüssigkeit durch Alkaloidfällungsmittel niederschlägt und durch deren Zersetzung das Alkaloid zurückgewinnt. Das freigemachte

Alkaloid kann man dann durch Ausschütteln u. dgl. in reinem Zustand erhalten. Das Ausschütteln bietet in diesem Fall noch den Vorteil, daß nicht-alkaloidische Stoffe, wie Eiweiß, die gleichfalls durch manche Alkaloidfällungsmittel niedergerissen werden, von den freigemachten Alkaloiden ferngehalten werden, ein Ziel, das man übrigens durch einfaches Aufnehmen der betreffenden Rückstände durch nichtwässrige Lösungsmittel meist auch erreichen kann.

Unter den Fällungsmitteln seien erwähnt:

a) Gerbsäure. Die mit Wasser oder Weingeist fein angeriebenen Niederschläge zersetzt man durch Erwärmen mit frischgefälltem Bleihydroxyd oder ebenfalls frischgefälltem Bleicarbonat. Auch Magnesiumoxyd oder Zinkoxyd lassen sich dazu verwenden. Das freigemachte Alkaloid schüttelt man entweder aus der wässrigen Lösung aus oder gewinnt es nach der Filtration durch Abdampfen usw.

b) Krauts Kaliumwismutjodidlösung¹⁾. Man fällt in mit Schwefelsäure angesauerter Lösung. Der noch feuchte Niederschlag wird mit so viel Silbercarbonat zusammengerieben, daß die rote Färbung der Mischung verschwindet und das Filtrat keine Jodreaktion mehr gibt. Etwa in der Lösung vorhandenes Silber entfernt man durch Schwefelwasserstoff. Oder man zersetzt den mit Wasser angeriebenen Niederschlag durch Kochen mit Bariumcarbonat, fällt aus dem Filtrat den Baryt durch Schwefelsäure, dann den Jodwasserstoff durch Silbercarbonat und das Silber mit Schwefelwasserstoff.

c) Phosphormolybdän-, Silikowolframsäure, oder Phosphorwolframsäure. Die Zersetzung der Niederschläge erfolgt durch die Hydroxyde oder Carbonate des Calciums oder Bariums.

d) Jodkaliumquecksilberjodid. Die Niederschläge lassen sich ebenfalls durch Hydroxyde oder Carbonate von Alkalien und Erdalkalien zersetzen.

e) Platinchlorid oder Goldchlorid. Aus den in Wasser fein verteilten Niederschlägen können die Edelmetalle durch Schwefelwasserstoff oder durch Alkalicarbonat entfernt werden.

Falls das auf diese Weise gewonnene Alkaloid noch nicht genügend rein ist (es wird dann noch etwas gefärbt sein oder keine Neigung zur Krystallisation zeigen), so muß es weiter gereinigt

¹⁾ Man stellt dies Reagens dar 5), indem man 80 g basisch salpetersaures Wismut in 200 g Salpetersäure 1,18 spez. Gew. löst und diese Flüssigkeit in eine konzentrierte wässrige Auflösung von 272 g Jodkalium gießt. Nach dem Ausrystallisieren des Salpeters verdünnt man die Flüssigkeit auf ein Liter.

werden. Zu diesem Zweck behandelt man es entweder mit Kohle oder wiederholt eines der oben geschilderten Darstellungsverfahren, die Ausschüttelungen oder Fällungen und Zersetzung der Niederschläge. Auch das Aufnehmen mit verschiedenen Lösungsmitteln mag versucht werden, ebenso Fällungen wie Ausfällen der absolut-alkoholischen Lösung mit Petroläther oder Wasser u. dgl.

Ein oft eingeschlagener Weg zur Reinigung besteht darin, Salze (oder Doppelsalze) herzustellen, da diese nicht selten besser krystallisieren als die freien Basen, und durch deren Zersetzung die Basen zurückzugewinnen.

Zur Herstellung der Salze neutralisiert man die Base bei Gegenwart von Wasser oder Alkohol mit der Säure und krystallisiert aus einem geeigneten Lösungsmittel um. Aus der wässrigen Lösung kann man hier und da das Salz durch Alkohol, aus der alkoholischen durch Zusatz von Äther fällen. Die doppelte Umsetzung kann man verwerten, um aus einem Salze ein anderes darzustellen, so Chloride durch Umsetzung des Alkaloidsulfats durch Bariumchlorid.

Gold- und Platindoppelsalze (s. oben) krystallisieren oft gut.

Zu den schwierigsten und interessantesten Arbeiten der Pflanzenchemie gehört die Feststellung der Tatsache, ob die aus einer Pflanze gewonnenen alkaloidischen Bestandteile aus mehr als einem Alkaloid bestehen und die Aufgabe, diese Alkaloide voneinander zu trennen. Die Trennung kann sich schon im Verlauf der Darstellung ergeben, z. B. wenn bei dem Ausschüttelverfahren ein Alkaloid schon aus neutraler oder mit fixen Alkalien alkalisch gemachter Flüssigkeit ausgeschüttelt werden kann, während vielleicht der zweite Bestandteil erst aus ammoniakalischer Flüssigkeit in das Ausschüttelungsmittel übergeht. Auch ein verschiedenes Verhalten der Alkaloide gegen Lösungsmittel kann man zur Trennung verwerten, sei es, daß man schon bei der Darstellung zu den Ausschüttelungen mehrere Flüssigkeiten nacheinander anwendet z. B. zuerst Petroläther, dann Äther und zuletzt Chloroform oder daß man das Verhalten der abgeschiedenen Alkaloide gegen Lösungsmittel untersucht. Bei der Reinigung wird sich gleichfalls oft die Möglichkeit zu Trennungen ergeben. Es können die Bestandteile des Alkaloidgemenges sich bei den Fällungen durch physikalisch oder chemisch wirkende Agentien verschieden verhalten. Möglicherweise ist der eine Bestandteil, wenn man mit Äther aus alkoholischer Lösung fällt, in Ätheralkohol löslich, oder er scheidet sich bei der Fällung mit Platinchlorid schon in wässriger Lösung aus, während ein Begleitkörper erst durch einen Zusatz von Weingeist niedergeschlagen wird u. dgl. m.

Die auf der verschiedenen Basizität der Alkaloide beruhende fraktionierte Sättigung mit Säuren ist ebenfalls oft ein sehr geeignetes Trennungsverfahren. Man stellt durch Versuche fest, wieviel Säure das Alkaloidgemenge zur Neutralisation braucht, löst es dann in einem mit Wasser nicht mischbaren Lösungsmittel und schüttelt dann zehnmal mit dem zehnten Teil der zur Neutralisation genügenden Säuremenge aus. Aus jeder Fraktion wird das Alkaloid wieder frei gemacht und seine Eigenschaften festgestellt.

Die quantitative Bestimmung der Alkaloide erfolgt auf gewichtsanalytische oder maßanalytische Weise. Die im ersten Fall einzuschlagende Methode muß sich aus der Darstellung und den Eigenschaften des Alkaloides ergeben.

In vielen Fällen kann man etwa folgendermaßen vorgehen: Man übergießt das gepulverte Material mit dem mit Wasser nicht mischbaren Lösungsmittel und setzt das Alkali (Alkalilauge, Ammoniak, Sodalösung) hinzu. Nach genügendem Schütteln gießt oder filtriert man einen bestimmten Teil der Lösung ab und schüttelt sie mit verdünnter Salzsäure vollständig aus. Die sauren Auszüge macht man wieder alkalisch, schüttelt wieder vollständig mit einem geeigneten Lösungsmittel aus, verdunstet dann dieses und trocknet den Rückstand bis zur Gewichtskonstanz.

Für eine maßanalytische Bestimmung muß das Äquivalentgewicht des Alkaloids oder Alkaloidgemischs bekannt sein. Um die Bestimmung auszuführen, kann man verschiedene Wege einschlagen:

a) Man durchschüttelt das Material mit einem mit Wasser nicht mischbaren Alkaloidlösungsmittel (Äther, Chloroform, Mischung der beiden) und setzt dann Alkali hinzu. Nach einiger Zeit, innerhalb deren man häufig schüttelt, gießt oder filtriert man einen bestimmten Teil der Flüssigkeit ab, destilliert und titriert den Rückstand (unter Verwendung von Hämatoxylin oder Methylrot) entweder direkt mit $\frac{n}{10}$ - oder $\frac{n}{100}$ -Säure oder indirekt, indem man zunächst in überschüssiger Säure löst und mit Alkali zurücktitriert. In diesem Fall läßt sich meist Jodeosin verwenden.

b) Man bringt die Alkaloide zunächst in Lösung wie in a), schüttelt sie aber daraus mit verdünnter Säure aus, führt sie aus dieser Lösung nach Alkalischemachen wieder in eine mit Wasser nicht mischbare Flüssigkeit über, destilliert diese ab und titriert den Rückstand wie in a) angegeben.

c) Man zieht mit Wasser oder verdünnten Säuren aus, fällt das Alkaloid mit Alkalien, wäscht das Alkali aus und titriert das Alkali wiederum entweder direkt (nach vorheriger Lösung in

Weingeist) oder indirekt. Als Beispiel für ein derartiges Verfahren sei die Morphinbestimmung in Opium genannt.

Glykoside.

Allgemeine Darstellungsmethoden lassen sich für die Glykoside, ausgenommen die Gruppe der Saponine nicht angeben, da ihre physikalischen und chemischen Eigenschaften sehr verschiedene sein können.

Zumeist geht man zu ihrer Darstellung von wässerigen oder weingeistigen Auszügen aus. Da aber die Glykoside fast immer von Enzymen begleitet sind, die sie spalten, so geht man immer so vor, daß man das zerkleinerte Material in die siedenden Flüssigkeiten einträgt (vgl. S. 15). Um die spaltende Wirkung gleichzeitig vorhandener Säuren zu vermeiden, setzt man von Anfang an genügend Calciumcarbonat zu. Man wird bei der ersten Extraktion heiß abfiltrieren, da es manchmal so gelingt, sofort das gesuchte Glykosid krystallinisch zu erhalten (Beispiel Amygdalin). Bekommt man beim Erkalten keine Ausscheidungen, sei es bei der ersten Extraktion oder bei den folgenden, so wird man die jeweils folgenden Extraktionen kalt abfiltrieren, weil es Glykoside gibt (z. B. die Condurangoglykoside, die in der Hitze ausfallen und in der Kälte wieder in Lösung gehen).

In der Regel muß man die Auszüge erst reinigen, ehe man sie auf Glykoside verarbeiten kann. Hatte man mit Wasser ausgezogen, so wird man meist die Bleimethode anwenden. Auch mit Kupfercarbonat und Kupferhydroxyd kann man die Gerbstoffe und andere Verunreinigungen entfernen. Manchmal verwendet man dazu auch amalgamiertes Aluminium¹⁾ (5 g auf 200 ccm Flüssigkeit) oder Aluminiumhydroxyd. Daß man das Verfahren des Ausschüttelns gelegentlich zur Darstellung benützen kann, geht aus der Schilderung der Stas-Ottoschen Methode (s. S. 11) hervor.

Häufig anwendbare Ausführungsweisen dieser Verfahren sind die folgenden, von denen die erste bei der Darstellung von Blausäureglykosiden, die zweite bei der von Glykosiden der Digitalisgruppe gute Dienste geleistet hat.

1. Das Material wird in der auf S. 15 angegebenen Weise mit Weingeist ausgezogen. Von den Filtraten wird der Weingeist abdestilliert und der Rückstand mit Wasser aufgenommen. Die wässrige Flüssigkeit wird mit Bleiacetat versetzt, das Filtrat

¹⁾ Man stellt es dar, indem man metallisches Aluminium 3 Minuten in $\frac{1}{2}$ proz. Quecksilberchloridlösung eintaucht und dann abwäscht.

der Bleifällung vom überschüssigen Blei durch Schwefelwasserstoff befreit und danach zur Sirupdicke eingedampft. Der Sirup wird am Rückflußkühler wiederholt mit Essigäther ausgekocht, der dann beim Erkalten das Glykosid ausscheidet.

2. Das Material wird in zwei Anteilen mit der dreifachen Menge kaltem Wasser angesetzt und nach 12 Stunden scharf abgepreßt. Der eine der Preßkuchen wird nochmals mit derselben Wassermenge verrührt, sofort wieder gepreßt und mit diesem Preßsaft der andere Kuchen ausgezogen. Man kann noch ein drittes Mal in dieser Weise ausziehen. Die vereinigten Auszüge reinigt man durch Zusetzen einer konzentrierten Lösung von neutralem Bleiacetat im Überschuß, Abkolieren und Abpressen des Bleiniederschlags und Fällen des Bleisalzüberschusses mit Natriumphosphat. Das Filtrat schüttelt man mit Chloroform aus. Die Chloroformauszüge werden mit Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum abdestilliert oder nur konzentriert und mit Petroläther gefällt.

Dies Verfahren erlaubt gleichzeitig eine Trennung von saponinartigen (s. unten) Begleitstoffen, da diese nicht in das Chloroform übergehen (F. Kraft).

Bei solchen Glykosiden, die durch Alkaloidreagentien gefällt werden, kommen zur Zerlegung der Niederschläge die bei der Darstellung der Alkaloide (s. S. 29) angegebenen Methoden in Betracht. Es sei darauf aufmerksam gemacht, daß ein Überschuß des Fällungsmittels in einigen Fällen auflösend auf die entstandenen Niederschläge wirken kann.

Die Glykoside mit Gerbstoffeigenschaften werden nach den bei Gerbstoffen (s. S. 68) angegebenen Methoden dargestellt.

Manche Glykoside sind in den Pflanzen in Verbindungen mit Gerbstoffen enthalten. Man kann diese Verbindungen nach Wiechowski (6) so erhalten, daß man die wässerigen Auszüge aussalzt und die Niederschläge mit Weingeist auszieht, um die Glykosidverbindungen vom Salze abzutrennen. Aus der wässerigen Lösung der Verbindung kann man die Gerbstoffkomponente mit Bleiacetat fällen und dann die Glykoside aussalzen.

Oft enthalten die Pflanzen mehrere Glykoside, deren Trennung mit großen Schwierigkeiten verbunden sein kann, wie es unter anderem die Geschichte der Digitalisglykoside zeigt. Als Beispiel für die Trennung mehrerer Glykoside voneinander sei die Methode mitgeteilt, welche Tschirch und Heuberger bei der Untersuchung der Rhabarberwurzel (7) anwandten. Die Droge wurde zuerst mit 70 proz., darauf mit 95 proz. Alkohol im Perkolator erschöpft, das Perkolat im Vakuum eingedampft und zuletzt in einem mit Dampf heizbaren Exsiccator über Ätzkalk getrocknet.

Dieses sog. Perkolatextrakt wurde im Soxhlet'schen Extraktionsapparat der Reihe nach mit Äther, wasserfreiem Aceton und einem Gemisch aus Benzol und 96 proz. Alkohol ausgezogen, der Rückstand mit Wasser aufgenommen und der darin unlösliche Teil mit verdünntem Weingeist ausgezogen.

Die durch Aceton gelösten Glykoside wurden durch ihr Verhalten gegen Wasser getrennt, aus dem in Wasser gelösten Teil der Glykoside die glykosidische Frangulasäure durch Weingeist abgeschieden.

In der Gruppe der Glykoside nimmt die große Abteilung der Saponine durch manche ihnen gemeinsame Eigentümlichkeiten eine Stellung ein, die eine besondere Beschreibung ihrer Gewinnungsmethoden nötig macht. Hat man bei Vorprüfung d) (s. S. 10) einen charakteristischen Saponinschaum erhalten, so zieht man eine kleine Menge (20–50 g) der Substanz durch Kochen mit siedendem Weingeist aus, filtriert heiß und versetzt die erkaltete Flüssigkeit mit Äther, ohne die vielleicht schon beim Erkalten ausfallenden Flocken abzufiltrieren. Der Niederschlag, der mit Gerbstoffen, Salzen, Zuckerarten verunreinigt sein kann, wird, wenn man nicht absoluten Alkohol und Äther angewendet hat, fest am Boden des Gefäßes haften, in dem man die Fällung vornahm. In diesem Fall braucht man nur die ätherische Flüssigkeit abzugießen und das Gefäß einmal mit Äther auszuspülen. Wenn der Niederschlag flockig ausfiel, bringt man ihn auf ein Filter und wäscht ihn dort mit Äther aus. Dann löst man ihn in heißem Wasser. Wenn die Lösung Saponin enthält, muß sie folgende Eigenschaften zeigen: Beim Schütteln gibt sie (nach dem Erkalten) den charakteristischen (s. S. 10) Saponinschaum; sie emulgiert Terpentinöl, tötet Quecksilber und löst meist die roten Blutkörperchen auf. Beim Kochen mit Salzsäure muß sich ein unlöslicher Körper (Sapogenin) und ein reduzierender Zucker bilden. Nach der vollständigen Spaltung schäumt die Flüssigkeit nicht mehr.

Beim Abdampfen der Lösung bleibt ein Rückstand, der kratzend schmeckt, beim Pulvern zum Niesen reizt und mit konzentrierter Schwefelsäure übergossen meist eine rotviolett Färbung annimmt¹⁾. Ferner prüfe man das Verhalten der konzentrierten Lösung zu Barytwasser einerseits, zu Bleiacetat und Bleiessig andererseits und schlage, je nachdem mit dem einen oder anderen dieser Agentien Niederschläge entstehen, eines der nachfolgend beschriebenen Darstellungs- und Reinigungsverfahren ein.

¹⁾ Die weingeistige Lösung von (allen?) Saponinen gibt eine Fällung mit einer weingeistigen Lösung von Cholesterin oder Phytosterin.

Zur Extraktion der Saponine benützt man entweder Wasser oder 80—90 proz. Weingeist, in dem die Saponine beim Erwärmen sich lösen und zumeist beim Erkalten ausfallen. Man erleichtert sich die Reindarstellung der Saponine wesentlich, wenn man sich durch Ausziehen mit Weingeist und Fällen mit Äther erst ein Rohsaponin darstellt und dieses dann weiter reinigt. Gibt die Droge etwas an Äther ab z. B. Fett, so erschöpft man sie mit Äther, ehe man mit Weingeist extrahiert.

Man kann zur Extraktion der Saponine mit Boorsma (7a) auch Methylalkohol benützen, indem man das getrocknete Material damit auskocht oder im Extraktionsapparat auszieht. Man destilliert dann den Methylalkohol bis auf ein kleines Volumen ab, fällt mit Äther und wäscht den Niederschlag mit Äther aus. Man nimmt ihn weiterhin mit Chloroformwasser auf, filtriert, wenn nötig, und dialysiert mindestens solange, bis das Dialysat alkalische Kupferlösung nicht mehr reduziert. Dann dampft man das Nicht-Dialysierte zur Trockene, nimmt den Rückstand mit Methylalkohol auf und fällt abermals mit Äther.

Wird das Saponin nicht völlig mit Methylalkohol ausgezogen, so kann man das Material weiter noch mit 50prozentigem Äthylalkohol ausziehen. Die konzentrierte Flüssigkeit versetzt man erst mit Methylalkohol und fällt dann mit Äther (v. d. Haar). Das mit 50prozentigem Weingeist ausgezogene Saponin kann von dem mit Methylalkohol ausgezogenen verschieden sein oder deren Calcium- und Magnesiumverbindung (7b).

Reinigungsverfahren für Saponine.

1. Die Bleimethode. Man verfährt wie S. 9 u. 17 angegeben ist. Durch Bleiacetat werden die Saponinsäuren, durch Bleiessig die „neutralen“ Saponine gefällt¹⁾. Da die Saponine sich besonders fest mit Bleisulfid verbinden, so zersetzt man die Bleiniederschläge²⁾ zum größten Teil durch verdünnte Schwefelsäure und entfernt das wenige ins Filtrat übergegangene Blei durch Schwefelwasserstoff. Die vom Schwefelblei abfiltrierte Flüssigkeit wird zur Extraktkonsistenz eingedampft und der Rückstand mit Alkohol oder wenn er stark gefärbt ist, mit einer Mischung von einem Teil absolutem Alkohol und vier Teilen Chloroform ausgekocht. Aus

¹⁾ Es gibt neutrale Saponine wie das Verbascum-Saponin (8), die nicht durch Bleiessig gefällt werden.

²⁾ Da die Bleiniederschläge leicht Saponin an Wasser abgeben oder sich teilweise darin lösen, so wäscht man sie nur ein- oder zweimal mit Wasser, dann mit verdünntem und zuletzt mit 95gradigem Weingeist aus.

dieser Lösung wird das Saponin durch Äther gefällt und über Schwefelsäure getrocknet.

2. Die Magnesiamethode wird angewendet, wenn die Vorprüfungen mit den Bleisalzen das Vorhandensein nur eines Saponins erwiesen haben, auch zur weiteren Reinigung eines durch eine andere Methode gewonnenen Saponins. Die Methode beruht darauf, daß Gerbstoffe, Saponine, Farbstoffe u. dgl. mit Magnesia Verbindungen bilden können, daß aber nur die Verbindung des Saponins mit Magnesia durch siedenden Alkohol zerlegt wird, wobei das Saponin vom Alkohol aufgenommen wird. Man kocht die Drogen mit Wasser aus (oder benützt die wässrige Lösung des Rohsaponins), konzentriert die filtrierten Auszüge auf dem Wasserbade und dampft sie unter Zusatz von gebrannter Magnesia zur Trockne ein. Die Masse wird so fein als möglich gepulvert und mit Weingeist am Rückflußkühler ausgekocht. Aus der weingeistigen Flüssigkeit wird durch fraktionierte Fällung mit Äther derjenige Teil des Saponins gefällt, der in der erkalteten Flüssigkeit gelöst blieb. Man fälle fraktioniert, um ein möglichst aschenarmes Präparat zu erhalten, da die erste Ausfällung meist mehr anorganische Bestandteile enthält als die folgende¹⁾.

3. Die Barytmethode. Auch mit ihrer Hilfe kann man aus einer Pflanze evtl. zwei Saponine isolieren, wenn nur das eine durch Barytwasser fällbar ist. Die konzentrierte wässrige Lösung des aus dem Material durch Auskochen mit Weingeist und Fällen mit Äther gewonnenen Saponins wird mit gesättigtem Barytwasser versetzt²⁾. Das dadurch ausgefällte Barytsaponin wird mit Barytwasser, in dem es unlöslich ist, ausgewaschen, in Wasser suspendiert und durch Kohlensäure in Bariumcarbonat und Saponin zerlegt. Die Saponinlösung wird abgedampft, das Saponin mit Weingeist aufgenommen und aus der weingeistigen Lösung entweder durch Abdampfen oder besser durch fraktionierte Fällung mit Äther (s. oben) gewonnen.

4. Die Bleihydroxydmethode. Das in weingeistige Lösung übergeführte Saponin wird am Rückflußkühler einige Stunden lang mit Bleihydroxyd gekocht, das im Filtrat gebliebene Blei

¹⁾ Zur vollständigen Entfernung von anorganischen Bestandteilen, welche nicht chemisch an das Saponin gebunden sind, kann man dessen mit wenigen Tropfen Salzsäure versetzte Lösung dialysieren, bis die äußere Flüssigkeit nicht mehr mit Silbernitrat reagiert. Man verliert so allerdings immer etwas Saponin, da dieses gleichfalls in geringem Maße nach außen übertritt.

²⁾ In manchen Fällen wird es sich empfehlen, vor dem Zusatz des Barytwassers Calciumchlorid zuzusetzen, um dadurch Nicht-Saponine auszufällen, welche unlösliche Verbindungen mit Erdalkalien geben.

durch Kohlensäure, der letzte Rest durch Schwefelwasserstoff gefällt und das Filtrat wie bei 3. mit Äther behandelt.

5. Die Bleisulfidmethode. Sie kann bei denjenigen Saponinen angewendet werden, welche mit Bleisulfid eine Verbindung bilden, aus der das Saponin nicht durch Kochen mit Wasser oder Weingeist entfernt werden kann. Man behandelt die wässrigen Auszüge der Droge zunächst nach der Bleimethode. Die saponinhaltigen Niederschläge und das Filtrat werden mit Schwefelwasserstoff entbleit. Hat das im Filtrat vorhandene überschüssige Blei nicht genügt, um alles Saponin mit dem Schwefelblei niederzureißen, so setzt man so viel Bleiacetat hinzu, bis dies erreicht ist. Das Schwefelblei wäscht man sorgfältig aus, zuletzt durch Auskochen mit Wasser, filtriert ab, preßt es annähernd trocken und kocht mit Weingeist aus, bis dieser sich nicht mehr färbt, dann verteilt man den Niederschlag fein mit Wasser und gibt so viel Wasserstoffsuperoxyd hinzu, bis er völlig weiß, d. h. bis alles Bleisulfid zu Bleisulfat oxydiert ist. Durch Zusatz von Weingeist und Filtration evtl. unter Benützung des Pukallschen Filtrierverfahrens erhält man eine klare Saponinlösung, die man wie gewöhnlich weiter behandelt.

6. Die Kupfermethode. Man versetzt den wässrigen Auszug mit Kupfercarbonat, das Gerbstoffe (s. S. 68) und andere Verunreinigungen ausfällt und kocht entweder das mit Natronlauge alkalisch gemachte Filtrat mit Kupferhydroxyd oder fügt der heißen Flüssigkeit unter Aufrechterhaltung der alkalischen Reaktion eine Lösung von Kupfersulfat hinzu. Das Saponin wird nach dieser Methode vollständig gefällt. Man zersetzt die entstandene Kupferverbindung nach dem Auswaschen entweder durch Schwefelwasserstoff oder durch eine zur völligen Zersetzung nicht genügende Menge von Salz- oder Schwefelsäure und trennt das Saponin vom Kupfersalz durch Dialyse.

7. Durch Aussalzen mit Ammonsulfat kann man nach Kober (Beiträge zur Kenntnis der Saponinsubstanzen 1904, S. 20) aus einer sauren und neutralen Saponine enthaltenden Lösung erstere ausfällen, wenn man sie mit Ammonsulfat sättigt und dann einige Minuten kocht. Doch werden auch einige gewöhnlich als neutral bezeichnete Saponine wie Cyklamin und Chamälinin dadurch gefällt.

8. Ein nach diesen Methoden gewonnenes Saponin kann man weiter dadurch reinigen, daß man es in die Acetylverbindung überführt und aus dieser das Saponin zurückgewinnt (9). Zur Bildung der Acetylverbindung erhitzt man einen Teil trockenes Saponin mit vier Teilen Essigsäureanhydrid (am besten unter Zusatz von einem Teil entwässertem Natriumacetat) 3–4 Stunden am Rückflußkühler im Glycerinbad bei 110–120°. Nach dem Erkalten nimmt man mit Wasser auf, die Acetylverbindung bleibt ungelöst zurück. Man zieht sie mit Äther aus, schüttelt die ätherische Lösung zur Entfernung der Essigsäure mit einer 1 proz. Natriumcarbonatlösung im Scheidetrichter aus, wäscht nach Entfernung der Natriumcarbonatlösung mit Wasser bis zur neutralen Reaktion und verdunstet den Äther. Den Rückstand nimmt man

mit Weingeist auf, entfärbt ihn mit Tierkohle und verdunstet entweder das Filtrat unmittelbar oder mischt es mit Wasser, wodurch die Acetylverbindung ausgeschieden wird. Stütz läßt die Acetylverbindung durch Kochen mit Barytwasser zersetzen und den Baryt durch Kohlensäure abscheiden. Rascher erfolgt die Zersetzung beim Kochen mit weingeistiger Kalilauge. Ist das Saponin (wie meist) in Weingeist schwer löslich, so fällt es aus. Durch Einleiten von Kohlensäure in die vom Saponin abfiltrierte Flüssigkeit läßt sich das überschüssige Kali als in Weingeist unlösliches Carbonat zum größten Teil entfernen und der gelöst gebliebene Teil des Saponins durch Abdampfen oder Fällen mit Äther gewinnen. Durch Überführung in wässrige Lösung und Dialyse kann dann das Saponin in reinem Zustand gewonnen werden. Nach Kobert ist sowohl das durch Regeneration des Acetylsaponins nach Stütz als das nach der Barytmethode gewonnene Saponin physiologisch unwirksam.

Die quantitative Bestimmung der eine Barytverbindung gebenden Saponine kann nach der Barytmethode (10) vorgenommen werden. Die Droge wird dreimal mit Wasser ausgekocht, die Auszüge werden auf ein kleines Volum eingedampft, mit Weingeist versetzt und filtriert. Der Niederschlag wird wiederholt mit verdünntem Weingeist ausgekocht; die alkoholischen Dekokte werden heiß filtriert und mit dem ersten Filtrat vereinigt. Man destilliert den Weingeist ab, nimmt den Rückstand mit Wasser auf, dampft auf ein kleines Volum ein, versetzt mit gesättigtem Barytwasser und sammelt den Saponinbaryt auf einem getrockneten tarierten Filter. Den Niederschlag wäscht man so lange mit gesättigtem Barytwasser aus, bis dieses farblos abläuft, trocknet ihn zuerst im Trockenofen, hernach im Luftbad bei 110° bis zur Gewichtskonstanz. Die Wägung ergibt nach Abzug des Filtergewichts die Menge des Saponinbaryts. Der Saponinbaryt wird nebst dem Filter verkohlt, der Rückstand (Bariumcarbonat) in Bariumoxyd umgerechnet und dieses von dem Barytsaponin in Abzug gebracht. Auch die Magnesiamedode (11) läßt sich zur quantitativen Bestimmung verwenden. Man verfährt wie oben (S. 36) angegeben. Die mit Alkohol erschöpfte Magnesiamaße kocht man mit Wasser aus und wiederholt damit das Magnesiaverfahren. Man vereinigt die so gewonnenen alkoholischen Auszüge mit den anderen, dampft in tariierter Schale zur Trockne ein und wiegt den bei 110° bis zur Gewichtskonstanz getrockneten Rückstand. Die Asche kann gleichfalls ermittelt und in Abzug gebracht werden. Beide Verfahren können auf absolute Genauigkeit keinen Anspruch machen.

Ein drittes Verfahren beruht auf der Wägung des bei der Spaltung entstehenden wasserunlöslichen und entsprechend gereinigten Sapogenins. Es liefert nur dann ein gutes Resultat, wenn die Spaltung quantitativ verläuft und kann auch bei anderen Glykosiden angewendet werden, die wasserunlösliche Spaltungsprodukte in quantitativer Weise liefern.

Die quantitative Bestimmung der Glykoside mit Hilfe ihrer Spaltungsprodukte kann überhaupt angewendet werden, wenn eine Bestimmung auf anderem Wege nicht zu ermöglichen ist und die Vorgänge bei der Spaltung genau bekannt sind. Die Blausäure abspaltenden Glykoside kann man so durch Ermittlung der von ihnen abgespaltenen Blausäure bestimmen, die Senföle liefernden durch Destillation des Senföls und dessen Bestimmung. Auch eine Bestimmung des bei der Hydrolyse entstandenen Zuckers läßt sich in geeigneten Fällen dazu verwerten.

Im allgemeinen wird man diejenigen Glykoside, welche unlösliche Verbindungen bilden, mit deren Hilfe zu bestimmen suchen, bei solchen, auf welche keine der angegebenen Methoden anwendbar ist, wird man versuchen, die Darstellungsmethode möglichst quantitativ auszuführen.

Die Spaltung der Glykoside kann man durch Wasser, Säuren, Alkalien und Enzyme vornehmen. Will man mit Wasser allein spalten, so ist hierzu meist eine Temperatur von über 100° notwendig. Man nimmt die Spaltung dann in einer Druckflasche oder zugeschmolzenen Röhre vor. Bei schwer spaltbaren Glykosiden fügt man besser Salz- oder Schwefelsäure zu. Viele Glykoside werden durch Kochen, oft auch schon beim Erwärmen auf dem Dampfbad mit 1—10 prozentiger Säure gespalten. Vielfach spaltet Salzsäure besser als Schwefelsäure. In einigen Fällen gelangt man zu schönen Spaltungsprodukten, wenn man in die erwärmte alkoholische Lösung des Glykosids trockenes Salzsäuregas einleitet. Doch muß man hierbei mit der Möglichkeit rechnen, daß die Spaltungsprodukte äthylirt werden.

