© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Mittheilungen.

41. A. Nestler: Der directe Nachweis des Cumarins und Theïns durch Sublimation.

Mit Tafel XVII.

Eingegangen am 4. Juni 1901.

Eine rein praktische Aufgabe, welche bisher nicht gelöst war, nämlich der sichere Nachweis von extrahirtem chinesischen Thee in einer Mischung mit intactem Thee veranlasste mich, zunächst für die Prüfung des Theïngehaltes in jedem einzelnen Theefragmente eine einfache Methode der Sublimation anzuwenden[1]). Weitere Versuche lehrten, dass dieses Verfahren nicht allein für alle theïn- (= kaffeïn-)haltigen Substanzen anwendbar ist, sondern dass auch in derselben Weise Cumarin in allen cumarinhaltigen Pflanzenorganen direct nachgewiesen werden kann.

Cumarin und Theïn sublimiren sehr leicht, ohne sich zu zersetzen, in gewissen Krystallformen und sind durch mikrochemische Reactionen genau bestimmbar.

Das von mir angewendete Verfahren der Sublimation führt sehr rasch zum Ziele und ist insofern leicht durchführbar, als es nicht nothwendig ist, die betreffenden Objecte vorher mit anderen Substanzen zu behandeln.

Ich benutze für diese Methode Uhrgläser von 8—9 *cm* Durchmesser des Kantenkreises und ungefähr 1,5 *mm* Dicke. In einem solchen Uhrglas (Fig. 1) wird die zerkleinerte Probe des zu untersuchenden Objectes in Form eines kleinen Häufchens (*p*) angeordnet und mit einer runden Glasplatte (*g*) bedeckt. (Eine solche Glasplatte eignet sich für die nachfolgende, mikroskopische Untersuchung bedeutend besser als ein Uhrglas, wie ich dasselbe bei den ersten Versuchen[2]) zur Deckung verwendete.) Um das Sublimiren zu befördern, kann man auf die Aussenseite der Glasplatte über dem zu prüfenden Objecte einen Wassertropfen (*w*) anbringen.

1) A. Nestler, Ein einfaches Verfahren des Nachweises von Theïn und seine praktische Anwendung. Zeitschrift für Untersuchung der Nahrungs- und Genussmittel, Berlin 1901, Heft 2.

2) A. Nestler, l. c. S. 292.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Das Ganze kommt auf ein von einem Dreifuss getragenes Drahtnetz über die kleine Flamme eines Bunsenbrenners (Mikrobrenners). Die Spitze dieser kleinen Flamme war bei allen diesen Versuchen durchschnittlich 7 *cm* von dem Uhrglase entfernt. Nach 5—15 Minuten der Einwirkung dieser Flamme zeigt sich auf der Unterseite der Glasplatte ein mehr oder weniger starker Beschlag, welcher nun mikroskopisch und mikrochemisch geprüft werden kann. — Man untersuche nicht allein das Centrum der Glasplatte, welches über dem zu prüfenden Objecte lag, sondern auch die übrigen Theile der Platte, da bisweilen die schönsten Krystallformen nicht in der Mitte der Platte, sondern mehr gegen den Rand zu liegen.

An Stelle des Uhrglases und der Glasplatte habe ich mitunter mit Vortheil eine Petrischale verwendet.

Die Temperatur, welcher das Object bei der oben angegebenen Lage der Flamme ausgesetzt ist, beträgt nach 5 Minuten 40°, nach 10 Minuten 55°, nach 15 Minuten 60°, nach 30 Minuten 70° C. Ein Springen des Uhrglases in Folge der Erwärmung ist bei dieser Temperatur vollständig ausgeschlossen. Da der Gasdruck nicht immer gleichmässig ist, so unterliegt auch die Grösse der Mikroflamme und somit die Temperatur kleinen Schwankungen, welche für diese Untersuchungen von gar keiner Bedeutung sind. Sollte sich für gewisse Substanzen das Bedürfniss herausstellen, eine höhere Temperatur als die oben angegebene anzuwenden, so kann dieselbe auf leichte Weise durch entsprechende Unterlagen unter dem Bunsenbrenner erzielt werden. So ist z. B. für Theobromin eine Temperatur von 80° C. erforderlich (siehe S. 360).

Diese einfache Sublimationsmethode habe ich zunächst auf cumarin- und kaffeïn(theïn)haltige Objecte angewendet; es wurden geprüft: *Dipteryx odorata* Willd. (die Samen = Tonkabohnen), *Ageratum mexicanum* Vilm., *Hierochloa australis* R. et S., *Hierochloa odorata* Wahlb., *Anthoxanthum odoratum* L., *Prunus Mahaleb* L., chinesischer Thee des Handels, Maté, Kaffeebohne (roh und gebrannt), Kaffeeblatt, Colanuss, Colapräparate, Pasta Guarana, Cacao.

