

ducte, Sobrerol, welches an seinem Schmp. $130^{\circ}.5 - 131^{\circ}$, seiner Krystallform und der charakteristischen Geschmackslosigkeit als solches erkannt wurde, erhalten. Auch in diesem Fall war aber neben dem Glycol auch Cymol entstanden. Die Untersuchung wird fortgesetzt.

Warschau, $\frac{10.}{22.}$ April 1896.

219. B. Tollens: Ueber den Nachweis der Pentosen mittels der Phloroglucin-Salzsäure-Absatz-Methode.

(Eingegangen am 18. April; mitgetheilt in der Sitzung von Hrn. A. Reissert.)

1. Einleitung und Uebersicht.

Der qualitative Nachweis der Pentosen und Pentosane geschieht bekanntlich nach Wheeler und Tollens¹⁾ und Allen und Tollens²⁾ (siehe ferner Bertrand)³⁾ durch Erwärmen der Flüssigkeiten, welche die betreffenden Pentosen etc. enthalten, mit dem gleichen Volum reiner Salzsäure von 1.19 spec. Gew. und etwas Phloroglucin.

Erwärmt man die vorher farblose Mischung allmählich über einer kleinen Flamme, so tritt bei Gegenwart von Arabinose oder Xylose eine sehr schöne Kirschrothfarbe ein, und es zeigt sich, wenn man das Probirrohr vor den Spalt eines Spectralapparates bringt und das Licht einer leuchtenden Flamme durch die Flüssigkeit in den Apparat treten lässt, ein sehr deutlicher dunkler Absorptionsstreifen zwischen den Fraunhofer'schen Linien D und E des Spectrums. Dieser Streifen liegt folglich bei den gewöhnlichen Spectralapparaten, welche den brechbareren Theil des Spectrums auf der rechten Seite zeigen, rechts von der gelben Natriumlinie (welche man sehr leicht durch gleichzeitige Einführung einer Platinöse mit Soda in die leuchtende Flamme hervorruft).

Das Spectrum ist übrigens meistens ausser an der Stelle des obigen Streifens auch noch weiter rechts in der Gegend des Violet verdunkelt, und zwischen dieser Dunkelheit ganz rechts und dem Absorptionsstreifen sieht man eine hellere blaugüne Region.

So schön diese Reaction ist, so wenig dauerhaft ist sie, denn sehr bald beginnt die rothviolette Flüssigkeit sich zu trüben und das Spectralbild wird undeutlich, indem erst der helle Zwischenraum rechts vom Absorptionsstreifen dunkel wird und der Streifen somit nicht

¹⁾ Ann. d. Chem. 254, 329; diese Berichte 22, 1046; 23 c, 16.

²⁾ Ann. d. Chem. 260, 290, 304; diese Berichte 23, 137; 24 c, 116.

³⁾ Bull. Soc. Chim. [3] 6, 259; diese Berichte 24 c, 964.

mehr als solcher zu unterscheiden ist, und indem dann auch die gelbe und rothe Partie im linken Theile des Spectrums schwarz werden, und man schliesslich nichts mehr sehen kann.

Es wird dies durch die Ausscheidung eines dunklen Absatzes bewirkt, welcher in Wasser unlöslich ist, und man kann bei Anwendung reiner Pentosen durch Zusatz von Alkohol zu der dunkel gewordenen Flüssigkeit den Absatz und das ursprüngliche Spectrum wiederherstellen, und ebenso kann man, wie Salkowski angegeben hat, die Flüssigkeit mit Amylalkohol schütteln, denn dieser löst den Farbstoff, welcher den charakteristischen Absorptionsstreifen zeigt, und führt ihn in die sich bildende obere Schicht.

