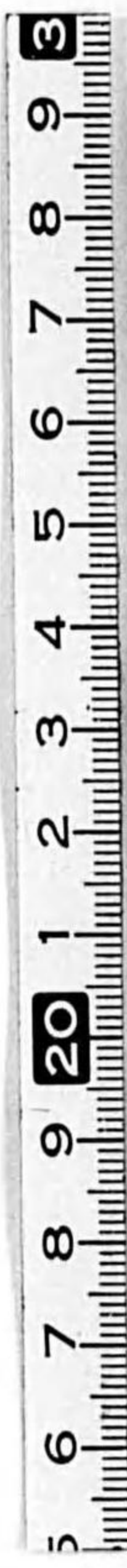


始



各務研究報告 第二
政大高等農林學校

14.5
238

KAGAMI KENKYU HÔKOKU

(Research Bulletin of the Gifu Imperial
College of Agriculture)

No. 2.

Zur physikalisch-chemischen Untersuchung

der

Phosphatide

von

Koretoahi Ose

PUBLISHED BY THE COLLEGE

GIFU, JAPAN

JANUARY, 1929

14.5-238

Zur physikalischen-chemischen Untersuchung der Phosphatide.

von

Koretoshi Ose.

Landwirtschaft Hochschule Gifu, Japan.

I. Die Elektrodialyse von Lecithinemulsionen.

Georg Trier vertritt in Bezug auf den Untersuchungsangang eines Phosphatides in seinem Werk "Ueber einfache Pflanzenbasen und ihre Beziehungen zum Aufbau der Eiweißstoffe und Lecithin" die Meinung, daß eine genaue Charakterisierung eines Phosphatides erst dann erfolgen kann, wenn wir die Art seiner Spaltungsproducte, ihre Menge und ihre gegenseitige Lage und Bindung im Molekül kennen.

Die chemischen Untersuchungen der Phosphatide sind trotz der mannigfaltigen Arbeiten vieler Autoren, die oben angeführten Gesichtspunkte berücksichtigt haben, bis in die Gegenwart noch nicht erschöpfend durchgeführt.

Selbst bezüglich des Lecithins, welches unter diesen Verbindungen als das einfachste und als typisch betrachtet werden kann, liegen verschiedene Angaben vor, so z. B. bezüglich seines Molekulargewichtes, welches Thudichum mit 773, Erlandsen mit 785, Thierfelder und Stern mit 771 und Hiestand für Eigelblecithin mit 1446 angibt. (1)

Die Verschiedenheit der Resultate ist darauf zurückzuführen, daß, wie von vielen Autoren beobachtet werden konnte, die Phosphatide sehr labile Stoffe sind, die durch Licht, Temperatur, verdünnte Säuren und indifferente organische Lösungsmittel gespalten oder wenigstens insofern verändert werden, daß ihr P : N Verhältnis sich ändert. (2) Dazu kommt noch das hohe Molekulargewicht des Lecithins und sein kolloidales Verhalten, wodurch die Reinigung und Untersuchung erschwert wird.

Seitdem Thudichum gezeigt hat, daß das Lecithin durch Versetzen mit Wasser und Umrühren quillt und sich zu einer homogenen, filtrierbaren Suspension verteilt und eine kolloidale Lösung wird, haben sich

收
農
林
学
校
寄
贈
本



viele Autoren mit der physikalischen Untersuchung des Lecithins beschäftigt. Ueber gewisse kolloidchemische Eigenschaften der reinen Lipoiden und ihrer Gemische war man hauptsächlich durch die Untersuchungen von Porges und Neubauer (3), sowie Handovsky und Wagner (4) und Neuschloss (5) unterrichtet.

In den letzten Jahren hat die Verwendung der Elektrodialyse für die Untersuchung der Eiweißkörper in den Händen Wo. Paulis und seiner Mitarbeiter wesentliche Fortschritte in der Erkenntnis der physikalisch-chemischen Eigenschaften der Proteine gebracht.