Dass auch das leicht sublimirbare Vanillin sich durch diese Methode nachweisen lässt, habe ich zum Schlusse an einem Beispiele gezeigt.

Wie die einzelnen Objecte zu behandeln sind, wird im Folgenden des Näheren angegeben werden.

Dipteryx odorata Willd.

Die Samen (Tonkabohnen) dieser Leguminose sind bekanntlich sehr cumarinreich. Einige wenige kleine Fragmente (0,005 *g*) der

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Cotyledonen geben bereits nach 3—5 Minuten der Dauer des Versuchs mit oder ohne aufgesetzten Wassertropfen zahlreiche Krystalle und Aggregate derselben auf der Unterseite der Glasplatte; bei einem etwas grösseren Quantum (0,01 *g*) von Cotyledonartheilen erhält man einen sehr starken Anflug, welcher vorherrschend aus Krystallaggregaten besteht. Diese Aggregate bilden lange, gerade, meistens aber gekrümmte Formen, welche aus einzelnen, mehr oder weniger deutlich erkennbaren Prismen zusammengesetzt sind. Ausserdem findet man einzelne, gut ausgebildete Prismen und Combinationen derselben (Fig. 2). Diese Krystalle, der Luft ausgesetzt, verflüchtigen sich allmählich, so dass nach einer Stunde die Kanten derselben bereits sehr undeutlich sind; sie entwickeln einen starken Cumaringeruch. Folgende mikrochemische Reactionen sind für dieselben charakteristisch: schwer löslich in kaltem, leicht löslich in heissem Wasser; sehr leicht löslich in Alkohol (96 pCt.), Aether und Essigsäure; leicht löslich in Olivenöl, sehr träge löslich in Glycerin, träge löslich in warmer, verdünnter Natronlauge; nach Zusatz von verdünnter Essigsäure zu dieser Lösung entstehen in kurzer Zeit lange Krystallnadeln, theils einzeln, theils in Aggregaten, ferner zahlreiche, kleine Prismen[1]).

Ageratum mexicanum Vilm.

H. Molisch[2]) hat zuerst nachgewiesen, dass *Ageratum mexicanum* Cumarin besitzt und dass dasselbe erst nach dem Absterben der oberirdischen Organe auftritt. „*Ageratum* riecht im lebenden Zustande niemals nach Cumarin, sondern erst im todten. Der Geruch der frischen Pflanze rührt vermuthlich von einem öligen Körper, von einem ätherischen Oele her.“ Die Hauptmenge des Cumarins ist nach Molisch in den Blättern; die Blüthen scheinen nur Spuren, die Wurzeln gar keins zu enthalten.

1. Versuch. Fünf frische Blätter dieser Pflanze wurden in einer gut gereinigten, geschlossenen Petrischale auf (nicht in) den Heissluft-Sterilisirapparat gebracht, welcher auf ungefähr 75° C. erhitzt war. Ab und zu wurden auf die Aussenseite des Deckels dieser Schale einige Wassertropfen gebracht, welche allmählich verdunsten. Die Innenseite des Deckels beschlägt sich nun, wie begreiflich, sehr stark mit Wassertropfen. Nach vier Stunden wurde die Schale von dem erhitzten Apparat genommen und, ohne den Deckel zu öffnen, so lange stehen gelassen, bis die Wassertropfen auf der Innenseite des Deckels verschwunden waren. Hier sieht man schon mit unbewaffnetem Auge einen weisslichen Beschlag; namentlich fallen

1) H. Behrens, Anleitung zur mikrochem. Analyse. 1897, 4. Heft, S. 94.

2) H. Molisch und S. Zeisel, Ein neues Vorkommen von Cumarin. Diese Berichte 1888, Bd. VI, S. 354.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Krystallnadeln bis zu 1 *cm* Länge sofort auf. Dieselben sind, wie die mikroskopische Untersuchung bei schwacher Vergrösserung zeigt, einfache oder mit Ansätzen anderer Nadeln versehene Prismen, deren Enden in der Regel undeutlich gestaltet sind. Ausserdem sieht man überaus zahlreiche, meistens kleine, mitunter auch längere Prismen und Aggregate derselben, welche eine deutliche Querstreifung[1]) zeigen (Fig. 3). — Alle diese Formen haben dieselben Lösungsverhältnisse, wie sie für das Cumarin der Tonkabohne angegeben worden sind; auch verflüchtigen sich dieselben, der Luft ausgesetzt, allmählich und lassen einen starken Cumaringeruch erkennen.

