

Über die Cellobiose¹

von

Zd. H. Skraup, w. M. k. Akad. und **J. König**.

Aus dem chemischen Institute der Universität Graz.

(Vorgelegt in der Sitzung am 11. Juli 1901.)

Im Jahre 1879 hat A. Franchimont² aus schwedischem Filtrierpapier durch Acetylierung mit einem Gemische von Essigsäureanhydrid und etwas concentrirter Schwefelsäure ein krystallisirendes Acetat vom Schmelzpunkte 212° erhalten, dem er die Zusammensetzung einer elffach acetylierten Triglucose $C_{18}H_{21}O_{16}(C_2H_3O)_{11}$ zuschrieb.

Im hiesigen Institute ist auf dieselbe Art von H. Hamburger³ aus Schleicher-Schüll'schem Filtrierpapier ein constant bei 228° schmelzendes Acetat erhalten worden, welches zweifellos mit dem Acetat von Franchimont identisch war. Dieses lieferte Hamburger bei der Verseifung mit alkoholischer Kalilauge ein Product, das mit Phenylhydrazin kein Glucosazon, sondern eine dem Monnosehydrazon sehr ähnliche Abscheidung gab. Da weiterhin die Moleculargewichtsbestimmungen Hamburger Zahlen geliefert hatten, welche dem Acetat einer Monnose entsprechen, hat er jenes Product als Monnose angenommen und die Möglichkeit in Betracht gezogen, dass in der Cellulose des Filtrierpapiers Monnose liefernde Gruppen vorhanden sind.

¹ In unserer vorläufigen Mittheilung (Berl. Ber. 34, 1901, S. 1115) haben wir den Zucker Cellose benannt. Dieser Name erinnert aber so sehr an viele Namen von Monnosen (Idose, Monnose), dass es zweckmäßig erschien, Verwechslungen durch obige unzweideutigere Benennung vorzubeugen.

² Berl. Ber., 12, 1941 (1879).

³ Berl. Ber., 32, 2413 (1899).

Franchimont¹ hat hierauf mitgeteilt, dass das von ihm hergestellte Acetat, mit verdünnter Schwefelsäure verseift, Glucose, nicht aber Monnose liefert und die von Hamburger behauptete Bildung von Monnosehydrazon vielleicht derart zu erklären sei, dass bei Versuchen mit Ätzkali zuerst Glycose entsteht, welche aber in Monnose umgelagert wird, wie dieses Lobry de Bruyn und Alberda v. Eckenstein bei Glycoselösungen beobachtet haben.

Dieser Einwurf verlor nun dadurch an Bedeutung, dass, wie wir gefunden haben, weder das bei 112° schmelzende γ -Acetat, noch das bei 130° schmelzende α -Acetat der Glucose, mit alkoholischer Kalilauge verseift, etwas anderes als Glucose lieferten. Die Annahme, dass in dem Acetat aus Cellulose ein isomeres Glucoseacetat vorliegt, welches erst bei der Verseifung Monnose liefert, wurde daher wenig wahrscheinlich. Auch bei anderen Versuchen zeigte es sich, dass Umlagerungen nicht so leicht eintreten, wie nach den Versuchen von Lobry de Bruyn und v. Eckenstein zu vermuthen wäre.

Es ist uns wenigstens nicht gelungen, die zwei Acetate der Glycose vom Schmelzpunkte 112, beziehlich 130° durch Erhitzen in Eisessiglösung ineinander oder in die bei 228° schmelzende Verbindung zu verwandeln. Denn bis zu den Temperaturen, bei welchen totale Zersetzung eintrat, waren sie unverändert nachzuweisen. Und ganz dasselbe gilt von dem bei 228° schmelzenden Acetat aus Cellulose.

Aber auch die Annahme von Hamburger, durch Ätzkali entstünde Monnose, und die von ihm beschriebene Phenylhydrazinverbindung sei Monnosehydrazon, stieß auf Schwierigkeiten. Hamburger selber hatte bei den Analysen des Hydrazons erhebliche Differenzen zwischen den experimentell gefundenen und den theoretischen Zahlen beobachtet und ebenso Verschiedenheiten zwischen den Eigenschaften seines Hydrazons und dem der Monnose, diese aber auf nicht zu beseitigende Verunreinigungen durch Phenylglucosazon zurückgeführt.

¹ Rec. trav. chim., 473, 18 (1899).

Wir haben dasselbe beobachtet und außerdem noch, dass durch keine der Methoden, durch welche man aus Monnosehydrazon den Zucker leicht zurückgewinnen kann, eine Veränderung der Phenylhydrazinverbindung zu bewirken war.

Nachdem weiterhin durch quantitative Controle der Verseifung mit alkoholischer Kalilauge festgestellt war, dass sie vollständig verläuft, der hiebei entstehende Stoff deshalb nicht eine theilweise noch acetylierte Glycose sein könne, wurde endlich der Schlüssel zur Lösung der Frage in der Beobachtung gefunden, dass die durch Verseifung mit Ätzkali entstehende Zuckerart, die nicht gährungsfähig ist, mit Mercaptan nicht reagiert und eine vom Phenylglucosazon zweifellos verschiedene Hydrazinverbindung gibt, mit verdünnter Schwefelsäure verseift, quantitativ in Glycose übergeht, wie Gährungsfähigkeit, Übergang in das Osazon etc. zeigte. Dadurch war unzweifelhaft festgestellt, dass das Acetat der Ester einer Polyose ist und die von Hamburger ausgeführten Moleculargewichtsbestimmungen nicht richtig sein können.

Nach den verschiedensten Methoden und von verschiedenen Beobachtern ausgeführte neue Bestimmungen gaben nun Zahlen, welche für das Octacetylderivat einer Biöse sehr gut stimmten.

Für eine Biöse, beziehlich für das Osazon einer solchen stimmten aber auch nicht nur unsere, sondern auch die von Hamburger ausgeführten Analysen, und somit war die Sache aufgeklärt.

Es hat keine Schwierigkeit bereitet, die Biöse rein und krystallisiert zu erhalten und nach verschiedenen Richtungen zu charakterisieren. Bezüglich dieser Details sei auf den experimentellen Theil verwiesen und hier nur Folgendes hervorgehoben.

Die Biöse ist bestimmt verschieden von der aus Stärke entstehenden Maltobiose und vermuthlich auch mit allen bisher näher beschriebenen Biosen nicht identisch. Um die Entstehung aus Cellulose anzudeuten, benennen wir sie Cellobiose. Die Unterschiede zwischen ihr und der Maltose zeigt folgende Tabelle:

	Maltose	Cellbiose
$[\alpha]_D$	+142·45 ¹	+33·7
1 g reduziert Fehling'sche Lösung ...	128·5	153·1 <i>cm</i> ³
Osazon schmilzt bei	206°	198°
und löst sich in kochendem Wasser ..	1:75 ²	1:135
		(annähernd).

Die Cellbiose geht, mit verdünnter Schwefelsäure invertiert, vollständig in Glycose über; sie schließt sich in dieser Beziehung daher an Maltose, Isomaltose und Trehalose an.

Die Cellbiose haben wir in Form ihres Acetates, wie erwähnt, aus Filtrierpapier dargestellt, welches, wie die mikroskopische Untersuchung zeigte, ein Gemenge von Leinen- und Baumwollfasern war.