Walter Beck (6) hat, um Lecithin zu reinigen, diese elektrische Dialyse-Methode angewandt und auf diese Weise seine Untersuchungen über die Sensibilisierung und Schutzwirkung der Lipoiden angestellt. Wenn man wie bei der Eiweißlösung diese Methode auch für die Lecithinreinigung verwendet und durch den elektrischen Strom keine Veränderungen feststellen kann, wird diese Reinigungsmethode bei der quantitativen Bestimmung des Lecithins am sichersten und sehr praktisch sein. Aber wie schon erwähnt, ist das Lecithin ein sehr labiler Stoff und es ist anzunehmen, daß durch diese Reinigungsmethode, z. B. durch die Stromstärke oder durch die Länge der Dialysier-Dauer das Lecithin eine Veränderung erfährt. Wenn das Lecithin durch den Strom zersetzt wird, so haben wir die Möglichkeit, indirekt die Art seiner Spaltungsprodukte und ihre Menge durch die chemische Untersuchung der Lösungen an den beiden Polen kennen zu lernen. Falls das Lecithin durch den elektrischen Strom keinen Einfluss erfährt, sondern nur die Elektrolyte beseitigt werden, kann man mit dem auf diese Weise gereinigten Lecithin die Untersuchungen bezüglich seiner chemischen und physikalischen Eigenschaften erweitern.

Da die Untersuchung der elektrischen Einwirkung auf Lecithinemulsion interessante Aufschlüsse versprach, wurde sie zum Gegenstand dieser Arbeit gewählt.

Alle Leitfähigkeitsmessungen wurden bei 25° C ausgeführt, die H-Aktivitäten mit der rotierbaren Gaselektrode von Pauli gemessen. Zur Elektrodialyse wurden die Apparate von Pauli verwendet, die von Fritz

Köhler, Leipzig, in einer besonders handlichen, neuen Type hergestellt werden.
Experimenteller

Experimenteller Teil.

Das als Ausgangsmaterial verwendete Lecithin war das käufliche Lecithin puriss. ex Ovo Merck und die zur Verwendung gelangten Emulsionen wurden auf nachstehende Art nach Porges und Neubauer (7) dargestellt:

Eine Lösung von Merckschen Lecithin in reinem Aether wird in eine bestimmte Menge destillierten Wassers eingetragen, hierauf der Aether durch Luftdurchleiten vollständig entfernt. Es resultierte eine homogene haltbare Suspension. Eine auf diese Weise hergestellte Lecithinemulsion wurde in den Elektrodialyse-Apparat nach Pauli (300 cm) hineingegeben und unter 220 V (es wurden 2 Kohlenfadenlampen vorgeschaltet) der Elektrodialyse unterworfen. Die Lampen glühen, wenn die Konzentration der Emulsion groß ist und diese ist aus der Leitfähigkeit bei den verschiedenen Konzentrationen der Lecithinemulsionen aus folgender Tabelle ersichtlich:

Tabelle I.

| | | | | |
|----------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| % Lecithinemulsion | 1,00% | 0,50% | 0,25% | 0,125% |
| Leitfähigkeit (T=25) | 1,822.10 ⁻⁴ | 1,136.10 ⁻⁴ | 6,937.10 ⁻⁵ | 4,126.10 ⁻⁵ |

| | | | | |
|----------------------|------------------------|------------------------|------------------------|--|
| % Lecithinemulsion | 0,063% | 0,031% | 0,015% | |
| Leitfähigkeit (T=25) | 2,363.10 ⁻⁵ | 1,267.10 ⁻⁵ | 7,408.10 ⁻⁶ | |

Wie die Tabelle I zeigt, enthält die Lecithinemulsion ziemlich viele Elektrolyte und ändert ihre elektrische Leitfähigkeit je nach der Konzentration.

Schon einige Minuten nach Durchgang des elektrischen Stromes

beobachtet man Kataphorese und zwar geht die Lecithinemulsion nach und nach zur Anode unter Abtrennung der wässrigen Lösung. Nach einigen Stunden ist das Lecithin von der wässrigen Lösung völlig getrennt und haftet am Pergamentpapier der Anode in dicker Schichte und zwar ist die Lecithinschichte in der Farbe um so intensiver, je näher sie zum Pergamentpapier liegt. Wenn das ganze Lecithin vom Pergamentpapier absorbiert ist, schaltet man den elektrischen Strom aus, rührt den Inhalt zwischen den beiden Pergamentpapieren mit einem Glasstab um, wodurch man wieder eine Emulsion bekommt und schaltet sodann den elektrischen Strom wieder ein. Im Laufe der elektrischen Dialyse wechselte man das Wasser an den beiden Polen, maß die elektrische Leitfähigkeit und die Wasserstoffzahl der Lösungen und führte ihre qualitative Untersuchung aus. Die folgende Tabelle II und Tabelle III enthält die Veränderung der elektrischen Leitfähigkeit und Wasserstoffzahl an der positiven und negativen Elektrode und die der Lösung im Mittelraum während der Elektrodialyse.

