

Über die zur Darstellung von Lecithin und anderen Phosphatiden aus Pflanzensamen verwendbaren Methoden.

Von
E. Schulze.

(Aus dem agrikultur-chemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)

(Der Redaktion zugegangen am 17. März 1908.)

Von E. Steiger und mir¹⁾ ist nachgewiesen worden, daß aus zerriebenen Pflanzensamen das Lecithin durch Äther sich nur unvollständig extrahieren läßt; ein größerer oder geringerer Teil desselben bleibt in dem in Äther unlöslichen Teile des Samenpulvers zurück, kann daraus aber durch heißen Alkohol in Lösung gebracht und aus dem Verdampfungsrückstande dieser Lösung durch Äther ausgezogen werden. Auf diese Beobachtungen gründet sich das von A. Likiernik und mir²⁾ angegebene Verfahren zur Darstellung von Lecithin. Es besteht im wesentlichen darin, daß man die zuvor mit Hilfe von Äther so vollständig wie möglich vom Fett befreiten Pflanzensamen bei 50—60° C. mit Alkohol behandelt, die durch Filtration vom Ungelösten getrennte Flüssigkeit bei der gleichen Temperatur eindunstet und sodann den Verdampfungsrückstand in Äther und Wasser aufnimmt; die mit Hilfe eines Scheidetrichters von der wässrigen Schicht getrennte ätherische Lecithinlösung wird hierauf zur Reinigung mit Wasser durchgeschüttelt (die dabei in der Regel sich bildenden Emulsionen lassen sich durch Hineinbringen von Kochsalzkrystallen und darauffolgendes Durchschütteln fast immer beseitigen).

Nach unserem heutigen Wissen ist diese Methode ein Verfahren zur Darstellung nicht nur von Lecithin, sondern von Phosphatiden überhaupt. Denn die in der beschriebenen

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XIII, S. 365.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XV, S. 405.

Weise aus Cerealiensamen gewonnenen Präparate besitzen nach dem in unserem Laboratorium von E. Winterstein und O. Hiestand¹⁾ ausgeführten Untersuchungen eine kompliziertere Zusammensetzung als das Lecithin und sind demnach als Phosphatide zu bezeichnen, unter welchem Namen man heutzutage alle in Äther und Alkohol löslichen Phosphorverbindungen, die in den Organismen vorkommen, zusammenzufassen pflegt.

Bei Anwendung des beschriebenen Verfahrens ist es günstig für die Darstellung des Lecithins und anderer Phosphatide, daß man für dieselbe ein zuvor vom Fett befreites Material benutzt, ein Umstand, der besonders wichtig war, solange man keine Lösungsmittel kannte, mit deren Hilfe man die Phosphatide vom Fett trennen kann. Andererseits aber wird die Ausbeute an Phosphatiden dadurch verringert, daß man bei Befolgung jener Vorschrift nur denjenigen Teil der Phosphatide gewinnt, der in dem bei Behandlung der zerriebenen Samen mit Äther verbliebenen Rückstände noch enthalten ist. Da nun bei der Extraktion mit Äther bald ein geringerer, bald ein größerer Teil der Phosphatide in Lösung geht, so war von vornherein zu erwarten, daß man bei Anwendung jenes Verfahrens auf verschiedene Pflanzensamen eine sehr ungleiche Phosphatidausbeute erhalten werde. Dieser Erwartung entsprachen auch die Ergebnisse unserer Versuche. Während Leguminosen- und Cerealiensamen, wenn sie in der beschriebenen Weise behandelt wurden, stets eine relativ beträchtliche Quantität von Phosphatid lieferten, war die Ausbeute daran sehr unbedeutend bei den Samen von *Cucurbita Pepo* (Kürbis), *Juglans regia* (Walnuß), *Corylus avellana* (Haselnuß) und *Amygdalus communis* (Mandel), offenbar deshalb, weil diese Samen bei der Entfettung mittels Äther an letzteren schon den größten Teil der in ihnen sich vorfindenden Phosphatide abgegeben hatten.

Man muß nun fragen, in welcher Weise aus Samen von solchem Verhalten Lecithin und andere Phosphatide sich darstellen lassen. In Beantwortung dieser Frage ist zunächst darauf aufmerksam zu machen, daß auch aus dem Verdampfungsrückstände des ätherischen Extraktes, dem sogenannten Rohfett,

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. LIV, S. 288.