2. Versuch. Die zu dem ersten Versuch verwendeten *Ageratum*-Blätter sind nun vollständig trocken geworden, so dass sie sich zwischen den Fingern leicht zerreiben lassen; diese Fragmente werden nun mittelst Uhrschale, Glasplatte und aufgesetztem Wassertropfen in der bekannten Weise auf Cumarin geprüft. Nach einer Viertelstunde des Versuchs ist der aufgesetzte Wassertropfen verdunstet; auf der Innenseite der Glasplatte sieht man einen deutlichen Anflug, welcher mikroskopisch geprüft wird. Man findet neben ölartigen Tropfen dieselben Krystallformen, wie sie für das Cumarin der Tonkabohne angegeben worden sind: einzelne Prismen und Aggregate derselben (Fig. 4), ausserdem öfters verschiedenartig gekrümmte Formen, Aggregate vieler Krystalle (Fig. 5). Diese eigenthümlich gestalteten Aggregate werden wir im Folgenden noch öfters erwähnen; sie scheinen für Cumarin charakteristisch zu sein.

3. Versuch. Frische Blätter wurden in einer offenen Schale im Trocken-Sterilisirapparat bei 100° C. getrocknet. Dieselben waren bereits nach einer halben Stunde vollständig dürr, so dass sie leicht zerrieben werden konnten. Die Sublimationsprobe ergab keine Spur von Krystallen, nur ölartige Tröpfchen. Durch jene Erhitzung wurde, wie vorauszusehen war, das ganze Cumarin verflüchtigt.

4. Versuch. Nach vollständiger Entfernung der Blätter wurden einige Stengel in geschlossener Petrischale auf den Sterilisirapparat gebracht, welcher im Innern 80° C. zeigte. Nach zwei Stunden waren dieselben noch nicht trocken, sondern nur stark welk; sie wurden mit der Schere in kleine Stücke geschnitten und mittelst Uhrglas etc. auf Cumarin geprüft: nach 10 Minuten (mit aufgesetztem Wassertropfen) konnten die bekannten Cumarin-Krystallformen nachgewiesen werden.

5. Versuch. Zahlreiche Wurzeln wurden in geschlossener Schale getrocknet, hierauf zerschnitten und auf Cumarin geprüft: es wurde kein einziger Krystall beobachtet. — Dasselbe Resultat ergab der Versuch mit frischen Wurzeln.

1) Siehe H. Behrens, l. c. S. 94.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Ruta graveolens L.

Nach ZWENGER und BODENBENDER[1]) soll die *Ruta graveolens* L. Cumarin besitzen.

Einige Blätter derselben wurden getrocknet, zerrieben und geprüft: nach 10 Minuten sieht man auf der Glasplatte zahlreiche, kleine, 7 μ lange Nadeln, ferner grössere, bis 36 μ lange Krystalle und büschel- und sternförmige Aggregate. Diese Formen sind, wie die mikrochemischen Reactionen zeigen, kein Cumarin, sondern eine andere, vorläufig nicht näher bestimmte Substanz. Damit soll nicht gesagt sein, dass jene Pflanze kein Cumarin besitze und die Angabe ZWENGER's und BODENBENDER's nicht richtig sei. Es ist möglich, dass aus irgend einem Grunde die Sublimationsmethode hier versagt.

Asperula odorata L.

Frische Blätter von Pflanzen, welche noch keine Blüthenknospen-Anlage zeigten, wurden in geschlossener Petrischale auf dem Trocken-Sterilisirapparat, welcher im Innern 80° C. zeigte, durch zwei Stunden getrocknet, hierauf zerrieben und mittelst Uhrschale und Glasplatte auf Cumarin geprüft. Versuchsdauer 20 Minuten, mit aufgesetztem Wassertropfen. Nach weiteren 10 Minuten war die Glasplatte vollständig kalt und wurde nun mikroskopisch untersucht: zahlreiche sehr schöne, flache Prismen und Aggregate derselben; ferner gekrümmte Formen. Die Prismen waren bisweilen sehr dünn, so dass sie die Farbenerscheinungen dünner Plättchen zeigten. Bei einem und demselben Aggregate von Krystallen wurden neben farblosen Prismen solche mit carminrother, gelber, blauer und grüner Farbe beobachtet.