Wenn nun auch der Nachweis der Pentosen in reinen Lösungen nicht die geringste Schwierigkeit bietet, so ist dies doch anders, wenn unreine Lösungen, z. B. Harn, Pflanzensäfte und dergl. vorliegen, denn es treten, abgesehen von Färbungen oder Spectralerscheinungen, welche diese Lösungen an und für sich bieten, beim Erwärmen der Flüssigkeit mit Salzsäure und Phloroglucin ausser der Pentosenreaction noch andere Färbungen auf, welche störend wirken, und welche insbesondere die Verdunkelung der Helligkeit im Grün verursachen, so dass der Streifen nicht mehr als solcher unterschieden werden kann und das Charakteristische der Erscheinung verschwindet.

Wenn der Pentosen-Streifen sich früher zeigt, als jene fremden Färbungen eintreten, bleibt die Erkennung der Pentosen gesichert, denn man sieht dann, wenn auch nur auf kurze Zeit, deutlich den Streifen, wenn aber die allgemeine Verdunkelung früher als der Pentosenstreifen sich zeigt, ist keine Erkennung der Pentosen auf diese Weise möglich, und auch Zusatz von Alkohol, Schütteln mit Amylalkohol mit oder ohne Zusatz von etwas Aether führt meistens nicht weiter, denn diese Flüssigkeiten lösen nicht nur die aus den Pentosen gebildete Substanz, sondern auch die daneben gebildeten braunen und gelben Stoffe.

Zuweilen führt nach Ebstein und C. Schulze ¹⁾ die vorherige Entfärbung der Pentosen haltenden Harne mit Bleiessig oder Blutkohle zum Ziele, indem der nach Zusatz von Salzsäure und Phloroglucin beim Erwärmen entstehende Absorptionsstreifen früher auftritt als die allgemeine Verdunkelung.

Wünschenswerth war jedenfalls ein Mittel, die Substanz, welche den charakteristischen Streifen zwischen D und E hervorbringt, von den zugleich entstehenden gelben und braunen Stoffen, welche die allgemeine Verdunkelung bewirken, wenigstens theilweise zu trennen, und dies gelingt sehr leicht, wenn man, sobald die mit Phloroglucin

¹⁾ Virchow's Archiv f. pathol. Anat. etc. 129, S. 401 (1892); s. a. Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1892, Nr. 31.

und Salzsäure erwärmte Flüssigkeit ganz dunkel und undurchsichtig geworden ist, dieselbe filtrirt und den auf dem Filter bleibenden dunklen Absatz mit Wasser auswäscht, welches einen grossen Theil der fremden färbenden Bestandtheile beseitigt. So erhält man mit reinen Pentosen ein gelbes und bei gleichzeitiger Gegenwart von anderen Stoffen stark gelbe und braune Filtrate, welche im Spectralapparate wohl allgemeine Verdunkelung aber keine Absorptionsstreifen zeigen.

Auf dem Filter bleibt ein dunkler Absatz; dieser giebt, falls Pentosen vorhanden gewesen waren, beim Uebergiessen mit Alkohol Filtrate, welche den Pentosen-Streifen sehr deutlich zeigen.

Es ist dies also die Art des Operirens, welche ich, in Gemeinschaft mit Allen, bei Gelegenheit des Reagirens mit Orcin auf die Pentosen schon angewandt habe ¹⁾, denn ich führte damals an, dass beim Erwärmen von Pentosen haltenden Flüssigkeiten mit Salzsäure und Orcin blauviolette Färbung auftritt, dass darauf die Flüssigkeit trübe wird und blaue Flocken liefert. Dieser Absatz giebt, wenn man ihn abfiltrirt und darauf in Alkohol löst, eine Lösung, welche den betreffenden Absorptionsstreifen der Orcinreaction sehr schön zeigt.

Während nun diese Orcinreaction wenig empfindlich ist und nur bei concentrirteren Pentosen-Lösungen gute Reaction giebt, kann man mittels dieser Art, die Reaction anzustellen, die Pentosen auch in recht verdünnten Lösungen nachweisen, wenn man statt des Orcins Phloroglucin anwendet.