Lecithin dargestellt werden kann. Man behandelt zu diesem Zwecke das Rohfett in der Wärme mit der 2—3fachen Gewichtsmenge Alkohols, verdunstet die so erhaltene Lösung, nachdem man sie vom ungelöst gebliebenen Teile des Rohfetts getrennt hat, und behandelt den Verdampfungsrückstand wieder mit warmem Alkohol. So gewinnt man eine an Lecithin relativ reiche Lösung. Man kann daraus durch Fällung mit alkoholischer Chlorcadmiumlösung Lecithin abscheiden; doch wird nach unseren Beobachtungen durch dieses Reagens das in den Pflanzenfetten enthaltene Lecithin nur partiell gefällt. Besser ist es, jene an Lecithin relativ reiche weingeistige Lösung einzudunsten und den Verdampfungsrückstand mit Aceton zu behandeln. Dabei geht Fett in Lösung, während Lecithin zurückbleibt. Man löst dieses Rohprodukt in Äther und fällt aus dieser Lösung das Lecithin durch Methylacetat.¹⁾

Wir haben dieses Verfahren auf die Ätherextrakte aus den Samen von *Soja hispida* und *Lupinus luteus* angewendet. In beiden Fällen erhielten wir ein Produkt, das im Aussehen und im Verhalten mit Lecithin übereinstimmte; es löste sich leicht in Äther, sehr wenig in Aceton und in Methylacetat. Einen Teil des aus *Soja hispida* erhaltenen Produkts zersetzten wir durch Erhitzen mit Barytwasser. Die von den Baryumsalzen der Fettsäuren abfiltrierte Lösung wurde, nachdem sie durch Einleiten von Kohlensäure vom Baryumhydroxyd befreit worden war, eingedunstet, der Verdampfungsrückstand mit Alkohol extrahiert. Der dabei verbliebene Rückstand zeigte das Verhalten des glycerinphosphorsauren Baryums. Die weingeistige Lösung enthielt eine durch Phosphorwolframsäure fällbare Base, deren salzsaures Salz in alkoholischer Lösung mit Platinchlorid eine gelbe Fällung gab. Daß diese Base Cholin war, darf für wahrscheinlich erklärt werden. Das in Rede stehende Produkt zeigte also, soweit der nur mit einer kleinen Substanzmenge aus-

¹⁾ E. Winterstein und O. Hiestand (l. c.) haben gefunden, daß Lecithin in Methylacetat sehr wenig löslich ist und daß sich daher dieses Acetat zur Trennung des Lecithins oder überhaupt der Phosphatide vom Fett gut verwenden läßt. Es sei hier bemerkt, daß, ebenso wie das Fett, auch Phytosterin in Methylacetat löslich ist.

geführte Versuch dies erkennen ließ, beim Erhitzen mit Barytwasser das Verhalten des Lecithins.

Die Phosphorbestimmungen gaben folgende Resultate:¹⁾

Präparat aus Soja hispida.

0,7967 g Substanz gaben 0,0869 g $Mg_2P_2O_7$ = 3,04% P.

Präparat aus Lupinus luteus.

0,3598 g Substanz gaben 0,0399 g $Mg_2P_2O_7$ = 3,09% P.

Beide Präparate besaßen also einen niedrigeren Phosphorgehalt, als die nach dem zuerst beschriebenen Verfahren aus den Samen von Lupinus luteus und von Vicia sativa dargestellten Präparate; der Grund dafür liegt vielleicht darin, daß sie eine größere Quantität von Kohlenhydrat enthielten. Möglich ist aber auch, daß diese beiden nur in kleiner Quantität von uns dargestellten Präparate sich durch wiederholte Auflösung in Äther und Fällung mit Methylacetat auf einen höheren Phosphorgehalt hätten bringen lassen.

Die im vorigen mitgeteilten Versuchsergebnisse zeigen, daß man auf dem beschriebenen Wege aus den Ätherextrakten (dem Rohfett) Phosphatide darstellen kann. Ätherextrakte aus fettreichen Samen sind aber für diesen Zweck ein wenig günstiges Material; denn die Trennung der Phosphatide von den neben ihnen in weit größerer Quantität sich vorfindenden Triglyceriden läßt sich nicht ohne beträchtlichen Substanzverlust durchführen. Hat man es aber mit fettarmen Samen zu tun, so ist es vorteilhafter, statt der Ätherextrakte die aus den fein zerriebenen Samen mit Alkohol gewonnenen Auszüge zu verwenden, da in diese Auszüge die in den Samen sich vorfindenden Phosphatide weit vollständiger eingehen, als in die Ätherextrakte.