Einfacher und rascher zum Ziele führend ist folgendes Verfahren, welches mit Blättern von Waldmeisterpflanzen angestellt wurde, deren Blüthen unmittelbar vor der Entfaltung standen:

Ganze, lebende Blätter werden in geschlossener Petrischale eine halbe Stunde lang der Erhitzung durch die kleine Flamme des Bunsenbrenners in derselben Weise ausgesetzt, wie bisher die Versuche mittelst Uhrglas und Glasplatte angestellt wurden; auf die Aussenseite des Deckels wurde kein Wasser gebracht. Die Innenseite des Deckels ist nun ganz bedeckt mit Wassertropfen, welche nach dem Oeffnen der Schale sehr langsam verdunsten. An jeder Stelle, wo ein Wassertropfen sich befand, sieht man bei mikroskopischer Betrachtung sehr zahlreiche Krystalle, theils lange Nadeln und Combinationen derselben, theils kürzere und längere Prismen, öfters mit jener Querstreifung der Seitenwände, wie dieselbe für

1) TH. HUSEMANN, Die Pflanzenstoffe. I. Bd., 1882, S. 1037.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Quarzkrystalle charakteristisch ist. Lässt man den Deckel auf der Petrischale, so lassen sich jene Krystalle einige Tage lang vollständig intact erhalten.

Der kräftige Cumaringeruch, die bekannten Krystallformen, ferner ihre Lösungsverhältnisse geben die Gewissheit, dass auf diese einfache Weise Cumarin aus Waldmeisterblättern in Krystallform dargestellt werden kann.

Die zu diesem Versuche verwendeten Blätter sind, nachdem dieselben eine halbe Stunde der Mikroflamme ausgesetzt waren, fast trocken und lassen sich leicht zerreiben. Versuch mittelst Uhrschale, Glasplatte und aufgesetztem Wassertropfen eine Viertelstunde: obwohl dieses Material bereits einmal verwendet worden war, kamen immer noch sehr zahlreiche Cumarin-Krystalle zur Ausbildung.

Hierochloa australis R. et S.

Einige Blätter wurden in geschlossener Petrischale im Trockenkasten bei 75° C. durch zwei Stunden getrocknet, hierauf zwischen den Fingern zerrieben und mittelst Uhrschale und Glasplatte mit aufgesetztem Wassertropfen in der bekannten Weise auf Cumarin geprüft. Nach 7 Minuten des Versuchs wurde die Glasplatte mikroskopisch untersucht: die Innenseite derselben ist bedeckt mit sehr zahlreichen kleinen Tröpfchen, zwischen welchen vor dem Auge des Beobachters zahlreiche, meistens sehr lange, etwas gekrümmte, mit federartigen Ansätzen versehene Krystall-Aggregate sich bilden; ausserdem büschelförmige Aggregate von kleinen Nadeln und deutliche Prismen, ferner Aggregate derselben, hier und da in Folge ihrer dünnen Gestalt in verschiedenen Farben erscheinend.

Dasselbe Material wurde noch zweimal mit längerer Versuchszeit (10—30 Minuten) geprüft und ergab stets in abnehmender Menge verschiedene Krystalle. Alle diese Krystallformen erwiesen sich als Cumarin; die schönsten Formen wurden hierbei nicht in der Mitte der Glasplatte, sondern mehr gegen den Rand zu beobachtet.

Frische Blätter wurden eine Stunde lang in geschlossener Petrischale bei 100° C. getrocknet; dieselben besassen, wie der Versuch zeigte, nach dieser Erhitzung nur noch Spuren von Cumarin.

Hierochloa odorata Wahlb.

Die Blätter dieser Pflanze verhalten sich bezüglich des Cumaringehaltes ebenso wie die von *H. australis*; namentlich wurden hier die schon öfters erwähnten, verschiedenartig gekrümmten Formen (Fig. 6) beobachtet; bei stärkerer Vergrösserung erweisen sich dieselben, als Aggregate von mehr oder weniger deutlich ausgebildeten Prismen (Fig. 7).

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Versuche mit den Blüthen ergaben nach 20 Minuten der Einwirkung der Mikroflamme nur ganz vereinzelte Krystalle und Aggregate derselben.

Anthoxanthum odoratum L.

verhält sich ebenso wie die bereits behandelten Gräser.

Prunus Mahaleb L.