Da die physikalische Beschaffenheit der Fasern für den Verlauf der Acetylierung von großem Einflusse ist, hat es Schwierigkeit verursacht, mit anderen Stoffen als Papier vergleichende Versuche vorzunehmen. Sie gelang schließlich mit Baumwolle, beziehlich Leinenfaser in Form von Ganzzzeug, welches die Gratweiner Papierfabrik uns freundlichst überließ, und erhielten wir aus beiden das Cellbioseacetat, so dass sicher steht, dass die Cellbiose aus morphologisch verschiedenen Cellulosearten entsteht. Das wohlfeilste Rohmaterial ist übrigens gewöhnliches Filtrierpapier, mit dem auch am sichersten operiert werden kann.

Die Gewinnung der Cellbiose aus Cellulose hat pflanzenphysiologisch einiges Interesse.

Für die chemischen Beziehungen zwischen Stärke und der Faser-cellulose ist der Umstand maßgebend, dass beide bei vollständiger Hydrolyse in Glucose übergehen. Sie sind daher beide Polyglycosen, welche, wie längst bekannt, ein viel höheres Moleculargewicht haben, als die übliche Rohformel $C_6H_{10}O_5$ ausdrückt. Allgemein wird der Cellulose ein größeres Moleculargewicht als der Stärke zugeschrieben, und demzufolge könnte die Cellulose als Stärke von größerer chemischer Verdichtung betrachtet werden. Der in der Pflanze so leicht vor sich

¹ Meißel, J. p. Ch., II, 25, 114 (1882).

² Meyer-Jacobsen, Lehrbuch.

gehende Übergang von Stärke in Cellulose wäre demnach ein Process, bei welchem die Stärke hydrolytisch in Zucker übergeht, der dann durch einen reversiblen Process unter Wasserabspaltung zunächst zur Stärke, dann aber über diese hinaus zur Cellulose condensiert wird. Diese Auffassung ist nicht mehr haltbar, da es jetzt feststeht, dass die Producte unvollständiger Hydrolyse aus Stärke mit solchen aus Cellulose von gleichem Moleculargewichte verschieden sind, aus Stärke die Maltobiose, aus Cellulose die Cellobiose entsteht.

Also schon das erste Glied in der verwickelten Kette von Condensationen, die von der Glycose zu Stärke oder Cellulose führt, ist ein anderes, und dadurch ist erwiesen, dass diese zwei Polysaccharide weit weniger gemeinsam haben, als bisher angenommen werden konnte.

Der Übergang von Stärke in Cellulose im pflanzlichen Organismus ist dadurch aber noch merkwürdiger geworden. Denn man muss annehmen, dass unter erkennbar nicht verschiedenen Bedingungen aus Stärke Maltose entsteht, diese weiter zu Glycose invertiert, diese dann aber nicht wieder in Maltose, sondern zu einer isomeren Biase condensiert wird.

Die Cellobiose sollte nach dieser Vorstellung in keimenden Pflanzen enthalten sein, in welchen die Stärke zur Celluloseproduction dient.

Wir haben größere Mengen (je 1 *kg*) Bohnen im Dunkeln keimen gelassen und in den ziemlich entwickelten Keimlingen auf Cellobiose gesucht. Die Versuche blieben erfolglos. Da ja die Cellobiose vermuthlich in dem Maße, als sie entsteht, weiter condensiert wird und deshalb nur sehr kleine Mengen in den Keimlingen vorhanden sein dürften, hat dieser Misserfolg keine wesentliche Bedeutung.

Experimenteller Theil.

Darstellung des Acetates der Cellobiose.

Die Gewinnung des Acetates durch Behandlung von Cellulose mit Essigsäureanhydrid und Schwefelsäure gelingt nur unter streng einzuhaltenden Bedingungen. Die Cellulose muss nicht nur sehr fein zertheilt, sondern oberflächlich schon

angegriffen sein, wie es beim Papier der Fall ist, und deshalb verwendet man mit Vortheil Filtrierpapier. Gewöhnliches weißes Filtrierpapier liefert nicht schlechtere Ausbeute wie Schleicher-Schüll'sches oder die von der genannten Firma bezogene Filtrierpapiermasse.

Ebenso müssen bestimmte Temperatur und Dauer der Acetylierung sehr genau eingehalten werden, sonst entstehen amorphe Körper oder es tritt Verkohlung ein. Und da die Temperatursteigerung von den in Reaction tretenden Massen und von der Größe der Gefäße abhängt, empfiehlt es sich, die angeführten Verhältnisse, die erst nach vielem Probieren ermittelt wurden, einzuhalten.

Filtrierpapier wird mit der Hand in ungefähr $\frac{1}{2}$ cm^2 große Streifen zertheilt. 7·5 g Papier werden in einem Erlenmayer-Kolben von 200 g Inhalt mit 20 cm^3 Essigsäureanhydrid übergossen und gut durchgeschüttelt. In einem kleinen Erlenmayer-Kolben werden 4 cm^3 concentrirter H_2SO_4 mit 7 cm^3 Essigsäureanhydrid gemengt. Man wartet, bis die Mischung der beiden Flüssigkeiten sich auf 70° abgekühlt hat, und gießt sie sodann auf einmal auf das Papier. Es tritt freiwillige Erwärmung auf 110 bis 120° ein. Man schüttelt kräftig um; in einigen Minuten löst sich das Papier und die Lösung, welche gleich anfangs gelb geworden, nimmt allmählich eine röthlichbraune Färbung an. Man gießt sodann in einen Kolben mit circa 500 bis 700 cm^3 Wasser, worauf das Acetylproduct sofort ausfällt, und zwar in der Regel als körnige, röthlichgelbe, seltener als gelblichweiße amorphe Masse. Sie wird über Leinwand abgesaugt, mit Wasser gut nachgewaschen und scharf gepreßt. Das Filtrat hat einen röthlichen Stich. Aus starkem (95%) Alkohol oder Essigäther umkrystallisiert, erhält man das Acetat in schönen weißen Nadeln, deren Schmelzpunkt anfänglich zwischen 210 und 220° liegt, beim Umkrystallisieren langsam steigt und nach sechsmaligem Umkrystallisieren constant bei 227 bis 228° stehen bleibt. Essigäther löst etwas leichter wie Alkohol, das Umkrystallisieren muss aber zur völligen Reinigung ebenso oft wie mit Alkohol vorgenommen werden. Die Ausbeute beträgt aus 7·5 g Papier circa 2 g reines Product. Das Acetat ist leicht löslich in heißem Alkohol.

Essigäther, Chloroform, Benzol, schwerer in heißem Äther, so gut wie nicht in Wasser.

Darstellung des Acetates aus Baumwolle und Leinen.

Um festzustellen, ob das Acetat auch aus reiner Baumwolle allein, sowie auch aus reinen Leinenfasern, also auch aus morphologisch verschiedenen Cellulosearten darstellbar ist, haben wir zunächst Bruns'sche Watte verwendet, aber ohne Resultat. Da die Watte sehr voluminös ist, wird sie von der oben vorgeschriebenen Menge Essigsäureanhydrid nicht ganz befeuchtet, und auch bei größeren Mengen ist das Umschütteln beim Eingießen des Schwefelsäure- und Essigsäureanhydrid-Gemenges so schwierig, dass stets gelinde Verkohlungen eintrat. Auch mit reinem Leinenzwirn kamen wir zu keinem positiven Resultate. Der Zwirn wurde zu diesem Zwecke fein zerschnitten, in kochendem Wasser mit der Turbine fein zertheilt, abgesaugt und bei gelinder Wärme getrocknet. Bei der Acetylierung traten die bei der Watte erwähnten Schwierigkeiten nicht ein, stets wurde jedoch ein amorpher Körper erhalten. Wahrscheinlich ist die Festigkeit von ungebrauchten Fasern schuld, dass die Acetylierung nicht genügend durchgreift. Auch Ganzzeug der Gratweiner Papierfabrik reagierte anfänglich schlecht. Es war beim Trocknen zu ziemlich harten Massen eingeschrumpft, die theils träge in Reaction traten, theils verkohlten. Deshalb wurde das Ganzzeug in kochendem Wasser mit der Rotationsmaschine gerührt, bis die Fasern fein zertheilt waren, dann schwach abgesaugt, gut mit Alkohol und sodann mit Äther vom Wasser befreit und in dünner Schicht an der Luft getrocknet. Mit den auf diese Weise fein zertheilten Fasern gelang die Acetylierung. Sowohl aus reiner Baumwolle, als auch reinem Leinen wurde derselbe Körper wie aus Filtrierpapier erhalten. Nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Essigäther zeigte er den Schmelzpunkt 227 bis 228° und bestand aus feinen Nadeln von demselben Habitus, ist also identisch mit dem aus Filtrierpapier dargestellten, und damit ist erwiesen, dass Baumwolle- und Leinencellulose sich bei der energischen Acetylierung gleich verhalten.

