

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

IV. Mitteilung.

Erbsen, Schwarzkiefer, Reis.

Von

Georg Trier.

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

(Der Redaktion zugegangen am 2. Juli 1913.)

Erbsensamen (*Pisum sativum*).

Erbsen sind ein zur Lecithingewinnung sehr geeignetes Material. Sie enthalten nur etwa 2% Rohfett und dabei nach früheren Analysen im hiesigen Laboratorium 1,23%¹⁾ bzw. 1,05%²⁾ Lecithin (aus dem Phosphorgehalt des ätherisch-alkoholischen Extrakts berechnet).

1 kg Erbsen wurden fein gepulvert, zweimal mit 95%igem Alkohol bei 50—60° extrahiert, die alkoholische Lösung filtriert, eingedunstet und mit Äther aufgenommen. Die ätherische Lösung wurde 5—6 mal mit Wasser, unter Zusatz von Kochsalz und etwas Alkohol, um Emulsionbildung möglichst zu vermeiden, ausgeschüttelt. Die Waschwasser gaben nach dem Kochen mit verdünnter Säure immer schwächere Reduktion der Fehling'schen Lösung. Die ätherische Lecithinlösung wurde getrocknet, der Äther abdestilliert und der Rückstand mit Aceton öfters ausgelaugt, dann wieder in Äther aufgenommen, noch einmal mit Aceton gefällt. So wurden 8,5 g Lecithin gewonnen.

0,2526 g Trockensubstanz gaben 0,0328 g $Mg_2P_2O_7$ = 3,62% P.
0,8460 » » » 0,1096 » » = 3,61% »

¹⁾ E. Schulze und Frankfurt, Landw. Versuchsst., Bd. 43, S. 307

²⁾ E. Schulze und Merlis, Landw. Versuchsst., Bd. 49, S. 203.

1,5735 g Trockensubstanz wurden mit 100 ccm 6%iger Schwefelsäure 4 Stunden unter Rückflußkühlung gekocht. In aliquoten Teilen des Filtrats wurden 1,8% und 2,0%, im Mittel 1,9% reduzierende Substanz (als Dextrose berechnet) ermittelt.

Gelegentlich ihrer Untersuchung über das Auftreten von Betainen bei der Hydrolyse von Phosphatiden fanden E. Schulze und U. Pfenninger¹⁾ ebenso wie bei Präparaten aus Wicken-samen auch bei solchen aus Erbsensamen kein Betain.

Später, als ich mit der Untersuchung der aus Hafer-samen erhaltenen Produkte beschäftigt war, erhielt ich von der Firma Blattmann u. Co. zwei Laboratoriumspräparate von Lecithin aus Erbsensamen. Beide Präparate enthielten, wie die von mir hergestellten «Lecithine», weniger Stickstoff als Eilecithin.

Präparat I (als höchstkonzentriertes Laboratoriumsmuster bezeichnet) enthielt 1,35% N.

1,0220 g gaben 0,01376 g N = 1,35% N.

Präparat II (mittelkonzentriert) enthielt 1,24% N.

1,5220 g gaben 0,01892 g N = 1,24% N.

Von diesem Präparat II wurde erst eine Probe mit Schwefelsäure, dann eine größere Quantität mit Baryt zerlegt.

5,310 g wurden mit 100 ccm 1%iger Schwefelsäure 9 Stunden unter Rückflußkühlung hydrolysiert. Es wurden 3,720 g «Fettsäuren» erhalten, entsprechend 70,0%. Das Filtrat von den gut ausgewaschenen Fettsäuren wurde auf 80 ccm gebracht.

10 ccm des Filtrats gaben 0,0074 g N = 1,11% N.

20 ccm wurden nach Zusatz von 0,5 ccm Schwefelsäure mit Phosphorwolframsäure gefällt, die Fällung 2 Tage stehen gelassen. Die Fällung enthielt 0,0123 g N = 1,0% N; das Filtrat der Fällung enthielt 0,00258 g N = 0,21% N.

