

Ueber das Lecithin der Pflanzensamen.

Von

E. Schulze und A. Likiernik.

(Aus dem agricultur-chemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)
(Der Redaction zugegangen am 13. März 1891.)

Bekanntlich gründet sich die Ueberzeugung von der Verbreitung des Lecithins in den Pflanzen auf die Wahrnehmung, dass ätherische Extracte aus Pflanzensamen, Knospen u. s. w. nicht nur phosphorhaltig sind, sondern auch bei der Verseifung Cholin und andere Zersetzungsproducte des Lecithins liefern¹⁾. Eine Isolirung des pflanzlichen Lecithins war aber unseres Wissens bis jetzt noch nicht erfolgt. Der Erreichung dieses Zieles stehen manche Schwierigkeiten entgegen. Extrahirt man pflanzliche Objecte mit Aether, so gehen neben Lecithin auch Glyceride, freie Fettsäuren, wachsartige Substanzen, Cholesterin und Farbstoffe in Lösung. Aus einem solchen Gemenge das Lecithin zu isoliren, ist zwar vielleicht nicht unmöglich, aber doch ohne Zweifel eine nicht leicht zu lösende Aufgabe.

Ein Weg zur Darstellung des pflanzlichen Lecithins eröffnete sich durch eine Beobachtung, welche der Eine von uns in Verbindung mit E. Steiger in dieser Zeitschrift²⁾ früher mitgetheilt hat. Sie besteht darin, dass fein gepulverte

¹⁾ Wie insbesondere durch F. Hoppe-Seyler (Tübinger medicin-chemische Untersuchungen, I, S. 141, 215 und 219) nachgewiesen wurde. M. vgl. auch Jacobson, Ueber einige Pflanzenfette, diese Zeitschrift, Bd. 13, S. 32.

²⁾ Bd. 13, S. 365.

Pflanzensamen bei erschöpfender Behandlung mit Aether an den letzteren das Lecithin nur theilweise abgeben, dass aber der ungelöst gebliebene Rest sich durch warmen Weingeist leicht ausziehen lässt. Es sei hervorgehoben, dass diese Beobachtung mit den an manchen thierischen Objecten gemachten Erfahrungen im Einklang steht. So fand z. B. F. Hoppe-Seyler¹⁾, dass die rothen Blutkörperchen, nachdem sie zuvor mit Aether erschöpfend extrahirt wurden, an Weingeist noch viel Lecithin abgaben. Aehnliches gilt auch für den Eidotter. Hoppe-Seyler²⁾ hält es für das Wahrscheinlichste, dass in letzterem das Lecithin in einer Verbindung mit Vitelin sich vorfindet, welche von Aether wenig angegriffen wird, bei Behandlung mit warmem Weingeist aber sich zersetzt. Auch die an den Pflanzensamen beobachtete Erscheinung würde sich durch die Annahme erklären lassen, dass in denselben das Lecithin in einer lockeren, beim Erhitzen mit Weingeist sich zersetzenden Verbindung mit einem Eiweissstoff enthalten ist³⁾.

Wenn man die lecithinhaltige Lösung, welche bei Behandlung der zuvor mittelst Aethers entfetteten Samen mit Weingeist entsteht, eindunstet und den Verdampfungsrückstand mit Aether behandelt, so wird das Lecithin von letzterem leicht aufgenommen. Die so erhaltene Lösung schliesst weder Glyceride, noch freie Fettsäuren, wachsartige Substanzen und Cholesterin ein, da diese Stoffe durch die Behandlung der fein gepulverten Samen mit Aether entfernt wurden; sie ist aber keineswegs eine reine Lecithinlösung, wie sich daraus ergibt, dass der beim Eindunsten derselben bleibende Trockenrückstand im Phosphorgehalt beträchtlich hinter Lecithin zurückbleibt. Die neben letzterem Körper noch vorhandenen

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 14, S. 442.

