

SUMMARY

1. The rates of the following nucleophilic substitution reactions have been measured in benzene solution: (1) cyanuric chloride and aniline; (2) 2-anilino-3,5-dichloro-triazine and aniline; (3) 1-N-methylanilino-3,5-dichloro-triazine and N-methylaniline.

2. Reaction (1) is autocatalysed; it is first order with respect to cyanuric chloride and approximately first order with respect to aniline (weak base catalysis by aniline).

3. Reaction (2) is also autocatalysed. It is second order with respect to 1-anilino-3,5-dichloro-triazine and approximately first order with respect to aniline.

4. Reaction (3) is not autocatalysed; in any other respect it has the same characteristics as reaction (1).

5. All reactions are catalysed by triethylamine and by pyridine, as well as by bifunctional catalysts such as carboxylic acids and α -pyridone. The catalytic effect decreases in the sequence $\text{CH}_3\text{COOH} > \text{CH}_2\text{ClCOOH} > \text{CCl}_3\text{COOH}$.

The reactions are not catalyzed by γ -pyridone or by phenols.

Institut für Farbenchemie,
Universität Basel

und

Technisch-chemisches Laboratorium¹⁹⁾,
Eidgenössische Technische Hochschule,
Zürich

¹⁹⁾ Jetzige Adresse der Autoren.

94. Untersuchungen über Getreideschleimstoffe

I. Chromatographische Fraktionierung von wasserlöslichen Weizenmehlpentosanen an Diäthylaminoäthyl-Cellulose

von W. Kündig, H. Neukom und H. Deuel

(4. III. 61)

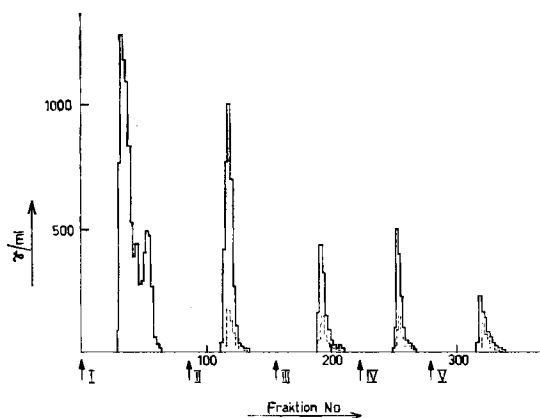
Wird Weizenmehl mit Wasser bei Zimmertemperatur extrahiert, so gehen ca. 5% der Mehlsubstanzen in Lösung. Der Rückstand enthält die beiden Hauptkomponenten des Weizenmehls, die Weizenstärke und die Kleberproteine. Der wässrige Extrakt enthält niedermolekulare Substanzen (Zucker, Aminosäuren etc.) und hochmolekulare Substanzen (Proteine und Polysaccharide). Die Polysaccharide sind für die viskose Beschaffenheit der Extrakte verantwortlich und werden daher oft auch als Getreideschleimstoffe bezeichnet. Sie sind bei der Teigbildung und für die Backfähigkeit von Bedeutung¹⁾. Die Lösungen dieser Polysaccharide haben die eigenartige Eigenschaft, auf Zusatz von Spuren von Oxydationsmitteln zu einem Gel zu erstarr-

¹⁾ Vgl. z. B. J. W. PENCE, N. E. WEINSTEIN & D. K. MECHAM, *Cereal Chemistry* 31, 396 (1954); R. J. MATTERN & R. M. SANDSTEDT, *ibid.* 34, 252 (1957).

²⁾ J. C. BAKER, H. K. PARKER & M. D. MIZE, *Cereal Chemistry* 20, 267 (1943).

ren²⁾. Es war schon längere Zeit bekannt³⁾, dass diese nicht-stärkeartigen Polysaccharide des Weizen- und Roggenmehls vor allem aus Xylose und Arabinose bestehen, also zur Gruppe der Pentosane⁴⁾ gehören. PERLIN⁵⁾ sowie etwas später MONTGOMERY & SMITH⁶⁾ haben gezeigt, dass die Hauptfraktion der wasserlöslichen Pentosane aus einem Arabinoxylyan besteht. Dieses baut sich aus einer Xylanhauptkette auf, in der die D-Xylopyranoseresste in β -(1 \rightarrow 4)-glycosidischer Bindung untereinander verknüpft sind. An dieser Xylankette hängen einzelne L-Arabinofuranoseresste, die mit den OH-Gruppen an C-2 oder C-3 der Xylosebausteine glycosidisch verknüpft sind. Eine analoge Struktur wurde von ASPINALL *et al.* für das Roggen-⁷⁾ und das Gerstenpentosan⁸⁾ gefunden.