Hierbei ist jedoch eine genaue Befolgung der Operationsweise nöthig, und ferner ist Rücksicht auf etwaige Gegenwart besonders von anderen Zuckerarten zu nehmen, welche die Erscheinungen modificiren können.

2. Genaue Anweisung zur Phloroglucin-Salzsäure-Absatz-Methode der Pentosen-Nachweisung.

Man gebe von der Lösung, welche man auf die Gegenwart von Pentosen (Arabinose oder Xylose) prüfen will, in ein Probirglas von ca. $1\frac{1}{2}$ cm Durchmesser eine Schicht von $2\frac{1}{2}$ bis 3 cm Höhe, füge nach Augenmaass das gleiche Volum Salzsäure von 0.19 spec. Gew. und mit einem Spatelchen ca. 25 bis 30 mg Phloroglucin hinzu und erwärme oberhalb der schon in ihrer Stellung vor dem Spectralapparat (gewöhnlicher Laboratoriums-Apparat von Desaga) befindlichen leuchtenden Flamme die Flüssigkeit ganz allmählich; bald tritt bei reinen Pentosen-Lösungen die schöne kirschrothe Färbung auf; man bringt nun das Probirrohr mittels eines Klemmen-Stativchens unmittelbar vor den Spectralapparat, so dass das Licht der Flamme

¹⁾ Ann. d. Chem. 260, 305.

durch die Flüssigkeit auf den Spalt fällt, und beobachtet, ob der Streifen vorhanden ist und sich verstärkt. Dann erhitzt man etwas stärker, bis die Flüssigkeit eben anfängt zu kochen, aber noch nicht aufwallt, und beobachtet wieder, bis sich Verdunkelung der Reaction, allgemeine Trübung und Schwarzwerden des Gesichtsfeldes einstellen.

Nun wartet man 2 bis 3 Minuten, kühlt dann das Probirrohr durch Schütteln unter einem Wasserstrahl schnell ab und giesst den Inhalt auf ein vorher angefeuchtetes kleines Filter, welches sich behufs schnelleren Filtrirens in einem Trichter von 60° Winkelgrösse und mit möglichst engem Rohre befindet, so dass die filtrierende Flüssigkeit das Rohr ausfüllt und nach Art des Piccard'schen Filtrirrohrs das Filter bald leer saugt.

Die abgelaufene Flüssigkeit ist gelb bis braun und zeigt allgemeine Beschattung, aber keinen Pentosenstreifen, und der Absatz auf dem Filter ist dunkel. Jetzt wäscht man zwei oder drei Mal den Filterinhalt mit Wasser aus, welches allmählich fast farblos abläuft. Hierbei verändert der Absatz seine Farbe und nimmt eine sehr deutlich violette Nüance an, falls Pentosen vorhanden gewesen waren (auch falls Galactose vorhanden war, s. u.). Man schleudert nun das Wasser aus dem Trichterrohr aus, setzt den Trichter auf ein anderes Probirrohr und füllt das Filter mit Alkohol von 93 pCt.; waren Pentosen vorhanden gewesen, so löst sich sehr bald der Filterinhalt zu einem violetroth passirenden Liquidum. Man giesst den durchgelaufenen Alkohol noch einmal auf das Filter und beobachtet dann das Filtrat vor dem Spectralapparat, indem man auf die meistens viel zu dunkle Lösung vorsichtig etwas Alkohol giesst; man schüttelt nun nach Bedarf sehr gelinde, um eine Lösung zu bekommen, welche genügend Licht durchlässt und den Pentosen-Streifen sehr schön zeigt.

Leider ist die Lösung meistens etwas trübe, und es ist mir noch nicht gelungen, dies z. B. durch Zusatz von etwas Thonerdehydrat zu beseitigen; diese Trübung und die hierdurch bewirkte Beschattung des Spectrums beeinträchtigen in etwas die Schärfe der Reaction, doch ist letztere immerhin recht bedeutend (s. u.). Die Violetfärbung, welche der Absatz beim Auswaschen annimmt, und welche das alkoholische Filtrat zeigt, ist immer vorhanden, falls Pentosen gegenwärtig waren, aber sie ist ohne den Absorptionsstreifen kein Beweis für das Vorhandensein von Pentosen, denn auch Galactose und Substanzen, welche Galactose enthalten, so Milchzucker und Raffinose, geben einen violettliche Nüancen zeigenden Absatz und violettbraune alkoholische Lösungen, aber sie geben keinen Absorptionsstreifen in der letztgenannten Flüssigkeit.