9,05 ccm gaben bei 19° und 715 mm 2,1 ccm N (im van Slykeschen Apparat) entsprechend 0,00113 g Aminostickstoff = 0,19% N.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 71, S. 174 (1911).

20 ccm gaben bei der Zuckerbestimmung nach Bertrand 15 ccm KMnO_4 (1 ccm = 9,83 mg Cu).

10 ccm gaben 8,0 ccm KMnO_4 . Im Mittel entsprachen 10 ccm 76,18 mg Cu = 41,3 mg Galaktose = 6,22% Galaktose.

40 g des Lecithinpräparats wurden in Äther gelöst und in eine heiße Lösung von überschüssiger Barytlaugé einfließen gelassen, sodann 2—3 Stunden mit Baryt gekocht. Es wurde mittels einer Turbine fortwährend gerührt. Die Baryumverbindungen schieden sich so in feinverteilter Form ab. Sie wurden mit heißem Wasser wiederholt ausgewaschen. Das Filtrat und die Waschwasser wurden durch Einleiten von Kohlensäure möglichst vom Baryt befreit, dann wurde eingengt und mit Bleiessig gefällt. Das Filtrat von dieser Fällung wurde mit Schwefelwasserstoff entbleit, dann auf 100 ccm gebracht.

10 ccm dieser Lösung wurden mit Schwefelsäure vom Baryt befreit, dann mit Phosphorwolframsäure gefällt. Die Fällung enthielt 0,02262 g N entsprechend 0,57% N auf das angewandte Lecithin berechnet. Das Filtrat gab 0,0031 g N = 0,08% N.

5,35 ccm gaben bei 19° und 722 mm 4,3 ccm (nach van Slyke) = 0,0023 g Aminostickstoff = 0,11%.

4,25 ccm gaben 3,6 ccm N = 0,0019 g Aminostickstoff = 0,11%.

5 ccm gaben direkt nur 0,4 ccm KMnO_4 , entsprechend 0,1% Galaktose, also nur ganz geringe Reduktion.

5 ccm gaben dagegen nach der Hydrolyse mit verdünnter Schwefelsäure 16 ccm KMnO_4 entsprechend 157,3 mg Cu = 89,8 mg Galaktose = 4,49% Galaktose.

Der Rest der Lösung wurde zur Gewinnung von Cholin und Colamin mittels Schwefelsäure vom Baryt befreit und die Lösung zum Sirup eingengt, dann mit wenig 5%iger Schwefelsäure aufgenommen und mit konzentrierter Phosphorwolframsäurelösung ganz ausgefällt. Die Masse bildete einen dicken Brei. Unter diesen Umständen mußte auch das Colamin in die Fällung eingegangen sein. Nach mehrtägigem Stehen wurde

abgesaugt und mit 5%iger Schwefelsäure ausgewaschen. Dann wurde Fällung wie Filtrat mit reinem Baryt zerlegt.

Die aus der Fällung erhaltene Basenlösung wurde mit überschüssiger Salzsäure eingedunstet und getrocknet. Absoluter Alkohol löste die salzsauren Salze vollkommen, Betain konnte daher in erheblicher Menge nicht anwesend sein. Die alkoholische Lösung enthielt, wie die folgenden Angaben zeigen, ausschließlich Colin und Colamin. Durch Behandeln mit alkoholischer Sublimatlösung wurde Cholin ausgefällt. Das Filtrat wurde vom Alkohol befreit, aus der stark eingeeengten wässrigen Lösung schied sich Sublimat in reichlicher Menge aus. Diese Ausscheidung gab nach Zerlegung mit Schwefelwasserstoff keinen wägbaren Rückstand. Das Filtrat von der Sublimatausscheidung wurde ebenfalls mit Schwefelwasserstoff behandelt, vom Quecksilbersulfid getrennt, auf 60 ccm gebracht und in einem aliquoten Teil auf Aminostickstoff untersucht. 8,6 ccm gaben 1,6 ccm N bei 19° und 727 mm. Die restierenden 51,4 ccm konnten daher nur noch 5,2 mg Aminostickstoff enthalten. Der größere Teil des Colaminstickstoffs wurde im Filtrat von der Fällung mit Phosphorwolframsäure gefunden.

