

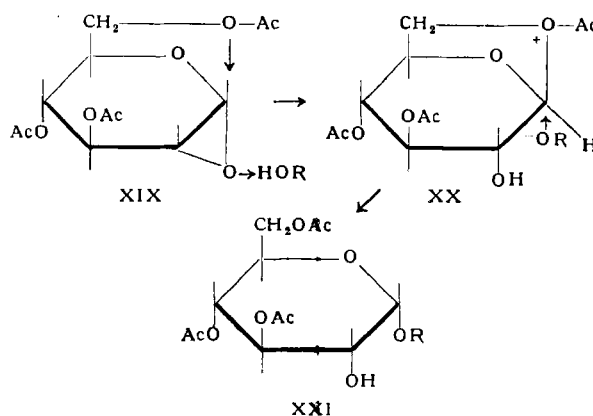
von *Brigs* Anhydrid normalerweise ausschließlich  $\beta$ -Glykoside; bei höheren Temperaturen wurden auch  $\alpha$ -Glykoside erhalten. Ein Acetat der Maltose (4-O- $\alpha$ -D-Glucopyranosyl-D-glucose) ließ sich durch 13stündige Einwirkung von *Brigs* Anhydrid auf 1.2.3.6-Tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranose bei 100 °C erhalten<sup>105</sup>). Das Acetat der Saccharose wurde ähnlich durch 14stündiges Einwirken des Anhydrids auf 1.3.4.6-Tetra-O-acetyl-D-fructofuranose bei 100 °C gewonnen<sup>106</sup>). Das Acetat der  $\alpha,\alpha$ -Trehalose ( $\alpha$ -D-Glucopyranosyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid) wurde aus 2.3.4.6-Tetra-O-acetyl-D-glucose durch 36 h Erhitzen in Benzol auf 100 °C erhalten<sup>104</sup>). Verwendete man je 2 g der Ausgangsstoffe, konnte das Trehalose-Derivat in einer Ausbeute von nur 15 mg isoliert werden; es war durch etwa die gleiche Menge eines Isomeren verunreinigt, das als  $\alpha,\beta$ -Trehalose angesehen wurde. Dieses besaß Eigenschaften, die mit denen einer Verbindung übereinstimmten, die auf ähnliche Weise von *Haworth* und *Hickinbottom*<sup>107</sup>) erhalten worden war. *Sharp* und *Stacey*<sup>103</sup>) haben die Identität der früher hergestellten Substanz in Zweifel gezogen; denn ihre Eigenschaften stimmten nicht mit denen ihrer eigenen Verbindung überein, die im vorhergehenden Abschnitt beschrieben wurde.

Die von *Haworth* und *Hickinbottom* und von *Lemieux* gefundenen Konstanten stimmten mit denen von *Bredereck*, *Höschle* und *Ruck*<sup>49</sup>) und denen von *Helferich* und *Weiss*<sup>78</sup>) überein. *Lemieux*<sup>96</sup>) vermutete, daß die Bildung der bei dieser Reaktion entstandenen  $\alpha$ -D-Glykoside auf der Umwandlung des Anhydrids (XIX) durch einen Alkohol bei höherer Temperatur in das cyclische 1.6- $\beta$ -D-Ion (XX) beruht. Durch Platzwechselreaktion soll sich dann aus XX das  $\alpha$ -D-Glykosid XXI bilden.

Trotz der hervorragenden Arbeiten von *Lemieux* ist man noch nicht der Notwendigkeit enthoben worden, Methoden zu finden, die in guter Ausbeute oder bei empfindlichen

<sup>107</sup>) W. N. Haworth u. W. J. Hickinbottom, J. chem. Soc. [London] 1937, 2487.

Zuckern wenigstens in geringer Ausbeute zur Herstellung von  $\alpha$ -glykosidischen Bindungen führen. Der Chemiker findet Befriedigung darin, den sich in der Natur abspielenden Synthesen in vitro Synthesen gegenüberzustellen, und



auf dem Gebiet der einfachen Disaccharide waren seine Bemühungen von Erfolg gekrönt. Die Synthesen der Saccharose, Maltose und  $\alpha,\alpha$ -Trehalose sind gerechterweise mit Begeisterung aufgenommen worden. Jedoch sind durch die erzielten Erfolge neue Probleme aufgetaucht, und es wird notwendig sein, neue Methoden zu entwickeln, um die Chemie von Verbindungen wie Streptomycin: meso-(Diguanidinotrihydroxy-cyclohexyl)(2-N-methyl-amino-2-desoxy- $\alpha$ -L-glucopyranosyl)-3-C-formyl-5-desoxy- $\beta$ -L-lyxofuranosid zu erforschen<sup>108</sup>).

Die Abfassung dieses Aufsatzes wurde durch vom National-Institut of Health zur Verfügung gestellte Geldmittel unterstützt (U. S. P. H. S. grants A-1225 und A-1303).

Übersetzt von W. Busse, M. S., Münster/Westf.

Eingegangen am 29. April 1957 [A 812]

<sup>108</sup>) R. U. Lemieux u. M. L. Wolfrom, Advances Carbohydrate Chem. 3, 337 [1948]; M. L. Wolfrom u. C. W. DeWalt, J. Amer. chem. Soc. 70, 3149 [1948]; M. L. Wolfrom, M. J. Cron, C. W. DeWalt u. R. M. Husband, ebenda 76, 3675 [1954].

## Der Kohlenhydratstoffwechsel der Gräser

Von Prof. Dr. H. H. SCHLUBACH

Chemisches Staatsinstitut Hamburg, Universität

Professor Helferich zu seinem 70. Geburtstag in Freundschaft gewidmet

Die Gräser sammeln in den Blättern ihre Reserven an Kohlenhydraten in der Hauptsache in Form von Polyfructosanen an. Bei neun der wichtigsten Grasarten handelt es sich um in 2.6-Stellung mit einander verbundene unverzweigte Fructofuranose-Ketten verschiedenen maximalen Polymerisationsgrades (zwischen 15 und 55 Gliedern). Die Polyfructosane entstehen durch enzymatische Transfructosidation, ausgehend von Fructoseanhydrid oder Saccharose. Im letzteren Falle wird das eine Ende der Kette durch Glucose gebildet. Beide Bauarten können in der gleichen Grasart nebeneinander vorkommen. Das Verhältnis der Anteile an der glucose-freien und der glucose-haltigen Komponente kann wechseln. Das Werden und Vergehen der löslichen Kohlenhydrate und des Eiweißes während einer ganzen Vegetationsperiode wurde bei drei der wichtigsten Grasarten verfolgt. Die Nutzungsmöglichkeiten, welche sich daraus für die Grünlandwirtschaft ergeben, werden erörtert.