Zur Gewinnung der in wässriger Flüssigkeit erzeugten Spaltungsprodukte schüttelt man zunächst mit Äther u. dgl. aus; ist eines derselben in Wasser und Äther u. dgl. unlöslich, so wird man es durch Abfiltrieren gewinnen; das Auftreten flüchtiger Spaltungsprodukte wird man an ihrem Geruch und durch Destillation erkennen. Zur Isolierung der auf diese Weisen nicht isolierbaren Spaltungsprodukte, besonders der Zuckerarten, entfernt man die Säuren, und zwar überschüssige Schwefelsäure durch Bariumcarbonat, Salzsäure durch feuchtes Silbercarbonat oder Silberacetat. Über Erkennung und Isolierung von Zuckern s. S. 83 ff. Doch sei hier

bemerkt, daß unter den Spaltungsprodukten nicht selten Gemenge von Zuckern wie Glykose und Galaktose oder Glykose und Rhamnose vorkommen, ja daß die Glykose, von der doch die Glykoside ihren Namen haben, unter den Spaltungsprodukten vollständig fehlen und durch andere Zuckerarten (Rhamnose, Chinovose) ersetzt sein kann.

Um sich darüber zu orientieren, welche Zucker vorhanden sein mögen, prüft man zunächst auf Hexosen (s. S. 85 ff.) einschließlich Fructose, Pentosen (s. S. 90) und Methylpentosen (s. S. 90).

In dem in der Glykosidanalyse häufig vorkommenden Fall, daß man Rhamnose und Glykose nebeneinander nachzuweisen hat, kann man folgendermaßen vorgehen: Man stellt sich zunächst die Osazone nach S. 85 dar und behandelt sie mit Aceton. Das Glykosazon (s. S. 85) bleibt ungelöst zurück und wird aus 70 proz. Weingeist umkrystallisiert. Das Rhamnosazon (Smp. 182°) gewinnt man nach Abdestillieren des Acetons durch Umkrystallisieren aus Benzol.

Über Nachweis anderer Zucker nebeneinander s. S. 85 ff.

Kommt in der glykosidhaltigen Pflanze ein das Glykosid spaltendes Enzym vor wie das Myrosin im schwarzen Senf, so sucht man die Spaltung mit diesem vorzunehmen. Viel, wenn auch nicht allgemein verwendbar sind Hefe, deren wässerigen Auszug man benützt und Emulsin. Beide verhalten sich nicht immer gleich. Es sei nur darauf hingewiesen, daß Amygdalin durch Emulsin in Zucker, Benzaldehyd und Blausäure gespalten wird, während Hefeauszug es in Mandelnitrilglykosid und Traubenzucker spaltet. Weiterhin ist durch die Untersuchungen E. Fischers festgestellt worden, daß Emulsin, welches das β -Methylglykosid spaltet, die α -Verbindung intakt läßt, während Invertin sich umgekehrt verhält.

Für die Darstellung der Bitterstoffe, einer nicht einheitlichen Gruppe bitter schmeckender Körper, welche weder Alkaloide noch Glykoside sind, gilt das über die Darstellung der Glykoside Gesagte.

Farbstoffe.

Die Mehrzahl der Farbstoffe kommt als Glykoside vor. Die Gewinnung dieser Glykoside, aus denen dann der eigentliche Farbstoff durch Hydrolyse hervorgeht, kann meist nach den im vorhergehenden Kapitel angegebenen Verfahren erfolgen.

Als Beispiel sei noch die Darstellung des Quercitrins aus der Quercitronrinde geschildert: Die zerkleinerte Rinde wird 6 Stun-

den mit 5—6 Teilen 85 proz. Weingeist gekocht. Der filtrierte Auszug wird auf die Hälfte konzentriert und dann mit Eisessig und weingeistiger Bleiacetatlösung (unter Vermeidung eines Überschusses) versetzt. Das Filtrat wird durch Schwefelwasserstoff entbleit und die vom Bleisulfid abfiltrierte Flüssigkeit zur Trockene gedampft. Der Rückstand wird mit Weingeist aufgenommen. Aus dem Filtrat wird das Quercitrin mit Wasser gefällt und durch Umkrystallisieren aus Weingeist gereinigt.

Eine Besonderheit bilden Farbstoffe, wie die Anthocyane, die (trotzdem sie keinen Stickstoff enthalten) basischen Charakter besitzen und als Salze dargestellt werden können.

Wie man in einem solchen Falle vorgehen kann, ergibt sich aus der im folgenden beschriebenen Darstellung des Farbstoffes der Preiselbeeren nach Willstätter und Mallison (12): Die Häute der Preiselbeeren werden mit Eisessig ausgezogen und der Farbstoff aus der Eisessiglösung mit Äther gefällt. Der Niederschlag wird nochmals in Eisessig gelöst und in zwei Fraktionen wieder mit Äther gefällt. Der Niederschlag der zweiten Fraktion wird mit Äther gewaschen und in Wasser gelöst. Aus der Lösung wird der Farbstoff durch wässrige Pikrinsäurelösung als Pikrat gefällt, indem man nach Abfiltrieren des zuerst Ausfallenden in offenen Schalen krystallisieren läßt. Da den Krystallen Kaliumpikrat beigemischt ist, behandelt man sie mit Methylalkohol, worin nur das Farbstoffsalz leicht löslich ist. Durch Ausfällen mit Äther und Umkrystallisieren aus Wasser läßt sich das Pikrat rein gewinnen. Die methylalkoholische Lösung des Pikrats versetzt man mit methylalkoholischer Salzsäure und fällt mit Äther. Der Niederschlag — Idaeinchlorid — wird durch Waschen mit Äther von der Pikrinsäure befreit. Zur Reinigung löst man das Chlorid in Wasser, fügt konzentrierte Salzsäure hinzu, filtriert von sich ausscheidenden Flocken ab und läßt nach Zusatz von Weingeist krystallisieren.

Fette und fette Öle.

Die Darstellung der Fette und fetten Öle erfolgt entweder durch Auspressen in der Kälte oder (zur Erzielung höherer Ausbeute) in der Hitze oder durch Extraktion mit Fettlösungsmitteln (Petroläther, Äther, Schwefelkohlenstoff u. dgl.) und deren Abdestillieren. Beide Darstellungsverfahren werden in der Regel Produkte liefern, die ein wenig voneinander abweichen.

Ob es sich dabei um Fette und fette Öle handelt, ergibt sich aus den physikalischen und chemischen Eigenschaften des Pro-

duktes: Es muß „fettige“ Beschaffenheit zeigen, auf Wasser schwimmen und auf Papier einen „Fettfleck“ erzeugen; es wird sich nicht in Wasser und verdünntem Weingeist, selten in starkem Weingeist lösen. Es wird ferner in der Regel verseifbar sein, d. h. bei der Behandlung mit Lauge (s. unten) Glycerin und Seifen, d. h. Alkalisalze der höheren Fettsäuren liefern¹⁾. Die Untersuchung beginnt man gewöhnlich mit der Feststellung der physikalischen Eigenschaften: Schmelz- und Erstarrungspunkt, Farbe, Konsistenz, Dichte, Löslichkeit, Brechungsvermögen, Polarisation, Viscosität.

Daran kann man die Prüfung gegenüber einigen Reagentien anschließen, die erfahrungsgemäß mit vielen Ölen Farbenreaktionen geben (13).

1. Welmans Reaktion. 1 g des nötigenfalls geschmolzenen und klar filtrierten Fettes löst man in einem dickwandigen, mit Glasstopfen verschließbaren graduierten Probierrohr in 5 ccm Chloroform, setzt 2 ccm einer frischbereiteten Lösung von Phosphormolybdänsäure oder ihres Natriumsalzes und einige Tropfen Salpetersäure hinzu und schüttelt kräftig durch.

2. Belliers Reaktion. 5 g nötigenfalls geschmolzenes und filtriertes Fett werden mit 5 ccm farbloser Salpetersäure (spez. Gewicht 1,4) und 5 ccm einer kaltesättigten Lösung von Resorcin in Benzol in einer dickwandigen, mit Glasstopfen verschließbaren Probieröhre 5 Sekunden lang kräftig durchgeschüttelt.

Nur die während des Schüttelns oder 5 Sekunden nachher eintretenden Färbungen sind zu berücksichtigen.

3. Sergers Reaktion. 5 ccm Öl oder verflüssigtes filtriertes Fett bringt man in ein dickwandiges mit Glasstopfen verschließbares graduiertes Probierglas, löst in 10 ccm Äther, unterschichtet (Glas schräg halten!) mit 1 ccm frisch bereiteter Sergerscher Reagens²⁾ und schüttelt ganz kurz, aber kräftig durch. 15 Minuten nach Trennung der Schichten beurteilt man die untere Schicht.

4. Kreissche Reaktion. Gleiche Raumteile Fett und Salzsäure (spez. Gew. 1,19) werden zuerst für sich und dann mit einem Raumteil einer 1 prom. Lösung von Phloroglucin in aldehydfreiem Äther durchgeschüttelt.

5. Wiedmanns Reaktion. Gleiche Raumteile Fett und eine 1 prom. Lösung von Fett in Aceton werden erst für sich und dann mit 2 bis 3 g Schwefelsäure durchgeschüttelt.

6. Baudouins Reaktion. 5 ccm nötigenfalls geschmolzenes und filtriertes Fett oder Öl werden in einem starkwandigen, mit Glasstopfen verschließbaren Probierglas mit 10 ccm Salzsäure (spez. Gew. 1,19) und 0,1 ccm einer 1 proz. weingeistigen Furfurollösung mindestens $\frac{1}{2}$ Minute kräftig geschüttelt.

¹⁾ Der Fall, daß ein Pflanzenfett keine Glyceride enthält, wird nur selten vorkommen; man muß aber auch mit dieser Möglichkeit rechnen, besonders bei unterirdischen Organen.

²⁾ In einen mit Glasstopfen verschließbaren Stehzyylinder gibt man 10 ccm konz. Schwefelsäure, dazu 0,1 g ganz fein gepulvertes Natriummolybdat und schüttelt 2 Minuten kräftig um. Nach 5 Minuten kann das Reagens verwendet werden; nach $\frac{1}{2}$ bis 1 Stunde ist es nicht mehr zuverlässig.

7. Halphens Reaktion. 5 ccm Öl werden mit der gleichen Raummenge Amylalkohol und 5 ccm einer 1proz. Lösung von Schwefel in Schwefelkohlenstoff in einem Probierglas am Rückflußkühler auf dem Wasserbade 15 Minuten lang erhitzt. Tritt keine Färbung ein, so setzt man noch 5 ccm Schwefellösung zu und erwärmt nochmals 15 Minuten.

8. Becchis Reaktion. Reagentien: I. Eine Lösung von 1 g Silbernitrat in 200 g Weingeist wird mit 0,1 g Salpetersäure und 40 g Äther versetzt und filtriert. II. Eine Mischung von 100 g Amylalkohol und 15 g Rüböl. Erhitzt man 1 ccm I mit 100 ccm II 15 Minuten im Wasserbad, so darf eine Bräunung oder Schwärzung nicht eintreten.

Zur Ausführung der Reaktion erwärmt man 5 ccm filtriertes Fett oder Öl in einem Kölbchen mit 10 ccm absolutem Alkohol am Rückflußkühler und läßt nach Zusatz von 10 ccm II und 1 ccm I 15 Minuten sieden, wobei das Kölbchen vor direktem Tageslicht geschützt sein soll.

9. Hauchecornes Reaktion. Gleiche Raumteile Öl und Salpetersäure (spez. Gew. 1,375) werden gut durchgeschüttelt. Nach 24 Stunden wird beobachtet.

10. Soltsiens Reaktion. Man mischt 2 bis 3 Teile des nötigenfalls geschmolzenen Fetts mit 1 Teil salzsaurer Zinnchlorürlösung, schüttelt einmal kräftig durch, so daß eine Emulsion entsteht und stellt das Glas alsbald so tief in ein heißes Wasserbad, als die Zinnchlorürschicht reicht.

11. Crace-Calverts Reaktion. 10 ccm Öl oder geschmolzenes Fett werden mit 2 ccm einer Mischung gleicher Teile konz. Schwefelsäure und konz. Salpetersäure geschüttelt.

12. Cavallis Reaktion. Man bringt, ohne zu mischen, gleiche Teile Öl und ein Gemisch von 3 Teilen Salzsäure mit 1 Teil Salpetersäure zusammen.

Weiter wird man die Elaidinreaktion anstellen.

Man führt sie gewöhnlich so aus, daß man das Öl in einem Reagensglas mit gleichviel Salpetersäure und einigen Stückchen Kupferdraht zusammenbringt. Bei positivem Ausfall erstarrt das Öl zu einer festen Masse, da das flüssige Glycerid der Ölsäure hierbei in das feste Elaidinsäureglycerid übergeht.

Auch die in der Fettanalyse übliche und systematisch ausgebildete Ermittlung chemischer Konstanten erlaubt, abgesehen von deren quantitativer Bedeutung, Rückschlüsse auf die qualitative Zusammensetzung. Die Säurezahl zeigt die Gegenwart freier Fettsäuren an. Eine Jodzahl geben nur ungesättigte Säuren und deren Ester. Läßt sich in den freien Säuren eine Acetylzahl bestimmen, so kann diese nur von Oxysäuren herrühren. Findet man eine Acetylzahl in Ölen, die keine Oxysäuren enthalten, so kann sie von Mono- oder Diglyceriden oder von höheren Alkoholen herrühren.

Um die Trockenfähigkeit eines Öles zu prüfen (und damit auf die Anwesenheit höher ungesättigter Fettsäuren) streicht man es in dünner Schicht auf eine Glasplatte. Ein trocknendes Öl wird dabei allmählich (bis 14 Tage oder 3 Wochen) zu einem elastischen Häutchen eintrocknen.

Ob ein Öl zu den trocknenden oder halbtrocknenden gehört, läßt sich mit Hilfe der Hexabromidprobe von Hehner und Mitchell entscheiden: 1—2 g Öl werden in 40 ccm Äther gelöst, dem man einige Kubikzentimeter Eisessig hinzugefügt hat. Zu der in Eis gekühlten Lösung setzt man Brom und läßt dann wenn möglich über Nacht in Eis stehen. Dann saugt man, falls ein Niederschlag entsteht, ab, am besten mit einer von Hehner und Mitchell angegebenen Saugvorrichtung (14), wäscht einmal mit je 10 ccm Äther von 0° nach und trocknet zu konstantem Gewicht. Das Entstehen eines Niederschlages, wahrscheinlich ein gemischtes Glycerid, dessen Säureanteil teilweise aus Hexabromstearinsäure besteht, weist auf die Gegenwart von Linolensäure und damit auf ein trocknendes Öl hin.

Die vollständige Untersuchung eines Fettes bezweckt außer der Ermittlung der Nebenbestandteile (Sterine, höhere aliphatische Alkohole evtl. Kohlenwasserstoffe) und des Glycerins entweder die Ermittlung aller in den Glyceriden vorhandenen Säuren oder die Isolierung der Glyceride und deren weitere Untersuchung.

Für die Abscheidung der Glyceride sei auf die Verfahren von Holde und Stange (15) und Bömer (16) verwiesen.

Trennung von Glyceriden durch Destillation im Hochvakuum siehe A. Bömer u. J. Baumann, Zeitschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel 40, 97 (1920).

Verzichtet man auf die Isolierung der Glyceride, so beginnt die nähere Untersuchung mit der Verseifung des Fettes.

Die Verseifung¹⁾ nebst Abtrennung der Sterine kann nach Bömer (17) in folgender Weise vorgenommen werden:

100 g Fett werden in einem Erlenmeyerkolben von etwa 1—1½ l Inhalt auf dem Wasserbad geschmolzen und mit 200 g weingeistiger Kalilauge (200 g Ätzkali in 1 l 70 proz. Weingeist) auf kochendem Wasserbad am Rückflußkühler verseift. Man schüttelt häufig und kräftig um, bis der Kolbeninhalt klar geworden ist und erwärmt dann noch ½—1 Stunde unter bisweiligem Umschütteln auf dem Wasserbade.

¹⁾ Statt zu verseifen (hydrolysieren) kann man auch „alkoholysieren“. Man versetzt das Fett mit gleichviel Methylalkohol und setzt so viel methylalkoholische Salzsäure hinzu, daß der HCl-Gehalt der Mischung etwa 1,5% beträgt. Dann erhitzt man unter gutem Umschütteln so lange am Rückflußkühler, bis mit Wasser kein unverändertes Fett (Glyceride) mehr ausfällt. (Prüfung auf Glycerin s. S. 49.) Dann fällt man die entstandenen Fettsäuremethylester mit Wasser, wäscht, bis Methylalkohol, Glycerin und Chlorwasserstoff entfernt sind und unterwirft die Ester der fraktionierten Destillation. Die einzelnen Fraktionen kann man dann verseifen und die Fettsäuren so gewinnen, wie bei der direkten Verseifung beschrieben.

Die noch warme Seifenlösung wird in einen mit 300 ccm Wasser versehenen Scheidetrichter (von etwa 2 l Inhalt) gegeben und der Rest im Kolben mit 300 ccm Wasser in denselben Scheidetrichter gespült. Nach genügender Abkühlung schüttelt man mit 800 ccm Äther $\frac{1}{2}$ —1 Minute kräftig durch und trennt den Äther nach der Entmischung der beiden Schichten ab. Man wiederholt das Ausschütteln noch 2—3 mal mit 300—400 ccm Äther, filtriert die ätherische Lösung (zur Entfernung von Seifenlösung) und destilliert den Äther unter Zusatz einiger Bimssteinstückchen aus einem Erlenmeyerkolben ab. Den im Kolben noch befindlichen Weingeist verjagt man, indem man den Kolben ins kochende Wasserbad eintaucht und Luft einbläst. Der Rückstand wird zur Verseifung noch vorhandenen Fettes nochmals mit 10 ccm derselben Kalilauge (siehe oben) 5—10 Minuten am Rückflußkühler erhitzt, der Kolben wieder in einen Scheidetrichter entleert, mit 20—30 ccm Wasser nachgespült und der Inhalt des Scheidetrichters nach dem Erkalten 2 mal mit 100 ccm Äther ausgeschüttelt. Nach Abtrennung der wässrig-weingeistigen Schicht wäscht man die Ätherlösung 3 mal mit je 10 ccm Wasser, filtriert (zur Entfernung von Wasser) in ein kleines Becherglas und läßt den Äther verdunsten. Der Rückstand enthält das Sterin und evtl. andere unverseifbare Bestandteile.

Statt das Sterin mit Äther auszuschütteln, kann man es in einem Extraktionsapparat nach Heiduschka und Gloth (18) damit extrahieren.

Freie Sterine (im Gegensatz zu veresterten) kann man aus Fetten nach Fritzsche (19) in folgender Weise abscheiden: 50 g geschmolzenes klar filtriertes Fett werden in einem Becherglase von 150 ccm Inhalt mit 20 ccm einer 1 proz. weingeistigen Digitoninlösung versetzt. Das Gemisch wird auf 60—70° erwärmt und 5 Minuten lang mit Hilfe einer mechanischen Vorrichtung (Turbine) lebhaft gerührt. Während des Rührens ist die Flüssigkeit auf obiger Temperatur zu halten.

Bei flüssigen und halbweichen Fetten wird sofort durch eine leicht durchlässige, in einen Büchner-Trichter von 50 mm Durchmesser eingelegte Filterscheibe unter Saugen filtriert und der Filtrerrückstand durch 6 maliges Auswaschen mit je 5 ccm Äther unter nur schwachem Saugen vom Fett befreit. Bei festen Fetten fügt man nach dem Rühren zur noch warmen Flüssigkeit 20 ccm Chloroform, filtriert unter Saugen und wäscht den Filtrerrückstand zuerst 2 mal mit je 5 ccm warmem Chloroform und dann 6 mal mit je 5 ccm Äther aus.

Das Digitonid kann man durch Erhitzen mit Xylol zerlegen, das das Sterin herauslöst. Oder man acetyliert durch Erhitzen mit Essigsäureanhydrid, vertreibt dieses durch Erhitzen auf dem Wasserbad mit Hilfe eines Luftstromes und gewinnt das Sterinacetat durch Umkrystallisieren des Rückstandes aus Weingeist. Das Digitoninverfahren kann man auch in folgender Weise zur Gewinnung der Sterine (der veresterten und unveresterten) benutzen. Man verseift und scheidet aus den Seifen durch Säure die Fettsäuren ab. Zu den Fettsäuren aus 50 g Fett gibt man 25 ccm einer 1 proz. weingeistigen Digitoninlösung, indem man auf 70° hält. Tritt ein Niederschlag ein, so fügt man zu dem noch heißen Gemisch etwa 20 ccm Chloroform, saugt auf einer erwärmten Nutsche ab und entfernt die Fettsäuren durch Waschen mit warmem Chloroform und Äther.

Die nähere Untersuchung (20) der unverseifbaren Bestandteile kann man auch so vornehmen, daß man sie 1—2 Stunden mit dem gleichen Gewicht Essigsäureanhydrid am Rückflußkühler erhitzt. Bei Abwesenheit von Kohlenwasserstoffen erfolgt dabei vollständige Esterifizierung und Lösung; beim Erkalten können sich die Ester zum Teil ausscheiden; die Ausscheidung ist eine vollständige, wenn man mit Wasser versetzt. Die Ester der höheren Fettalkohole und des Phytosterins werden durch ihr Verhalten gegen Weingeist getrennt. Die Ester der Fettalkohole, deren Gegenwart auf wachsartige Bestandteile des unverseiften Fettes hinweist, lösen sich leicht in siedendem Alkohol und bleiben darin beim Erkalten gelöst, während Phytosterinacetat schwer löslich in Alkohol ist und aus der heiß bereiteten Lösung beim Erkalten ausfällt. Die Ester der Fettalkohole kann man durch Wasserzusatz zur alkoholischen Lösung zur Abscheidung bringen oder durch Kochen mit Ätzkali verseifen. Beim Verdünnen der verseiften Lösung mit Wasser fallen dann die Fettalkohole wieder aus.

Weitere Unterschiede zeigen die aliphatischen Alkohole gegen die Phytosterine beim Erhitzen mit Natronkalk. Die Phytosterine bleiben dabei unverändert, während aus den Fettalkoholen Säuren mit gleichem Kohlenstoffgehalt entstehen.

Über Trennung von Alkoholen und Kohlenwasserstoffen s. a. S. 57.

Trennung der festen und flüssigen Phytosterine (Matthes [21]).

Das Rohphytosterin wird in einer Schale mit etwa der gleichen Menge leicht siedenden Petroleumbenzins durchgearbeitet und

gut bedeckt längere Zeit auf Eis gestellt. Die abgeschiedenen Krystalle werden schnell auf einer Filterplatte abgezogen und mit einigen Tropfen gekühltem Petroleumbenzin nachgewaschen.

Das Filtrat wird konzentriert und nach dem Erkalten in gleicher Weise wie oben mit Petroleumbenzin auf Eis gekühlt und die festen Anteile durch Filtration und Abwaschen abgetrennt. Dies wird so oft wiederholt, bis sich selbst nach längerem Kühlen keine Krystalle mehr gewinnen lassen.

Aus der Petroleumbenzinlösung wird das Lösungsmittel verdunstet und der Rückstand mit kaltem, absolutem Alkohol behandelt. Man läßt mehrere Tage stehen. Haben sich dann noch Krystalle abgeschieden, so saugt man ab und wäscht mit wenig gekühltem Alkohol nach. Man wiederholt auch diese Behandlung mit Alkohol, bis sich keine Krystalle mehr ausscheiden und kann den Rückstand der weingeistigen Lösung nochmals der Behandlung mit Petroleumbenzin unterwerfen.

Trennung von Phytosterinen nach Windaus und Hauth (22).

Man acetyliert zunächst nach S. 46. 1 g trockenes Phytosterinacetat wird in 10 ccm Äther gelöst und mit 2,5 ccm einer 5 proz. Brom-Eisessiglösung versetzt. Ein etwa ausfallender Niederschlag (Phytosterinacetatbromid) wird abgesaugt und mit gekühltem Äther nachgewaschen. Versetzt man das Filtrat mit ein wenig Weingeist und dann mit so viel Wasser, daß Trübung eintritt, so scheidet sich das gelöst gebliebene Phytosterinacetatbromid aus¹⁾ und wird mit weingeisthaltigem Wasser nachgewaschen.

Zur Zurückgewinnung des Phytosterins aus den Acetatbromiden entbromt man zunächst, indem man 1 g der Verbindung mit 1 g Zinkstaub und 20 g Eisessig einige Stunden am Rückflußkühler erhitzt. Aus der heißfiltrierten Lösung scheidet man das Phytosterinacetat mit Wasser aus und krystallisiert aus Weingeist um. Dann verseift man es, indem man es mit 30 ccm 5 proz. weingeistiger Kalilauge auf dem Wasserbad am Rückflußkühler mehrere Stunden erhitzt. Aus der Lösung scheidet man das Phytosterin mit Wasser ab und schüttelt mit Äther aus. Die ätherische Lösung wird mit Wasser gewaschen und mit entwässertem Natriumsulfat getrocknet. Dann wird der Äther abdestilliert und der Rückstand aus Weingeist umkrystallisiert.

¹⁾ Das ausgefallene und das mit Wasser ausgeschiedene Acetatbromid stammen von verschiedenen Phytosterinen; das erstere gehört zum Typus des Stigmasterins, das letztere zu dem des Sitosterins (beide aus Kalabarsamen).

Die Phytosterine werden durch ihren Schmelzpunkt und den ihrer (Acetyl- und Benzoyl-) Ester charakterisiert. Außerdem geben sie verschiedene Farbenreaktionen, die denen des in tierischen Fetten vorkommenden Cholesterins ähnlich sind.

Solche Farbenreaktionen treten ein

1. wenn man Phytosterin in Chloroform löst und konzentrierte Schwefelsäure zusetzt. Schwefelsäure und Chloroform zeigen Farbenreaktionen; letzteres färbt sich häufig blutrot. (Hesses Reaktion).

2. wenn man es mit einer Mischung von einem Teil Wasser und 5 Teilen Schwefelsäure übergießt (Moleschotts Reaktion). Es können rote bis violette Färbungen auftreten. Gibt man noch etwas Jodlösung hinzu, so treten andere Färbungen ein;

3. wenn man es in heißem Essigsäureanhydrid löst und zu der erkalteten Flüssigkeit einige Tropfen Schwefelsäure gibt; es kann Blaufärbung eintreten (Liebermanns Reaktion);

4. wenn man es mit einer Mischung von 9 Teilen Trichloressigsäure und einem Teil Wasser übergießt oder mit flüssiger Trichloressigsäure bis zum Aufkochen erhitzt. Färbung rot bis violett (Hirschsohns Reaktion).

5. wenn man es mit konzentrierter Salzsäure und Eisenchlorid eindampft. Der Rückstand zeigt rote oder blaue Färbung nach dem Auswaschen mit Wasser (Machsche Reaktion).

Nach Entfernung der unverseifbaren Bestandteile entfernt man den Äther und Weingeist durch Abdampfen und salzt mit Kochsalz aus¹⁾. Der Niederschlag besteht aus Seife, d. i. den Natronverbindungen der Fettsäuren; die Flüssigkeit enthält Glycerin und evtl. die Natronsalze niederer Fettsäuren.

Zum Nachweis der etwa in der Flüssigkeit enthaltenen Fettsäuren säuert man mit Schwefelsäure an und unterwirft die Flüssigkeit der fraktionierten Destillation unter Einleiten von Wasserdampf. Zur Identifizierung sättigt man die Fraktionen mit Silbercarbonat und prüft die entstandenen Silbersalze durch Elementaranalyse und Silberbestimmung.

Neutralisiert man die bei der Destillation verbliebene Flüssigkeit (oder benützt einen nicht zur Destillation verwendeten Teil derselben) und dampft auf dem Dampfbad möglichst weit ab, so kann man dem Rückstand durch ein Gemenge von 3 Teilen

¹⁾ Statt auszusalzen kann man auch die Fettsäuren selbst gewinnen, indem man verdünnte Schwefelsäure zusetzt und ausäthert. Die ätherische Lösung wird zur Entfernung der Schwefelsäure ausgewaschen, mit entwässertem Natriumsulfat getrocknet und vom Äther durch Abdestillieren im Wasserstoffstrom befreit. Man kann die Fettsäuren auch ohne Ausäthern gewinnen. Man fällt entweder kalt und filtriert sie ab oder man fällt heiß, kühlt ab und trennt die wässrige Flüssigkeit von der Fettsäureschicht.

95 proz. Weingeist und 1 Teil Äther das Glycerin entziehen, das dann beim Verdunsten der alkoholisch-ätherischen Lösung als Sirup zurückbleibt. Dieser muß süß schmecken, mit Wasser und Weingeist mischbar sein und folgende Reaktionen zeigen:

1. Erhitzt man mit Kupfersulfat und Natronlauge, so muß die Flüssigkeit, oder wenn sich Kupferoxyd bildet, das Filtrat blau sein.

2. Beim Erhitzen mit Kaliumbisulfat entstehen die stechend riechenden Dämpfe des Akroleins. Man leitet sie durch ein doppelt gebogenes Glasrohr in Wasser. Die wässrige Lösung muß dann ammoniakalische Silberlösung reduzieren, fuchsin-schweflige Säure rot färben und außerdem folgende Reaktionen geben: a) Auf Zusatz von ein wenig Nitroprussidnatrium und nachfolgend einer sekundären Base (Piperidin oder Piperazin) tritt blaue oder (mit wenig Akrolein) grüne Färbung ein. b) Mit einer Lösung von Orzin in starker Salzsäure bilden sich weißliche Flocken.

Die Seife wird in Wasser gelöst und mit verdünnter Schwefelsäure zersetzt. Die höheren Fettsäuren sind in Wasser unlöslich und fallen aus, während die niedrigeren Fettsäuren bei genügender Verdünnung gelöst bleiben und durch fraktionierte Destillation voneinander getrennt werden können. Aus dem Gemenge der ausgefallenen Fettsäuren lassen sich die Säuren bis zur Kaprinsäure leicht, die nächstfolgenden höheren Glieder schwieriger mit Wasserdampf überdestillieren. Die Trennung der nichtflüchtigen Fettsäuren beruht teils auf dem verschiedenen Verhalten ihrer Salze gegen Lösungsmittel, teils auf den Prinzipien der fraktionierten Fällung, Krystallisation und Vakuumdestillation der Säuren oder ihrer Ester.

Mit den Fettsäuren nimmt man zunächst eine Bestimmung des Molekulargewichtes und der Jodzahl vor und geht, wenn eine solche vorhanden ist, die Fettsäuren also mindestens zum Teil aus ungesättigten Säuren bestehen, an die

Trennung der gesättigten von den ungesättigten Fettsäuren¹⁾.

1. Verfahren von Bremer (23). Man läßt in die gegen Phenolphthalein neutralisierte heiße Lösung der Fettsäuren, also ihrer Alkalisalze, eine wässrige Lösung von Zinkacetat einfließen. Der Niederschlag wird abfiltriert, ausgewaschen und durch Pres-

¹⁾ Genauer handelt es sich bei diesen Verfahren um die Trennung flüssiger ungesättigter Säuren von ungesättigten und gesättigten festen.

sen zwischen Filtrierpapier möglichst gut getrocknet. Dann wird er mit wasserfreiem Äther $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ Stunde am Rückflußkühler schwach erwärmt. Der Äther löst die Zinksalze der ungesättigten Säuren. Zu ihrer Gewinnung¹⁾ durchschüttelt man die ätherische Lösung mit verdünnter Salzsäure, läßt diese ab, wäscht wiederholt mit ausgekochtem Wasser bis zur völligen Entfernung der Salzsäure, trocknet mit entwässertem Natriumsulfat und destilliert den Äther im Wasserstoffstrom ab.