Im folgenden beschreibe ich zunächst einen Versuch, den wir in dieser Weise mit den entschälten Samen von Phaseolus multiflorus anstellten. Dieses Material lieferte nur 1,82% Äther-

¹⁾ Alle in dieser Abhandlung aufgeführten Phosphorbestimmungen wurden in folgender Weise ausgeführt: Die zuerst über Schwefelsäure, dann in der Wärme getrocknete Substanzprobe wurde unter Zusatz von Soda und Salpeter vorsichtig verbrannt, die Schmelze in Wasser gelöst, die Lösung mit Salzsäure neutralisiert, dann mit Ammoniak übersättigt und nun zur Fällung der Phosphorsäure mit Magnesiainxtur versetzt.

extrakt: der Phosphorgehalt eines ätherisch alkoholischen Extraktes, angegeben in Prozenten der Samentrockensubstanz, betrug 0,034%. Nimmt man an, daß dieser Phosphor in Form von Lecithin vorhanden war, und daß letzteres 3,84% Phosphor enthielt, so berechnet sich der Lecithingehalt der entschälten Samen auf 0,90%.¹⁾

Ungefähr ein Kilo dieses Materials wurde sehr fein zerrieben und 2mal bei einer Temperatur von ca. 50° mit Alkohol extrahiert (die Dauer des Erhitzens betrug jedesmal ca. 2 Stunden). Die durch Filtration vom Ungelösten getrennten weingeistigen Auszüge wurden bei ca. 50° eingedunstet, der Verdampfungsrückstand durch abwechselnde Behandlung mit Äther und mit Wasser in Lösung gebracht. Mit Hilfe eines Scheidetrichters konnte die ätherische Lösung ohne Schwierigkeit von der wässrigen Schicht getrennt werden; sie wurde sodann zur Reinigung wiederholt mit Wasser durchgeschüttelt. Die dabei sich bildende Emulsion ließ sich zerlegen, indem wir Kochsalz zusetzten und dann wieder kräftig durchschüttelten. Nachdem die ätherische Lösung nun wieder von der wässrigen getrennt worden war, wurde sie durch Eintragen von wasserfreiem Natriumsulfat entwässert und sodann der Destillation unterworfen. Den Destillationsrückstand behandelten wir zur Entfernung der Triglyceride mit Aceton. Den dabei ungelöst gebliebenen Teil lösten wir in Äther und versetzten diese Lösung, nachdem sie filtriert und auf ein geringeres Volumen eingedunstet worden war, mit Methylacetat. Das Phosphatid schied sich dabei als eine schwach gelbliche, weiche, an den Fingern klebende Masse aus. Die Phosphorbestimmung gab in dem zuerst über Schwefelsäure, dann bei ca. 100° getrockneten Produkte folgende Zahlen:

- a) 0,7456 g Substanz gaben 0,0930 g $Mg_2P_2O_7$ = 3,48 % P.
 b) 0,6232 „ „ „ 0,0760 „ „ = 3,40 % „

Im Mittel wurden also 3,44% P gefunden. Diese Zahl

¹⁾ Analytische Belege: 13,942 g Trockensubstanz (= 15,0 g lufttrockene Substanz) gaben 0,2540 g Ätherextrakt. Der ätherisch-alkoholische Extrakt aus der gleichen Substanzmenge gab 0,0172 g $Mg_2P_2O_7$ = 0,0340% P.

bleibt nur wenig hinter den Werten zurück, die wir bei der Phosphorbestimmung in den aus den Samen von *Lupinus luteus* und *Vicia sativa* dargestellten Phosphatidpräparaten erhielten.¹⁾ Der Grund für die Differenz kann möglicherweise in einem etwas größeren Kohlenhydratgehalt des aus *Phaseolus multiflorus* gewonnenen Präparats liegen. Vielleicht aber ist die Ursache für diese Differenz eine andere. Es zeigte sich nämlich, daß das zuletzt genannte Präparat, obwohl es aus einer klaren ätherischen Lösung durch Fällung mit Methylacetat gewonnen worden war, sich doch nicht ganz ohne Rückstand in einem Gemisch von Äther mit etwas Alkohol löste. Dieser Rückstand bestand aus einer anorganischen Substanz, wahrscheinlich Chlor-natrium, welches, wie es scheint, vom Phosphatid «adsorbiert» worden war. Die Quantität dieser Substanz war aber nur eine höchst geringe: durch ihr Vorhandensein konnte also auch der Phosphorgehalt des Präparats nur um einen geringen Betrag heruntergedrückt werden.