Die Weizenpentosane, die gewöhnlich durch Extraktion mit Wasser, Enteiweissung, Dialyse und Ausfällung in Alkohol oder Lyophilisierung gewonnen werden, enthalten neben variablen Mengen löslicher, abgebauter Stärke stets geringe Mengen an



Fraktionierung der wasserlöslichen Polysaccharide und Glycoproteine (400 mg) aus Manitoba-II-Weizenmehl an einer DEAE-Cellulosekolonne (50 g)

(α -Glucosane vor der Fraktionierung durch Abbau mit α -Amylase und Dialyse entfernt)

Boratform; Elutionslösungen: I H₂O, II 0,01 M, III 0,1 M, IV 0,5 M Na-Borat,

V 0,5 N NaOH; Fraktionsvolumen 20 ml

Polysaccharide; ----- Proteine

Galaktose und Proteinen, die von den Pentosanen nicht abtrennbar sind. Es ist bisher nicht bekannt, ob die Galaktose und diese Proteine mit einem Teil der Pentosane kovalent verbunden sind oder ob es sich um individuelle Komponenten handelt. Die bisher versuchten Fraktionierungen der Pentosane⁵⁾⁹⁾, wie auch die Papierelektrophorese¹⁰⁾, waren nur teilweise erfolgreich.

³⁾ M. E. FREEMAN & R. A. GORTNER, *Cereal Chemistry* 9, 506 (1932).

⁴⁾ Vgl. z. B. G. O. ASPINALL, *Adv. Carbohydrate Chemistry* 14, 429 (1959).

⁵⁾ A. S. PERLIN, *Cereal Chemistry* 28, 370, 382 (1951); C. M. EWALD & A. S. PERLIN, *Canad. J. Chemistry* 37, 1254 (1959).

⁶⁾ R. MONTGOMERY & F. SMITH, *J. Amer. chem. Soc.* 77, 3325 (1955).

⁷⁾ G. O. ASPINALL & R. J. STURGEON, *J. chem. Soc.* 1957, 4469.

⁸⁾ G. O. ASPINALL & R. J. FERRIER, *J. chem. Soc.* 1958, 638.

⁹⁾ I. A. PREECE & R. HOBKIRK, *J. Inst. Brewing* 41, 385 (1953).

¹⁰⁾ I. A. PREECE & R. HOBKIRK, *Chemistry & Ind.* 1955, 257.

Mit der vor kurzem beschriebenen Methodik der chromatographischen Fraktionierung von Polysacchariden an Diäthylaminoäthyl-Cellulose (DEAE-Cellulose)¹¹⁾ haben wir nun versucht, die Weizenpentosane in mehr oder weniger einheitliche Fraktionen zu zerlegen. Wie schon früher angegeben¹¹⁾, wurden bei der Chromatographie der Weizenpentosane an DEAE-Cellulosekolonnen in der Boratform mit Na-Borat-Lösungen als Elutionsmittel sehr gute Fraktioniereffekte erzielt. Diese Versuchsbedingungen wurden daher auch bei den nachfolgend beschriebenen Fraktionierungen verwendet.