### Isolierung, Kennzeichnung und Struktur der Polysaccharide

Schon vor dem Aufkommen des Ackerbaues haben die Gräser über die Haustiere der menschlichen Ernährung gedient. Auch heute wird auf der Erde von den landwirtschaftlich genutzten Flächen noch ein Drittel vom Grünland bedeckt. Neben dem Eiweiß, das die Gräser aufbauen, sind es in erster Linie die in ihnen angesammelten löslichen Kohlenhydrate die ihren Nährwert bedingen. Im Gegen-

satz zu dieser grundlegenden Bedeutung ist unsere Kenntnis der Zusammensetzung dieser Kohlenhydrate, ihres Baues und ihrer Bildungsweise bis vor kurzem recht unvollkommen geblieben. Dies ist wohl mit darauf zurückzuführen, daß es bis dahin an Methoden gefehlt hatte, derartige Gemische von Kohlenhydraten, wie sie in den Gräsern vorliegen und durch Extraktion mit Wasser oder verdünntem Alkohol leicht aus ihnen zu gewinnen sind, in ihre Bestandteile zerlegen zu können. Erst die selektive Desorp-

tion von Säulen mit geeigneten Adsorbentien wie Kohle oder Silicagel hat es erlaubt an die Lösung dieser Aufgabe gehen zu können.

Zuvor war es nur möglich, die am schwersten lösliche Komponente des Gemisches, welche dessen Hauptmenge ausmacht, durch fraktionierte Fällung der wässrigen Lösungen mit Alkohol herauszuarbeiten. Als Maß für die Trennung diente, daß man so lange fraktionierte, bis die Hauptmenge der Fällung und eine geringe Mutterlauge Drehungsgleichheit aufwiesen. Da es sich um ein Gemisch von Gliedern einer polymerhomologen Reihe von Polysacchariden handelt, werden die Unterschiede zwischen den einzelnen Stufen mit steigender Gliederzahl immer kleiner und infolgedessen die Trennungsmöglichkeiten immer geringer. Es ist deshalb nur möglich, Gemische mit einem Durchschnittspolymerisationsgrad  $\bar{P}$  zu erhalten. Diese Verhältnisse lassen sich am besten aus einem Versuch erkennen, bei dem ein künstliches Gemisch von Polysacchariden der Polymerisationsgrade 15 und 30 im Verhältnis 60:40, im Bilde 1 schraffiert, fraktioniert wurde<sup>1)</sup>.

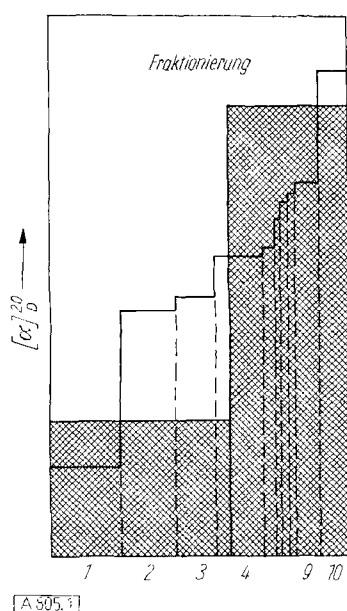


Bild 1  
Fraktionierte Fällung  
eines Gemisches von  
Polysacchariden der  
Polymerisationsgrade  
15 und 30 im Ver-  
hältnis 60:40

Wie ersichtlich, ließ es sich nur in 10 Fraktionen mit wachsendem Polymerisationsgrad zerlegen.

Immerhin war es so möglich festzustellen, daß der Polymerisationsgrad in den neun eingehender untersuchten Grasarten recht verschiedene Höchstwerte erreichen kann. Reinkulturen der folgenden Gräser dienten zu diesen Untersuchungen:

*Alopecurus pratensis*, *Avena flavescens*, *Dactylis glomerata*, *Festuca pratensis*, *Festuca rubra*, *Lolium multiflorum*, *Lolium perenne*, *Phleum pratense* und *Poa pratensis*.

Es sind dies die in Mitteleuropa wichtigsten Grasarten, welche den überwiegenden Teil der Wiesen und Weiden bedecken. Unter ihnen übertrifft das *Lolium perenne*, Deutsches Weidelgras, Englisch Ryegrass, alle übrigen an Bedeutung. Es ist deshalb vorwiegend zum Gegenstand spezieller Untersuchungen gewählt worden.

Die so durch fraktionierte Fällung der wässrigen Lösungen mit Alkohol erhaltene, am schwersten lösliche Komponente macht den Hauptteil des Gemisches aus. So beträgt sein Anteil beim *Lolium perenne* 80%, bei *Dactylis glomerata* sogar 85%. Die Aufklärung seines Baues hat sich daher als die erste Aufgabe ergeben. Da die Säurehydrolyse der nicht reduzierenden Polysaccharide Fructose ergibt, bisweilen

<sup>1)</sup> H. H. Schlubach u. H. Lübbers, Liebigs Ann. Chem. 594, 43 [1955].

neben wenig Glucose, handelt es sich um Polyfructosane. Die Ermittlung ihrer Molekulargewichte und damit der Polymerisationsgrade wird durch den Umstand erschwert, daß zwei der hierfür gebräuchlichsten Methoden, die kryoskopische und die osmometrische, versagen. Erst die Kombination von fünf anderen, voneinander unabhängigen Methoden ermöglichte zuverlässige Werte.

