

Über die nach den Methoden der Lecithindarstellung aus Pflanzensamen erhältlichen Verbindungen.

III. Mitteilung.

Hafersamen.

Von

Georg Trier.

(Aus dem agrikultur-chemischen Laboratorium der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich.)

(Der Redaktion zugegangen am 10. Juni 1913.)

Aus 20 kg Hafermehl erhielten E. Schulze und U. Pfenninger¹⁾ ca. 200 g Phosphatid, das durch Extraktion des nicht entfetteten Mehles mit 95%igem Alkohol und Reinigung nach dem Verfahren von E. Schulze²⁾ gewonnen worden war. Das Phosphatid selbst ist nicht analysiert worden, doch läßt sich auf Grund der angegebenen Ausbeute und einiger Bestimmungen, die ich im Filtrat von der Phosphorwolframsäurefällung des Hydrolysats ausführte, ein Bild von seiner Zusammensetzung machen. Bei der Spaltung mit verdünnter Schwefelsäure wurde in der Phosphorwolframsäurefällung neben Cholin eine kleine Menge Betain (Glykokollbetain) erhalten.¹⁾

Zur Prüfung auf etwa vorhandene Kohlenhydrate übergab mir Herr Prof. E. Schulze das Filtrat von dieser Phosphorwolframfällung. Das Filtrat wurde auf 2 l gebracht.

50 ccm enthielten noch 0,00605 g N
100 „ „ „ 0,01152 „ „

Das Filtrat enthielt also noch 0,246 N, das ist etwa 0,12% des ursprünglichen Phosphatids. Ein Teil dieser Lösung

¹⁾ E. Schulze und U. Pfenninger, Diese Zeitschrift, Bd. 71, S. 174 (1911).

²⁾ E. Schulze. Diese Zeitschrift, Bd. 55, S. 338 (1908).

wurde aufgehoben und später auf Aminostickstoff und reduzierende Substanz (nach Bertrand) untersucht.

1. 9,5 ccm gaben bei 20° und 725 mm 1,9 ccm N

2. 9,7 „ „ „ 20° „ 725 „ 2,3 „ „

Dies entspricht im Mittel 0,00119 g Aminostickstoff in 10 ccm = 1 g Phosphatid; also 0,12% Aminostickstoff.

Es dürften also hier im Filtrat nur Aminoverbindungen vorhanden gewesen sein.

20 ccm des Filtrats wurden auf 200 ccm verdünnt. Von dieser Lösung verbrauchten:

1. 20 ccm = 4,1 ccm KMnO_4

2. 20 „ = 4,2 „ „

1 ccm KMnO_4 entsprach 9,83 mg Cu, 20 ccm = 0,2 g Phosphatid enthielten demnach 21,57 mg Zucker als Galaktose berechnet, entsprechend 10,78% Galaktose.

Die Hauptmenge des Filtrats wurde mit reinem Baryt neutralisiert. Von den Baryumsalzen der Schwefelsäure, Phosphorsäure und Phosphorwolframsäure wurde abfiltriert und das Filtrat in mehrere Teile geteilt. In einem Anteil wurde nach der Vorschrift von Tollens und Mitarbeitern¹⁾ die zum Sirup eingedunstete Lösung mit Salpetersäure (1,15) oxydiert und Schleimsäure nachgewiesen. Das umkrystallisierte Produkt schmolz bei 216—218°. Die Schleimsäure zeigt das Vorhandensein von Galaktose an. Ein anderer Teil des Sirups wurde mit Methylalkohol gekocht, der in Lösung gegangene Anteil mit Äther gefällt, die Fällung wieder mit Methylalkohol aufgenommen und mit Äther gefällt und nun nach der Angabe von Neuberg und Marx²⁾ in das schwer lösliche α -Methylphenylhydrazon übergeführt. Zum Vergleich wurde reinste Galaktose von Kahlbaum ebenfalls in das α -Methylphenylhydrazon übergeführt. Beide Präparate verhielten sich vollkommen gleich. Sie zeigten im Gemisch keine Schmelzpunktdepression. Der Schmelzpunkt lag bei 190—191°, wie ihn Neuberg und Marx, sowie Fränkel³⁾ angeben. Bei sehr

¹⁾ Kent und Tollens, *Annal. d. Chem.*, Bd. 227, S. 221 (1885).
— Creydt und Tollens, *Annal. d. Chem.*, Bd. 232, S. 205 (1885).

²⁾ Neuberg und Max, *Biochem. Zeitschr.*, Bd. 3, S. 531 (1907).

³⁾ S. Fränkel, *Biochem. Zeitschr.*, Bd. 26, S. 41 (1910).

Es wurden nun aus zwei verschiedenen Hafersorten nach verschiedenen Verfahren «Phosphatide» hergestellt und untersucht. Der Hafer kam als feiner Gries zur Extraktion. In dieser Form läßt er sich am besten verarbeiten. Die beiden Sorten sollen als Hafergries A und Hafergries B auseinandergehalten werden.

a) **Hafergries A.**¹⁾

Durch Extraktion mit einem Gemisch von Methylalkohol und Benzol werden die Lipoide sehr vollkommen herausgelöst. Der Extrakt enthält viel schleimige Stoffe; er ist sehr dunkel und läßt sich schwer verarbeiten. Es wurde nur eine Probe dieses Extraktes verarbeitet, da es sich zeigte, daß dieses Extraktionsverfahren für meine Zwecke wenig geeignet war. Diese Probe wurde mit Äther aufgenommen und in ätherischer Lösung durch wiederholtes Ausschütteln mit Wasser von wasserlöslichen Stoffen gereinigt. Aus der getrockneten und stark eingeeengten Lösung fiel erst nach Zusatz einer sehr großen Acetonmenge ein fast schwarz gefärbtes Öl, welches nach Entfernung der Fette, Cholesterine etc. noch oftmals mit Aceton behandelt wurde, worauf es die Konsistenz des «Lecithins» annahm. Durch Auflösen in Äther und Wiederausfällen mit Aceton wurde die Farbe des Produkts kaum heller. Bei der Analyse des zweimal mit Aceton gefällten Produkts wurden folgende Werte erhalten:

0,8068 g gaben 0,0843 g MgP_2O_7 = 2,92% P

0,9224 „ „ 0,0887 „ „ = 2,68% „

Mittel = 2,80% P.