Die in Äther unlöslichen Zinksalze wäscht man wiederholt mit Äther, erwärmt sie mit Salzsäure, schüttelt nach dem Erkalten mit Äther aus und verfährt weiter wie bei der Gewinnung der ungesättigten Fettsäuren, nur unterläßt man das Durchleiten von Wasserstoff. Man erhält auf diese Weise die gesättigten Fettsäuren (noch verunreinigt mit ungesättigten).

2. Verfahren von Farnsteiner (24). Man verfährt wie in 1., fällt aber mit Bleiacetat²⁾ und verwendet statt Äther Benzol. Man löst die Bleisalze warm in Benzol (auf 1 g Bleisalze 50 cm Benzol), läßt auf 8—12° abkühlen und beläßt so 2 Stunden. Man filtriert ab, wäscht mit Benzol von 10°, löst wieder in warmem Benzol, fährt in der beschriebenen Weise weiter und wiederholt Lösung und Ausscheidung noch einmal.

Die Benzollösung, welche die Bleisalze der ungesättigten Fettsäuren (verunreinigt mit denen der gesättigten) enthält, wird, ständig unter Wasserstoff, mit dem gleichen Raumteil 10-prozentiger Salzsäure im Scheidetrichter durchgeschüttelt, dann von der wässrigen Schicht abgetrennt und zur Entfernung des Bleichlorids mehrmals mit Wasser gewaschen. Nachdem man dann noch die Benzollösung, welche jetzt die freien Fettsäuren enthält, wenn nötig, filtriert, wird sie im Wasserstoffstrom im Vakuum abdestilliert. Die zurückbleibenden Fettsäuren werden durch mehrstündiges Evakuieren völlig getrocknet.

Die im Benzol ungelöst gebliebenen Bleisalze der gesättigten Fettsäuren werden durch Erwärmen mit 20-prozentiger Salzsäure zersetzt. Man verfährt weiter, wie bei den entsprechenden Zinksalzen.

¹⁾ Matthes und Roth (25) destillieren den Äther im Wasserstoffstrom unter Minderdruck ab, lösen dann die Zinksalze in Benzol und zersetzen sie im Scheidetrichter mit warmer verdünnter Schwefelsäure. Im übrigen verfährt man weiter wie oben.

²⁾ Hat man es durch heiße Fällung erreicht, daß die Bleiseifen sich an dem Kolben angesetzt haben, so kann man im Kolben auswaschen. Durch Eintauchen in siedendes Wasser kann man die Bleisalze am Boden ansammeln, den größten Teil des Wassers abgießen und den Rest vorsichtig mittels Filtrierpapierröllchen wegnehmen.

3. Verfahren von A. Grün und A. Janko (26). Die Fettsäuren werden in die Äthylester verwandelt; diese werden mit Brom behandelt, wodurch die Bromderivate der Ester der ungesättigten Fettsäuren entstehen. Von diesen trennt man die Ester der gesättigten Fettsäuren durch fraktionierte Destillation im Vakuum.

Trennung der ungesättigten Fettsäuren voneinander.

Man löst sie in etwa der 10fachen Menge Eisessig, fügt etwa die doppelte Menge Äther hinzu und stellt in Eiswasser. Dazu läßt man aus einem Tropftrichter sehr langsam so viel einer Lösung von 1 Teil Brom in 2 Teilen Eisessig fließen, bis Brom im Überschuß vorhanden ist. Man läßt noch 12 Stunden bei etwa 5° stehen¹⁾, saugt dann den Niederschlag, Linolensäurehexabromid (es sind drei Linolensäuren bekannt) ab und wäscht ihn mit einer kalten Mischung gleicher Teile Eisessig und Äther aus. Smp. des α -Linolensäurehexabromids 180—181°. Das Filtrat vom Linolensäurehexabromid gießt man in viel Wasser, filtriert den Niederschlag ab, wäscht aus, löst ihn in Äther und trocknet diesen mit entwässertem Natriumsulfat. Der Äther wird abdestilliert, der Rückstand in Petroläther aufgelöst und die Lösung 12 Stunden bei 0° belassen. Ein dabei entstehender Niederschlag besteht aus Linolsäuretetrabromid und kann aus Petroläther umkrystallisiert werden. Smp. des α -Linolsäuretetrabromids 114—115°.

Das Filtrat vom Linolsäuretetrabromid enthält Ölsäuredibromid [verunreinigt durch Linolsäuretetrabromid (27)].

Zur Gewinnung der Säuren aus den Bromiden verfährt man folgendermaßen (28): 1 g Säure wird mit 5 g geraspelttem Zink und 15 ccm 90 proz. Weingeist 4 Stunden am Rückflußkühler erhitzt. Die klare Flüssigkeit wird abgossen und zusammen mit dem Weingeist, mit dem man das Zink nachgewaschen hat, zum größten Teil abdestilliert. Den Rest, eine Lösung des Zinksalzes und des Äthylesters der Säure gießt man in 100 ccm Wasser. Nach Zusatz von 10 ccm verdünnter Schwefelsäure (1 : 10) wird das Gemisch 20 Minuten auf dem Wasserbade erwärmt und dann in einem Scheidetrichter zweimal mit Äther ausgeschüttelt. Der Äther wird abdestilliert und der Rückstand zur Verseifung des Esters mit 5 ccm weingeistiger $\frac{1}{2}$ -Kalilauge erhitzt. Der vom Alkohol befreite Rückstand wird in Wasser gelöst, abermals mit verdünnter Schwefelsäure (1 : 10) zerlegt und mit Äther aus-

¹⁾ Bei stärkerer Abkühlung kann auch Linolsäuretetrabromid ausfallen.

geschüttelt. Man entwässert den Äther mit Natriumsulfat und destilliert ihn ab.

Die Identifizierung der Säuren erfolgt dann außer durch die physikalischen Eigenschaften durch die Bestimmung der Jodzahl.

Ölsäure. Erstarrungspunkt 4° . Jodzahl 90,07.

α -Linolsäure. Erstarrt bei -18° noch nicht. Jodzahl 181, 14.

α -Linolensäure. Jodzahl 273,8.

Die Ölsäure ist noch durch die Elaidinreaktion (s. S. 43) charakterisiert.

Ein anderer Weg zum Nachweis mehrerer ungesättigter Säuren nebeneinander beruht auf ihrer Oxydation durch Kaliumpermanganat in alkalischer Lösung und Trennung der entstandenen Oxy-säuren durch ihr Verhalten gegen Lösungsmittel. Näheres darüber siehe Hazura, *Monatsh. f. Chemie* 1887, 147, 156, 260; 1888, 180, 198, 469, 941; 1889, 190; auch L. Rosenthaler, Nachweis organischer Verbindungen.

Trennung und Nachweis der gesättigten nichtflüchtigen¹⁾ Fettsäuren.

1. Trennung durch fraktionierte Krystallisation. Man löst die Säuren in so viel Weingeist, daß sich bei 15° noch nichts ausscheidet und läßt dann bei 0° stehen. Den so entstandenen Niederschlag filtriert man ab. Das Filtrat konzentriert man ein wenig, kühlt wieder auf 0° ab und so fort, bis keine Ausscheidungen mehr erfolgen. Von den Ausscheidungen bestimmt man Schmelzpunkt und Molekulargewicht; man vereinigt die Fraktionen mit gleichen Eigenschaften und behandelt ihre weingeistigen Lösungen wieder wie oben, bis man Fraktionen einheitlicher Zusammensetzung hat.

Schmelzpunkt und Molekulargewicht der wichtigsten Fettsäuren dieser Gruppe zeigt die folgende kleine Tabelle:

	Schmelzpunkt	Mol.-Gewicht
Laurinsäure	$43,6^{\circ}$	200,19
Myristinsäure	$53,8^{\circ}$	228,22
Palmitinsäure	$62,6^{\circ}$	256,26
Stearinsäure	$69,3^{\circ}$	284,29
Arachinsäure	77°	312,32

2. Trennung durch fraktionierte Fällung (29). Die Trennung beruht darauf, daß man zur weingeistigen Lösung der Fettsäuren eine weingeistige Lösung von Magnesium-Barium- oder Bleiacetat

¹⁾ Der Ausdruck nichtflüchtig, der dem üblichen Sprachgebrauch entnommen ist, ist nicht ganz einwandfrei, da auch die hier behandelten Säuren ein wenig mit Wasserdämpfen flüchtig sein können.

in einer zur Fällung der gesamten Säure unzureichenden Menge zusetzt. Es fallen dann die Salze der höhermolekularen Säuren aus. Mit dem Filtrat wird die Fällung wiederholt usw. Man fällt beispielsweise jedesmal mit dem 30. bis 40. Teil der zur vollständigen Fällung nötigen Menge des Magnesiumacetats, das in alkoholischer Lösung angewendet wird. Die nach jeder Fällung freigewordene Essigsäure ist mit Ammoniak zu neutralisieren. Die ausgefallenen Magnesiumsalze werden mit verdünnter Salzsäure zersetzt, die frei gemachten Säuren durch Umkrystallisieren oder erneute fraktionierte Fällung so weit gereinigt, daß Säuren übrig bleiben, die weder durch weitere fraktionierte Fällungen noch durch weiteres Umkrystallisieren sich in Säuren von verschiedenem Schmelzpunkt teilen lassen¹⁾.

3. Prüfung auf Palmitinsäure (neben Stearinsäure) (31). Man löst 1 g des Gemisches in 200 ccm 94 proz. Weingeist, stellt auf Eis und filtriert nach mehreren Stunden, am besten durch einen Eistrichter. Das Filtrat wird auf die Hälfte eingedampft, mit einer weingeistigen Lösung von 0,0301 g Magnesiumacetat (zur Ausfällung von Stearinsäureresten) versetzt und eine Nacht bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Aus dem Filtrat wird durch Zusatz von Wasser und wenn nötig weiteres Konzentrieren die Fettsäure abgeschieden und auf den Schmelzpunkt geprüft. Stimmt er mit dem der Palmitinsäure nicht überein, so löst man nochmals in Weingeist, versetzt mit der weingeistigen Lösung von 0,01 g Magnesiumacetat und verfährt weiter, wie angegeben. Wenn nötig, muß man diese Behandlung nochmals wiederholen.

4. Prüfung auf Stearinsäure (31). Man bereitet sich zunächst eine gesättigte Stearinsäurelösung, indem man 1,5 g Stearinsäure in 500 ccm Weingeist löst, die Lösung über Nacht in Eis stellt und dann die Mutterlauge am besten so abhebert, daß man ein zweimal rechtwinklig gebogenes Rohr anwendet, dessen kürzerer Schenkel zu einem kleinen Trichter erweitert und daselbst mit feinmaschiger Gaze überzogen ist. Man löst dann 0,5–1 g des festen Fettsäuregemisches (von flüssigen Fettsäuren 5 g) in 100 ccm dieser Stearinsäurelösung, wenn nötig durch gelindes Erwärmen und läßt wiederum über Nacht bei 0°, am besten in einer Eiskiste, stehen. Am nächsten Morgen schüttelt man gelinde, überläßt noch $\frac{1}{2}$ Stunde der Ruhe und filtriert dann durch die beschriebene Filtriervorrichtung die ausgeschiedenen Stearinsäurekrystalle ab.

¹⁾ Auch dann können noch Mischungen resultieren, wie es das Beispiel der „Daturinsäure“ zeigt, die als Gemisch von Palmitin- und Stearinsäure erkannt wurde.

Statt weingeistiger Stearinsäurelösung läßt sich auch eine Lösung in Methylalkohol verwenden.

5. Prüfung auf Arachinsäure (32). 20 g Öl werden durch Kochen mit 10 ccm 40 proz. weingeistiger Kalilauge und 30 ccm Weingeist verseift, dann nach Zusatz von 60 ccm Weingeist mit 50 prozentiger Essigsäure (erforderlich etwa 15 ccm) angesäuert. Zu der siedenden Lösung fügt man eine heiße Lösung von 1,5 g Bleiacetat in 50 ccm Weingeist. Man läßt über Nacht stehen und zersetzt dann den Niederschlag durch Erwärmen mit 5 prozentiger Salzsäure. Die so gewonnenen Fettsäuren (etwa 2 g) werden in 50 ccm 90 prozentigem Weingeist durch gelindes Erwärmen gelöst. Die Lösung wird während 30 Minuten in Wasser von 15° gestellt. Tritt eine Krystallisation ein, so werden die Krystalle abgesaugt und erst aus 25 ccm, dann noch einmal aus 12,5 ccm 90 prozentigem Weingeist umkrystallisiert. Ist die Menge der ausgeschiedenen Krystalle gering, so empfiehlt es sich, im Allihnrohrchen über Asbest abzusaugen, den Rückstand in Äther zu lösen und den Äther zu verdunsten. Der Verdunstungsrückstand wird dann umkrystallisiert. Da Arachinsäure in Weingeist nicht ganz unlöslich ist (in 100 ccm von 15° lösen sich 0,022 g), so können kleine Mengen von Arachinsäure auf diese Weise dem Nachweis entgehen.

Bestimmung des Molekulargewichts von Fettsäuren.

Kann man die Fettsäuren abwiegen, so hat man nur nötig, sie in neutralem Weingeist zu lösen und mit Phenolphthalein als Indicator mit $\frac{n}{20}$ -weingeistiger (auf Oxalsäure eingestellter) Kalilauge zu titrieren. Bezeichnet man dann das Molekulargewicht mit M , die abgewogene Fettsäuremenge mit y , die Anzahl der verbrauchten Kubikzentimeter $\frac{n}{20}$ -Kalilauge mit z , so wird unter der hier zutreffenden Annahme, daß die Säuren einbasisch sind,

$$M = \frac{20000 \cdot y}{z}.$$

Kann man die Fettsäuren nicht zur Wägung bringen wie die flüchtigen Fettsäuren von Destillaten, so kann man das Molekulargewicht doch bestimmen, wenn man die zur Neutralisation erforderliche Alkalimenge und das Gewicht der hierbei entstehenden Seife kennt. In diesem Fall geht man nach W. Arnold (33) so vor:

Man titriert die Lösungen nach Zusatz von 2 Tropfen einer 1 proz. weingeistigen Phenolphthaleinlösung sehr genau und bringt die Flüssigkeit in eine gewogene Platinschale (Weinschale). Man

spült das Kölbchen noch zweimal mit kleinen Mengen Weingeist nach und bringt auf dem Wasserbad zur Trockene. Die Platinschale kommt nun $\frac{3}{4}$ Stunde in den Wassertrockenschrank; nach dieser Zeit wird die so vorgetrocknete Seife mittels eines kleinen Hornspatels vorsichtig vom Boden der Schale losgeschabt und mit einem abgeplatteten Glasstab¹⁾ möglichst verlustlos zu feinem Pulver zerrieben. Man trocknet noch $2\frac{1}{2}$ Stunden im Wassertrockenschranke und wägt die Seife nach dem vollständigen Erkalten. Von diesem Gewicht ist noch die Menge des zugesetzten Phenolphthaleins abzuziehen. Man ermittelt sie, indem man 100 Tropfen derselben Lösung aus demselben Tropfglas in gewogener Schale verdampft und 1 Stunde im Wassertrockenschrank trocknet.

Das Molekulargewicht berechnet man dann nach folgender Formel

$$M = \frac{(s - v \cdot f) \cdot 20\,000}{v}.$$

Darin bedeuten:

M = das zu berechnende Molekulargewicht;

s = das durch Wägung festgestellte Seifengewicht, vermindert um das zugesetzte Phenolphthalein bzw. um den Rückstand des zugesetzten Volumens des phenolphthaleinhaltigen neutralisierten Alkohols;

v = Anzahl der bei der Neutralisation verbrauchten Kubikzentimeter weingeistiger $\frac{n}{20}$ -Kalilauge;

f = 0,0019 vermehrt um den aus einer Sulfatbestimmung sich ergebenden Wert, der folgendermaßen bestimmt wird:

Man neutralisiert in einer gewogenen Platinschale 50 ccm der weingeistigen $\frac{n}{20}$ -Kalilauge mit Schwefelsäure, wobei ein geringer Überschuß an letzterer nicht schadet; als Indicator dienen einige Tropfen Phenolphthaleinlösung. Der Schaleninhalt wird auf einem Trockenschranke vorsichtig zur Trockene gebracht und das Sulfat schwach gegläht. Nach dem Erkalten wird das Gewicht des so erhaltenen Sulfates festgestellt. Hat man dann beispielsweise für 1 ccm $\frac{n}{20}$ -Lauge 0,00439 Sulfat gefunden, so muß f um $0,00439 - 0,00435^2) = 0,00004$ vermehrt werden, beträgt also 0,00194.

Die Bestimmung des Fettgehaltes einer Substanz erfolgt durch Extraktion derselben mit einer Fett gut lösenden

¹⁾ Es ist von Vorteil, den Glasstab gleichzeitig mit der Schale zu wiegen, von Anfang an in der Schale zu belassen und damit während des Trocknens umzurühren.

²⁾ 0,00435 ist der theoretische Sulfatwert für 1 ccm $\frac{n}{20}$ -Kalilauge.

Flüssigkeit, gewöhnlich mit Äther oder Petroläther. Die Ausführung erfolgt meist mit Hilfe von Extraktionsapparaten, unter denen besonders der Soxhletsche und einige seiner Modifikationen sich als praktisch erwiesen haben.

Zur quantitativen Feststellung der Einzelbestandteile des Fettes kommen teils die sog. quantitativen Reaktionen, teils die Operationen in Betracht, deren man sich zur qualitativen Trennung bedient, wobei man aber nicht außer acht lassen darf, daß letztere nicht immer die Genauigkeit besitzen, die man von quantitativen Trennungen zu beanspruchen gewöhnt ist.

Über Bestimmungen der Stearinsäure siehe Zeitschr. f. analyt. Chemie **39**, 176 (1900) und Zeitschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel **6**, 22 (1903).

Die Trennung der ungesättigten Fettsäuren von den gesättigten erfolgt wie bei der qualitativen Analyse (s. S. 49) durch die Bleisalze. Bedient man sich hierbei der Methode von Röse, der die Fettsäuren mit Bleiglätte und Äther digerieren läßt, wobei nur normale Salze entstehen sollen, so kann man aus dem Bleigehalt der Salze das mittlere Molekulargewicht der flüssigen Fettsäuren berechnen. Kennt man noch die Jodzahl der Gesamtsäuren, so kann man bei Gegenwart von drei verschiedenen ungesättigten Säuren den Gehalt an jeder einzelnen ermitteln.

Der Gehalt eines Fettes an Glycerin respektive die äquivalente Menge Glycerin läßt sich annähernd aus der Esterzahl (Ätherzahl) berechnen. Die direkte Bestimmung des Glycerins erfolgt entweder nach einer der Oxydationsmethoden oder durch Acetylbestimmung oder über Isopropyljodid. Bei den Oxydationsmethoden wird entweder der Verbrauch an Kaliumdichromat oder das Gewicht der gebildeten Oxydationsprodukte (Kohlensäure) oder Oxalsäure bestimmt.

In dem Verfahren von Zeisel und Fanto wird das Glycerin durch Erhitzen mit Jodwasserstoff in Isopropyljodid übergeführt und dieses als Jodsilber bestimmt.

Die Bestimmung der unverseifbaren Anteile eines Fettes deckt sich mit ihrer Darstellung.

Für die Ausführung dieser quantitativen Verfahren sei auf die Lehrbücher der Fettanalyse verwiesen, etwa auf Benedikt-Ulzer, Analyse der Fett- und Wachsarten.

Wachse.

Die Untersuchung eines Wachses erfolgt in ähnlicher Weise wie die eines Fettes. Für die quantitativen Reaktionen und die

Untersuchung der Fettsäuren gilt das dort Gesagte. Einzelne Bestandteile der Wachse sind in siedendem Weingeist löslich und krystallisieren daraus beim Erkalten.

Die Gewinnung der Alkohole und des Unverseifbaren kann vorteilhaft nach dem folgenden von A. Leys herrührenden, nach Grimme beschriebenen Verfahren (34) erfolgen, das gleichzeitig eine Bestimmung dieser Bestandteile und der Fettsäuren erlaubt:

„10 g Wachs werden mit 25 g weingeistiger Kalilauge¹⁾ und 50 ccm Benzol $\frac{1}{2}$ Stunde lang am Rückflußkühler gekocht. Darauf gibt man durch den Kühler 50 ccm heißes Wasser hinzu, kocht weitere 10 Minuten und entfernt die Heizquelle, worauf sich der Kolbeninhalt bald in eine untere, etwas trübe Schicht, die alkoholische Seifenlösung und eine obere, klare gelbliche Schicht, die Benzollösung der Alkohole und Kohlenwasserstoffe, trennt. Die heiße Seifenlösung wird mit einem Heber abgezogen. Darauf gibt man zur kochend heißen Benzollösung nach Zusatz von 25 ccm Alkohol erneut 50 ccm siedendes Wasser hinzu, kocht abermals 10 Minuten, entfernt die Flamme und zieht nach Trennung der Schichten abermals die untere Schicht ab und vereinigt sie mit der Seifenlösung. Die Benzollösung gießt man in eine gewogene flache Porzellanschale, spült den Kolben mehrmals mit etwas heißem Benzol nach und verjagt das Lösungsmittel durch Erhitzen auf dem Wasserbade. Zurück bleibt das Gemisch der Alkohole und Kohlenwasserstoffe, welches getrocknet und gewogen wird.

Will man noch eine Trennung in Alkohole und Kohlenwasserstoffe vornehmen, so löst man den gewogenen Rückstand in 100 ccm Amylalkohol, spült die Lösung in ein hohes Becherglas, setzt 100 ccm rauchende Salzsäure hinzu, erhitzt unter Umrühren zum Sieden und läßt nach einigen Minuten unter Einstellen in warmes Wasser sehr langsam erkalten. Die in Lösung gegangenen Wachsalkohole scheiden sich hierbei feinkrystallinisch quantitativ wieder aus, während die ungelöst gebliebenen Kohlenwasserstoffe sich an der Oberfläche sammeln und beim Erkalten zum festen Kuchen erstarren. Die Alkohole werden nach dem Abfiltrieren und Auswaschen mit eiskaltem Alkohol im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet und zur Wägung gebracht; den Kohlenwasserstoffkuchen löst man in Äther, trocknet über Chlorcalcium, verjagt das Lösungsmittel, trocknet bei 100° und wiegt.

Die in den vereinigten Seifenlösungen enthaltenen Fettsäuren werden nach dem Verjagen des Alkohols mit verdünnter Schwefel-

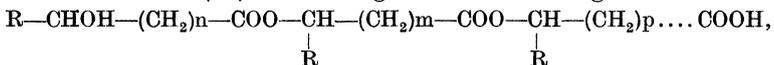
1) 45 g Ätzkali auf 1 l absoluten Alkohol.

säure in Freiheit gesetzt, in Äther gelöst. Die Ätherlösung wird mit Wasser mineralsäurefrei gewaschen, über Chlorcalcium getrocknet; der Äther wird aus gewogenem Kolben verdampft Kolben + Fettsäuren bei 105° getrocknet und zur Wägung gebracht.“

Die isolierten Alkohole sucht man durch fraktionierte Krystallisation zu trennen. Oft ist es vorteilhaft, die Trennung mit den (Acetyl- oder Benzoyl-) Estern der Alkohole vorzunehmen.

Die Identifizierung der Alkohole erfolgt durch Elementaranalyse, Schmelzpunkt des Alkohols und seiner Ester, Acetylzahl und ihr Verhalten gegen Natronkalk (s. S. 46). Da ein Molekül der Fettalkohole beim Erhitzen mit Natronkalk außer der Fettsäure 2 Moleküle Wasserstoff liefert, so läßt sich auf die Messung des Wasserstoffs eine quantitative Bestimmung der Fettalkohole aufbauen.

Den Wachsen in ihrer äußeren Beschaffenheit ähnlich sind die Etholide, die man aus Koniferennadeln durch Auskochen mit 80 proz. Weingeist gewinnt. Da ihre Konstitution nach Bougault und Bourdier (35) durch folgende Formel ausgedrückt wird:



so ergeben sie durch Verseifung lediglich Oxysäuren.

Lecithine (Phosphatide).

Im Anschluß an die Fette und Wachse seien noch die Lecithine besprochen, die in den Pflanzen, zumal in den Samen, häufig zu finden sind. In Wasser nur aufquellend finden sie sich in den Auszügen, die man mit Petroläther, Äther und Weingeist herstellt, in letzterem auch dann, wenn man mit einem der beiden anderen Lösungsmittel vorher erschöpfend ausgezogen hatte, da in den Pflanzen anscheinend lecithinhaltige Bestandteile vorkommen, aus denen das Lecithin durch Kochen mit Weingeist abgespalten wird. Zur Darstellung der Lecithine (37) extrahiert man zunächst mit Äther, dann mit Weingeist bei etwa 60°, dunstet die weingeistigen Auszüge bei 40—50° ein und behandelt den Rückstand mit kaltem Äther. Die ätherische Lösung schüttelt man mit Wasser aus; etwa eintretende Emulsionsbildung beseitigt man mit Kochsalz. Den Äther dunstet man ab, nimmt den Rückstand mit absolutem Weingeist auf und bringt das Lecithin daraus durch Abkühlung zur Abscheidung. Es wird über Schwefelsäure getrocknet. Die ätherisch-alkoholische Lösung der Lecithine gibt

mit alkoholischem Platinchlorid einen gelblich weißen Niederschlag, der in Äther löslich ist. Bei der Verseifung mit Barytwasser zerfallen sie in Cholin oder andere Basen, Glycerinphosphorsäure und Fettsäuren. Die quantitative Bestimmung der Lecithine (36) erfolgt durch Ermittlung der aus ihnen durch Oxydation gebildeten Phosphorsäure.

Ätherische Öle.

Die Darstellung der ätherischen Öle erfolgt meistens durch Destillation des zerkleinerten Materials mit Wasser oder Wasserdämpfen. Das Öl wird von dem destillierten Wasser mit Hilfe von Florentiner Flaschen, Scheidetrichtern oder ähnlichen Vorrichtungen, getrennt. Ein Teil des im Wasser gelösten Öles kann durch Zusatz von Kochsalz abgeschieden und ebenfalls in Florentiner Flaschen abgetrennt oder mit Äther ausgeschüttelt werden. Man stellt zunächst die wichtigsten physikalischen Eigenschaften des Rohöles fest; Spezifisches Gewicht, optisches Verhalten und Löslichkeit. Aus dem spezifischen Gewicht lassen sich einige Schlüsse auf die Bestandteile des Öles ziehen (37). Ein spezifisches Gewicht unter 0,9 weist auf reichliches Vorhandensein von Terpenen oder aliphatischen Verbindungen hin, ein solches über 0,9 wird durch die Anwesenheit von Sauerstoff, Stickstoff oder Schwefel enthaltenden Verbindungen veranlaßt, ebenso durch Benzolderivate. Bei Gegenwart größerer Mengen von genannten Körpern, besonders von Nitrilen, Sulfiden und Rhodaniden, kann das spezifische Gewicht über 1 steigen.

Zur Voruntersuchung können folgende Maßnahmen vorgenommen werden:

1. Feststellung der Reaktion. Saure Reaktion deutet auf freie Säuren oder phenolartige Körper.

2. Untersuchung auf Stickstoff (s. S. 8). Man verwendet eine längere Röhre.

3. Untersuchung auf Schwefel. Die Substanz wird mit rauchender Salpetersäure im zugeschmolzenen Rohr im Bombenofen erhitzt und mit Chlorbarium auf etwa entstandene Schwefelsäure geprüft.

4. Auf Aldehyde kann mit ammoniakalischer Silbernitratlösung geprüft werden, welche durch sie (oft mit Bildung eines Silber spiegels) reduziert wird.

5. Aldehyde und Ketone geben sich außerdem durch ihr Verhalten gegen Phenylhydrazin, Semicarbazid und Hydroxylamin

zu erkennen, mit denen sie sich in der Regel zu krystallinischen Körpern vereinigen.

6. Abkühlung durch Kältemischung. Manche Öle geben in der Kälte eine krystallinische Ausscheidung.

7. Die Elementaranalyse. Sie wird darüber Aufschluß geben, ob sauerstoffhaltige Körper vorhanden sind.

8. Wie bei den Fetten, so geben auch hier einige gewöhnlich zur quantitativen Bestimmung ausgeführte Reaktionen Anhaltspunkte für die qualitative Zusammensetzung.

a) Esterzahl. Erwärmt man das Öl mit alkoholischer Kalilauge (am besten $\frac{1}{2}$ n-Lauge) etwa 1 Stunde auf dem Dampfbad und titriert mit Schwefelsäure zurück, so zeigt ein Verbrauch von Kali das Vorhandensein eines Esters an, wenn Lactone, freie Säuren und aromatische Aldehyde fehlten oder entfernt wurden.

b) Sind freie Säuren vorhanden, so bestimmt man die Säurezahl durch Titrieren mit kalter alkoholischer Kalilauge und die Verseifungszahl (wie die Esterzahl). Die Differenz zwischen Verseifungszahl und Säurezahl entspricht der Esterzahl.

c) Der positive Ausfall einer Methoxylbestimmung nach Zeisel zeigt das Vorhandensein ätherartiger Verbindungen an. Man erwärmt das Öl mit Jodwasserstoffsäure und leitet das etwa entstandene Jodalkyl nach passender Reinigung in eine weingeistige Silbernitratlösung, die dann Jodsilber abscheidet.

d) Die Carbonylbestimmung ist bei Gegenwart von Aldehyden und Ketonen auszuführen. Das Öl wird mit Phenylhydrazin erwärmt, das etwa entstandene Hydrazone abfiltriert und das überschüssige Phenylhydrazin durch Kochen mit alkalischer Kupferlösung oxydiert. Der hierdurch entwickelte Stickstoff wird aufgefangen und gemessen.

e) Acetylbestimmung. Man kocht das Öl mit Essigsäureanhydrid und trockenem Natriumacetat, scheidet es dann durch Wasserzusatz ab, entfernt mit Sodalösung die überschüssige Säure und mit Wasser die überschüssige Soda und bestimmt die Verseifungszahl des mit wasserfreiem schwefelsaurem Natron getrockneten Öles. Ist die Verseifungszahl größer als die des nicht auf diese Weise behandelten Öles, so enthält das Öl Alkohole (evtl. Phenole oder auch Oxysäuren).

Bei positivem Ausfall der Reaktionen 1, 4, 5 und 6 verfährt man dementsprechend. Durch Abkühlung scheidet man die in der Kälte ausfallenden Bestandteile ab. Säuren extrahiert man durch Ausschütteln mit schwachen Lösungen von Alkalicarbonat, Phenole durch Ätzalkalien, Aldehyde und Ketone $R \cdot COCH_3$ durch eine Lösung von saurem schwefligsauren Natron. Aus

den so entstandenen Verbindungen lassen sich durch Säuren die betreffenden Körper zurückgewinnen. Die Verbindungen der Aldehyde und Ketone mit saurem schwefligsaurem Natron werden auch durch Alkalien zersetzt. Auch aus den Semicarbazonen, welche entstehen, wenn man eine konzentrierte wässrige Lösung des salzsauren Semicarbazids mit einer weingeistigen Kaliumacetatlösung und dem Keton versetzt, kann man durch Säuren die Ketone wiedergewinnen.

Nach der Abscheidung dieser Bestandteile versucht man, die übrigen Anteile des ätherischen Öles durch fraktionierte Destillation¹⁾ bei gewöhnlichem oder vermindertem Druck nach Möglichkeit voneinander zu scheiden. Auch das Fraktionieren im Dampfstrom wird häufig ausgeführt.

Der Siedepunkt der Fraktionen gewährt oft Rückschlüsse auf ihre Zusammensetzung. So sieden die Terpene der Formel $C_{10}H_{16}$ zwischen 150 und 190°, die Sesquiterpene etwa 100° höher.