Einmal erlaubt es die Bausteinanalyse nach der Methylierungsmethode die Endgruppen zu erfassen und aus ihren Anteilen die Mindestpolymerisationsgrade zu errechnen. Da mit steigendem Polymerisationsgrad dieser Anteil immer kleiner wird, mußte die Genauigkeit der Bestimmung der Endgruppen wesentlich gesteigert werden. Es ist dies durch eine selektive Desorption der bei der Säurehydrolyse der Methyläther freigelegten partiell methylierten Hexosen an Silicagelsäulen möglich geworden<sup>2)</sup>. Als Beispiel für den erreichten Genauigkeitsgrad seien die aus *Phleum pratense* erhaltenen Werte angeführt<sup>3)</sup>:

Tetramethyl-fructose	20,6 mg
Trimethyl-fructose	937,0 mg
Dimethyl-fructose	18,5 mg

Aus der genauen Äquivalenz der Anteile an Tetra- und Dimethyl-fructose folgt, daß es sich um unverzweigte Ketten handelt. Die Gräser unterscheiden sich hierin scharf von den Getreidearten. Denn die in ihnen gebildeten Polyfructosane sind stark verzweigt<sup>4)</sup>.

Aus den Bausteinanalysen der aus den verschiedenen Grasarten isolierten Polyfructosane ergibt es sich, daß es sich um eine polymerhomologe Reihe handelt, deren Gliederzahl sich zwischen 15 und 55 bewegen kann.

Diese Unterschiede kommen auch in den optischen Drehungen der einzelnen Glieder der Reihe zum Ausdruck. Denn diese ändern sich sowohl bei den freien Polysacchariden als auch bei den zugehörigen Acetyl- und Methyl-Verbindungen symmetrisch dem Polymerisationsgrad<sup>5)</sup> (Bild 2).

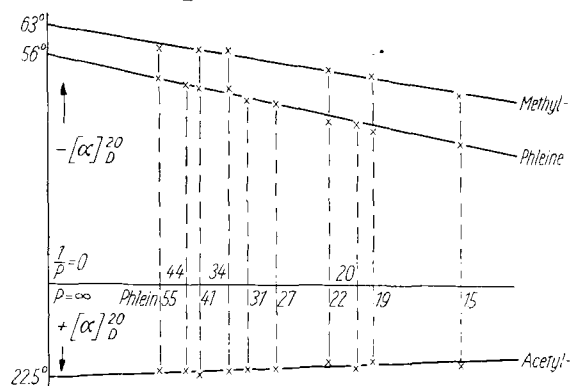


Bild 2

Optisches Drehungsvermögen der Polysaccharid-Derivate

Die Grenzwerte sind die spezifischen Drehungen der Kettenglieder. Die einzelnen Glieder wurden zunächst nach den Gras-Arten benannt aus denen sie isoliert wurden. Nachdem ihre Zugehörigkeit zu der gleichen polymerhomologen Reihe erkannt war und die zuerst erhaltene Verbindung aus *Phleum pratense* gewonnen<sup>6)</sup> und deshalb als Phlein bezeichnet wurde, werden sie jetzt allgemein als Phleine mit dem Polymerisationsgrad als Index, also z. B. Phlein<sub>15</sub> oder Phlein<sub>55</sub> unterschieden. Wenn die Zugehörigkeit zu der Reihe der Phleine angenommen werden kann, läßt sich schon aus der Drehung der Polymerisationsgrad abschätzen.

<sup>2)</sup> H. H. Schlubach u. A. Heesch, ebenda 572, 114 [1951].

<sup>3)</sup> H. H. Schlubach u. K. Holzer, ebenda 578, 213 [1952].

<sup>4)</sup> H. H. Schlubach, Experientia 9, 230 [1953].

<sup>5)</sup> H. H. Schlubach u. H. Lübbers, Liebigs Ann. Chem. 594, 45 [1955].

<sup>6)</sup> H. H. Schlubach u. Q. Ketusch, ebenda 544, 113 [1940].

Da es sich um unverzweigte Kettenmolekeln handelt, sollte für die Phleine die Beziehung gelten, welche *Staudinger* zwischen dem Polymerisationsgrad und der Viskosität aufgestellt hat:

$$\frac{\eta_{sp}}{C_{gm}} = K_m \cdot M.$$

Sie läßt sich in der Tat auf die Polyfructosane der Gräser übertragen<sup>7)</sup>.

Außer durch Säuren lassen sich die Polyfructosane auch durch Invertin aus Hefe spalten. Papierchromatographisch läßt sich nachweisen, daß bei der enzymatischen Hydrolyse vom Ende der Kette her Glied nach Glied abgespalten wird. Die Halbwertszeiten der Spaltung verhalten sich daher umgekehrt proportional der Kettenlänge und die relativen Zeitwerte geben die Unterschiede der Kettenlängen wieder<sup>8)</sup> (Bild 3). Die Säurespaltung verläuft ebenfalls annähernd proportional dem Polymerisationsgrad, aber nicht nach einem so einfachen Mechanismus, da die Ketten nach statistischen Regeln aufgespalten werden<sup>9)</sup>.

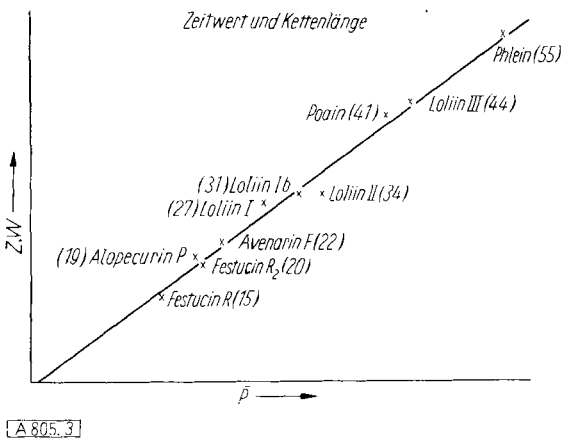


Bild 3  
Invertin-Spaltung und Polymerisationsgrad

Da keine halbdurchlässigen Membrane für die Bestimmung des Molekulargewichtes aus dem osmotischen Druck unter einer Mindestgröße von 5000 zur Verfügung standen, ließen sich nach dieser Methode nur für die höchsten Glieder der Reihe zuverlässige Werte erhalten. Bei den niederen fielen sie wegen Zurückbleiben der Steighöhe durchweg zu hoch aus.