Präparativ bietet Ganzzeug aber keinen Vortheil, die Ausbeute ist eher schlechter wie besser als bei Filtrierpapier, von welchem auch ganz ordinäre Sorten verwendet werden können.

Das Acetat ist schon von Hamburger analysiert worden. Seine Zahlen stimmen ebenso gut für das Pentacetat einer Monnose, wie für das Octacetat einer Biose, und dasselbe gilt von unserer Analyse.

1. 0·1845 g, bei 103° getrocknet, gaben 0·3350 g CO₂ und 0·0970 g H₂O
2. 0·2240 g, bei 103° getrocknet, gaben 0·4063 g CO₂ und 0·1094 g H₂O
3. 0·2042 g, bei 103° getrocknet, gaben 0·3706 g CO₂ und 0·1032 g H₂O

In 100 Theilen:

	Gefunden			Acetylmnrose Acetylbiose	
	1.	2.	3.		
C	49·52	49·47	49·49	49·23	49·55
H	5·84	5·43	5·61	5·64	5·60

Die Moleculargewichtsbestimmungen gaben Hamburger folgende Moleculargewichte:

- Kryoskopisch mit Eisessig $M = 296$
 Ebullioskopisch mit Essigäther $M = 420$
 Ebullioskopisch mit Benzol $M = 309$.

Eine Pentacetylglycose hat 390, die Octacetylbiose 678 als Moleculargewicht. Die von uns ausgeführten Bestimmungen nähern sich durchwegs dem zweiten Werte.

Kryoskopisch.

I. Lösungsmittel Phenol. Constante 72.

Lösungsmittel	Substanz	Depression des Gefrierpunktes	Moleculargewicht
20·146 g	0·117	0·08	523
	0·3415	0·22	554
	0·6300	0·40	563
Mittleres Moleculargewicht = 546.			

II. Lösungsmittel Eisessig. Constante 39.

Lösungsmittel	Substanz	Depression des Gefrierpunktes	Moleculargewicht
22·57 g	0·054	0·016	583
	0·1365	0·042	562
Mittleres Moleculargewicht = 572.			

Ebullioskopisch.

I. Lösungsmittel Essigäther. Constante 26·8.

Lösungsmittel	Substanz	Erhöhung des Siedepunktes	Moleculargewicht
20·3 g	{	0·1745	0·036
		0·4485	0·080
		0·7258	0·155
Mittleres Moleculargewicht = 666.			

II. Lösungsmittel Chloroform. Constante 36·6.

Lösungsmittel	Substanz	Erhöhung des Siedepunktes	Moleculargewicht
41·3 g	{	0·153	0·018
		0·3555	0·047
		0·6190	0·092
		0·9000	0·137
		1·1600	0·182
Mittleres Moleculargewicht = 640.			

III. Lösungsmittel Benzol. Constante 26·1.

Lösungsmittel	Substanz	Erhöhung des Siedepunktes	Moleculargewicht
22·5 g	{	0·0825	0·018
		0·2745	0·040
Als Mittel = 663.			

Wir bekommen also folgende Moleculargewichte:

Kryoskopisch: Mit Phenol im Mittel 546.

Mit Eisessig im Mittel 572.

Ebullioskopisch: Mit Benzol im Mittel 663.

Mit Chloroform im Mittel . 640.

Mit Essigäther im Mittel . . 666.

Damit diese Bestimmungen auch von unbeeinflusster Seite durchgeführt werden, haben zwei Herren im hiesigen Laboratorium die Moleculargewichtsbestimmungen wiederholt. Herr Kaas fand ebullioskopisch mit Chloroform im Mittel 636. Herr F. Schmutz fand ebullioskopisch mit Essigäther im Mittel 600. Somit wäre festgestellt, dass das Acetat ein Octacetylcster einer Biose ist. Auf rein chemischem Wege findet das durch Versuche Bestätigung, die zu einer Zeit angestellt

wurden, als das Acetat nothgedrungen als Pentacetylester einer Monnose aufzufassen war, und deren Zweck in erster Linie war, die bestehenden Widersprüche zu lösen. Sie haben auch sonst Interesse, und werden sie deshalb mitgetheilt.

Versuch der Umlagerung des Bioseacetates, sowie der Glycoseacetate.

In dem Stadium der Untersuchung, in welchem es, wie erwähnt, möglich schien, es läge ein bis dahin unbekanntes Pentacetat der Glycose vor, haben wir versucht, durch Erhitzen in Eisessiglösung es in eines der bekannten Glycoseacetate zu verwandeln, beziehlich aus einem dieser zu erhalten.

1 g des bei 228° schmelzenden Acetates (Cellobioseester) wurde mit 5 g Eisessig in einem geschlossenen Rohre durch 2 Stunden auf 150° erhitzt. Die Lösung war schwach gelblich und schied, mit Wasser versetzt, Krystalle ab, die nach dem Umkrystallisieren aus Alkohol constant bei 227° schmolzen und in den bekannten Nadeln krystallisierten. Bei einem zweiten Versuche wurde auf 180° erhitzt; es trat bereits theilweise Verkohlung ein; die ausgeschiedenen Krystalle erwiesen sich aber wieder als unverändertes Acetat. Beim Erhitzen auf 200° trat vollständige Verkohlung ein, und es konnte aus der dunklen Lösung nichts Fassbares gewonnen werden. Das Acetat erleidet also beim Erhitzen mit Eisessig vor der völligen Zersetzung eine Umlagerung überhaupt nicht. Es wurden auch die Glucosepentacetate in derselben Richtung untersucht. Das vom Schmelzpunkte 112°, mit der fünffachen Menge von Eisessig im geschlossenen Rohre 2 Stunden auf 150° erhitzt, war bereits theilweise zersetzt, aber nach dem Fällen mit Wasser noch unverändert nachweisbar. Beim Erhitzen bis 170° trat Verkohlung ein. Auch das Glucoseacetat vom Schmelzpunkte 130° bleibt, mit Eisessig bis 170° erhitzt, unverändert und verkohlt bei 185°.

Es ist bemerkenswert, dass die α -Modification bei so hoher Temperatur in die γ -Modification nicht überzuführen ist, während sie bei viel niedrigerer Umlagerung erleidet, wenn etwas Chlorzink beigemischt ist.

Verseifung des Acetates.¹

Wird das feingepulverte Acetat mit überschüssiger alkoholischer Kalilauge übergossen, so geht es unter Erwärmung rasch in Lösung, und es scheidet sich gleichzeitig ein körniges Pulver aus, das, mit Alkohol gewaschen, eine amorphe, stark alkalisch reagierende und an der Luft zerfließliche Masse vorstellt.