0,5955 g gaben 0,00658 g N = 1,10% N

0,7926 „ „ 0,00886 „ „ = 1,12% „

Mittel = 1,11% N.

¹⁾ Angaben über Lecithin und ätherlösliche Phosphorverbindungen im Hafer: Töpler, Jahresbericht f. Agrikulturchemie, 1861—1862, S. 57. — E. Schulze und E. Steiger, Diese Zeitschrift, Bd. 13, S. 365 (1889). — Stellwag, Landw. Versuchsstat., Bd. 37, S. 135 (1890). — Stoklasa, Sitzungsber. d. Wiener Akad., Bd. 104 (1895). — E. Haselhoff, Landwirtsch. Versuchsstat., Bd. 66, S. 161 (1904). — A. Stutzer, Biochem. Zeitschr., Bd. 7, S. 471 (1907). — Vageler, Biochem. Zeitschr., Bd. 17, S. 189 (1909). — S. Lewoniewska, Anzeig. Akad. Krakau, 1911 B. S. 85. — E. Winterstein und O. Hiestand, Diese Zeitschrift, Bd. 54, S. 288 (1908).

2,460 g mit 1%iger Schwefelsäure 8 Stunden hydrolysiert, gaben einen Rückstand, der 0,00318 g N enthielt = 0,13% N. 3,6113 g mit 100 ccm 1%iger Schwefelsäure 8 Stunden unter Rückfluß gekocht, gaben 2,362 g Fettsäuren = 65,3%. Das Filtrat der Fettsäuren auf 80 ccm gebracht, gab:

10 ccm enthielten 0,0048 Gesamtstickstoff = 1,06% N. 20 ccm wurden bei Gegenwart 5%iger Schwefelsäure mit Phosphorwolframsäure gefällt; die Fällung enthielt 0,0072 g N = 0,80% N.

10 ccm gaben 1,7 ccm N (nach van Slyke) bei 18° und 726 mm
= 0,20% Aminostickstoff.

9,75 ccm gaben 1,6 ccm N bei 18° und 726 mm = 0,20% Aminostickstoff.

10 ccm verbrauchten 6,6 ccm KMnO_4 (Zuckerbestimmung nach Bertrand).

10 „ „ 6,9 „ „

1 ccm KMnO_4 = 9,83 mg Cu; 6,75 ccm KMnO_4 = 66,35 mg Cu
= 33,75 g Galaktose.

Als Galaktose berechnet ergibt sich im Mittel 7,9% «Zucker». Das Präparat enthielt weniger Stickstoff, als dem Phosphorgehalt entspricht. P : N = 1 : 0,88. Vom Stickstoff entfällt nur etwa $\frac{3}{4}$ auf das Cholin.

Eine größere Partie Hafergries (15 kg) wurden nun zuerst mit Äther entfettet und dann mittels des Methylalkohol-Benzolgemisches extrahiert. Der Ätherextrakt ist hellgelb gefärbt. Er wurde mehrere Wochen ruhig stehen gelassen; dabei schieden sich schwerere Anteile ab. Die leichtere Fettlösung wurde öfters abgeschüttet, die zuletzt zurückgebliebene Masse auf Lecithin verarbeitet. Es wurden auf diese Weise (Acetonfällung usw.) nur ganz geringe Phosphatidmengen erhalten, die nicht untersucht wurden.

Der Methylalkohol-Benzolextrakt enthielt sehr viel Schleimstoffe, die die Reinigung sehr erschwerten. Der Extrakt wurde in mehreren Scheidetrichtern mit einem großen Überschuß an Petroläther wiederholt behandelt, bis sich dieser kaum mehr anfärbte. Die vereinigten petrolätherischen Auszüge wurden dann in mehreren Portionen in einem großen Perkolator mit Wasser kontinuierlich ausgewaschen. Das Wasser floß, durch eine Brause verteilt, als feiner Regen durch die in einem großen Überschuß des Petroläthers gelösten Lipide. Emulsionen traten

dabei entweder gar nicht auf, oder konnten rasch durch Zusatz von etwas Alkohol und Kochsalz beseitigt werden. Die petrol-ätherischen Lösungen wurden vom Lösungsmittel ganz befreit und mit Aceton aufgenommen. Es fiel ein dickes, dunkles Öl aus, welches nach wiederholtem Durchkneten mit immer neuen Acetonmengen die Konsistenz des «Lecithins» annahm. Es wurde dann in Äthyläther gelöst und noch einmal mit Aceton gefällt und gründlich mit Aceton ausgewaschen. Das so erhaltene «Phosphatid» bildet eine sehr dunkle lecithinartige Masse, die im Vakuumexsikkator über Schwefelsäure ganz fest wurde. Die Ausbeute aus 15 kg Hafergries betrug etwa 200 g.

