

## 150. Hans Pringsheim und Alexander Aronowsky: Über Inulin.

[Aus dem Chemischen Institut der Universität Berlin.]

(Eingegangen am 12. April 1921.)

Schon vor längerer Zeit wurde die Anschauung vertreten und speziell für die Stärke experimentell begründet<sup>1)</sup>, daß dem Aufbau der Polysaccharide Ringkomplexe zugrunde liegen, bestehend aus mehreren Monosaccharidresten, welche durch Nebenvalenzen zusammengehalten werden und die dadurch zu dem großen Molekül der Polysaccharide polymerisiert sind. Die Grundkörper enthalten keine freien Aldehyd- resp. Ketogruppen, weil die einzelnen Monosaccharide in ihnen so zusammengeschlossen sind, daß sich die Acetal-Hydroxyle mit je einer anderen Hydroxylgruppe eines weiteren Monosaccharidrestes vereinigt haben<sup>2)</sup>. Beim Abbau der Polysaccharide laufen zwei Reaktionen neben einander: Die Depolymerisation unter Molekularvereinigung ohne Veränderung des ringgeschlossenen Grundkörpers und die Sprengung des Grundkörpers unter Wasseraufnahme, welche die Aldehydgruppe in Freiheit setzt und deren reduzierende Eigenschaft in Tätigkeit treten läßt.

Bei der Stärke geht der Hydrolyse durch Säuren, durch Acetolyse wie auch durch Fermente eine teilweise Depolymerisation voraus; aber man kann auf diesen Wegen nur eine Molekularverkleinerung erreichen, die es noch nicht gestattet, das Molekulargewicht des polymeren unveränderten Grundkomplexes mit Hilfe der bisher üblichen Bestimmungsmethoden festzulegen. Eine weitere Depolymerisation ist ohne Freilegung von Aldehydgruppen und eine damit zusammenhängende konstitutionelle Veränderung des Grundkörpers unmöglich.

<sup>1)</sup> H. Pringsheim und F. Eißler, B. 46, 2959 [1913]; H. Pringsheim, L. V. St. 1914, 267. Die Naturwissenschaften 3, 95 [1915]. Ber. d. Dtsch. Pharmaz. Ges. 27, 4 [1917]. Die Polysaccharide, Julius Springer, Berlin 1919. Diese Anschauung wurde erörtert und begründet, lange bevor Heß sich gegen die Kettenstruktur der Polysaccharide wandte. K. Heß und Wittelsbach, El. Ch. Z. 26, 232 [1920]; K. Heß, Z. Ang. 34, 49 [1921]; K. Heß und Meßmer, B. 54, 499 [1921], und bevor er Karrer, Helv. chim. act. 3, 60 [1920], gegenüber einen Prioritätsanspruch erhob. Heß, Helv. chim. act. 3, 866 [1920]. Durch diese Bemerkung soll nicht angedeutet werden, daß ich mich mit der Anschauung von Heß über die Kammstruktur der Cellulose oder seinen Spekulationen über die sog. Celluxose oder Amyloxose identifiziere.  
Pringsheim.

<sup>2)</sup> Soeben hat dagegen Karrer, Helv. chim. act. 4, 169, 263 [1921], angeregt, daß es sich bei der Diamylose um eine Glucosido-anhydro-glucose handelt.

Noch markanter tritt das Zusammenlaufen der Depolymerisation und der Freilegung reduzierender Gruppen bei der Cellulose zu Tage; bei ihr ist Molekularverkleinerung ohne Einsetzen reduzierender Eigenschaften bisher nicht erreichbar gewesen. Die charakteristischste Eigenschaft der Cellulose, durch die sie sich von den als Reservematerialien auftretenden Polysacchariden unterscheidet und die ihrer technischen Verwertung als Zuckerquelle solche Schwierigkeiten bereitet, ist der scharfe Zusammenhang der Grundkomplexe in ihrem Molekül. Zu seiner Lockerung bedarf es scharfer Eingriffe, denen der Verband der Monosaccharidreste im Grundkörper nicht widerstehen kann. Selbst die rein mechanische Zerkleinerung der Faser durch Vermahlen zu Celluloseschleim setzt reduzierende Gruppen frei.

