

22. Karl Freudenberg: Über Gerbstoffe. I.: Hamamel-Tannin.

[Aus dem Chemischen Institut der Universität Kiel.]

(Eingegangen am 31. Oktober 1918.)

Durch die Arbeiten von E. Fischer und seinen Schülern¹⁾ ist die Konstitution der Gerbstoffe aus den Blattgallen von *Rhus semialata* (Chinesisches Tannin) und den Zweiggallen von *Quercus infectoria* (Türkisches Tannin) durch Abbau und Synthese in allen wesentlichen Punkten aufgeklärt worden; die letzten Einzelheiten der Konstitution werden sich aber voraussichtlich noch für eine längere Zeit der Betrachtung entziehen, weil diese amorphen Naturstoffe sehr wahrscheinlich unentwirrbare Gemische einander sehr nahestehender Poly-galloylglucosen sind²⁾.

Bei dem von F. Grüttner³⁾ beschriebenen Gerbstoff aus der Rinde von *Hamamelis virginica*, dem Hamameli-Tannin, stehen diese Schwierigkeiten der Forschung nicht im Wege. Denn dieser Naturstoff ist gut krystallisiert und darf als einheitlich angesehen werden. Seine Untersuchung erschien auch deshalb lohnend, weil er nach einer früheren Beobachtung⁴⁾ einen neuartigen Zucker enthält. Daß an diesem Zucker Gallussäure haftet, ist das Einzige, was bisher über die Konstitution des Gerbstoffes bekannt war.

Die Untersuchung des Hamameli-Tannins, die mir Exzellenz Fischer in liebenswürdiger Weise überlassen hat, wurde infolge meiner Kriegsteilnahme unterbrochen und muß nunmehr kurz nach der Wiederaufnahme der Arbeit erneut aufgeschoben werden. Ich sehe mich daher veranlaßt, die noch unvollständigen Ergebnisse schon jetzt zu veröffentlichen.

Bei der Hydrolyse mit verdünnter Schwefelsäure zeigte sich, daß die Abspaltung der Gallussäure im Hamameli-Tannin schneller beendet ist, als bei den Galläpfel-Tanninen; immerhin dauert die Reaktion lange genug, um die Annahme zu rechtfertigen, daß die Gallussäure nicht in Glucosid-Bindung⁵⁾ am Zucker haftet, sondern

¹⁾ E. Fischer und K. Freudenberg, B. 45, 915, 2709 [1912]; 46, 1116 [1913]; 47, 2485 [1914]; E. Fischer und M. Bergmann, B. 51, 1760 [1918].

²⁾ B. 47, 2504 [1914]; 51, 1779 [1918]. ³⁾ Ar. 236, 278 [1898].

⁴⁾ E. Fischer, B. 46, 3282 [1913]; vergl. auch B. 45, 2712 [1912].

⁵⁾ Über die Bezeichnung »Glucosid« siehe E. Fischer, B. 46, 3281 [1913] Anm.

in Esterbindung wie bei den Galläpfel-Tanninen. Die schnellere Abspaltung erklärt sich daher, daß weniger Gallussäure mit dem Zucker verbunden ist, als in den Galläpfel-Gerbstoffen.

Die durch Titration ermittelte geringe Acidität des Hamameli-Tannins läßt gleichfalls darauf schließen, daß die Carboxyle der Gallussäure-Reste verestert sind.

Auch die Ergebnisse der Methylierung mit Diazomethan sprechen für diese Auffassung. Aus dem Methylderivat, das wegen seiner klebrigen Beschaffenheit nicht zur weiteren Untersuchung einlud, wurde durch alkalische Hydrolyse alle im Molekül vorhandene Gallussäure in Form von Trimethyl-gallussäure gewonnen; die Phenol-Hydroxyle der Gallussäure sind demnach sämtlich unbesetzt, und jeder Gallussäure-Rest ist für sich durch sein Carboxyl an ein Hydroxyl des Zuckers gebunden.

Die lange Einwirkung der Säure verändert den Zucker bei der Hydrolyse und setzt die Ausbeute herab. Ich bin deshalb zum Abbau mit Fermenten übergegangen. Dieses Verfahren, das Scheele¹⁾ zuerst auf das Tannin angewendet hat, ist von van Tieghem²⁾ eingehend untersucht worden. Später hat Fernbach³⁾ die »Tannase« selbst hergestellt, indem er Schimmelpilze, die auf Tannin gewachsen waren, maceriert und mit Wasser ausgezogen hat. Aus der eingeeengten Lösung hat er die Tannase mit Alkohol gefällt. Dieses Rohprodukt enthält Glucose, die für die hier beschriebenen Versuche entfernt werden muß.