Fraktionierung der wasserlöslichen Polysaccharide und Glycoproteine aus Manitoba-II-Weizenmehl an einer DEAE-Cellulosekolonne

(α -Glucosane vor der Fraktionierung durch Abbau mit α -Amylase und Dialyse entfernt)

Fraktion Nr. (eluiert mit)	Anteil am Mehl- extrakt*)	Anteil am stärke- freien Mehl- extrakt	Zusammensetzung der Fraktionen		
			Protein- gehalt (N x 6,25)	Poly- saccharid- gehalt	Quantitative Zusammensetzung der Polysaccharide
	%	%	%	%	%
1 (Wasser)	20,7	46,0	—	100	Arabinose 45 Xylose 55
2 (0,01 M Na-Borat)	10,9	24,2	17	83	Galaktose 26 Arabinose 36 Xylose 38
3 (0,1 M Na-Borat)	3,6	8,0	29	71	Galaktose 54 Arabinose 46
4 (0,5 M Na-Borat)	5,5	12,2	37	63	Galaktose 49 Arabinose 43 Xylose 8
5 (0,5 N NaOH)	4,3	9,6	39	61	Galaktose 2 Arabinose 17 Xylose 81
*) Vor der Behandlung mit α -Amylase; dieser Extrakt enthält 55% lösliche Stärke (α -Glucosane).					

Als Ausgangsmaterial wurden Kaltwasserextrakte von verschiedenen Manitoba-II-Mehlen verwendet. Aus den Extrakten wurden die Proteine soweit als möglich durch Hitzeaggregation und nachfolgendes Zentrifugieren und die niedermolekularen Bestandteile durch Dialyse gegen destilliertes Wasser entfernt. Die so gereinigten Lösungen der Polysaccharide wurden lyophilisiert. Die in den so erhaltenen wässrigen Mehlextrakten immer vorhandenen löslichen Stärkeabbauprodukte (α -Glucosane) wurden vor der Fraktionierung durch kristalline α -Amylase abgebaut und die Abbauprodukte ebenfalls durch Dialyse gegen destilliertes Wasser eliminiert. Der Abbau dieser α -Glucosane sollte auch die Frage abklären, ob alle Glucose aus löslichen Stärke-

¹¹⁾ H. NEUKOM, H. DEUEL, W. J. HERI & W. KÜNDIG, *Helv.* 43, 64 (1960).

abbauprodukten stammt, ob ein Teil mit den Pentosanen verknüpft ist oder in Form des von PREECE & MACKENZIE¹²⁾ erwähnten β -Glucosans vorhanden sei. Die Fraktionierung erfolgte an einer DEAE-Cellulosekolonne in Boratform mit Na-Borat verschiedener Konzentration sowie NaOH als Elutionslösungen. Wie aus der Figur hervorgeht, konnten durch stufenweise Elution fünf in ihrer Zusammensetzung verschiedene Fraktionen (s. Tab.) erhalten werden. Rechromatographie der Fraktionen ergab keine weitere Auftrennung.

Die mit destilliertem Wasser eluierte erste Fraktion (knapp 50% der Pentosane) stellt ein reines Arabinoxylan dar. Dieses Polysaccharid war an der Austauscherkolonne nicht adsorbiert, da sich offenbar keine oder zu schwache Boratkomplexe bilden. Die Struktur dieses Arabinoxylans ist wahrscheinlich mit der von PERLIN⁵⁾ beschriebenen identisch. Dieses Arabinoxylan stellt die einzige N-freie Fraktion dar.

