

Dimethylester: 0.1 g Säure werden in 20 ccm Aceton gelöst und unter Eiskühlung mit ätherischer Diazo-methan-Lösung versetzt, bis eine bleibende Gelbfärbung eintritt. Dann wird die Lösung durch Zusatz von Eisessig entfärbt, mit 300 ccm Wasser verdünnt und mit Äther extrahiert. Der Äther wird mit 1-proz. Kalilauge geschüttelt, die letztere angesäuert und ausgeäthert. Die in Äther aufgenommene Substanz bildet beim Umkrystallisieren aus Methanol glänzende, farblose Blättchen vom Schmp. 125°. Sie ist in Äther, heißem Alkohol und Aceton leicht löslich, in kaltem Alkohol etwas schwer löslich. Die alkohol. Lösung wird durch Eisenchlorid weinrot gefärbt.

0.0270 g Sbst.: 0.0736 g AgJ (nach Zeisel).

$C_9H_{15}O_3(OCH_3)_3$ . Ber.  $CH_3O$  35.83. Gef.  $CH_3O$  36.01.

## 78. Endre Berner: Über Inulin, III. Mitteil.: Zur Frage der Depolymerisation des Inulins.

[Aus d. Institut für Organ. Chemie, Norges Tekniske Høiskole, Trondheim.]

(Eingegangen am 30. Januar 1933.)

In diesen Berichten habe ich früher gezeigt<sup>1)</sup>, daß die von H. Pringsheim, J. Reilly und Mitarbeitern<sup>2)</sup> behauptete Depolymerisation des Inulins und Glykogens beim Auflösen in Acetamid oder Formamid nicht stattfindet. Die experimentellen Befunde dieser Forscher ließen sich einfach mittels physikalisch-chemischer Vorgänge erklären. Die nach ihren Vorschriften dargestellten vermeintlichen Depolymerisate, Inulan und Glykogesin, erwiesen sich in Wirklichkeit als aus unveränderten Kohlenhydraten bestehend, die infolge Adsorption der bei ihrer Darstellung verwendeten Lösungsmittel bei den kryoskopischen Messungen in Wasser niedrige Molekulargewichte vortäuschten. Beim Inulin wurde außerdem die Leichtlöslichkeit in kaltem Wasser durch das Auffinden der amorphen Form dieses Kohlenhydrates erklärt. Die Existenz des amorphen Inulins ist später von J. R. Katz und A. Weidinger<sup>3)</sup> röntgenspektrographisch bestätigt worden.

In einer unlängst erschienenen Abhandlung über die Kryoskopie von Glykogen und Inulin in Acetamid haben H. Pringsheim und H. Weiß<sup>4)</sup> die Gelegenheit benutzt, wiederum die Zuverlässigkeit meiner experimentellen Resultate in Frage zu stellen und die Grundlage meiner Beweisführung, nämlich die Additivität bei kryoskopischen Messungen, als falsch zu bezeichnen. Ihre Einwände zwingen mich, noch einmal auf diese Fragen zurückzukommen. Es handelt sich wesentlich um folgende drei Punkte:

1. Pringsheim und Weiß glauben nicht, daß es ohne besondere, in meinen Arbeiten nicht geschilderte Maßnahmen möglich sei, die Aussage zu machen, daß in einem Inulin-Präparat 0.007% Asche vorhanden sei. Schon vor der Veröffentlichung meiner ersten Abhandlung über Inulin hatte ich viele Aschen-Bestimmungen ausgeführt und volles Vertrauen zu meiner Arbeitsweise gewonnen. Es fiel mir damals nicht ein, daß meine Angaben über den Aschen-Gehalt bezweifelt werden könnten, und ich unterließ deshalb zwecks Platz-Ersparnis die Beschreibung der Arbeitsweise.

<sup>1)</sup> B. **63**, 1356, 2760 [1930], **64**, 842, 1531 [1931].

<sup>2)</sup> B. **62**, 2378 [1929], **63**, 1093, 2636, 3210 [1930].

<sup>3)</sup> Rec. Trav. chim. Pays-Bas **50**, 1133 [1931].

<sup>4)</sup> B. **65**, 1807 [1932].