Ein Quantum von ungefähr 7,5 g dieses Präparates wurde durch Kochen mit Barytwasser zersetzt, die von den abgeschiedenen Baryumseifen durch Filtration getrennte Flüssigkeit sodann durch Einleiten von Kohlensäure vom überschüssigen Baryumhydroxyd befreit und nun zur Trockene verdunstet. Den Verdampfungsrückstand behandelte ich mit Weingeist. Dabei blieb ein Produkt zurück, welches das Verhalten des Glycerin-phosphorsäuren Baryums zeigte: es war leicht löslich in Wasser und lieferte beim Verbrennen phosphorsaures Baryum, während es direkt mit Molybdänsäure keine Phosphorsäurereaktion gab; beim Erhitzen mit Kaliumbisulfat entwickelte es penetrant riechende Dämpfe (Geruch nach Acrolein). Die von diesem Produkt abfiltrierte weingeistige Flüssigkeit wurde eingedunstet, der dabei erhaltene Rückstand wieder mit Weingeist aufgenommen, die filtrierte Lösung wieder eingedunstet. Den dabei erhaltenen Rückstand löste ich in Wasser und fügte der Lösung einige Tropfen Salzsäure zu. Dies bewirkte die Ausscheidung einer kleinen Menge von Fettsäuren, die durch Filtration ent-

¹⁾ Man vergleiche die in dieser Zeitschrift, Bd. LII, S. 54, von mir gemachten Angaben.

fernt wurden. Das Filtrat wurde wieder eingedunstet, der Verdampfungsrückstand mit Alkohol aufgenommen, die Lösung mit einer alkoholischen Platinchloridlösung versetzt. Dabei entstand ein starker gelber Niederschlag, der abfiltriert, mit Alkohol ausgewaschen und sodann in Wasser gelöst wurde. Die Lösung lieferte beim Verdunsten orangerote Tafeln, die im Aussehen mit den unter gleichen Bedingungen entstehenden Cholinplatinchloridkrystallen vollkommen übereinstimmten. Eine Platinbestimmung gab eine Zahl, die dem von der Theorie für das genannte Chloroplatinat geforderten Werte (31,6%) entsprach, wie folgende Angaben beweisen:

0,3230 g der zuerst über Schwefelsäure, dann bei 100° getrockneten Substanz gaben 0,1023 g Pt = 31,68% Pt.

Die von jenen Chloroplatinatkrystallen abgeessene Mutterlauge lieferte beim Verdunsten gleichfalls orangerote Tafeln. Diese Mutterlauge wurde nun mit Hilfe von Schwefelwasserstoff vom Platin befreit, dann zur Darstellung eines Chloraurates verwendet. Letzteres war schwer löslich in Wasser und zeigte das Aussehen des Cholingoldchlorids. Eine Goldbestimmung gab folgendes Resultat:

0,3017 g Substanz (zuerst über Schwefelsäure, dann bei 100° getrocknet) gaben 0,1335 g Au = 44,25% Au.

Nach der Theorie enthält das Cholingoldchlorid 44,5% Au.

Bei der Zerlegung mittels Schwefelwasserstoff lieferte dieses Chloraurat ein in langen zerfließlichen Prismen krystallisierendes salzsaures Salz, welches im Aussehen mit Cholinchlorid übereinstimmte und auch die diesem Salze zukommenden Reaktionen gab (Fällungen mit Phosphorwolframsäure, Phosphormolybdänsäure, Kaliumquecksilberjodid, Kaliumwismuthjodid, sowie mit dem nach Staneks Vorschrift bereiteten Kaliumtrijodid). Diese Versuchsergebnisse beweisen, daß bei der Spaltung des Phosphatids Cholin entstanden war; sie führen ferner zu der Schlußfolgerung, daß in dem durch Fällung mit Platinchlorid aus der weingeistigen Lösung erhaltenen Chloroplatinat keine andere Base als Cholin enthalten war.