²⁾ Handbuch der physiologischen Chemie, S. 781.

³⁾ Da aber nach den Versuchen von E. Schulze und E. Steiger (loc. cit.) aus verschiedenen Mustern der gleichen Samensorte das Lecithin durch Aether in sehr ungleichem Maasse in Lösung gebracht wird, so scheint man annehmen zu müssen, dass nur ein Theil desselben sich in einer solchen Verbindung mit einer anderen Substanz vorfindet.

Stoffe lassen sich aber durch Schütteln der ätherischen Lösung mit Wasser entfernen. Dabei war jedoch eine Schwierigkeit zu überwinden. Beim Schütteln jener Lösungen mit Wasser bildeten sich nämlich Emulsionen, welche sich auch bei langem Stehen nur unvollständig und in manchen Fällen gar nicht trennten. Es zeigte sich aber, dass eine Trennung dieser Emulsionen bewirkt werden konnte, indem man denselben Kochsalzkrystalle zufügte und dann kräftig durchschüttelte. Es bildeten sich nun klare ätherische Lecithinlösungen, welche sich ohne Schwierigkeit von den darunter stehenden wässrigen Schichten trennen liessen.

Auf die im Vorigen mitgetheilten Beobachtungen lässt sich ein Verfahren zur Abscheidung des Lecithins aus Pflanzensamen gründen. Wir haben dasselbe auf Wicken- und Lupinensamen angewendet, und zwar in folgender Weise: Das auf's Feinste gepulverte Untersuchungsmaterial¹⁾ wurde mit Aether²⁾ extrahirt, bis der letztere nur noch minimale Substanzmengen in Lösung brachte; dann behandelten wir es bei ungefähr 60° mit 95procentigem Weingeist. Bei dieser Extraction wurde zur Abstumpfung der in geringer Menge vorhandenen organischen Säuren entweder etwas Calciumcarbonat eingerührt, oder es wurde so viel Alkali zugefügt, dass die durch Titration eines weingeistigen Extracts ermittelte Säuremenge³⁾ grösstentheils neutralisirt sein musste⁴⁾. Den

¹⁾ Die Lupinensamen waren vor der Zerkleinerung entschält worden, die Wickensamen dagegen nicht.

²⁾ Statt des Aethers hätte man vielleicht mit Vortheil Benzol anwenden können. Denn E. Stellwag (Landw. Versuchsstationen, Bd. 37, S. 152) fand einen Benzol-Extract aus Lupinensamen fast völlig frei von Phosphor, also von Lecithin.

³⁾ Die Bestimmung wurde in der Weise ausgeführt, dass der weingeistige Extract bei gelinder Wärme eingedunstet, der Rückstand mit Aether und Wasser geschüttelt wurde. Die wässrige Schicht, welche sich in diesem Falle gut von der ätherischen trennen liess, wurde sodann mit Barytwasser titirt.

⁴⁾ Das Endresultat scheint sich aber kaum zu ändern, wenn man den Zusatz einer alkalischen Substanz unterlässt. M. vgl. auch diese Zeitschrift, Bd. 15, S. 154–157.

so gewonnenen weingeistigen Extract dunsteten wir in einer Schale bei 40—50° ein und behandelten den Verdampfungsrückstand mit Aether. Die vom Ungelösten abgossene ätherische Lösung wurde so oft mit Wasser geschüttelt, bis letzteres nichts mehr aufnahm; die beim Durchschütteln sich bildenden Emulsionen trennten wir in der oben angegebenen Weise. Die nach diesem Verfahren gereinigte Lecithinlösung wurde nun bei gelinder Wärme eingedunstet, der Verdampfungsrückstand bei 50° mit absolutem Alkohol behandelt. Der grösste Theil des Rückstandes löste sich auf; es blieb ein in Alkohol sehr schwer löslicher Rest, von welchem später noch die Rede sein soll. Die so gewonnene Lösung lieferte bei der Abkühlung in einer Kältemischung eine Ausscheidung, welche nach dem Abgiessen der Mutterlauge mit kaltem Weingeist gewaschen und sodann im Exsiccator über concentrirter Schwefelsäure getrocknet wurde. Die Mutterlauge gab, nachdem sie durch Verdunsten concentrirter gemacht worden war, beim Abkühlen wieder eine Ausscheidung, welche ebenso wie die erste behandelt und dann mit dieser vereinigt wurde.

