

Ueber den Lecithingehalt der Pflanzensamen.

Von

E. Schulze und E. Steiger.

(Aus dem agricultur-chemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)
(Der Redaction zugegangen am 8. Januar 1889.)

Zu den Substanzen, welchen man grosse Verbreitung im pflanzlichen wie im thierischen Organismus zuschreibt, gehört das Lecithin. Allerdings hat man dasselbe, so viel wir wissen, aus den Pflanzen bis jetzt noch nicht rein dargestellt; für sein Vorhandensein in denselben spricht aber nicht nur die Thatsache, dass die ätherischen Extracte aus Pflanzensamen, Knospen u. s. w. in der Regel Phosphor enthalten, sondern auch der vor Kurzem durch H. Jacobson¹⁾ erbrachte Nachweis, dass unter den beim Verseifen von Pflanzenfetten entstehenden Producten auch Cholin, das bekannte Zeretzungsproduct des Lecithins, sich vorfindet.

Den Lecithingehalt der Pflanzensamen hat man aus der Phosphormenge berechnen wollen, welche in den ätherischen Samen-Extracten enthalten ist — wobei man selbstverständlich die Voraussetzung machte, dass in diesen Extracten ausser Lecithin keine Phosphor-Verbindung sich vorfindet. Bestimmungen des Phosphorgehalts der Aether-Extracte aus Pflanzensamen sind z. B. von Töpler²⁾ ausgeführt worden. Die von Demselben gefundenen Zahlen und die daraus sich

¹⁾ H. Jacobson, Ueber einige Pflanzenfette. Inaugural-Dissertation, Königsberg 1887; diese Zeitschrift, Bd. 13, S. 32.

²⁾ Jahresbericht für Agriculturchemie, 1861—1862, S. 57.

berechnenden Lecithinquantitäten¹⁾ sind in der nachfolgenden Tabelle zusammengestellt:

	P in % des Aetherextracts:	Lecithin in % des Aetherextracts:
Lupinen	0,29	7,55
Erbsen	1,17	30,46
Pferdebohnen	0,72	18,75
Wicken	0,50	13,02
Winterlinsen	0,39	10,15
Engl. Weizen	0,25	6,51
Helena-Weizen	0,28	7,29
Roggen	0,31	8,07
Gerste	0,28	7,29
Hafer	0,44	11,49
Roskastanien	0,30	7,81

Nimmt man an, dass der Fettgehalt der von Töpler verwendeten Samen mit den in den Wolff'schen Tabellen²⁾ angegebenen Durchschnittswerthen übereinstimmte, so berechnen sich für den Lecithingehalt der lufttrocknen Samen folgende Procentzahlen³⁾:

Lupinen	0,37% ⁴⁾
Erbsen	0,61
Pferdebohnen	0,30
Wicken	0,39
Winterlinsen	0,26
Engl. Weizen	0,10
Helena-Weizen	0,11
Roggen	0,16
Gerste	0,18
Hafer	0,69
Roskastanien	0,12

¹⁾ Die letzteren Zahlen sind berechnet unter der Annahme, dass dem Lecithin die Formel $C^{44}H^{90}, NPO^9$ zukommt; wir entnehmen dieselben der Abhandlung Jacobson's, mit Ausnahme der letzten Zahl, welche Jacobson nicht mit aufführt.

²⁾ E. v. Wolff, Leitfaden der landwirthschaftlichen Fütterungslehre, 4. Auflage, S. 223.

³⁾ Auf die Samentrockensubstanz berechnet, würden die Zahlen um $\frac{1}{7}$ — $\frac{1}{8}$ höher werden.

⁴⁾ Berechnet unter Zugrundelegung des von Wolff für gelbe Lupinen angegebenen Fettgehalts.

Sehr viel höhere Zahlen fand Jacobson (l. c.) für den Phosphorgehalt des Fettes aus Wicken-, Bohnen-, Erbsen- und Lupinen-Samen. Doch muss gleich bemerkt werden, dass die von ihm untersuchten Fette nicht in der gewöhnlichen Weise, d. h. durch Extraction der gepulverten Samen mittelst Aether, sondern nach folgendem Verfahren dargestellt worden waren: Die gepulverten Samen wurden mit Alkohol extrahirt, die alkoholischen Extracte eingedunstet und die dabei verbleibenden Rückstände mit Aether behandelt; nur das in Aether Gelöste wurde in Arbeit genommen. Für den Phosphorgehalt dieser Objecte und für den daraus sich berechnenden Gehalt derselben an Lecithin macht Jacobson folgende Angaben:

	P in ‰ des Fettes:	Lecithin in ‰ des Fettes:
Bohnen	2,47	64,04
Wicken	0,80	20,83
Erbsen	1,93	50,25
Lupinen	1,92	50,00

Durch die grosse Differenz zwischen diesen Resultaten und denjenigen Töpler's wurde Jacobson veranlasst, noch eine Phosphorbestimmung in dem aus gepulverten Bohnensamen durch Aether direct extrahirten Fett auszuführen. Er fand nun 0,744% P — eine Zahl, welche von der durch Töpler gefundenen nur sehr wenig abweicht. Jacobson hält diese Zahl für die maassgebende. Zur Erklärung der hohen Resultate, welche er für den Phosphorgehalt der nach dem anderen Verfahren aus Bohnen, Wicken, Erbsen und Lupinen dargestellten Fette fand, spricht er die Vermüthung aus, «dass bei der Gewinnung des Rohfettes durch die erste Extraction desselben mittelst Alkohol phosphorhaltige Substanzen, die unter gewöhnlichen Umständen nicht von Aether gelöst werden, in andere phosphorhaltige Körper zerlegt werden, die in Aether löslich sind, welche Möglichkeit z. B. in Bezug auf die phosphorhaltigen Nucleine nicht als ganz ausgeschlossen erscheint»¹⁾.