Tabelle. II

Die Veränderungen der elektrischen Leitfähigkeit.

| | Kathode | Mittelraum | Anode |
|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------------|--------------------------|-------------------------|
| | Wasser | 1% Lecithin- emulsion | Wasser |
| Leitfähigkeit am Beginn | $K=4,758 \cdot 10^{-6}$ | $K=1,822 \cdot 10^{-4}$ | $K=4,758 \cdot 10^{-6}$ |
| Zur Elektrodialyse gebrauchte Studenanzahl | Die Veränderungen der elektrischen Leitfähigkeit | | |
| | Kathod | Mittelraum | Anode |
| Nach 22 Stunden | $7,613 \cdot 10^{-4}$ | $2,014 \cdot 10^{-5}$ | $8,847 \cdot 10^{-6}$ |
| „ 42 „ | $8,109 \cdot 10^{-5}$ | | $2,365 \cdot 10^{-4}$ |
| „ 16 „ | $3,072 \cdot 10^{-5}$ | $2,284 \cdot 10^{-5}$ | $7,829 \cdot 10^{-5}$ |
| „ 18 „ | $1,067 \cdot 10^{-5}$ | | $6,656 \cdot 10^{-5}$ |
| „ 24 „ | $1,069 \cdot 10^{-5}$ | $1,099 \cdot 10^{-5}$ | $3,581 \cdot 10^{-5}$ |
| „ 24 „ | $1,141 \cdot 10^{-5}$ | $1,780 \cdot 10^{-5}$ | $4,988 \cdot 10^{-5}$ |
| „ 72 „ | $1,844 \cdot 10^{-6}$ | $2,104 \cdot 10^{-5}$ | $1,676 \cdot 10^{-4}$ |
| „ 42 „ | $8,499 \cdot 01^{-6}$ | $2,103 \cdot 10^{-5}$ | $1,711 \cdot 10^{-4}$ |

Aus der Tabelle ist die Tatsache ersichtlich, daß im Verlaufe der Dialysen-Dauer die Leitfähigkeit der Flüssigkeiten an der Anode, an der Kathode und im Mittelraum sich bis zu einem gewissen Punkt vermindert und zwar dauert bei der Kathodenflüssigkeit dieses Herabsinken der Leitfähigkeit länger als bei der Anodenflüssigkeit und im Mittelraum, wo ein Ansteigen von einem Minimum aus stattfindet und zwar laufen die beiden letzteren Werte parallel.

Tabelle III.

Die Veränderungen der Wasserstoffzahl.

P_n der Elektrodialyse unterworfenen 1% Lecithinemulsionen = 3,8124

| P_n des verwendeten Wassers = 6,220 | | |
|---------------------------------------|-------------|-----------|
| Dauer der ED | P_n | |
| | der Kathode | der Anode |
| nach 22 Stunden | 11,3586 | 4,7590 |
| „ 42 „ | 9,754 | 3,3476 |
| „ 16 „ | 7,685 | 3,2099 |
| „ 18 „ | | |
| „ 24 „ | 7,1687 | 6,2220 |
| „ 24 „ | 6,4803 | 3,9846 |
| „ 72 „ | | 3,5542 |
| „ 42 „ | 6,2200 | 3,3831 |