Das experimentelle Streben muß diesen Anschauungen entsprechend dahin gerichtet sein, eine Depolymerisation ohne Sprengung des Grundkörpers zu erreichen, wie das bisher bei der Stärke<sup>1)</sup> und dem Glykogen<sup>2)</sup> durch die Vergärung mit Hilfe des *Bacillus macerans* erreichbar war. Die Acetylierung in Gegenwart saurer Katalysatoren wie Schwefelsäure und Chlorzink führte bisher entweder nur zu hochmolekularen oder zu reduzierenden Acetylprodukten. Versucht man die Acetylierung in Gegenwart von Pyridin durchzuführen, so gelingt es weder bei Cellulose noch bei Stärke, die Reaktion einzuleiten. Auch auf Inulin wirkt das Acetylierungsgemisch aus Essigsäure-anhydrid und Pyridin in der Kälte nicht ein. Kurzes Erwärmen auf dem Wasserbade genügt jedoch für den Eintritt der Reaktion, die sich dann selbsttätig vollendet, bis alles Inulin in Lösung gegangen ist. Das so gewonnene Acetat des Inulins unterscheidet sich durch seine Wasserunlöslichkeit von den Gemischen, die durch Kochen von Inulin mit 1 Tl. Essigsäure-anhydrid und 3 Tln. Eisessig gewonnen worden sind<sup>3)</sup> und die zum Teil wasserlöslich waren. Es reduziert der Erwartung entsprechend Fehlingsche Lösung nicht. Das durch Eingießen in Wasser, Waschen und Trocknen gewonnene Produkt stellt fürs erste keinen einheitlichen Körper dar; löst man es jedoch in 3 Vol.-Tln. eines Gemisches aus 1 Vol. Eisessig und 3 Vol. Methylalkohol, so geht es schon in der Kälte spielend leicht in Lösung. Nach mehrtägigem Stehen scheidet es einen makro-

<sup>1)</sup> F. Schardinger, Zentralbl. für Bakteriologie [II] **14**, 772 [1905]; **19**, 161 [1907]; **22**, 98 [1909]; **29**, 188 [1911]. H. Pringsheim und Langhans, B. **45**, 2533 [1912]. H. Pringsheim und Eißler, B. **46**, 2959 [1913]; **47**, 2565 [1914].

<sup>2)</sup> H. Pringsheim und St. Lichtenstein, B. **49**, 364 [1916].

<sup>3)</sup> Ferrouillet und Savigny, C. r. **68**, 1571 [1869]; Bl. [2] **12**, 209 [1869]; Schützenberger, A. **160**, 82 [1871].

skopisch durchaus krystallinisch aussehenden Körper aus, an dessen krystallinischer Struktur man jedoch bei mikroskopischer Betrachtung zu zweifeln beginnt; jedoch lassen sich zwischen den amorph aussehenden Partikeln gelegentlich sechsseitige Tafeln beobachten.

Von diesem auf jeden Zuckerrest drei Acetylgruppen enthaltenden Körper ließ sich das Molekulargewicht auf dem üblichen kryoskopischen Wege ermitteln. In Anbetracht der Wichtigkeit des Befundes und der der Molekulargewichts-Bestimmung bei hohem Molekül immer anhaftenden Fehlerquellen wurden drei verschiedene Lösungsmittel, Eisessig, Phenol und Naphthalin angewandt und immer Werte derselben Größenordnung gewonnen. Ihnen zufolge würde dem Acetat ein aus neun Zuckerresten bestehendes Molekül zugrunde liegen<sup>1)</sup>.