3. Prüfung der Methode mit verschiedenen Zuckerarten.

Zur Prüfung der Empfindlichkeit der Methode habe ich verschieden concentrirte Lösungen von Arabinose und Xylose in Wasser sowohl als auch in Harn (welcher für sich geprüft keine Pentosenreaction gab) auf diese Weise untersucht, und zwar habe ich zuerst die Flüssigkeit, welche durch Erwärmen mit Salzsäure und Phloroglucin sich gefärbt hatte, direct vor dem Spectralapparate geprüft und nachher den Absatz nach der obigen Methode.

Lösungen, welche 0.2 g Arabinose oder Xylose auf 100 ccm Wasser, also 2 promille Pentose, enthielten, gaben direct sowie mittels der Absatz-Methode den Streifen mit grosser Deutlichkeit.

Lösungen von gleicher Concentration in Harn gaben nach der Absatz-Methode den Streifen sehr deutlich. Direct sah ich ihn meistens nicht, wohl aber, als ich die Harnmischung vor dem Prüfen mittels Blutkohle entfärbte.

Lösungen mit 0.1 g Arabinose oder Xylose in 100 ccm Harn, also mit 1 promille Pentose, gaben direct keinen Streifen, wohl aber noch einen deutlichen Streifen, als die Absatz-Methode angewandt wurde.

Harnlösungen geringeren Gehaltes ($\frac{1}{2}$ oder $\frac{1}{4}$ promille) gaben zweifelhafte Resultate, so dass 1 promille wohl die Grenze des einigermaassen sicheren Erkennens der Pentosen im Harn anzeigt, doch scheint Xylose etwas leichter zu entdecken zu sein als Arabinose, weil ich mit einer Lösung, welche $\frac{1}{2}$ promille Xylose enthielt, ein Mal den Streifen, wenn auch nicht sehr deutlich, sah.

In rein wässrigen Lösungen liegt die Grenze etwas tiefer, denn $\frac{1}{2}$ promille-Lösungen von Arabinose gaben noch ziemlich erkennbare Streifen.

Bei Gegenwart anderer Zuckerarten, wie Dextrose, ist die Empfindlichkeit etwas geringer.

Zugleich habe ich einige der Pentosen-Lösungen mit Fehling'scher Lösung geprüft und gefunden, dass die Entstehung von Kupferoxydul noch eintritt, wenn auch die Flüssigkeiten so verdünnt sind, dass der Pentosen-Streifen nicht mehr erhalten wird.

Versuche mit anderen Zuckerarten gaben Folgendes¹⁾:

(Mit »direct« bezeichne ich die beim einfachen Erhitzen der betreffenden Lösungen mit Salzsäure und Phloroglucin eintretenden Erscheinungen, mit »Absatz« die auf dem Filter bleibende Abscheidung, mit »Alkohollösung« die schliesslich erhaltene alkoholische Lösung des Absatzes.)

a) Dextrose (*d*-Glucose). Direct: gelbe bis braune Färbung, allmählich beschattet, trübe, kein Streifen. Absatz: gering, nach

¹⁾ s. a. Bertrand, Bull. Soc. chim. (3) 6, 259.

dem Waschen gelbröthlich, ockerfarben. Alkohollösung: gelbroth, beschattet, kein Streifen.

b) Lävulose (*d*-Fructose). Direct: sehr schnell gelb bis braun, dunkel, kein Streifen. Absatz: erheblich, nach dem Waschen bräunlich. Alkohollösung: gelbbraun, kein Streifen.