1,7186 g	gaben	0,2062 g	$Mg_2P_2O_6$	=	3,34%	P
1,2260	»	0,1494	»	=	3,39%	»
1,3729	»	0,02296	g N	=	1,67%	N
1,9716	»	0,03285	»	=	1,66%	»

10,6185 g wurden mit 150 ccm 1%iger Schwefelsäure 7 Stunden unter Rückfluß gekocht. Das Filtrat von den Fettsäuren wurde auf 100 ccm gebracht:

10 ccm	gaben	0,01643 g	Gesamtstickstoff	=	1,55%	N
10	»	0,01574	»	=	1,48%	»
20	»	0,02356	durch Phosphorwolframsäure fällbaren Stickstoff	=	1,11%	N.

7,3 ccm gaben 3,6 ccm N (nach van Slyke) bei 18° und 723 mm
= 0,25° Aminostickstoff.

7,7 » » 3,6 ccm N (nach van Slyke) bei 18° und 723 mm
= 0,24° Aminostickstoff.

5 ccm gaben 6,2 ccm $KMnO_4$

5 » » 6,2 » »

entsprechend 60,95 mg Cu = 6,2% Galaktose.

13,90 g mit 150 ccm 5%iger Schwefelsäure unter Rückfluß gekocht, gaben 8,6790 g Fettsäuren = 62,44% Fettsäuren.

13,30 g wurden 2 Stunden mit konzentrierter Barytlösung am Wasserbad gekocht. Das Filtrat wurde mittels Schwefelsäure vom Baryt befreit und schließlich auf 60 ccm gebracht:

10 ccm	gaben	0,00263 g	Gesamtstickstoff	=	1,19%	N
10	»	0,00270	»	=	1,22%	»
9,5	»	4,8 ccm	N bei 20° und 723 mm	=	0,12%	Aminostickstoff.
8,8	»	5,2	» » » 20° » 723	=	0,13%	»
5	»	verbrauchten	9,1 ccm $KMnO_4$			
5	»	»	9,5	»		
9,3	»	$KMnO_4$	= 93 mg Cu = 51 mg Galaktose	=	4,61%	Galaktose.

45,0 g wurden in Äther gelöst und in eine siedend heiße Barytlösung langsam einfließen gelassen. Nach etwa 3 stündigem Kochen am Wasserbade unter mechanischer Rührung wurde durch Glaswolle filtriert und die Baryumverbindungen wiederholt gut ausgewaschen.

Die Baryumverbindungen wurden auf Stickstoff untersucht.

Ein aliquoter Teil, entsprechend 3,40 g des Phosphatids, gab 0,0060 g N = 0,17% N.

Ein anderer Teil, entsprechend 4,006 g des Phosphatids, gab 0,0073 g N = 0,18% N.

Ein Teil der Baryumverbindungen, entsprechend 10,72 g des Ausgangsmaterials, wurde mit 200 ccm 3,5% iger Salzsäure 2 Stunden unter Rückflußkühlung zersetzt. Das Filtrat von den Fettsäuren wurde auf 100 ccm gebracht: Es gab mit Wismutjodidjodnatrium keine Fällung, enthielt also kein Cholin mehr.

20 ccm gaben 0,00103 g N = 0,05% N

18.1 „ „ 0,8 ccm N (nach van Slyke) bei 20° und 717 mm
= 0,02% Aminostickstoff.

10 „ „ verbrauchten 1,1 ccm KMnO_4

10 „ „ 1,1 „ „

entsprechend 10,8 mg Cu = 5,6 mg Galaktose = 0,52% Galaktose.

Das Filtrat von den Baryumverbindungen wurde vom überschüssigen Baryt durch Kohlensäure befreit, dann stark eingeeengt und mit barythaltigem Alkohol ausgefällt. Die Fällung wurde abfiltriert und auf Baryumglycerophosphat verarbeitet. Das Filtrat wurde vom Alkohol befreit, dann vom Baryt, eingeeengt und mit Bleiessig gefällt. Das Filtrat von der Bleifällung wurde mit Schwefelwasserstoff entbleit und unter Zusatz von Alkohol und starker Salzsäure eingedunstet und im Exsikkator getrocknet.

Mit Alkohol aufgenommen gingen alle organischen Basen in Lösung. Salzsaures Betain war also nicht vorhanden. Der in Alkohol nicht gelöste Anteil gab nach dem Entfärben mit Tierkohle nur unorganische Salze. (Hauptsächlich Kochsalz, von der Reinigung des Phosphatids herrührend.)

Die alkoholische Lösung der salzsauren Basen wurde mit alkoholischer Sublimatlösung gefällt. Die Fällung gab nach Entfernung des Quecksilbers ein in langen Nadeln krystallisierendes

dann mit Schwefelwasserstoff behandelt, das Quecksilbersulfid entfernt, die salzsaure Lösung ganz eingedunstet, mit Tierkohle entfärbt und auf 40,0 ccm gebracht.

9,0 ccm dieser Lösung gaben 9,2 ccm N bei 18° und 723 mm = 0,0049 g Aminostickstoff. 26 ccm der Lösung von 40 ccm, welche demnach 0,01417 g Aminostickstoff enthielten und 0,4057 g Colaminaurat hätten liefern können, wurden eingengt und mit Goldlösung versetzt. Es entstand keine Fällung. Es wurde konzentrierte Salzsäure zugesetzt und krystallisieren gelassen. Im ganzen schieden sich aus der sirupösen Mutterlauge 0,310 g Aurat aus. Es konnten also mehr als $\frac{3}{4}$ der berechneten Menge gewonnen werden. Der nach den zahlreichen Operationen noch vorhandene Aminostickstoff gehört, wie aus obigen Zahlen zu ersehen ist, wohl ausschließlich dem Colamin an. Es dürfte also der bei der Barytspaltung ins Filtrat eingehende Aminostickstoff ausschließlich oder doch wesentlich jener des Colamins sein.