Alle weiteren Fraktionen enthalten Proteinanteile. Die Zusammensetzung der Polysaccharidanteile dieser proteinhaltigen Fraktionen zeigt, dass Galaktose die einzig nachweisbare Hexosekomponente darstellt. Die glucosehaltigen Polysaccharide werden also durch α -Amylase vollständig abgebaut, und ihre Spaltprodukte werden bei der Dialyse entfernt. Die Glucose liegt daher nur in Form von Stärkeabbauprodukten vor, welche beim untersuchten Mehl 55% der wasserlöslichen Polysaccharide darstellten (s. Tab.). Der Polysaccharidanteil der Fraktion 3 (Elution mit 0,1M Na-Borat) stellt ein reines Arabinogalaktan dar. Fraktion 4 (Elution mit 0,5M Na-Borat) stellt im wesentlichen ebenfalls ein proteinhaltiges Arabinogalaktan mit geringen Mengen Xylose dar, während die Polysaccharidanteile der Fraktionen 2 und 5 (Elution mit 0,01M Na-Borat und 0,5N NaOH) jeweils Arabinose, Xylose und Galaktose in verschiedener Menge enthalten. Besondere Beachtung verdienen die in den Fraktionen 2 bis 5 enthaltenen Proteinanteile; diese können durch Hitzekoagulation nicht ausgeflockt werden. Sie lassen sich, wie die Figur zeigt, chromatographisch von den Polysaccharidfraktionen nicht trennen, sondern erscheinen bei der Elution zusammen mit den Polysacchariden. Auch durch Elektrophorese auf Glasfaserpapier konnten die Polysaccharid- und Proteinbanden nicht voneinander getrennt werden. Man muss daher annehmen, dass in diesen Fraktionen die Proteinkomponenten kovalent an die Polysaccharide in Form von Glycoproteinen gebunden sind. Nach Hydrolyse lassen sich darin folgende Aminosäuren papierchromatographisch nachweisen: Alanin, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Glycin, Lysin, Arginin, Histidin, Isoleucin, Leucin, Phenylalanin, Valin, Tyrosin, Threonin und Spuren von Serin, Prolin und ev. Cystein. Auf Grund der jodometrischen Bestimmungen von einzelnen Aminosäuren in den intakten Proteinen nach BARAUD & GENEVOIS¹³⁾ müssen auch Methionin und Tryptophan vorhanden sein. Aminozucker konnten keine nachgewiesen werden. Es sind demnach alle in Proteinen normalerweise vorhandenen Aminosäuren feststellbar. Zu bemerken ist, dass in allen diesen Glycoproteinen die Polysaccharidkomponente mengenmässig überwiegt. Die Eigenschaften dieser Verbindungen werden daher vor allem von den vorherrschenden Polysaccharidanteilen bestimmt (keine Koagulation durch Erhitzen; keine Fällung durch Proteinfällungsmittel). Über die Natur der Polysaccharid-Pro-

¹²⁾ I. A. PREECE & K. G. MACKENZIE, *J. Inst. Brewing* **58**, 467 (1952).

¹³⁾ J. BARAUD & L. GENEVOIS, *Bull. Soc. chim. France* **1955**, 1499.

teinbindung ist vorläufig noch nichts bekannt. Pflanzliche Glycoproteine sind übrigens nur sehr vereinzelt und mangelhaft beschrieben worden¹⁴).

Bereits PERLIN⁵) machte auf die säurelabile Glycosidbindung der Arabinofuranose-Reste in dem von ihm isolierten Pentosan aufmerksam. Werden die oben beschriebenen Fraktionen einzeln einer milden, sauren Hydrolyse (1N HCl, 20°, 72 Std.) unterworfen, so können in den Fraktionen 1 und 2 Veränderungen beobachtet werden. Aus dem mit destilliertem Wasser eluierten reinen Arabinoxylan (Fraktion 1) wird unter diesen Bedingungen Arabinose abgespalten. Dabei bildet sich im Verlauf der Säureeinwirkung ein weisses Sediment, welches als reines Xylan identifiziert werden konnte. Bei der Fraktion 2 entsteht während dieser partiellen Hydrolyse ebenfalls ein Sediment, das aber neben dem Xylan auch noch einen Teil der in dieser Fraktion vorhandenen und mit den Polysacchariden verbundenen Proteinanteile enthält. Diese Proteine müssen offenbar direkt mit der Xylankette verbunden sein. In der überstehenden Hydrolyselösung kann neben Arabinose auch noch ein nicht-dialysierbares proteinhaltiges Bruchstück nachgewiesen werden, welches nach der Hydrolyse hauptsächlich Galaktose und wenig Arabinose ergab. Dieses Bruchstück muss vor der partiellen Hydrolyse an die Xylankette gebunden gewesen sein, da durch zweimalige Rechromatographie von Fraktion 2 keine weitere Auftrennung erzielt werden konnte. Die verhältnismässig leichte Abspaltung dieses hochmolekularen Bruchstückes durch partielle Hydrolyse könnte darauf beruhen, dass die Bindung dieser Substanz an die Xylankette über Arabinose erfolgt. Ähnliche Beobachtungen wurden indirekt bereits von SIMPSON¹⁵) beschrieben, der aus wässrigen Mehlextrakten die reinsten Pentosane durch Ausfällung des Extraktes in HCl-Alkohol bei pH 1 erhalten hatte. – Bei den Fraktionen 3, 4 und 5 bewirkt die partielle Hydrolyse keine sichtbaren Veränderungen.