Die Tabelle 1 läßt erkennen, wie weit die nach den genannten fünf Methoden erhaltenen Werte übereinstimmen:

	$[\alpha]_D^{20}$	$\bar{P}_\alpha$	$Z_\eta$	$\bar{P}_\eta$	ZW	$\bar{P}_{ZW}$	$\bar{P}_{Osm}$	$\bar{P}_{Bau}$
Phlein .....	-50,0	55	0,0210	57	1980	56	56	50
Loliin III .....	-48,7	45	0,0157	42	1620	46	45	
Poain .....	-48,2	42	0,0143	39	1520	43	47	41
Loliin II .....	-47,7	40	0,0090	24	1060	30	40	34
Loliin Ib .....	-45,0	30	0,0130	33	1080	31		
Dactylin III .....	-45,0	30	0,0108	29				28
Festucin P .....	-44,0	28	0,0118	31,9			37	29,5
Loliin I .....	-44,2	28	0,0084	23	1020	29		
Loliin M .....	-40,5	21,3	0,0084	22,7				19
Avenarin F .....	-40,0	21	0,0074	20	800	23		23
Dactylin II .....	-40,0	20	0,0074	20				19
Festucin R 2 .....	-39,4	20	0,0074	20	680	20		
Alopecurin .....	-37,5	18	0,0068	18	720	21		21
Festucin R .....	-34,5	15	0,0063	17	480	14		16
Dactylin I .....	-34,0	15	0,0044	12				14

Tabelle 1. Übersicht zu den Mol-Gew.-Bestimmungen

Bei *Dactylis glomerata* endlich wurde nach einer sechsten unabhängigen Methode, der Messung der Diffusionsge-

<sup>7)</sup> H. H. Schlubach u. L. Gassmann, ebenda 583, 84 [1953].  
<sup>8)</sup> H. H. Schlubach u. H. Lübbers, ebenda 594, 46 [1955].  
<sup>9)</sup> H. H. Schlubach u. K. Holzer, Liebigs Ann. Chem. 578, 216 [1952].

schwindigkeit und der Sedimentation in der Ultrazentrifuge, der gleiche Wert wie nach den anderen Methoden erhalten<sup>10)</sup>.

Die Übereinstimmung der Werte nach sämtlichen Methoden lassen sie als zuverlässig ansehen.

Für die angenommene Kettenstruktur wurde ein weiteres Argument darin gefunden, daß analog wie bei der Cellulose und dem Xylan bei der partiellen Säurehydrolyse des Loliins Oligosaccharide, hier eine Di- und eine Tri-fructose, isoliert werden konnten<sup>11)</sup>.

Da die bei der Säurehydrolyse der Methyläther als Hauptmenge anfallende Trimethyl-fructose die Konstitution einer 1.3.4-Trimethyl-fructose besitzt, folgt hieraus, daß die einzelnen Kettenglieder über das 2. und 6. Kohlenstoffatom miteinander durch die Sauerstoff-Brücken verbunden sind. Bei der Hydrolyse der Methyläther ergibt das eine Ende der Kette die 1.3.4.6-Tetramethyl-fructose. Das andere Ende wird durch ein Difructose-anhydrid gebildet, das bei der Hydrolyse zur Hälfte die 3.4-Dimethyl-fructose, zur anderen 1.3.4-Trimethyl-fructose ergibt. Wie unten ausgeführt wird, kann an Stelle dieses Difructose-anhydrids auch die Saccharose treten und infolgedessen die andere Endgruppe durch Glucose gebildet werden. Aus der leichten Hydrolysierbarkeit geht weiter hervor, daß es sich um Fructofuranose-Ketten handelt.

Die Hauptmenge der in den Gräsern angesammelten Polysaccharide besteht demnach aus in 2.6-Stellung miteinander verbundenen unverzweigten Fructofuranose-Ketten mit 15 bis 55 Gliedern.

Wesentlich schwieriger als die Isolierung der am schwersten löslichen Hauptkomponente des Gemisches ist die Herausarbeitung der leichter löslichen Kohlenhydrate gewesen. Bei *Dactylis glomerata* konnten so neben dem Dactylin III mit 85% und einem  $\bar{P}$  von 28 noch ein Dactylin II mit 10% und einem  $\bar{P}$  von 20, endlich ein Dactylin I mit 4,5% und einem  $\bar{P}$  von 14 isoliert werden<sup>12)</sup>. Aber das Gemisch kann noch komplexer zusammengesetzt sein, wie aus der Gesamtanalyse des Extraktes aus *Lolium perenne* hervorgeht<sup>13)</sup>:

Glucose .....	2,0 %
Fructose .....	1,5 %
Saccharose .....	1,2 %
Trisaccharide .....	0,5 %
Tetrasaccharide .....	0,1 %
Niedere Polyfructosane .....	12,2 %
Höhere Polyfructosane .....	80,0 %
Asche .....	2,5 %
	100,0 %

Tabelle 2  
Zusammensetzung der löslichen Kohlenhydrate in *Lolium perenne* im Frühjahr

Wie aus Tabelle 2 ersichtlich, sind an ihm außer Glucose und Fructose auch Oligosaccharide beteiligt. Für die Abtrennung der letzteren hat sich die Methode der selektiven Desorption von einer Kohlesäule<sup>14)</sup> gut bewährt. In den Extrakten aus *Lolium perenne* konnte so ein Trisaccharid, die Ke-stose, nachgewiesen werden. In ihr ist ein zweiter Fructose-Rest an die Fructose-Hälfte der Saccharose ge-

<sup>10)</sup> J. D. Bell u. A. Palmer, J. chem. Soc. [London] 1952, 3763.  
<sup>11)</sup> H. H. Schlubach u. G. Blaschke, Liebigs Ann. Chem. 595, 224 [1955].  
<sup>12)</sup> H. H. Schlubach u. E. W. Trautschold, ebenda, im Druck.  
<sup>13)</sup> H. H. Schlubach, H. Lübbers u. H. Borowski, ebenda 595, 234 [1955].  
<sup>14)</sup> H. H. Schlubach, H. Lübbers u. H. Borowski, ebenda 595, 230 [1955].