Die Vergleichung der elementaren Zusammensetzung der einzelnen Fraktionen mit der des Rohöles gewährt manche Anhaltspunkte z. B. über die in den Fraktionen vorhandenen Mengen der Sauerstoff enthaltenden Bestandteile.

Die Fraktionen untersucht man dann in ähnlicher Weise, wie für das Rohöl angegeben, auf ihre Bestandteile und verfährt dementsprechend.

Alkohole charakterisiert man durch Überführung in Ester, besonders in die der Benzoesäure, Phthalsäure und Bernsteinsäure. Primäre Alkohole kann man an wasserfreies Chlorcalcium binden und die Alkoholate mit Wasser wieder zersetzen. Weitere zur Abscheidung der Alkohole geeignete Verbindungen sind die Phenylurethane, welche durch Einwirkung von Phenylisocyanat auf die Alkohole entstehen.

Etwa vorhandene Ester werden verseift und ihre Verseifungsprodukte nachgewiesen.

Enthalten die hauptsächlich aus Kohlenwasserstoffen bestehenden Fraktionen kleine Anteile sauerstoffhaltiger Körper, so destilliert man nochmals nach Zusatz von metallischem Kalium oder Natrium.

Die am häufigsten in den ätherischen Ölen vorkommenden Kohlenwasserstoffe sind die Terpene, deren Trennung und Charakterisierung größtenteils auf den von Wallach gefundenen und ausgearbeiteten Methoden beruht. Diese bestehen in der Her-

¹⁾ Beim Fraktionieren ist es vorteilhaft, sich der Fraktionieraufsätze zu bedienen, wie sie von Linnemann, Wurtz, Hempel und anderen konstruiert worden sind.

stellung krystallinischer Produkte aus den terpenhaltigen Fraktionen. Die wichtigsten dieser Terpenderivate sind:

1. Halogenwasserstoffadditionsprodukte (38). Man stellt sie dar, indem man zu der Lösung des Halogenwasserstoffs in Eisessig die mit demselben Mittel bewirkte Lösung des Kohlenwasserstoffs gibt und durch Eingießen in Eiswasser die Additionsprodukte ausfällt. Behandelt man dieselben in Eisessiglösung mit wasserfreiem Natriumacetat (39), so werden die Kohlenwasserstoffe zurückgebildet.

2. Die Bromide. Sie bilden sich, wenn man Brom von der gut gekühlten Lösung der Terpene in Äther-Alkohol oder Eisessig absorbieren läßt (40).

3. Die Nitrosite entstehen beim Durchschütteln der terpenhaltigen Fraktionen mit einer Lösung von Natriumnitrit und Essigsäure.

4. Die Nitrosochloride (41). Man erhält sie, wenn man ein kalt gehaltenes Gemisch von Terpen und Amylnitrit mit konzentrierter Salzsäure durchschüttelt und dann etwas Weingeist oder Eisessig hinzufügt.

5. Aus den Nitrosochloriden entstehen die Nitrolamine (42), wenn man sie mit der weingeistigen Lösung einer geeigneten organischen Base auf dem Wasserbad erwärmt.

In einzelnen Fällen können die Terpene durch Farbenreaktionen identifiziert werden. Man erhält z. B. eine intensiv blaue Flüssigkeit, wenn man zu einer Lösung von wenig Sylvestren in Essigsäureanhydrid einen Tropfen konzentrierte Schwefelsäure gibt.

Für die Bestimmung ätherischer Öle in Drogen hat C. Mann (43) eine Methode ausgearbeitet. Seine Vorschrift lautet: „20 g des zerkleinerten Gewürzes mischt man mit der Hälfte des Gewichtes Bimssteinstückchen und destilliert (Über den dazu erforderlichen Apparat siehe Arch. d. Pharmazie 1902, S. 152). Das Destillat salzt man aus, versetzt dasselbe mit 50 ccm Rhigolen, ergänzt dieses nach der Durchschüttelung wieder auf das ursprüngliche Maß, pipettiert 25 ccm entsprechend 10 g Gewürz hiervon ab, verdunstet dieselben im Wägegglas, multipliziert das erhaltene Gewicht ätherischen Öles mit 10 und erhält so den Prozentgehalt des Gewürzes an ätherischem Öl.“

Nach Reich (44) bringt man besser das in Äther, Rhigolen oder Pentan gelöste ätherische Öl in ein Mannsches Wägekölbchen, verdunstet die Hauptmenge des Lösungsmittels, indem man einen getrockneten Luftstrom hindurchschickt, setzt alsdann eine geeignete Menge Isopropylchlorid hinzu, läßt die entweichenden Verdunstungsgase gegen ein erhitztes Kupferdrahtnetz strömen

und fährt mit der Luftzufuhr so lange fort, bis die grüne Halogenkupferflamme verschwunden ist.

Über ein Verfahren zur Bestimmung ätherischer Öle mit Hilfe der Gefrierpunktserniedrigung siehe E. Beckmann, Arch. d. Pharmazie Bd. 245, S. 211. 1907.

Die Darstellung flüchtiger Körper, wie sie z. B. in der Familie der Ranunculaceen vorkommen, schließt sich der Gewinnungsweise der ätherischen Öle an. Sie werden gleichfalls mit Wasserdämpfen überdestilliert (45) und durch Ausschütteln des Destillats zu isolieren gesucht.

Harze.

Eine Methode oder ein Gang, mit dessen Hilfe man alle Harze untersuchen und ihre Bestandteile trennen könnte, existiert nicht. Tschirch, auf dessen Buch „Die Harze und die Harzbehälter“ (2. Aufl. 1906) für weitere Einzelheiten verwiesen sei, läßt verschiedene Untersuchungswege einschlagen, die von der Natur der Reinharz bildenden Bestandteile und der dasselbe begleitenden Körper bedingt sind. Die Begleitkörper werden zunächst entfernt: Ätherische Öle durch Destillation mit Wasserdampf oder wenn dadurch eine Zersetzung von Harzbestandteilen eintreten kann, durch Behandeln des Harzes oder seiner weingeistigen Lösung mit Petroläther. Bleibt in diesem auch ein Harzbestandteil gelöst, so muß mit dem Rückstand die Destillation mit Wasserdampf vorgenommen werden. Bitterstoffe können aus dem Harz durch Wasser ausgezogen werden. Die Abtrennung freier Säuren erfolgt durch Ausschütteln der ätherischen Lösung des Harzes mit schwachen wässrigen Lösungen kohlenaurer Alkalien, die der Aldehyde durch Ausschütteln der ätherischen Lösung mit einer wässrigen Lösung von saurem schwefligsaurem Natron. Die Bestandteile des nach solcher Behandlung übrigbleibenden Reinharzes können in einigen Fällen durch indifferente Lösungsmittel voneinander geschieden werden, außerdem durch ihr Verhalten gegen Kalilauge, in der die Harzester (Resine) löslich, die Resene unlöslich sind. Die Reinigung der Resene erfolgt durch Fällen ihrer weingeistigen Lösung mit sehr verdünnter Salzsäure. Die Verseifung der Harzester erfolgt meist durch Kochen mit Ätzkali unter Einleitung von Wasserdampf und nimmt oft sehr lange Zeit in Anspruch. So dauert die Verseifung des Ammoniakumharzes 6 Monate. Werden die Säuren des Harzesters durch die Kalilauge verändert, so kann die Verseifung durch Alkalicarbonat

erfolgen. Die Verseifungslaugen werden im allgemeinen öfters durch Salzsäure zerlegt, das sich Abscheidende mit heißem Wasser gewaschen und der Rückstand weiter verseift, bis die Verseifung beendet ist, was man daran erkennt, daß das durch Salzsäure ausfallende Harz (Harzalkohole) pulverig ausfällt. Die Harzalkohole können Gemenge von Resinol und Resinotannol sein. Die Resinotannole geben mit Eisenchlorid, Bleiacetat und saurem chromsaurem Kali Reaktionen, welche denen der Gerbstoffe s. S. 71 ähnlich sind. Die Trennung der Resinole und Resinotannole erfolgt durch ihr Verhalten gegen Ätzkali oder Ätzkalk (s. Untersuchung des Benzharzes). Ihre Reinigung kann außerdem durch Fällen ihrer weingeistigen Lösung mit salzsäurehaltigem Wasser vorgenommen werden.

In der von den Harzalkoholen abgetrennten wässerigen Flüssigkeit befinden sich die mit ihnen im Ester verbundenen Säuren, die durch Ausschütteln mit Äther usw. gewonnen werden.

Als Typen der Tschirchschen Untersuchungsmethoden seien folgende mitgeteilt:

1. Untersuchung eines Coniferenharzes, das neben Resen mehrere freie Harzsäuren enthält. (Harz von *Dammara orientalis*.)

Das Harz wird erst durch Extraktion mit heißem Wasser vom Bitterstoff befreit, dann in Äther gelöst und bis zur völligen Erschöpfung mit 1 prozentiger wässriger Ammoniumcarbonatlösung im vor Licht geschützten Scheidetrichter ausgeschüttelt. Die durch Erwärmen vom Äther befreiten Ausschüttelungen werden nach dem völligen Erkalten in mit Salzsäure angesäuertes Wasser unter Umrühren eingetragen, worauf sich die Harzsäuren ausscheiden. Sie werden ausgewaschen, zwischen Filtrierpapier abgepreßt und ohne Anwendung von Wärme bei Lichtabschluß getrocknet. Zur Reinigung werden sie wieder in Äther gelöst, wieder mit der gleichstarken Ammoniumcarbonatlösung ausgeschüttelt usw. Das Harz von *Dammara orientalis* gibt so zwei Säuren, die aus ihrer Lösung in einer Mischung von Äthyl- und Methylalkohol auskrystallisierende Mancopalinsäure und die amorphe Mancopalen-säure. Die letztere Säure enthaltende alkoholische Lösung wird zur Reinigung mit alkoholischer Bleiacetatlösung versetzt, das harzsaure Blei zunächst mit Alkohol wiederholt gewaschen, dann zwischen Fließpapier abgepreßt und portionsweise in verdünnte Schwefelsäure enthaltenden Weingeist eingetragen. Das Filtrat vom schwefelsauren Blei wird in salzsäurehaltiges Wasser unter Umrühren eingegossen, wobei sich die Harzsäure ausscheidet. Sie wird wieder in Äther gelöst, mit 1 proz. Ammoniumcarbonat-

lösung ausgeschüttelt, daraus mit verdünnter Salzsäure abgeschieden, abermals gewaschen und getrocknet.

Die ätherische Lösung des Harzes wird nach der Behandlung mit Ammoniumcarbonatlösung mit 1 prozentiger Sodalösung ausgeschüttelt; daraus werden die Harzsäuren durch Säuren abgeschieden, wieder in Äther gelöst und zur Reinigung wieder wie oben abgeschieden. Auch diese Säureabscheidung besteht bei dem Harze von *Dammara orientalis* aus zwei Säuren, der α - und β -Mancopalolsäure, die durch die Darstellung ihrer Bleisalze (durch Fällung mit Bleiacetat), von denen das eine in Weingeist löslich, das andere unlöslich ist, getrennt werden.

Das dritte von Tschirch benutzte Ausschüttelungsmittel, 1 prozentiger Kaliumhydroxylösung, nimmt nichts aus der Lösung auf, ebensowenig stärkere Kalilauge.

Die nach dem Ausschütteln verbleibende ätherische Lösung des Harzes wird mit destilliertem Wasser gewaschen und der Äther auf dem Dampfbade vorsichtig abgezogen. Hierbei bleibt Harz und ätherisches Öl zurück. Letzteres wird mit Wasserdämpfen übergetrieben. Der Rückstand ist bei *Dammara* gegen Ätzkali auch in der Hitze indifferent, also ein Resen, das durch Eingießen seiner alkoholischen Lösung in angesäuertes Wasser gefällt wird.

2. Untersuchung eines Benzharzes (Benzoe), das zum größten Teil aus Harzestern besteht und wenig freie Säure neben einigen anderen Bestandteilen (Aldehyden usw.) enthält.

Das Harz wird in Äther gelöst und mit 4 prozentiger Natronlauge rasch wiederholt ausgeschüttelt, bis der Äther nicht mehr sauer reagiert. Durch Auswaschen mit Wasser wird das Alkali aus dem Äther entfernt. Der Äther wird darauf mit einer gesättigten wässerigen Lösung von saurem, schwefligsaurem Natron (Sulfitlauge) durchgeschüttelt, die wässerige Flüssigkeit mit verdünnter Schwefelsäure versetzt (150 ccm einer aus 3 Teilen konz. Schwefelsäure und 5 Teilen Wasser bestehenden Mischung auf 100 ccm Sulfitlauge). Die schweflige Säure wird auf dem Wasserbade möglichst ausgetrieben.

Die wässerige Flüssigkeit wird nach dem Erkalten mit Äther ausgeschüttelt und dieser abgedampft: Benzaldehyd. Der vom Benzaldehyd befreite Äther hinterläßt beim Abdunsten einen öligen Rückstand, aus dem sich in der Kälte Styracin abscheidet. Im Rest des Öles wird durch die Verseifung die Gegenwart von Zimtsäurephenylpropylester festgestellt.

Zum Nachweis von Vanillin wird die vom Äther abgetrennte alkalische Lösung benützt. Aus der erwärmten Flüssigkeit wird

mit Salzsäure das Harz ausgeschieden und heiß abfiltriert. Die von den abgeschiedenen Krystallen von Benzoesäure und Zimtsäure abgetrennte Flüssigkeit wird mit Äther ausgeschüttelt und mit Sulfitlauge wie oben behandelt.

Zum Nachweis der freien Säuren wird die ätherische Lösung der Benzoe mit 1 prozentiger Sodalösung rasch durchgeschüttelt und die Lauge mit Salzsäure zerlegt. „Das von freien Säuren, Estern, Kohlenwasserstoffen und Aldehyden befreite Harz wird mit Kali versetzt und nach Zusatz von Kalistücken auf freiem Feuer eingedampft. Es scheiden sich besonders nach Zusatz einiger Tropfen Äther reichlich Nadeln einer farblosen Verbindung ab, die als Kalisalz eines Harzalkohols des Benzoresinols erkannt wurde. Aus der braunen Lauge wird zunächst mittels Salzsäure das rohe Benzoresinotannol gefällt und da dies noch Benzoresinol enthält von diesem mittels konz. alkoholischer Kalilauge getrennt: es fällt Benzoresinotannolkalium aus, das mit Salzsäure zerlegt freies Benzoresinotannol, das ebenfalls ein Harzalkohol ist, liefert. Auch mittels Kalk kann man eine Rohtrennung der beiden Harzalkohole bewirken, da der Benzoresinotannolkalk in Alkohol unlöslich ist.“

Um festzustellen, welche Säuren mit den Harzalkoholen verbunden waren, wird zunächst ein Reinharz dargestellt, indem das Harz wiederholt in Äther gelöst und mit Petroläther gefällt und zuletzt in ätherischer Lösung mit 1 proz. Sodalösung ausgeschüttelt wird. Einige Gramm des Reinharzes werden mit Kalilauge verseift und die Flüssigkeit mit Salzsäure schwach angesäuert. Außer den Harzalkoholen scheiden sich die Säuren (krystallinisch) ab und können durch Auswaschen mit heißem Wasser von den Alkoholen getrennt werden.

3. Untersuchung eines Umbelliferenharzes (Ammoniakum), dessen Harz neben freier Säure aus Resin und Resen besteht.

Das Harz wird mit Äther ausgezogen, der Rückstand von der Ätherextraktion mit Wasser behandelt. Das Gummi geht in Lösung.

Das durch Verdunsten der ätherischen Lösung resultierende Harz gibt an Wasser eine Säure (Salicylsäure) ab, die auch durch Ausziehen der Droge mit Wasser gewonnen werden kann. Mit Sulfitlauge kann kein Aldehyd aus der ätherischen Lösung gewonnen werden. Mit 5prozentiger Kalilauge ausgeschüttelt, gibt sie an letztere die Harzester ab, während im Äther ein Resen zurückbleibt, das von dem gleichfalls in Äther gelöst gebliebenen ätherischen Öl nach der Abdunstung des Äthers durch Destillation

mit Wasserdampf befreit wird. Das in der Kalilauge gelöste Harz wird mit Salzsäure ausgefällt und mit Kalilauge wie gewöhnlich verseift. Nach der Zersetzung der Verseifungslauge durch Salzsäure resultieren einerseits Buttersäure, Baldriansäure und Salicylsäure, andererseits Resinotannol, das durch Fällung seiner alkoholischen Lösung durch Salzsäure von Aschenbestandteilen befreit wird.

4. Untersuchung eines zwei verschiedene Resene und Resinotannol enthaltenden Harzes (Burseraceen-*Opopanax*).

Das Rohharz wird mit Petroläther, Äther und Alkohol nacheinander erschöpft. Im Petroläther lösen sich Harzbestandteile neben ätherischem Öl, das wie gewöhnlich durch Abdestillieren mit Wasserdampf von dem Harz getrennt wird. Letzteres wird in Äther gelöst und die ätherische Lösung mit Petroläther gefällt. Der Niederschlag ist β -Panaxresen; gelöst bleibt α -Panaxresen. Die Reinigung der Resene erfolgt durch Fällen ihrer alkoholischen Lösung durch salzsäurehaltiges Wasser. β -Panaxresen findet sich auch in dem ätherischen Auszug, der neben etwas ätherischem Öl noch einen anderen Harzbestandteil enthält. Dieser kann durch Ammoniak extrahiert und aus der ammoniakalischen Lösung durch salzsäurehaltiges Wasser niedergeschlagen werden. Er ist ein Resinotannol, der auch noch aus dem Rohharz gewonnen wird, wenn die mit Petroläther und Äther ausgezogene Droge mit Alkohol behandelt und dieser mit salzsäurehaltigem Wasser versetzt wird.

5. Zuletzt sei noch die Untersuchung des Palmendrachenbluts eines weder freie Säuren noch Aldehyde enthaltenden Harzes, skizziert, die dadurch interessant ist, daß die Isolierung seiner Bestandteile lediglich mit indifferenten Lösungsmitteln vorgenommen wird.

Das Harz wird in Äther gelöst. Als Rückstand bleibt ein brauner in Weingeist löslicher Körper. Die ätherische Lösung wird durch Weingeist gefällt. Fällung *Dracoalban*. Das Filtrat wird abgedunstet und der Rückstand mit Petroläther ausgezogen. Das *Dracoresen* geht in Lösung, während das *Dracoresin* ungelöst zurückbleibt.

Der schwächste Punkt der Tschirchschen Verfahren ist, wie auch Tschirch (46) inzwischen selbst erkannt hat, die lange Behandlung der Reinharze mit Alkalien zwecks Verseifung, da dadurch die ursprünglich vorhandenen Stoffe weitgehend verändert werden können. Ferner ist auf Folgendes aufmerksam zu machen: 1) Eine Verseifung kann auch bei Stoffen von der Art der Etholide (s. S. 58) erfolgen. 2) Alkohol und Säure entstehen durch

Alkalien auch aus aromatischen Aldehyden (Reaktion von Canizaro). 3) Der Begriff der Resinotannole ist zweifelhaft geworden. Die Untersuchung der Harze wird also künftig andere Wege einschlagen müssen. Das Hauptgewicht wird darauf gelegt werden müssen, die Hauptbestandteile durch Anwendung möglichst indifferenten Mittel voneinander zu trennen. Als neueres Beispiel eines derartigen Verfahrens sei die Untersuchung von F. Reinitzer genannt, dem es nur durch Anwendung von Äther und Petroläther gelang, aus Siambenzoe das krystallinische Lubanollenzoat zu isolieren (47).

Gerbstoffe.

Die Reindarstellung von Gerbstoffen ist aus verschiedenen Gründen mit großen Schwierigkeiten verknüpft: Sie sind meistens amorph und geben keine krystallinischen Verbindungen; sie zersetzen sich unter dem Einfluß von Reagentien, besonders Alkalien leicht.

Manche Gerbstoffe, z. B. die Chinagerbsäure, sind sehr sauerstoffempfindlich; und man muß deshalb bei ihrer Darstellung in O-freier Atmosphäre (N, CO₂) arbeiten.

Dazu kommt, daß sie meistens in den Pflanzen von Enzymen begleitet sind, welche sie zersetzen. Es ist deshalb nötig, das Ausgangsmaterial dadurch zu sterilisieren, daß man es in kleinen Mengen in die siedenden Flüssigkeiten einträgt, mit denen man sie ausziehen will. Auch von Enzymen der Schimmelpilze und Bakterien werden die Gerbstoffe angegriffen. Es ist also nötig, aseptisch zu arbeiten oder die wässerigen Auszüge und Lösungen durch ein Antiseptikum (Toluol, Chloroform) zu schützen.

Außerdem findet sich in manchen Pflanzen mehr als ein Gerbstoff. Zur Trennung zweier Gerbstoffe voneinander fehlt es an allgemein anwendbaren Methoden.

Die gewöhnlich zur Extraktion der Gerbstoffe aus den Rohmaterialien benutzten Lösungsmittel sind: Ätherweingeist, starker oder verdünnter Weingeist, Wasser, Essigäther und Methylalkohol.

Bei Anwendung von Ätherweingeist benützt man ein Gemenge von 4 Teilen Äther und einem Teile Weingeist. Den Auszug schüttelt man (am besten in einem Scheidetrichter) mit dem dritten Teil (des Volumens) Wasser aus. Das Wasser nimmt den größten Teil des Gerbstoffes auf. Man schüttelt die wässrige Lösung zur Reinigung einigemal mit Äther aus und dampft nun entweder zur Trockne ein oder reinigt die Flüssigkeit weiter. Das Ein-

dampfen darf nur im Vakuum geschehen. Den gereinigten Gerbstoff dampft man auch im Vakuum nicht zur Trockne ein, sondern nur zur Extraktkonsistenz. Das Extrakt streicht man in dünner Schicht auf Platten auf und trocknet im Vakuum über Schwefelsäure zu Ende.

Hatte man zur Trockne gedampft, so löst man den Rückstand in wenig Alkohol und fällt fraktioniert mit Äther. Durch Wiederholung dieser Operation gelangt man hier und da zu reinem Gerbstoff. Eine weitere Reinigung des auf diese Weise dargestellten Gerbstoffs kann nach den unten beschriebenen Methoden erfolgen. Erwähnt sei, daß man Gerbstoff auch aus methylalkoholischer Lösung durch Äther fällen kann. Dieselben Methoden, die man hier zur Weiterverarbeitung der aus dem Ätherweingeist gewonnenen wässerigen Lösung benützt, kann man auch bei der wässerigen Gerbstofflösung anwenden, die man durch Ausziehen des Rohmaterials mit Wasser erhält.

Weitere Reinigungsmethoden sind:

1. Die Fällung mit Kochsalz und nachfolgend Ausschüttelung mit Essigäther oder Aceton.
2. Die Fällung durch Verbindungen der Metalle und Wiedergewinnung des Gerbstoffs durch Zersetzung derselben.

Die Fällung mit Kochsalz usw. hat Löwe (48) empfohlen. Er löst den Gerbstoff in einer nicht völlig gesättigten Kochsalzlösung, filtriert von den abgeschiedenen Verunreinigungen ab und bringt dann durch Zusatz von Kochsalz die Gerbsäure zur Abscheidung. Die Operation wird wiederholt, die Gerbsäure zuletzt in einer Mischung von einem Volumen gesättigter Kochsalzlösung und zwei Volumina Wasser aufgelöst und daraus mit Essigäther ausgeschüttelt. Es ist übrigens nicht nötig, den Gerbstoff aus der wässerigen Lösung erst durch Abdampfen zu gewinnen, sondern man kann die fraktionierte Fällung mit Kochsalz unmittelbar in der wässerigen Lösung vornehmen. Es dürfte sich dabei folgende Modifikation des Verfahrens anwenden lassen. Man bringt aus der wässerigen Lösung einen kleinen Teil der Gerbsäure und etwaige Verunreinigungen durch unvollständigen Zusatz von Kochsalz zum Ausfällen, filtriert davon ab und schüttelt den Auszug mehrmals mit Äther aus. Die ätherische Flüssigkeit ist besonders auf Gallussäure und ähnliche Spaltungsprodukte von Gerbstoffen zu untersuchen, welche häufig neben den Gerbstoffen sich in den Auszügen vorfinden. Zur wässerigen Flüssigkeit gibt man Kochsalz bis zur Sättigung hinzu und schüttelt dann mit Essigäther aus. Das Eindampfen der Essigätherlösungen erfolgt unter den oben für die wässrige Lösung angegebenen Vorsichtsmaßregeln.

Die zur Fällung der Gerbstoffe seither meist verwendeten Schwermetallverbindungen waren neutrales oder basisch essig-saures Blei und Kupferacetat. Die Verwendung von Acetaten ist jedoch mit einigen Unannehmlichkeiten verknüpft. Die bei der Fällung freiwerdende Essigsäure kann einen (wenn auch kleinen) Teil der Gerbstoff-Schwermetall-Verbindung in Lösung halten und auf den noch nicht zur Fällung gelangten Teil der Gerbstoffe verändernd einwirken. Außerdem ist sie bei der weiteren Untersuchung meist hinderlich. Man kann deshalb an Stelle der Bleiacetate Bleihydroxyd oder frischgefälltes Bleicarbonat verwenden; doch greift ersteres die Gerbstoffe wegen seiner basischen Eigenschaften etwas an. Die besten Erfahrungen habe ich mit der Verwendung des Kupfercarbonats gemacht. Auch Kupferhydroxyd ist zur Fällung verwendbar; doch ist das Carbonat vorzuziehen, weil Kupferhydroxyd unlösliche Verbindungen mit einigen Substanzen bildet, welche durch das Carbonat nicht gefällt werden. Man kann sich zur Fällung des trockenen (käuflichen) Kupfercarbonats bedienen. Rascher und vollständiger wirkt das amorphe Carbonat, das man durch Fällung der kalten Lösung eines Kupfersalzes mit Alkalicarbonat erhält. Die Fällung mit Kupfercarbonat nimmt man ebenfalls fraktioniert vor, mindestens in 3 Fraktionen und vergleicht die Eigenschaften der aus den einzelnen Fraktionen gewonnenen Gerbstoffe miteinander.

Die Niederschläge, die man durch Blei- oder Kupferverbindungen mit den Gerbstoffen erhalten hat, verteilt man nach dem Auswaschen fein in Wasser und zersetzt sie entweder mit Schwefelwasserstoff oder mit einer zur völligen Zersetzung nicht genügenden Menge verdünnter Salz- oder Schwefelsäure und schüttelt mit Essigäther aus.

K. Freudenberg und G. Uthemann verwenden zur Fällung von Gerbstoffen eine wässrige Lösung von Thalliumbicarbonat. Die Niederschläge werden in einem Gemisch von Aceton und Wasser¹⁾ mit verdünnter Salzsäure zerlegt. Das Thalliumchlorid ist in diesem Gemisch unlöslich und kann abfiltriert werden.

Die Trennung zweier Gerbstoffe voneinander gelingt wohl selten durch fraktionierte Fällung, eher durch ihr verschiedenes Verhalten gegen Lösungsmittel, wie wenn z. B. der eine Gerbstoff aus weingeistiger Lösung durch Äther gefällt wird, der andere in der Mischung von Weingeist und Äther gelöst bleibt.

¹⁾ Die Angabe von Freudenberg lautet wässriges Aceton (1 : 2 Vol.); K. Freudenberg: Die Chemie der natürlichen Gerbstoffe. S. 33.

Der Nachweis zweier Gerbstoffe nebeneinander kann auch geliefert werden, selbst wenn eine Trennung derselben nicht gelingt, indem man den einen derselben zersetzt. Auf diese Weise hat Zöllfel (49) den Nachweis geliefert, daß in den Früchten von *Caesalpinia brevifolia* und den Myrobalanen zwei Gerbstoffe enthalten sind, deren einen er durch Kochen mit verdünnter Schwefelsäure zersetzte. Die als Spaltungsprodukt gebildete Gallussäure wurde aus der filtrierten Flüssigkeit durch Ausschütteln mit Äther entfernt, die Schwefelsäure mit Baryt gefällt und der übrig gebliebene Gerbstoff nach der Bleiacetatmethode isoliert. Ein als Gerbstoff anzusprechender Stoff soll etwa folgende Reaktionen geben:

1. Fällungen mit Gelatine und Alkaloiden.
2. Blaue oder grüne Färbung mit Ferrisalzen.
3. Mit Kaliumdichromat braune Färbung oder Fällung.
4. Farbenreaktionen geben u. a. noch Uranylacetat (rotbraun), Ammoniumvanadinat (blau oder grün), Ammonmolybdat (mit Gallussäure rot).

Phloroglucingerbstoffe geben Rötung mit Vanillinsalzsäure. Alle isolierten Gerbstoffe sind darauf zu prüfen, ob sie nicht Glykoside sind (s. S. 12).

Gerbstoffe, die analysiert werden sollen, müssen, wenn sie mit organischen Lösungsmitteln in Berührung waren, zu deren vollständiger Entfernung in Wasser gelöst und davon im Vakuum, zuletzt im Hochvakuum befreit werden (Freudenberg).

Die zur quantitativen Bestimmung von Gerbstoff ausgebildeten Verfahren beziehen sich meist nur auf Gallusgerbsäure und sind deshalb nicht allgemein verwendbar. Das gewichtsanalytische Verfahren von Schröder (50) kann bei allen Gerbstoffen angewendet werden.

Man zieht etwa 25 g des pulverisierten Pflanzenteils erst durch halbstündiges Kochen mit 500 g Wasser aus und erschöpft den Rückstand vollends in einem Perkolationsapparat, so daß 1 l Flüssigkeit resultiert.

„100 ccm der Gerbstofflösung dampft man in einem Platinschälchen im Wasserbad zur Trockne ein, trocknet den Rückstand bei 100° C bis zum konstanten Gewicht und wägt: Gesamtmenge der löslichen Stoffe (G). — Hierauf äschert man diesen Verdampfungsrückstand ein und ermittelt die Aschenmenge (A). G-A ergibt dann die Menge der gelösten organischen Stoffe in 100 ccm Gerbstofflösung (O). Hierauf digeriert man 200 ccm der Gerbstofflösung 1 Stunde lang mit 10 g Hautpulver unter häufigem Umschwenken, preßt die Masse alsdann durch ein Leinenfilter ab

und behandelt das Filtrat noch 24 Stunden lang mit 4 g Hautpulver¹⁾. Von der filtrierten Flüssigkeit werden hierauf 100 ccm im Wasserbad verdampft, der Rückstand bei 100° C bis zum konstanten Gewicht getrocknet und gewogen. Alsdann äschert man denselben ein und zieht das Gewicht der Asche davon ab. Auf diese Weise ergibt sich die Menge der in 100 ccm Gerbstofflösung enthaltenen Nichtgerbstoffe (N). Hiervon ist jedoch noch die geringe Menge der aus dem Hautpulver gelösten organischen Stoffe, die durch einen direkten, unter den gleichen Bedingungen auszuführenden Versuch zu ermitteln ist, in Abzug zu bringen. Die Menge des in 100 ccm Gerbstofflösung enthaltenen wirklichen Gerbstoffs ergibt sich schließlich als O-N.“

Man kann zur Gerbstoffbestimmung auch das Verfahren nach Löwenthal- von Schröder (51) benützen, wenn man vorher das Verhalten des reinen Gerbstoffs gegen Kaliumpermanganat unter den Bedingungen dieses Verfahrens ermittelt hat.

Hat sich der Gerbstoff als Gallusgerbsäure erwiesen, so kommt noch das Verfahren von Ruöß (52) in Betracht.

Über den biologischen Nachweis und die Bewertung von Gerbstoffen (durch Agglutination von Blutkörperchen) s. R. Kobert, Ber. d. dtsh. pharmazeut. Ges. Bd. 24, S. 470 (1914).