Von einem 5 *cm* langen und 6 *mm* dicken, frischen Zweigstücke (abgeschnitten am 26. April) wurde die Rinde in einem einzigen Stücke abgelöst und in geschlossener Petrischale zwei Stunden lang im Trockenkasten bei 75° C. gehalten. Nach dem Erkalten der Schale zeigte die Innenseite des Deckels in der Mitte grosse Wassertropfen, gegen den Rand hin gekrümmte Krystallformen und einzelne Prismen.

a) Die Hälfte dieser Rinde wurde, da sie noch nicht vollständig trocken war, mit der Schere in kleine Stücke zerschnitten und dem Sublimationsverfahren mittelst Uhrglas, Glasplatte und aufgesetztem Wassertropfen unterworfen. Versuchszeit 10 Minuten: sehr zahlreiche, kleine Nadeln; zahlreiche grössere, meist gut ausgebildete Prismen, sehr selten Aggregate.

b) Dasselbe zerkleinerte Material wurde noch einmal benützt; Versuchszeit $^1/_4$ Stunde ohne Anwendung eines Wassertropfens: bei schwacher Vergrösserung sieht man auf der Mitte der Glasplatte überaus zahlreiche Nadeln, welche bei stärkerer Vergrösserung als lange Prismen erscheinen; dieselben sind 120 μ lang, die sichtbare Fläche 4 μ breit, die Enden bisweilen undeutlich ausgebildet, in der Regel Einzelkrystalle, selten Vereinigungen von zwei oder mehreren derartigen Prismen (Fig. 8). Gegen den Rand der Glasplatte zu findet man überaus zahlreiche, kürzere, aber viel breitere Prismen.

Das Gesammtbild dieser Krystallbildungen ist im Allgemeinen ein anderes, als bei den früher untersuchten Pflanzen; dessen ungeachtet halte ich auch alle diese Formen für Cumarin: sie besitzen kräftigen Cumaringeruch und zeigen alle Lösungsverhältnisse des Cumarins.

c) Ein 3. Versuch mit demselben Material; Versuchszeit $^1/_4$ Stunde mit aufgesetztem Wassertropfen: ein starker Beschlag bestehend aus sehr zahlreichen, mehr oder weniger deutlichen Prismen, gegen den Rand der Glasplatte zu zahlreiche gekrümmte Formen, wie sie namentlich bei *Hierochloa* erwähnt wurden.

Da selbst eine dreimalige Verwendung derselben Rindenfragmente noch eine sehr reiche Krystallbildung ergiebt, so muss der Gehalt dieser Rinde an Cumarin als bedeutend bezeichnet werden.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Das Holz von *Prunus Mahaleb*, fein zerkleinert und dem Sublimationsverfahren unterworfen, liess gar keine Krystalle erkennen.

Dagegen sind die Laubblätter sehr cumarinreich: ein einziges frisches Blatt, zerschnitten, $^1/_2$ Stunde in geschlossener Petrischale über der Mikroflamme, liess jene oben erwähnten Krystallformen in sehr reicher Menge erkennen.

Thea chinensis L.

BEHRENS[1]) giebt für die Darstellung des Theïns durch Sublimation folgendes Verfahren an: „Etwa 50 *mg* der trockenen Blätter werden gröblich gepulvert und mit gebranntem Kalk gemengt unter Zusatz von so viel Wasser, dass eine krümelige Masse entsteht. Nach dem Trocknen wird dieselbe mit Alkohol ausgezogen, der Auszug tropfenweise auf einem dünnen Objectträger oder einem Glimmerblättchen verdampft und der Rückstand der Sublimation unterworfen. Man erhitzt bis zu beginnender Bräunung und kann bei geschickter Ausführung von einer Menge, welche 1 *mg* Thee entspricht, drei brauchbare Anflüge erhalten. Dieselben sind weiss, oft in der Mitte pulverig, an den Rändern die charakteristischen Nadeln zeigend. Sie bestehen aus fast reinem Kaffeïn".

Zu dem von mir angewendeten, einfachen Verfahren des Nachweises von Theïn (= Kaffeïn) kann man jedes einzelne, kleine Theeblattfragment gebrauchen, was, wie ich gezeigt habe[2]), für den Nachweis von bereits extrahirtem Thee in einer Mischung mit intactem Thee von grosser praktischer Bedeutung ist.

Ein gerolltes Blattfragment eines käuflichen Thees (= nicht extrahirten Souchong ff.) von 1 *cm* Länge wird in einer Reibschale oder einfach zwischen den Fingern zerrieben und mittelst Uhrglas und Glasplatte mit oder ohne aufgesetztem Wassertropfen in der bekannten Weise auf seinen Theïngehalt geprüft: nach 5—15 Minuten der Einwirkung der kleinen Flamme zeigt sich ein starker Anflug auf der Innenseite der Glasplatte, welcher aus zahlreichen feinen, bis 48 μ langen Nadeln besteht (Fig. 9).