Zur Analyse ist es wünschenswert, recht große Krystalle des Aurats zu gewinnen, da sonst beim Auswaschen zu große Verluste entstehen. Nach mehrfachen Krystallisationsversuchen wurden gut ausgebildete Krystalle von über 1 cm Länge erhalten. Diese wurden abgesaugt, mit starker Salzsäure ausgewaschen und über Schwefelsäure getrocknet. Schmelzpunkt 188—190° ohne Zersetzung:

0,1938 g gaben 0,0950 g Au = 49,02% Au.

Für Colaminchloraurat berechnet = 49,17% .

Die nach Entfernung der unlöslichen Baryumverbindungen durch Behandeln mit barythaltigem Alkohol erhaltene Fällung wurde in Wasser gelöst, mit Kohlensäure behandelt, eingengt, vom Baryumcarbonat abfiltriert und wieder mit Alkohol gefällt. Die Fällung wurde mit Alkohol und Äther gewaschen und dann über Schwefelsäure getrocknet. Sie verwandelte sich in eine bernsteinähnliche, sehr hygroskopische Masse, die nach der Hydrolyse mit verdünnter Schwefelsäure eine geringe Reduktion der Fehlingschen Lösung gab. Sie wurde daher noch einmal in Wasser gelöst und mit Alkohol gefällt, mit Alkohol und Äther gewaschen. Die ursprünglich weiße Fällung färbte

sich beim Trocknen schnell braun und trocknete schließlich auf einer Glasplatte im Exsikkator zu durchsichtigen braunen Blättchen ein. 0,4280 g des Baryumsalzes lösten sich in 2 ccm Wasser leicht auf und gaben auch nicht spurenweise Reduktion der Fehlingschen Lösung nach der Hydrolyse.

0,6462 g des Baryumsalzes bei 105° getrocknet gaben 0,4678 g BaSO₄
= 42,61% Ba.

0,5582 g über Schwefelsäure im Exsikkator getrocknet gaben 0,3987 g BaSO₄
= 42,04% Ba.

0,5116 g des Baryumsalzes gaben 0,3567 g Glührückstand (Pyrophosphat)
= 69,72%.

Theorie für C₃H₇PO₆ · Ba · 1/2 H₂O = 43,41% Ba, 70,91% Glührückstand.
Für C₃H₇PO₆ · Ba · 1 H₂O = 42,22% Ba, 68,94% Glührückstand.

Während die hier beschriebenen Präparate aus Hafergries A sehr dunkle, dabei lecithinähnliche Phosphatide darstellten, wurden aus dem in viel schonenderer Weise extrahierten Hafergries B ganz andere Präparate erhalten.

Es war zu entscheiden, ob dieser große Unterschied nur in der verschiedenen Art der Extraktion oder in der Natur der verwendeten Hafersorte lag. Der Unterschied lag nur in der Art der Extraktion. Einmal konnte gezeigt werden, daß auch bei der Hafersorte B bei erhöhter Temperatur schleimige Stoffe in Lösung gingen, die die Reinigung der Präparate erschwerten, andererseits stellte sich heraus, daß bei gelinder Extraktion auch der Hafergries A nahezu farblose Präparate lieferte, die in der Zusammensetzung, soweit untersucht, den in gleicher Weise aus Hafergries B erhaltenen sehr ähnlich waren.

1,260 kg nahezu wasserfreier Hafergries (A) wurde zweimal mit 92%igem Alkohol bei 40—50° behandelt. Die alkoholische Lösung wurde abgesaugt, der Alkohol zum größten Teil abdestilliert, dann im Scheidetrichter mit viel Petroläther versetzt und mit Wasser wiederholt ausgeschüttelt. Aus der petrolätherischen Lösung wurden durch Acetonfällung usw. schließlich 4,5 g eines nahezu weißen wachsähnlichen Präparates erhalten, das im Aussehen von den aus Hafergries B erhaltenen kaum zu unterscheiden war.

0,9603 g gaben 0,0536 g Mg₂P₂O₇, = 1,55% P
0,7374 „ „ 0,00447 g N = 0,61% N

1,5338 g wurden mit 50 ccm 1%iger Schwefelsäure unter Rückflußkühlung 13 Stunden gekocht.

Fettsäureausbeute: 1,020 g = 66,5%. Das Filtrat der Fettsäuren wurde auf 50 ccm gebracht.

20 ccm gaben 0,00301 g Gesamtstickstoff = 0,49% N

5 „ „ 0,6 ccm N bei 21° und 726 mm = 0,21% Aminostickstoff

15,1 „ „ 1,6 „ „ 21° „ 726 „ = 0,19% „

5 „ „ 4,3 „ KMnO_4 = 43 mg Cu = 22,8 mg Galaktose
= 14,9% Galaktose.

1 ccm KMnO_4 = 10,0 mg Cu.

Das Filtrat gab nicht nur mit Phosphorwolframsäure, sondern auch mit Krauts Reagens eine deutliche Fällung und dürfte daher Cholin enthalten haben.

b) Hafergries B.

Die Versuche mit Hafergries A hatten gezeigt, daß man auch aus Cerealiensamen Phosphatidpräparate erhält, die dem Eilecithin, oder doch den aus Leguminosensamen erhältlichen Lecithinen sehr ähnlich sind. Ich trachtete jedoch Präparate zu gewinnen mit kleinem Phosphorgehalt und großem Gehalt an reduzierender Substanz. Es mußte daher in Vorversuchen geprüft werden, durch welche Darstellungsmethoden man zu solchen Präparaten gelangt.

Zunächst wurde der von einer hiesigen Mehlhandlung bezogene Hafergries (B) von der gleichen Sorte, die auch E. Schulze und U. Pfenninger (l. c.) zu ihrer Phosphatidhydrolyse gedient hatte, als solcher untersucht. Er enthielt 11,3% Wasser.