Über Gerbstoffbestimmung in Drogen s. a. Schulte, Pharmaz. Ztg. Bd. 67, S. 497 (1922).

Über die Trennung der Gerbstoffe von den Pflanzensäuren s. S. 74.

Phlobaphene.

In naher Beziehung zu den Gerbstoffen stehen die Phlobaphene, ihre Zersetzungsprodukte. Für sich allein sind sie in Wasser unlöslich, können aber bei gleichzeitiger Gegenwart anderer Körper besonders von Gerbstoffen in wässrige Lösung übergehen. Dampft man die wässrige Lösung zur Trockne (im Vakuum!) und nimmt mit absolutem Weingeist auf, so bleiben die Phlobaphene ungelöst. Durch Auflösen in Alkalien und Ausfällen mit Säuren können sie gereinigt werden. Man untersuche auch sie auf glykosidische Beschaffenheit.

Organische Säuren.

Die im Laufe der Voruntersuchung gefundenen Tatsachen müssen die Grundlagen auch zur Darstellung der organischen

¹⁾ Man überzeuge sich durch Prüfung der filtrierten Flüssigkeit mit einem Gerbstoffreagens (s. S. 71), daß aller Gerbstoff ausgefällt ist; wenn nicht, gebe man noch Hautpulver hinzu.

Säuren abgeben. Man wird in der Lage gewesen sein festzustellen, ob die Säuren frei oder gebunden vorhanden sind und ob sie im letzteren Falle als Alkalisalze oder als Salze von Erdalkalien vorkommen, weiterhin, ob sie in irgendeinem Stadium der Untersuchung leicht abzuscheiden sind, oder ob man sie besonders ausziehen muß. Letzteres wird hauptsächlich dann eintreten müssen, wenn die Säuren einen vorwiegenden und charakteristischen Bestandteil der Droge darstellen.

Die meisten Säuren gehen in Lösung, wenn man die Droge mit salzsäurehaltigem Wasser oder ebenso angesäuertem Weingeist auskocht. Für die weitere Untersuchung (besonders auf bereits bekannte Säuren) führt man durch Neutralisation mit Natriumcarbonat die Säuren in ihre Natronsalze über, nachdem man evtl. den Weingeist durch Abdampfen vertrieben hat). Tritt auf Zusatz von Natriumcarbonat zu der wässrigen Lösung ein Niederschlag ein (z. B. von Calciumcarbonat), so kocht man eine Viertelstunde (bei größeren Mengen länger) mit der überschüssigen Sodalösung und neutralisiert dann mit Salzsäure. Aus dieser Lösung werden durch Bleiacetat viele organische Säuren niedergeschlagen und können durch Zersetzung der Bleiverbindungen mit Schwefelwasserstoff gewonnen werden. Für die Trennung der häufiger vorkommenden organischen Säuren sind verschiedene Methoden ausgearbeitet worden, die meist auf dem Verhalten der Säuren gegen Blei-, Kalk- oder Barytsalze beruhen. Hat man nach obigem Verfahren eine wässrige Lösung der neutralen Alkalisalze, so fällt man¹⁾ nach E. Fleischer (53) zur Abscheidung von Weinsäure, Citronensäure, Äpfelsäure und Oxalsäure zunächst mit Bleiacetat. Der Niederschlag, der außer den Bleisalzen der genannten organischen Säuren Bleisalze der Schwefelsäure, Salzsäure und Phosphorsäure enthalten kann, wird mit 50 prozentigem Weingeist ausgewaschen und dann mit Ammoniak übergossen. Das Filtrat enthält von den genannten organischen Säuren die Weinsäure, Citronensäure und Äpfelsäure. Man setzt Schwefelammonium hinzu und säuert mit Essigsäure an. In der vom Schwefelblei abgetrennten Flüssigkeit finden sich die freien Säuren. Man konzentriert die Flüssigkeit, wenn nötig, setzt eine genügende Menge essigsäuren Kaliums (in wässriger Lösung) hinzu und bringt durch Zusatz von 95 prozentigem Weingeist (die doppelte Menge der wässrigen Lösung) die Weinsäure als Weinstein zur Abscheidung, was durch starkes Umrühren beschleunigt wird. Nach

¹⁾ Hat man mit Wasser ausgezogen, so schlägt man bei Anwesenheit schleimiger Substanzen diese erst durch Zufügung eines der Flüssigkeit gleichen Volumens Weingeist nieder.

1 Stunde gießt man die Flüssigkeit ab und wäscht den zurückbleibenden Weinstein mit einer Mischung von 2 Teilen Weingeist und 1 Teil Wasser. Fügt man zu der vom Weinstein abfiltrierten Flüssigkeit Chlorcalcium, Ammoniak und etwas Weingeist, so fallen die Kalksalze der Äpfelsäure und Citronensäure aus. Durch Auswaschen mit heißem Kalkwasser trennt man das äpfelsaure Calcium von dem citronensauren, das ungelöst zurückbleibt.

Den in Ammoniak nicht löslichen Teil des Bleiniederschlags zersetzt man mit Schwefelwasserstoff. Zu den freien Säuren gibt man eine genügende Menge essigsaurer Natrons oder man neutralisiert mit kohlensaurem Natron und säuert mit Essigsäure an. Dann fällt man die Oxalsäure mit gesättigter Calciumsulfatlösung als oxalsaures Calcium.

Aus allen erhaltenen Niederschlägen stellt man sich die freien Säuren her und untersucht diese auf das genaueste nicht nur durch die Identitätsreaktionen, sondern möglichst auch durch Elementaranalyse oder Molekulargewichtsbestimmungen, da es nur auf diese Weise möglich ist evtl. vorhandene neue, die gleichen Fällungsreaktionen wie die bekannten Säuren gebende organische Säuren in Gegenwart der anderen nachzuweisen. Zur Isolierung der organischen Säuren aus ihren Salzen behandelt man die Bleisalze mit Schwefelwasserstoff, die übrigen mit Schwefelsäure oder man führt sie ebenfalls erst in Bleisalze über. So kann man den Weinstein in heißem Wasser lösen, die Weinsäure wieder mit Bleiacetat ausfällen usw.

Schlägt man das Fleischersche Verfahren ein, so sind Gerbstoffe, die ja gleichfalls Niederschläge mit Bleiacetat geben, vor der Bleiacetatfällung zu entfernen. Dies kann durch Ausschütteln der Lösung mit Essigäther und durch Behandlung mit Hautpulver oder Leimlösung erfolgen. Ebenso können sie durch Fälln mit Alkaloiden oder Antipyrin entfernt werden. Durch Ausschütteln mit Essigäther läßt sich auch Gallussäure, die als Spaltungsprodukt von Gerbstoffen vorkommen kann (besonders nach der Behandlung mit Säuren) entfernen.

Zur Entfernung von Gerbstoffen und vielen anderen störenden Stoffen kann man auch die „gewachsene Tonerde“ von H. Wislicenus (zu beziehen von E. Merck-Darmstadt) benutzen.

Zur Isolierung von Bernsteinsäure kann man unter Benutzung eines für Bestimmung der Bernsteinsäure in Wein ausgearbeiteten Verfahrens von v. d. Heide und Steiner (54) in folgender Weise vorgehen: 50 ccm weingeistfreie Flüssigkeit werden mit 1 ccm 10 proz. Bariumchloridlösung und nach Zusatz von 1 Tropfen weingeistiger Phenolphthaleinlösung mit feingepul-

vertem Bariumhydroxyd in kleinen Anteilen bis zur Rotfärbung versetzt. Währenddem engt man möglichst genau auf 20 ccm ein. Nach dem Erkalten werden unter eifrigem Umrühren 85 ccm 96proz. Weingeist zugegeben. Hierdurch werden neben anderen Bestandteilen die Bariumsalze der Bernstein-, Wein- und Äpfelsäure niedergeschlagen, während die der Milchsäure und Essigsäure in Lösung bleiben. Nach mindestens 2stündigem Stehen wird der Niederschlag abfiltriert und einige Male mit 80proz. Weingeist ausgewaschen. Der Niederschlag wird mit heißem Wasser in die Abdampfschale zurückgebracht. Der Schaleninhalt wird zur vollständigen Entfernung des Weingeistes auf dem siedenden Wasserbad eingeengt und alsdann unter gleichzeitigem weiteren Erhitzen mit je 3—5 ccm 5proz. Kaliumpermanganatlösung so lange versetzt, bis die rote Farbe 5 Minuten bestehen bleibt. Man gibt jetzt nochmals 5 ccm der Kaliumpermanganatlösung hinzu und läßt weitere 15 Minuten einwirken. Bei einem etwaigen abermaligen Verschwinden der Rotfärbung ist diese letzte Operation zu wiederholen. Ist die Oxydation beendet, so zerstört man den Überschuß an Permanganat durch schweflige Säure. Nach dem Verschwinden der Rotfärbung säuert man vorsichtig mit 25proz. Schwefelsäure an und fährt dann fort, schweflige Säure zuzusetzen, bis auch der Braunstein gelöst ist. Man dampft dann auf 30 ccm ein, sorgt durch Zusatz von 40prozentiger Schwefelsäure dafür, daß die Flüssigkeit etwa 10% freie Schwefelsäure enthält und äthert aus, am besten in einem Perforationsapparat. In den Äther geht jetzt nur die Bernsteinsäure — Wein- und Äpfelsäure werden durch die Behandlung mit Permanganat zerstört — und kann durch Verdunsten des Äthers gewonnen werden.

Unter den Identitätsreaktionen, welche man mit den isolierten Säuren oder ihren durch Neutralisation mit Alkalicarbonat herzustellenden neutralen Alkalisalzen anstellen kann, seien folgende hervorgehoben:

1. Auf Citronensäure:

a) Mit Kalkwasser gibt sie erst beim Erhitzen eine Fällung, die sich beim Erkalten wieder löst.

b) Man löst eine kleine Menge der Säure in wenig Wasser, gibt einige Tropfen $\frac{n}{10}$ -Permanganatlösung hinzu und erwärmt vorsichtig (auf etwa 30°). Hat sich die Flüssigkeit braun gefärbt oder hat sich ein Niederschlag von Mangansuperoxydhydrat gebildet, so fügt man einige Tropfen Ammoniumoxalatlösung und dann ca. 10 ccm 10proz. Schwefelsäure hinzu. Gibt man zu der jetzt entfärbten klaren Flüssigkeit einige Tropfen Bromwasser,

so tritt bei Gegenwart von Citronensäure eine Trübung von Pentabromaceton auf (Stahres Reaktion) (55).

c) Versetzt man die Lösung der Säure mit ca. $\frac{1}{20}$ Volumen einer Lösung von schwefelsaurem Quecksilberoxyd¹⁾, erhitzt zum Sieden und fügt dann einige Tropfen $\frac{1}{10}$ -Permanganatlösung zu, so tritt ebenfalls bei Gegenwart von Citronensäure (aber auch von Ketonsäuren) eine weiße Fällung ein. (Reaktion von Denigès) (56).

2. Auf Weinsäure.

a) Der in der Lösung des neutralen Salzes mit Silbernitrat entstehende Niederschlag schwärzt sich beim Erhitzen.

b) Setzt man Weinsäure zu einem vorher (auf 125–130°) erhitzten Gemisch von Resorcin und konzentrierter Schwefelsäure, so tritt eine rötliche Färbung ein. (Reaktion von Mohler) (57).

c) Erhitzt man die Lösung eines neutralen Tartrats und läßt Eisenchloridlösung zutropfen, so tritt ein gelber Niederschlag auf (58).

3. Auf Äpfelsäure:

a) Gibt man zu ihrer Lösung den zehnten Teil einer 5proz. Quecksilberacetatlösung und 1 ccm Essigsäure, filtriert, erhitzt zum Sieden und läßt dann tropfenweise eine 2proz. Kaliumpermanganatlösung zufließen, so entsteht ein weißer Niederschlag, die Quecksilberverbindung der Oxalessigsäure (Reaktion von Denigès) (59).

b) Palladiumchlorid wird reduziert (60), wenn man es mit der neutralen oder schwachalkalischen Lösung eines äpfelsauren Salzes zum Sieden erhitzt.

c) Beim Erhitzen der Äpfelsäure auf 150–200° geht sie in Fumar- und Maleinsäure über. Die Krystalle der Fumarsäure sind durch ihre Schwerlöslichkeit in Wasser ausgezeichnet.

4. Auf Oxalsäure:

a) Sie und ihre neutralen Salze geben mit schwefelsaurem Eisenoxydul einen Niederschlag von oxalsaurem Eisenoxydul.

b) Eisenchlorid gibt mit überschüssiger Oxalsäure eine grüne Färbung (58).

c) Mit konzentrierter Schwefelsäure erhitzt zerfällt Oxalsäure ohne Verkohlung (Schwärzung) in Kohlenoxyd, Kohlendioxyd und Wasser.

d) Oxalate geben mit Chlorcalcium einen in Essigsäure unlöslichen Niederschlag von Calciumoxalat.

¹⁾ Man löst 5 g Quecksilberoxyd in 20 ccm konzentrierter Schwefelsäure und verdünnt mit 100 ccm Wasser.

5. Auf Bernsteinsäure:

Die Bernsteinsäure schmilzt bei 185° und sublimiert leicht.

a) Die Succinate geben mit Ferrisalzen einen braunen Niederschlag, mit Chlorcalcium nur in konzentrierter Lösung, mit Bariumhydroxyd und Bariumchlorid auch in verdünnter.

b) Bernsteinsaures Ammonium (aus Bernsteinsäure und Ammoniak durch Eindampfen zur Trockne) gibt erhitzt Dämpfe von Pyrrol, welche eine mit starker Salzsäure befeuchtetes Streichholz rot färben.

Nachweis der Chlorogensäure (60).

Die Pflanzen oder Pflanzenteile werden mit der 5–10fachen Menge 10proz. Schwefelsäure mindestens 1 Stunde lang gekocht. Die Lösung wird filtriert und nach dem Erkalten zweimal mit dem gleichen Volum Äther ausgeschüttelt. Die vereinigten ätherischen Lösungen werden mit $\frac{1}{4}$ ihres Volumens Wasser geschüttelt. Dann destilliert man den Äther ab und stellt mit dem Rückstand folgende Reaktionen an:

1. Ein wenig des Rückstandes wird in sehr viel Wasser gelöst, so daß man etwa eine Lösung 1 : 50000 erhält. Zu einem Teil der Lösung setzt man 2 Tropfen verdünnte Eisenchloridlösung (1 Teil officinelle Eisenchloridlösung + 99 Teile Wasser), und dann 2 bis 3 Tropfen 1proz. Sodalösung (Überschuß vermeiden!). Es entsteht eine bleibende Blaufärbung.

2. Fügt man zu einem anderen Teil der Lösung 1 : 50000 einige Tropfen 10proz. Natronlauge, so tritt allmählich eine Rosafärbung auf, die nach 1–2 Minuten ihr Maximum erreicht und dann durch Ansäuern gelb wird. In weniger stark verdünnten Lösungen tritt statt der Rosafärbung eine Dunkelrotfärbung ein.

Diese Reaktionen rühren von Zersetzungsprodukten der Kaffeesäure¹⁾ her. Den

Nachweis der Kaffeesäure

kann man in folgender Weise vornehmen:

Die getrocknete gepulverte Pflanze wird mit der zehnfachen Menge 80proz. Weingeist ausgekocht. Man filtriert heiß, destilliert den Weingeist ab, nimmt den Rückstand mit ebensoviel kochendem Wasser auf, als man Pflanzenmaterial angewandt hatte und schüttelt die noch warme Flüssigkeit 2 mal mit ihrem gleichen Volumen Äther aus. Die abgetrennte wässrige Flüssigkeit

¹⁾ Chlorogensäure zerfällt durch Hydrolyse in Kaffeesäure und Chinasäure.

wird mit 5–10 Teilen Wasser verdünnt, wenn nötig filtriert und mit Bleiacetat gefällt. Der Bleiniederschlag wird abfiltriert und gewaschen und dann mit 10 prozentiger kalter Schwefelsäure zersetzt. Das Filtrat, das jetzt unreine Chlorogensäure enthält, wird mit so viel 50 prozentiger Kalilauge versetzt, daß die Flüssigkeit 10% freies Ätzkali enthält. Man kocht $\frac{1}{2}$ Stunde, fügt zu der noch heißen Flüssigkeit vorsichtig 33 prozentige Schwefelsäure bis zur eben saueren Reaktion und schüttelt die erkaltete, aber noch lauwarme Flüssigkeit zweimal mit dem gleichen Volumen Äther aus. Der Äther wird abdestilliert und der Rückstand mit der dreißigfachen Menge kochenden Wassers aufgenommen. Nach Zusatz von ein wenig Tierkohle wird filtriert, worauf sich die Kaffeesäure krystallinisch ausscheidet. Sie kann durch Umkrystallisieren aus Wasser gereinigt werden. Sie schmilzt bei 209° . Die wässrige Lösung wird mit Eisenchlorid grün; setzt man dazu Soda, so entsteht erst eine blaue, dann eine rotviolette Färbung.

Nachweis und Trennung von Pflanzensäuren nach H. Franzen und Mitarbeitern (60a).

Die Auszüge oder Säfte werden zunächst mit Bleiacetatlösung und dann mit basischer Bleiacetatlösung gefällt. Die Niederschläge werden nach dem Abhebern der Flüssigkeit scharf abgesaugt und möglichst zusammengepreßt. Die Bleiniederschläge werden — hauptsächlich zur Entfernung von Zuckern und Inosit — möglichst fein in Wasser verteilt und bis zur Sättigung unter kräftigem Umschütteln mit Kohlendioxyd behandelt¹⁾. Das Verfahren wird wiederholt und die Filtrate mit dem ursprünglichen Filtrat vereinigt. Die Bleiniederschläge werden dann wieder in Wasser aufgeschlämmt und mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Die so erhaltene Lösung der Säuren wird im Vakuum zu einem dicken Sirup eingedampft und dieser zur Ausfällung der Pektinstoffe mit absolutem Weingeist versetzt. Das Filtrat wird wiederum zum dicken Sirup eingedampft und nochmals mit absolutem Weingeist behandelt. Fallen bei Wiederholung dieser Operation keine Pektinstoffe mehr aus, so setzt man zur weingeistigen Lösung so viel kaltgesättigte alkoholische Salzsäure, daß die Gesamtflüssigkeit 2,5% Chlorwasserstoff enthält und erhitzt 5 Stunden zum Sieden. Die Esterlösung wird im Vakuum zur Sirupsdicke eingedampft und der Rückstand mit Äther durchgeschüttelt. Die ätherische Lösung der Ester wird mit Pottaschelösung gewaschen und über entwässer-

¹⁾ Über eine dazu geeignete Schüttelmaschine s. H. Franzen: Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 122, S. 86 (1922).

tem Natriumsulfat getrocknet. Der Äther wird abdestilliert und der Rückstand im Vakuum der gebrochenen Destillation unterworfen.

Siedepunkte der in Betracht kommenden Äthylester:

Oxalsäurediäthylester:	74° (11 mm);	78° (15 mm);
Bernsteinsäurediäthylester:	96° (10 mm);	104—105° (15 mm);
Äpfelsäurediäthylester:	129,2—129,6° (12 mm);	
Weinsäurediäthylester:	148° (9 mm);	150° (11 mm);
Citronensäuretriäthylester:	169—170° (10 mm).	

Die Ester werden dann auf folgende Weise in die Hydrazide und dann in die Benzylidenverbindungen übergeführt:

„Eine bestimmte Menge Ester wird in dem dreifachen Volumen Alkohol gelöst und etwas mehr als die dem vermuteten Ester entsprechende Menge Hydrazinhydrat hinzugefügt. Die Mischung wird 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen und entstandene Krystallabscheidungen abgesaugt. Das Filtrat wird dann 2 Stunden zum Sieden erhitzt, 12 Stunden bei Zimmertemperatur gehalten und die eventuell abgeschiedenen Krystalle abgesaugt. Das Filtrat wird auf dem Wasserbade zur Trockene eingedampft, der Rückstand in Wasser aufgenommen, die Lösung mit einigen Tropfen verdünnter Salzsäure angesäuert und so lange in kleinen Mengen unter kräftigem Umschütteln Benzaldehyd hinzugefügt, bis sein Geruch bestehen bleibt. Die Benzylidenverbindung wird abgesaugt, getrocknet und zur Entfernung von Benzaldazin mit Äther behandelt und weiter gereinigt.“ Auf dieselbe Weise stellt man auch aus der wäßrigen Lösung der Hydrazide die Benzylidenverbindungen her.

Für Oxalsäuredihydrazid ist es charakteristisch, daß es auch aus verdünnter Lösung noch rasch (in 1—2 Minuten) ausfällt.

Schmelzpunkte

der Hydrazide:	der Benzylidenverbindungen:
Oxalsäuredihydrazid: 243—244; (Feine Blättchen);	
Bernsteinsäuredihydrazid: 167—168°; (Lange, flache Nadeln);	233—234°;
Äpfelsäuredihydrazid: 177—178°; (Wärzchen);	164°
Weinsäuredihydrazid: 183°; (Nadeln);	
Citronensäuretrihydrazid: 106—107°;	227°

Trennungen: 1. Oxalsäuredihydrazid von Bernsteinsäuredihydrazid. Man kocht mit einer zur Lösung des Bernsteinsäuredihydrazids ausreichenden Menge Weingeist¹⁾ und filtriert heiß; das Oxalsäuredihydrazid bleibt ungelöst;

2. Trennung des Äpfelsäuredihydrazids vom Bernsteinsäuredihydrazid. Man kocht mit einer zur Lösung des Bernsteinsäuredihydrazids genügenden Menge Weingeist¹⁾; das Ungelöste ist die Äpfelsäureverbindung²⁾. Oder man kocht die Benzylidenverbindungen mit Weingeist aus; die Äpfelsäureverbindung geht in Lösung.

3. Citronensäuretrihydrazid vom Äpfelsäuredihydrazid. Man kocht mit Weingeist aus, in welchem sich das Citronensäuretrihydrazid löst.

Das Filtrat von den Bleiniederschlägen wird zusammen mit den durch Behandlung mit Kohlensäure erhaltenen Flüssigkeiten mit Schwefelwasserstoff behandelt, das Filtrat konzentriert, mit Schwefelsäure angesäuert und ausgeäthert. Aus der nach dem Verdunsten des Äthers zurückbleibenden Masse kann sich noch Bernsteinsäure ausscheiden. Man saugt ab, verdünnt das Filtrat mit Wasser, schüttelt trübende Stoffe mit Benzol aus, dampft die wässrige Flüssigkeit zum Sirup ein und verestert, wie oben geschildert. In den ersten Fraktionen findet sich Milchsäureester (Siedepunkt 49—51° bei 10 mm Druck), die übrigen enthalten wieder dieselben Säuren, die auch durch Aufarbeitung des Bleiniederschlags gewonnen werden. Das Benzylidenmilchsäurehydrazid (feine farblose Nadelchen Schmelzpunkt 158—159°) läßt sich von der Bernsteinsäureverbindung durch heißen Methylalkohol trennen, in dem die Milchsäureverbindung sehr leicht, die Bernsteinsäureverbindung sehr schwer löslich ist. Man kann auch schon die Hydrazide durch Weingeist trennen, in dem das Milchsäurehydrazid sehr leicht löslich ist.

Die quantitative Bestimmung der organischen Säuren kann nach dem Fleischerschen Verfahren s. S. 73 erfolgen. Die Menge des abgeschiedenen Weinsteins kann durch Titration mit Normalalkali bestimmt werden. Das citronensaure Calcium wird durch Auflösen in Essigsäure und Fällen mit Bleiacetat in das Bleisalz übergeführt, dieses mit 50 proz. Weingeist ausgewaschen, in Wasser verteilt und mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Die frei-

¹⁾ 1 g Bernsteinsäuredihydrazid löst sich in 63 ccm siedendem Weingeist.

²⁾ 1 g Äpfelsäuredihydrazid löst sich in ungefähr 800 ccm siedendem Weingeist.

gemachte Citronensäure wird nach der Vertreibung des Schwefelwasserstoffs ebenfalls titriert.

Zur Bestimmung der Oxalsäure läßt Fleischer den in Ammoniak unlöslichen Teil des Bleiniederschlages mit Ätzkali übergießen, dann Schwefelammonium hinzufügen und nach Ansäuerung mit Essigsäure aufkochen und filtrieren. Das Filtrat wird mit Schwefelsäure versetzt und mit Kaliumpermanganat titriert. Auf die schon oben erwähnte Reduktion des Palladiumchlorids durch Äpfelsäure hat A. Hilger (61) eine Bestimmungsmethode ausgearbeitet. 1 g Äpfelsäure reduziert aus Palladiumchlorid 0,294 g Pd.

Zur Bestimmung von Bernsteinsäure verwendet man das Verfahren von v. d. Heide und Steiner (s. oben) und äthert die zuletzt erhaltene wässerige Flüssigkeit im Perforator 12 Stunden aus. Der Kolbeninhalt wird mit Hilfe von etwa 20 ccm Wasser in ein Becherglas übergeführt und der Äther durch Stehenlassen an einem warmen Orte verdunstet. Man neutralisiert hierauf unter Verwendung von Phenolphthalein mit einer völlig halogenfreien $\frac{n}{10}$ -Lauge, führt den Inhalt des Becherglases in ein 100 ccm Meßkölbchen über, versetzt mit einem Überschuß von $\frac{n}{10}$ -Silbernitratlösung und füllt unter tüchtigem Umschütteln bis zur Marke auf. Man filtriert und titriert 50 ccm des Filtrates in üblicher Weise mit $\frac{n}{10}$ -Rhodanmon. 1 ccm $\frac{n}{10}$ -Silbernitrat = 0,0059 g Bernsteinsäure.

Kohlenhydrate und verwandte Körper¹⁾.

Die große Gruppe der in diesem Kapitel zu behandelnden Stoffe läßt sich hinsichtlich ihres Verhaltens zu Lösungsmitteln in mehrere Abteilungen gliedern. Es sollen jedoch hier nur solche Körper erwähnt werden, deren Verbreitung im Pflanzenreich nicht auf wenige Pflanzen beschränkt ist.

I. In kaltem Wasser leicht löslich, löslich in heißem Weingeist: Dextrose (Glykose), Lävulose (Fructose), Rohrzucker, Maltose, Mannit, Inosit (Galaktose, Mannose, Arabinose, Xylose).

II. In kaltem Wasser leicht löslich, in Weingeist unlöslich: Gummi und ähnliche Substanzen.

III. In kaltem Wasser schwer löslich, in heißem leichter löslich, in Weingeist unlöslich: Pflanzenschleime, Pektinkörper, Bassorin, Glykogen, Inulin, Stärke, Xylan, Amyloid.

¹⁾ Allgemeine Reaktionen der Kohlenhydrate s. S. 12.

IV. In kaltem und heißem Wasser unlöslich, löslich in verdünnten Alkalien: Schwer lösliche Modifikationen des Gummi, Mannan, Pentosane, Hemicellulosen.

V. Unlöslich in Wasser und Weingeist, in Natronlauge nur teilweise löslich, unter Hydrolyse in verdünnten Säuren löslich: Oxycellulosen.

VI. In den erwähnten Lösungsmitteln unlöslich: Cellulose, Lignin¹⁾.

I. Von den eigentlichen Zuckerarten Glykose, Fructose, Rohrzucker und Maltose unterscheiden sich Inosit und Mannit schon dadurch, daß sie in Wasser schwerer löslich sind als jene. Der im Pflanzenreich weniger häufig vorkommende Inosit kann durch Bleiessig, mit dem er einen Niederschlag gibt, von den andern getrennt werden. Mannit läßt sich aus einer Mischung mit den genannten Zuckerarten durch Krystallisieren aus heißem Wasser oder Weingeist isolieren.

Diese Kohlenhydrate können aus den vorher mit Äther oder Petroläther behandelten Pflanzenteilen durch kaltes Wasser oder heißen verdünnten (ca. 50 proz.) Weingeist ausgezogen werden, wobei man, um Spaltungen zu vermeiden, für neutrale Reaktion der Flüssigkeit zu sorgen hat. Die konzentrierten (vom Weingeist durch Abdampfen befreiten) Flüssigkeiten reinigt man durch Fällen mit Bleiacetat, dampft nach der Entbleiung durch Schwefelwasserstoff und der bei Anwesenheit von Disacchariden nötigen Neutralisation der freigewordenen Essigsäure zur Trockne ein und extrahiert den Rückstand mit siedendem Äthyl- oder Methylalkohol. Aus den erkaltenden Alkoholen fallen die Zucker aus. Weitere Mengen derselben können durch Eindunsten der Lösungen, auch durch Fällung der Lösungen mit Äther gewonnen werden. Dabei ist zu bemerken, daß die Lävulose in Weingeist und Ätherweingeist beträchtlich leichter löslich ist, als die übrigen hier in Betracht kommenden Zuckerarten, so daß sie in stärkerem Maßstab als die anderen in den Mutterlaugen zu finden ist. Der so gewonnene Zucker wird durch Wiederholung dieser Operationen und Entfärbung mit Tierkohle weiter gereinigt. Einen Teil der erhaltenen wohl immer amorphen Ausscheidungen und Sirupe stellt man zur Krystallisation ins Vakuum über Schwefelsäure. Die Krystallisation der Zuckerarten erfolgt meistens nur sehr langsam. Rohrzucker, Dextrose und Maltose krystallisieren leichter als Lävulose.

Eine Orientierung über die etwa in den Sirupen vorhandenen Zuckerarten gestattet das Verfahren von Widtsoe und Tollens

¹⁾ Ein kleiner Teil der sog. Ligninsubstanz kann in Natronlauge löslich sein.

(62): Man bringt in den auf einem Objektglas befindlichen Sirup einige Kryställchen der aufzusuchenden Zuckerarten und beobachtet (am besten unter dem Mikroskop), ob die hineingebrachten Krystalle sich vermehren oder gar verschwinden. Im ersteren Falle war derselbe Zucker wie der hinzugefügte in dem Sirup vorhanden. Weitere Einblicke in die Zusammensetzung des Sirups gewährt sein Verhalten gegen Reagentien.

Wie man nichtreduzierenden Zucker neben reduzierenden nachweist, ist bereits (s. S. 9) angegeben worden. Fehling'sche Lösung (und analog zusammengesetzte alkalische Kupferlösungen) wird durch Glykose, Fructose und Maltose reduziert, durch Rohrzucker wenigstens bei einmaligem Aufkochen nicht. Maltose wird durch Kochen mit Fehling'scher Lösung zum Teil in Körper übergeführt, die nach dem Kochen mit Säuren wiederum imstande sind, alkalische Kupferlösungen zu reduzieren. Die Anwesenheit von Maltose neben den anderen Zuckerarten läßt sich durch ihr Verhalten gegen Kupferacetatlösung (Barfoedsches Reagens) und eine neutrale Lösung von basisch kohlen-saurem Kupfer in Seignettesalz ermitteln. Durch Glykose und Fructose wird das Barfoedsche Reagens beim Kochen reduziert. Die hierbei intakt gebliebene Maltose läßt man in neutraler Lösung auf das andere Reagens einwirken. Die Maltose bewirkt beim Kochen eine Reduktion desselben, während es durch Rohrzucker nicht verändert wird.

Gibt der zu untersuchende Zucker beim gelinden Erwärmen im Dampfbad mit Resorcin und Salzsäure eine rote Färbung, so enthält er Fructose oder einen mit Fructose verbundenen Körper. Die Reaktion ist nur beweisend, wenn ein gleichzeitig in derselben Weise mit Glykose angestellter Versuch negativ ausfällt.

Wird bei der Oxydation des Zuckers mit Salpetersäure Zuckersäure gebildet, so ist die Gegenwart von Glykose oder einem mit Glykose verbundenen Körper bewiesen¹⁾.