Die bei der Spaltung des Phosphatids durch Barytwasser erhaltenen Baryumseifen wurden durch Erhitzen mit verdünnter

Salzsäure zerlegt, die dabei gewonnenen Fettsäuren zur Reinigung in Äther gelöst; beim Verdunsten der ätherischen Lösung blieben sie als eine weiße Masse zurück. Sie wurden in die Natriumsalze übergeführt: die weingeistige Lösung dieser Salze zeigte beim Schütteln mit Wasser starke Schaumbildung. Aus den Natriumsalzen stellte ich sodann durch Fällung mit Bleiacetat die Bleisalze dar. Letztere wurden getrocknet und sodann mit Äther behandelt. Der vom Ungelösten durch Filtration getrennte ätherische Extrakt wurde zur Entfernung des Bleis mit Salzsäure versetzt. Beim Verdunsten der vom Chlorblei abfiltrierten Flüssigkeit verblieb eine bei gewöhnlicher Temperatur flüssige Säure (wahrscheinlich Ölsäure). Den in Äther unlöslichen Teil der Bleisalze zerlegte ich durch Erhitzen mit verdünnter Salpetersäure. Die auf der Oberfläche der Flüssigkeit abgeschiedenen Fettsäuren, welche nach dem Erkalten eine feste weiße Masse bildeten, wurden 2mal aus Weingeist umkrystallisiert. Eine Probe der so erhaltenen Krystalle schmolz im Kapillarröhrchen bei 58° .

Aus den im vorigen gemachten Angaben ist zu schließen, daß bei der Zersetzung des aus *Phaseolus multiflorus* dargestellten Phosphatidpräparates die gleichen Produkte entstanden waren, wie sie das Lecithin bei gleicher Behandlung liefert.

Für einen zweiten Versuch zur Prüfung des oben beschriebenen Verfahrens verwendeten wir entschälte Samen der blauen Lupine (*Lupinus angustifolius* L.). Solche Samen enthalten nach einer in unserem Laboratorium früher ausgeführten Analyse 7,83% Rohfett (Ätherextrakt) und 2,16% Lecithin (berechnet in der üblichen Weise aus dem Phosphorgehalt des ätherisch-alkoholischen Extraktes). Ungefähr 500 g dieses Materials wurden sehr fein zerrieben und sodann, ohne vorherige Extraktion mit Äther, 2mal bei einer Temperatur von ca. 50° C. mit Alkohol behandelt, die filtrierten Extrakte bei der gleichen Temperatur eingedunstet, die Verdampfungsrückstände durch Behandlung mit Äther und mit Wasser in Lösung gebracht. Die Lösungen behandelte ich ganz ebenso, wie es oben für den Versuch mit den Samen von *Phaseolus multiflorus* angegeben worden ist. Das bei Destillation der ätherischen Lösung verbliebene Roh-

produkt wurde zunächst zur Entfernung von beigemengtem Fett mit Aceton behandelt, dann zur Reinigung noch 2 mal aus ätherischer Lösung mit Methylacetat gefällt. Abgewogene Proben dieses Produktes wurden zuerst im Exsikkator, dann im Trockenschrank bei ca. 100° getrocknet und hierauf zur Phosphorbestimmung verwendet. Dabei ergaben sich folgende Zahlen:

a) 0,5813 g Substanz gaben 0,0672 g $Mg_2P_2O_7$ = 3,22 % P.

b) 0,4948 » » » 0,0587 » » = 3,30 % »

Im Mittel wurden also 3,26% P gefunden. Da dieser Phosphorgehalt ein relativ niedriger ist, so war zu erwarten, daß unser Präparat eine nicht unbeträchtliche Quantität von Kohlenhydrat einschloß. Um darüber Aufschluß zu erhalten, lösten wir 1,7418 g dieses Präparates in Äther, fügten der Lösung 6%ige Schwefelsäure in genügender Quantität zu und erhitzen die dabei entstandene Emulsion zuerst zum Verjagen des Äthers im Wasserbade; später kochten wir die Flüssigkeit noch 2 Stunden lang am Rückflußkühler. Nach dem Erkalten wurde die vom Ungelösten durch Filtration getrennte Flüssigkeit neutralisiert und auf 250 ccm gebracht. 75 ccm dieser Flüssigkeit gaben beim Erhitzen mit Fehlingscher Lösung:

a) 0,0878 g Cu

b) 0,0879 » »

Mittel 0,08785 g Cu

Nimmt man an, daß die in der Flüssigkeit enthaltene reduzierende Substanz d-Glukose (Dextrose) war, so ergibt sich, daß in 75 ccm jener Flüssigkeit 0,0448 g dieser Zuckerart enthalten waren: in 250 ccm würden demnach 0,1480 g d-Glukose enthalten gewesen sein. 100 Teile des Phosphatidpräparates würden also 8,49 Teile d-Glukose geliefert haben.