In wenig Wasser gelöst, mit Essigsäure neutralisiert, von geringen Resten unverseiften Acetates abtitriert, sodann mit je 3 Moleculen Phenylhydrazin und Eisessig im Wasserbade erwärmt, bleibt der Sirup zunächst klar, scheidet aber, mit Wasser verdünnt, mikroskopische gelbe Krystalle ab, die, wiederholt aus 50procentigem Alkohol krystallisiert, constant bei 198° schmelzen und lange weiche Nadeln sind. Sie lösen sich in der Hitze in Wasser im ungefähren Verhältnisse 1:135, in heißem Alkohol 1:10, in heißem 50procentigen Weingeist 1:15, und sind schon dadurch vom Glycosazon verschieden, das, wie wir feststellen, von kochendem Alkohol 200 Theile braucht.

Ein anderer Theil des mit Essigsäure neutralisierten Verseifungsproductes wurde mit Hefe angesetzt, wobei Gährung nicht eintrat. Aus einem weiteren Theile versuchten wir, ein Äthylmercaptol zu erhalten; aber sowohl nach der von E. Fischer für das Glycoseäthylmercaptol angegebenen Vorschrift, wie auch durch verschiedenfach abgeänderte Versuche gelang es nicht, eine krystallisierende Verbindung zu erhalten.

Die im Vacuum getrocknete Phenylhydrazinverbindung verliert bei 105° nicht mehr an Gewicht.

1. 0·1552 g gaben 0·3178 g CO₂ und 0·0777 g H₂O.
2. 0·1141 g gaben 0·2316 g CO₂ und 0·0627 g H₂O.
3. 0·1135 g gaben 0·2308 g CO₂ und 0·0640 g H₂O.
4. 0·0897 g gaben 9 cm³ N bei 738 mm und *t* = 22.
5. 0·1696 g gaben 16·2 cm³ N bei 740·5 mm und *t* = 17.

¹ Zum Theil nach Versuchen von H. Hamburger.

In 100 Theilen:

	Gefunden				
	1.	2.	3.	4.	5.
C	55·84	55·35	55·35	—	—
H	5·56	6·10	6·00	—	—
N	—	—	—	11·08	10·79

Die Zahlen fallen zwischen jene, die sich für ein Hydrazon, beziehlich das Osazon einer Monnose berechnen und stimmen recht gut für das Osazon einer Biose.

	Monnose-		Bioseosazon
	Hydrazon	Osazon	
C	53·3	60·3	55·4
H	6·7	6·1	6·1
N	10·4	15·6	10·7

Die analytischen Daten ließen demnach verschiedene Möglichkeiten offen, zu den schon ersichtlichen auch noch die, dass die Verseifung mit Ätzkali unvollständig ist und ein Osazon einer theilweise acetylierten Monnose vorliegt.

Einwirkung von Benz- und Formaldehyd auf die Phenylhydrazinverbindung.

Nach A. Herzfeldt¹ werden aus Hydrazonen die Zucker durch Benzaldehyd freigemacht. 1·2 g Phenylhydrazinverbindung wurden mit 15 *cm*³ Alkohol und 2 *cm*³ frisch destilliertem Benzaldehyd 2 Stunden am Wasserbade erwärmt. Als hierauf mit Wasser vermischt und Äther zugefügt wurde, schieden sich gelbe Krystalle ab, und weitere Mengen krystallisierten nach dem Einengen des Filtrates ab. Sie sind unverändertes Ausgangsmaterial, das zum größten Theile so wiedergewonnen wurde.

Ebenfalls negativ verlief ein Versuch mit Formaldehyd nach O. Ruff.² Auch hier war das Ausgangsmaterial unverändert nachweisbar.

¹ Berl. Ber., 28, 442 (1895).

² Ebenda, 32, 3236 (1899).

Angenommen, das Acetat wäre das der Glucose und diese bei der Verseifung erst in Monnose übergeführt worden, so müsste diese Umlagerung ganz oder doch theilweise zurücktreten, wenn bei der Verseifung ein Überschuss von Alkali vermieden wird.

Verseifung mit der theoretischen Menge von Kalilauge.

Das mit concentrirtem Alkohol befeuchtete Acetat wurde mit der theoretischen Menge Kaliumhydroxyd, gelöst in concentrirtem Alkohol, ganz allmählich vermischt, so dass Erwärmung kaum eintrat. Wie so oft bei kalischen Verseifungen machte sich deutlich der Geruch nach Essigäther bemerkbar. Die Erscheinungen sind ganz dieselben wie bei überschüssigem Ätzkali, und es entsteht ganz dieselbe Phenylhydrazinverbindung, deren Analyse weiter vorn unter 3 und 4 schon mitgetheilt ist.

Da auch bei Vermeidung eines Überschusses von Ätzkali die Reaction nicht anders verläuft als mit einem Überschusse, ist es wenig wahrscheinlich, dass Monnose secundär durch Einwirkung von Alkali aus primär gebildeter Glucose besteht.

Der weiter unten beschriebene Verlauf der alkalischen Verseifung der bekannten Glycoseacetate bestätigt dieses.

Um festzustellen, ob die Verseifung vollständig ist, wurden gewogene Mengen mit titrierter Kalilauge verseift und nach dem Stehen über Nacht mit Essigsäure zurücktitriert.

3 g, mit 6 g Alkohol befeuchtet, wurden mit 14 cm^3 einer 3·62normalen Lösung von Ätzkali in 50procentigem Alkohol übergossen. Es wurde mit einem Gemische von Äther-Alkohol wiederholt durchgeschüttelt und sowohl die abgegossenen Waschflüssigkeiten, als auch das in Äther-Alkohol unlösliche Öl mit einer 3·94normalen Essigsäure zurücktitriert. Die erste brauchte 1·2, das letztere 2·4 cm^3 . Zur Verseifung waren also 10·7 cm^3 Kalilauge verbraucht, theoretisch für Pentacetylglucose 10·6, für Octacetylbirose 9·77 cm^3 .

Die Verseifung ist also sicher vollständig; trotzdem gab das mit Essigsäure neutralisierte Öl nun wieder dieselbe schon beschriebene Phenylhydrazinverbindung vom Schmelzpunkte

198° und von derselben Zusammensetzung, so dass auch dieser Einwand ausgeschlossen ist.

0·1185 g gaben 0·243 g CO₂ und 0·060 g H₂O.

0·1285 g gaben 13 cm³ N bei 740·5 mm und *t* = 21.

Gefunden C = 55·50, H = 5·60, N = 11·20.

Verseifung der Glucoseacetate vom Schmelzpunkte 112 und 130°.

Beide wurden mit etwas überschüssiger alkoholischer Kalilauge in derselben Weise verseift, wie es für das Acetat aus Cellulose beschrieben wurde. Titrimetrisch zeigte sich vollkommene Verseifung. In beiden Fällen erwies sich das abgeschiedene, mit Äther und Alkohol gewaschene Öl als gährungsfähig und gab das von E. Fischer beschriebene Glycoseäthylmercaptol vom Schmelzpunkte 127.

Als die Öle in der von Lobry de Bruyn und v. Eckenstein¹ beschriebenen Weise auf Monnose geprüft wurden, fiel kein Monnosehydrazon aus, nach weiterem Zusatze von Phenylhydrazon, sowie Essigsäure und Erwärmen aber reichlich die charakteristischen Krystalle des Glucosazons, welche, umkrystallisiert, bei 205° schmelzen.