Man nimmt die Oxydation auf dem Wasserbade vor (63), indem man den Zucker mit Salpetersäure vom spez. Gewicht 1,15 eindampft. Die wässrige Lösung des Rückstands neutralisiert man genau in der Wärme mit kohlen-saurem Kali und bringt durch Eindampfen und Zusatz von Essigsäure das aus der Dextrose entstandene saure zuckersaure Kalium zur Abscheidung. Durch Umkrystallisieren wird es gereinigt. Zur weiteren Identifizierung der Zuckersäure stellt man ihr Silbersalz dar, indem

¹⁾ Wenigstens bei Abwesenheit von Glykuronsäure, die ebenfalls zu Zuckersäure oxydiert wird.

man die mit Ammoniak neutralisierte Lösung des sauren zuckersauren Kaliums mit einer Lösung von salpetersaurem Silber fällt.

Wenn Gemenge mehrerer Zuckerarten vorliegen, muß man versuchen, entweder die Zucker voneinander zu trennen oder charakteristische Derivate von ihnen darzustellen. Da aus einigen Zuckerderivaten die Zucker, aus denen sie entstanden sind, regeneriert werden können, so kann in einigen Fällen mit ihrer Hilfe eine Trennung der Zucker erzielt werden.

Eine Trennung des Rohrzuckers von anderen Zuckern läßt sich mit einer Lösung von Strontianhydrat (64) bewerkstelligen. Die weingeistige Lösung des Zuckergemenges wird $\frac{1}{2}$ Stunde mit einer heiß gesättigten wässrigen Strontianhydratlösung gekocht, der Niederschlag mit Weingeist abgewaschen und zwischen Filtrierpapier abgepreßt. Dann wird er mit heißer Strontianlösung $\frac{1}{2}$ Stunde gekocht und die Flüssigkeit heiß auf einem Wasserbadtrichter abfiltriert. Der zur Entfernung der Mutterlauge zwischen Fließpapier abgepreßte Rückstand wird in Wasser suspendiert durch Kohlensäure zersetzt. Die Flüssigkeit wird abgedampft, mit heißem Weingeist aufgenommen und zur Krystallisation der Verdunstung überlassen.

Aus einem Gemenge von Glykose, Fructose und Rohrzucker läßt sich der Rohrzucker isolieren (65), wenn man durch Kochen mit überschüssigem Kalkhydrat die beiden anderen Zucker zersetzt, die vollständig erkaltete Flüssigkeit abfiltriert, sie mit Kohlensäure zersetzt, mit Tierkohle reinigt, abdampft usw.

Zur Darstellung von Rohrzucker aus Pflanzen hat E. Winterstein folgendes Verfahren angewandt (66). Nach vorheriger Extraktion mit Äther wird mit der zehnfachen Menge 95proz. Weingeist unter Zusatz von Calciumcarbonat ausgekocht. Der filtrierte Auszug wird konzentriert, mit Wasser aufgenommen und 6 Tage mit einem geringen Überschuß von frisch hergestelltem Bleihydroxyd gerührt, wobei von Zeit zu Zeit etwas Aluminiumsulfatlösung hinzugegeben wird. Die Flüssigkeit wird von dem Niederschlag abgesogen, mit Schwefelwasserstoff behandelt und mit dem gleichen Raumteil Weingeist versetzt. Das Filtrat vom Schwefelblei wird im Vakuum eingedunstet und der Rückstand dreimal mit Methylalkohol in der Wärme ausgezogen. Von der bei der Abkühlung entstandenen Ausscheidung wird abgegossen und die klare Lösung mit Benzol, Aceton oder Toluol versetzt, bis starke Trübung eintritt. Die Flüssigkeit wird davon abgegossen und stehen gelassen, wobei sich der Rohrzucker krystallinisch abscheidet.

Glykose und Fructose kann man durch ihr Verhalten gegen Ätzkalk (67) trennen, mit dem Fructose eine in Wasser schwer lösliche, Glykose eine lösliche Verbindung bildet. Zu der etwa 10 proz. kalten Zuckerlösung gibt man so viel Kalkhydrat, daß etwa 6 Teile des letzteren auf 10 Teile Zucker kommen. Man schüttelt die Mischung so lange, bis die Kalk-Fructose-Verbindung sich abscheidet. Sowohl die Flüssigkeit als den von ihr abgetrennten Niederschlag zerlegt man mit Kohlensäure oder Oxalsäure, wodurch man aus jener durch Abdampfen usw. die Glykose, aus diesem die Fructose erhält.

Derivate, welche für die Aldehyd- oder Ketongruppen enthaltenden Zuckerarten (Glykose, Fructose, Maltose) besonders charakteristisch sind, entstehen aus ihnen durch Einwirkung von Phenylhydrazin und ähnlich zusammengesetzten Körpern. Mit Phenylhydrazin selbst geben die Zuckerarten in der Kälte die Phenylhydrazone, in der Hitze die Phenyllosazone, welche letztere in Wasser mehr oder minder schwerlösliche gelbgefärbte Krystalle darstellen.

Die Phenyllosazone entstehen, wenn man die Lösung des Zuckers mit salzsaurem Phenylhydrazin und essigsaurem Natron auf dem Wasserbad erwärmt. So entsteht das Phenylglykosazon (68), wenn man 1 Teil Glykose, 2 Teile salzsaures Phenylhydrazin, 3 Teile essigsaures Natron und 20 Teile Wasser in der angegebenen Weise behandelt. Durch Umkrystallisieren aus starkem oder verdünntem Weingeist lassen sie sich reinigen. Während das Osazon der Glykose und Fructose schon aus der heißen Flüssigkeit ausfällt, kann Maltosazon (bei nicht zu großer Konzentration) in der Wärme gelöst bleiben und scheidet sich erst beim Erkalten ab. Durch dieses Verhalten kann Maltosazon von den Osazonen der beiden anderen Zuckerarten getrennt werden. Der Schmelzpunkt des Maltosazons liegt bei 206° ; aus Glykose und Fructose entsteht das gleiche bei $204\text{--}205^{\circ}$ schmelzende Osazon.

Glykose kann neben Fructose durch Überführung in Zuckersäure und deren Silbersalz nachgewiesen werden. Man kann ferner die Fructose zerstören, indem man 50 ccm Zuckerlösung mit 10 ccm 5n-Salzsäure etwa 7 Stunden erhitzt. Die Glykose bleibt so fast unverändert.

Zum Nachweis der Glykose neben Fructose wird auch das durch Einwirkung von Diphenylhydrazin auf Glykose entstehende Hydrazone (69) (Schmp. 162°) benützt, ebenso das bei $171\text{--}172^{\circ}$ schmelzende Glykosebenzhydrazid (70), welches sich bildet, wenn beide Komponenten in Gegenwart von Weingeist 5—6 Stunden am Rückflußkühler erhitzt werden. Mit Wasser

kann man die Verbindung wieder in Glykose und Benzhydrazid spalten. Letzteres wird durch Zusatz von Benzaldehyd, mit dem es eine unlösliche Verbindung bildet, entfernt.

Zur Charakterisierung der Fructose können die Osazone dienen, welche sie mit asymmetrischen sekundären Hydrazinen (71) gibt, da mit diesen Körpern nur die Ketosen, nicht aber die Aldosen Osazone bilden. Schmp. des Fructose- α -Methylphenylosazons 161–162°).

Von den Hydrazonen seien noch die Benzylphenylhydrazone (72) erwähnt, gut krystallisierende Verbindungen, welche sich bilden, wenn man zu der konzentrierten Lösung eines zur Hydrazonbildung befähigten Zuckers eine absolutalkoholische Lösung von Benzylphenylhydrazin gibt. Aus den Hydrazonen lassen sich die ursprünglichen Zucker durch Formaldehyd oder Benzaldehyd wiedergewinnen. Bei der Anwendung von Formaldehyd löst man 1 g des Hydrazons in 2–3 ccm 30–40 proz. heißer Formaldehydlösung und erwärmt auf dem Wasserbad. Die Lösung trübt sich und scheidet das Formaldehydhydrazon als schweres Öl ab, das durch Ausäthern entfernt wird. Überschüssiger Formaldehyd wird durch Abdampfen, etwa vorhandener Metaformaldehyd durch Lösen des Sirups in absolutem Alkohol beseitigt.

In ähnlicher Weise erfolgt die Spaltung der Hydrazone durch Benzaldehyd.

Hat man die Zuckerarten in genügend reinem Zustand isoliert, so stellt man ihre wichtigsten Eigenschaften fest und vergleicht sie mit denen der bekannten Zuckerarten. Von besonderer Wichtigkeit sind: Krystallform, Verhalten gegen Kupferacetat und alkalische Kupferlösung, Gärungsvermögen, Einfluß auf das polarisierte Licht, Verhalten beim Behandeln mit Salzsäure, Salpetersäure und Hydrazinen bes. Phenylhydrazin und der Schmelzpunkt der entstandenen Derivate. Die Phenylhydrazinreaktion kann auch quantitativ verwertet werden, da die mit Phenylhydrazin reagierenden Zuckerarten unter bestimmten Verhältnissen bestimmte Mengen von Osazonen liefern (73).

Von spezifischen Reaktionen der einzelnen Zuckerarten seien folgende erwähnt:

Rohrzucker: a) Benetzt man mit der Zuckerlösung eine Porzellanplatte, legt diese auf ein siedendes Wasserbad und läßt einige Tropfen 1 proz. Arsensäurelösung auffließen, so tritt eine anfangs rote, später prachtvoll purpurne Färbung ein (Maumenés Reaktion). b) Gibt als lävulosehaltiger Körper rote Färbung, wenn man ihn mit Salzsäure und Resorcin erwärmt. c) Auf dem

Vorhandensein der Lävulosegruppe beruht auch das Eintreten der Rosafärbung, wenn man 0,1 g Rohrzucker in 10 ccm rauchender Salzsäure löst und mit 20 ccm Sesamöl schüttelt. d) Wird durch Invertin in Dextrose und Lävulose gespalten. e) Ist rechtsdrehend.

Glykose (Traubenzucker): a) Gibt bei der Oxydation mit Salpetersäure Zuckersäure. b) Ist rechtsdrehend. c) Die Kalkverbindung ist wasserlöslich. d) Gibt keine rote Färbung bei vorsichtigem, kurzem Erwärmen mit Resorcin oder Phloroglucin und Salzsäure. e) Reduziert alkalische Kupfer-, Quecksilber- und Wismutlösung.

Fructose: a) Gibt bei der Oxydation mit Salpetersäure keine Zuckersäure. b) Ist linksdrehend. c) Die Kalkverbindung ist in Wasser schwer löslich. d) Gibt eine rosenrote Färbung bei Erwärmen mit Resorcin und Salzsäure, eine gelblichbraune mit Phloroglucin und Salzsäure. e) Gibt dieselben Reduktionsreaktionen wie Dextrose. f) Gibt die bei Rohrzucker unter a) und c) erwähnten Reaktionen. g) Reduziert als einziger von allen reduzierenden Zuckern die Kupfer-Glykokollösung von Pieraerts¹⁾ bei 12stündiger Einwirkung in der Kälte.

Maltose. a) Verhält sich gegenüber Bierhefe und den Reduktionsreaktionen wie Glykose, mit der Ausnahme, daß sie durch Barfoeds Reagens (s. S. 83) nicht reduziert wird. b) Wird durch *Saccharomyces Marxianus* im Gegensatz zu Rohrzucker, Dextrose und Lävulose nicht vergoren. c) Das Phenylsazon schmilzt bei 206° und ist in warmem Wasser beträchtlich leichter löslich als das Glykosazon.

Mannit. a) Die sehr schwache Linksdrehung geht durch alkalische Arsenitlösung in starke Rechtsdrehung über. b) Wird durch Wasserstoffperoxyd bei Gegenwart von Ferrosulfat zu Mannose oxydiert, die durch ihr schwer lösliches Phenylhydrazon (Schmp. 199°) charakterisiert ist. c) Reduziert nicht. d) Beim Schütteln mit Benzaldehyd in salz- oder schwefelsaurer Lösung liefert Mannit ein Benzacetal, welches in Wasser, kaltem Wein-geist, Säuren und Alkalien vollkommen unlöslich ist.

Inosit. a) Optisch inaktiv, reduziert alkalische Kupferlösung nicht und ist gegen Säuren und Alkalien widerstandsfähiger als die anderen Körper dieser Gruppe. b) Gibt man zu einer konzentrierten Inositolösung 1 Tropfen einer Lösung von salpetersaurem

¹⁾ Zu einer Lösung von 12 g Glykokoll in heißem Wasser gibt man allmählich reines Kupferhydroxyd und erwärmt 5 Minuten im Wasserbad bis zur völligen Lösung; nach Abkühlen auf 60° gibt man 50 g gepulvertes Kaliumcarbonat hinzu, füllt mit Wasser auf 1 l auf und filtriert.

Quecksilberoxyd, so entsteht ein beim Erwärmen dunkelrosarot werdender, beim Erkalten wieder verschwindender Niederschlag (Reaktion von Gallois). c) Wird ein wenig Inosit mit Salpetersäure eingedampft und dann Ammoniak oder essigsäures Natron und darauf Chlorbarium zugesetzt, so nimmt die Masse beim Stehen eine rötliche Färbung an (Reaktion von Scherer-Seidel).

Die quantitative Bestimmung der Zuckerarten baut sich auf ihrem Verhalten gegen das polarisierte Licht, gegen alkalische Kupferlösung und gegen Hefe auf. Nichtreduzierende Zuckerarten wie Rohrzucker werden invertiert, ehe sie mit alkalischer Zuckerlösung bestimmt werden. Durch geeignete Kombination der Methoden können zwei (evtl. mehr) Zuckerarten nebeneinander bestimmt werden. Ausführliche Angaben darüber finden sich in „Die Chemie der Zuckerarten von E. O. v. Lippmann“, ferner bei Landolt: „Das optische Drehungsvermögen organischer Substanzen“. Einzelnes in E. Schmidts „Ausführliches Lehrbuch der pharmazeutischen Chemie“, und in den Lehrbüchern der Nahrungsmittelchemie.

II. Gummi und ähnliche Substanzen. Diese Körper sind meist Verbindungen von Säuren (Arabinsäure) mit Calcium oder Magnesium. Wird die Arabinsäure aus der wässrigen Lösung des Gummis durch Salzsäure und Weingeist gefällt, so verwandelt sie sich beim Trocknen in eine unlösliche Modifikation, die frei oder in Salzform ebenfalls in der Pflanzenwelt oft zugleich mit der löslichen Modifikation vorkommt. Durch schwache Alkalien (Kalk- oder Barytwasser) lassen sich diese unlöslichen Modifikationen wieder in lösliche überführen.

Man sucht den Gummi in kaltem Wasser zu lösen, fällt, wenn nötig, fremde Bestandteile mit Bleiacetat und den Gummi mit Bleiessig. Den Bleiessigniederschlag zersetzt man in gewohnter Weise durch Schwefelwasserstoff. Das Schwefelblei ist jedoch oft schwer von der Gummilösung zu trennen. Man vermeidet deshalb nach Möglichkeit die Bleimethode und sucht den Gummi durch Weingeist zu fällen, da er schon in verdünntem Weingeist nur sehr schwer löslich ist. Um den organischen Anteil des Gummis rein darzustellen, löst man den Niederschlag wieder in wenig Wasser, dem man etwas Salzsäure zufügt, fällt wieder durch Weingeist und wiederholt diese Operationen, bis die Fällungen frei von anorganischen Bestandteilen sind. Zur Erreichung dieses Zweckes kann man auch die Dialyse zu Hilfe nehmen.

Da die Gummiarten sich in ihren physikalischen Eigenschaften wenig voneinander unterscheiden, amorph sind und keine kristallinen Derivate geben, auch sich im großen ganzen gegen Fäl-

lungsmittel gleich verhalten, so geht die Untersuchung hauptsächlich darauf aus festzustellen, welche Körper aus ihnen bei dem Behandeln mit Salz- oder Schwefelsäure (Hydrolyse) und bei der Oxydation mit Salpetersäure entstehen. Die gleiche Untersuchungsweise wird auch bei den später zu behandelnden Pflanzenschleimen, Pektinkörpern und den eigentlichen Membranstoffen in Anwendung gebracht.

Gibt ein derartiger Körper bei der Oxydation nach dem S. 83 angegebenen Verfahren Zuckersäure, so war Glykose an dem Aufbau des Körpers beteiligt, entsteht dagegen die in Wasser schwer lösliche Schleimsäure, so war ein Galaktoserest in dem Molekül des Körpers vorhanden¹⁾. Zur Herstellung und Bestimmung der etwa entstehenden Schleimsäure (74) hat Tollens folgende Vorschrift gegeben: 5 g Zucker werden mit 60 ccm Salpetersäure vom spez. Gewicht 1,15 in einem Becherglase von ca. 5,7 cm Durchmesser, in welchem die Flüssigkeit ursprünglich eine Höhe von etwa 2,5 cm einnimmt auf dem Dampfbade erwärmt, bis die Flüssigkeit auf die Höhe von 8—9 mm heruntergedampft ist. Die abgedampfte Masse zerrührt man am folgenden Morgen mit 10 ccm Wasser, filtriert 24 Stunden darauf durch ein bei 100° getrocknetes Filter ab, wäscht mit 25 ccm Wasser aus, trocknet bei 100° und wägt. Schmelzpunkt der Schleimsäure 211—212°. Da Galaktose bei der Oxydation ca. 75% Schleimsäure liefert, so kann man aus der gewonnenen Menge der Schleimsäure berechnen, wie ein großer Teil des untersuchten Körpers aus dem Galaktoserest bestand.

Die obengenannten Körper gehen beim Kochen mit Salz- oder Schwefelsäure zunächst in Zuckerarten über. Die Zuckerarten verhalten sich bei der weiteren Einwirkung der Säuren verschieden: Aus den Hexosen entsteht zunächst Oxymethylfurfurol und Lävulinsäure²⁾, aus den Pentosen Furfurol, aus den Methylpentosen Methylfurfurol.

Zum Nachweis der Lävulinsäure (75) erhitzt man die zu untersuchende Substanz im Wasserbad 20 Stunden lang mit etwa 20 prozentiger Salzsäure in einem Kolben, in dessen Kautschukstößel eine lange Glasröhre eingesetzt ist. Nach Beendigung der Einwirkung filtriert man ab und schüttelt das Filtrat viermal mit dem gleichen Volumen Äther aus. Den nach dem Abdampfen des Äthers bleibenden Rückstand erwärmt man auf dem Dampf-

¹⁾ Galakturonsäure gibt ebenfalls durch Oxydation Schleimsäure, auch Querzit u. Dulzit.

²⁾ Lävulinsäure kann auch aus Glucosamin, Chitin und Chitose entstehen.

trockenschrank $\frac{1}{2}$ —1 Stunde und versucht, ob ein kleiner Teil desselben mit Jod- und Natronlauge Jodoform bildet. Tritt die Jodoformreaktion ein (bei negativem Ausfall ist Lävulinsäure nicht vorhanden), so löst man den Rückstand in Wasser, digeriert mit Zinkoxyd und führt das nach der Entfärbung mit Kohle und dem Abdampfen erhaltene krystallisierte Zinklävulat durch Fällen seiner konzentrierten Lösung mit Silbernitrat in das charakteristische Krystallform besitzende Silbersalz der Lävulinsäure über.

Reaktionen der Pentosen (Arabinose, Xylose).

a) Man versetzt die Lösung des Zuckers mit so viel Salzsäure (spez. Gewicht 1,19 = 38 proz.), daß der HCl-Gehalt der Lösung ungefähr 20% beträgt. Erhitzt man dann nach Zusatz von ein wenig Phloroglucin, so tritt eine kirschrote Färbung und dann ein dunkler Niederschlag auf. Wäscht man diesen mit ein wenig Wasser und löst ihn in Weingeist, so gibt die Lösung spektralanalytisch untersucht ein Absorptionsband zwischen D und E (76).

Nimmt man statt Phloroglucin Orcin, so entstehen eine blau-grüne Färbung und ein ebensolcher Niederschlag. Das Absorptionsspektrum liegt zwischen C und D mit Berührung von D (77).

b) Destilliert man die Zuckerlösung nach Zusatz von so viel Salzsäure, daß die Flüssigkeit 12% Salzsäure enthält und setzt man jedesmal, wenn 5 ccm Flüssigkeit abdestilliert sind, wieder 5 ccm Salzsäure zu, so zeigt das Destillat folgende Reaktionen (auf Furfurol):

1. Mit einer Mischung gleicher Teile Anilin und Eisessig entsteht eine rote Färbung (78).

2. Versetzt man das Destillat mit gleichen Teilen konzentrierter Salzsäure und einigen Kryställchen Resorcin, so beobachtet man im Spektralapparat das Folgende: Während sich die Flüssigkeit allmählich dunkler färbt, tritt ein Absorptionsstreifen im Rot auf, der an Breite zunehmend allmählich den bis dahin noch hellen Raum in der Mitte ausfüllt (79).

Methoden zur quantitativen Bestimmung von Furfurol und damit von Pentosen und Pentosanen auf der Grundlage des Phenylhydrazinniederschlags sind von Tollens und seinen Mitarbeitern (80) sowie von Stone (81) ausgearbeitet worden.

Über die Phloroglucidmethode vgl. Journ. f. Landwirtschaft Bd. 48, S. 357 und Ztg. f. angew. Chemie Bd. 15, 477—482. 1902. Reaktionen der Methylpentosen (Fukose, Rhamnose, Rhodeose).

a) Erwärmt man eine Methylpentose mit 10 ccm konz. Salzsäure und 1—2 ccm reinem Aceton im siedenden Wasserbad,

so tritt eine himbeerrote Färbung auf. Die Flüssigkeit zeigt ein Absorptionsband in gelb¹⁾.

b) Destilliert man, wie bei Pentosen beschrieben, so gibt das Destillat folgende Reaktionen (auf Methylfurfuro!):

1. Das Destillat gibt mit der Hälfte 38⁰/₀iger Salzsäure und 1—2 ccm Aceton erwärmt die in a) beschriebene Erscheinung.

2. Erwärmt man das Destillat mit gleichen Raumteilen 38⁰/₀iger Salzsäure, so ergibt die Prüfung im Spektralapparat ein Band zwischen grün und blau (82).

Über den Nachweis von Rhamnose neben Glykose s. S. 40.

Zur quantitativen Bestimmung von Methylpentosen auch neben Pentosen sind Verfahren von Tollens und seinen Schülern ausgearbeitet worden (83).

Unter den Zuckerarten, welche (außer Dextrose und Lävulose) bei der Hydrolyse von Gummi, Pflanzenschleim, Membranstoffen u. dgl. entstehen können, seien noch die Mannose, Galaktose, Arabinose und Xylose erwähnt.

Außerdem können noch die Zuckern nahestehenden Glykuronsäure und Galakturonsäure auftreten.

Mannose hat keine charakteristischen Reaktionen. Die Identifizierung erfolgt außer den üblichen Feststellungen durch das bei raschem Erhitzen bei 199° schmelzende Hydrazon (90), welches sich schon in der Kälte bildet, wenn man eine Mannoselösung mit Phenylhydrazin versetzt. Mannose ist rechtsdrehend.

Galaktose kann außer durch die Schleimsäurereaktion mit α -Methylphenylhydrazin nachgewiesen werden. Schmelzpunkt des Hydrazons 190—191°.

Eine aus Xylose zu erhaltende charakteristische Verbindung ist das in Weingeist unlösliche Cadmiumbromxylylonat (84), das entsteht, wenn man 5 g des zu untersuchenden Sirups mit 15 g Wasser, 6 g Cadmiumcarbonat und 3 g Brom mischt, nach 20 Stunden erwärmt und siedend filtriert. Aus dem konzentrierten Filtrat wird durch Weingeist die Verbindung als bootförmige Krystalle ausgeschieden.

Außerdem ist das Xylose-p-Nitrophenylhydrazon (Schmelzpunkt 190—191°) charakteristisch.

l-Arabinose. Schmelzpunkt 160°. Charakteristisch sind das α -Benzylphenylhydrazon (Schmelzpunkt 174°) und das p-Bromphenylhydrazon (Schmelzpunkt 168°). Man stellt es dar, indem man zu der 1 proz. Lösung der Pentose so viel einer aus 1 Teil

¹⁾ Pentosen geben eine ähnliche Färbung, die jedoch nach höchstens 10 Minuten Erwärmen verschwindet, worauf auch kein Absorptionsband mehr wahrzunehmen ist.

des Hydrazins, 3,5 Teilen 50 proz. Essigsäure und 12 Teilen Wasser bestehenden Flüssigkeit gibt, daß auf 1 Teil Arabinose 2 Teile des Hydrazins kommen.

Eine Trennung der Xylose und Arabinose läßt sich mit β -Naphthylhydrazin (85) bewerkstelligen. Verföhrt man wie oben, so krystallisiert das Arabinose- β -Naphthylhydrazon (Schmelzpunkt $176-177^\circ$ korr.) aus, während die analoge Verbindung der Xylose (Schmelzpunkt 124°) aus der Mutterlauge gewonnen wird.

Glykuronsäure, $\text{CHO}(\text{CHOH})_4\text{COOH}$. Dreht nach rechts, reduziert alkalische Kupferlösung und gibt mit Salpetersäure erwärmt Zuckersäure. Liefert durch Erwärmen mit Salzsäure Furfurol und gibt deshalb die Reaktionen der Pentosen (s. S. 90). Vergärt mit Hefe nicht.

Zum Nachweis der Glykuronsäure neben Zuckern kann man nach v. d. Haar (86) so vorgehen: Man dampft mit Bariumcarbonat zur Trockne, zieht die Masse wiederholt durch Auskochen mit Weingeist aus und dann den darin unlöslichen Rückstand mit Wasser, das dann das Bariumsalz der Glykuronsäure löst. Durch vorsichtigen Zusatz von verdünnter Schwefelsäure macht man die Glykuronsäure frei. Mit dieser Lösung föhrt man die Naphthoresorcinreaktion nach Tollens aus: Ein Gemisch der Lösung mit gleichviel 38 proz. Salzsäure wird aufgeköcht und nach Zusatz von 0,1 g Naphthoresorcin noch $\frac{1}{2}$ Minute geköcht. Nach Abköhlen auf 50° schüttelt man mit Benzol aus. Man erhält eine violette Lösung mit Absorptionsband auf D.

Galakturonsäure. Verhält sich in den meisten Eigenschaften (auch in der Naphthoresorcinreaktion) wie Glykuronsäure, von der sie sich dadurch unterscheidet, daß sie sich zu Schleimsäure oxydieren läßt. Daß dies schon mit Bromwasser erfolgt, unterscheidet sie von der Galaktose.

III. Dem Gummi schließen sich einige Stoffe gummöser und schleimiger Natur an. Hierher gehören die in Wasser mehr oder minder löslichen Pflanzenschleime, von denen einige in Wasser nur aufquellen, Bassorin und Pektinstoffe. Die Darstellung dieser zum Teil durch Bleiacetat fällbaren Körper erfolgt meistens durch Ausziehen mit heißem Wasser und Fällen mit Weingeist. Einige Schleime können aus ihrer wässrigen Lösung ausgesalzen werden. Von Aschenbestandteilen werden sie nach den bei Gummi angegebenen Methoden befreit.

Zur Darstellung des Amyloids, welches aus den Samen von Leguminosen und *Tropaeolum majus* erhalten worden ist, zieht man die Samen erst mit Äther, heißem Weingeist, verdünntem

Ammoniak und kalter 1 proz. Natronlauge aus, wäscht dann den Rückstand mit Wasser und bringt das Amyloid durch kochendes Wasser in Lösung, aus der man es durch Weingeist niederschlägt. Amyloid färbt sich mit Jod blau.

Das in vielen Pilzen vorkommende Glykogen wird aus seinen opalisierenden Lösungen, die durch Essigsäure oder Kalilauge klar werden, ebenfalls durch Weingeist niedergeschlagen. Es färbt sich mit Jod rot bis braun und liefert bei der Hydrolyse Dextrose.

Um das in den unterirdischen Organen vieler Kompositen vorkommende Inulin zu gewinnen, zieht man die Pflanzenteile unter Zusatz von Calciumcarbonat mit heißem Wasser aus. Die Auszüge läßt man zur Klärung stehen, filtriert und dampft das Filtrat ein, bis das Inulin sich auszuschcheiden beginnt. Man kann auch erst mit Bleiessig Schleim u. dgl. fällen, das Blei durch Schwefelwasserstoff, diesen durch Einleiten von Kohlensäure entfernen und nach Neutralisation mit kohlensaurem Kalk das Inulin durch Eindampfen wieder zur Abscheidung bringen. Durch wiederholtes Aufnehmen in heißem Wasser und Ausscheidung durch Abkühlung, dann durch Waschen mit Weingeist und Äther wird es weiter gereinigt. Zur Reinigung des Inulins kann man auch seine Fällbarkeit durch Barytwasser benützen. Bei der Hydrolyse geht es in Fructose über.

Über eine Inulinbestimmung s. Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. Bd. 5, S. 81. 1902.

Von der Gegenwart der Stärke kann man sich am besten durch das Mikroskop überzeugen, wo ihre verschiedenen Formen leicht in die Augen fallen und durch die Blaufärbung mit Jod gut charakterisiert sind. In kaltem Wasser unlöslich, verkleistert die Stärke mit heißem Wasser und ist in diesem Zustand in den heiß bereiteten wässrigen Lösungen vorhanden. Leichter, wenn auch nicht unverändert, geht die Stärke in Lösung, wenn das Rohmaterial mit Säuren oder Alkalien behandelt wird. Soll die Stärke dargestellt werden, was nur bei stärkereichem Material leicht möglich sein wird, so bedient man sich der bekannten mechanischen Methoden. Man schlämmt aus dem zerkleinerten Material die Stärke mit Wasser aus, läßt sie absetzen, wäscht sie mehrmals mit Wasser aus und trocknet sie bei niedriger Temperatur. Zur Bestimmung der Stärke führt man sie meist durch Hydrolyse in Traubenzucker über und bestimmt dessen Menge durch Polarisation oder alkalische Kupferlösung. Doch sind diese Verfahren alle nicht sehr genau, hauptsächlich weil es sich nicht vermeiden läßt, daß auch andere Körper gleichzeitig hydrolysiert werden und reduzierende Zucker liefern.

Betreffs anderer Bestimmungsmethoden verweise ich auf das colorimetrische Verfahren von Denstedt und Voigtländer (87), die gewichtsanalytische Bestimmung von Baumert und Bode (88) und die polarimetrische Bestimmung von C. Mannich und K. Lenz (89).

Nicht so verbreitet wie die Stärke kommt das Xylan, der Holzgummi, in vielen Pflanzen vor. Es ist in kaltem Wasser opalisierend, in heißem klar löslich. Man stellt es dar, indem man das Rohmaterial erst mit 1–2proz. Ammoniak auszieht, dann das Xylan mit Natronlauge in Lösung bringt und es darauf durch Weingeist niederschlägt. Durch Auswaschen mit salzsäurehaltigem Weingeist, Weingeist und Äther wird es gereinigt. Mit Bleiessig gibt es eine Fällung; bei der Hydrolyse entsteht Xylose.

IV. Hierher gehören die unlöslichen Modifikationen des Gummi, die durch Behandeln mit Alkalien gelöst werden und sich dann im übrigen wie die löslichen Modifikationen verhalten.

Weiter müssen an dieser Stelle einige Membranstoffe, wie Mannan, Pentosane und Hemicellulosen besprochen werden. Doch sei gleich hier erwähnt, daß die Unterscheidung dieser Gruppe und der beiden nächsten durch ihre Löslichkeit in schwachen Alkalien keine absolute Bedeutung hat, da auch die Glieder der nächsten Gruppen ein wenig in schwachen Alkalien löslich sind. Kompliziert wird das Verhalten dieser Körper zu Alkalien noch dadurch, daß sie inkrustierende Substanzen enthalten können, welche sie der Einwirkung des Lösungsmittels entziehen.