Ich habe für die Aschen-Bestimmung folgendes Verfahren benutzt: Das Veraschen wurde in einem Platinschiffchen ausgeführt, das in einem leeren, sauberen Kaliglas-Rohr, welches ein langsamer Sauerstoff-Strom passierte, eingebracht war. Das Schiff wurde anfangs nur vom einen Ende aus und so schwach erhitzt, daß das Verbrennen des Inulins mehrere Stunden in Anspruch nahm. Nach vollständigem Veraschen wurde  $\frac{1}{4}$  Stde. auf 600—650° erhitzt. Zur Kontrolle wurde nach dem Wägen wieder geglüht und gewogen. Die Wägungen geschahen mittels einer sehr zuverlässigen Bunge-Wage und wurden als Tara-Wägungen unter genauer Bestimmung des Ausschlages und der Empfindlichkeit ausgeführt. Die Genauigkeit beträgt dabei ungefähr 0.005 mg. In dem von Pringsheim und Weiß erwähnten Fall ergab 1.00 g Inulin 0.068 mg Asche. Meine Angabe von 0.007% Asche ist daher berechtigt.

2. Pringsheim und Weiß glauben ferner nicht, daß sich aus einer Bestimmung des spezif. Gew.  $d_{4}^{20} = 0.99816$  0.37 g/l Alkohol ablesen läßt. Die Genauigkeit der Alkoholometrie ist wie bekannt abhängig von der Genauigkeit, mit der das spezif. Gew. bestimmt ist, und von der Genauigkeit der Alkohol Tabellen. Ich habe das spezif. Gew. mittels eines Pyknometers mit einer Genauigkeit von  $1 \cdot 10^{-5}$  bestimmt und für die Ablesung des Alkohol-Gehaltes die amtlichen, norwegischen Tabellen benutzt, auf die in Landolt-Börnsteins physikalisch-chemischen Tabellen hingewiesen ist<sup>5)</sup>. Diese Alkohol-Tabellen sind, unter Zugrundelegung von C. N. Riibers Wert für das spezif. Gew. reinen Alkohols und der Tabellen des „Bureau of Standards“, mit einer Genauigkeit von 0.01 g/l Alkohol ausgerechnet. Beispielsweise zeigen diese Tabellen, daß bei den niedrigsten Konzentrationen eine Änderung in dem spezif. Gew. um  $1 \cdot 10^{-5}$  einer Änderung in dem Alkohol-Gehalt von 0.053 g/l entspricht.

3. Schließlich schreiben Pringsheim und Weiß: „und wir sind ganz sicher, daß die Kryoskopie künstlich mit Alkohol versetzter Inulin-Lösungen oder die Berechnung eines Molekulargewichtes unter Einbeziehung des angeblich vorhanden gewesen Alkohols falsch sein müssen, da nach unseren Versuchen Alkohol bei der Kryoskopie in Wasser ein ganz falsches Molekulargewicht — bei den in Frage kommenden Konzentrationen zwischen 27 und 33, statt 46 — anzeigt.“ Selbstverständlich hatte ich vor der Anwendung der erwähnten Berechnungs-Methode das kryoskopische Verhalten der in Frage kommenden Verunreinigungen in verd. Lösung nachgeprüft. Ich fand damals z. B. für Alkohol bei einer Konzentration von 0.425 g/l das Molekulargewicht gleich 45.2. Die molekulare Gefrierpunkts-Depression des Wassers ist dabei gleich 1.86 gesetzt. Bei einem vor kurzem ausgeführten Versuch, der im Versuchs-Teil wiedergegeben ist, fand ich 45.9.

Übrigens hätten Pringsheim und Weiß sich über das kryoskopische Verhalten von Alkohol am einfachsten durch Nachsehen in den bekannten Tabellen von Landolt-Börnstein überzeugen können. Dort sind nämlich kryoskopische Messungen an wäßrigen Alkohol-Lösungen wiedergegeben<sup>6)</sup>, die von Forschern wie F. M. Raoult, W. Nernst, R. Abegg, E. H. Loomis, H. Hausrath, M. Wildermann und anderen ausgeführt sind. Diese zeigen, daß etwaige Abweichungen von dem normalen Verhalten zu klein sind, um meine Berechnungen nennenswert zu beeinflussen. Auf Grundlage der Beobachtungen dieser Forscher habe ich für einige verd. Lösungen das

<sup>5)</sup> Landolt-Börnstein: Physikalisch-chemische Tabellen, 5. Aufl., Erster Ergänzungsband, S. 213.

