

Ueber Lecithin in der Hefe.

Von F. Hoppe-Seyler.

In Pflüger's Archiv für die gesammte Physiologie, Bd. 19, S. 342 ist von Oscar Loew ein Artikel betitelt «Ueber den Nachweis des Lecithins» erschienen, welcher den Nachweis zu führen sucht, dass die Hefe kein Lecithin enthalte. Da ich nicht allein mehrmals auf Grund eigener Untersuchungen angegeben hatte, dass dieser Körper in der Hefe enthalten sei, sondern schliesslich auch eine quantitative Bestimmung desselben vorgenommen hatte, konnte es Hrn. Loew nicht genügen, dass er kein Lecithin fand, sondern er musste auch meine Methode des Nachweises und der Bestimmung als ungenau darstellen. Um dem noch mehr Nachdruck zu geben, sucht er auch das Material, dessen ich mich für die Untersuchung bedient haben soll, zu verdächtigen; endlich wird mir noch Mangel an Gerechtigkeitsliebe schuldgegeben, und da er mich nicht kennt, muss dieser Mangel auch ein allgemein bekannter sein. Der Gebrauch solcher Waffen zeugt von wenig Vertrauen in die Gerechtigkeit der eigenen Sache.

Dass ich in den folgenden Zeilen die Unrichtigkeit der Angaben des Hrn. Loew nachweise, geschieht nicht, um auf seine persönlichen Angriffe zu antworten, sondern um keinen Zweifel darüber aufkommen zu lassen, dass das Lecithin wirklich die allgemeine Verbreitung in den Organismen besitzt, wie ich es bereits mehrmals ausgesprochen habe.

Gleich im Anfang seiner Mittheilung macht Hr. Loew mir den Vorwurf, dass ich mein Verfahren für Nachweis und Bestimmung des Lecithins nicht angegeben habe; jetzt erfahre er erst, wie ich dasselbe «berechne.» Meines Wissens sind die besten Bestimmungsmethoden anorganischer,

und organischer Stoffe meist solche, bei welchen aus einer Verbindung und deren Gewicht eine andere berechnet wird, z. B. Chlorwasserstoff aus Chlorsilber; hieraus einen Vorwurf herleiten zu wollen, kann doch nicht im Ernste gemeint sein. Wenn aber Hr. Loew mein Handb. der physiol.-chemischen Analyse nicht nachgelesen hat, so wenig als meine frühere Arbeit über das Lecithin selbst, und deshalb nicht weiss, wie ich das Lecithin bestimmt und nachgewiesen habe, so zeigt dies doch nur, wie wenig er sich in der Sache orientirt hat. Die von mir benutzte Methode soll nun aber unbrauchbar sein, weil — er völlig darüber im Klaren war, dass die Bierhefe kein Lecithin enthält. Er findet, dass saures Kaliumphosphat in Alkohol, auch etwas in Aether löslich sei. Hoffentlich wird Hr. Loew sich bemühen, diese Löslichkeitsverhältnisse, die den bisherigen Bestimmungen durchaus widersprechen, etwas genauer festzustellen. Ich finde in reinem Aether dieses saure Phosphat absolut unlöslich, habe mich aber auf diesen Gegenstand und das Verhalten dieses Salzes gegen Alkohol nicht weiter eingelassen, weil diese Fragen für die Aufsuchung des Lecithins vollkommen gleichgültig sind. Erst vor Kurzem habe ich abermals hervorgehoben, dass Lecithin beim Abdampfen saurer Lösungen zersetzt werde, es versteht sich hiernach von selbst, dass man sie vor dem Abdampfen mit Natriumcarbonat schwach alkalisch macht. Nach dem Abdampfen bei mässiger Wärme wird der Rückstand entweder direkt mit reinem Aether oder zunächst nochmals mit Alkohol ausgezogen und nach abermaliger Verdampfung das Lecithin u. s. w. mit reinem Aether aufgenommen.

Das Argument des Hrn. Loew gegen die von mir angewendete Methode ist also ganz hinfällig.