In dem relativ beträchtlichen Kohlenhydratgehalt dieses Präparates liegt ohne Zweifel der Grund dafür, daß dasselbe im Phosphorgehalt hinter den aus den Samen von *Lupinus luteus* und *Vicia sativa* dargestellten Phosphatidpräparaten zurückblieb. Übrigens war jenes Präparat, obwohl es mehrmals in Äther gelöst worden war, doch nicht völlig frei von Chlorid (wahrscheinlich schloß es ein wenig Chlornatrium ein). Doch gab der beim Verbrennen von 0,25 g des Präparates unter Zusatz

von Soda und Salpeter erhaltene Rückstand in salpetersaurer Lösung mit Silbernitrat nur eine so schwache Fällung, daß der Gehalt an Chlornatrium nur ein ganz unbedeutender gewesen sein kann.

Zur Darstellung von Phosphatiden nach dem im Vorigen beschriebenen Verfahren verwendeten wir endlich noch die Samen der Edelkastanie (*Castanea vesca*) und der Roßkastanie (*Aesculus hippocastanum*). Diese Samen sind bekanntlich reich an Stärkemehl, enthalten aber nicht viel Fett. Sie wurden entschält, dann grob zerkleinert, bei 60—70° getrocknet, und nun sehr fein zerrieben, hierauf bei ca. 50° mit Alkohol extrahiert. Die Verarbeitung der Extrakte sowie die Reinigung der dabei erhaltenen Phosphatide geschah so, wie es oben angegeben worden ist. Die Phosphorbestimmungen in den in dieser Weise dargestellten Präparaten gaben folgende Resultate:

a) Präparat aus *Castanea vesca*.

0,6598 g Substanz gaben 0,0623 g $Mg_2P_2O_7$ = 2,63% P.

b) Präparat aus *Aesculus hippocastanum*.

0,5755 g Substanz gaben 0,0466 g $Mg_2P_2O_7$ = 2,46% P.

Diese Zahlen liegen zwischen den Werten, die für den Phosphorgehalt der aus Leguminosensamen und aus Getreidekörnern dargestellten Phosphatidpräparate von uns gefunden wurden. Im Hinblick auf den relativ niedrigen Phosphorgehalt darf man vermuten, daß die bezüglichen Präparate Kohlenhydrate enthielten: Versuche sind darüber jedoch von uns nicht ausgeführt worden.

Wir haben auch noch die Phosphormengen bestimmt, die in den ätherisch-alkoholischen Extrakten aus den *Castanea*- und *Aesculus*ssamen enthalten waren. Dabei erhielten wir folgende, auf die Trockensubstanz der entschälten Samen sich beziehende Zahlen:

	P im ätherisch-alkoholischen Extrakt.
<i>Castanea vesca</i>	0,026 %
<i>Aesculus hippocastanum</i>	0,026 %

Der Gehalt der genannten Samen an Phosphatid berechnet sich aus diesen Zahlen auf ungefähr 1,0%. Berechnet man aber in der bisher üblichen Weise aus dem Phosphorgehalt der

ätherisch-alkoholischen Extrakte den Lecithingehalt der beiden Samenarten, so findet man, daß letztere 0,68% Lecithin enthalten.

Die im vorigen von mir mitgeteilten Versuchsergebnisse beweisen, daß man zur Gewinnung von Lecithin und anderen Phosphatiden Pflanzensamen, die keinen hohen Fettgehalt besitzen, direkt, d. h. ohne vorherige Entfettung, mit Alkohol extrahieren und zur Trennung der aus den Extrakten zunächst erhaltenen Gemenge von Fett und Phosphatid den Umstand benutzen kann, daß im Gegensatz zu den Fetten (Triglyceriden) und zum Phytosterin die Phosphatide in Aceton und in Methylacetat sehr schwer löslich sind.

Da die zur Isolierung der Phosphatide anzuwendenden Operationen die gleichen sind, mag man nun entfettete oder nichtentfettete Samen als Material verwenden, so will ich im folgenden noch einmal kurz angeben, wie man nach unseren Erfahrungen diese Operationen am zweckmäßigsten ausführt.