Die Tannase löst in den Gerbstoffen die Bindung zwischen Carboxyl und Hydroxyl, das entweder aliphatisch sein kann, wie in den Zuckern, oder aromatisch, wie z. B. in der im Chinesischen Tannin enthaltenen Digallussäure-Gruppe. Das Ferment ist demnach als eine Esterase anzusehen⁴⁾. Daß sich die Wirksamkeit der Tannase nicht auf die Gerbstoffe beschränkt, hat Pottevin gezeigt, der mit ihrer Hilfe den Phenyl- und Methyleneester der Salicylsäure⁵⁾, sowie Fette⁶⁾ gespalten hat.

Beim fermentativen Abbau von Hamameli-Tannin verschwindet die Fällungsreaktion mit Leimlösung bereits nach wenigen Tagen. Aber selbst wenn die Leimfällung bei 0° ausbleibt, ist noch nicht erwiesen, daß der Abbau beendet ist. Denn ich bin bei der Aufarbeitung der Reaktionsflüssigkeit regelmäßig auf eine amorphe Verbindung

¹⁾ 1786; Scheeles sämtl. Werke, Neudruck 1891, S. 401.

²⁾ Ann. scienc. nat. (5) Botanique 8, 212 [1867]. ³⁾ C. r. 131, 1214 [1900].

⁴⁾ vergl. E. Fischer und M. Bergmann, B. 51, 1764 [1918].

⁵⁾ C. r. 131, 1215 [1900]. ⁶⁾ C. r. 132, 704 [1901].

gestoßen, die keine Leimfällung mehr gibt, etwa 10—20% des angewendeten Gerbstoffes ausmacht und durch erneute Behandlung mit Tannase weiter in Gallussäure und Zucker zerfällt. Entweder handelt es sich um unvollständig abgebautes Hamameli-Tannin, oder um eine rückläufige Erscheinung, einen Gleichgewichtszustand zwischen Gallussäure und Zucker einerseits und einem unter der Einwirkung der Tannase entstehenden Galloyl-zucker andererseits. Das Ausbleiben der Leimreaktion läßt darauf schließen, daß eine an Gallussäure arme Zuckerverbindung vorliegt, denn auch die synthetisch bereiteten Monogalloyl-Derivate der Glucose¹⁾ und Fructose²⁾ geben keine Leimfällung. Ich beabsichtige, die Einwirkung des Ferments auf Zucker und Säuren näher zu untersuchen.

Aus dem fermentativen Abbau des Hamameli-Tannins wurde das Verhältnis von Gallussäure zu Zucker (als Hexose berechnet) wie 2 zu 1 ermittelt. Die Ergebnisse der Elementaranalyse stimmen auf eine Di-galloyl-hexose. Damit wird die von E. Fischer und M. Bergmann³⁾ ausgesprochene Vermutung bestätigt, daß in der Gruppe der Tannin-artigen Gerbstoffe auch partiell acylierte Zucker vorkommen.

Den Zucker des Hamameli-Tannins habe ich bis jetzt noch nicht krystallinisch erhalten. Er ist ein gelber, zäher Sirup, der in Methylalkohol und absolutem Äthylalkohol, besonders in der Wärme, leicht löslich ist. In Aceton löst er sich merklich, in kochendem Essigäther wenig. Er schmeckt sehr schwach süß und riecht beim Erhitzen nach Caramel. Er reduziert Fehlingsche Lösung etwa ebenso stark wie Glucose, aber zur Beendigung der Reduktion muß etwas länger gekocht werden als beim Traubenzucker. Der Zucker dreht 12—15° nach links und scheint nicht vergärbbar zu sein; hierüber kann jedoch erst entschieden werden, wenn er in völlig reinem Zustande, ohne die bisher unvermeidlichen gefärbten Beimengungen, vorliegt. Durch die Reaktion nach Bial mit Orcin-Salzsäure-Eisenchlorid⁴⁾ konnte keine Pentose (bzw. Glucuronsäure) nachgewiesen werden. Die Furfurol-Bestimmung⁵⁾ ergab jedoch 4.4% Pentose. Diese geringe Menge dürfte von den auch bei Hexosen — besonders Keto-Hexosen — beobachteten Zersetzungsprodukten herrühren. Mit Salpetersäure wurde weder Zucker- noch Schleimsäure erhalten. Dagegen wurde mit Salzsäure Lävulinsäure gewonnen und in Form des von Blaise⁶⁾

¹⁾ E. Fischer und M. Bergmann, B. 51, 299, 1796 [1918].