Diese Krystallnadeln sind, wie die von H. MOLISCH[3]) angegebene, mikrochemische Reaction mittelst Salzsäure-Goldchlorid beweist, Theïn.

---

1) H. BEHRENS, Anleitung zur mikrochemischen Analyse der wichtigsten organischen Verbindungen 1897, Heft 4, S. 15.

2) A. NESTLER l. c.

3) H. MOLISCH, Grundriss einer Histochemie der pflanzlichen Genussmittel 1891, S. 7 und 15.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

H. Molisch hat nämlich bereits vor 10 Jahren ein Verfahren ausgearbeitet, um selbst in kleinen Blatttheilen des käuflichen, natürlichen Thees Theïn nachweisen zu können.

Das Verfahren besteht darin, dass das betreffende Fragment in einen Tropfen conc. Salzsäure gelegt und nach einer Minute ein Tröpfchen 3 procentiger Goldchloridlösung hinzugefügt wird.

Sobald ein Theil der Flüssigkeit verdampft wird, schiessen am Rande des Tropfens mehr oder minder lange, gelbliche, zumeist büschelförmig ausstrahlende Nadeln von charakteristischem Aussehen an." Ich habe dieses Verfahren des Theïnnachweises zur Bestimmung jener durch Sublimation erhaltenen Krystallnadeln sehr oft angewendet und dasselbe als ganz verlässlich gefunden.

Dabei ist ganz besonders darauf zu achten, dass die charakteristischen Krystalle — einzelne, spitz zulaufende, gelbe Nadeln; Gruppen von dünnen Nadeln, meist sternförmig angeordnet, die Strahlen von ungleicher Länge, oder büschelig von einem Punkte ausstrahlend; lange Nadeln mit am Ende federartigen Bildungen — nahezu augenblicklich entstehen und nach wenigen Minuten in grosser Menge am Rande des Tropfens vorhanden sind. Macht man den gleichen Versuch nur mit conc. Salzsäure und Goldchlorid (3procentig), also mit Ausschluss von Theïn, so sieht man nach einer Stunde noch keine Krystalle, erst nach langer Zeit entstehen am Rande des Tröpfchens kleinere und grössere, sehr dünne, scheinbar farblose Krystallstäbchen, ferner kürzere und längere, dicke, stabförmige, gelbe Prismen, niemals aber jene büschel- oder sternförmigen oder federartigen Gestalten. Auch L. Cador[1]) machte die Beobachtung, dass Salzsäure und Goldchlorid allein „niemals spitz endende oder büschelig ausstrahlende Nadeln geben."

Das Verfahren des Theïnnachweises durch Sublimation wurde ausser auf Souchong noch auf die Sorten Glendower, Brakfast, Congo, Pecco und Imperial angewendet. Alle diese Proben bestanden natürlich aus noch nicht extrahirtem Thee und gaben bei derselben Menge des Thees und derselben Dauer des Versuches mehr oder weniger Krystallnadeln, je nachdem die Theesorte aus jüngeren oder älteren Blättern oder Blattfragmenten bestand[2]). Ein Thee, welcher 5—10 Minuten lang mit heissem Wasser extrahirt und dann bei gewöhnlicher Zimmertemperatur getrocknet wird, enthält kein Theïn, das durch Sublimation nachweisbar ist. Nimmt man für den Theïnnachweis ein intactes (nicht extrahirtes) Theeblatt oder ein Fragment

1) Anatomische Untersuchung der Maté-Blätter unter Berücksichtigung ihres Gehaltes an Theïn. Bot. Centralbl., Bd. 84, S. 251.

2) Vergl. H. Molisch, Grundriss einer Histochemie der pflanzlichen Genussmittel 1891, S. 15, und G. Clautriau, Nature et signification des alkaloides végétaux. Bruxelles 1900, S. 62.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

desselben, ohne dasselbe zu zerreiben, so erhält man in derselben Zeit, wie sie bei den früheren Versuchen eingehalten wurde, keine oder sehr wenige Krystallnadeln; in diesem Falle verhindert offenbar die unversehrte Epidermis des Blattes, beziehungsweise die Cuticula desselben die Verflüchtigung des Theïns. Es ist daher das Zerkleinern des Theeblattes oder Fragmentes auf diese oder jene Weise zur raschen Erzielung eines Erfolges unbedingt nothwendig.