Mannan findet sich in vielen Samen und liefert bei der Hydrolyse neben anderen Zuckerarten Mannose, die durch ihr in der Kälte schwer lösliches Hydrazon (s. S. 91) charakterisiert ist. Die unter dem Namen Mannan in der Literatur verzeichneten Körper scheinen nicht alle identisch zu sein.

Die Hemicellulosen sind in 5proz. Natronlauge löslich und werden wie die anderen Glieder dieser und der benachbarten Gruppen aus dieser Lösung durch Zusatz von Salzsäure und Weingeist ausgefällt. Sie sind durch verdünnte Säuren leicht hydrolysierbar und gehen dadurch in Zuckerarten über, unter denen neben Glykose, Galaktose, Xylose u. a. sich finden können.

Den Hemicellulosen schließen sich die Pentosane in ihrem allgemeinen Verhalten an. Bei der Hydrolyse liefern sie zunächst Pentosen (evtl. Methylpentosen) und dann größere Mengen von Furfurol und Methylfurfurol, was zu ihrer Identifizierung und quantitativen Bestimmung benützt wird (s. S. 90).

V. Die V. Gruppe wird von den Oxycellulosen gebildet, die sowohl bei der Oxydation der Cellulose entstehen, als auch in den

Pflanzen vorkommen. Sie reagieren mit Phenylhydrazinsalzen in kalter Lösung unter Bildung einer gelben Färbung, welche beim Erwärmen auf 70° intensiver wird, werden durch fuchsinschweflige Säure rot gefärbt und reduzieren siedende alkalische Kupferlösung. Die Oxycellulosen lösen sich in einer mit Salzsäuregas gesättigten Schwefelsäure vom spez. Gewicht 1,5, die man durch Mischen von 52 ccm konzentrierter Schwefelsäure, 23 ccm Salzsäure und 25 ccm Wasser herstellt.

VI. Die Substanzen, welche nach dem Behandeln der Membranstoffe mit 5proz. Natronlauge zurückbleiben, sind Cellulose und ein Teil des sog. Lignins (außerdem ein Teil der Pentosane).

Die Trennung des Lignins von der Cellulose erfolgt nach Hoffmeister (90) durch Kupferoxyd-Ammoniak, das Schweizerische Reagens¹⁾, welches die Cellulose löst. Durch Abdampfen der Lösung zur Trockne, Entfernung des Kupfers durch salz- und salpetersäurehaltiges Wasser, Waschen des Rückstandes mit Ammoniak, Alkohol und Natronlauge wird die Cellulose, jedoch in unreinem, pentosanhaltigem Zustand, gewonnen.

Eine pentosanfreie Cellulose (Rohfaser) gewinnt man nach dem Königschen (91) Verfahren: 3 g Substanz werden mit 200 ccm Glycerin vom spez. Gewicht 1,23, dem 2% konzentrierte Schwefelsäure zugesetzt wurde, versetzt und entweder am Rückflußkühler bei $133-135^{\circ}$ gekocht oder in einem Autoklaven bei 137° 1 Stunde lang gedämpft. Die Masse wird nach dem Erkalten mit Wasser versetzt, nochmals aufgekocht, heiß filtriert und mit heißem Wasser, warmem Weingeist und einem erwärmten Gemenge von Äther und Weingeist ausgewaschen, bis das Filtrat farblos abläuft. Durch Behandeln der so erhaltenen Cellulose mit Wasserstoff-superoxyd und Ammoniak wird das Lignin oxydiert und entfernt²⁾.

Cellulose läßt sich von Lignin auch durch 41proz. Salzsäure abtrennen, welche die Cellulose löst und allmählich zu Dextrose abbaut (92).

Cellulose löst sich auch in starker Schwefelsäure (z. B. 72proz.) und liefert dann beim Kochen der verdünnten Lösung reichliche Mengen Dextrose (93).

¹⁾ Ein gutes Lösungsmittel für Cellulose ist eine Auflösung von Kupfercarbonat in Ammoniak: eine wässrige Lösung von Kupfersulfat wird mit der berechneten Menge Soda versetzt. Der Niederschlag wird abfiltriert, gut ausgewaschen und in konz. Ammoniak gelöst.

²⁾ H. Ost u. L. Wilkening, Chemiker-Zeitg. Bd. 94, S. 461 (1910); Über eine Bestimmung der Cellulose s. a. G. Fingerling, Chemiker-Ztg. Bd. 46, S. 917 (1922).

Die Verfahren von Hoffmeister und König können zur quantitativen Bestimmung Anwendung finden.

Das Lignin gibt die Holzstoffreaktionen: Rotfärbung mit Phloroglucin-Salzsäure, Gelbfärbung mit Anilin-Salzsäure.

Eiweißstoffe.

Der Reindarstellung der Eiweißstoffe kann in manchen Fällen eine mechanische Trennung derselben von den sie begleitenden Stoffen vorausgehen. So kann die Stärke des Weizenmehles durch Auswaschen entfernt und dadurch von den Eiweißkörpern (dem Kleber) getrennt werden. Die Krystalloide einiger Samen werden gewonnen, indem man sie aus den zerschnittenen Samenkernen mit Äther herausspült, den Äther mitsamt den darin suspendierten Krystalloiden abgießt, die Krystalloide sich absetzen läßt, dann den Äther abzieht, noch mehrmals mit Äther wäscht und die letzten bei den Krystallen verbliebenen Anteile des Äthers durch vorsichtiges Verdunsten entfernt. In ähnlicher Weise kann auch Öl oder ein Gemenge von Öl und Petroläther angewendet werden, wobei das Öl mit Äther oder Petroläther wieder ausgewaschen wird.

Die Untersuchung der pflanzlichen Eiweißstoffe, sowohl der auf obige Weise gewonnenen, als der noch nicht aus den Pflanzteilen isolierten, beruht auf der Anwendung derselben Extraktions- und Fällungsmittel, die auch bei der Darstellung der entsprechenden aus tierischen Organen gewonnenen Eiweißstoffe benützt werden unter Vermeidung starkwirkender Agentien, welche den ursprünglichen Zustand der ohnehin leicht zu Veränderungen neigenden Eiweißstoffe angreifen könnten.

Zur Extraktion dienen: Wasser, Kochsalzlösungen verschiedener Stärke (5—10 proz.), verdünnte Sodalösung (ca. 1 proz.) verdünnte Ätzalkalien (0,1—1 proz.) und Weingeist (40—80 proz.).

Welche Eiweißstoffe mit diesen Flüssigkeiten in Lösung gehen, zeigt folgende Übersicht:

In Wasser löslich: Pflanzenalbumine.

In Wasser unlöslich, löslich in Salzlösungen: Pflanzenglobuline.

In 70—80 proz. Weingeist löslich: Stoffe von der Art des Gliadins.

In neutralen Lösungsmitteln unlöslich, löslich in Alkalien und daraus durch Säuren fällbar; phosphorhaltig: „Pflanzen-caseine“.

Die gebräuchlichsten Fällungsmethoden sind folgende: Die Eiweißstoffe können aus ihren wässrigen und salzigen Lösungen durch Kochen, Versetzen mit Weingeist, Aussalzen mit Ammo-

niumsulfat, Magnesiumsulfat und anderen Salzen oder Gemengen dieser Salze, manchmal auch durch schwache Säuren wie Essigsäure abgeschieden werden. Die globulinartigen Eiweißstoffe werden außerdem aus ihren Kochsalzlösungen durch Verdünnen mit Wasser oder Dialyse gefällt. Aus schwach weingeistigen Lösungen kann man das Eiweiß durch starken Weingeist, aus Lösungen in diesem durch Äther fällen.

Die ausgefällten Eiweißstoffe wäscht man meistens mit Weingeist und Äther, die in Weingeist löslichen mit Äther aus und trocknet sie im Vakuum über Schwefelsäure.

Das Verhalten der Eiweißstoffe gegen Extraktions- und Fällungsmittel ist neben ihren chemischen Eigenschaften für ihre Zuteilung zu den bis jetzt aufgestellten Gruppen von Eiweißkörpern entscheidend. Sie haben jedoch die Eigentümlichkeit, ihre physikalischen Eigenschaften zu ändern, ohne daß damit eine Veränderung ihrer elementaren Zusammensetzung verbunden sein muß. Solche Veränderungen können schon eintreten, wenn Eiweiß längere Zeit der Einwirkung von Wasser oder Weingeist ausgesetzt ist, noch mehr, wenn es mit (sei es auch schwachen) Säuren oder Alkalien behandelt wird.

Diese Veränderungen bestehen insbesondere darin, daß sie ihre Löslichkeit in Wasser oder Salzlösung einbüßen. Außerdem sind die Eiweißstoffe leicht der Fäulnis ausgesetzt. Einer derartigen Zersetzung kann man dadurch vorbeugen, daß man die Arbeiten bei niedriger Temperatur vornimmt oder den Lösungen konservierende Mittel wie Thymol oder Chloroform zusetzt.

Wären die Pflanzen frei von löslichen Salzen, so würden bei der Extraktion mit Wasser Albumine und Albumosen in Lösung gehen. Da aber die Pflanzen immer wasserlösliche Salze enthalten, so extrahiert man auch bei Anwendung reinen Wassers mit einer wenn auch sehr verdünnten Salzlösung. In einer solchen ist aber auch ein Teil der Globuline löslich. Weiterhin ist zu berücksichtigen, daß die Pflanzenauszüge vielfach sauer reagieren, was aus den oben erörterten Gründen für die Eiweißstoffe nachteilig sein kann. Eine Neutralisation der Auszüge ist deshalb notwendig. Sie kann durch sehr verdünntes Alkali oder kohlen-saures Alkali, besser durch kohlen-saure Magnesia erfolgen. Unter Berücksichtigung dieser Tatsachen kann die Untersuchung folgendermaßen vorgenommen werden:

Man ziehe den zu untersuchenden Pflanzenteil nach Zusatz einer zur Neutralisation genügenden Menge von kohlen-saurer Magnesia mit 5–10 prozentiger Kochsalzlösung aus. Einen Teil des damit erschöpften Materials behandle man mit einer auf 60°

erwärmten Kochsalzlösung und beobachte, ob beim Erkalten Ausscheidungen von Eiweiß eintreten. Die kalt bereitete Kochsalzlösung läßt bei der Sättigung mit Kochsalz manche Eiweißstoffe ausfallen. Eine andere Trennung der in der Salzlösung vorhandenen Globuline kann durch fraktionierte Dialyse erfolgen und eine dritte durch die fraktionierte Gerinnung beim Erwärmen.

In der Regel wird man zunächst fraktioniert dialysieren¹⁾. Man trennt die Globuline, welche sich aus der durch die Dialyse allmählich salzärmer werdenden Lösung zuerst abscheiden, von der Flüssigkeit ab, dialysiert diese aufs neue usw., bis kein Globulin sich mehr ausscheidet oder die dialysierende Flüssigkeit völlig salzfrei ist.

Die Fraktionen der abgeschiedenen Globuline löst man jede für sich in 10 proz. Kochsalzlösung und erwärmt vorsichtig, indem man die Eiweißlösung in ein Gefäß mit Wasser stellt, welches seinerseits in dem ebenfalls Wasser enthaltenden zu erwärmenden Gefäße sich befindet. Die bei einer Temperatur ausfallenden Eiweißstoffe filtriert man ab, erhitzt weiter, filtriert abermals ausfallendes Eiweiß wieder ab und so fort bis zum Siedepunkt des Wassers. Außerdem kann man versuchen, ob man nicht aus der Globulinlösung durch fraktionierte Anwendung von Magnesiumsulfat, Ammoniumsulfat oder Gemengen dieser und ähnlicher Salze verschiedene Eiweißstoffe isolieren kann. Jede so gewonnene Fällung wird durch die Dialyse von den Salzen befreit und dann weiter mit Weingeist, wie oben angegeben, behandelt.

Ob in der von den Globulinen befreiten Flüssigkeit sich noch Eiweiß befindet, wird man zunächst durch die allgemeinen Eiweißreaktionen (s. S. 23) feststellen. Wird die Flüssigkeit durch die Biuretreaktion rot, so kann dies auf einen Gehalt von Albumosen hindeuten, welche neben Albuminen sich noch in der Flüssigkeit vorfinden können. Letztere werden außer durch Kochen durch Kochsalz oder Magnesiumsulfat bei saurer Reaktion aus der Flüssigkeit abgeschieden. Die dann noch in Lösung befindlichen Albumosen können aus der sauer reagierenden Flüssigkeit durch Zinksulfat oder Ammoniumsulfat ausgefällt werden.

Nach der Extraktion mit Salzlösung kann man versuchen, mit Weingeist auszuziehen, da es gerade unter den pflanzlichen Eiweißstoffen mehrere in Weingeist lösliche gibt. Man wende zunächst Weingeist von 35—40% und dann 75—80 prozentigen an. Der mit schwachem Weingeist bereitete Auszug kann sowohl bei der Konzentration durch Eindampfen, als bei der Behandlung mit starkem Weingeist Niederschläge von Eiweiß geben. Auch der in starkem

¹⁾ Die äußere Flüssigkeit ist auf Albumosen zu untersuchen, da diese in geringem Maße diffundieren.

Weingeist gelöste Eiweißstoff kann evtl. durch Konzentration zum Ausfallen gebracht werden, ebenso durch Fällung mit Äther. Sind weingeistlösliche Eiweißstoffe aufgefunden worden, so wird man versuchen, das Material zuerst mit Weingeist auszuziehen, da durch die Behandlung mit Kochsalzlösung das Eiweiß teilweise seine Löslichkeit in Weingeist verlieren kann.

Als nächstes Extraktionsmittel kann 1 prozentige Sodalösung verwendet werden. Sie löst manche unlöslich gewordenen Eiweißstoffe, besonders Globuline, auf und läßt sie nach der Neutralisation mit schwachen Säuren, auch schon durch Einleiten von Kohlensäure ausfallen.

Zuletzt kann man noch mit schwacher (0,1—0,2 proz.) Kalilauge ausziehen und das gelöste Eiweiß ebenfalls durch Neutralisation mit Säuren zum Ausfällen bringen.

Einige pflanzliche Eiweißstoffe können in krystallisiertem Zustande erhalten werden. Manche Globuline krystallisieren, wenn ihre Kochsalzlösung dialysiert wird. Andere krystallisieren beim Abkühlen ihrer warm bereiteten Lösung aus. Schmiedeberg (94) läßt das abgeschiedene Eiweiß in feuchtem Zustand mit einem Überschuß von gebrannter Magnesia und mit Wasser von 30—35° behandeln. Die abfiltrierte Flüssigkeit scheidet Krystalle ab, wenn sie bei einer konstanten Temperatur von 30 bis 35° eingedampft wird. Noch besser entstehen die Krystalle, wenn man nach Drechsel (95) das die Magnesiaverbindung enthaltende Filtrat in einen Dialysator gibt und diesen in absoluten Alkohol setzt, wodurch der Lösung das Wasser langsam entzogen wird.

Hofmeister erhielt krystallisierte Albumine durch langsames Verdunstenlassen ihrer Lösung in halbgesättigter Ammonsulfatlösung (96).

Zur eingehenden Untersuchung der Eiweißstoffe ist es nötig, sie zu hydrolysieren. Näheres darüber bei E. Fischer, Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. Bd. 34, S. 433. 1901; Bd. 39, S. 530. 1906, E. Fischer, Untersuchungen über Aminosäuren, Polypeptide und Proteine (Berlin 1906). Donald D. van Slyke, Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. Bd. 44, S. 164. 1911.

Die quantitative Bestimmung der Eiweißkörper führt man am besten durch, indem man ihre Darstellung in quantitativer Weise ausführt. Die in der Nahrungsmittelchemie viel benützte Methode, den Stickstoff nach Kjeldahl zu bestimmen und aus dem Gehalt an Stickstoff durch Multiplikation mit einem Faktor (gewöhnlich 6,25) die Menge des vorhandenen Eiweißes zu berechnen, führt selten zu einem genauen Resultat, auch dann nicht, wenn man nach dem Stutzerschen Verfahren die Eiweiß-

stoffe durch Kupferhydroxyd von den übrigen stickstoffhaltigen Körpern trennte.

Spaltungsprodukte der Eiweißstoffe.

Als Spaltungsprodukte der Eiweißstoffe kommen einige Stickstoff enthaltende Körper, Aminosäuren und deren Amide, in den Pflanzen vor, vor allem in keimenden Samen. Erwähnt seien zunächst Leucin, Tyrosin, Arginin, Glutaminsäure und Asparaginsäure resp. Glutamin und Asparagin.

Zur Darstellung dieser Substanzen (96a) zieht man die zerkleinerten Pflanzenteile mit schwach erwärmtem Wasser aus, reinigt den Auszug (unter Vermeidung eines Überschusses) mit Bleiessig und fällt aus dem Filtrat durch eine Lösung von Mercurinitrat Asparagin, Glutamin, Arginin und Tyrosin aus. Der Niederschlag wird durch Schwefelwasserstoff zersetzt und das Filtrat nach der Neutralisation mit Ammoniak bei einer Temperatur von 50—60° eingedunstet. Die Flüssigkeit wird durch Zusatz einiger Tropfen Ammoncarbonatlösung neutral gehalten. Die eingedunstete Lösung scheidet beim Stehen im Vakuum die Krystalle ab (die des Arginin als Nitrat). Durch Aufnehmen in wenig kaltem Wasser trennt man das in Wasser schwer lösliche Tyrosin von den anderen Körpern, aus deren Lösung man das Arginin durch Phosphorwolframsäure fällt. Glutamin und Asparagin trennt man dadurch, daß man sie mit wenig kaltem Wasser, in dem Asparagin schwerer löslich ist als Glutamin, aufnimmt, die Lösung zur Krystallisation eindunstet und mit der Mutterlauge die feinen Nadeln des Glutamins von den körnigen Krystallen des Asparagins abschlämmt.

Asparagin und Glutamin lösen Kupferhydroxyd in der Wärme; beim Erkalten scheiden sich schwer lösliche Kupferverbindungen ab.

Glutaminsäure läßt sich von anderen Stoffen und besonders von Asparaginsäure durch ihr Zinksalz trennen, das im Gegensatz zu dem der Asparaginsäure in Wasser schwer löslich ist.

Leucin wird in genügend verdünnter Lösung durch Mercurinitrat nicht gefällt und kann durch Abdunsten des Filtrats, das man vorher mit Schwefelwasserstoff behandelt hatte, erhalten werden. Durch Auflösen in Alkohol trennt man das Leucin vom Tyrosin, wenn letzteres nicht vollständig durch das Mercurinitrat gefällt wurde.

Leucin und Tyrosin lassen sich ferner durch ein Gemisch von Eisessig und 95proz. Alkohol trennen, mit dem die Körper bis

zum beginnenden Sieden erhitzt werden; Leucin geht in Lösung (Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 37, S. 18).

Tyrosin gibt mit Salpetersäure eingedampft einen gelben Rückstand, der durch Natronlauge tief rotgelb wird (Scherers Reaktion), mit Millons Reagens eine rote Färbung oder roten Niederschlag (Hofmanns Reaktion). Erwärmt man Tyrosin mit konzentrierter Schwefelsäure auf 50°, so erhält man nach der Neutralisation mit Bariumcarbonat ein Filtrat, welches durch Eisenchlorid violett gefärbt wird (Pirias Reaktion). Es färbt sich, mit einer Mischung von konzentrierter Schwefelsäure und einigen Tropfen Formaldehyd erwärmt, braunrot und nach Zufügen von Eisessig grün. (Reaktion von Denigès.)

Leucin, erkennbar an seinen knolligen oder kugeligen Krystallen, gibt mit Salpetersäure abgedampft einen Rückstand, dessen Lösung in Natronlauge auf Platinblech erhitzt ölige Tropfen liefert, die, ohne das Platinblech zu benetzen auf demselben rotieren (Scherers Reaktion).

Neben diesen Substanzen kommen noch Lysin und Histidin in Betracht. Lysin und Histidin finden sich neben Arginin in dem durch Phosphorwolframsäure erzeugbaren Niederschlag. Man zersetzt ihn durch Barythydrat und gibt zu dem durch Kohlensäure vom Barium befreiten Filtrat eine konzentrierte Lösung von Sublimat (Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 25, S. 176. 1898), bis saure Reaktion eintritt. Durch Zerlegung des so entstandenen Niederschlags mit Schwefelwasserstoff wird das Histidin als Hydrochlorid gewonnen. Das Filtrat vom Quecksilberniederschlag wird ebenfalls mit Schwefelwasserstoff behandelt und die vom Quecksilber befreite Flüssigkeit nach der durch Abdampfen erfolgten Beseitigung des Schwefelwasserstoffs mit so viel Silbersulfat versetzt, daß eine Probe derselben in Natronlauge eine gelbe Färbung hervorruft. Dann fällt man die vom Chlorsilber abfiltrierte Flüssigkeit durch Ätzbaryt und gewinnt aus dem Niederschlag das Arginin durch Schwefelwasserstoff. Das Filtrat der Argininfällung wird mit Schwefelsäure angesäuert und durch Schwefelwasserstoff vom Silber befreit. Die vom Bariumsulfat und Schwefelsilber abfiltrierte Flüssigkeit wird durch Baryt genau ausgefällt und das Filtrat zur Krystallisation des durch ein schwerlösliches Pikrat ausgezeichneten Lysins eingedampft.

Proteinogene Amine¹⁾ (einschl. Cholin u. Acetylcholin).

Die proteinogenen Amine sind z. T. flüchtig, z. T. nichtflüchtig. Erstere werden nach Zusatz von Alkalien mit Wasserdämpfen

¹⁾ Unter proteinogenen Aminen versteht man solche Amine, die durch CO₂-Abspaltung aus den Aminosäuren, den Bausteinen der Proteine, hervorgehen.

übergetrieben. Das Destillat wird dann entweder nach Zusatz von Salzsäure eingedampft und es werden die Basen dann aus der konzentrierten Lösung als Chloroaurate oder Chloroplatinate ausgeschieden oder man setzt Weinsäure oder Oxalsäure zu und gewinnt die Basen als Bitartrate oder Bioxalate, letzteres z. B. bei dem Isoamylamin. Die nichtflüchtigen Basen werden aus den wässerigen Auszügen meist durch Fällung mit Metallsalzen gewonnen, seltener durch Ausschütteln aus alkalischer Lösung. Näheres ist aus dem Folgenden zu ersehen, in dem die Gewinnungsverfahren für p-Oxyphenyläthylamin, Imidazolyläthylamin, Cholin und Acetylcholin geschildert sind. Das p-Oxyphenyläthylamin (Tyramin) wurde von Barger (97) aus Mutterkorn in folgender Weise gewonnen: Der im Vakuum auf 375 ccm konzentrierte wässrige Auszug von 1,5 kg Mutterkorn wurde nach Zusatz von Natriumcarbonat zehnmal mit 150 ccm Amylalkohol ausgezogen; nach dem Einengen auf 200 ccm wurde die amyalkoholische Lösung zehnmal mit 30 ccm 1 proz. wässriger Natronlauge ausgeschüttelt. Die alkalische wässrige Lösung wurde mit Salzsäure neutralisiert und eingedampft. Der Rückstand wurde mit 250 ccm Weingeist aufgenommen und die Lösung mit etwa 10 ccm einer gesättigten weingeistigen Sublimatlösung versetzt, bis eine sofortige Fällung nicht mehr eintritt. Das Filtrat wurde erst durch Einengen, dann durch Wasserdampfdestillation vom Weingeist befreit; die filtrierte wässrige Lösung wurde mit Schwefelwasserstoff behandelt und nach Abfiltration des Quecksilbersulfids auf 30 ccm eingeengt. Diese Lösung wurde nach Alkalisierung mit $\frac{1}{2}$ -Natronlauge zehnmal mit $\frac{1}{2}$ Raumteil Äther ausgeschüttelt.

Die wässrige Lösung wurde mit verdünnter Salzsäure neutralisiert, mit wenig Soda alkalisch gemacht und zehnmal mit $\frac{1}{2}$ Raumteil Äther ausgeschüttelt, der jetzt das p-Oxyphenyläthylamin aufnimmt und beim Verdunsten zurückläßt. Zur Reinigung kann man es noch in die Dibenzoylverbindung (Schmelzpunkt 170°) überführen, indem man die mit Natronlauge alkalisch gemachte Lösung mit Benzoylchlorid versetzt. Die Benzoylverbindung kann aus Weingeist umkrystallisiert und durch Kochen mit starker Salzsäure wieder gespalten werden.

Das p-Oxyphenyläthylamin $C_6H_4 \begin{matrix} \text{OH} \\ \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{NH}_2 \end{matrix}$ bildet hexagonale Blättchen (Schmelzpunkt 161°), welche Rotfärbung mit Millons Reagens geben.

Zur Gewinnung des Imidazolyläthylamins (Histamin) verfahren Barger und Dale (98) in folgender Weise:

500 ccm eines dialysierten Mutterkornextrakts wurden mit ebensoviele 20 prozentiger Tanninlösung versetzt. Die über der Fällung stehende klare Lösung wurde dekantiert und mit Barytwasser vom Tannin befreit. Aus dem Filtrat hiervon wurde das überschüssige Baryt durch Schwefelsäure gefällt und die letzten Spuren von Tannin und Schwefelsäure mit frisch gefälltem Bleihydroxyd beseitigt. Das Filtrat wurde auf 30 ccm eingeeengt, mit Phosphorsäure angesäuert und 4 ccm 20 prozentiger Silbernitratlösung versetzt. Nach abermaliger Filtration wurde noch Silbernitratlösung (150 ccm) zugesetzt, bis ein Tropfen der Lösung mit Bariumhydroxyd braunes Silberoxyd gab. Die Lösung wurde dann mit so viel Ätzbaryt versetzt, bis eine filtrierte Probe mit ammoniakalischem Silbernitrat nur eine schwache Opaleszenz gab. Der Niederschlag wurde abfiltriert, gewaschen, in verdünnter Schwefelsäure angeschwemmt und mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Aus dem Filtrat wurde der Schwefelwasserstoff vertrieben. Dann wurde neutralisiert, eingedampft und der Rückstand mehrmals mit warmem Alkohol ausgezogen. Der Verdunstungsrückstand der alkoholischen Lösung wurde in wenig Wasser gelöst und die Lösung mit einer warm gesättigten wässrigen Pikrinsäurelösung versetzt. Nach einigen Tagen schied sich das Pikrat aus und wurde aus Wasser umkrystallisiert. Es bildet dunkelgelbe rhombische Platten, die bei 234—235° unter Zersetzung schmelzen.

Das freie Imidazolyläthylamin $\begin{array}{c} \text{CH} \\ \text{HN} \diagup \text{N} \\ \text{HC} = \text{C} \end{array} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{NH}_2$ gibt mit Diazobenzolsulfosäure bei Gegenwart von Natriumcarbonat Rotfärbung.

Gewinnung von Cholin und Acetylcholin.

a) Nach Ewins (99), wiedergegeben nach Boruttau und Cappenberg (100).

1500 g Fluidextrakt 1 : 1 wurden im Vakuum auf 400 ccm eingedampft und mit wässriger Quecksilberchloridlösung (1 : 16) versetzt, bis kein Niederschlag mehr ausfiel. Das Filtrat wurde mit Schwefelwasserstoff vom überschüssigen Quecksilber befreit, das Filtrat vom Schwefelquecksilber mit so viel Sodalösung versetzt, daß es schwach sauer blieb und im Vakuum zu einem dünnen Extrakt eingedampft. Dieses wurde in 94 prozentigen Alkohol eingegossen und der Niederschlag nach 12stündigem Stehen abfiltriert. Das alkoholische Filtrat nebst Waschalkohol wurde abdestilliert, der Rückstand im Vakuum getrocknet und in 50 ccm Methylalkohol gelöst (ein hierbei verbleibender Rückstand wird nach Auswaschen mit Methylalkohol durch Abfiltrieren entfernt). Die methylalko-

holische Lösung wurde mit 300 g absolutem Alkohol gefällt. Zum Filtrat von diesem Niederschlag wurde alkoholische Quecksilberchloridlösung (1 + 3) gegeben. Nach mehrtägigem Stehen wurde der Quecksilberniederschlag abfiltriert, getrocknet, fein zerrieben und mit je 150 ccm heißem Wasser viermal ausgelaugt, der Rückstand durch Filtration entfernt. Das nach dem Erkalten nochmals filtrierte Filtrat wurde im Wasserbad bis auf 40 ccm eingeengt. Die dabei entstandene krystallinische Fällung wurde nach dem Abkühlen abfiltriert, getrocknet, mit Wasser nach feinem Zerreiben gut aufgeschlämmt und mit Schwefelwasserstoff zersetzt (mehrmals zu wiederholen). Filtrate und Waschwässer wurden im Luftstrom vom Schwefelwasserstoff befreit und die stark saure Lösung mit frischgefälltem Silbercarbonat bis zur Chlorfreiheit des Filtrates behandelt. Der Silberüberschuß wurde aus dem Filtrat durch Schwefelwasserstoff entfernt, letzterer mit Luft verjagt, die schwach alkalische Lösung mit Weinsäurelösung neutralisiert und eine der dazu nötigen gleiche Menge Weinsäure zugefügt.

Die so erhaltene schwach saure Lösung wurde im Vakuum bei 60–70° zur Trockne gebracht und der Rückstand mit absolutem Alkohol erschöpft. Das alkoholische Filtrat wurde auf 15 ccm eingeengt und 2 Tage stehen gelassen; das ausgeschiedene saure weinsaure Cholin wurde abfiltriert. Das alkoholische Filtrat vom weinsauren Cholin wurde nach Konzentrierung bei 40–50° mit alkoholischer Platinchloridlösung ausgefällt. Die Fällung wurde bei 30–40° mit 70 prozentigem Weingeist ausgelaugt, in dem die Acetylcholinverbindung im Gegensatz zu der des Cholins gut löslich ist. Durch Abdunsten bei 30–40° wurde das Acetylcholinchloroplatinat (wenig gefärbte, rechtwinklig gekreuzte nadelförmige Krystalle) gewonnen. Der Rückstand der Alkoholauslaugung, der noch bedeutende Mengen Cholinchloroplatinat enthielt, wurde zu dessen Gewinnung aus wenig Wasser durch Fällung mit der dreifachen Raummenge Weingeist umkrystallisiert.

b) Nach Boruttau und Cappenberg (100).

30 ccm Fluidextrakt 1 : 1 werden mit 70 ccm 95 prozentigem Weingeist gemischt und die Mischung mit 1 prozentiger weingeistiger Platinchloridlösung völlig ausgefällt. Die Fällung wird nach 1–2 tägigem Stehen abfiltriert, auf dem Filter getrocknet und erst mit wenig kaltem Wasser ausgelaugt, welches das Cholinchloroplatinat löst, die Acetylcholinverbindung ungelöst läßt. Man gewinnt letztere, indem man den Rückstand in Wasser löst und vorsichtig eindunstet. Aus dem Filtrat, welches das Cholinchloroplatinat gelöst enthält, kann man dieses wiederum durch Weingeist fällen.

Enzyme.

Das Verfahren, das man zur Darstellung eines Enzyms einzuschlagen hat, ist sowohl von dem Ausgangsmaterial abhängig, als auch besonders von dem Reinheitsgrad, in dem man es gewinnen will. Die zur Darstellung in Betracht kommenden Operationen sind 1. vorbereitende Maßnahmen, 2. Extraktion, 3. Abscheidung, 4. Reinigung.

Die vorbereitenden Maßnahmen können u. a. darin bestehen, daß man das Material mit Lösungsmitteln, welche keine Enzyme lösen, z. B. Äther oder Weingeist, von Ballaststoffen befreit. Weitere derartige Maßnahmen s. unten bei den Willstätterschen Verfahren.

Die Extraktion der Enzyme erfolgt durch Wasser¹⁾, schwache Salzlösungen, 20 prozentigen Weingeist oder Glycerin meist bei gewöhnlicher oder niederer Temperatur, da die Enzyme in gelöstem Zustand gegen höhere Temperaturen empfindlich sind.