¹⁾ Inaugural-Dissertation, S. 19. M. vgl. auch Jacobson's Abhandlung in dieser Zeitschrift; auf S. 38 heisst es daselbst: «Man ist zu der

Die richtige Erklärung für die grossen Differenzen, welche in diesen Untersuchungen die nach verschiedenen Methoden aus den Pflanzensamen dargestellten Fette in Bezug auf den Phosphorgehalt zeigten, ergibt sich aus einer von uns ausgeführten Arbeit, deren Resultate wir im Folgenden mittheilen. Diese Arbeit hat aber auch bewiesen, dass auch die aus dem Phosphorgehalt der Aetherextracte für den Lecithingehalt der Pflanzensamen berechneten Zahlen keineswegs als richtig zu betrachten sind.

Den Ausgangspunkt für unsere Untersuchung bildeten einige Beobachtungen, welche von uns gemacht wurden, als wir den Lecithingehalt der Samen von *Lupinus luteus* zu bestimmen suchten. Dabei kam folgendes Verfahren zur Anwendung: Die entschälten und auf das Feinste gepulverten Samen¹⁾ wurden mit Aether (und zwar mit käuflichem Aether absolutus) vollständig extrahirt, der Extract in einer Platinschale eingedunstet, der dabei verbleibende Rückstand mit Soda und Salpeter gemengt und vorsichtig bis zum Verschwinden der Kohle geglüht. Den Glührückstand lösten wir in Wasser, übersättigten die Lösung mit Salpetersäure und bestimmten die darin vorhandene Phosphorsäure nach der Molybdänsäure-Methode.

Durch Multiplication der dabei erhaltenen Magnesiumpyrophosphat-Menge mit dem Faktor 7,2703 berechneten wir dann die im Untersuchungsobject vorhanden gewesene Lecithin-Quantität.

Nach diesem Verfahren erhielten wir ganz verschiedene Zahlen für den Lecithingehalt von zwei Lupinensamen-Sorten,

Annahme gezwungen, dass bei der Gewinnung des Rohfettes durch die erste Extraction desselben aus dem Samen mittelst Alkohol Phosphor anderen Ursprungs als aus Lecithin in eine in Aether lösliche Form übergeführt wird, und beim Aufnehmen des Alkohol-Extracts mit Aether in diesen mit übergeht. Welcher Art diese andere Phosphorquelle ist, ist freilich unbekannt.»

¹⁾ Zum Pulvern der Samen benutzten wir die Mühle (oder richtiger «Reibe»), welche nach Angaben Märcker's vom Mechaniker Dreefs in Halle a./S. construiert worden ist.

beide *Lupinus luteus*, aber aus zwei verschiedenen Jahren stammend. Die folgenden Angaben zeigen dies:

	Lecithingehalt der schalenfreien Samentrockensubstanz:
Sorte I	1,27%
Sorte II	0,21

Da es höchst unwahrscheinlich ist, dass der gleiche Samen in verschiedenen Jahren einen so ungleichen Lecithingehalt besitzt, so mussten wir auf den Gedanken kommen, dass die zur Lecithinbestimmung von uns angewendete Methode Fehler involvirte. In der Art und Weise, in welcher wir den Phosphorgehalt der Aetherextracte bestimmten, konnten diese Fehler kaum liegen; es erschien aber möglich, dass der phosphorhaltige Samenbestandtheil (das Lecithin) durch den Aether nicht immer vollständig extrahirt wurde. Während wir damit beschäftigt waren, diese Frage experimentell zu prüfen, fanden wir in einer schon im Jahre 1871 publicirten Abhandlung A. Beyer's¹⁾ die Angabe, dass aus Lupinensamen, welche man zuvor mittelst Aethers entfettet hat, durch Alkohol eine fettartige Substanz extrahirt wird, welche weit reicher an Phosphor ist, als das durch Aether gelöste Fett²⁾. Diese Substanz bleibt zurück, wenn man die beim Eindunsten des alkoholischen Extracts hinterbleibende Masse mit Wasser behandelt. Merkwürdigerweise löst sie sich nun in Aether auf; beim Verdunsten der Lösung bleibt sie als «ein festes, schmieriges Fett von gelbbrauner Farbe» zurück.

Diese Angaben Beyer's fanden wir vollkommen richtig. Als wir feingepulverte Lupinensamen, welche mittelst Aethers entfettet worden waren, mit absolutem Alkohol bei Wasserbadhitze behandelten, resultirte eine gelbe Lösung, welche beim Eindunsten einen gelbbraunen Rückstand lieferte. Bei Behandlung mit kaltem absolutem Aether ging ein sehr beträchtlicher Theil desselben in Lösung; der Rest löste sich in Wasser zu einer allerdings nicht ganz klaren Flüssigkeit.

¹⁾ Landw. Versuchsstationen, Bd. 14, S. 165.

²⁾ In letzterem fand Beyer nur 0,098% P. in dem durch Alkohol extrahirten Fett dagegen 1,56% P.

Als der beim Verdunsten der ätherischen Lösung hinterbleibende Rückstand mit Soda und Salpeter geglüht wurde, entstand eine phosphoräurehaltige Masse.

Wir mussten nun zunächst die von Beyer ganz offengelassene Frage zu entscheiden suchen, ob der in Aether lösliche Theil des Alkoholextracts Lecithin enthält. War dies der Fall, so musste derselbe nicht nur Phosphor enthalten (was ja bereits nachgewiesen ist), sondern es mussten sich daraus auch sowohl Fettsäuren wie Cholin darstellen lassen. Das war in der That der Fall. Wir wollen im Folgenden zunächst die Versuche beschreiben, welche zur Gewinnung von Cholin führten.