c) Rohrzucker. Direct: wie bei Lävulose. Absatz: dunkel, nach dem Waschen gelbviolettlich, schwerlöslich in Alkohol. Alkohollösung: rothbraun, kein Streifen.

d) Galactose. Direct: gelbbraun, es schien eine Andeutung eines Streifens zu erscheinen, bald verschwand sie in der allgemeinen Beschattung. Absatz: dunkel, nach dem Waschen deutlich violettlich. Alkohollösung: rothbraun, kein Streifen.

e) Milchzucker. Direct: wie Galactose. Absatz: wie bei Galactose. Alkohollösung: tiefroth, kein Streifen.

f) Raffinose: Direct: kein Streifen beobachtet, sonst wie bei Galactose und Milchzucker.

g) Mannose. Direct: gelbbraun, kein Streifen. Absatz: dunkel, nach dem Auswaschen nicht violettlich oder gelbbraun, in Alkohol schwerlöslich. Alkohollösung: gelbbraun, kein Streifen.

h) Rhamnose. Direct: gelbbraun, Andeutung von Streifen, bald allgemeine Beschattung. Absatz: nach dem Auswaschen rothbraun, leicht in Alkohol löslich. Alkohollösung: gelbbraun, kein Streifen. Beschattung.

Man sieht aus dieser Uebersicht, dass die directe Beobachtung weniger sicher ist als die Beobachtung der Alkohollösung des ausgewaschenen Absatzes, weil einige Zuckerarten, nämlich die Galactose, Milchzucker, Rhamnose, Andeutungen eines Absorptionsstreifens bei der directen Beobachtung ergeben haben, während bei Untersuchung der Lösungen des Absatzes sich ausser bei den Pentosen nie Absorptionsstreifen gezeigt haben.

Ferner ist, wie angegeben, bei Anwendung von Galactose und ihren Derivaten, nämlich Milchzucker und Raffinose, der Absatz nach dem Auswaschen sehr deutlich violett, und es ist möglich, dass, wenn wie beim Harn diese Violettfärbung ohne Pentosenstreifen in der alkoholischen Lösung, auftritt, dies auf die Gegenwart von Derivaten des Milchzuckers oder der Galactose deutet. Es ist dies näher zu prüfen.

Die »Absätze« sind meistens ziemlich leicht löslich in Alkohol, mir ist jedoch aufgefallen, dass der mit Mannose gewonnene »Absatz« sich recht schwer und unvollständig in Alkohol löst.

4. Anwendung der obigen Reactionen auf einige Producte der Natur.

Als nächstes Object zur Anwendung der obigen Salzsäure-Phloroglucin-Absatz-Methode bot sich die Wiederholung der

Untersuchungen von Ebstein, C. Schulze, Cremer, Salkowski u. A. über den Uebergang von Pentosen der Nahrung in den Harn.

Zu diesem Zweck nahm ich 2 g Arabinose ein und fand den gleich nachher entleerten Harn wie sonst mehrfach frei von Pentosen, eine nach $\frac{3}{4}$ Stunden entleerte Probe (100 ccm) gab dagegen sowohl direct als auch nach der Absatz-Methode einen sehr schönen Absorptionsstreifen, und ferner gab der Harn mit Fehling'scher Lösung eine sehr starke lehmfarbene Abscheidung.

Nach $1\frac{1}{4}$ und $1\frac{1}{2}$ Stunden erhaltene Proben verhielten sich ebenso.

Nach 4 Stunden schienen die Reactionen schwächer zu sein, nach 11 Stunden war dies sehr erheblich der Fall, und nach 23 Stunden waren die Reactionen verschwunden.

Die Resultate dieser Versuche stehen in vollem Einklange mit denen der oben genannten Autoren, welche den Uebergang erheblicher Mengen der genossenen Pentosen in den Harn constatirt haben.