Dass dieses Verfahren des Theïnnachweises für alle theïn- (kaffeïn-) haltigen Substanzen verwendbar ist, geht aus den folgenden Versuchen hervor; nach 5—10 Minuten Versuchszeit mit aufgesetztem Wassertropfen zeigt die Glasplatte stets einen deutlichen Anflug, bestehend aus Krystallnadeln verschiedener Länge, welche auf mikrochemischem Wege als Theïn (Kaffeïn) bestimmt werden können.

Maté: Einige zerriebene Blattstücken der Handelswaare liessen nach 10 Minuten Versuchszeit zahlreiche durchschnittlich 36 μ lange Krystalle erkennen.

Kaffee: Einige kleine Stückchen einer rohen Kaffeebohne gaben in kurzer Zeit einen starken Anflug, bestehend aus zahlreichen Krystallen von durchschnittlich 48 μ Länge.

Ein Stück einer gebrannten Kaffeebohne wurde in der Reibeschale zerrieben; bereits nach 5 Minuten war die Glasplatte von zahlreichen durchschnittlich 40 μ langen Krystallnadeln bedeckt.

Ein lebendes Kaffeeblatt von 6 *cm* Länge wurde im Trocken-Sterilisirapparat bei 80° C. vollständig getrocknet; hierauf ein Stückchen desselben zerrieben und der Kaffeïnprobe unterworfen. Nach kurzer Zeit entstand ein Anflug von zahlreichen, 57 μ langen Kaffeïnnadeln. Denselben Erfolg erzielte ich mit einem Blatte von 14 *cm* Länge[1]).

Kola: Eine kleine Menge von Stückchen, welche von einem Cotyledon der Kolanuss (*Cola acuminata* R. Br.) abgeschabt wurden, liess in 10 Minuten zahlreiche Nadeln von 33 μ Länge erkennen.

Eine sehr kleine Menge einer Kola-Pastille[2]) gab, fein gehackt, nach 5 Minuten des Versuches auf der Glasplatte einen starken Anflug, bestehend aus überaus zahlreichen, dicht gelagerten kleinen Nadeln.

Auf dieselbe Weise können Kola-Zucker, Kola-Chocolade und andere gebräuchliche Kolapräparate geprüft werden.

Guarana (*Pasta Guarana, Paullinia sorbilis* Mart.): Abgeschabte Fragmente sowohl von der homogen erscheinenden Grundmasse als auch von den in derselben eingebetteten Samentheilen ergaben nach kurzer Versuchszeit zahlreiche, dicht gelagerte Krystalle.

---

1) Nach VAN ROMBURGH (G. CLAUTRIAU l. c., S. 61) enthalten die jüngeren Blätter von *Coffea arabica* 1,6 pCt., die ausgewachsenen 1,1 pCt. Kaffeïn, dagegen die Blätter von *Coffea liberica* 0,6 pCt. bezw. kein Kaffeïn.

2) Hergestellt von DALLMANN & Comp. in Gummersbach (Rheinland): Kolaauszug 5 *g*, Cacao 1,5 *g*, Zucker 14,5 *g* zu 21 Pastillen à 1 *g* verarbeitet.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Cacao.

Cacao enthält neben dem Alkaloid Theobromin (0,8—2p Ct.), nach Eminger[1]) auch Kaffeïn (0,05—0,36 pCt.).

Das Pulver eines zerriebenen Cacaokernes, auf die bekannte Weise der Mikroflamme ausgesetzt, giebt gar keine Krystalle. Anders verhält sich entöltes Cacaopulver. Man kann dazu das käufliche Cacaopulver verwenden oder einen Cacaokern in der Reibschale zerreiben, die zerriebene Masse mit Aether schütteln, den Aether abgiessen und den Rückstand dem Sublimationsverfahren unterziehen. Ein kleines Häufchen entölten Cacaos wird durch 15—20 Minuten der Mikroflamme ausgesetzt, während die Aussenseite der Glasplatte einen Wassertropfen trägt: es bildet sich auf der Unterseite der Glasplatte ein sehr starker Anflug, bestehend aus verschieden grossen Nadeln: kleine 5—7 μ lange, in der Mitte etwas verdickte Kryställchen; ferner Nadeln bis zu 48 μ Länge; einzelne Nadeln erreichen eine Länge von 0,2 *mm* und zeigen bisweilen federartige Ansätze.

Bei Zusatz von concentrirter Salzsäure und 3 procentiger Goldchloridlösung erhält man dieselben Krystallformen, wie dieselben für Kaffeïn beschrieben worden sind. Ob unter jenen durch Sublimation entstandenen Krystallformen neben Kaffeïn auch Theobromin[2]) vorhanden ist, muss ich bezweifeln, da bei der durch jene Lage der Mikroflamme erzielten Temperatur (etwa bis zu 60°) eine Sublimirung des Theobromins nicht stattfindet, wie der Versuch mit reinem Theobromin zeigt.