Wenn man aber selbst jetzt noch Bedenken trüge, ob nicht Phosphate in der weiter zu behandelnden Lösung zugegen wären, genügt Kochen mit Aetzbarytlösung, um die Phosphorsäure auszufällen und von der in Lösung bleibenden Glycerinphosphorsäure, die aus Lecithin entsteht, zu trennen.

Was die Wahl des Untersuchungsmaterials anlangt, hat Hr. Loew nicht beachtet, dass ich zuerst von Weinhefe gesprochen habe. Die benutzte Weinhefe war aus selbst gekellertem Wein von mir entnommen und frei von fremden Beimengungen. Ich habe mich von ihrer Reinheit durch das Mikroskop und durch Gährungsversuche wohl überzeugt. Später habe ich Bierpresshefe zu meinen Versuchen benutzt; sie war stets geschlämmt und gewaschen und sowohl frei von den gleichgültigen Beimengungen, von denen Hr. Loew spricht, wie Stärkemehl als auch anderen bedeutsameren Resten des Malzes. Auch diese Verdächtigung des Herrn Loew ist grundlos.

Hr. Loew geht dann zur Schilderung eigener Untersuchungen der Presshefe über. 500 gr. Presshefe wird mit 200 Cc. absolutem Alkohol und 400 Cc. Aether dann nochmals mit reinem Aether ausgezogen. Dieser Auszug, der natürlich aus der Presshefe viel Wasser neben Alkohol und Aether enthält, wird verdunstet und der fettige Niederschlag von der wässerigen rückständigen Lösung getrennt, in beiden, wie es unter solchen Verhältnissen nicht anders sein kann, Phosphorsäure gefunden — und dann behauptet, Lecithin sei nicht vorhanden.

Durch diese beschriebene Untersuchung hat Hr. Loew meines Erachtens den Beweis geliefert, dass ich Recht gehabt habe, als ich angab, er sei solchen Untersuchungen nicht gewachsen. Das naive Selbstvertrauen, mit dem er diese Untersuchung publicirt, steht in vollem Einklang mit der von ihm der Münchener Akademie mitgetheilten Entdeckung, dass Nuclein gar nicht existirte.

Hr. Loew theilt dann ein nicht wohl verständliches Verfahren mit, nach dem er aus der Hefe Cholinplatinchlorid erhalten will. Er gewinnt einen Platinchloridniederschlag, der beim Abdampfen der wässerigen Lösung sich theilweise zersetzt. Hieraus schliesst Hr. Loew, dass derselbe kein Cholinplatinchlorid enthalte. Hierfür spricht ihm auch die Krystallisation des Platindoppelsalzes in Nadeln. Es ist soweit man die Darstellung zu durchschauen vermag, gar nicht

einzusehen, warum neben Cholinplatinchlorid nicht auch andere Körper in diesem Niederschlage sich befinden sollen; ferner ist gewiss Allen, die sich eingehend mit den Eigenschaften des Cholin beschäftigt haben, bekannt, dass das Platindoppelsalz desselben, so lange es unrein ist, oft hartnäckig in Büscheln langer Nadeln krystallisirt. Aus Galle habe ich es gewöhnlich zunächst in dieser Krystallform erhalten.

Herr Loew sagt schliesslich in einer Anmerkung: «Gobley's zahlreiche und werthvolle Arbeiten werden freilich von Hoppe-Seyler mit bekannter Gerechtigkeitsliebe kurz dahin resumirt, dass Gobley Phosphor im Lecithin gefunden habe. Siehe Hoppe-Seyler «Physiologische Chemie,» Artikel «Lecithin.» Ich habe gegen diese öffentliche Anklage der Ungerechtigkeit gegen einen verdienten Forscher Folgendes zu sagen: Wenn nicht alle, so sind doch alle wichtigeren Arbeiten von Gobley über das Lecithin in meinem Lehrbuche an der bezeichneten Stelle citirt. Bei der kurzen Fassung, welche ein Lehrbuch erfordert, habe ich kein grösseres Verdienst von Gobley anzugeben gewusst, als dass er in ihm Phosphor zuerst nachgewiesen hat. Die Beziehungen des Lecithins zur Glycerinphosphorsäure, zum Cholin u. s. w. waren nicht allein Gobley unbekannt, sondern er hat überhaupt reines Lecithin nicht gekannt. Dasselbe wurde zuerst von mir aus Eidotter gewonnen und auch krystallisirt dargestellt. Dass ich Letzteres in meinem Buche ganz verschwiegen habe, würde Hr. Loew, wenn er davon gewusst, gewiss auch auf einen Mangel an Gerechtigkeitsliebe beziehen, wenn es nicht mich selbst sondern einen Anderen beträfe.