Gepulverte Lupinensamen, welche durch Behandlung mit kaltem Aether entfettet worden waren¹⁾, wurden bei einer Temperatur von 70—80° mit 95procentigem Alkohol extrahirt²⁾. Den filtrirten Extract unterwarfen wir der Destillation; die nach Verflüchtigung des Alkohols zurückbleibende Masse wurde mit kaltem reinem Aether behandelt³⁾. Die filtrirte ätherische Lösung wurde eingedunstet, der Rückstand eine Stunde lang mit Barytwasser gekocht; dann leiteten wir Kohlensäure ein, bis die Flüssigkeit nicht mehr alkalisch

¹⁾ Die Entfettung wurde in folgender Weise bewerkstelligt: Wir brachten die gepulverten Samen in ein Glassgefäss, übergossen sie mit Aether und sorgten durch häufiges Umschütteln für gute Mischung. Nach mindestens 12stündigem Stehen wurde die ätherische Fettlösung abgossen und durch frischen Aether ersetzt; diese Operation wurde noch ein oder zwei Mal wiederholt. Schliesslich brachten wir das Samenpulver auf ein Filter und wuschen mit Aether aus, bis die Flüssigkeit, welche anfangs gelb gefärbt war, vollkommen farblos ablief.

²⁾ Da ein alkoholischer Extract aus Lupinensamen ziemlich stark sauer reagirt, so wurde bei der Extraction meist etwas kohlensaures Calcium zugesetzt. Uebrigens wirken nach den Untersuchungen von E. Gilson (diese Zeitschrift, Bd. 12, S. 585) Säuren weit langsamer auf das Lecithin ein, als früher angenommen wurde.

³⁾ Wir fanden es zweckmässig, dabei etwas Wasser zuzusetzen. Das letztere nimmt die in Aether unlöslichen Bestandtheile des Alkoholextracts auf. Die ätherische Lösung wurde dann durch Abhebern von der wässrigen getrennt.

reagirte, filtrirten und dunsteten das Filtrat unter Zusatz von einigen Tropfen verdünnter Salzsäure im Wasserbade bis zur Syrupconsistenz ein. Den Syrup extrahirten wir in der Wärme mit absolutem Alkohol, dunsteten den Extract ein und nahmen den Rückstand noch einmal in absolutem Alkohol auf. Die so erhaltene Lösung wurde mit einer alkoholischen Platinchloridsolution versetzt. Es entstand ein hellgelber Niederschlag, welcher abfiltrirt, mit Alkohol gewaschen, zwischen Filtrirpapier abgepresst und sodann mit Wasser behandelt wurde. Der grösste Theil löste sich auf; zurück blieb ein sehr schwer lösliches Platindoppelsalz¹⁾ in nicht beträchtlicher Menge. Die Lösung lieferte beim Verdunsten zunächst noch etwas von dem schwer löslichen Doppelsalz; dann krystallisirte ein leichter lösliches orangerotes Salz aus. Die Krystalle wurden durch Abpressen zwischen Filtrirpapier von der dickflüssigen Mutterlauge, durch wiederholtes Lösen in kaltem Wasser von noch beigemengtem schwer löslichen Salz getrennt, dann für sich umkrystallisirt. Sie zeigten nun die Formen des Cholinplatinchlorids. Das Chlorhydrat der Base, erhalten durch Zerlegung des Platindoppelsalzes mittelst Schwefelwasserstoff, gab die folgenden, mit denen des Cholins übereinstimmenden, Reactionen:

Mit Phosphorwolframsäure	weisser Niederschlag,
Phosphormolybdänsäure	gelblicher Niederschlag.
Kaliumwismuthjodid	rother Niederschlag.
Kaliumquecksilberjodid	gelber Niederschlag.
Jod-Jodkalium	brauner Niederschlag,
Goldchlorid	gelber Niederschlag. löslich in heissem Wasser,
Quecksilberchlorid	langsam entstehende weisse kry- stallinische Ausscheidung.
Gerbsäure	0.

¹⁾ Dasselbe lieferte bei der Zerlegung (mittelst Schwefelwasserstoff) ein bitter schmeckendes Chlorhydrat. Wahrscheinlich gehörte dasselbe einem der Lupinen-Alkaloide an. Beyer (l. c.) erwähnt, dass dem aus dem Alkoholextract von ihm dargestellten «phosphorreichen Fett» ein Rest der Alkaloide (des Bitterstoffs) hartnäckig anhaftete. Er entfernte sie, indem er die ätherische Lösung des Fettes wiederholt mit HCl-haltigem Wasser durchschüttelte.

Eine mit einem Alkali oder mit einer alkalischen Erde versetzte wässrige Lösung des Chlorhydrats entwickelte langsam den Geruch des Trimethylamins.

Schliesslich wurde noch das Golddoppelsalz der Base untersucht. Dasselbe stimmte im Aussehen wie im Verhalten mit Cholingoldchlorid überein. Die Goldbestimmung gab folgende Resultate:

	1. 0,3490 gr. Substanz ¹⁾	gaben	0,1553 gr. Au.
	2. 0,2400	»	0,1070 » »
	Berechnet für		Gefunden:
	Cholingoldchlorid = $C_5H_{14}NOAuCl_4$:	1.	2.
Au	44,43	44,50	44,58 %.