Um die Wirkung von Bakterien und Schimmelpilzen auszuschalten, setzt man, wenn die Extraktion mit Wasser oder Salzlösungen erfolgt, Antiseptica zu, z. B. Chloroform oder Toluol oder Natriumfluorid.

Zur Loslösung der Enzyme aus Verbindungen, welche sie mit Zellbestandteilen bilden können, ist es manchmal nötig, die Lösungsmittel schwach sauer oder schwach alkalisch zu machen. Die Anwendung starker Säuren oder Alkalien ist zu vermeiden, da die Enzyme meistens dagegen sehr empfindlich sind.

Aus der Lösung in Wasser oder Glycerin oder 20 proz. Weingeist werden die Enzyme durch starken Weingeist niedergeschlagen. Doch ist zu beachten, daß einige Enzyme in verdünntem Weingeist löslich sind und daß einzelne bei längerer Berührung mit Weingeist ihre Wirksamkeit einbüßen. Auch durch Sättigung mit Ammonsulfat lassen sich Enzyme aus ihrer Lösung in Wasser oder verdünnter Salzlösung abscheiden.

Die Reinigung kann auf verschiedene Weise erfolgen, häufig schon durch Wiederholung des Verfahrens der Darstellung. Viele Verunreinigungen lassen sich durch Bleiacetat oder durch Quecksilberchlorid oder durch Dialyse entfernen. Eine Anreicherung läßt sich aber besonders dadurch erzielen, daß man das Enzym von geeigneten Stoffen adsorbieren läßt und es aus den „Adsorbaten“ wieder herauslöst („eluiert“). Dies Verfahren ist neuerdings besonders von Willstätter und seinen Schülern ausgebildet wor-

¹⁾ Es sei besonders darauf aufmerksam gemacht, daß Extraktion mit Wasser allein nicht immer genügt, um die Enzyme herauszulösen.

den (vgl. die Darstellung des Invertins aus Hefe, *Annalen der Chemie* Bd. 425, S. 1. 1921.)

Ein Beispiel für die Darstellung eines wenig gereinigten Enzyms ist die S. 16 beschriebene Darstellung des Emulsins. Weitergehend ist schon die Reinigung in dem Wroblewskischen Verfahren (101) zur Darstellung der Diastase. Es beruht darauf, daß Diastase in 50prozentigem Weingeist löslich, in 65prozentigem dagegen unlöslich ist.

3 kg Malz werden einen Tag mit 6 kg 68proz. Weingeist ausgezogen. Der gut ausgepreßte Rückstand wird einen Tag mit 6 l 45proz. Weingeist maceriert, die Flüssigkeit abfiltriert, der Rückstand ausgepreßt und nochmals in derselben Weise extrahiert. Die beiden letzten Macerationen vereinigt man und versetzt sie mit so viel 96proz. Weingeist, daß der Weingeistgehalt der Flüssigkeit 70% beträgt. Man läßt den durch den Weingeist entstehenden Niederschlag absetzen und wäscht ihn mit 70proz. Weingeist aus. Dann löst man ihn wieder durch Verreiben mit 6 l 45proz. Weingeist, fällt das Enzym aus der Lösung wie oben und löst es in möglichst wenig Wasser. Durch Sättigung mit schwefelsaurer Magnesia fällt man es wieder aus, wäscht mit konzentrierter Magnesiumsulfatlösung, löst es wieder in der kleinsten zur Lösung genügenden Wassermenge und dialysiert, bis die dialysierte Flüssigkeit keinen Niederschlag mehr mit Chlorbarium gibt. Zuletzt fällt man das Enzym durch ein Gemenge von Weingeist und Äther und trocknet im Vakuum. Die Trennung des Enzyms von einem dasselbe begleitenden Kohlenhydrat wurde erzielt, indem die Lösung des verunreinigten Enzyms fraktioniert mit Ammoniumsulfat gefällt wurde.

Als Beispiele Willstätterscher Verfahren seien die Darstellung der Peroxydase aus Meerrettich nach dem Verfahren von Willstätter und Stoll (102) und die Darstellung des Emulsins nach Willstätter und Csányi geschildert. Ersteres beruht auf der Dialyse im Pflanzenmaterial, Adsorption in demselben durch Oxalsäure und fraktionierte Extraktion mit Alkali.

Die Wurzeln werden nach eintägigem Lagern im Wasser mit einem Hobel in Schnitzel geschnitten. Je 5 kg Schnitzel werden im Unterteil einer Steinzeugnutsche, die mit Zu- und Ablauf versehen ist, einer 7—9tägigen Dialyse unterworfen, indem man 100—150 l Wasser in der Stunde hindurchfließen läßt. Die Schnitzel werden an der Pumpe möglichst trocken gesaugt und dann mit einer Lösung von 30 g Oxalsäure in 15 l Wasser unter häufigem Umrühren digeriert. Dann werden die Schnitzel auf der Nutsche abgesaugt und abgepreßt und in einer Walzenmühle zu dünnem

Brei gemahlen. Der Brei wird mit 6—8 l Wasser vermischt, auf der Nutsche filtriert und unter Vermeidung des Trockensaugens mit 8—10 l einer 0,01 proz. Oxalsäurelösung nachgewaschen. Die Masse wird abgesaugt, scharf abgepreßt und in feinerriebenem Zustand allmählich mit 1 l $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{2}$ gesättigter Bariumhydroxydlösung verrührt. Nach $\frac{1}{2}$ stündiger Einwirkung — die Reaktion muß schwach sauer oder neutral bleiben — preßt man ab, zerreibt den Preßkuchen und rührt ihn mit 1 $\frac{1}{4}$ l bei 20° gesättigter Bariumhydroxydlösung an. Nach etwa $\frac{1}{2}$ stündiger Einwirkung wird scharf abgepreßt und in den Preßsaft sofort Kohlensäure bis zur schwach sauren Reaktion eingeleitet. Der Preßkuchen kann noch zweimal mit je $\frac{1}{2}$ l halbgesättigter Bariumhydroxydlösung in derselben Weise behandelt werden. Jeder einzelne Auszug wird nach der Neutralisation durch Kohlensäure mit $\frac{9}{10}$ seines Volumens 96 proz. Alkohols versetzt. Die vereinigten Auszüge bleiben über Nacht im Kühlraum, dann wird die Lösung so weit als möglich dekantiert und durch große glatte Filter filtriert. Der Rest wird zentrifugiert. Aus den Filtraten wird die Peroxydase gewonnen, indem man die Flüssigkeit im Vakuum¹⁾ auf 50—70 ccm einengt und durch Vermischen mit der fünffachen Menge absolutem Alkohol fällt. Eine Reinigung wurde zunächst so erzielt, daß man die Lösung von 1 g Rohenzym in 20 ccm Wasser mit Schwefelsäure bis zur sehr schwachen Reaktion versetzte und das Filtrat mit dem sechsfachen Volum Alkohol fällte. Aus diesem Präparat kann man noch durch Quecksilberchlorid ein unwirksames Glykosid abtrennen und aus dem Filtrat die Peroxydase wieder durch Weingeist fällen. Man löst die Fällung, ohne vorher zu trocknen, in wenig Wasser, fällt nach Filtration abermals und wiederholt diese Operation, bis sich das Enzym klar in Wasser löst.

Die Darstellung von Emulsin wird nach R. Willstätter und W. Csányi in folgender Weise vorgenommen. Man erwärmt süße Mandeln in Wasser von 60—70°, enthäutet sie und trocknet sie oberflächlich an der Luft. Dann zerkleinert man sie in der Mandelmühle und preßt sie in der hydraulischen Presse. Zur völligen Entölung extrahiert man sie in einer Flasche mit der dreifachen Menge Äther, saugt ab, mahlt in der Walzenmühle, zieht nochmals mit der doppelten Menge Äther aus, saugt ab und wäscht nach. Man trocknet schließlich in einem warmen Luftstrom und mahlt aufs feinste in einer Siebmühle.

100 g dieses Pulvers verrührt man in einer Flasche mit 250 ccm $\frac{n}{10}$ -Ammoniak und schüttelt nach Verdünnen mit 100 ccm Wasser

¹⁾ Badtemperatur 50°, Innentemperatur der Kolben, die nur bis zum Niveau ihres Flüssigkeitsinhaltes eingetaucht werden, 30°.

5 Stunden lang mit der Maschine. Den ammoniakalischen Auszug trennt man am besten mittels der Zentrifuge ab, rührt die Rückstände in den Zentrifugengläsern mit einem Gemisch von 100 ccm Wasser und 10 ccm $\frac{n}{10}$ Ammoniak an, zentrifugiert nochmals und zieht noch ein drittes Mal aus, falls die alkalische Reaktion verschwunden ist, unter Zusatz einiger Kubikzentimeter Ammoniak. Die vereinigten Auszüge werden mit 300 ccm $\frac{n}{10}$ oder 60 ccm $\frac{n}{2}$ -Essigsäure versetzt. Das Filtrat wird mit der 4 fachen Menge Weingeist versetzt, der Niederschlag mit der Zentrifuge abgetrennt und dann mit absolutem Alkohol und Äther gewaschen. Über eine weitere Reinigung dieses Präparates s. Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 117, S. 172. 1921.

Toxalbumine.

Die pflanzlichen Toxalbumine werden teils wie die Eiweißstoffe, teils wie die Enzyme gewonnen. Das Ricin (103) z. B. wird dargestellt, indem man die ausgepreßten Ricinussamen mit 10 prozentiger Chlornatriumlösung im Perkolator erschöpft, mit schwefelsaurem Magnesium und Natrium bei Zimmertemperatur sättigt und die Lösung dann kalt stellt. Außer den Krystallen der beiden Sulfate entsteht der mechanisch von ihnen zu trennende weiße Niederschlag des Toxalbumins, der in der Kälte abfiltriert, ungewaschen in den Dialysatorschlauch gebracht und dialysiert wird.

Anorganische Bestandteile.

Die anorganischen Bestandteile einer Pflanze sucht man meist durch Veraschung zu ermitteln. Diese Methode gibt jedoch weder darüber eine ganz genaue Auskunft, in welchen Verbindungen jene in der Pflanze enthalten sind, noch ist sie imstande, alle anorganischen Bestandteile der Pflanze zur Ermittlung zu bringen. Ammoniak und Salpetersäure verflüchtigen sich in der Hitze, Salzsäure kann ausgetrieben werden, wenn heiße Kieselsäure auf Chloride wirkt. Durch Einwirkung glühender Kohle auf saure phosphorsaure Salze bildet sich Phosphor, der ebenfalls entweicht. Außerdem können sich bei der gewöhnlichen Art und Weise der Veraschung ein Teil der Salze, so die Chloride der Alkalien der Bestimmung durch Verdampfung entziehen. Die an organische Stoffe gebundenen Alkalien und Erdalkalien bleiben als Carbonate zurück. Schwefelsaure und phosphorsaure Salze können mit Hilfe des in organischer Form vorhanden gewesenen Schwefels und Phosphors erst bei der Veraschung entstehen. Ebenso können sich

in der Asche Sulfide und Cyanide vorfinden, die in der Pflanze selbst nicht vorhanden waren.

Will man sich ein möglichst genaues Bild von dem Vorkommen und der Bindungsweise der anorganischen Bestandteile machen, so muß man vor allem die mit Wasser und verdünnter Salzsäure bereiteten Auszüge nach den Regeln der analytischen Chemie¹⁾ untersuchen und die Rückstände nach sorgfältigem Trocknen der Veraschung unterwerfen unter Berücksichtigung der oben erwähnten Veränderungen, welche bei der Veraschung eintreten können.

Die Veraschungen werden gewöhnlich in Platin- oder Porzellschalen oder in Tiegeln aus gleichem Material ausgeführt, die über direkter Flamme oder in Muffeln erhitzt werden. Oder man benutzt den Veraschungsapparat von Tucker (104), welcher außer einigen anderen Erleichterungen den Vorteil bieten soll, die Verflüchtigung der anorganischen Bestandteile hintanzuhalten. Zur Beförderung der Veraschung hat man verschiedene Zusätze empfohlen, unter denen Platinschwamm, Calciumplumbat, Bariumhydroxyd, Magnesiumacetat und Calciumacetat erwähnt sein mögen.

An Stelle der Veraschung kann die Zerstörung der organischen Substanz durch Salpetersäure und konzentrierte Schwefelsäure (105) vorgenommen werden, durch welches Verfahren allerdings ein Teil der Säuren (Schwefelsäure, Salzsäure, Salpetersäure) dem Nachweis entgeht.

Von anorganischen Säuren finden sich: Salzsäure, Schwefelsäure, Salpetersäure, Phosphorsäure, Borsäure und Kieselsäure. Von Metallen seien Kalium, Calcium, Magnesium, Eisen, Natrium, Aluminium, Mangan, Zink und Kupfer genannt.

Für den Nachweis und die Bestimmung aller dieser Stoffe sei auf die Lehrbücher der analytischen Chemie verwiesen und es sei nur auf ein empfindliches Verfahren zur Prüfung auf das in Spuren weit verbreitete Kupfer aufmerksam gemacht:

Man verascht zunächst, zieht die Pflanzenasche mit Salzsäure und chlorsaurem Kali aus, entfernt überschüssiges Chlor und Salzsäure durch Abdampfen zur Trockne und gibt einige Tropfen der durch Aufnehmen mit Wasser erhaltenen neutralen Flüssigkeit zu blausäurehaltiger Guajak tinktur (besser weingeistige Auflösung von Guajakonsäure) oder Aloinlösung. Tritt im ersten Falle keine Blaufärbung, im letzteren keine Rotfärbung ein, so ist die Gegenwart von Kupfer ausgeschlossen. Weniger empfindlich sind die Reaktionen mit Ferrocyankalium oder Ammoniak.

¹⁾ Man behalte im Auge, daß einige Fällungen durch die Gegenwart organischer Stoffe verhindert werden können.

Literatur.

1. Rosenthaler, L.: Arch. d. Pharmazie Bd. 241, S. 589. 1903.
2. Florence, nach H. Struve: Zeitschr. f. analyt. Chem. Bd. 39, S. 1. 1900.
3. Bourquelot, E.: Journ. pharmacie et de chim. [VI] Bd. 4, S. 481. 1901; Arch. d. Pharmazie Bd. 245, S. 164. 1907.
4. Rosenthaler, L.: Arch. d. Pharmazie Bd. 240, S. 59. 1902.
5. Jahns, E.: Arch. d. Pharmazie Bd. 235, S. 152. 1897.
6. Wiechowski: Pharmazeut. Zeitg. Bd. 67, S. 134. 1922.
7. Tschirch u. Heuberger: Arch. d. Pharmazie Bd. 240, S. 596. 1902.
8. Rosenthaler, L.: Arch. d. Pharmazie Bd. 240, S. 61. 1902.
9. Stütz, E.: Liebigs Ann. d. Chem. Bd. 218, S. 231. 1883.
10. Dragendorff, G.: Die qualitative und quantitative Analyse von Pflanzenteilen. Göttingen 1882, S. 65.
11. Arbeiten a. d. pharmakolog. Institut d. Universität Dorpat, VI, S. 43.
12. Willstätter u. Mallison: Liebigs Ann. d. Chem. Bd. 408, S. 30. 1915.
13. Nach H. Serger: Chemiker-Zeitg. Bd. 35, S. 581. 1911.
14. Hehner u. Mitchell: The Analyst Bd. 23, S. 310. 1898; Zeitschr. f. analyt. Chem. Bd. 39, S. 177. 1900.
15. Holde u. Stange: Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. Bd. 34, S. 2402. 1901.
16. Bömer, A.: Zeitschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel Bd. 17, S. 356. 1909.
17. Bömer, A.: Zeitschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel Bd. 1, S. 21. 1898.
18. Heiduschka u. Gloth: Pharm. Zentralhalle Bd. 50, S. 333. 1909.
19. Fritzsche: Zeitschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel Bd. 26, S. 645. 1913.
20. Nach Benedikt-Ulzer: Analyse der Fette und Wachsarten. Berlin 1903, S. 269.
21. Nach H. Matthes u. W. Rossié: Arch. d. Pharmazie Bd. 256, S. 299. 1918.
22. Windaus u. Hauth: Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. Bd. 39, S. 4378. 1906.
23. Bremer: Forschungsber. über Lebensmittel Bd. 4, S. 6. 1897.
24. Farnsteiner: Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel Bd. 1, S. 390. 1898.
25. Matthes u. Rath: Arch. d. Pharmazie Bd. 252, S. 683. 1914.
26. Grün, A. u. A. Janko: Zeitschr. d. deutsch. Öl- u. Fettindustrie Jg. 1921, Nr. 35 u. 36.
27. Hehner u. Mitchell: The Analyst Jg. 1898, S. 318.
28. Nach A. Heiduschka u. K. Lüft: Arch. d. Pharmazie Bd. 257, S. 51. 1919.
29. Heintz: Journ. f. prakt. Chemie Bd. 66, S. 1. 1855.
30. Kreis u. Hafner: Zeitschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel Bd. 6, S. 22. 1903; H. Matthes u. W. Rossié: Arch. d. Pharmazie Bd. 256, S. 297. 1918.
31. Hehner u. Mitchell: The Analyst Jg. 1896, S. 321.
32. Kreis u. Roth: Zeitschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel Bd. 25, S. 81. 1913.

33. Arnold, W.: Zeitschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel Bd. 23, S. 129. 1912.
34. Leys, A.: Journ. de pharmacie et de chim. [7] Bd. 5, S. 577. 1912; Cl. Grimme: Pharm. Zentralhalle Bd. 62, S. 525. 1921.
35. Bougault, J. u. L. Bourdier: Journ. de pharmacie et de chim. [VI] Bd. 29, S. 561. 1909.
36. Hoppe-Seyler: Handb. d. physiol. u. pathol.-chem. Analyse, 6. Aufl., S. 86.
37. Gildemeister u. Hoffmann: Die ätherischen Öle. Berlin 1899, S. 154.
38. Wallach, O.: Liebigs Ann. d. Chem. Bd. 239, S. 3. 1887.
39. Wallach, O.: Liebigs Ann. d. Chem. Bd. 239, S. 4. 1887.
40. Wallach, O.: Liebigs Ann. d. Chem. Bd. 239, S. 3. 1887.
41. Wallach, O.: Liebigs Ann. d. Chem. Bd. 245, S. 245. 1888.
42. Wallach, O.: Liebigs Ann. d. Chem. Bd. 253.
43. Mann, C.: Arch. d. Pharmazie Bd. 240, S. 149. 1902.
44. Reich: Zeitschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel Bd. 16, S. 497. 1908; Bd. 18, S. 401. 1909.
45. Beckurts, H.: Arch. d. Pharmazie Bd. 230, S. 187. 1892.
46. Tschirch, A.: Schweiz. Apoth.-Ztg. Bd. 57, S. 61. 1919.
47. Reinitzer, F.: Arch. d. Pharmazie Bd. 252, S. 341. 1914.
48. Löwe, J.: Zeitschr. f. analyt. Chem. Bd. 11, S. 365. 1872.
49. Zölffel, G.: Arch. d. Pharmazie Bd. 229, S. 123. 1891.
50. Nach E. Schmidt: Ausführliches Lehrbuch der pharmazeutischen Chemie 1896, II, S. 1210.
51. Löwenthal, v. Schroeder: Zeitschr. f. analyt. Chem. Bd. 25, S. 121. 1886.
52. Ruoff: Zeitschr. f. analyt. Chem. Bd. 41, S. 717. 1902.
53. Fleischer, E.: Arch. d. Pharmazie Bd. 205, S. 97. 1874.
54. Heide, C. v. d. u. H. Steiner: Zeitschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel Bd. 17, S. 291. 1909.
55. Nach A. Wöhlk: Zeitschr. f. analyt. Chem. Bd. 41, S. 77. 1902.
56. Denigès, G.: Journ. de pharmacie et de chim. [VI] Bd. 7, S. 487. 1898.
57. Mohler, E.: Bull. soc. chim. Paris [3] Bd. 4, S. 728.
58. Rosenthaler, L.: Arch. d. Pharmazie Bd. 241, S. 479. 1903.
59. Denigès, G.: nach Jahresber. d. Pharmazie Jg. 1900, S. 237.
60. Charaux: Journ. de pharmacie et de chim. [VII] Bd. 2, S. 292. 1910.
- 60a. Franzen, H. u. E. Schuhmacher: Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 115, S. 9. 1921; Franzen, H. u. E. Stern: ebenda S. 270; Franzen, H. u. R. Ostertag: Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 122, S. 263. 1922; Franzen, H. u. F. Helwert: ebenda S. 46; Franzen, H. u. R. Ostertag: Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. Bd. 55, S. 2995. 1922.
61. Hilger, A.: Zeitschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel Bd. 4, S. 49. 1901.
62. Widtsoe u. Tollens: Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. Bd. 33, S. 135. 1900.
63. Gans u. Tollens: Liebigs Ann. d. Chemie Bd. 249, S. 219. 1888.
64. Schulze, E.: Landwirtschafft. Versuchsstationen Bd. 34, S. 408. 1887.
65. Barfoed, Ch. T.: Lehrbuch d. organ. qualit. Analyse. Kopenhagen Jg. 1881, S. 211.
66. Winterstein, E.: Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 104, S. 217. 1919.
67. Lippmann, E. O. v.: Die Chemie d. Zuckerarten Jg. 1895, S. 431.
68. Fischer, E.: Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. Bd. 17, S. 579. 1884.
69. Stahel, R.: Liebigs Ann. d. Chem. Bd. 258, S. 244. 1890.
70. Wolff, H.: Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. Bd. 28, S. 160. 1895.
71. Neuberg, C.: Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. Bd. 35, S. 959, 2626. 1902.

72. Ruff, O. u. G. Ollendorff: Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. Bd. 32, S. 3236. 1899.
73. Maquenne: Cpt. rend. hebdom. des séances del'acad. des sciences Bd. 107, S. 910.
74. Tollens, B.: Liebigs Ann. d. Chem. Bd. 232, S. 186. 1886.
75. Wehmer, C. u. B. Tollens: Liebigs Ann. d. Chem. Bd. 243, S. 314. 1888.
76. Wheeler u. Tollens: Liebigs Ann. d. Chem. Bd. 254, S. 239. 1889.
77. Allen u. Tollens: Liebigs Ann. d. Chem. Bd. 260, S. 305. 1890.
78. Jorissen: Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. Bd. 13, S. 2439. 1880.
79. Rosenthaler, L.: Zeitschr. f. analyt. Chem. Bd. 48, S. 169. 1909.
80. Günther, A., G. de Chalmot u. B. Tollens: Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. Bd. 24, S. 3581. 1891.
81. Stone, W. E.: Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. Bd. 24, S. 3019. 1891.
82. Widtsoe u. Tollens: Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. Bd. 33, S. 146. 1900.
83. Ellett, W. B. u. Tollens: Zeitschr. f. die Rübenzuckerindustrie Deutschlands Bd. 42, S. 19. 1905; Ellett: Diss. Göttingen 1904; W. Mayer u. B. Tollens: Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. Bd. 40, S. 2434, 2441. 1907; W. Mayer: Dissertation, Göttingen.
84. Bertrand, G.: Bull. soc. chim. France [3] Bd. 5, S. 546. 1891; Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. Bd. 35, S. 1460. 1902.
85. Hilger, A. u. S. Rothenfußer: Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. Bd. 35, S. 1841, 4444. 1902.
86. van der Haar, A. W.: Anleitung z. Nachweis usw. der Monosaccharide und Aldehydsäuren, Berlin 1920, S. 305, 313.
87. Dennstädter u. Voigtländer: Forschungsber. über Lebensmittel usw. Jg. 1895, S. 173; Zeitschr. f. angew. Chemie Jg. 1900, S. 1074.
88. Baumert u. Bode: Zeitschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel Bd. 4, S. 378. 1901; Bd. 7, S. 65. 1904.
89. Mannich, C. u. K. Lenz: Zeitschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel Bd. 40, S. 1. 1920.
90. Hoffmeister: Landwirtsch. Versuchsstationen Jg. 1898, S. 347.
91. Koenig, J.: Zeitschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel Bd. 6, S. 769. 1903.
92. Willstätter, R. u. L. Zechmeister: Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. Bd. 46, S. 2404. 1913.
93. Ost, H. u. L. Wilkening: Chemiker-Zeitg. Bd. 34, S. 461. 1910.
94. Schmiedeberg, O.: Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 1, S. 206.
95. Drechsel: Journ. f. prakt. Chemie Bd. 19, S. 332. 1879.
96. Hofmeister, F.: Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 14, S. 165. 1890.
- 96a. Schulz, E.: Landwirtschaftl. Versuchsstationen Bd. 48, S. 33.
97. Barger, G.: Journ. of the chem. soc. (London) Bd. 95, S. 1123; Chem. Zentralbl. Jg. 1909, II, S. 834.
98. Barger, G. u. H. Dale: Journ. of the chem. soc. (London) Bd. 97, S. 2592; Jahresber. d. Chemie Jg. 1910, Ia, S. 1333.
99. Ewins, A. J.: Biochem. Journ. Bd. 8, S. 44. 1914.
100. Boruttau, H. u. H. Cappenberg: Arch. d. Pharmazie Bd. 259, S. 33. 1921.
101. Wroblewski: Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 24, S. 178. 1898.
102. Willstätter, R. u. A. Stoll: Liebigs Ann. d. Chemie Bd. 416, S. 21. 1918; Willstätter, R.: Liebigs Ann. d. Chem. Bd. 422, S. 47. 1921.
103. Arbeiten des pharmakologischen Instituts zu Dorpat III, S. 79.
104. Tucker, G. M.: Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. Bd. 32, S. 2583. 1899.
105. Neubauer, H.: Zeitschr. f. analyt. Chem. Bd. 43, S. 14. 1914.

Sachverzeichnis.

- Abdampfen 6.
Acetylbestimmung 60.
Acetylcholin 103.
Acetylierung 37, 60.
Acetylzahl 60.
Äpfelsäure 73, 74, 75, 76, 79, 80.
Äther, absoluter 13.
Ätherisches Öl 59.
— quant. Bestimmung 62.
— Trennung von Harz 63.
Albumin 23, 96, 98.
Albumosen 23, 97.
Alkalische Kupferlösung 9.
Alkaloide 10, 11, 12, 13, 14, 26.
— quant. Bestimmung 31.
— Reinigung 28.
— Trennung mehrerer voneinander 30.
Alkaloidfällungsmittel 10, 29.
Alkoholyse 44.
Amine, proteinogene 101.
Amyloid 92.
Anorganische Bestandteile 108.
Arabinose 90, 91.
— Benzylphenylhydrazon 91.
— p-Bromphenylhydrazon 91.
— β -Naphthylhydrazon 92.
Arachinsäure 54.
Arginin 100, 101.
Aschenbestimmung 103 ff.
Asparagin 100.
Asparaginsäure 100.
Ausschütteln 11.
- Barfoeds Reagens 83.
Barytmethode 36.
Bassorin 81, 94.
Baudouins Reaktion 42.
Becchis Reaktion 43.
Belliers Reaktion 42.
- Bernsteinsäure 77, 79, 80, 81.
Betain 14.
Bitterstoffe 40.
Biuretreaktion 23.
Blausäure 10.
Blausäure abspaltende Glykoside 10
32.
Bleihydroxydmethode 36.
Bleimethode 17.
Bleisulfidmethode 37.
Bourquelots Verfahren 15.
- Cavallis Reaktion 43.
Chlorogensäure 77.
Chlorophyll 6.
Cholin 14, 103.
Crace-Calvert's Reaktion 43.
- Denigès Reagens 76.
Dextrose s. Glykose.
Diastase 106.
- Eiweiß 23, 96.
— quant. Bestimmung 99.
— -Reaktionen 23.
Elaidinprobe 43.
Emulsin 16, 107.
Enzyme 105.
Etholide 58.
- Farbstoffe 40.
Fettalkohole 46, 57.
Fettsäuren 49 ff.
Fructose 85, 86, 87.
— Methylphenylosazon 86.
— Nachweis neben Glykose 85.
— Trennung von Glykose 85.
- Galaktose 89, 91.
Galakturonsäure 92.

- Gallussäure 69, 71.
 Gang 21.
 Gerbstoffe 68.
 — quant. Bestimmung 71.
 — Reaktionen 71.
 — Trennung von organischen Säuren 74.
 Globuline 96, 97.
 Glutamin 100.
 Glutaminsäure 100.
 Glykogen 93.
 Glykose 85, 87.
 — Nachweis neben Fructose 85.
 — Benzhydrazid 85.
 — Phenylsazon 85.
 Glykuronsäure 92.
 Glyceride 44.
 Glycerin, Nachweis 49.
 — quant. Bestimmung 56.
 Gummi 23, 81, 88.
 — Hydrolyse 89.
 — schwerlösliche Modifikation 92.

Halpens Reaktion 43.
 Harz 63.
 Hauchecornes Reaktion 43.
 Histamin 102.
 Histidin 101.

Idäin 41.
 Imidazolyläthylamin 102, 103.
 Inosit 78, 87.
 Inulin 24, 93.
 — quant. Bestimmung 93.
 Invertin 15.
 Isoamylamin 102.

Kaffeesäure 77.
 Kautschuk 22.
 Kohlenhydrate 81.
 Kohlenhydratreaktionen 12.
 Krautsches Reagens 29.
 Kreissche Reaktion 42.
 Kupfer, Nachweis 109.
 Kupfermethode 20, 37.

Lävulinsäure 89.
 Lävulose s. Fructose.
 Lecithine 58.
 Leucin 100.
 Lignin 24, 95, 96.
 — Trennung von Cellulose 25, 95.
 Linolensäure 51, 52.
- Linolsäure 51, 52.
 Lysin 101.

Magnesiummethode 36.
 Maltose 87.
 — Osazon 87.
 Mannan 94.
 Mannit 87.
 Mannose 91.
 Membranstoffe 24, 94 ff.
 Methylfurfurol 89, 91.
 — quant. Bestimmung 91.
 Methylpentosen 90.
 Mikrosublimation 8.
 Mol. Gewichtsbestimmung von Fettsäuren 54.

Öl, ätherisches 59.
 — fettes 41.
 Oxalsäure 73, 74, 76, 79, 81.
 Oxyphenyläthylamin 102.
 Oxyzellulose 24, 94.

Palmitinsäure 52, 53.
 Pektinstoffe 92.
 Pentosane 94.
 — quant. Bestimmung 94.
 Pentosen 90.
 — quant. Bestimmung 90.
 Peroxydase 106.
 Phlobaphene 24, 72.
 Phosphatide 58.
 Phytosterin 44—48.
 Pieraerts Reagens 87.
 Pikratpapier 10.
 Pukalls Filtrierverfahren 6.

Quercitrin 40.

Resene 63.
 Resine 63.
 Resinole 64.
 Resinotannole 64.
 Rhamnose 90.
 — Nachweis neben Glykose 40.
 Ricin 108.
 Rohrzucker 15, 84.
 — Trennung von anderen Zuckern 84.

Säuren 72.
 — quant. Bestimmung 80.
 — Trennung von Farbstoffen 74.

Saponin 34 ff.
— quant. Bestimmung 38.
Schleim 81, 92.
Schwefel 8.
Schweizersches Reagens 95.
Sergers Reaktion 42.
Soltsiens Reaktion 43.
Stärke 24, 93.
— quant. Bestimmung 94.
Stas-Ottosches Verfahren 11.
Stearinsäure 52, 53.
Stickstoff 8.
Sulfitlauge 25.

Terpene 59, 61, 62.
Toxalbumine 108.
Traubenzucker s. Glykose.

Tyramin 102.
Tyrosin 100, 101.

Veraschung 108.
Verseifung der Fette 44.
— der Harzester 63, 67.

Wachse 56.
Welmanns Reaktion 42.
Weinsteinsäure 73, 76, 79, 80.
Wiedemanns Reaktion 42.

Xylan 94.
Xylose 90, 91.

Zellulose 24, 82, 95.
— quant. Bestimmung 96.
— Trennung von Lignin 25, 95.
Zitronensäure 73, 74, 75, 79, 80.