Von Diaconow ist die Constitution des Lecithins zuerst ermittelt, von Strecker im Wesentlichen bestätigt. Vor den Arbeiten Liebreich's über das Protagon und von Diaconow über Lecithin hat Strecker sein Cholin in keine Beziehung zum Lecithin gebracht; er liess vielmehr in seinem Laboratorium Versuche ausführen zur synthetischen Gewinnung des Lecithins aus fetten Säuren, Phosphorsäure

und Glycerin: er hielt also das Lecithin für stickstofffrei. Noch jetzt wird in einigen Lehrbüchern das Cholin als Bestandtheil der Galle aufgeführt, obwohl Strecker es durch Einwirkung von Aetzbaryt auf das Lecithin der Galle erhalten hat.

Man wird es mir nach dem Gesagten nicht verargen, wenn ich auf etwaige weitere Angriffe von Hr. Loew nicht antworte. Ich würde auch die Leser der Zeitschrift mit dieser Kritik und den Erläuterungen, die sich bei der ersten Durchlesung des Artikels von O. Loew ergaben, verschont haben, wenn ich nicht es unter diesen Umständen, die doch in Einen oder Anderen Zweifel erregen können, für zweckmässig erachtet hätte, weitere Beweise für das Vorhandensein von Lecithin in der Hefe zu suchen. Ich habe hierfür theils frische, gereinigte Presshefe, theils Alkoholätherextrakt derselben, das von Hrn. Dr. Kossel bei der Untersuchung des Nuclein der Hefe gewonnen war, benutzt. Die Alkohol- und Aetherextrakte wurden mit Na_2CO_3 schwach alkalisch gemacht, abgedampft und der Rückstand mehrmals mit Aether extrahirt, der Aether abdestillirt, der Rückstand bei mässiger Wärme getrocknet, wieder mit Aether ausgezogen und diese Behandlung noch zweimal wiederholt. Der dann erhaltene Rückstand der Aetherlösung wurde 6 Stunden mit gesättigter Aetzbarytlösung im Sieden erhalten, dann der Barytüberschuss durch Kohlensäurestrom entfernt, die filtrirte Lösung eingedampft, nochmals filtrirt zur Abscheidung von etwas allmählich abgeschiedenen Bariumcarbonat, dann zum Syrup verdunstet und dieser mit absolutem Alkohol ausgezogen, der jetzt bleibende Rückstand mit Wasser extrahirt; er löste sich bis auf ein Paar Flocken, die abfiltrirt wurden, in wenig Wasser vollkommen. Die wässerige Lösung (I) musste glycerinphosphorsauren Baryt, die alkoholische (II) das Cholin enthalten.

Die wässerige Lösung (I) gab mit verdünnter Schwefelsäure reichlichen Niederschlag von Bariumsulfat. Nach Ausfällung des Barium wurde filtrirt und in zwei Theile getheilt. Die eine Portion der Flüssigkeit wurde mit reiner Soda ver-

ascht, die geschmolzene Masse in Wasser gelöst, mit Salzsäure angesäuert, mit Ammoniumchlorid und überschüssigem Aetzammoniak, dann mit ammoniakalischer Magnesiamischung versetzt. Als bald trat die Bildung des Ammoniummagnesiumphosphatniederschlags ein. Der andere (grössere) Theil der von Barium befreiten wässerigen Lösung wurde auf kleines Volumen abgedampft, in ein mit Kühler verbundenes Kölbchen gebracht, saures Kaliumsulfat zugefügt und allmählich stärker und stärker erhitzt. Das Destillat zeigte den unverkennbaren Geruch und die reizende Wirkung des Acrolein, gab mit Silberoxyd geschüttelt, reducirtes Silber und die abfiltrirte Lösung schwärzte sich beim Abdampfen durch weitere Ausscheidung reducirten Silbers. Das Glycerin, aus welchem diese Acroleinreactionen allein hergeleitet werden können, konnte nur als glycerinphosphorsaures Salz der Lösung in Alkohol entgangen sein.