Nach Behrens[3]) ist für die Sublimation des Theobromins, welche er wie die des Theïns ausführt, eine Temperatur von etwa 300° C. erforderlich.

Reines Theobromin sublimirt jedoch nach meinen Versuchen schon bei einer bedeutend tieferen Temperatur. Erhöht man den Bunsenbrenner bei meinem Sublimationsverfahren durch Unterlegen einer Petrischale, so dass die Mikroflamme um 1,5 *cm* dem Uhrglase näher kommt, so findet in 20 Minuten eine Steigerung der Temperatur des zu prüfenden Objectes auf ungefähr 80° C. statt. Bei dieser Temperatur nun geht die Sublimation des reinen Theobromins sehr leicht vor sich; die Glasplatte zeigt nach kurzer Zeit einen starken Beschlag, bestehend aus kleinen Körnchen; durch wiederholtes Anhauchen entstehen am Rande des Beschlages kleine Krystalle.

---

1) A. Vogl, Die wichtigsten vegetabilischen Nahrungs- und Genussmittel, 1899, S. 288.

2) Nach H. Molisch (Histochemie, S. 23) giebt Theobromin mit Salzsäure-Goldchlorid dieselbe Reaction wie Kaffeïn.

3) l. c., S. 16.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Setzt man nun entöltes Cacaopulver dieser Temperatur aus, so erhält man nach 20 Minuten der Versuchszeit neben kleineren und grösseren Nadeln auch kleine Körnchen, welche möglicher Weise dem Theobromin angehören; der Nachweis desselben mittelst Silbernitrat[1]) gelang mir jedoch nicht.

Vanilla planifolia Andrew.

Vanillin sublimirt bekanntlich sehr leicht.

Der Innenrand eines geschlossenen Glases, in welchem Vanillinfrüchte sich befinden, bedeckt sich nach einiger Zeit mit sehr zierlichen, federartigen Bildungen, welche aus reinem Vanillin bestehen. Die frisch geerntete Vanillefrucht hat, wie von H. MOLISCH[2]) zuerst hervorgehoben worden ist, höchst wahrscheinlich gar kein oder sehr wenig Vanillin; die Hauptmasse desselben entsteht erst beim Trocknen der Früchte aus einer anderen Substanz.

Einige sehr kleine Fragmente einer Vanillefrucht des Handels (Bourbon-Vanille) werden dem Sublimationsverfahren unterworfen: nach $^1/_4$ Stunde ist ein deutlicher Beschlag vorhanden, welcher aus kleinen Tröpfchen besteht.

Nach ungefähr einer Stunde (nach dem Entfernen des Objectes vom Mikrobrenner) zeigen sich am Rande des Beschlages, welcher im Allgemeinen keine bestimmten Formen erkennen lässt, Aggregate von mehr oder weniger deutlichen, farblosen Prismen. Der ganze Beschlag besteht, wie die Reactionen beweisen, aus Vanillin.

Prag, Pflanzenphysiolog. Institut der k. k. deutschen Universität.

Erklärung der Abbildungen.

Fig. 1. Uhrglas (*u*) mit Glasplatte (*g*); auf derselben ein Wassertropfen (*w*) über der zu untersuchenden Probe (*p*). Etwas verkleinert.

„ 2—8. Cumarinkrystalle und Aggregate derselben, durch Sublimation gewonnen aus den Samen von *Dipteryx odorata* (Fig. 2, Vergr. 300); aus den Blättern von *Ageratum mexicanum* (Fig. 3, Vergr. 50, Fig. 4, Vergr. 300, Fig. 5, Vergr. 50); aus den Blättern von *Hierochloa odorata* (Fig. 6, Vergr. 50, Fig. 7, Vergr. 300); aus der Rinde von *Prunus Mahaleb* (Fig. 8, Vergr. 150).

„ 9. Kaffeïnkrystalle aus dem rohen Samen von *Coffea arabica*. Vergr. 300.

1) H. BEHRENS l. c., S. 17.

2) H. MOLISCH, Histochemie, S. 49.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

A. Vernier gez. E. Laue lith.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft

Jahr/Year: 1901

Band/Volume: 19

Autor(en)/Author(s): Nestler Anton

Artikel/Article: Der directe Nachweis des Cumarins und Theins durch Sublimation. 350-361