bunden. Daneben wurde ein ebenfalls nicht reduzierendes, nur aus vier Fructose-Resten zusammengesetztes Tetrasaccharid gefunden. Eine weit umfangreichere Reihe von Oligosacchariden hat sich aus den Mutterlaugen des Extraktes aus *Avena flavescens* durch selektive Desorption der Borate bei einem  $p_H$  von 10 gewinnen lassen. Neben der Kestose treten hier deren höhere Homologe mit 3, 4 und 5 Fructose-Resten auf eine Glucose auf<sup>15</sup>). Daneben wurde das gleiche, nur aus vier Fructose-Resten aufgebaute Tetrasaccharid wie in *Lolium perenne* und ein Pentasaccharid der gleichen Bauart gefunden. Trägt man die Drehungen dieser beiden Verbindungen gegen  $1/P$  auf und verlängert man die Verbindungslinie bis zu den Werten der Polyfructosane so erhält man eine gerade Linie, welche die Zusammengehörigkeit der beiden Oligosaccharide zu diesen erkennen läßt. Die Verbindungslinie der Drehungswerte der glucose-haltigen Reihe, beginnend mit der Saccharose als Grundsubstanz, bildet dagegen eine schwach gekrümmte Kurve, die sich asymptotisch der Linie der glucose-freien Reihe nähert. Für das parallel der Saccharose für die glucose-freie Reihe als Grundsubstanz anzunehmende Diffructose-anhydrid haben sich schon Anhaltspunkte ergeben. Seine Isolierung ist aber noch nicht gelungen, weil es weit leichter als die Saccharose der Hydrolyse unterliegt.

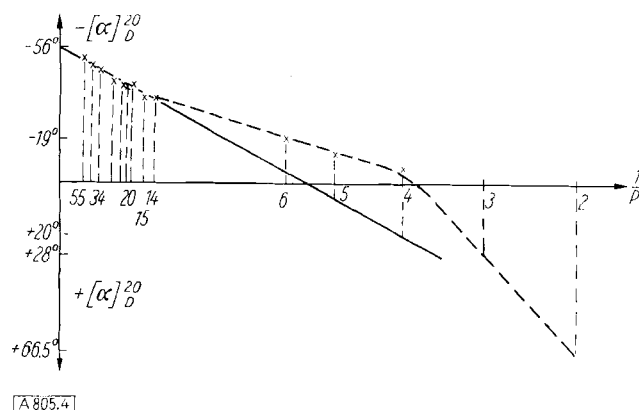


Bild 4  
Drehungswerte von glucose-haltiger und glucose-freier Reihe  
gegen  $1/P$  aufgetragen

Da also mit nur noch einigen wenigen Lücken eine fortlaufende polymerhomologe Reihe nachgewiesen ist, liegt in den Polyfructosanen der Gräser ein besonders schönes Beispiel einer natürlichen polymerhomologen Reihe vor.

### Bildung der Polysaccharide in den Gräsern

Da das aus Hefe zu gewinnende Enzymgemisch die Polysaccharide zu hydrolysieren vermag, war zu erwarten, daß es umgekehrt diese unter geeigneten Bedingungen auch aufzubauen vermag. Da beim *Lolium perenne* der Polymerisationsgrad im Laufe der Vegetationsperiode ansteigen kann, sollte der Aufbau der höheren Polyfructosane durch enzymatische Transfructosidation auf den niederen Gliedern geschehen. Dies konnte bewiesen werden. Es gelang ein Phlein<sub>25</sub> in einer konzentrierten Lösung von Saccharose oder Fructose bei Gegenwart von Hefeinvertin zu einem Phlein<sub>34</sub> und dieses bei Wiederholung der Einwirkung zu einem Phlein<sub>41</sub> aufzubauen<sup>16</sup>). Der jeweils erreichte Polymerisationsgrad hängt daher von der Konzentration der Fructose-Donatoren und der Enzyme ab und damit von der Intensität der Assimilation. Die Gräser weichen also einem übermäßigen Ansteigen des osmotischen Druckes bei

überhöhter Zuckerkonzentration aus, indem sie parallel mit diesem Anwachsen den Polymerisationsgrad erhöhen, und so den osmotischen Druck herabsetzen.

Durch partielle Inaktivierung konnte wahrscheinlich gemacht werden, daß die Saccharose von der Fructose-Seite her spaltende  $\beta$ -Fructofuranosidase von der die Polyfructosane spaltenden Polyfructosanase verschieden ist. Ob daneben eine besondere Transfructosanase anzunehmen ist, ist noch nicht geklärt. Das Enzym wirkt wie andere Transglykosidasen, z. B. das Q-Enzym des Amylopektins, ohne Beteiligung von Phosphorsäure<sup>17</sup>).

Die Grundlage für den Aufbau der glucose-haltigen Reihe bildet die Saccharose, für die glucose-freie Reihe das noch nicht isolierte Diffructose-anhydrid. Da die niederen Glieder der beiden Reihen nebeneinander in den Mutterlaugen von *Lolium perenne* und *Avena flavescens* nachgewiesen werden konnten lag der Schluß nahe, daß sie auch bei den höhermolekularen Gliedern, bei denen eine Trennung nicht mehr möglich ist, nebeneinander anzunehmen sind. Dies konnte bei *Dactylis glomerata* nachgewiesen werden. Bei der höchstmolekularen Komponente mit einem  $\bar{P}$  28 wurde unter Zuhilfenahme der Perjodat-Oxydation festgestellt, daß sie aus einem Gemisch von 70% des glucose-haltigen mit 30% des glucose-freien Polysaccharids besteht. Bei den beiden niedermolekularen Komponenten mit einem  $\bar{P}$  19 und  $\bar{P}$  14 betrugen die Anteile je 90 und 10%<sup>18</sup>).

Auf Grund dieser Befunde wird angenommen, daß ganz allgemein die Polyfructosane der Gräser aus einem Gemisch zweier Komponenten, einer glucose-freien und einer glucose-haltigen in einem in weiten Grenzen schwankendem Verhältnis bestehen, wie dies ähnlich bei der Stärke hinsichtlich des Verhältnisses von Amylose zu Amylopektin der Fall ist.