Die im Vorigen gemachten Angaben beweisen, dass der in Aether lösliche Theil des Alkoholextracts aus entfetteten Lupinensamen bei der Verseifung Cholin lieferte. Die Quantität des letzteren war freilich keine grosse; wir mussten daher einige Kilogramm Lupinensamen verarbeiten, um eine zur Ausführung der beschriebenen Versuche genügende Cholin-Menge zu erhalten. Dies kann auch kaum Wunder nehmen. Denn erstens war ja in dem Untersuchungsmaterial nur noch der bei der ersten Extraction mit Aether nicht in Lösung gegangene Theil des Lecithins vorhanden²⁾; zweitens tritt während der Verseifung wohl stets Verlust an Cholin ein, da ja bekanntlich die freie Base in wässriger Lösung nicht sehr beständig ist; endlich war auch die Trennung des Cholinplatinchlorids von den daneben vorhandenen Substanzen selbstverständlich nicht ohne Verlust zu bewerkstelligen.

Dass bei der Verseifung der fraglichen fettartigen Substanz neben Cholin auch Fettsäuren resultiren, wird durch folgende Versuche bewiesen: Eine Quantität von ungefähr 400 gr. entfetteter Lupinensamen wurde in der Wärme mit

¹⁾ Die Substanz war zuerst über Schwefelsäure, dann bei 95° getrocknet worden.

²⁾ Allerdings wurde aus der zweiten von uns untersuchten Lupinensamen-Sorte (m. vgl. w. o.) bei der ersten Extraction mit Aether nur sehr wenig Lecithin gelöst; von dieser Sorte hatten wir aber nur geringen Vorrath, so dass wir für obige Versuche hauptsächlich eine andere Sorte verwenden mussten.

95procentigem Alkohol extrahirt, der Extract eingedunstet, die dabei verbleibende Masse mit Aether behandelt. Die filtrirte ätherische Lösung dunsteten wir ein und kochten den Rückstand einige Stunden lang am Rückflusskühler mit alkoholischer Kalilauge. Die so erhaltene Lösung wurde eingedunstet, der Rückstand in Wasser aufgenommen und in einem Stöpselcylinder mehrmals mit Aether durchgeschüttelt. Der ätherische Auszug wurde abgehebert, die rückständige Seifenlösung im Wasserbade auf ein geringeres Volumen eingedunstet und sodann mit Schwefelsäure versetzt. Es entstand eine Ausscheidung von Fettsäuren. Wir lösten dieselben in Aether. Die zur Reinigung mit Wasser durchgeschüttelte und dann filtrirte ätherische Lösung lieferte beim Verdunsten einen in der Wärme flüssigen, beim Erkalten fest werdenden Rückstand, welcher sich in Alkohol auflöste; die sauer reagirende Lösung lieferte beim Verdunsten Krystalle. Dass hier Fettsäuren vorlagen, geht noch daraus hervor, dass die Verbindungen derselben mit Kali in Wasser löslich waren, dass die Lösung beim Durchschütteln stark schäumte und auf Zusatz eines Calcium- oder Magnesiumsalzes einen Niederschlag gab.

Erwähnt sei noch, dass der in Aether lösliche Theil des Alkohol-Extractes beim Uebergiessen mit Wasser eine schleimige Beschaffenheit annahm, während eine vermuthlich nur geringe Substanzmenge in Lösung ging¹⁾. Das in Wasser Unlösliche zeigte unter dem Mikroskop ölige Tropfen. Der Phosphorgehalt dieser Substanz betrug 3,13%.

Aus den im Vorigen mitgetheilten Versuchsergebnissen ist zu schliessen, dass der in Aether lösliche Theil des Alkohol-Extractes aus entfetteten Lupinensamen Lecithin enthielt. Der Nachweis dieses Körpers fusst bekanntlich im Wesentlichen auf demjenigen seiner Zersetzungsproducte²⁾; den letz-

¹⁾ Der wässrige Extract (welcher sehr schlecht filtrirte) reagirte sauer. Die Lupinensamen enthalten organische Säuren (Citronensäure etc.), welche in den Alkohol-Extract übergehen. Bei Behandlung des letzteren mit Aether wird, wie es scheint, etwas von diesen Säuren aufgelöst.

²⁾ Hoppe-Seyler, Handbuch der physiol.- u. pathol.-chem. Analyse. 5. Auflage, S. 168.

teren Nachweis aber haben wir geführt. Wir haben gezeigt, dass die von uns untersuchte Substanz beim Glühen unter Soda- und Salpeter-Zusatz einen phosphorsäurehaltigen Rückstand, bei der Verseifung Cholin und Fettsäuren lieferte¹⁾; auch wurde constatirt, dass unter den bei Einwirkung des Barytwassers auf dieselbe entstandenen Producten sich eine phosphorhaltige Baryumverbindung vorfand, welche gleich dem glycerinphosphorsauren Baryum sich in Wasser, nicht in Alkohol löste. Alle diese Thatsachen sprechen dafür, dass Lecithin vorhanden war.

Wie es zugeht, dass bei der Behandlung der feingepulverten Samen mit kaltem Aether das Lecithin nur theilweise in Lösung geht, vermögen wir nicht mit Sicherheit anzugeben. Vielleicht schützen gewisse Samenbestandtheile den genannten Stoff mehr oder weniger vor der Einwirkung des Aethers; oder es findet sich derselbe vielleicht z. Th. in einer lockeren Verbindung mit einem anderen Körper vor, welcher bei Behandlung der Samen mit kochendem Alkohol sich zersetzt.

Die im Vorigen von uns mitgetheilten Versuchsergebnisse machen es fast zweifellos, dass wir für den Phosphorgehalt der aus verschiedenen Lupinensamen-Sorten erhaltenen Aether-

¹⁾ Man könnte fragen, ob nicht vielleicht bei der Behandlung der gepulverten Samen mit Aether ausser einem Theile des Lecithins auch ein Theil der in den Samen vorhandenen Triglyceride ungelöst blieb und ob nicht die letzteren, nach dem Uebergang in den Alkoholextract, die Fettsäuren geliefert haben können, welche wir bei Verseifung des in Aether löslichen Theils des Alkoholextracts erhielten. Diese Frage muss aber wohl verneint werden. Es ist bis jetzt noch niemals nachgewiesen worden, dass bei Behandlung feingepulverter Samen mit Aether die vorhandenen Glyceride nur unvollständig in Lösung gehen; sodann aber ist ein Vorhandensein von Triglyceriden im Alkoholextract schon deshalb nicht anzunehmen, weil Proben desselben (nach dem Eindampfen) sich in warmem Alkohol leicht und ohne Rückstand auflösten.