²⁾ E. Fischer und H. Noth, B. 51, 323 [1918].

³⁾ B. 51, 299 [1918]; vergl. auch B. 49, 89 [1916].

⁴⁾ B. Tollens in Abderhaldens Handbuch der Biochem. Arb.-Meth. II, 97 [1910].

⁵⁾ Ebenda, S. 133.

⁶⁾ Bl. [3] 21, 649 [1899].

beschriebenen, für den Nachweis kleiner Mengen der Säure sehr geeigneten Semicarbazons isoliert. Daraus darf geschlossen werden, daß der Zucker eine normale Kette von 6 Kohlenstoffatomen besitzt. Für die weitere Annahme, daß es sich um einen Zucker der Formel $C_6H_{12}O_6$, also um eine Hexose, handelt, spricht das Ergebnis der Elementaranalyse des Gerbstoffs.

Beim Erhitzen des Zuckers mit verdünnter Salzsäure und Resorcin entsteht eine granatrote Färbung (Seliwanows Reaktion auf Keto-hexosen). Phenylhydrazin wirkt bei 50° im Laufe von mehreren Tagen, bei 100° in einer halben Stunde auf den Zucker ein unter Bildung brauner Schmierer, aus denen nur spärliche und nicht einheitliche Krystalle gewonnen wurden. Andere Hydrazine wirken ähnlich.

Auch bei der Titration mit Hypojodit nach dem durch Willstätter und Schudel¹⁾ verbesserten Verfahren von Romijn verhält sich der Zucker nicht wie ein einheitliches Präparat. 0.1 g verbrauchten 8—9 ccm $\frac{1}{10}$ -Jodlösung; für eine Aldohexose berechnen sich 11.1 ccm, während Ketosen bei den vorgeschriebenen Reaktionsbedingungen von Hypojodit nicht angegriffen werden.

Die Konstitutionsaufklärung des Zuckers wird von der Reduktion zu den zugehörigen Hexiten zu erwarten sein. Ich hoffe, darüber berichten zu können, sobald ich über größere Mengen des kostbaren Materials verfüge, als bisher. Nachdem das Abbauverfahren mittels Glucose-freier Tannase nunmehr ausgearbeitet ist, wird die Untersuchung an einheitlichen Präparaten fortgesetzt werden können, und ich halte es für möglich, daß dann die eine oder andere der oben mitgeteilten Beobachtungen ein verändertes Aussehen gewinnen wird.

Versuche²⁾.

Zur Darstellung des krystallinischen Gerbstoffes extrahierte Grüttner die entfettete Rinde mit Äther-Alkohol (5 : 1), verdampfte die Lösungsmittel, löste den Rückstand in wenig Alkohol und versetzte mit Äther, so lange noch Verunreinigungen ausfielen. Ich ziehe Aceton dem Alkohol vor. Die vorübergehende Entfettung kann bei folgender Arbeitsweise vermieden werden:

Die Rinde wird im Percolator mit Äther-Aceton (5 Vol. : 1 Vol.) extrahiert, das Lösungsmittel abdestilliert, der Rückstand in wenig Aceton gelöst und mit Äther versetzt, so lange noch gefärbtes Harz ausfällt. Das Filtrat wird eingeengt, mit Wasser vermischt und mit

¹⁾ B. 51, 2780 [1918].

²⁾ Hrn. D. Petters sage ich für seine Hilfe bei der Bereitung des Ausgangsmaterials meinen herzlichen Dank.

Benzol oder besser mit Petroläther ausgeschüttelt. Aus der wäßrigen Schicht werden die organischen Lösungsmittel unter vermindertem Druck abdestilliert; sie wird schließlich filtriert, zur Verhütung von Schimmelbildung mit etwas Chloroform umgeschüttelt und der Krystallisation überlassen.

In anderen Fällen wurde die Rinde im Percolator mit kaltem, Chloroform-haltigem Wasser extrahiert und die Flüssigkeit unter vermindertem Druck zum Sirup eingeeengt. Dabei schäumte die Lösung jedesmal sehr stark. Dieser Übelstand ließ sich durch tropfenweise Zugabe von Toluol oder Xylol beheben, das aus einem Tropftrichter zufloß, der neben der Capillare durch den Gummistopfen hindurchführte. Der Destillationsrückstand wurde in Aceton gelöst, durch Zusatz von Äther von Verunreinigungen befreit und nach Entfernung der organischen Lösungsmittel aus Chloroform-Wasser umkrystallisiert.