Von 70 ccm dieser Lösung gaben 8,55 ccm 3,1 ccm Aminostickstoff bei 19° und 727 mm entsprechend 0,0017 g N oder 0,0123 g N in den restierenden 61,45 ccm Lösung.

Die Quecksilberfällung enthielt ganz reines Cholin. Ein aliquoter Teil wurde mit Schwefelwasserstoff zerlegt, dann mit Goldlösung ausgefällt.

1. Krystallisation: 0,3203 g Aurat gaben 0,1426 g Au = 44,53% Au: die Mutterlaugen gaben eine

2. Krystallisation: 0,2349 g Aurat gaben 0,1043 g Au = 44,40% Au. Für Cholinchloraurat berechnet 44,50% Au.

Auch die letzten Reste gaben noch Aurate, die jenem des Cholins entsprachen. Alle Fraktionen zersetzten sich bei schnellem Erhitzen bei 264°. Die in der Quecksilberfällung enthaltene Cholinmenge berechnet sich auf 1,750 g; 40 g Lecithin mit 1,24% N enthalten 0,496 g N; 1,750 g Cholin enthalten 0,2023 g N; es ist also nur 40,8% des Gesamtstickstoffs in Form von reinem Cholin isoliert worden. Das aufge-

arbeitete Filtrat von der Quecksilberfällung, welches noch 5,2 mg Aminostickstoff enthielt, sollte 0,14 g Colaminchloraurat geben. Nach dem Eindunsten mit Salzsäure, Entfärben mit Tierkohle wurde mit konzentrierter Salzsäure und Goldchloridlösung versetzt. Es entstand keine Trübung, nach einiger Zeit aber eine gut entwickelte Krystallisation des Colaminaurats. Es wurden 0,1 g an reinem Goldsalz erhalten. Das Filtrat der Phosphorwolframfällung enthielt noch 0,0123 g Aminostickstoff und hätte etwa 0,36 g Colaminaurat liefern können. An gut entwickelten Krystallen konnte aus der sirupösen Mutterlauge 0,20 g des Aurats gesammelt werden. Die Krystalle schmolzen bei 185—188° ohne Zersetzung. Nach allen Eigenschaften derselben ist kein Zweifel, daß es sich tatsächlich um das Aurat des Aminoäthylalkohols (Colamin) handelte.

Schwarzkiefersamen (*Pinus laricio*).

Bis jetzt sind von Gymnospermen nur die Samen einiger Coniferen auf Lecithin untersucht worden. (Über das Phosphatid aus Föhrenpollen s. E. Winterstein u. O. Hiestand).¹⁾

Es wurden an Samentrockensubstanz gefunden: bei *Pinus silvestris* 0,49^{0/0},²⁾ *Pinus maritima* 0,42^{0/0},³⁾ *Pinus cembra* 0,37^{0/0},⁴⁾ *Picea excelsa* 0,27^{0/0},²⁾ 0,12^{0/0},⁴⁾ *Abies pectinata* 0,11^{0/0},²⁾ *Larix europea* 0,11^{0/0}.⁴⁾ Lecithin.

Etwas näher ist bis jetzt nur das aus *Pinus cembra* erhaltene Präparat untersucht worden.⁵⁾ Es gab die Spaltungsprodukte des Lecithins, keine reduzierende Substanz und 3,6^{0/0} P.