Die Verseifung des Acetats war mit alkoholischer Kalilauge leicht durchzuführen. Das Verhalten des Verseifungsproduktes entsprach jedoch nicht unsern Erwartungen. Offenbar war keine Depolymerisation des Inulins eingetreten, denn das verseifte Produkt zeigte ganz die Eigenschaften des ursprünglichen Inulins. Es reduzierte nicht die Fehlingsche Lösung, löste sich in Wasser in der Kälte nur wenig und kam aus seiner Lösung in heißem Wasser erst nach längerem Stehen in der Kälte mit genau den gleichen Erscheinungen, wie allmählich opalescente Trübung der Flüssigkeit, Absetzen am unteren Rande des Gefäßes und anderen durch Worte schwer zu charakterisierenden Eigentümlichkeiten, wieder heraus. Alles dies jedoch; wie auch die Übereinstimmung der spez. Drehung, würde kein genügender Beweis für die Identität unseres Verseifungsproduktes mit dem Inulin sein, wenn ein solcher nicht durch die Röntgen-Aufnahme geführt worden wäre. Ein solcher konnte aber durch Röntgen-Aufnahme nach Debye-Scherer geliefert werden, die wir Hrn. R. O. Herzog verdanken. Die Aufnahmen ergaben identische Bilder des ursprünglichen und des desacetylierten Kohlenhydrats, so daß auch mit großer Wahrscheinlichkeit auf die chemische Identität beider Präparate geschlossen werden darf. Nehmen wir diesen Beweis als vollgültig an, so gelangen wir zu dem bemerkenswerten Resultat einer definitiven Molekulargewichts-Bestimmung des Inulins, der ersten vollgültigen Molekularbestimmung eines Polysaccharids, die für das Inulin ein 9 Fructosereste einschließendes Molekül festlegt.

Das Ergebnis des Acetylierungsversuches als solches ist keine besondere Bestätigung der eingangs erörterten Theorie über den Aufbau der Polysaccharide, wenn es ihr auch keineswegs widerspricht.

---

<sup>1)</sup> Mit diesem Befund stehen die von Karrer, Lang, *Helv. chim. act.* **4**, 249 [1921], eben mitgeteilten Molekulargewichts-Bestimmungen für Dimethyl- und Tri-methyl-inulin in ausgezeichnete Übereinstimmung.

Der Eintritt von Acetylgruppen kann wie beim Inulin ohne Molekularverkleinerung erfolgen; bei einem Überschuß von Pyridin, der die Vermeidung einer Freilegung reduzierender Gruppen gewährleistet, läßt er sich dem Experiment zufolge nur unterhalb einer gewissen Kondensationsstufe erzwingen: darüber, wie beim Molekül der Cellulose und der Stärke, gelingt er so nicht. Wasserlöslich gemachte, nicht reduzierende Stärke, wie solche durch Erhitzen in Glycerin auf 190° gewonnen werden kann, ist ebenso wie Inulin acetylierbar. Es wird zu prüfen sein, welches Molekulargewicht solcher Stärke zukommt, und ob die Pyridin-Methode es gestattet, das Molekulargewicht anderer Polysaccharide, wie z. B. des Glykogens, festzustellen.

Als Ausgangsmaterial diente uns ein käufliches Inulin und ein Präparat, das wir uns aus Dahlienknollen nach der Methode von Dragendorf<sup>1)</sup> dargestellt hatten. Es zeigte, ebenso wie ein aus Zichorien gewonnenes Inulin, die spezifische Drehung von nicht ganz  $-36^\circ$ . Der Versuch, solches Inulin von seinen Begleitstoffen, dem Pseudo-inulin, dem Inulinin, dem Helianthinin und Synanthrin, welche weit wasserlöslicher sind und zum Teil weit geringere spez. Drehungen haben, nach der Barytmethode von Tanret<sup>2)</sup> zu befreien und ein Inulin von größerer Drehung, bis zu  $-39.5^\circ$  zu erhalten, ist fehlgeschlagen. Auch die Extraktion unseres Inulins mit 60-volumproz. Alkohol, in dem die Begleitstoffe leichter löslich sein sollen, gab kein Ansteigen des Drehungswertes. Wir schließen uns demnach der Kritik an, die Dean<sup>3)</sup> auf Grund eingehender Versuche an den Befunden von Tanret geübt hat, und glauben uns dazu umso mehr berechtigt, als die Einheitlichkeit unseres Inulins erwiesen scheint. Offenbar handelt es sich bei den Begleitstoffen um fermentative Abbauprodukte des Inulins<sup>4)</sup>, deren Auftreten in den Dahlien- oder Topinambur-Knollen, wie auch den Zichorienwurzeln, von der Jahreszeit abhängt.