37,65 g wurden im Soxhletschen Apparat entfettet. Es wurden 2,9525 g eines hellgelben, angenehm riechenden Rohfetts erhalten, entsprechend 7,84% der lufttrockenen Substanz. Dieses Rohfett lieferte $0,0113 \text{ g Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7 = 0,0032 \text{ g P}$.

Der Rückstand wurde mit Alkohol erschöpfend extrahiert, dann der Extrakt mit Äther und Wasser aufgenommen. Der ätherische Anteil lieferte bei der Phosphorbestimmung $0,0095 \text{ g Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7 = 0,0026 \text{ g P}$ zusammen wurde also $0,0058 \text{ g P} = 0,0155\% \text{ P}$ gefunden.

46,52 g wurden mit Äther, dann mit Alkohol erschöpfend extrahiert. Beide Extrakte zusammen gaben 0,0251 g $Mg_2P_2O_7$ = 0,0070 g P = 0,015 % P.

42,03 g wurden mit 95%igem Alkohol erschöpfend extrahiert. Es wurden erhalten 0,0302 g $Mg_2P_2O_7$ = 0,0084 g P = 0,020 % P. Aus diesen Zahlen läßt sich der «Lecithingehalt» nicht angeben. Bei den verschiedenen «Phosphatid»-Darstellungen wurde weit weniger Phosphor erhalten, als in diesen quantitativen Versuchen, dennoch war die Ausbeute an «Lecithin», obwohl nur ein Teil extrahiert wurde, eher größer, als sich aus obigen Zahlen berechnen würde. Die extrahierten Verbindungen dürften eben nur zum Teil nach dem Lecithin-Typhus gebaut sein und enthalten dementsprechend wenig Phosphor. E. Schulze hat wiederholt darauf hingewiesen, «daß die für den Phosphorgehalt der ätherisch-alkoholischen Extrakte gefundenen Zahlen größeren Wert besitzen, als die daraus für den Phosphatidgehalt der Untersuchungsobjekte berechneten Werte.»¹⁾

Es wurden nun 900 g Hafergries bei Zimmertemperatur mit Aceton dreimal ausgezogen. Dabei wurden 53,7 g Rohfett, also 5,96 % Rohfett entfernt. Das so vom größten Teil des Fetts befreite Material wurde bei 55° mit 95%igem Alkohol dreimal ausgezogen. Dann wurde in schon beschriebener Weise weiter verfahren (die alkoholisch-petrolätherische Lösung ausgewaschen, dann mit Aceton gefällt). Es wurden 2,86 g erhalten, entsprechend 0,32 % Ausbeute.

0,5571 g gaben 0,0388 g $Mg_2P_2O_7$ = 1,94 % P

0,5387 » » 0,0398 » » = 2,06 % »

Mittel = 2,00 % P.

0,6210 g gaben 0,0059 g N = 0,90 % N

0,6534 » » 0,00537 » » = 0,82 % »

Mittel = 0,86 % N.

Das durch Extraktion mit Aceton erhaltene Rohfett enthält auch Phosphor.

3,1575 g gaben 0,0079 g $Mg_2P_2O_7$ = 0,0022 g P.

¹⁾ E. Schulze, Chemiker-Zeitung, 1908, Nr. 181.

Nach den gebräuchlichen Faktoren berechnet, würde sich ein Gehalt an «Lecithin» von 1,7% des Acetonextrakts ergeben.¹⁾

Wie man leicht zeigen konnte, handelt es sich hier keineswegs um ein «acetonlösliches Phosphatid». Beim Versetzen des Rohfetts mit viel Aceton schied sich nach längerem Stehen ein Bodensatz aus. Dieser wurde mit Äther aufgenommen, filtriert. Auf Zusatz von Aceton konnte noch etwas Phosphatid ausgefällt werden.

800 g Hafergries wurden ohne vorhergehende Entfettung mit 95%igem Alkohol bei 55° dreimal ausgezogen. Der alkoholische Extrakt wurde in gleicher Weise verarbeitet und 6,2 g «Phosphatid» erhalten. Die Menge des mit Alkohol ausgezogenen Rohfetts betrug 8,5 g oder 1,06% des Ausgangsmaterials.

Die Ausbeute an «Phosphatid» betrug hier 0,775%, sie war also fast 2½ mal größer als in der Probe, die zuvor mit Aceton entfettet wurde. Dies rührt daher, daß erstens bei der Behandlung mit Aceton ein großer Teil der «Phosphatide»²⁾ mit dem Rohfett herausgelöst wird, aus welchem es sich nur sehr unvollkommen gewinnen läßt, zweitens wird bei der Behandlung mit Alkohol bei 55° nur ein geringer Bruchteil des Rohfetts extrahiert. Dieses besteht zum größten Teil (6,2 g von 8,5 g Rohfett) aus den gesuchten «Phosphatiden», die sich so fast quantitativ aus dem so bereiteten Extrakt³⁾ isolieren lassen.

Diese Verhältnisse waren nicht vorauszusehen. Für fettarme Leguminosensamen (Bohnen, Erbsen) hatte sich das Verfahren der direkten Extraktion mit Alkohol bei gelinder Wärme bewährt. Hier zeigte es sich, daß man auch bei dem ziemlich fettreichen Hafer mit dieser Art der Extraktion am besten fährt, doch ist hier für möglichst genaue Einhaltung der Temperatur Sorge zu tragen. Geht man mit der Temperatur höher,

¹⁾ Die Menge der «Phosphatide» ist aber jedenfalls weit größer. Siehe die Bemerkung unten.

²⁾ Die obige Phosphorbestimmung gibt ein kaum annähernd richtiges Bild über die Menge der im Rohfett enthaltenen «Phosphatide», da diese sehr phosphorarm, bezw. zum Teil phosphorfrei sein dürften.