2 kg Schwarzkiefersamen wurden im grobgepulverten Zustand im Perkolator mit Äther entfettet, dann fein gemahlen und zweimal mit absolutem Alkohol bei 50—60° extrahiert. Nach dem Abdunsten des Alkohols wurde der Rückstand mit Äther und Wasser aufgenommen. Da sich aber die beiden

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 54, S. 288 (1907—1908).

²⁾ E. Schulze und Merlis, Landw. Versuchsst., Bd. 49, S. 203.

³⁾ E. Schulze, Landw. Versuchsstation, Bd. 55, S. 267.

⁴⁾ Rongger, Landw. Versuchsstation, Bd. 49, S. 203.

⁵⁾ E. Schulze, Diese Zeitschrift, Bd. 52, S. 59. — Landw. Versuchsstation, Bd. 67, S. 57 (1907).

Schichten nicht gut trennten, wurde Petroläther und Alkohol zugesetzt. Nun trat schnell eine scharfe Trennung ein. Die petrolätherische Lösung wurde nun wiederholt mit Wasser ausgeschüttelt, dann das Lösungsmittel zum größten Teil abdestilliert und mit Aceton gefällt. Durch Kneten der Fällung mit immer neuen Acetonmengen wurde alles im Aceton Lösliche weggeschafft. Das zurückgebliebene Lecithin war nahezu weiß und bräunte sich erst beim Trocknen im Exsikkator. Es wurden 3,8 g Lecithin erhalten. Es gab 3,31% P, 0,74% N und 4% reduzierende Substanz (als Galaktose berechnet). Um zu prüfen, ob das Präparat den hinreichenden Reinheitsgrad erhalten hatte, wurde ein Teil noch einmal in Äther gelöst, mit Aceton gefällt und durchgeknetet, dann wieder getrocknet. Es hatte seinen Phosphorgehalt kaum geändert (3,36% P).

0,3590 g Substanz gaben 0,0427 g $Mg_2P_2O_7$ = 3,31% P.

0,2540 » » » 0,0307 » » = 3,36% »

0,8730 g Substanz wurden mit 60 ccm 5%iger Schwefelsäure 6 Stunden unter Rückfluß gekocht. Die Fettsäuren wurden mit Petroläther aufgenommen, das wässrige Hydrolysat auf 80 ccm gebracht. In je 20 ccm der Lösung wurde nach Bertrand der «Zucker» bestimmt.

1 ccm der $KMnO_4$ -Lösung zeigte 9,83 mg Cu an.

1. 20 ccm brauchten 1,7 ccm $KMnO_4$ = 16,71 mg Cu

2. 20 » » 1,7 » » = 16,71 » Cu

entsprechend 4% Galaktose oder 3,76% Glukose.

Das Filtrat gab eine Fällung mit Phosphorwolframsäure.

0,3530 g Lecithin nach Kjeldahl verbrannt gaben:

0,00266 g N = 0,75% N.

0,3168 g Lecithin nach Kjeldahl verbrannt gaben:

0,00232 g N = 0,73% N.

Das Verhältnis von Phosphor: Stickstoff ist fast genau wie 2 : 1. Nach der gebräuchlichen Nomenklatur würde man das Präparat als «Monoaminodiphosphatid» bezeichnen. Es spricht indessen nichts für seine Einheitlichkeit.

Da andere Präparate von Coniferensamenlecithin meines Wissens nicht auf Stickstoffgehalt geprüft worden sind, ist ein Vergleich unmöglich. Der niedrige Stickstoffgehalt entspricht

den Erfahrungen, die ich bei Lecithinpräparaten aus anderen Pflanzensamen gemacht hatte.

Reis (*Oryza sativa*).