### Wechsel des Kohlenhydrat- und Eiweißgehaltes der Gräser während des Jahres

Die bisher beschriebene Zusammensetzung der in den Gräsern angesammelten löslichen Kohlenhydrate gilt für einen bestimmten Zeitpunkt ihres Wachstums. Und zwar wurde derjenige für den Schnitt gewählt, in dem die höchste Ansammlung der Polysaccharide vermutet wurde. Um aber hierüber Sicherheit zu gewinnen und damit zugleich die für die Landwirtschaft günstigste Schnittzeit zu ermitteln, wurden in Abständen von je 14 Tagen, beginnend gegen Ende April und endend im September, Proben von drei der wichtigsten Grasarten, von *Lolium perenne*, *Lolium multiflorum* und *Phleum pratense*, analysiert. Da eine Kopplung mit dem gleichzeitigen Werden und Vergehen der Eiweißstoffe besteht, wurde auch deren Bildung verfolgt.

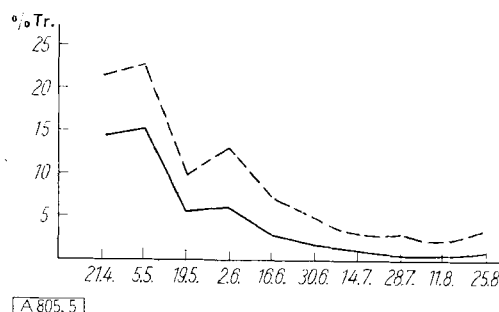


Bild 5  
Gehalt an löslichen Kohlenhydraten bei *Lolium perenne* während der Wachstumszeit. — lösl. Kohlenhydrate in % der Trockensubstanz, — — — N-freier Extrakt

<sup>15</sup>) H. H. Schlubach u. H. O. A. Koehn, Liebigs Ann. Chem., im Druck.  
<sup>16</sup>) H. H. Schlubach u. H. Lübberts, ebenda 594, 53 [1955].

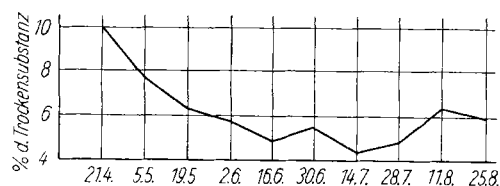
<sup>17</sup>) H. H. Schlubach u. G. Neurath, ebenda, im Druck.

<sup>18</sup>) H. H. Schlubach u. E. W. Trauttschold, ebenda, im Druck.

Endlich wurde das Anwachsen des Gehaltes an Cellulose und Lignin, also die Zunahme der Verholzung gemessen.

Wie aus dem Bild 5 hervorgeht, steigt beim *Lolium perenne* der Gehalt an löslichen Kohlenhydraten Anfang Mai zunächst steil an. Er fällt dann aber rasch ab, um Mitte Juli praktisch zu verschwinden.

Augenscheinlich werden die zunächst angesammelten Reserven an Kohlenhydraten zur Ausbildung des Samens verbraucht. Denn Mitte Juli ist dieser ausgereift. Wesentlich anders vollzieht sich der Wandel des Eiweißgehaltes (Bild 6).



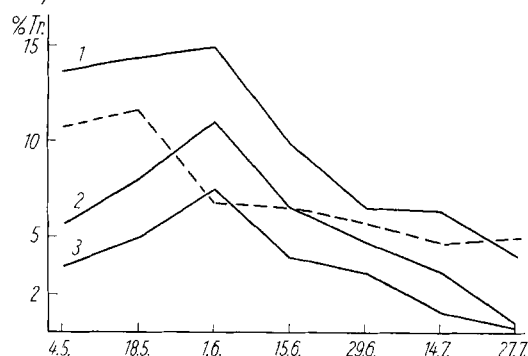
[A805.6]

Bild 6

Eiweißgehalt von *Lolium perenne* von April bis August

Nach einem anfänglichen Höhepunkt sinkt auch dieser rasch ab, bleibt dann aber bei etwa der Hälfte des Anfangswertes stehen<sup>19)</sup>.

Einen ähnlichen Verlauf nimmt die Entwicklung beim *Lolium multiflorum*, einer der verbreitetsten Grasarten (Bild 7).

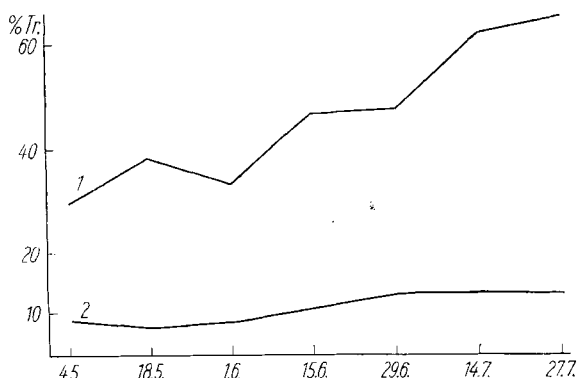


[A805.7]

Bild 7

Kohlenhydrat- und Eiweißgehalt bei *Lolium multiflorum*. 1 = Roh-Kohlenhydrate, 2 = Lösliche Kohlenhydrate, 3 = Fructosan, ---- Eiweiß in % der Trockensubstanz

Der Höhepunkt der Ansammlung der löslichen Kohlenhydrate wird aber hier erst etwa drei Wochen später erreicht. Das gleichzeitige Anwachsen des Cellulose-Gehaltes von 30 auf 60% läßt das Bild 8 erkennen.



[A805.8]

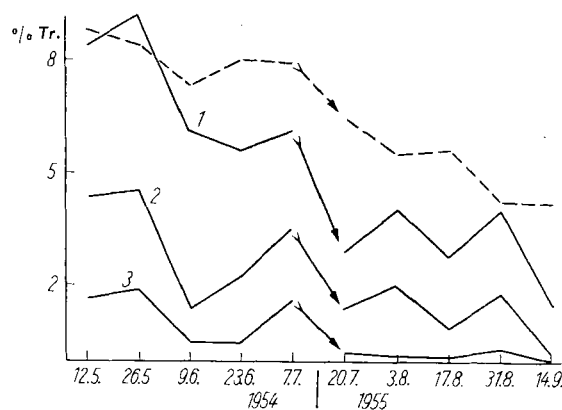
Bild 8

Cellulose- und Lignin-Gehalt von *Lolium multiflorum* während der Wachstumsperiode. 1 = Cellulose, 2 = Lignin in % d. Trockensubstanz

<sup>19)</sup> H. H. Schlubach u. K. Holzer, Liebigs Ann. Chem. 587, 112 [1953].