Das nach diesem Verfahren gewonnene Product zeigte die Eigenschaften des Lecithins. Es war gelblich gefärbt, löslich in Aether und warmem Weingeist, mit Wasser aufquellend, aber sich darin nicht lösend, zwischen den Fingern knetbar, beim Erhitzen unter Bräunung sich zersetzend. Seine ätherisch-alkoholische Lösung gab auf Zusatz von alkoholischem Platinchlorid einen gelblich-weissen Niederschlag, welcher in reinem Aether löslich war. Auch alkoholisches Cadmiumchlorid gab eine weissliche Fällung; dieselbe löste sich in salzsäurehaltigem Weingeist.

Krystallisirt haben wir unser Product bis jetzt nicht erhalten können¹⁾.

¹⁾ Bekanntlich vermochte Hoppe-Seyler das aus Eidotter dargestellte Lecithin bei Winterkälte in den krysstallisirten Zustand überzuführen, während Diakonow es nur in amorphem Zustand erhielt.

Die Phosphorbestimmung, welche nach dem von Hoppe-Seyler¹⁾ angegebenen Verfahren ausgeführt wurde, gab folgende Resultate:

1. 0,2844 gr. eines aus Wicken dargestellten Präparats gaben 0,0374 gr. $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7 = 0,010454$ gr. P.
2. 0,3264 gr. eines aus Lupinen dargestellten Präparats gaben 0,0432 gr. $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7 = 0,012074$ gr. P.

Für den procentigen Phosphorgehalt der beiden Präparate berechnen sich daraus folgende Zahlen:

	I.	II.
P =	3,67%	3,69%

Zur Vergleichung sei angeführt, dass Diakonow²⁾ im Lecithin aus Eidotter 3,62% Phosphor gefunden hat. Die Theorie verlangt, dass Lecithin, je nachdem es das Radical der Oelsäure, Palmitinsäure oder Stearinsäure einschliesst, folgende Phosphormengen enthält.

	Diöleyl- Lecithin:	Dipalmityl- Lecithin:	Distearyl- Lecithin:
P =	3,86%	4,12%	3,84%

Für das von uns untersuchte Product, welches nach den w. u. folgenden Mittheilungen ohne Zweifel ein Gemenge mehrerer Lecithine war, ist also ebenso wie für das thierische Lecithin der Phosphorgehalt etwas zu niedrig gefunden worden (wobei freilich vorausgesetzt wird, dass es nicht ausser den Radicalen der oben genannten Säuren noch andere Fettsäureradicale enthielt).

Wie oben erwähnt wurde, blieb beim Behandeln des Verdampfungsrückstandes der ätherischen Lecithinlösung mit absolutem Alkohol bei 50° ein in letzterem Lösungsmittel sehr schwer löslicher Rest. Derselbe kann aber nach seinen Eigenschaften kaum etwas Anderes als Lecithin gewesen sein. Als er in Aether gelöst, die filtrirte Lösung eingedunstet und in dem bei 95° getrockneten Verdampfungsrückstande eine Phosphorbestimmung ausgeführt wurde, ergab sich ein Re-

¹⁾ Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse, 5. Auflage, S. 82.

²⁾ M. vgl. Gmelin's Handbuch der Chemie, Bd. 7, S. 2315.

sultat, welches auf Lecithin stimmt, wie folgende Zahlen beweisen:

0,4950 gr. Substanz gaben 0,0690 gr. $Mg_2P_2O_7 = 0,019285$ gr. P.