Falls die das «Lecithin» begleitenden glukosidischen Lipide, die besonders in Gramineensamen in größerer Menge angetroffen wurden,¹⁾ allgemein verbreitete Pflanzenstoffe sind, war anzunehmen, daß das Reiskorn ein günstiges Ausgangsmaterial für deren Isolierung sei, da es sehr arm an Rohfett ist und nur geringe Mengen an ätherlöslichen Phosphorverbindungen enthält. Diese Annahme hat sich auch wenigstens nach einer Seite hin als richtig erwiesen. Bei Verwendung der gleichen Darstellungsmethoden wie beim Hafergries erhielt ich aus ungeschältem Reis eine Substanz, die in ihren Eigenschaften kaum mehr dem «Lecithin» ähnlich war, sondern den Charakter eines Cerebrosids zeigte, einer Verbindung, die bis jetzt aus höheren Pflanzen noch nicht erhalten worden war. Die Ausbeute war jedoch eine so geringe, daß ein näheres Studium der Substanz vorläufig unmöglich war.

Der für die Versuche verwendete ungeschälte Reis aus einer hiesigen Samenhandlung enthielt 12,5% Wasser.

50,2 g fein gemahlen, wurden mehrere Stunden lang im Soxhletschen Fettextraktionsapparat mit Petroläther entfettet. Der Petrolätherextrakt enthielt keinen Phosphor.²⁾

45,62 g Trockensubstanz wurden mehrere Stunden im Soxhlet-Apparat mit 95%igem Alkohol extrahiert. Der alkoholische Extrakt wurde stark eingeengt, dann mit Petroläther und Wasser aufgenommen. Von den beiden so erhaltenen Schichten gab die petrolätherische nach entsprechender Behandlung 0,0020 g $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7 = 0,00056 \text{ g P} = 0,0012\% \text{ P}$ berechnet

¹⁾ Ich nehme an, daß der geringe Phosphorgehalt, der bei anderen Gramineenlecithinen (Roggen, Gerste, Weizen) konstatiert wurde, auf dieselbe Ursache zurückzuführen ist, die ich bei den Präparaten aus Hafersamen nachgewiesen habe.

²⁾ Siehe auch Stellwag, Landw. Versuchsst., Bd. 37, S. 147 (1890).

auf die Trockensubstanz. Die wässrige Schicht gab 0,0052 g $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7 = 0,00145 \text{ g P} = 0,0032\% \text{ P}$.

Aus diesen Werten ist eine Schätzung des «Lecithin»-Gehalts noch nicht angängig.

Es wurden nun 2,146 kg gemahlener Reis (1,88 kg Trockensubstanz) mit heißem 95%igem Alkohol zweimal extrahiert. Nach Entfernung der Hauptmenge des Alkohols wurde mit Wasser und Petroläther versetzt und die beiden Schichten im Scheidetrichter getrennt.

Die wässrige Lösung wurde wiederholt ausgeäthert, die vereinigten petrolätherischen Anteile mehreremals mit wenig Wasser ausgeschüttelt. Nach dem Abdestillieren des Petroläthers blieb das Rohfett zurück, welches mit Aceton eine reinweiße Ausscheidung gab. Es wurde längere Zeit im Eisschrank belassen, dann die acetonhaltige Lösung abgegossen und die weiße Ausscheidung mit Aceton gut ausgewaschen. Nach dem Trocknen im Exsikkator verblieb weniger als ein halbes Gramm einer rein weißen, pulverigen Substanz zurück, die sich nunmehr in Petroläther nicht mehr löste, unlöslich in Wasser war und auch in heißem Alkohol sich ziemlich schwer löste. 0,1 g gaben nach dem Verbrennen mit Salpetersoda nur Gelbfärbung mit Molybdat, keine Trübung, auch nach 24stündigem Stehenlassen. Dagegen fiel die Stickstoffprobe nach Lassaigne deutlich aus. Mit verdünnter Schwefelsäure mehrere Stunden gekocht, schieden sich Fettsäuren aus, während das Filtrat von diesen die Fehlingsche Lösung reduzierte. Aus diesen Eigenschaften darf geschlossen werden, daß es sich hier um eine cerebrosidartige Substanz handelte.