Der Gerbstoff wird mit zunehmender Reinheit in kaltem Wasser immer schwerer löslich; gleichzeitig wächst seine Neigung, ganz oder teilweise als Gallerte auszufallen. Erst nach mehrfach wiederholter Krystallisation wird der ganze Gerbstoff in zarten, farblosen Nadeln von der Länge mehrerer Millimeter erhalten. Das lufttrockne Material enthält Krystallwasser, das bei 100° unter vermindertem Druck rasch abgegeben wird.

0.1645 g lufttr. Subst. verlor 0.0299 g H₂O. — 0.1346 g entwässerte Subst.:
0.2443 g CO₂, 0.0553 g H₂O.

Gefunden: H₂O 18.18, C 49.51, H 4.41.

Weitere Analysenwerte sind: » 17.25, » 49.34, » 4.16.
» 17.53, » 49.58, » 4.38.
» 18.21, » 49.62, » 3.82.
— » 48.94, » 4.29.

Durchschnitt: H₂O 17.79, C 49.40, H 4.25.

Die Drehung in wäßriger Lösung ist wie bei den Galläpfel-Tanninen von der Konzentration abhängig. 0.1189 g wasserfreie Subst., Gesamtgewicht der wäßrigen Lösung 5.0606 g; $d^{23} = 1.022$; Drehung im 1-dm-Rohr bei Natriumlicht und 23° = 0.70° nach rechts. Mithin $[\alpha]_D^{23}$ in 2.35-proz. Lösung = +29.15° (± 1°).

Das gleiche Präparat zeigte in 1.24-proz. Lösung $[\alpha]_D^{23} = +32.96$ (± 1.5°).

Bei einem anderen Präparat wurde in 1.2-proz. Lösung $[\alpha]_D^{20} = +35.62°$ (± 1.5°) gefunden.

Grüttner beobachtete in 1.3-proz. wäßriger Lösung

$$\frac{+0.47 \cdot 101, 314}{1.314 \cdot 1.01} = [\alpha]_D = +35.8°.$$

Die Acidität des Hamameli-Tannins wurde nach dem beim Tannin beschriebenen Verfahren¹⁾ bestimmt. Zur Neutralisation von 1 g sind etwa 1.4 ccm $\frac{n}{10}$ -Natronlauge nötig. Die Acidität ist demnach ähnlich wie die des Pyrogallols; ein freies Carboxyl ist im Hamameli-Tannin nicht enthalten. Damit steht im Einklang, daß es sich aus der neutralisierten wäßrigen Lösung mit viel Essigäther ausschütteln läßt.

Methylierung. 2 g entwässertes Hamameli-Tannin wurden in 50 ccm Aceton gelöst und mit Diazomethan (aus 18.5 ccm Nitrosomethyl-urethan) versetzt. Nach 24 Stunden wurde die von überschüssigem Diazomethan noch gelb gefärbte Flüssigkeit durch einen Tropfen Eisessig entfärbt und unter vermindertem Druck eingeeengt. Der harzige Rückstand wurde in 50 ccm Methylalkohol gelöst und mit 10 ccm *n*-Natronlauge bei Zimmertemperatur versetzt. Nach 24 Stunden war die Lösung noch alkalisch. Sie wurde mit 10 ccm *n*-Salzsäure und 50 ccm Wasser versetzt und unter vermindertem Druck eingeeengt. Dabei krystallisierte Trimethyl-gallussäure aus. Die wäßrige Mutterlauge wurde ausgeäthert, der Äther verjagt und das zurückbleibende Harz mehrere Tage der Krystallisation überlassen. Die abgeschiedene Trimethyl-gallussäure wurde mit Tetrachlorkohlenstoff gewaschen und wog zusammen mit der ersten Krystallisation 1.5 g. Dieses Rohprodukt war in einem Gemisch von gleichen Volumteilen Chloroform und Tetrachlorkohlenstoff klar löslich und enthielt demnach keine Dimethyl-gallussäure²⁾. Es wurde mehrmals aus Aceton und Wasser umkrystallisiert und zeigte danach den Schmelzpunkt der Trimethyl-gallussäure (170° korr., vorher Erweichen).