Demnach ist der procentige Phosphorgehalt:

$$P = 3,91\%$$

Ob dieses Lecithin etwa durch die Natur des in ihm enthaltenen Fettsäureradicals schwer löslich in Alkohol gemacht wurde, oder ob andere Umstände daran die Schuld trugen, wissen wir nicht.

Es ist ferner noch zu erwähnen, dass wir auch noch Phosphorbestimmungen in den Verdampfungsrückständen zweier in oben beschriebener Weise durch Schütteln mit Wasser gereinigten ätherischen Lecithinlösungen ausgeführt haben. Dabei ergaben sich folgende Resultate:

1. 0,2204 gr. der bei 95° bis zu annähernder Constanz des Gewichts getrockneten Substanz gaben 0,0292 gr. $Mg_2P_2O_7 = 0,0081614$ gr. P.
2. 0,4790 gr. der ebenso behandelten Substanz gaben 0,0652 gr. $Mg_2P_2O_7 = 0,018250$ gr. P.

Der procentige Phosphorgehalt des trockenen Rückstandes betrug also:

	I.	II.
P =	$3,70\%$	$3,81\%$

Aus einem Vergleich dieser Zahlen mit den w. o. schon aufgeführten ergibt sich die Schlussfolgerung, dass die für die Versuche verwendeten ätherischen Lösungen neben Lecithin nur ganz unwesentliche Quantitäten anderer Stoffe enthielten.

Um den Beweis für die Identität des aus Wicken- und Lupinensamen von uns dargestellten Products mit Lecithin zu vervollständigen, mussten wir noch die Zersetzungsproducte desselben darstellen. Für diesen Zweck konnten wir ohne Bedenken den Gesammtrückstand einer in oben beschriebener Weise dargestellten und durch Schütteln mit Wasser von den Verunreinigungen befreiten ätherischen Lecithinlösung verwenden, da derselbe nach den im Vorigen mitgetheilten Versuchsergebnissen fast ausschliesslich aus Lecithin bestand. Wir kochten ein grösseres Quantum dieses Rückstandes ungefähr 2 Stunden lang mit Barytwasser und trennten

die dabei erhaltenen Zersetzungsproducte des Lecithins nach den von Hoppe-Seyler¹⁾ gegebenen Vorschriften. Die bei der Zersetzung entstandenen Barytsalze der fetten Säuren wurden abfiltrirt, das Filtrat zum Syrup eingedunstet und sodann in der Wärme mit absolutem Alkohol behandelt. Cholin ging in Lösung, während die Glycerinphosphorsäure als Baryumsalz zurückblieb.

Nachweis des Cholins. Die durch nochmaliges Eindunsten, Wiederaufnehmen in absolutem Alkohol und Filtriren gereinigte Cholinlösung versetzten wir mit einer alkoholischen Platinchloridsolution. Es entstand ein hellgelber Niederschlag, welcher abfiltrirt, mit Weingeist gewaschen und sodann in Wasser gelöst wurde. Die Lösung gab beim Verdunsten hübsche orangerothe Krystalle, zumeist 6seitige Täfelchen, welche im Aussehen mit Cholinplatinchlorid übereinstimmten. Die Platinbestimmung ergab ein Resultat, welches der Formel des Cholinplatinchlorids = $(C_5H_{14}NO)_2PtCl_6$ entspricht, wie folgende Angaben beweisen:

0.3395 gr. der bei 95° getrockneten Substanz gaben 0.1074 gr. Pt.

	Berechnet:	Gefunden:
Pt =	31,61% ²⁾	31,63% ₁₀ .

Das bei Zerlegung des Platindoppelsalzes durch Schwefelwasserstoff erhaltene Chlorhydrat gab in wässriger Lösung folgende 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,
» Gerbsäure	0.