<sup>6)</sup> Landolt-Börnstein: Physikalisch-chemische Tabellen, 5. Aufl., S. 1457.

Molekulargewicht des Alkohols unter Benutzung der Konstante 1.86 berechnet und unten zusammengestellt:

Autor	Konzentration in g/100 g	Gefr.- Temp.	Mol.- Gew.
Loomis .....	0.04604	—0.0181 <sup>0</sup>	47.3
Hausrath .....	0.1332	—0.04936 <sup>0</sup>	50.2
Nernst u. Abegg.....	0.3247	—0.1307 <sup>0</sup>	46.2
Raoult .....	0.595	—0.2367 <sup>0</sup>	46.8
	in g/100 ml		
Wildermann .....	0.03006	—0.0122 <sup>0</sup>	45.8
„ .....	0.1718	—0.0685 <sup>0</sup>	46.6
„ .....	0.7193	—0.2878 <sup>0</sup>	46.5

Die Grundlage für Pringsheim und Weiß' Kritik meiner Anwendung des Additivitäts-Prinzipes bei kryoskopischen Messungen ist somit hinfällig.

Ich benutze diese Gelegenheit, um das eigentümliche Adsorptionsvermögen des Inulins durch einige neue Versuche zu beleuchten: Die Adsorption von Alkohol ist bei der amorphen Form des Kohlenhydrates besonders stark. Als ich zum erstenmal das amorphe Inulin beschrieb<sup>7)</sup>, enthielt eine Probe nach 2-stdg. Erhitzen auf 111<sup>0</sup> im Hochvakuum über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 8.4 % Alkohol, und eine andere Probe 12.9 %. Bei einem dritten Versuch, der ungefähr gleichzeitig ausgeführt wurde, enthielt das amorphe Inulin nach demselben Trocknen 18.8 % Alkohol, eine Menge, die durch weiteres 2-stdg. Erhitzen nur auf 17.8 % herabgesetzt wurde. Auch die gewöhnliche, schwerlösliche Form des Inulins adsorbiert, wie ich schon früher beschrieben habe<sup>8)</sup>, Alkohol, wenn es aus einer wäßrigen Lösung gefällt wird. Wie die Adsorption von der Abwesenheit des Wassers bedingt ist, geht aus einigen Versuchen hervor, die im experimentellen Teil beschrieben sind.

### Beschreibung der Versuche.

#### Inulin.

Für die folgenden Versuche wurde ein besonders sorgfältig gereinigtes Präparat verwendet. Das von Dr. Theodor Schuchardt gelieferte Ausgangsmaterial hatte einen Aschen-Gehalt von 0.06 %. Nach 10-maligem Auflösen in destilliertem Wasser und Ausfrieren wurde es im Vakuum-Exsiccator vorgetrocknet und dann 3 Stdn. im Hochvakuum auf 100<sup>0</sup> über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> erhitzt.

0.52 g Inulin: 0.025 mg = 0.005 % Asche. — 0.3045 g in 20.22 g wäßriger Lösung, 4-dm-Rohr,  $\alpha_D^{20} = -2.42^0$ ,  $[\alpha]_D^{20} = -40.2^0$ . — 0.620 g in 25 g Wasser:  $\Delta = 0.0095^0$ , M = 4900.

Von der für den kryoskopischen Versuch benutzten, auf den doppelten Rauminhalt verdünnten Lösung wurden 25 ml abdestilliert. Destillat:  $\Delta = 0$ , Rest:  $\Delta = 0.010^0$ , M = 4600.

#### Amorphes Inulin und Alkohol.

Eine siedendheiße Lösung von 2 g Inulin in 5 ml Wasser wurde unter Umrühren in 400 ml absol. Alkohol gegossen. Der überstehende Alkohol wurde 2-mal erneuert, das amorphe Inulin 3 Stdn. nach dem Fällen filtriert,

<sup>7)</sup> B. 64, 842 [1931].

<sup>8)</sup> B. 63, 1356 [1930].