Zur Hydrolyse wurde mit verdünnter Schwefelsäure im Wasserbad erhitzt und die Reaktionsflüssigkeit in der beim Tannin³⁾ beschriebenen Weise aufgearbeitet. Die Ergebnisse sind in der unten wiedergegebenen Tabelle zusammengestellt. Dabei ist zu bemerken, daß als »Gerbstoffrest« teils unvollständig zerlegter Gerbstoff, teils eine gefärbte, amorphe Masse zu verstehen ist, die bei der langen Einwirkung der Säure auf Zucker und Gallussäure entsteht. Der Zucker wurde nach dem Gewicht bestimmt, und zwar wurde ein aliquoter Teil der wäßrigen Zuckerlösung im Schiffchen erst im Exsiccator bei gewöhnlicher Temperatur, dann im Trockenapparat unter 12 mm Druck bei 113° getrocknet. Schließlich wurde verascht und der Rückstand in Abzug gebracht.

¹⁾ E. Fischer und K. Freudenberg, B. 45, 922 [1912].

²⁾ B. 47, 2499 [1914].

³⁾ B. 45, 923 [1912].

Angewendeter wasserfreier Gerbstoff	verdünnte Schwefelsäure		Dauer der Hydrolyse	Gallussäure, wasserfrei	Gerbstoffrest	Zucker	Summe
	g	ccm					
4	80	2.5	3	nicht bestimmt	nicht bestimmt	11	—
4	40	5	9	60	»	23	—
4	40	5	60	67	4	28	99
4	40	5	67	64	3	20	87

Das Optimum liegt vermutlich zwischen 20 und 50 Stunden; bei längerem Erhitzen wird ein erheblicher Teil des Zuckers zerstört. Beim Chinesischen Tannin ist unter den gleichen Bedingungen die günstigste Einwirkungsdauer 72 Stunden.

Bereitung der Tannase.

Die Lösung von 50 g käuflichem Tannin in 500 ccm Leitungswasser wird zur Entfernung von festgehaltenem Äther und Alkohol $\frac{1}{4}$ Stde. lebhaft gekocht, mit Leitungswasser auf 2 l verdünnt, mit 50 g kristallisiertem Ammoniumsulfat, 1.5 g Dikaliumphosphat, 0.5 g Magnesiumsulfat und einigen Gramm Viehsalz versetzt und nach der Sterilisation in flachen Schalen mit *Aspergillus niger* geimpft. Nach etwa 4-tägiger Aufbewahrung im Brutschrank werden die Pilzdecken die von der beginnenden Sporenbildung nur leicht gefärbt sein dürfen, mit Wasser abgewaschen, mit der Hand ausgepreßt, feucht gewogen, mit dem 4-fachen Gewicht Aceton gründlich verrieben und nach 24 Stunden abgesaugt. Danach wird mit Aceton, dann mit Äther gewaschen und, nachdem der Äther an der Luft verdunstet ist, im Vakuumexsiccator über Phosphorpentoxyd scharf getrocknet. Das fein zerriebene, abgewogene Material wird mit der doppelten Menge toluolhaltigem Wasser angerührt und nach einigen Stunden abgesaugt. Dieser Prozeß wird noch 4 mal wiederholt. Die Auszüge werden unter vermindertem Druck eingeengt, bis das Gewicht etwa dem angewendeten des Pilzes gleichkommt, und mit dem 5-fachen Volumen Alkohol gefällt. Nach dem Absitzen des Niederschlags wird abgossen und zur Entfernung der in reichlicher Menge im Extrakt vorhandenen Glucose noch 2 mal in der gleichen Weise umgefällt. Die Tannase wird als ein graugelbes Pulver erhalten, dessen Menge etwa den 10. Teil des trocknen Pilzes ausmacht.

Abbau des Hamameli-Tannins mit Tannase.

Die Lösung von 1 Teil wasserfreiem Hamameli-Tannin in wenig heißem Wasser wird rasch abgekühlt und mit Tannase-Lösung versetzt, die aus $\frac{1}{2}$ Gewichtsteil Aspergillus-Mycel hergestellt ist. Die Flüssigkeit wird mit Wasser auf das 30-fache des angewendeten Gerbstoffs verdünnt, mit Toluol überschichtet und im Brutschrank aufbewahrt. Der Verlauf der Hydrolyse läßt sich durch Vermischen eines Tropfens der Flüssigkeit mit einem Tropfen einer 1-proz. Gelatine-lösung verfolgen. Nach 2—3 Tagen ist selbst bei 0° keine Leimfällung mehr wahrzunehmen. Nach weiteren 8 Tagen wird unter vermindertem Druck eingeeengt, die fast farblos sich abscheidende Gallussäure abgesaugt und mit wenig kaltem Wasser gewaschen. Das Filtrat wird nach der Konzentration mit Essigäther ausgeschüttelt, der Essigäther unter vermindertem Druck, zuletzt nach Zugabe von wenig Wasser, völlig verjagt und die erneut abgeschiedene Gallussäure abgesaugt. Dem Filtrat läßt sich nach der Konzentration durch Äther eine letzte Fraktion Gallussäure entziehen, die aus sehr wenig Wasser umkrystallisiert wird.