Mit einem Alkali versetzt, entwickelte die Lösung des Chlorhydrats langsam den Geruch nach Trimethylamin.

¹⁾ Handbuch der physiol.- und patholog.-chem. Analyse, 5. Auflage, S. 168.

²⁾ Pt = 194,6 gerechnet.

Schliesslich wurde noch das Golddoppelsalz dargestellt. Dasselbe krystallisirte in hübschen Krystallen, welche in kaltem Wasser sehr schwer, in heissem ziemlich leicht löslich waren. Die Goldbestimmung ergab ein Resultat, welches der Formel des Cholingoldchlorids = $C_5H_{14}NOAuCl_4$ entspricht, wie folgende Zahlen beweisen:

0,3458 gr. der bei 95° getrockneten Substanz gaben 0,1531 gr. Au.

	Berechnet:	Gefunden:
Au =	44,43%	44,27%

Nachweis der Glycerinphosphorsäure. Der in Alkohol unlösliche Theil des oben näher beschriebenen Syrups musste, nachdem durch die Extraction mit Alkohol das Cholin entfernt worden war, aus glycerinphosphorsaurem Baryum bestehen. Derselbe sollte demgemäss in Wasser löslich sein, Baryum enthalten, beim Verbrennen unter Salpeter- und Sodazusatz eine phosphorsäurehaltige Schmelze geben und endlich wegen seines Glyceringehalts beim Erhitzen mit Monokaliumsulfat Acroleindämpfe entwickeln. Alles dies trat in der That ein; es konnte demnach dieser Rückstand für glycerinphosphorsaures Baryum erklärt werden.

Da dieses Salz nicht oder doch wenigstens nur schwierig krystallisirt, so stellten wir aus demselben das glycerinphosphorsaure Zink dar, indem wir die heisse, wässrige Lösung des Baryumsalzes so lange mit Zinksulfat versetzten, als noch ein Niederschlag entstand, und die vom Baryumsulfat abfiltrirte Lösung sodann zur Krystallisation verdunsteten. Wir erhielten das Zinksalz in kleinen, weissen, warzenförmigen Krystallaggregaten. Dieselben wurden durch Aufstreichen auf eine Thonplatte von der Mutterlauge befreit und sodann zur Zinkbestimmung verwendet, wobei sich folgendes Resultat ergab:

0,1710 gr. Substanz (bei 95° getrocknet) gaben 0,0401 gr. ZnS.

Dieses Resultat stimmt auf ein saures Zinksalz der Formel $Zn(C_3H_8PO_3)_2$ (analog dem $Ca(C_3H_8PO_3)_2$), wie folgende Zusammenstellung zeigt:

	Berechnet:	Gefunden:
Zn =	15,97%	15,71%

Im Filtrate von Schwefelzink gab Bleizucker einen flockigen Niederschlag von glycerinphosphorsaurem Blei.

Nachweis der Fettsäuren. Die bei der Spaltung des Lecithins erhaltenen Baryumseifen wurden durch Erhitzen mit verdünnter Salzsäure zersetzt, die als ölige Schicht auf der Oberfläche der Flüssigkeit abgeschiedenen Fettsäuren nach dem Erkalten in Aether gelöst. Nachdem die ätherische Lösung durch Schütteln mit Wasser gereinigt worden war, wurde sie zur Trockne verdunstet. Um die so erhaltenen Säuren zunächst in die Natriumseifen überzuführen, lösten wir sie in Natronlauge, verdunsteten die Lösung nach dem Einleiten von Kohlensäure zur Trockne und behandelten den Verdampfungsrückstand mit Weingeist. Die weingeistige Seifenlösung wurde sodann mit Bleiacetat versetzt, der durch dieses Reagens hervorgebrachte Niederschlag abfiltrirt, getrocknet und behufs der Trennung des ölsauren Bleies von den Bleisalzen der festen Fettsäuren mit Aether extrahirt. Die ätherische Lösung versetzten wir mit Salzsäure, wobei Chlorblei sich ausschied. Die von letzterem abfiltrirte Flüssigkeit, welche die Oelsäure enthalten musste, wurde eingedunstet. Die auf diese Weise erhaltene flüssige Säure haben wir in das Baryumsalz übergeführt. Zu diesem Zwecke wurde sie in Ammoniak gelöst und die Lösung mit Baryumchlorid versetzt. Den dabei entstandenen flockigen Niederschlag haben wir filtrirt, getrocknet und dann mit kochendem absolutem Weingeist behandelt. Er löste sich darin sehr schwer auf; die Lösung gab beim Erkalten eine Ausscheidung, welche getrocknet und sodann zu einer Baryumbestimmung verwendet wurde; dabei ergab sich folgendes Resultat:

0,1661 gr. der getrockneten Substanz gaben beim Behandeln mit concentrirter Schwefelsäure und Abdunsten derselben 0,0558 gr. BaSO_4 .

Dieses Resultat stimmt auf ölsaures Baryum = $\text{Ba}(\text{C}_{18}\text{H}_{33}\text{O}_2)_2$, wie folgende Zusammenstellung zeigt:

	Berechnet:	Gefunden:
Ba =	19,62%	19,73%

Die nach der Extraction des ölsauren Baryums zurückbleibenden Bleisalze wurden mit Salzsäure zerlegt und die

dabei erhaltenen festen Fettsäuren aus Alkohol mehrmals umkrystallisirt. Die so gewonnenen Krystalle schmolzen bei 56° C., können demnach ein Gemenge von Stearinsäure und Palmitinsäure gewesen sein¹⁾.

Einen Versuch zur Trennung und Reindarstellung dieser Säuren haben wir nicht gemacht. Denn bekanntlich ist für diesen Zweck eine grosse Materialmenge erforderlich.

Aus den im Vorigen²⁾ gemachten Mittheilungen ergibt sich, dass man aus Pflanzensamen eine Substanz abscheiden kann, welche in den Eigenschaften mit dem thierischen Lecithin übereinstimmt und die gleichen Zersetzungsproducte liefert, wie dieses — nämlich Cholin, Glycerinphosphorsäure und fette Säuren. Der Beweis für das Vorhandensein von Lecithin im Pflanzenorganismus ist dadurch vervollständigt worden.

Da das von uns untersuchte Lecithinpräparat bei der Zersetzung sowohl feste Fettsäuren als Oelsäure lieferte, so ist anzunehmen, dass dasselbe ein Gemenge mehrerer Lecithine war. Das Gleiche gilt bekanntlich auch für das Lecithin des Eidotters.

Der Gehalt der Pflanzensamen an Lecithin ist kein unbeträchtlicher. Nach den von E. Schulze und E. Steiger³⁾ ausgeführten Bestimmungen berechnet sich aus dem Phosphorgehalt des ätherisch-alkoholischen Extracts für Leguminosensamen ein Lecithingehalt von $0,81—1,64\%$; für Cerealiensamen ein solcher von $0,57—0,74\%$.

Es scheint, dass der Lecithingehalt der Samen mit dem Stickstoffgehalt derselben steigt. Denn es wurde nicht nur in den stickstoffreichen Leguminosensamen in allen Fällen mehr Lecithin gefunden, als in den Cerealien, sondern es zeichneten sich auch von den ersteren insbesondere die stickstoffreichen Lupinen und Sojabohnen durch relativ hohen Lecithingehalt aus.

¹⁾ Nach der Tabelle von Heintz schmilzt ein Gemenge von 50% Stearinsäure und 50% Palmitinsäure bei $56,6^{\circ}$ C.

²⁾ Vgl. auch Ber. d. D. Chem. Gesellschaft, Bd. 24, S. 71.

³⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 13, S. 365.