Man extrahiert das fein zerriebene Material bei einer Temperatur von ca. 50° C. mit absolutem oder mit 95%igem Alkohol; der durch Filtration vom Rückstande getrennte Extrakt wird bei der gleichen Temperatur eingedunstet. Den Verdampfungsrückstand, welcher neben Lecithin stets auch Kohlenhydrate enthält,²⁾ bringt man durch abwechselnde Behandlung mit Äther und mit Wasser in Lösung. Die Lösungen werden, ohne sie stark umzuschütteln, in einen Scheidetrichter gebracht. Hier erfolgt bald eine Scheidung der ätherischen von

1) Analytische Belege:

a) Samen von *Castanea vesca* (entschält).

Ein Extrakt aus 13,698 g Trockensubstanz gab 0,0130 g $Mg_2P_2O_7$
= 0,0262% P.

b) Samen von *Aesculus hippocastanum* (entschält).

1. Ein Extrakt aus 13,286 g Trockensubstanz gab 0,0126 g $Mg_2P_2O_7$
= 0,0264% P.

2. Ein Extrakt aus 8,857 g Trockensubstanz gab 0,0080 g $Mg_2P_2O_7$
= 0,0252% P.

²⁾ Wie von mir gezeigt worden ist (Diese Zeitschrift, Bd. LII, S. 404) kann man aus diesem Rückstande, nachdem derselbe von den Phosphatiden befreit worden ist, in der Regel Rohrzucker darstellen.

der wässerigen Schicht. Nach Entfernung der letzteren schüttelt man die ätherische Lösung im Scheidetrichter wiederholt mit Wasser. Dabei bildet sich meistens eine Emulsion, die man aber beseitigen kann, indem man Kochsalz in den Scheidetrichter bringt und hierauf kräftig durchschüttelt. Statt des Kochsalzes kann man auch Natriumsulfat, wahrscheinlich auch noch manche andere Salze verwenden. Nachdem die wässrige kochsalzhaltige Lösung aus dem Scheidetrichter abgelassen worden ist, gießt man die ätherische Lösung in einen Kolben und trägt sodann wasserfreies Natriumsulfat ein, um jene Lösung vom aufgenommenen Wasser zu befreien: dann unterwirft man sie der Destillation, nachdem zuvor das Natriumsulfat durch Filtration entfernt worden ist. Den Destillationsrückstand behandelt man mit Aceton, um beigemengtes Fett zu entfernen. Das dabei ungelöst gebliebene Phosphatid wird in Äther gelöst. Die Lösung wird, falls dies nötig ist, filtriert, dann stark eingeengt und hierauf zur Fällung des Phosphatids mit Methylacetat versetzt. Diese Reinigungsoperation wird, falls dies nötig erscheint, noch einmal oder zweimal wiederholt.

Die Aufgabe, pflanzliche Phosphatide in ganz reinem Zustande darzustellen, würde leichter zu lösen sein, wenn diese Stoffe nicht die Eigenschaft hätten, andere Substanzen zu adsorbieren,¹⁾ worauf früher schon aufmerksam gemacht wurde. Dieser Umstand würde von geringerer Bedeutung sein, wenn man die Phosphatide durch Krystallisation reinigen könnte; dies ist uns aber bis jetzt nicht gelungen.

Zum Beschluß meiner Mitteilung will ich noch einige Worte über die bei Bestimmung des Phosphorgehalts der Phosphatide erhaltenen Zahlen sagen. Von allen unseren Phosphatidpräparaten zeigten diejenigen, die wir aus den Samen von *Lupinus luteus* und *Vicia sativa* dargestellt haben, den höchsten Phosphorgehalt, nämlich 3,6—3,7% P. Ungefähr eben so hoch war auch der Phosphorgehalt eines aus den Samen von *Pinus Cembra* dargestellten Präparates (mit 3,6% P). Diese Zahlen

¹⁾ Ich verweise auf die bezüglichen Beobachtungen, die von E. Winterstein und O. Hiestand in der früher zitierten Abhandlung mitgeteilt worden sind.