Das aus dem bei 130° schmelzenden α -Acetat erhaltene Glucosazon wurde überdies analysiert:

0·1585 g vacuumtrocken gaben 0·3496 g CO₂ und 0·0902 g H₂O.

In 100 Theilen:

	Gefunden	Berechnet
C	60·15	60·33
H	6·32	6·15

Unter diesen Umständen bildet sich also Monnose aus beiden Acetaten nicht, und es ist dies ein weiterer Umstand, der gegen eine Umlagerung beim alkalischen Verseifen des Celluloseacetates spricht.

Der bei 130° schmelzende α -Glucoseessigsäureester ist unseres Wissens bisher nicht verseift worden. Da es, wenn auch nicht wahrscheinlich, doch auch nicht unmöglich war,

¹ Rec. trav. chim., 14, 204 (1895).

dass er sich hiebei anders verhält wie der β -Ester, wurde der Versuch ausgeführt.

5 g Acetat, mit $500 \text{ cm}^3 \frac{1}{10}$ Normal-Schwefelsäure gekocht, waren schon zu Beginn des Siedens gelöst und wurden nach fünf Stunden mit $\frac{1}{3}$ Ba(OH)₂-Lösung genau ausgefällt, filtriert und zum Sirup gedampft. Dieser vergohr mit Hefe stark, gab mit Äthylmercaptan das bei 127° schmelzende Äthylmercaptol und mit Phenylhydrazin Glucosazon.

Verseifung des bei 228° schmelzenden Acetates aus Cellulose mit verdünnter Schwefelsäure.

Sie ist von Franchimont schon ausgeführt, von uns aber wiederholt worden, um die näheren Umstände kennen zu lernen.

5 g Acetat, mit $500 \text{ cm}^3 \frac{1}{10}$ Normal-Schwefelsäure gekocht, lösen sich erst nach zwölfstündigem Kochen völlig auf, demnach viel schwieriger als die Glycoseacetate. Es wurde wieder mit Baryt genau ausgefällt, im Vacuum größtentheils abdestilliert und dann in einer Schale bei gelinder Wärme zum Sirup gedampft.

Ein Theil desselben, mit Wasser verdünnt, vergohr jetzt ebenso rasch, wie eine gleich concentrirte Lösung von Traubenzucker. Eine andere gab reichliche Mengen von Äthylmercaptol, welches bei wiederholtem Umkrystallisieren constant bei 127° schmolz. Schließlich gab der Sirup nicht mehr das bei 198° schmelzende und relativ leicht lösliche Osazon, sondern Phenylglucosazon vom Schmelzpunkte 205°.

Verseifung mit Kalilauge und sodann mit Schwefelsäure.

Das Acetat wurde mit concentrirter alkoholischer Kalilauge verseift und die körnig-pulverige Abscheidung in $\frac{1}{10}$ Normal-Schwefelsäure gelöst (5 g Verseifungsproduct auf 500 cm^3) und am Rückflusskühler erhitzt. Nach drei Stunden wurde mit Ätzbaryt genau ausgefällt und bei gelinder Wärme zum Sirup gedampft. Dieser zeigte wieder keine Gährung, gab keine Abscheidung von Glucosemercaptid und mit Phenylhydrazin kein Glucosazon, sondern die bei 198° schmelzende Verbindung. Bei einem zweiten Versuche wurde nach dem Verseifen mit

Kalilauge zwölf Stunden mit H_2SO_4 erhitzt und sonst wie beim ersten verfahren. Der jetzt erhaltene Sirup zeigte mit Hefe starke Gährung und bildete mit Phenylhydrazin und Essigsäure ein Osazon vom Schmelzpunkte 205° , das sich nach der Löslichkeit und nach der Analyse als Glucosazon erwies.

0·1183 g Substanz gaben 0·2615 g CO_2 und 0·0664 g H_2O .

In 100 Theilen:

	Gefunden	Berechnet
C	60·29	60·33
H	6·23	6·15

Glucose oder ein ihr sehr ähnlicher Zucker entsteht deshalb erst durch Inversion des mit Ätzkali erhaltenen Verseifungsproductes, und dieses ist deshalb sicher ein Polysaccharat, und zwar nach den Ergebnissen der früher schon mitgetheilten Moleculargewichtsbestimmungen vermuthlich ein Disaccharid. Es schien nun lohnenswert, bei diesem Krystallisationsversuche anzustellen. Sie gelangen überraschend leicht.

Darstellung der krystallisierten Cellobiose.

Die anfänglichen Versuche wurden ausschließlich mit dem bleibend bei 228° schmelzenden Acetate ausgeführt. Es hat sich erfreulicherweise gezeigt, dass auch etwas niedriger schmelzende Fractionen, ohne merklich schlechtere Ausbeuten zu liefern, verwendet werden können.

Da beim Verseifen Erwärmung eintritt und bei stärkerer Temperaturzunahme die Verfärbung stärker ist, haben wir stets nur kleine Mengen in Anwendung genommen, es wird aber voraussichtlich auch mehr Substanz auf einmal verarbeitet werden können. Je 5 g Acetat werden mit Alkohol angefeuchtet und in kleinen Antheilen je 25 cm^3 einer 15procentigen Lösung von Ätzkali in concentrirtem Alkohol zugefügt. Es tritt bald Erwärmung und Essigäthergeruch auf. Das Acetat geht in ein schweres, körniges Pulver über. Nach zwei Stunden wird dieses Pulver rasch abgesaugt, mit absolutem Alkohol nochmals gewaschen. Hierauf löst man es in möglichst wenig Wasser,

neutralisiert genau mit Essigsäure, filtriert von kleinen Resten unveränderten Acetates und dampft am Wasserbade zu einem dünnen Sirup ein. Dieser nahezu farblose Sirup wird mit gleichen Theilen absoluten Alkohols und hierauf mit Äther bis zur Trübung versetzt. Nach mehreren Stunden setzt sich ein krystallinischer Bodensatz ab. Dieser wird umkrystallisiert, indem man ihn in Wasser heiß löst, die Lösung eventuell filtriert, wiederum zu einem dünnen Sirup eindampft und mit absolutem Alkohol bis zur Trübung versetzt. Einimpfen befördert selbstverständlich auch hier die Krystallisation. Die dreimal umkrystallisierte Cellobiose bildet ein schneeweißes feines Pulver, das in absolutem Alkohol und Äther fast nicht, in heißem Wasser im Verhältnisse 2 : 3, in kaltem Wasser im Verhältnisse 1 : 8 löslich ist. Im Vacuum getrocknet, verliert es bei 100° noch $\frac{1}{4}$ Molecül Krystallwasser. Bei 180° wird es gelblich, dann immer dunkler, bei circa 225° zersetzt es sich unter Aufschäumen und Verkohlung. Unter dem Mikroskope erscheint es deutlich krystallisiert, und zwar in Form unregelmäßiger Prismen oder Tafeln. Messbare Krystalle wurden bis jetzt nicht erhalten. Der Geschmack der Cellobiose ist nicht charakteristisch, höchstens der Nachgeschmack kann süßlich genannt werden.

- I. 0·1917 g, bei 100° getrocknet, gaben 0·2942 g CO₂ und 0·1123 g H₂O.
 II. 0·2063 g, bei 100° im Vacuum getrocknet, gaben 0·3175 g CO₂ und 0·2208 g H₂O.

In 100 Theilen:

	Berechnet für	Gefunden	
	$C_{12}H_{22}O_{11}$	I	II
C	42·10	41·86	41·97
H	6·43	6·50	6·50

Bei gewöhnlicher Temperatur im Vacuum oder bei gewöhnlichem Drucke bei 80° getrocknete Substanz gab für C um 0·5 bis 0·7% zu niedrige Zahlen. Darnach würde der im Vacuum getrocknete Zucker noch $\frac{1}{4}$ Molecül Wasser enthalten.