Beiläufig sei hier noch erwähnt, dass in dem in Aether löslichen Theile des Alkoholextracts Cholesterin nicht nachzuweisen war. Dasselbe war also bei der Behandlung der gepulverten Samen mit Aether vollständig extrahirt worden.

extracte nur deshalb so stark differirende Zahlen fanden, weil das Lecithin nur unvollständig, und zwar bald in geringerem, bald in stärkerem Grade, in die ätherische Lösung eingegangen war; sie führen ferner zu der Schlussfolgerung, dass man zu ganz unrichtigen Resultaten gelangt, wenn man den Lecithin-gehalt der Lupinensamen aus dem Phosphorgehalt der Extracte berechnet, welche bei Behandlung der gepulverten Samen mit Aether erhalten werden. Dass aber das Gleiche auch für andere Pflanzensamen gilt, geht aus Beobachtungen hervor, welche sowohl von uns selbst wie von Anderen gemacht worden sind. So fand z. B. König¹⁾ im Aetherextract aus Wickensamen nur 0,03% Phosphor, während sich darin nach Töpler (l. c.) 0,50% Phosphor vorfindet — eine Differenz, welche doch wohl durch die Annahme erklärt werden muss, dass der Aether auch aus gepulverten Wickensamen bald mehr, bald weniger Lecithin auflöst. Die Phosphormengen, welche wir im Aether-Alkohol-Extract aus einer Bohnen- und einer Wicken-Samensorte vorfanden, waren beträchtlich grösser als diejenigen, welche W. Maxwell in einer in unserem Laboratorium ausgeführten Untersuchung in den aus dem gleichen Material dargestellten Aetherextracten fand.

Da demnach die für den Lecithingehalt der Pflanzensamen bisher angegebenen Zahlen als unrichtig angesehen werden müssen, so haben wir uns bemüht, für einige solche Samen richtigere Werthe zu gewinnen. Die betreffenden Bestimmungen führten wir anfangs in folgender Weise aus: Eine abgewogene Quantität des aufs Feinste gepulverten Samens wurde in eine Papierhülse gebracht und im Soxhlet'schen Extractionsapparat mit Aether vollständig extrahirt. Die entfettete Substanz brachten wir mit sammt der Papierhülse in einen Kolben und extrahirten sie zwei Mal bei Wasserbadhitze mit absolutem Alkohol (wobei jedesmal ca. eine Viertelstunde lang am Rückflusskühler gekocht wurde). Schliesslich wurde die Substanz auf ein Filter gebracht und noch mit warmem absolutem Alkohol ausgewaschen. Die vereinigten

¹⁾ Landwirthsch. Versuchsstationen, Bd. 17, S. 14, Anmerkung 1.

alkoholischen Extracte wurden in einer Platin- oder Porcellanschale im Wasserbade bei sehr gelinder Wärme eingedunstet. Den Verdampfungsrückstand behandelten wir mit Aether. Die ätherische Lösung wurde mit dem bei der ersten Extraction gewonnenen ätherischen Auszug vereinigt und sodann in einer Platinschale zur Trockne verdunstet. In der rückständigen Masse bestimmten wir den Phosphorgehalt nach den Vorschriften, welche Hoppe-Seyler in seinem Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse, 5. Auflage, S. 82, giebt. Durch Multiplication der dabei erhaltenen Magnesiumpyrophosphat-Menge mit dem Faktor 7,2703 berechneten wir sodann den Lecithingehalt der untersuchten Substanz.

Ehe wir eine Vereinfachung erwähnen, welche wir später an diesem Verfahren anbrachten, wollen wir zunächst die Frage stellen, ob die nach demselben erhaltenen Resultate durch das Vorhandensein anorganischer Phosphorverbindungen beeinflusst werden konnten. Diese Frage ist zu verneinen. Dass phosphorsaure Salze weder durch Aether noch durch Alkohol gelöst werden, wird bestimmt angegeben, so z. B. von Hoppe-Seyler¹⁾. Einige von uns ausgeführte Versuche bestätigten dies. Als wir ätherische Extracte aus Lupinen-, Wicken- und Weizen-Samen wiederholt mit Wasser durchschüttelten, die mittelst eines Hebers oder einer Pipette von den ätherischen Lösungen getrennten wässrigen Flüssigkeiten sodann auf ein geringes Volumen verdunsteten und mittelst Molybdänsäure-Solution auf Phosphorsäure prüften, erhielten wir ganz negative Resultate. Aber auch bei der darauf folgenden Extraction mit absolutem Alkohol gingen Phosphate entweder gar nicht, oder doch wenigstens nur in nicht mehr deutlich nachweisbaren Mengen in Lösung. Den Alkohol-extract aus Lupinensamen prüften wir auf Phosphorsäure zunächst in der Weise, dass wir eine Portion desselben eindunsteten, die rückständige Masse mit Wasser extrahirten

¹⁾ Handbuch der physiol.- u. pathol.-chem. Analyse. 5. Auflage. S. 168 u. 169.