³⁾ Freilich enthält dieser Extrakt nur einen Teil der «Phosphatide» der Samen.

so wird nicht nur viel Rohfett mitextrahiert, sondern auch andere an und für sich nicht alkohollösliche Verbindungen; beim Hafer speziell kommen noch viel schleimige Stoffe hinzu, die die Reinigung der Extrakte und die Isolierung des «Lecithins» sehr erschweren. Nach meinen Bestimmungen mußte das von E. Schulze und U. Pfenninger hydrolysierte Phosphatid durch eine solche zuweit gegangene¹⁾ Alkoholextraktion gewonnen worden sein.

Die aus 800 g Hafergries erhaltenen 6,2 g «Phosphatid» gaben folgende Analysenresultate:

0,7931 g gaben 0,0389 g $Mg_3P_2O_7$ = 1,37% P

0,1058 » » 0,0562 » » = 1,41% »

Mittel = 1,39% P.

0,6249 g gaben 0,00413 g N = 0,66% N

1.1923 » » 0,0080 » » = 0,67% »

P : N = 1 : 1,06.

0,8020 g wurden mit 50 ccm 1%iger Schwefelsäure 8 Stunden unter Rückfluß gekocht. Das Filtrat der Fettsäuren auf 25 ccm gebracht:

12,5 ccm gaben 1,6 ccm N bei 20° und 724 mm = 0,22% Aminostickstoff.

12,5 » » 0,00275 g Gesamtstickstoff = 0,68% N.

Extraktionen größerer Hafermengen bestätigten die Resultate der Vorversuche. 10 kg Hafergries gaben nach vorhergegangener Entfettung mittels Äther einen alkoholischen Extrakt, aus welchem 36 g «Phosphatid» isoliert werden konnten. Dagegen wurde aus 10 kg Hafergries, der sogleich mit Alkohol extrahiert wurde, 57 g «Phosphatid» erhalten.

10 kg Hafergries wurden mit Äther entfettet, dann mit 95%igem Alkohol bei 50—60° extrahiert. Der eingeeengte alkoholische Extrakt schied eine schwere Masse aus. Es wurde der im Alkohol in Lösung gebliebene Anteil, sowie die schwere Ausscheidung für sich genommen. Ersterer gab 2,2 g Phosphatid, letztere 33,4 g. Dies ist der einzige Fall bei den Hafergriesuntersuchungen, in welchem ich eine Trennung der extrahierten Bestandteile des Gesamtphosphatids vorgenommen habe. Es zeigte sich auch sogleich die Inhomogenität der Phos-

¹⁾ Der Ausdruck «zuweitgegangene» bezieht sich natürlich nur auf die von mir verfolgten Interessen.

phatidpräparate. Der im Alkohol gelöst gebliebene Anteil ist derjenige, der dem ideellen Lecithin am wenigsten entspricht und sich dem sogenannten «Protagon» am meisten nähert. Man ersieht hier deutlicher noch als bei den Ergebnissen der Untersuchung der Gesamtposphatide,¹⁾ daß durch Alkohol zunächst die nichtlecithinartigen Anteile extrahiert werden.

Der im Alkohol gelöste Anteil gab, nach dem beschriebenen Verfahren mit Aceton gefällt, eine reinweiße Ausscheidung (2,2 g).

0,4317 g dieser Substanz gaben 0,0162 g $Mg_2P_2O_7$ = 1,04% P.

0,5400 „ „ „ 0,00636 g N = 1,18% N.

P : N = 1 : 2,5.

1,1416 g wurden mit 50 ccm 1%iger Schwefelsäure 8 Stunden unter Rückflußkühlung gekocht.

Die Fettsäuren enthielten 0,00172 g N = 0,15% N.

Das Filtrat wurde auf 50 ccm gebracht :

20 ccm gaben (nach Bertrand) 11,5 ccm $KMnO_4$

20 „ „ „ 11,3 „ „

11,4 „ $KMnO_4$ = 112,1 mg Cu = 62,3 mg Galaktose = 13,64% Galaktose.

8,5 „ gaben 1,1 ccm N bei 18° und 730 mm = 0,33% Aminostickstoff.

Die Hauptmenge (33,4 g) wurde erhalten durch Aufnehmen der schweren Ausscheidung mit Petroläther und Auswaschen der Lösung mit Wasser unter Beihilfe von Alkohol und Kochsalz. Die Entfernung der wasserlöslichen Anteile gelang sehr leicht; die Waschwasser geben sehr bald, auch nach der Hydrolyse mit verdünnten Säuren, keine Reduktion der Fehling'schen Lösung mehr. Das erhaltene Präparat gibt aber bei der Hydrolyse etwa 15% Kohlenhydrat (als Galaktose berechnet), welches also zweifellos chemisch gebunden ist. Das Präparat ist hellgelb gefärbt und trocknet im Exsikkator zu einer festen wachsartigen Masse ein.

1,0545 g gaben 0,0079 g N = 0,75% N

0,6810 „ „ 0,00525 „ „ = 0,77% „

0,5902 „ „ 0,0400 „ $Mg_2P_2O_7$ = 1,89% P

0,4652 „ „ 0,0316 „ „ = 1,89% „

P : N = 1 : 0,89.

¹⁾ D. h. der gesamten, unter gewissen Bedingungen der Extraktion in Lösung gegangenen, durch Aceton fällbaren Lipide.