- I. 0·2055 g, bei 80° getrocknet, gaben 0·3117 g CO₂ und 0·1210 g H₂O.
 II. 0·1835 g vacuumtrocken, gaben 0·2758 g CO₂ und 0·1080 g H₂O.
 III. 0·1555 g vacuumtrocken gaben 0·2352 g CO₂ und 0·0910 g H₂O.

In 100 Theilen:

	Berechnet für $C_{12}H_{22}O_{11} + \frac{1}{4} aq$	Gefunden		
		I	II	III
C	41·55	41·36	41·18	41·28
H	6·55	6·53	6·53	6·50

I. 0·1917 g vacuumtrocken verloren bei 100° 0·0035 g.

II. 0·5000 g vacuumtrocken verloren bei 100° 0·0072 g.

In 100 Theilen:

	Berechnet	Gefunden	
		I	II
$\frac{1}{4}$ Mol. H ₂ O ..	1·38	1·82	1·44

Gährungsversuch mit Cellobiose.

Mit einer frischen, gut ausgewaschenen Bierhefe wurde die Gärung an einer fünfprocentigen Cellobioselösung versucht. Zur Controle wurde ein Versuch mit einer fünfprocentigen Maltoselösung ausgeführt. Die gleich großen Apparate standen in Wasser von 30°. Während nun bei der Maltoselösung bald CO₂-Blasen aufstiegen und innerhalb fünf Stunden 6 cm³ CO₂ sich angesammelt hatten, war bei der Cellobiose während derselben Zeit und auch später keine Gasbildung bemerkbar.

Cellobiose ist also mit Bierhefe nicht gährungsfähig.

Reductionsvermögen der Cellobiose mit Fehling'scher Lösung.

Von einer einprocentigen Lösung der wasserfreien Biose sind für 50 cm³ Fehling'scher Lösung 32·7 cm³ nöthig, damit das Filtrat kein Kupfer enthält, während bei 32·6 cm³ Zuckerslösung im Filtrate noch Spuren Kupfers nachzuweisen sind. Im Mittel werden also 50 cm³ Fehling'scher Lösung von 32·65 cm³ einer einprocentigen Cellobioselösung, d. i. von 0·3265 g Cellobiose, reducirt. Demnach reducirt 1 g wasserfreie Cellobiose 153·13 cm³ Fehling'scher Flüssigkeit. Die Cellobiose reducirt also etwas stärker als Maltose, bei welcher 1 g in einprocentiger Lösung 128·5 cm³ Fehling'scher Lösung reducirt.

Drehungsvermögen der Cellobiose.

Die Lösung, welche zur Bestimmung verwendet wurde, enthielt 9·4766% wasserfreier Cellobiose. Da die Lösung nicht

sofort eingetreten war, kurze Zeit geschüttelt und zur Beseitigung einiger Papierfasern abfiltriert werden musste, konnte erst zehn Minuten nach Beginn der Lösung die erste Ablesung gemacht werden. Die Drehung war nach rechts, es zeigte sich schon nach zehn Minuten, dass sie zunimmt, und erst nach 15 Stunden war die Drehungszunahme beendet. Die Cellobiose zeigt also deutlich Birotation.

10 Minuten nach der Lösung war	$\alpha = +2 \cdot 58$
20 » » » » »	$\alpha = +2 \cdot 62$
45 » » » » »	$\alpha = +2 \cdot 75$
1 Stunde 45 Minuten nach der Lösung war . . .	$\alpha = +2 \cdot 95$
2 Stunden 55 Minuten » » » » . . .	$\alpha = +3 \cdot 15$
4 » 25 » » » » » . . .	$\alpha = +3 \cdot 25$
5 » 25 » » » » » . . .	$\alpha = +3 \cdot 28$
14 » » » » » . . .	$\alpha = +3 \cdot 33$
15 » » » » » . . .	$\alpha = +3 \cdot 33$

Nach circa 15 Stunden war also die Drehungszunahme beendet.

Bei 20° Temperatur, $p = 9 \cdot 4766$ und sp. G. $\frac{20}{4} = 1 \cdot 0387$

war somit 10 Minuten von Beginn der Lösung $[\alpha]_D$ gleich $+26 \cdot 1^\circ$ und nach 15 Stunden constant $+33 \cdot 70$.

Zur Controle wurde die Lösung der Cellobiose auf die Hälfte verdünnt. Die Drehung war die Hälfte der vorigen.

Inversion der Cellobiose mit Schwefelsäure.

Es wurde eine fünfprocentige Bioselösung mit einer fünfprocentigen Schwefelsäurelösung invertiert. Bei der Trockenprobe bei 100° verloren $0 \cdot 5$ g Biose $0 \cdot 0072$ g Wasser. 5 g wasserfreie Cellobiose entsprechen daher $5 \cdot 06$ g der wasserhältigen. Diese Menge wurde in 50 cm^3 Wasser heiß gelöst, sodann sofort abgekühlt und mit 50 cm^3 einer zehnpromcentigen H_2SO_4 versetzt und gewogen; das Gewicht der Mischung war $107 \cdot 9$ g. 5 g wasserfreie Cellobiose waren nach dem Ergebnisse der Wägung daher in $102 \cdot 9$ g Flüssigkeit gelöst. Das spezifische Gewicht der Lösung betrug $d = 1 \cdot 0484$. Die Operation der Lösung und Wägung betrug circa 20 Minuten. Jetzt wurde sofort die Drehung bestimmt, der Drehungswinkel α war

+1·66. Bei 18° und spezifischem Gewicht = 1·0484 war daher $[\alpha]_D = +34 \cdot 12^\circ$.

Die Lösung wurde nun in einem Kölbchen mit Rückflusskühler am Wasserbade erhitzt und zeitweise eine Probe der Drehung gemacht, um so das Ende der Inversion zu erfahren. Die Drehung nahm nun in folgender Weise ab:

Bei Beginn der Inversion	$\alpha = +1 \cdot 66^\circ$
2 Stunden nach Beginn der Inversion	$\alpha = +2 \cdot 31$
+ » , » » » »	$\alpha = +2 \cdot 50$
6 » » » » »	$\alpha = +2 \cdot 59$
7 » » » » »	$\alpha = +2 \cdot 61$
9 » » » » »	$\alpha = +2 \cdot 61$

Nach 7 Stunden war also die Inversion beendet.

Das spezifische Gewicht dieser invertierten Lösung betrug $d = 1 \cdot 0498$, $[\alpha]_D$ ist daher nach der Inversion gleich $+53 \cdot 63^\circ$. Dieser Wert stimmt ganz gut auf Glucose, für welche in fünfprocentiger Lösung $[\alpha]_D$ mit $52 \cdot 6$ angegeben ist. Schon früher wurde nachgewiesen, dass die Cellobiose bei der Inversion Glucose liefert; durch diesen Versuch ist festgestellt, dass die Cellobiose bei der Inversion nur Glucose liefert. Bestätigt wurde dies durch den nächsten Versuch, der zeigte, dass die Inversionsflüssigkeit gegen Fehling'sche Lösung dasselbe Reduktionsvermögen wie die Glucose zeigt.

Reduktionsvermögen der invertierten Cellobiose.