und den Extract (welcher schlecht filtrirte) mit Molybdänsäure-Solution versetzten. Es entstand ein flockiger Niederschlag, welcher durch Filtration beseitigt wurde; das gelbgefärbte Filtrat gab nach dem Erwärmen weder sofort noch bei längerem Stehen die geringste Menge der gelben Ausscheidung, deren Entstehen die Gegenwart von Phosphorsäure anzeigt. Später fanden wir es zweckmässiger, für die Prüfung auf Phosphorsäure die in Wasser löslichen Rückstände zu benutzen, welche bei Behandlung der eingedunsteten Alkoholextracte mit Aether übrig blieben. Die wässrigen Lösungen dieser Rückstände, in denen die durch den Alkohol etwa extrahirten Phosphate sich vorfinden mussten, gaben beim Erwärmen mit Molybdänsäure-Solution in einigen Fällen schwache Gelbfärbung; niemals aber war eine Ausscheidung zu beobachten, welche als sicherer Beweis für das Vorhandensein von Phosphorsäure hätte angesehen werden können¹⁾. Bemerkt sei noch, dass für die betreffenden Versuche Alkoholextracte aus Lupinen-, Wicken-, Bohnen-, Weizen-, Roggen- und Lein-Samen zur Verwendung kamen.

Wir haben sodann noch geprüft, ob die Rückstände, welche bei Behandlung der eingedunsteten Alkoholextracte mit Aether übrig blieben, Phosphor in organischer Verbindung enthielten. Zu diesem Zweck verbrannten wir dieselben unter Zusatz von Soda und Salpeter und prüften sodann mittelst Molybdänsäure-Solution auf Phosphorsäure. In allen Fällen wurde letztere vorgefunden; die Quantität derselben war aber äusserst gering — so gering, dass die in dieser Form sich vorfindende Phosphormenge höchstens etwa einige Tausendstel Procent vom Gewicht des angewendeten Samenpulvers betrug. Ueber die Natur der hier vorhandenen Phosphorverbindung lässt sich etwas Sicheres nicht angeben: es

¹⁾ Beyer (l. c.) giebt an, dass der Alkohol-Extract aus Lupinensamen, aus welchem er sein «phosphorreiches Fett» gewann, Phosphorsäure enthielt. Diese Angabe steht nicht im Gegensatz zu dem von uns erhaltenen Versuchsergebniss. Denn Beyer verwendete als Extractionsmittel 80procentigen Alkohol. Dass durch letzteren phosphorsaure Salze gelöst worden sind, kann nicht auffallen.

darf aber vielleicht als möglich bezeichnet werden, dass entweder eine sehr geringe Lecithinmenge der Auflösung durch den Aether entgangen war¹⁾, oder dass ein wenig Glycerinphosphorsäure sich vorfand, entstanden durch Zersetzung von etwas Lecithin während des Eindampfens der alkoholischen Extracte. Welcher Art nun auch die in jenen Rückständen sich vorfindende Phosphorverbindung sein mochte — jedenfalls war die Quantität derselben so gering, dass es gleichgültig war, ob wir dieselbe bei Ausführung der Lecithinbestimmungen berücksichtigten oder nicht; denn die dadurch bedingten Aenderungen der Resultate lagen vollständig innerhalb der Fehlergrenze jener Bestimmungen.

Auf Grund der im Vorigen mitgetheilten Versuchsergebnisse erschien es statthaft, das für die Bestimmung des Lecithins verwendete Verfahren noch zu vereinfachen. Da die Rückstände, welche bei Behandlung der eingedunsteten Alkoholextracte übrig blieben, frei von Phosphaten waren und organische Phosphorverbindungen nur in einer nicht in Betracht kommenden Quantität enthielt, so musste es als unnöthig bezeichnet werden, die Alkoholextracte in einen in Aether löslichen und einen darin unlöslichen Theil zu zerlegen und nur den ersteren in Arbeit zu nehmen; es war statthaft, den ganzen Alkoholextract für die Bestimmung zu verwenden. Wir haben daher einen Theil unserer Bestimmungen nach dem folgenden vereinfachten Verfahren ausgeführt: Das Samenpulver wurde in der früher beschriebenen Weise zuerst mit Aether, dann mit absolutem Alkohol extrahirt. Den ätherischen sowohl wie den alkoholischen Extract dunsteten wir in der gleichen Platinschale ein. In dem dabei erhaltenen Rückstande bestimmten wir sodann den Phosphorgehalt nach dem früher angegebenen Verfahren.

¹⁾ Es ist wohl als nicht unmöglich zu bezeichnen, dass die in Aether unlöslichen Bestandtheile des Alkoholextractes die Einwirkung des Aethers auf das in jenem Extract vorhandene Lecithin erschweren, und dass in Folge davon eine absolut vollständige Extraction des letzteren nicht stattfand. Wurde der in Aether unlösliche Theil des Alkoholextractes in Wasser aufgenommen, so entstand, wie w. o. schon erwähnt worden ist, eine nicht ganz klare Flüssigkeit.

Dass die in dieser Weise erhaltenen Zahlen nur sehr wenig von denen differirten, welche nach dem vorher beschriebenen umständlicheren Verfahren gewonnen wurden, ergibt sich aus der nachfolgenden Zusammenstellung, in welcher die ersteren mit * bezeichnet sind:

Gehalt an Lecithin:		
	%	
Lupinensamen	2,20) angegeben in % der schalenfreien Samentrocken- substanz.
	2,02	
	2,03	
	2,14 *	
Wickensamen	1,21) angegeben in % der schalenhaltigen Samentrocken- substanz.
	1,23 *	
Bohnensamen	0,80	
	0,82 *	
Roggenkörner	0,56	
	0,58 *	

Die für den Lecithingehalt der verschiedenen Samen gefundenen Mittelzahlen stellen wir in der nachfolgenden Tabelle zusammen. Die erste Columne dieser Tabelle enthält die nähere Bezeichnung der zur Verwendung gekommenen Samen; in der zweiten Columne geben wir die für den Phosphorgehalt der ätherisch-alkoholischen Extracte, in der dritten Columne die für den Lecithingehalt gefundenen Zahlen¹⁾. Diese Zahlen beziehen sich sämmtlich auf die Trockensubstanz der Samen. Die Lupinensamen wurden entschält, ehe sie zur Verwendung kamen; die übrigen Samen dagegen wurden mit den Schalen verwendet. Um die für die Lupinen erhaltenen Zahlen mit den übrigen direct vergleichbar zu machen, haben wir dieselben auf schalenhaltige Samen umgerechnet (m. vgl. die analytischen Belege). Die Samenschalen der Lupinen enthielten kein Lecithin (ein ätherisch-alkoholischer Extract aus denselben war frei von Phosphor).