1 Stde. im Vakuum-Exsiccator über Chlorcalcium gestellt und die eine Hälfte dann  $1\frac{1}{2}$  Stdn. bei 0.01 mm und  $111^{\circ}$  über  $P_2O_5$  getrocknet:

0.210 g in 40 ml Wasser, 20 ml Destillat:  $\Delta = 0.080^{\circ}$ , entspr. 0.0396 g = 18.8% Alkohol. — Nach weiterem 2-stdg. Erhitzen auf  $111^{\circ}$  bei 0.01 mm über  $P_2O_5$ : 0.192 g in 40 ml Wasser, 20 ml Destillat:  $\Delta = 0.069^{\circ}$ , entspr. 0.0342 g = 17.8% Alkohol. Der Alkohol wurde qualitativ mittels der Jodoform-Probe nachgewiesen.

Die andere Hälfte des amorphen Inulins wurde 4 Tage im Vakuum-Exsiccator über Chlorcalcium aufbewahrt und enthielt dann 10.1% Alkohol (0.174 g in 40 ml Wasser, 20 ml Destillat:  $\Delta = 0.0355^{\circ}$ ). Der Rest dieses Präparates wurde damals — Februar 1931 — in ein Glasrohr eingeschmolzen. Beim Öffnen des Rohres im Januar 1933 enthielt das Inulin noch dieselbe Menge Alkohol und war noch immer leichtlöslich in kaltem Wasser:

0.393 g in 50 ml Wasser, 25 ml Destillat:  $\Delta = 0.063^{\circ}$ ,  $d_4^{20} = 0.99794$ ; also aus der Depression berechnet 0.0390 g und aus dem spezif. Gew. 0.0385 g Alkohol oder umgerechnet auf Inulin = 9.9%.

### Schwerlösliches Inulin und Alkohol.

Aus einer auf gewöhnliche Temperatur abgekühlten Lösung von 10 g Inulin in 100 ml Wasser wurde das Inulin durch langsame Zugabe von Alkohol in seiner schwerlöslichen Form ausgefällt und dann 3 Tage mit Alkohol, zuletzt mit absolutem, entwässert. Nach dem Trocknen im Vakuum-Exsiccator bis zum nächsten Tage wurde es 2 Stdn. im Hochvakuum über  $P_2O_5$  auf  $100^{\circ}$  erhitzt:

0.475 g in 25 g Wasser,  $\Delta = 0.007^{\circ}$ , Mol.-Gew. 5000.

Im Destillat war kein Alkohol nachweisbar.

Bei einem zweiten Versuch wurde das ausgefällte Inulin erst 2 Tage im Vakuum-Exsiccator über Chlorcalcium und dann 2 Tage über konz. Schwefelsäure getrocknet. Hierdurch wurde noch anwesendes Wasser beinahe vollständig entfernt, denn bei dem nachfolgenden 2-stdg. Erhitzen im Hochvakuum auf  $100^{\circ}$  über  $P_2O_5$  blieb das Pentoxyd fast unverändert, während es beim vorigen Versuch zum größten Teil zerflossen war.

Das getrocknete Inulin enthielt in diesem Fall Alkohol, wie die folgende Analyse zeigt: 0.514 g in 25 g Wasser,  $\Delta = 0.018^{\circ}$ , scheinbares Mol.-Gew. = 2100. Verdünnt und destilliert. 25 ml Destillat:  $\Delta = 0.010^{\circ}$ . Alkohol mittels der Jodoform-Reaktion nachgewiesen. Der Rest von der Destillation wurde auf 25 ml gebracht:  $\Delta = 0.0075^{\circ}$ ,  $M = 5100$ .

Um die Alkohol-Menge zu bestimmen, wurden 3.0 g in 50 ml Wasser gelöst und 25 ml abdestilliert:  $\Delta = 0.058^{\circ}$ ,  $d_4^{20} = 0.99796$ , entspr. 1.43 g/l Alkohol. In 25 ml also 0.0358 g oder 1.19% des Inulins. Aus der Gefrierpunkts-Depression berechnet sich das Mol.-Gew. des Alkohols zu 45.9.

Beim Liegen in Luft mit einer relativen Feuchtigkeit von 50—60% verlor das Präparat langsam den Alkohol. Nach 5 Tagen waren noch 0.6% vorhanden, aber nach 11 Tagen konnte Alkohol nicht mehr nachgewiesen werden.