Über die Funktion und Lokalisation dieser wasserlöslichen Pentosane und Polysaccharid-Protein-Komplexe aus dem Endosperm des Getreidekorns ist noch nichts bekannt. Es wäre möglich, dass sie mit dem Auf- und Abbau der Zellwände im Zusammenhang stehen, da sich diese zum Teil ebenfalls aus Hemizellulosen ähnlicher Zusammensetzung aufbauen¹⁶).

Experimenteller Teil

Die wässrigen Mehlextrakte wurden aus Weissmehlen aus Manitoba-II-Weizen (Passagen C₁ bis C₃ der BÜHLER-Versuchsmühle) hergestellt.

Jc 100 g Mehl wurden mit 200 ml destilliertem Wasser 5 Min. bei Zimmertemperatur in einem TURMIX bei voller Dehzahl gemischt. Die unlöslichen Bestandteile – Stärke und Kleber – wurden in der SHARPLESS-Ultrazentrifuge abgetrennt. Der klare Extrakt wurde 3 $\frac{1}{2}$ Min. auf 90° erhitzt, dadurch wurden gelöste Proteine koaguliert und gleichzeitig ein enzymatischer Abbau der Polysaccharide verhindert. Die ausgeflockten Proteine wurden unter Zusatz von FILTROL¹⁷) (Special Filtrol Grade 1, FILTROL Co., Los Angeles, Calif., U. S. A.) in der SPINCO-Ultrazentrifuge sedimentiert. Die zentrifugierten wasserklaren Lösungen wurden zur Entfernung der niedermolekularen Bestandteile 6 bis 8 Tage bei Zimmertemperatur gegen destilliertes Wasser unter Zusatz einiger Tropfen Merthiolat (Schutz gegen Infektion durch Mikroorganismen) dialysiert

¹⁴) F. HAUROWITZ, in W. RUHLAND, Handbuch der Pflanzenphysiologie Bd. VIII, S. 333, Springer-Verlag, Berlin 1958.

¹⁵) F. SIMPSON, *Canad. J. Microbiol.* 7, 131 (1954).

¹⁶) H. L. SECKINGER, M. J. WOLF & M. M. MACMASTERS, *Cereal Chemistry* 37, 121 (1960).

¹⁷) J. W. PENCE, A. H. ELDER & D. K. MECHAM, *Cereal Chemistry* 27, 60 (1950).

und dann direkt lyophilisiert. Ausbeute: 1,106 g lyophilisierter Extrakt pro 100 g Mehl; Proteingehalt 8,8% ($N \times 6,25$).

Abbau der α -Glucosane durch α -Amylase. 800 mg lyophilisierter Mehlextrakt wurden in 40 ml Wasser gelöst. Diese 2-proz. Lösung wurde mit 40 ml 0,02 M Na-PhosphatpufferpH 7,2, enthaltend 0,04 N NaCl¹⁸⁾, verdünnt, mit 20 mg dreimal umkristallisierter α -Amylase aus Schweinepankreas (NUTRITIONAL BIOCHEMICALS CORP., Cleveland, Ohio, U. S. A.) versetzt und 48 Std. gegen die mit Wasser 1:1 verdünnte Pufferlösung dialysiert. Nach dieser Zeit konnten im Dialysat keine α -Amylase-Abbauprodukte mehr festgestellt werden. Die Lösung im Dialyseschlauch, welche die durch α -Amylase nicht abbaubaren Polysaccharide enthielt, wurde zur Inaktivierung des Enzyms mit Trichloressigsäure versetzt und das ausgeflockte Enzym in der SPINCO-Ultrazentrifuge sedimentiert. Die überstehende Lösung wurde nochmals 24 Std. gegen destilliertes Wasser dialysiert und im Vakuum auf 40 ml konzentriert.