Es liegt auf der Hand, dass die für den Phosphorgehalt der ätherisch-alkoholischen Extracte gefundenen Zahlen ein-

¹⁾ Es sei bemerkt, dass die Zahlen der zweiten Columne (% P im ätherisch-alkoholischen Extract) aus denjenigen der dritten Columne berechnet sind, und zwar durch Multiplication der letzteren mit dem Faktor 0,03841.

für unsere Untersuchung verwendeten Objecten, nämlich bei Wicken und Bohnen, hat W. Maxwell in unserem Laboratorium den Phosphorgehalt des Aetherextracts bestimmt; für den Lecithingehalt derselben berechnen sich daraus folgende Zahlen:

Wicken . . .	0,550 %
Bohnen . . .	0,600

während wir in den gleichen Objecten nach dem von uns beschriebenen Verfahren 1,22%, bzw. 0,81% Lecithin fanden.

Beiläufig sei hier noch erwähnt, dass man nach dem gleichen Verfahren in etiolirten Lupinenkeimlingen einen weit niedrigeren Lecithingehalt findet, als in ungekeimten Lupinensamen — woraus zu schliessen ist, dass ein beträchtlicher Theil des Lecithins sich während des Keimungsvorganges zersetzt. Näheres darüber soll an anderem Orte mitgetheilt werden.

Wie erklärt es sich nun, dass die von Jacobson untersuchten Rohfette aus Wicken-, Bohnen-, Erbsen- und Lupinensamen einen so hohen Phosphorgehalt besaßen? Die Erklärung dafür darf wohl in folgenden Umständen gesucht werden: Die in Aether löslichen Bestandtheile der genannten Samen sind z. Th. schwer löslich, z. Th. leicht löslich in heissem Alkohol. Zu den schwer löslichen Bestandtheilen gehören manche Triglyceride, so z. B. das Triolein¹⁾, zu den leichter löslichen das Lecithin, das Cholesterin, die freien Fettsäuren u. s. w. Behandelt man die gepulverten Samen in der Wärme mit Alkohol, so werden meistens wohl die Glyceride nur unvollständig extrahirt werden²⁾, während die anderen vorher

¹⁾ Man kann sich leicht durch den Versuch davon überzeugen, dass viele aus den Pflanzensamen gewonnene Fette sich in kochendem Alkohol sehr schwer auflösen. Dies gilt z. B. auch für das Fett aus Lupinensamen.

²⁾ Jedenfalls ist oft wiederholte Behandlung der Samen mit heissem Alkohol erforderlich, um die Glyceride vollständig zu extrahiren. Wir constatirten z. B., dass gepulverte Wickensamen, welche zwei Mal mit Weingeist ausgekocht worden waren, an Aether noch Fett abgaben. Ob bei Darstellung der von Jacobson untersuchten Fette die betreffenden Samen wiederholt mit Alkohol ausgekocht worden sind, wissen wir nicht.

genannten Substanzen weit vollständiger in den Extract übergehen. Dunstet man den Extract ein und behandelt den Verdampfungsrückstand mit Aether, so geht ein Rohfett in Lösung, welches von dem aus den Samen durch Aether direct extrahirten Fett in der Zusammensetzung auch abgesehen vom Lecithingehalt beträchtlich abweichen kann. In Bezug auf den Lecithingehalt muss aber die Differenz insbesondere deshalb eine sehr grosse sein, weil bei directer Behandlung der gepulverten Samen mit Aether das Lecithin nur unvollständig in Lösung geht, während es aus dem eingedunsteten Alkohol-Extract durch Aether vollständig oder doch wenigstens bis auf einen ganz geringen Rest ausgezogen wird.

Rohfett aus Leguminosensamen, welches in der von Jacobson beschriebenen Art und Weise dargestellt ist, muss also einen viel höheren Phosphorgehalt besitzen, als das aus den gleichen Samen durch Aether direct extrahirte Fett. Es dürfte demnach kaum nöthig sein, zur Erklärung dieses hohen Phosphorgehalts die w. o. reproducirte Annahme zu Hülfe zu ziehen, welche Jacobson auf S. 38 seiner Abhandlung ausgesprochen hat.

Nachschrift. Zur Ergänzung der auf S. 371—374 über das Verhalten der lecithinhaltigen Extracte aus Lupinensamen gemachten Angaben haben wir nachträglich noch folgende Versuche ausgeführt: Entfettete Lupinensamen wurden bei 70—80° mit Alkohol extrahirt, der möglichst genau neutralisirte Extract bei sehr gelinder Wärme eingedunstet, der dabei erhaltene Rückstand mit Wasser übergossen¹⁾, der wässrige Extract abgegossen, das Unlösliche in Aether unter Zusatz von etwas Wasser aufgenommen. Die ätherische Lösung trennten wir durch Abhebern von der wässrigen und schüttelten sie zur Reinigung nach dem Vorgange Beyer's (m. vgl. S. 371, Anmerk. 1) mit HCl-haltigem Wasser durch²⁾; dann

¹⁾ Wir vermieden es, die mit Wasser übergossene Masse umzurühren; denn wenn man dies thut, so entsteht eine sehr schlecht filtrirende Emulsion.