Die Präparate sind (wie auch das in ähnlicher Weise aus 1,26 kg Hafergries A erhaltene Präparat) durch verdünnte Säuren viel schwerer zersetzlich als die phosphorreichereren und kohlenhydratärmeren Präparate, die man bei erschöpfender Extraktion des Grieses erhält. Nach 2¹/₂ stündigem Kochen mit 1%iger Schwefelsäure waren noch keine durch Phosphorwolframsäure fällbaren Basen abgespalten. Nach weiteren 2¹/₂ Stunden enthielt die auch äußerlich wenig veränderte Masse noch 0,59% Stickstoff, während bei vollkommener Hydrolyse (siehe unten) der Stickstoff bis auf 0,06% ins Filtrat gegangen war.

6,4267 g wurden mit 100 ccm 1%iger Schwefelsäure 18 Stunden gekocht. Die Zersetzung (Abscheidung der Fettsäuren) war erst gegen die 15. Stunde eine vollkommene. Es wurden 4,3501 g «Fettsäuren» erhalten = 67,69%. Sie enthielten nur noch 0,00413 g N = 0,06% des Ausgangsmaterials.

Das Filtrat der Fettsäuren wurde auf 80 ccm gebracht:

10 ccm gaben 0,0056 g Gesamtstickstoff = 0,70% N.

20 ccm mit Phosphorwolframsäure gefällt, 2 Tage stehen gelassen. Die Fällung enthielt 0,00714 g N = 0,56% N.

9,2 ccm gaben 3,8 ccm N (nach van Slyke) bei 16° und 727 mm
= 0,28% Aminostickstoff.

9,85 „ „ 3,8 ccm N (nach van Slyke) bei 16° und 727 mm
= 0,27% Aminostickstoff.

5 ccm gaben 11,0 ccm KMnO ₄	} = 108,1 mg Cu = 59,88 mg Galaktose
5 „ „ 11,0 „ „	
1 „ KMnO ₄ = 9,83 mg Cu.	

6,215 g wurden mit reiner konzentrierter Barytlösung durch einstündiges Kochen am Wasserbad gespalten.

Das Filtrat von den gut ausgewaschenen Baryumverbindungen wurde mittels Schwefelsäure vom Baryt befreit und dann auf 100 ccm gebracht.

10 ccm enthielten 0,00344 g Gesamtstickstoff = 0,55%

10 „ „ 0,00296 „ „ = 0,48%

7,75 ccm gaben 1,6 ccm N bei 16° und 723 mm = 0,18% Aminostickstoff

8,30 „ „ 1,6 „ „ 16° „ 723 „ = 0,17% „

10 ccm verbrauchten 4,5 ccm KMnO₄

10 „ „ 4,2 „ „

Mittel 4,35 ccm KMnO₄ = 22,6 mg Galaktose = 3,64% Galaktose.

20 ccm mit Phosphorwolframsäure gefällt gaben in der Fällung 0,0050 g N = 0,40% N.

10 g Hafergries wurden ohne vorhergehende Entfettung direkt mit 95%igem Alkohol bei 50° extrahiert. Die nach dem beschriebenen Verfahren erhaltenen acetonunlöslichen Lipoide wogen 57 g.

1,0048 g	gaben	0,0570 g	Mg ₂ P ₂ O ₇	=	1,58%	P
1,1898	»	0,0653	»	=	1,54%	»
0,6174	»	0,0347	»	=	1,56%	»

Mittel = 1,56 P.

1,2276 g gaben 0,00877 g N = 0,72% N

1,2874 » » 0,00877 » » = 0,68% »

Mittel = 0,70% N.

P : N = 1 : 1.

4,7856 g mit 100 ccm 1%iger Schwefelsäure unter Rückfluß gekocht, war nach 18 Stunden noch nicht vollkommen zersetzt. Es wurde 24 Stunden gekocht.

«Fettsäuren» = 3,311 g = 69,2%

Das Filtrat davon wurde auf 60 ccm gebracht:

10 ccm gaben 0,00516 g Gesamtstickstoff = 0,70% N

10 » mit Phosphorwolframsäure gefällt gaben 0,00301 g N = 0,41% N

9,25 » gaben bei 19° und 723 mm 4,2 ccm N = 0,31% Aminostickstoff

7,95 » » » 19° » 723 » 3,5 » » = 0,30% »

5 ccm	verbrauchten	10,75 ccm	KMnO ₇	}	Mittel	10,65 ccm	KMnO ₄	
5 »	»	10,9	»		=	104,7 mg	Cu = 57,9 mg	Galaktose
5 »	»	10,3	»		=	14,52%	Galaktose.	

5,4370 g wurden mit Baryt eine Stunde am Wasserbad gekocht. Nach Entfernung der Baryumverbindungen und des überschüssigen Baryts wurde das Filtrat erst auf 150 ccm gebracht, 20 ccm davon zeigten keine Reduktion der Fehling'schen Lösung, 10 ccm gaben nach dem Einengen und Versetzen mit Alkohol nur einen sehr geringen Niederschlag. Der Rest von 120 ccm wurde unter Zusatz von 2,5 ccm konzentrierter Schwefelsäure eingengt, vom BaSO₄ befreit und auf 80 ccm (= 4,3496 g Ausgangsmaterial) gebracht.

10 ccm gaben 0,00224 g Gesamtstickstoff = 0,41% N.

20 ccm gaben mit Phosphorwolframsäure gefällt, 0,00344 g N in der Fällung = 0,32% N.

wonnene Baryumsalz nicht einmal zu einer Analyse reichte. Es konnte daher nicht geprüft werden, ob hier neben Glycerinphosphorsäure die vermutete Glycerynglykolphosphorsäure vorlag. (Bei der eingangs erwähnten Spaltung von 200 g Haferphosphatid mit Schwefelsäure war ein offenbar an und für sich phosphorreicherer Material in fast 10facher Menge zur Verfügung gestanden. Aus diesem Material hatte ich auch nur etwa 1,2 g des Baryumsalzes in zur Analyse geeigneter Form erhalten.)