Quantitative Bestimmung der durch α -Amylase abgebauten α -Glucosane. Die vereinigten Dialysate des α -Amylaseabbaus wurden im Vakuum konzentriert und durch Perkolation über Dowex 50 (H-Form) sowie über Dowex 3 (OH-Form) entionisiert. Das Perkolat wurde auf 500 ml aufgefüllt. Der Glucosegehalt dieser Lösung wurde in einem aliquoten Teil mit Anthron¹⁹⁾ bestimmt und daraus die Menge der durch α -Amylase abgebauten α -Glucosane ermittelt.

Durch Papierchromatographie konnte im Dialysat des α -Amylase-Abbaus (vor und nach Säurehydrolyse) als monomerer Zucker nur Glucose nachgewiesen werden.

Chromatographie an DEAE-Cellulosekolonnen. Die verwendete DEAE-Cellulose war ein Produkt der BROWN COMPANY, Berlin, N. H., U. S. A., Firmenbezeichnung: Reagent grade, LotNr. 1073, Austauschkapazität 0,77 mÄq./g. Die Herstellung der Cellulosekolonnen in der Boratform erfolgte wie bereits beschrieben¹¹⁾. Die nach dem α -Amylaseabbau verbleibende Lösung der Polysaccharide wurde auf die Kolonne gegeben. Die Elution erfolgte stufenweise mit destilliertem Wasser, 0,01 M, 0,1 M und 0,5 M Na-Borat und mit 0,5 N NaOH. Durchflussgeschwindigkeit 1 ml/Min. Die Eluate wurden automatisch in Fraktionen von 20 ml aufgefangen. Nach Feststellung der Position der einzelnen Fraktionen mit Anthron wurden die entsprechenden Eluate vereinigt, durch Dialyse gegen destilliertes Wasser entionisiert und darauf lyophilisiert.

Die Bestimmung der Polysaccharide in den Eluaten erfolgte kolorimetrisch mit dem modifizierten Anthrontest nach BAILY²⁰⁾. Die von Pentosen und Hexosen nach dieser Methode gebildeten Farbkomplexe sind stabil. Bei der kolorimetrischen Bestimmung verhalten sich die Extinktionswerte der von Pentosen und Hexosen gebildeten Farbkomplexe additiv²¹⁾. Für jede Fraktion wurde auf Grund der quantitativen Bestimmung der einzelnen Polysaccharidkomponenten eine spezielle Eichkurve berechnet.

Die Bestimmung der Proteine in den Eluaten erfolgte kolorimetrisch nach FOLIN & CIO-CALTEU²²⁾, mit Rinder-Serumalbumin als Eichsubstanz.

Hydrolyse der Polysaccharide und Papierchromatographie. Ein Teil der durch Dialyse entionisierten Fraktionen wurde im Vakuum konzentriert und mit 0,5 N HNO₃ 8 Std. bei 105° in einem zugeschmolzenen Glasrohr hydrolysiert. Die Hydrolysate wurden durch Zugabe von Dowex 2 (CO₃-Form) neutralisiert, im Vakuum konzentriert und absteigend chromatographiert; WHATMAN-Papier Nr. 1, Äthylacetat: Pyridin: Wasser (8:2:1). Entwickelt wurde mit Diphenylamin-Anilin-Phosphorsäure-Reagens. Die einzelnen Zucker wurden auf den Papierchromatogrammen nach Ausscheiden der entsprechenden Flecken und Elution mit Wasser mittels Anthron quantitativ bestimmt.

Hydrolyse der Proteine und Papierchromatographie. Ein Teil der durch Dialyse entionisierten Fraktionen wurde im Vakuum auf 1 bis 2 ml konzentriert und darauf mit 4 ml 57-proz. Jodwasserstoffsäure im zugeschmolzenen Glasrohr während 16 Std. bei 135° hydrolysiert. Das Hydrolysat wurde im Vakuum zur Trockene eingedampft, in etwas Wasser aufgenommen und wieder zur

¹⁸⁾ M. L. CALDWELL & J. T. KUNG, J. Amer. chem. Soc. 75, 3132 (1953).

¹⁹⁾ D. L. MORRIS, Science 107, 254 (1948).

²⁰⁾ R. W. BAILY, Biochem. J. 68, 669 (1958).