Der Lignin-Gehalt bleibt dagegen ähnlich wie der Eiweiß-Gehalt um 10% annähernd konstant<sup>20)</sup>.

Wesentlich anders verläuft die Abwandlung der löslichen Kohlenhydrate in *Phleum pratense* (Bild 9). Diese Grasart

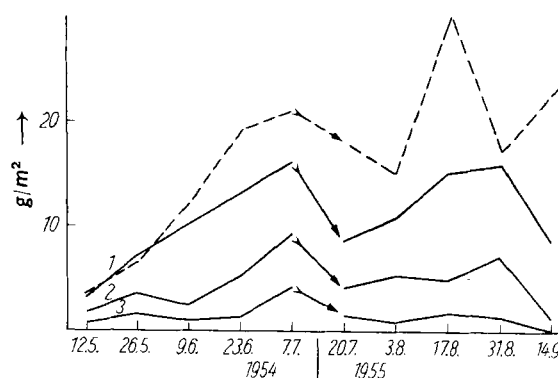


[A805.9]

Bild 9

Zusammensetzung der Trockensubstanz von *Phleum pratense*. 1 = Roh-Kohlenhydrate, 2 = Lösliche Kohlenhydrate, 3 = Fructosan, ---- Eiweiß

erreicht den Höhepunkt der Ansammlung der löslichen Kohlenhydrate wie des Eiweiß erst Mitte August, also zwei Monate später als bei den anderen Grasarten. Dieser Unterschied kommt noch deutlicher zum Ausdruck, wenn man den Ertrag, d. h. das Produkt aus dem prozentualen Gehalt mit dem Anwuchs gegen die Jahreszeit aufträgt (Bild 10)<sup>21)</sup>.



[A805.10]

Bild 10

Erträge bei *Phleum pratense*. 1 = Roh-Kohlenhydrate, 2 = Lösliche Kohlenhydrate, 3 = Fructosan, ---- Eiweiß

In allen Fällen findet gegen Ende der Entwicklung eine vollständige Umkehrung des Verhältnisses Fructose: Glucose zu Gunsten der letzteren statt; die Fructose wird also zuerst verbraucht.

Gelten diese Abwandlungen bei einem während der ganzen Vegetationsperiode ununterbrochenen Wachstum, so tritt in ihnen eine wesentliche Veränderung ein, wenn man, wie dies ja in der Landwirtschaft gebräuchlich ist, das Gras im Laufe des Sommers mehrfach schneidet. Um die Wiederansammlung der Kohlenhydrate und des Eiweißes unter derartigen Bedingungen kennenzulernen, haben wir die Erträge bei wiederholtem Schnitt, z. B. beim *Lolium multiflorum*<sup>22)</sup> in Abständen von je vier Wochen verfolgt (Bild 11).

Wie Bild 11 zeigt, verläuft die Wiederansammlung nur recht unvollkommen, immerhin von allen untersuchten Grasarten beim *Lolium multiflorum* noch am reichlichsten.

<sup>20)</sup> H. H. Schlubach u. H. Lübberts, ebenda 598, 229 [1956].

<sup>21)</sup> H. H. Schlubach u. H. Lübberts, ebenda 598, 220 [1956].

<sup>22)</sup> H. H. Schlubach u. H. Lübberts, ebenda 598, 231 [1956].

Nach dem vierten Schnitt gegen Ende August ist der Gehalt an löslichen Kohlenhydraten wie an Eiweiß auf ein Minimum abgesunken. Gegenüber einem einmaligen Schnitt im Zeitpunkt des Maximums erbringt aber die Summe der Schnitte bei den Kohlenhydraten eine Vermehrung um 37 %, bei dem Eiweiß sogar um 73 %.

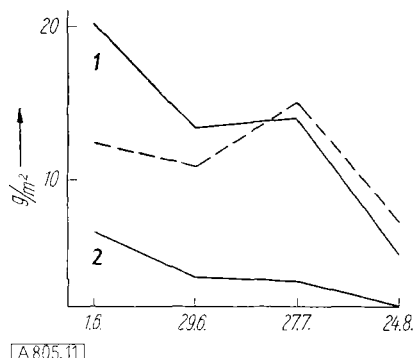


Bild 11  
Erträge bei wiederholtem Schnitt (*Lolium multiflorum*)  
1 = Roh-Kohlenhydrate, 2 = Fructosan, --- = Eiweiß

### Folgerungen für die Landwirtschaft

Der so in den Kohlenhydrat-Stoffwechsel der Grasarten gewonnene Einblick erlaubt es eine Reihe von Folgerungen zu ziehen, welche für die Landwirtschaft von Interesse sind.

Da die Halbumsatzzeiten der Hydrolyse durch Säuren oder Enzyme sich umgekehrt proportional wie die Polymerisationsgrade verhalten, nimmt die Verdaulichkeit mit

fallender Molekulargröße zu. Deshalb sind für die unmittelbare Verfütterung auf der Wiese, wenn die Wachstumsverhältnisse dies erlauben, diejenigen Grasarten vorzuziehen, bei denen der Polymerisationsgrad niedrig bleibt, also die auf der Tabelle 1 zum Schluß angeführten Grasarten. Umgekehrt sind diejenigen Grasarten für die Heugewinnung am geeignetsten, bei denen der Polymerisationsgrad die höchsten Werte erreicht. Bei ihnen verläuft der enzymatische Abbau bei der Trocknung am langsamsten.