Die oben mit (II) bezeichnete alkoholische Lösung wurde mit alkoholischer Platinchloridlösung gefällt, der Niederschlag nach dem Abfiltriren in Wasser gelöst, die wässerige Lösung zur Krystallisation verdunstet. Es bildeten sich grosse Büschel orangefarbiger Nadeln. Dieselben gaben bei 100° getrocknet, in Wasser gelöst (die Lösung ist unvollständig) und Fällung mit SH_2 nur 26,8% Pt. Die abfiltrirte salzsaure Lösung eingedampft zur Trockenheit, der Rückstand mit absolutem Alkohol gelöst wieder mit PtCl_4 gefällt, abermals krystallisirt und das Platin in der getrockneten Substanz bestimmt, ergab 28,9% Pt. Bei nochmaliger Wiederholung wurden 31% Pt. erhalten. Das Doppelsalz war durch diese Wiederholung der bezeichneten Prozeduren reiner geworden, aber noch nicht frei von fremden Beimengungen. Es wurde nun die durch SH_2 von Platin befreite wässerige Lösung durch Abdampfen von Ueberschuss an Salzsäure befreit, dann durch Silberoxyd in der Lösung des Rückstandes in wenig Wasser das Chlor völlig abgetrennt und die abfiltrirte stark alkalisch reagirende Flüssigkeit auf ein sehr kleines Volumen eingeeengt. Wie dies mit dem Cholin stets geschieht, hatte sich ein wenig Silber gelöst und wurde beim Erwärmen

reducirt. Die concentrirte Lösung wurde aus kleinem Kölbchen destillirt bis zur Trockne. Das Destillat besass intensiven Geruch nach Trimethylamin und behielt auch nach dem Abdampfen auf dem Wasserbade stark alkalische Reaction. Der syrupöse Rückstand in alkoholischer Lösung mit alkoholischem Platinchlorid gefällt, gab einen leicht und vollkommen in Wasser löslichen hellgelben Niederschlag. Aus der concentrirten wässerigen Lösung schieden sich beim Stehen über concentrirter Schwefelsäure die schönen orange-farbigem, sechsseitigen Tafeln des Cholinplatinchlorides aus.

Da bei dieser Destillation viel Cholin verloren geht, würde es zweckmässiger sein, dasselbe nach dem von Schmiedeberg und Harnack¹⁾ befolgten Verfahren mässiger Oxydation mit Salpetersäure zu reinigen.

Diese Reactionen sind mit den Aetherauszügen aus frischer reiner Presshefe und aus weniger gereinigter Presshefe in ganz gleicher Weise eingetreten. Ja selbst beim vorsichtigen Eindampfen des nicht neutralisirten Alkoholauszuges von Presshefe habe ich Glycerinphosphorsäure und Cholin nachzuweisen vermocht. 100—200 gr. Hefe sind für den Nachweis der Glycerinphosphorsäure und ihre Bestimmung völlig ausreichend. Für die Untersuchung des Cholin in oben beschriebener Weise sind dagegen grössere Quantitäten erforderlich.

Die Anwesenheit des Lecithin in der Bierhefe ist sonach mit mindestens derselben Sicherheit nachgewiesen als in irgend welchen anderen Substanzen ausser dem Eidotter, aus dem man es nach dem früher von mir beschriebenen Verfahren rein gewinnen kann.

¹⁾ Arch. f. exper. Path. Bd. V., S. 101 u. chem. Centralbl. 1876. S. 554.