## Versuche.

### Triacetyl-inulin.

18 g Inulin wurden mit einem Gemisch aus 100 ccm über Kali destilliertem Pyridin und 70 ccm Essigsäure-anhydrid übergossen und in einem Rundkölbchen mit eingeschliffenem Rückflußkühler auf dem Wasserbade erhitzt. Nach wenigen Minuten setzte die Reaktion ein, die ohne weiteres Erwärmen unter Aufwallen der Flüssigkeit bis zur völligen Lösung des Inulins führte. Es wurde in  $1\frac{1}{2}$  l kaltes Wasser einfiltriert und das nach dem Stehen über Nacht körnige Produkt ab-

<sup>1)</sup> Material zu einer Monographie des Inulins, 1870.

<sup>2)</sup> Tanret, C. r. 116, 514 [1893]; Bl. [3] 9, 200, 227, 625 [1893]; C. r. 117, 50 [1893].

<sup>3)</sup> Am. 32, 69 [1904].

<sup>4)</sup> Vergl. Green, Ann. of Botany 1, 223 [1888]; J. Wolff und B. Geslin, C. r. 165, 651 [1917]; H. Colin, C. r. 166, 305 [1918].

gesaugt. Das im Vakuum-Exsiccator über Schwefelsäure und Stangenkalki getrocknete Produkt wog 27 g. Es wurde mit einer Mischung aus 20 ccm Eisessig und 60 ccm Methylalkohol übergossen, wobei es spielend leicht in Lösung ging. Bald jedoch trat Trübung ein, und nach und nach schied sich an den Gefäßwänden ein im Licht glänzendes, krystallinisch aussehendes Körper aus. Nach zwei Tagen konnten nach dem Waschen mit Methylalkohol 11.2 g eines trocknen Produktes gewonnen werden, das zur völligen Entfernung des Eisessigs in 100 ccm kochendem Methylalkohol gelöst wurde. Am folgenden Tage hatten sich 10 g eines jetzt amorph aussehenden Produktes abgeschieden, das von 95° an erweichte und bei 102—103° geschmolzen war. Um es noch schärfer zu reinigen, wurde jetzt ein Krystallisationsversuch in einem Gemisch von 1 Tl. Eisessig und nur 2 Tln. Methylalkohol unternommen. Die Ausbeute war wesentlich vermindert, aus den 10 g des ersten Produktes wurden nach dem Lösen in 10 ccm des letzten Lösungsgemisches und Umlösen aus Methylalkohol nur 5 g zurückgewonnen, die jedoch keine Schmelzpunktserhöhung zeigten.

0.1612 g Subst. (im Vakuum über Stangenkalki bei 56° getrocknet): 0.2952 g CO<sub>2</sub>, 0.0810 g H<sub>2</sub>O.

C<sub>12</sub>H<sub>6</sub>O<sub>8</sub> (288.12). Ber. C 50.00, H 5.60.

Gef. » 49.94, » 5.62.

Zur Acetylbestimmung wurden 1. 0.5982 g, 2. 0.6464 g mit 10 ccm n.-NaOH, 20 ccm Alkohol und 30 ccm Wasser 10 Min. auf dem Wasserbad erwärmt und dann mit <sup>n</sup>/<sub>10</sub>-HCl und Lackmus als Indicator titriert.

1. 38.1 ccm <sup>n</sup>/<sub>10</sub>-HCl, 2. 32.7 ccm <sup>n</sup>/<sub>10</sub>-HCl. — Durch die Acetylgruppe neutralisiert: 1. 61.9 ccm <sup>n</sup>/<sub>10</sub>-NaOH, 2. 67.3 ccm <sup>n</sup>/<sub>10</sub>-NaOH.

C<sub>6</sub>H<sub>7</sub>O<sub>5</sub>(CO.CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. Ber. CO.CH<sub>3</sub> 44.79.

Gef. 1. 44.53, 2. 44.84.