Da die optimalen Ansammlungen bei den verschiedenen Grasarten in verschiedenen Abschnitten der Vegetationsperiode erreicht werden, empfiehlt es sich die Schnittzeiten danach zu wählen. Also z. B. für *Lolium perenne* sehr früh, für *Phleum pratense* aber spät. Die letztgenannte Grasart ist deshalb besonders wertvoll, weil sie in einer verhältnismäßig späten Jahreszeit noch ein an leichtverdaulichen Bestandteilen reiches Futter liefert, das es ermöglicht, den reichlichen Milchanfall des Frühjahrs auch über den Sommer zu verlängern. Endlich haben die Versuche bestätigt, daß die Summe mehrfacher Schnitte einen höheren Gesamtertrag zu liefern vermag als dies mit einem einmaligen Schnitt zu erreichen ist.

Für die Anwendung der gewonnenen Erkenntnisse auf die praktische Landwirtschaft wird es noch einer Reihe von speziellen Untersuchungen bedürfen, so z. B. für die Beantwortung der Frage, wie weit sich die bei den bisherigen Versuchen mit nur mäßigen Düngergaben erreichten Ausbeuten an löslichen Kohlenhydraten und Eiweiß durch eine Erhöhung steigern lassen.

Eingegangen am 1. April 1957 [A 805]

## Zuschriften

### Eine vereinfachte Oligosaccharid-Synthese

Von Prof. Dr. H. BREDERECK, Dr. A. WAGNER  
und Dipl.-Chem. G. FABER

Institut für organische Chemie und organisch-chemische  
Technologie der T.H. Stuttgart

Wird in Essigsäureanhydrid gelöste Pentaacetyl- $\beta$ -D-glucose mit einer geringen Menge 70proz. Perchlorsäure versetzt, so wird sie in die  $\alpha$ -Form umgelagert, die nahezu quantitativ isoliert werden kann.

Geht man von der Tetraacetyl-6-trityl- $\beta$ -D-glucose, gelöst in Essigsäureanhydrid, aus und versetzt mit der stöchiometrischen Menge Perchlorsäure, so fällt momentan Tritylperchlorat aus, und aus der Lösung läßt sich Pentaacetyl- $\beta$ -D-glucose gewinnen (Ausb. 79 %). Verwendet man einen geringen Überschuß an Perchlorsäure, so erhält man mit gleicher Ausbeute das  $\alpha$ -Pentaacetat, das aus dem primär gebildeten  $\beta$ -Pentaacetat unter der Einwirkung der katalytischen Menge Perchlorsäure entstanden ist.

Daß bei den Versuchen intermediär das Acylperchlorat als eigentliches spaltendes Agens entsteht, ließ sich wie folgt beweisen:

Werden molare Mengen Tetraacetyl-6-trityl- $\beta$ -D-glucose und Silberperchlorat in Nitromethan gelöst und mit etwas Drierit versetzt, so findet zunächst keine Umsetzung statt. Gibt man nun molare Mengen Benzoylchlorid hinzu, so fallen sofort Silberchlorid und Tritylperchlorat aus und aus der Lösung läßt sich in guter Ausbeute (66 %) Tetraacetyl-6-benzoyl- $\beta$ -D-glucose (Fp 130 °C,  $[\alpha]_D^{20} = +30,6^\circ$  in Chloroform) isolieren.

Nach der Disaccharid-Synthese von Helferich geht man von einem Tritylacetyl-zucker aus, tauscht, z. B. mit Bromwasserstoff in Eisessig, Trityl gegen Hydroxyl aus und kuppelt dann mit einem Acetobromzucker in Chloroform bei Gegenwart von Silberoxyd. Verwendet man nun entsprechend den beschriebenen Versuchen als Halogenverbindung Acetobromglucose und gibt sie unter Kühlung zu einer Lösung von Tetraacetyl-6-trityl- $\alpha$ -D-glucose und Silberperchlorat in Nitromethan, so scheiden sich wieder schlagartig Silberbromid und Tritylperchlorat aus und aus der Lösung gewinnt man in verhältnismäßig guter Ausbeute (55–60 %)  $\beta$ -Octaacetyl-gentiobiose. Wird die Reaktion mit einem geringen

Überschuß an Silberperchlorat und Acetobromglucose ausgeführt, so erhält man in 40proz. Ausbeute  $\alpha$ -Octaacetyl-gentiobiose.

Setzt man in gleicher Weise 3,4,5-Triacetyl-1,6-ditrityl-keto-D-fructose mit 2 Mol Silberperchlorat und Acetobromglucose um, so erhält man das Acetat eines Trisaccharids (Fp 178–180 °C). Wir nehmen vorerst an, daß die Hendekaacetyl-1,6-di-( $\beta$ -D-glucosyl)-keto-D-fructose vorliegt. Die Keto-Gruppe haben wir durch das UV-Spektrum nachgewiesen.

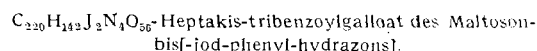
Die neue Methode erlaubt ganz allgemein den Austausch einer Trityl-Gruppe gegen Reste verschiedener Natur. Mit weiteren Synthesen sind wir beschäftigt.

Eingegangen am 15. März 1957 [Z 446]

### Neue Berechnung eines alten Versuches

Von Prof. Dr. K. FREUDENBERG, Heidelberg

Unter den individuellen Substanzen höchsten Molekulargewichts ist an vorletzter Stelle im Generalregister der 4. Auflage von Beilsteins Handbuch aufgeführt:



Diese Substanz hat Emil Fischer 1913 durch seinen Assistenten Burkhardt Helferich synthetisieren lassen<sup>1)</sup>. Die ausgezeichnete Analyse gewährleistet die Reinheit der Substanz. An ihr sollte geprüft werden, ob die Methode der kryoskopischen Molekulargewichtsbestimmung an Molekeln dieser Größe anwendbar ist. Als Lösungsmittel diente Bromoform, dessen kryoskopische Konstante nach der Literatur 14,4 beträgt. Die Überprüfung an Naphthalin ergab den Mittelwert 14,3, der für die Berechnung benutzt wurde.

Konzentration in %:	1,29	2,83	4,37
Gef. Molekulargewicht:	3737	3278	3493

Aus diesen drei Bestimmungen wurde das arithmetische Mittel 3503 errechnet. Es liegt 13 % unter dem erwarteten Molekulargewicht, das, mit neuen Atomgewichten berechnet, 4023 beträgt.

<sup>1)</sup> Ber. dtsch. Chem. Ges. 46, 1138 [1913].