bleiben nur wenig hinter den Werten zurück, die sich für das Distearyllecithin und das Dioleylecithin berechnen (3,84 und 3,86% P). Die geringe Differenz läßt sich wenigstens für die zuerst genannten beiden Präparate daraus erklären, daß dieselben kleine Quantitäten von Kohlenhydrat einschlossen (in dem aus *Pinus Cembra* dargestellten Präparate konnte ein Kohlenhydratgehalt nicht nachgewiesen werden). Alle später von uns untersuchten Phosphatidpräparate besaßen einen niedrigeren Phosphorgehalt; doch war die Differenz in manchen Fällen, so z. B. bei den aus *Phaseolus multiflorus* und *Lupinus angustifolius* dargestellten Präparaten, nur gering. Diese Differenz läßt sich auf einen höheren Kohlenhydratgehalt dieser Phosphatide zurückführen (für das Präparat aus den Samen von *Lupinus angustifolius* wurde dies bestimmt nachgewiesen). Diese Befunde lassen sich mit der Annahme vereinen, daß die aus Leguminosensamen dargestellten Phosphatidpräparate aus Lecithin bestanden, das mit geringeren oder größeren Kohlenhydratmengen chemisch verbunden war oder auch vielleicht dieses Kohlenhydrat adsorbiert hatte. In Übereinstimmung mit dieser Annahme steht die Tatsache, daß jene Phosphatide bei der Spaltung durch Barytwasser sich wie Lecithin verhielten und daß unter den dabei erhaltenen Produkten bis jetzt keine andere Base als Cholin nachgewiesen werden konnte; auch wurde in einigen Fällen konstatiert, daß der Phosphorgehalt zum Stickstoffgehalt in dem gleichen Verhältnis stand wie im Lecithin.¹⁾

Anders ist die Sachlage bei den aus Getreidesamen dargestellten Phosphatiden. S. Frankfurt und ich fanden in Präparaten, die aus Roggen- und Gerstekörnern dargestellt worden waren, nur 2% Phosphor; noch niedrigere Zahlen erhielten in einigen Fällen E. Winterstein und O. Hiestand¹⁾. Durch die von den letzteren ausgeführten Untersuchungen ist bewiesen worden, daß die Phosphatide aus Getreidesamen eine weit kompliziertere Konstitution besitzen, als diejenigen aus Leguminosensamen.

¹⁾ Ich verweise auf die oben zitierte Abhandlung von E. Winterstein und O. Hiestand.

Bemerkenswert ist aber, daß ein aus dem Embryo des Weizenkorns dargestelltes Phosphatidpräparat weit phosphoreicher war, sein Phosphorgehalt betrug 3,5% (Mittelwert aus zwei nur sehr wenig voneinander differierenden Bestimmungen¹⁾). Bei zweistündigem Erhitzen mit 6%iger Schwefelsäure lieferte dieses Phosphatid, wie nach dem für seinen Phosphorgehalt gefundenen Resultat zu erwarten war, nur eine sehr kleine Menge, nämlich nur 2,3% von reduzierendem Zucker (berechnet als d-Glukose). In seiner Zusammensetzung stimmte dieses Produkt also mit den aus den Samen von *Lupinus luteus* und *Vicia sativa* dargestellten Phosphatidpräparaten überein: auch gab es beim Erhitzen mit Barytwasser, soweit dies festgestellt worden ist, die gleichen Spaltungsprodukte wie diese.

Die in dieser Abhandlung beschriebenen Methoden, mit deren Hilfe man sowohl aus fettarmen, wie aus fettreichen Pflanzensamen Lecithin und andere Phosphatide darstellen kann, lassen sich selbstverständlich auch zur Darstellung solcher Substanzen aus anderen Pflanzenteilen verwenden; doch kann hier in manchen Fällen das Vorhandensein anderer Bestandteile, z. B. des Chlorophylls, gewisse Schwierigkeiten bedingen.

Die analytischen Bestimmungen, deren Resultate in dieser Abhandlung mitgeteilt worden sind, wurden unter gefälliger Mitwirkung von Ch. Godet ausgeführt.

1) Analytische Belege:

a) 0,7539 g Substanz gaben 0,0958 g $Mg_2P_2O_7$ = 3,54% P.

b) 0,6213 » » » 0,0779 » » = 3,49% »

2) Analytische Belege:

4,1451 g Substanz wurden mit 6%iger H_2SO_4 gekocht, die Lösung auf 200 ccm gebracht. 100 ccm dieser Lösung gaben 0,0928 g Cu = 0,0473 g oder 2,3% d-Glukose.