²¹⁾ Z. B. E. W. YEMM & A. J. WILLIS, Biochem. J. 57, 508 (1954); W. E. TREVELYAN & J. S. HARRISON, *ibid.* 63, 23 (1956).

²²⁾ Vgl. O. H. LOWRY, N. J. ROSEBROUGH, A. L. FARR & R. J. RANDALL, J. biol. Chemistry 193, 265 (1951).

Trockne gebracht. Dies wurde so lange wiederholt (4- bis 5mal), bis nur noch Spuren von Jodwasserstoffsäure zurückblieben. Dann wurde der Rückstand in 10-proz. Isopropanol aufgenommen und nach WOLFE²³⁾ chromatographiert. Entwickelt wurde mit Ninhydrin, zur Lokalisierung von Histidin und Tyrosin wurde zusätzlich diazotierte Sulfanilsäure verwendet.

Elektrophorese der Polysaccharide und Glycoproteine. Diese Versuche wurden in einem horizontalen SHANDON-Elektrophoreseapparat auf Glasfaserpapier SCHLEICHER & SCHÜLL durchgeführt (Spannung 25 V/cm, Stromstärke ca. 30 Amp.). Als Pufferlösung diente 0,2M Na-Borat. Es wurden jeweils 0,05 ml der 2-proz. Lösungen mit einer Blutzuckerpipette aufgetragen. Die Startlinie lag infolge der auf Glasfaserpapier sehr stark auftretenden Elektroendosmose ganz auf der Seite der Anode. Nach der Elektrophorese wurden die Streifen in der Längsrichtung in zwei Teile geschnitten; ein Teil wurde zur Bestimmung der Polysaccharidbande mit Diphenylamin-Anilin-Phosphorsäure-Reagens besprüht, während auf dem anderen die Proteinbanden mit Amidoschwarz angefärbt wurden.

Partielle Hydrolyse der einzelnen Fraktionen. Die einzelnen Fraktionen wurden als 1-proz. Lösungen in 1N HCl in einem ERLLENMEYER-Kolben mit Stopfen bei 20° 72 Std. stengelassen. Eventuell gebildete Sedimente wurden abzentrifugiert. Die Lösungen wurden darauf 48 Std. gegen destilliertes Wasser dialysiert. Die Dialysate der einzelnen Fraktionen wurden vereinigt, mit Dowex 2 (CO₃-Form) entionisiert, im Vakuum konzentriert und direkt chromatographiert. Die Lösungen mit den nicht-dialysierbaren Substanzen wurden ebenfalls im Vakuum konzentriert, mit 0,5N HNO₃ hydrolysiert und wie oben beschrieben chromatographiert.

Die vorliegende Arbeit wurde durch finanzielle Unterstützung der Firma GEBRÜDER BÜHLER, Uzwil, ermöglicht. Wir danken bestens für diese Unterstützung.

SUMMARY

The water soluble non-starchy polysaccharides of a wheat flour (Manitoba II) have been fractionated on a DEAE-cellulose column. Five completely separated fractions were obtained. Fraction 1 was a pure arabinoxylan. Fractions 2 to 5 were glycoproteins; their polysaccharide constituents were composed of the following sugars respectively: xylose, arabinose, and galactose (each of the fractions 2, 4 and 5), and galactose and arabinose (fraction 3).

Agrikulturchemisches Institut
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich

²³⁾ M. WOLFE, *Biochim. biophys. Acta* 23, 186 (1957).

95. Substituenteneffekte in kernmagnetischen Protonenresonanzspektren von substituierten Benzolen

von P. Diehl

(7. III. 61)

1. Einleitung. – Unter dem Begriff Substituenteneffekt wird in der magnetischen Kernresonanzspektroskopie die Verschiebung der Resonanz eines bestimmten Kerns als Folge einer chemischen Substitution in der betrachteten Molekel verstanden. So sind zum Beispiel im monosubstituierten Benzol C₆H₅X (X sei ein beliebiger Substituent) die Lagen der Resonanzen (chemischen Verschiebungen) der Protonen in o-, m- und p-Stellung durch die Substituenteneffekte S_{o;x}, S_{m;x} und S_{p;x} bestimmt. Dabei wird als Bezugspunkt zur Messung der Verschiebungen die Resonanz des nicht