Die vereinigten Filtrate werden aufgeköcht und abwechselnd mit einer heißen Lösung von einfach basischem Bleiacetat und mit aufgeschlämmtm Bleicarbonat versetzt, bis die Lösung neutral reagiert und aller Gerbstoff niedergeschlagen ist. Das Filtrat darf mit Eisenchlorid keine Schwarzfärbung geben. Es enthält Zucker, die der Tannase beigemengten Salze und etwas überschüssiges Blei. Letzteres wird durch Schwefelwasserstoff ausgefällt, das Filtrat unter vermindertem Druck zum dünnen Sirup eingeeengt und dieser mit kaltem Alkohol aufgenommen. Die alkoholische Zuckerlösung wird von dem ungelösten Rückstand abfiltriert und im Vakuum eingedampft, zuletzt unter Zugabe von etwas Wasser.

Der bleihaltige Niederschlag enthält unzerlegten Gerbstoff. Er wird noch feucht in Wasser aufgerührt und in der Kälte mit verdünnter Schwefelsäure in geringem Überschuß versetzt. Der Gerbstoff geht dabei in Lösung und wird vom Bleisulfat abfiltriert. Nach Entfernung der Schwefelsäure mit Baryt wird Tannase zugesetzt und nach 8 Tagen erneut auf Gallussäure und Zucker verarbeitet. Auch hierbei bleibt noch ein sehr geringer Gerbstoffrest.

Sämtliche Gallussäure-Krystallisationen werden vereinigt und an der Luft getrocknet. Da Gallussäure 1 Mol Wasser enthält, muß sie auf wasserfreie Säure umgerechnet werden. Von den vereinigten wäßrigen Zuckerlösungen wird ein aliquoter Teil erst bei Zimmertemperatur, dann bei 113° bei 12 mm Druck über Phosphorpentoxyd getrocknet und daraus der Gehalt an Zucker berechnet.

In der untenstehenden Übersicht sind die Ergebnisse des abschließenden Versuchs (aus 8 g Gerbstoff) den Werten gegenübergestellt, die aus der Formel einer Di-galloyl-hexose berechnet sind. Die oben bereits mitgeteilten Durchschnittswerte der Elementaranalyse sind beigegefügt.

	Gefunden	Berechnet für
	%	$C_{70}H_{20}O_{14}$ (484.26)
Gallussäure	66	70
Zucker	36	37
Gerbstoffrest	2	—
Summe	104	107
C	49.40	49.58
H	4.25	4.16

Furfurol-Bestimmung¹⁾. 0.214 g Zucker: 0.004 g Furfurol-Phloroglucid. Daraus berechnen sich 0.0093 g oder 4.4 % Pentose.

Lävulinsäure. Das Rohprodukt wurde nach der Vorschrift von Tollens²⁾ bereitet und in wenig Wasser mit Zinkoxyd und Tierkohle aufgekocht. Das farblose Filtrat bildete in der Kälte mit Jod und Natronlauge Jodoform. Es wurde im Vakuum-Exsiccator zum Sirup eingedunstet und in der Kälte mit einer starken Lösung von Semicarbazid-Hydrochlorid versetzt. Nach wenigen Minuten begann die Abscheidung des Lävulinsäure-semicarbazons in verwachsenen, meist 6-eckigen, derben Platten oder kurzen, in der Mitte eingeschnürten Prismen. Die Verbindung schmilzt bei 189° (korr.) unter Zersetzung. Blaise gibt 187° an. Ein aus käuflicher Lävulinsäure hergestelltes Vergleichspräparat hatte die gleichen Eigenschaften (Misch-Schmelzpunkt).

Das Semicarbazon scheint mir zum Nachweise kleiner Lävulinsäure-Mengen geeigneter als das Silbersalz oder das unbeständige Phenylhydrazon.

¹⁾ B. Tollens in Abderhaldens Handbuch der Biochem. Arb.-Meth. II, 97 [1910].

²⁾ Ebenda, S. 133.