Versuche, in dem Harn eines in der Versuchstation meines Collegen F. Lehmann mit Erdnusskuchen und Heu gefütterten Hammels Pentosen nachzuweisen, schlugen fehl, denn es gelang mir nicht, eine directe Reaction hervorzurufen, und der Absatz war zwar violettlich, aber die rothbraunviolette Alkohollösung gab keinen Absorptionsstreifen.

Sulfitflüssigkeit von der Verarbeitung von Holz auf Cellulose hielt nach den Untersuchungen von Lindsey und Tollens¹⁾ ziemlich viel Mannose und merkwürdigerweise nur sehr wenig Xylose, sodass wir s. Z. letztere nur mit Schwierigkeit und nach Beseitigung anderer Stoffe haben nachweisen können.

Auf die obige Weise geprüft, gab etwas in Wasser wieder gelöste eingedunstete Sulfitflüssigkeit direct keinen Streifen, und der Absatz war, wie dies bei Mannose sich gezeigt hatte (s. o.), schwer löslich in Alkohol, sowie wenig violettlich. Die alkoholische Lösung zeigte einen recht schwachen Streifen.

Ferner habe ich einige Sorten Wein auf diese Weise auf die Gegenwart von Pentosen geprüft.

a) Abgedampfter Rückstand eines Rothweins unbekannter Herkunft gab nach dem Lösen in Wasser direct geprüft keine werthbare Erscheinung, indem bis zum rothen Theile des Spectrums Dunkelheit vorhanden war. Der beim Waschen violet gewordene Absatz gab mit Alkohol eine violettrothe Lösung mit deutlichem Streifen.

¹⁾ Ann. d. Chem. 267, 351.

Italienischer Rothwein gab ohne Abdampfung untersucht dieselbe Erscheinung wie der Wein a und in der Lösung des Absatzes einen kleinen deutlichen Streifen, und als der Wein erst abgedampft und der wiedergelöste Rückstand der Prüfung unterworfen wurde, zeigte sich ebenfalls in der alkoholischen Lösung des Absatzes ein sehr deutlicher Streifen.

c) Weisswein (Etiquette Hochheimer) gab ohne Abdampfung direct untersucht einen sichtbaren Absorptionsstreifen, der aber bald in der eintretenden Dunkelheit verschwand. Der Absatz war violetroth, die alkoholische Lösung zeigte den Streifen.

d) Weisswein (Etiquette Mosel) gab ohne Abdampfung direct einen sehr deutlichen Streifen, ferner einen geringen violettlich werdenden Absatz und in der rothbraunen Alkohollösung einen freilich wenig deutlichen Streifen.

In einer Sorte Süsswein (Ungar. Ausbruch) dagegen gelang es mir weder direct noch nach der Absatzmethode einen deutlichen Pentosenstreifen hervorzurufen.

Ich ziehe aus diesen Versuchen mit Wein den Schluss, dass in den gewöhnlichen Weinen häufig Pentosen vorhanden sind; ob dies immer der Fall ist, müssen die Untersuchungen der Chemiker, welche sich speciell mit dem Wein beschäftigen, lehren.

Das Vorkommen von Arabinose oder Xylose im Wein ist eigentlich sehr erklärlich, denn die Pectinsubstanzen der hierauf untersuchten Beerenfrüchte enthalten besonders nach den Untersuchungen von Tromp de Haas und Tollens¹⁾ stets Pentosen. Wenn aus den Pectinstoffen des Traubensaftes Pentosen entstehen, oder wenn letztere ursprünglich im Traubensaft vorhanden sind, müssen sie im Weine bleiben, da die Pentosen bekanntlich der Alkoholgährung nicht fähig sind, und es wird die Reduktionskraft des Weines gegen Felling'sche Lösung, welche auch in den von mir geprüften Sorten nicht unerheblich war, häufig wenigstens theilweise nicht von Resten Lävulose, welche der Gährung entgangen sind, sondern von Pentosen herrühren.

¹⁾ Ann. d. Chem. 286, 289. Diese Berichte 28, Ref. 745.