Um das Reduktionsvermögen der Inversionsflüssigkeit zu bestimmen, musste die bei dem vorigen Versuche gebrauchte Lösung zu einer einprocentigen verdünnt werden. Ursprünglich wurden 5 g wasserfreie Biose in 102·9 g Flüssigkeit gelöst, das Gewicht der Lösung betrug also 107·9 g vom spezifischen Gewichte 1·048. Nach der Inversion war das spezifische Gewicht = 1·049. Es waren also 5 g Cellobiose = 5·26 Glucose (nach Inversion) gelöst in 102·8 Volumina. In 1 Volumen war 0·0513 Glucose, es war die Lösung daher 5·13%. Um eine einprocentige Lösung zu erhalten, musste man daher 100 cm³ der Lösung auf 513 cm³ verdünnen.

Mit dieser Lösung wurden die Versuche mit Fehling'scher Lösung angestellt. Für 50 cm³ Fehling'scher Lösung und 24·10 cm³ Inversionsflüssigkeit waren im Filtrate noch Spuren Kupfer nachzuweisen, nicht aber, als in einem anderen Versuche mit 24·20 cm³ gekocht wurde. Im Mittel kommen daher auf 50 cm³ Fehling'scher Lösung 24·15 cm³ der Inversions-

flüssigkeit. Bei Glucose ($1\frac{0}{0}$) werden 50 cm^3 Fehling'scher Lösung von $23\cdot76\text{ cm}^3$ der Zuckerlösung reduciert.

Die invertierte Cellobiose hat also nahezu dasselbe Reductionsvermögen wie Glucose. Dadurch bestätigt sich, dass die Cellobiose bei der Inversion 2 Molecüle Glucose liefert.

Zur weiteren Charakterisierung der Cellobiose haben wir einige Derivate dargestellt.

Hydrazon der Cellobiose.

Als entsprechend der Vorschrift von E. Fischer 2 g Cellobiose in 3 g Wasser heiß gelöst, rasch gekühlt und mit 2 Theilen Phenylhydrazin versetzt wurden, hatten sich in einigen Tagen mikroskopische Nadeln abgeschieden, deren Menge sich durch weitere 3 Tage noch vermehrte. Sie enthielten keinen Stickstoff und zeigten umkrystallisiert den Schmelzpunkt der Cellobiose und dann auch wieder die gewöhnliche Krystallform derselben. Auch das Filtrat dieser Krystallisation schied auf Zusatz von Alkohol und Äther nur unveränderte Cellobiose ab. Besseren Erfolg hatte das Verfahren, welches Skraup¹ bei der Darstellung des Glycosehydrazons angewendet hat. 2 g Cellobiose wurden in 2 g Alkohol suspendiert und mit 2 g Phenylhydrazin auf freier Flamme zum Sieden erhitzt. Nach einer Stunde bemerkte man, dass die Cellobiose langsam in Lösung geht, nach 3 Stunden war alles gelöst. Absoluter Äther schied einen Sirup ab, der, in absolutem Alkohol wieder gelöst, beim Erkalten oder bei neuerlichem Zufügen von Äther immer wiederum ölige Abscheidungen gab.

Der Sirup wurde nach oftmaligem Durchkneten mit Äther im Vacuum über Kalk zur Trockene gebracht, wobei er erhärtete und dann gepulvert werden konnte. Das hellgelbe Pulver ist sehr hygroskopisch und zersetzt sich bei 90° .

0·2035 g Substanz, vacuumtrocken, gaben $13\cdot0\text{ cm}^3$ Stickstoff bei $t = 26^\circ$ und 732 mm .

In 100 Theilen:

Berechnet für	Gefunden
$\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{O}_{10}(\text{N}_2\text{HC}_6\text{H}_5)$	
$\underbrace{\hspace{10em}}_{6\cdot48}$	$\underbrace{\hspace{10em}}_{6\cdot88}$

¹ Monatshefte für Chemie, 10, 409 (1889).

Osazon der Cellobiose.

Das Osazon, dargestellt aus der nicht weiter gereinigten Biose, ist schon früher besprochen worden. Zur Controle wurde es aus krystallisierter Cellobiose dargestellt. 1 Theil Biose wurde in 2 Theilen Wasser gelöst, mit 3 Theilen Phenylhydrazin und 2 Theilen Eisessig versetzt und am Wasserbade eine Stunde erhitzt. Versetzt man hernach diesen Sirup mit Wasser, so fällt das Osazon in schönen gelben Nadeln aus. Nach zweimaligem Umkrystallisieren aus 50procentigem Alkohol bleibt der Schmelzpunkt constant bei 198° . Es zeigt auch dieselben Löslichkeitsverhältnisse wie das schon erwähnte.

0·1385 g Substanz gaben $13\cdot50\text{ cm}^3$ N bei 738 mm und $t = 21^{\circ}$.

In 100 Theilen:

	Berechnet	Gefunden
O	10·69	10·84

Acetonitrocellobiose.

W. Königs und Eduard Knorr¹ gelang es, aus dem Glucosepentacetat die Acetonitroglucose darzustellen. Entsprechend ihren Angaben wurden 2g Acetat in 10 cm^3 trockenem Chloroform gelöst, gut mit Eis gekühlt und zu dieser Lösung eine eiskalte Lösung von 20 cm^3 rother rauchender Salpetersäure in 30 cm^3 Chloroform hinzugegeben. Nach einer halben Stunde wurde das Gemisch in einem Schütteltrichter auf Eis gegossen und die Chloroformlösung abgehoben, hierauf mit kalter überschüssiger Sodalösung und dann mit Eiswasser gewaschen und mit Natriumsulfat getrocknet. Beim Abdampfen des Chloroforms schied sich aber nicht der gesuchte Nitrokörper, sondern das unveränderte Acetat ab. Es zeigte keine Stickstoffreaction und hatte den Schmelzpunkt 228° . Der Versuch wurde bei gewöhnlicher Temperatur wiederholt.

Kurze Zeit nach dem Vermischen trat Erwärmung und Entwicklung rother Dämpfe ein, so dass mit Leitungswasser gekühlt werden musste. Nach einstündigem Stehen der Lösung

¹ Berl. Ber., 34, 974 (1901).

wurde mit derselben wie früher verfahren. Beim Verdampfen des Chloroforms schied sich aber auch diesmal das unveränderte Acetat ab.

Acetochlorcellobiose.

Im hiesigen Laboratorium gelang es Herrn Bodart, den Acetochlormilchzucker herzustellen, indem er in eine Suspension von trockenem Milchzucker in stark gekühltem Essigsäureanhydrid Salzsäuregas eingeleitet hat. Derselbe Versuch wurde mit dem Acetat der Cellobiose angestellt, und es gelang, eine Acetochlorcellobiose herzustellen. In einem Einschlussrohre werden 10 g trockenes Acetat mit 80 cm^3 Essigsäureanhydrid gemengt und durch diesen mit Kältemischung gekühlten Brei wird trockenes Salzsäuregas bis zur vollständigen Sättigung eingeleitet. Es tritt nun allmähliche Lösung des Acetates ein, und nach erfolgter Sättigung mit Salzsäuregas (circa nach einer Stunde) war alles Acetat gelöst. Das Rohr wurde zugeschmolzen und blieb mehrere Tage geschlossen. Hierauf wurde unter Eiskühlung geöffnet und mit einem trockenen Luftstrom das Salzsäuregas vertrieben. Die Lösung wurde im Vacuum abdestilliert, der sirupartige Rückstand erstarrt beim Erkalten zu einer weißen Krystallmasse. Diese Masse wurde in Benzol heiß gelöst und mit Ligroin gefällt. Nach dreimaligem Umkrystallisieren blieb der Schmelzpunkt constant.