²⁾ Die beim Durchschütteln sich bildende Emulsion trennt sich sehr langsam.

wurde sie eingedunstet. In dem bei bei 95° getrockneten Verdampfungsrückstand wurden 3,82% P gefunden (0,285 gr. Substanz lieferten 0,0390 gr. $Mg^2P^2O^7$). Eine andere Portion der ätherischen Lösung, welche öfter mit HCl-haltigem Wasser durchgeschüttelt worden war (wobei möglicherweise ein geringer Theil des Lecithins sich zersetzt hatte), lieferte beim Eindunsten einen Rückstand, welcher 3,49% P enthielt (0,400 gr. Substanz gaben 0,0500 gr. $Mg^2P^2O^7$). Im Mittel wurden also 3,66% P gefunden, während Lecithin (= $C^{44}H^{90}NPO^9$) 3,84% P enthält. Die gereinigte ätherische Lösung scheint demnach neben Lecithin nur geringe Mengen anderer Substanzen enthalten zu haben.

Analytische Belege.

Vorbemerkungen. Das für die Extraction bestimmte Samenpulver wurde in wasserhaltigem Zustand abgewogen; der Kürze halber geben wir aber im Folgenden nur das Gewicht der in den abgewogenen Substanzmengen enthaltenen Trockensubstanz an. Der Wassergehalt der untersuchten Substanzen war meistens geringer, als derjenige, welchen die gleichen Samen in lufttrocknem Zustande besitzen, da dieselben meistens vor dem Zerreiben eine Zeit lang im Trockenschrank gewesen waren. Bei denjenigen Objecten, bei denen letzteres nicht der Fall war, wurden für je eine Bestimmung die abgewogenen Substanzmengen vor der Extraction mit Aether über Schwefelsäure getrocknet. Diese Massregel wird bekanntlich jetzt für erforderlich erklärt, um bei Bestimmung des Fettgehalts vegetabilischer Substanzen genaue Zahlen zu erhalten; doch hat man keinen Grund, anzunehmen, dass sie auch bei Bestimmung des Lecithingehalts das Resultat beeinflusst (auch aus den nicht zuvor getrockneten Samen werden durch Aether keine Phosphate extrahirt).

Lupinen I.

Die Samen wurden vor der Verwendung entschält. 100 Th. Samen (wasserfrei) lieferten 26,4 Th. Schalen (wasserfrei).

1. 10,3096 gr. schalenfreie Trockensubstanz gaben	0,0312 gr. $Mg_2P_2O_7$.
2. 9,7102	0,0270
3. 10,8028	0,0302
4. 20,4700	0,0604

Im Mittel aus diesen vier Bestimmungen berechnet sich der Lecithingehalt der schalenfreien Samentrockensubstanz auf 2,10%, für die Samen inclusive Schalen auf 1,55% (in den Samenschalen war kein Lecithin enthalten).

Lupinen II.

9,5320 gr. schalenfreie Trockensubstanz gaben 0,0284 gr. $Mg_2P_2O_7$.

Der Lecithingehalt berechnet sich demnach auf 2,16⁰/₁₀. Für die Samen inclusive Schalen berechnet sich ein Lecithingehalt von 1,59⁰/₁₀, unter der Annahme, dass das Mengenverhältniss zwischen Samenschalen und Kernen bei dieser Sorte das gleiche war wie bei No. I.

Sojabohnen.

12,2271 gr. Trockensubstanz gaben 0,0276 gr. $Mg_2P_2O_7$.

Wicken.

- | | | |
|----|-----------------------------------|---------------------------|
| 1. | 11,1790 gr. Trockensubstanz gaben | 0,0190 gr. $Mg_2P_2O_7$. |
| 2. | 9,6601 | 0,0162 |

Bohnen.

- | | | |
|----|----------------------------------|---------------------------|
| 1. | 8,7866 gr. Trockensubstanz gaben | 0,0100 gr. $Mg_2P_2O_7$. |
| 2. | 8,8028 | 0,0098 |

Weizen.

- | | | |
|----|----------------------------------|---------------------------|
| 1. | 9,8660 gr. Trockensubstanz gaben | 0,0096 gr. $Mg_2P_2O_7$. |
| 2. | 0,6428 | 0,0080 |

Roggen.

- | | | |
|----|----------------------------------|---------------------------|
| 1. | 9,4572 gr. Trockensubstanz gaben | 0,0076 gr. $Mg_2P_2O_7$. |
| 2. | 9,4616 | 0,0074 |

Gerste.

- | | | |
|----|----------------------------------|---------------------------|
| 1. | 9,3525 gr. Trockensubstanz gaben | 0,0096 gr. $Mg_2P_2O_7$. |
| 2. | 9,7730 | 0,0100 |

Lein.

- | | | |
|----|----------------------------------|---------------------------|
| 1. | 9,8237 gr. Trockensubstanz gaben | 0,0120 gr. $Mg_2P_2O_7$. |
| 2. | 9,6661 | 0,0116 |

Die Bestimmung des Trockengehalts der Leinsamen führten wir in folgender Weise aus: Eine abgewogene Quantität der in einer Reibschale möglichst gut zerkleinerten Samen wurde mit Aether extrahirt, der Extract der Destillation unterworfen, das zurückbleibende Fett im Wasserstoffstrom getrocknet und gewogen. Den bei der Extraction mit Aether bleibenden Rückstand brachten wir auf ein getrocknetes und gewogenes Filter, trockneten ihn bei 105 Grad und bestimmten sodann sein Gewicht. Aus der Differenz zwischen dem Gewicht der Samen und der Summe der Gewichte des Fettes und des extrahirten Rückstandes ergab sich der Wassergehalt der Samen.