Die weitere Untersuchung des Filtrats galt der Aufsuchung der vorhandenen Stickstoffverbindungen. Es konnte nur wenig Cholin erhalten werden; der Nachweis des Colamins gelang nicht, Betain war sicher keines vorhanden.

Das Filtrat von der Bleifällung wurde entbleit, mit Salzsäure ganz eingedunstet, wobei Schwärzung und Zersetzung der Kohlenhydrate eintrat. Dann wurden die salzsauren Salze der Basen mit kaltem und heißem Alkohol extrahiert. Der in Wasser lösliche Anteil des Rückstands wurde mit Tierkohle entfärbt. Er hinterließ eine, selbst in heißem Alkohol unlösliche, weiße, seidengänzende, nicht krystallisierte Substanz, die, durch wiederholtes Behandeln mit heißem Alkohol von den letzten Resten etwa noch vorhandener salzsaurer Basen (Cholin, Colamin etc.)¹⁾ sicher befreit, noch Basenreaktionen gab. Ihre wässrige Lösung enthielt keinen Ammoniak und gab sowohl mit Phosphorwolframsäure als mit Natriumwismutjodid starke Fällungen. Sie enthielt etwa 1 0/0 N, wovon ein Teil auf Aminostickstoff zu rechnen ist. Die hier vorhandene Stickstoffverbindung kann weder dem Cholin und Colamin, noch deren Zersetzungsprodukten (Trimethylamin, Ammoniak) angehören.

Aus der Quecksilberfällung wurden salzsaure Salze erhalten, die in absolutem Alkohol vollkommen löslich waren. Eine kleine Menge Ungelöstes erwies sich als Calciumsulfat.²⁾

¹⁾ Durch diese Behandlung mußte auch jede Spur etwa vorhandenen Betains (Glykokollbetain) entfernt worden sein.

²⁾ Auch bei der Hydrolyse des Bohnenlecithins habe ich an dieser Stelle Calcium gefunden. Eine Probe von 1 g des obigen Phosphatids.

Der in Lösung gegangene Anteil krystallisierte aus Wasser in feinen hygroskopischen Nadeln.

In das Chloraurat übergeführt, wurde bis in die letzten Fraktionen nur das schwer lösliche Cholinchloraurat erhalten. Die Analysenwerte stimmen zwar nicht sehr scharf, doch zeigten alle Fraktionen das Verhalten des Cholingoldsalzes und nachweisbare Mengen von Betain waren sicher nicht vorhanden.

1. Krystallisation: 0,3321 g Aurat gaben 0,1466 g Au = 44,14% Au
 0,1337 „ „ „ 0,0589 „ „ = 44,06% „
2. Krystallisation: 0,1176 „ „ „ 0,0519 „ „ = 44,14% „

Auch die letzten Reste schmolzen noch bei 264° unter Zersetzung (beim schnellen Erhitzen). Es wurde nur etwa 0,3 g Cholin erhalten mit etwa 0,035 g N.

20,686 g Phosphatid mit 0,70% N enthalten 0,1446 g N; es ist also nur etwa 24% des Gesamtstickstoffs in Form von reinem Cholin isoliert worden. Während «Lecithin» theoretisch 15,5% Cholin enthalten soll, wurde bei diesem Präparat nur 1,5% desselben isoliert.

Das Filtrat der Quecksilberfällung gab nach entsprechender Aufarbeitung eine Lösung von 40 ccm, welche nur noch 0,0053 g Aminostickstoff enthielten.

7,6 ccm gaben bei 18° und 721 mm 1,8 ccm N = 1 mg Aminostickstoff.

30 ccm dieser Lösung hätten 0,114 g Colaminaurat liefern können. Es konnten aber keine charakteristischen Krystalle erhalten werden.

In diesem Präparat waren also von den charakteristischen Spaltungsprodukten des «Lecithins» das Colamin überhaupt nicht mehr, die Glycerinphosphorsäure nicht sicher und selbst das Cholin nicht ganz leicht und nur in kleiner Menge nachzuweisen.

gab nach der Veraschung mit Salpeter-Soda in Salzsäure gelöst mit Ammoniak und Oxalsäure nach 24 Stunden eine äußerst geringe Fällung. Calciumhaltige Phosphatide sind, wie schon erwähnt wurde, beschrieben worden. Meine Präparate enthielten höchstens Spuren von Calcium. Die bei der Hydrolyse größerer Mengen hier auftretenden Calciumsalze entstammen vielleicht nur den verwendeten Reagentien.

	Un- gefähre Ausbeute aus 10 kg in g	P ‰	N ‰	P : N	Reduz. Substanz ‰ als Galak- tose	Fett- säuren ‰
Hafergries A.						
Mit Alkohol bei gelinder Wärme extrahiert	36	1,55	0,61	1 : 0,87	14,9	66,5
Mit Benzol und Methylalkohol erschöpfend	—	2,80	1,11	1 : 0,88	7,9	65,3
Entfettet, dann mit Benzol und Methylalkohol erschöpfend .	130	3,37	1,66	1 : 1,096	6,2	62,4
Hafergries B.						
Mit Alkohol bei gelinder Wärme, kleine Probe	78	1,52	0,67	1 : 1,06	—	—
Mit Alkohol bei gelinder Wärme	57	1,56	0,70	1 : 1	14,5	69,2
Entfettet, dann mit Alkohol bei gelinder Wärme	36	1,89	0,76	1 : 0,89	14,9	67,7
Mit Aceton entfettet, dann mit Alkohol bei gelinder Wärme	32	2,00	0,86	1 : 0,908	—	—
Hafermehl der gleichen Sorte mit Alkohol extrahiert . .	100	—	—	—	10,8	—