Die Acetochlorcellobiose bildet ein schönes weißes Pulver, bestehend aus mikroskopisch kleinen Nadeln; sie schmilzt unscharf bei 178°. In heißem Benzol ist sie sehr leicht, in heißem Alkohol, Essigäther leicht, in heißem Äther schwerer löslich.

Zur Analyse wurde im Vacuum getrocknet.

0·1572 g Substanz gaben 0·2760 g CO_2 und 0·0787 g H_2O .

0·476 g Substanz gaben 0·0975 g AgCl.

In 100 Theilen:

	Berechnet für $C_{26}H_{35}O_{18}Cl$	Gefunden.
C	47·63	47·88
H	5·39	5·56
Cl	5·42	5·07

Heptacetylmethylcellobiosid.

Erwig und Königs¹ gelang es, aus Acetochlorglucose, gelöst in Methylalkohol, durch Schütteln mit Silbercarbonat ein Tetraacetylmethylglycosid zu gewinnen. Nach diesen Angaben wurde aus unserer Acetochlorcellobiose das Heptacetylmethylcellobiosid dargestellt.

5 g Acetochlorcellobiose wurden in 200 *cm*³ absolutem Methylalkohol suspendiert und 4 g Silbercarbonat eingetragen. Es zeigte sich bald Kohlendioxydentwicklung. Nach einer Stunde wurde die Flasche in eine Schüttelmaschine gegeben und unter öfterem Öffnen des Stöpsels, wobei CO₂ entwich, 48 Stunden geschüttelt. Die Chlorreaction nahm langsam, aber deutlich ab, nach circa 48 Stunden war sie ganz verschwunden. Dann wurde die Lösung, welche sich als neutral erwies, vom Silberchlorid und überschüssigen Silbercarbonat abfiltriert und im Vacuum über H₂SO₄ eindunsten gelassen. Die abfiltrierten Silberrückstände wurden mit heißem Äther gewaschen und der Äther gleichfalls verdampfen gelassen. Aus beiden Lösungen schieden sich schöne, nadelförmige Krystalle ab, welche sich als chlorfrei und nach der Analyse als Heptacetylmethylcellobiosid erwiesen. Nach dreimaligem Umkrystallisieren aus Alkohol blieb der Schmelzpunkt constant bei 173°. Der Körper besteht aus schönen, weißen, nadelförmigen Krystallen und ist in heißem Alkohol, Benzol, Essigäther, Äther sehr leicht löslich.

0·1660 g vacuumtrocken gaben 0·3021 g CO₂ und 0·0881 g H₂O.

In 100 Theilen:

	Gefunden	Berechnet für C ₁₂ H ₁₄ O ₃ (O·C ₂ H ₃ O) ₇ (OCH ₃)
C	49·63	49·84
H	5·89	5·84

Moleculargewichtsbestimmung. 0·180 g Substanz, in 20·6 g Benzol (Constante = 26·1) gelöst, gaben eine Erhöhung des Siedepunktes von 0·035°, 0·3951 g eine Erhöhung von 0·070°. Gefunden $M_1 = 651$, $M_2 = 714$, Mittel = 682. Berechnet für das Acetylmethylcellobiosid $M = 650$.

¹ Berl. Ber., 34, 966 (1901).

Verseifung des Heptacetylmethylcellobiosids.

5 g Acetylmethylcellobiosid wurden mit concentrirtem Alkohol befeuchtet und in kleinen Portionen mit 20 cm^3 einer 15procentigen Ätzkalilösung in concentrirtem Alkohol überschüttet. Es trat Erwärmung und Essigäthergeruch ein und die Krystalle giengen in ein amorphes Pulver über. Nach zwei Stunden wurde der Niederschlag abgesaugt und mit absolutem Alkohol gewaschen. Er ist in Wasser sehr leicht löslich. Die Lösung wurde mit Essigsäure neutral gemacht und zu einem Sirup eingedunstet. Beim Versetzen mit Alkohol und Äther schied sich ein krystallinischer Körper ab, der nach zweimaligem Umkrystallisieren denselben Schmelz-, respective Zersetzungspunkt hatte wie die Cellobiose und, einmal vacuum-trocken, bei 100° noch $\frac{1}{4}$ Molecül Krystallwasser verlor.

0·1660 g, bei 100° im Vacuum getrocknet, gaben 0·2563 g CO_2 und 0·1000 g H_2O .

In 100 Theilen:

	Gefunden	Berechnet für	
		$C_{12}H_{22}O_{11}$	$C_{13}H_{14}O_{11}$
C	42·00	42·10	43·82
H	6·69	6·43	6·74

Es fehlte an Material, um durch eine Methoxylbestimmung zweifellos festzustellen, ob Cellobiose oder ihr Methylglucosid vorliegt.

Versuche mit Bohnenkeimlingen.

Da nun Cellobiose das einfachste Polysaccharid aus der Cellulose ist, so ist anzunehmen, dass in keimenden Pflanzen, in welchen ja der Process des Aufbaues der Cellulose aus einfachen Zuckern stattfindet, Cellobiose vorhanden ist. Um ihrer möglicherweise habhaft zu werden, ließen wir Bohnen in einem dunklen Zimmer auf feuchten Sägespänen keimen. Nach acht Tagen hatten die Keimlinge eine Länge von 10 bis 12 cm erreicht; sie wurden hierauf von den noch anhaftenden Samenknospen befreit und in einer Maschine zu einem Brei zerrieben. Dieser Brei wurde nun ausgepresst, der Saft mit Kalkmilch

neutralisiert und zur Entfernung des Eiweißes zum Sieden erhitzt. Hierauf wurde filtriert und der Saft von 1 kg Bohnen mit Hefe der Gärung unterzogen. In diesem vergohrenen Saft, in welchem die Cellobiose, welche ja nicht vergährt, enthalten sein sollte, wurde versucht, sie als Osazon nachzuweisen, was aber nicht gelang. Man konnte nun noch annehmen, dass die Cellobiose, obwohl für sich unvergärbbar, doch bei Anwesenheit von gährungsfähigem Zucker mit vergährt.

Der unvergohrene Saft von 1 kg Bohnen wurde deshalb nach Neutralisation und Abscheidung von Eiweiß bis auf 1 l eingedampft, mit Fehling'scher Lösung der Zuckergehalt ermittelt (20 g Glycose), die berechnete Menge von Phenylhydrazin und Essigsäure zugefügt und eine Stunde erwärmt; es fiel sofort ein gelbes Osazon aus, welches sich nach seinen Eigenschaften als Glucosazon erwies. Um nun von dem Glucosazon das Osazon der Cellobiose zu trennen, wurde dasselbe zuerst mit 25procentigem, hernach mit 50procentigem Alkohol gekocht. In beiden Fällen gieng nur äußerst wenig Substanz in Lösung, welche sich beim Eindampfen der Lösung abschied. Jedoch auch dieses abgeschiedene Osazon hatte mit dem Osazon der Cellobiose keine Ähnlichkeit, es war viel schwerer löslich in Alkohol und zweifellos wieder Glycosazon. Die ursprüngliche Mutterlauge des ersten Osazons wurde eingedampft, wobei sich wiederum ein Osazon abschied, von welchem aber ebenfalls beim Auskochen mit 25procentigem, respective 50procentigem Alkohol nur sehr wenig in Lösung gieng, und auch dieses in Lösung gegangene Osazon hatte mit dem Osazon der Cellobiose keine Ähnlichkeit.

Die nach Abfiltrieren des in der eingedampften ersten Mutterlauge abgeschiedenen Osazons erhaltene zweite Mutterlauge wurde beim Eindampfen ein dunkelbrauner Sirup, der kein Osazon mehr ausschied.