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{-1.95^\circ \times 6.5278}{1 \times 1.0646 \times 0.2936} = -42.55^\circ \text{ (in Eisessig),}$$

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{-2.05^\circ \times 5.1728}{1 \times 1.0647 \times 0.2478} = -42.13^\circ \text{ (in Eisessig).}$$

I. a) 0.498 g Subst., 20 g Naphthalin (Mol.-Depress. 68.5)<sup>1)</sup>: Gefrierpunkt-Erniedr. 0.065°, Mol.-Gew. 2624. — b) 1.485 g Subst., 20 g Naphthalin: Gefrierpunkt-Erniedr. 0.193°, Mol.-Gew. 2635.

II. b) 0.806 g Subst., 25.14 g Eisessig (Mol.-Depress. 39): Gefrierpunkt-Erniedr. 0.050°, Mol.-Gew. 2501. — b) 1.183 g Subst., 25.14 g Eisessig: Gefrierpunkt-Erniedr. 0.065°, Mol.-Gew. 2823.

III. a) 0.598 g Subst., 20 g Phenol (Mol.-Depress. 72)<sup>1)</sup>: Gefrierpunkt-Erniedr. 0.080°, Mol.-Gew. 2690. — b) 1.265 g Subst., 20 g Phenol: Gefrierpunkt-Erniedr. 0.180°, Mol.-Gew. 2529.

<sup>1)</sup> Nach Meyer-Jacobson, Lehrbuch der organ. Chemie, 2. Auf., 1907, S. 54.

Die Bestimmungen in Eisessig und Phenol wurden im geschlossenen Apparat mit elektrischem Rührer ausgeführt.

Die Berechnung für  $[\text{C}_6\text{H}_7\text{O}_5(\text{CO}\cdot\text{CH}_3)_3]_8$  würde ergeben: 2305.

» » »  $[\text{C}_6\text{H}_7\text{O}_5(\text{CO}\cdot\text{CH}_3)_3]_9$  » » : 2593.

Der Mittelwert der 6 Bestimmungen von 2633 liegt also dem für 9 Zuckerreste errechneten Werte am nächsten.

#### Verseiftes Inulin-acetat.

7 g des Triacetyl-inulins wurden in fein gepulvertem Zustande mit einer eiskalten Lösung von 7 g Kalihydrat in 100 ccm Alkohol übergossen und nach dem Verreiben mit der Verseifungslauge  $\frac{1}{2}$  Stde. bei Zimmertemperatur stehen gelassen, wobei die sich zusammenballenden Klümpchen gelegentlich zerdrückt wurden. Dann wurde das ausgeschiedene Kaliumsalz des Verseifungsproduktes rasch abgesaugt, mit Alkohol gewaschen und in 25 ccm Wasser unter Neutralisation mit Essigsäure gelöst. Die Lösung ergab nach dem Aufkochen mit Tierkohle und Filtration durch ein mit Kieselgur gedichtetes Filter ein wasserhelles Filtrat, aus dem sich das Verseifungsprodukt nach mehrtägigem Stehen wie unverändertes Inulin ausschied. Nach dem Umlösen aus wenig Wasser wurde ein analysenreines Produkt erhalten. Ein Teil der Flüssigkeit wurde, zusammen mit einer auf ganz demselben Wege erhaltenen, aus dem ursprünglichen Inulin hergestellten, mit den ausgefallenen Inulinsubstanzen an das Kaiser-Wilhelm-Institut für Faserstoffchemie zur Untersuchung gegeben.

0.1445 g Sbst. Verseifungsprodukt (nach dem Trocknen im Vakuum über Phosphorpentoxyd bei 78°): 0.2303 g  $\text{CO}_2$ , 0.0821 g  $\text{H}_2\text{O}$ .

$\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$  (162.08). Ber. C 43.62, H 6.31.

Gef. » 43.46, » 6.36.

Das Produkt ist ebenso wie Inulin sehr hygroskopisch.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = \frac{-1.50^\circ \times 4.5680}{1 \times 1.0086 \times 0.1970} = -35.95^\circ \text{ (in Wasser),}$$

$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = \frac{-3.57^\circ \times 5.1652}{1 \times 1.0403 \times 0.5514} = -35.58^\circ \text{ (in Wasser).}$$

Das ursprüngliche Inulin gab:

$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = \frac{-4.3 \times 4.5108}{1 \times 1.0516 \times 0.569} = -35.75^\circ \text{ (in Wasser).}$$