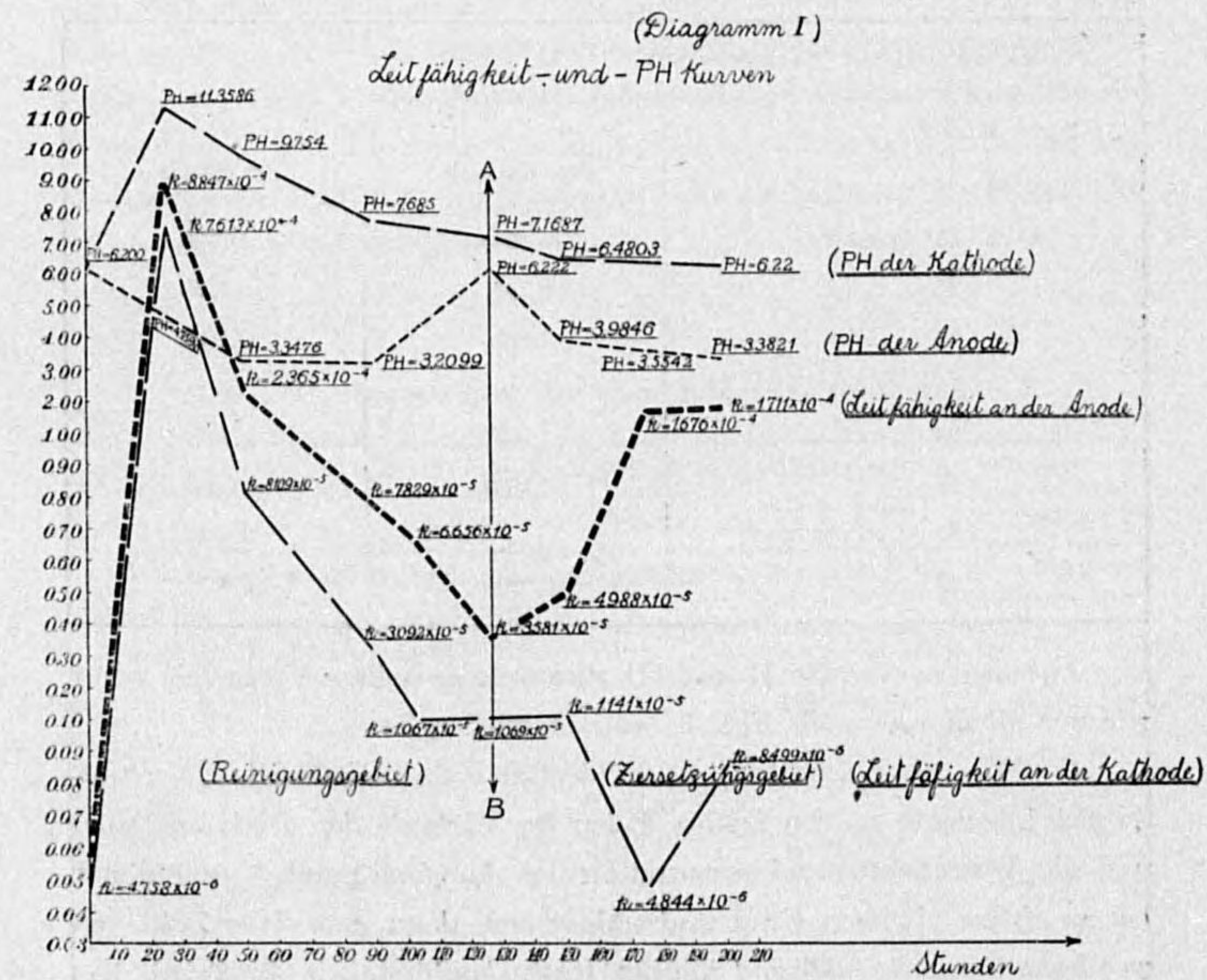
Aus den in Tabelle II und III zusammengestellten Versuchen sehen wir vor allem was auch Fig. I deutlich wiedergibt.

1. Wie schon erwähnt, vermindert sich die Leitfähigkeit der wässrigen Lösungen an den beiden Polen im Verlaufe der Dialysen-Dauer und die Wasserstoffionenkonzentration der Anodenflüssigkeit erhöht sich bis zu einem gewissen Grad und nähert sich dann dem Wert des verwendeten Wassers, während die der Kathodenflüssigkeit allmählich dem Wert des Wassers nahe kommt. Auf Grund dieser Resultate kann man die Leitfähigkeitskurven d.h. für die Anode von $K=8,847 \cdot 10^{-4}$ bis

$K=3,581 \cdot 10^{-5}$, für die Kathode von $K=7,613 \cdot 10^{-4}$ bis $K=4,844 \cdot 10^{-6}$, als auch die P_H -Kurven d.h. bei der Anode $P_H=4,7590$ bis $P_H=6,222$, bei der Kathode von $P_H=11,3586$ bis $P_H=7,1687$, als Reinigungskurven bezeichnen. In Diagramm. 1 liegen diese links von der Linie $A-B$.

2. Während der Reinigung ist die elektrische Leitfähigkeit der wässrigen Lösung der Anode immer höher als die der Kathode.

3. Nach der Reinigung erhöht sich die Leitfähigkeit und die Wasserstoffionenaktivität der anodischen wässrigen Lösung wieder, dagegen nimmt bei der Kathode der P_H Wert bis zum Wert des Original-Wassers



ab und die Leitfähigkeit hat die Tendenz weiter zu fallen.

Die rechte Seite von der Linie $A-B$ (Diagramm I) zeigt diese Verhältnisse und zwar die Zersetzung.

Es ist bemerkenswert, dass die Differenz der Leitfähigkeiten beider Pole am Anfang nicht groß ist, daß sie sich aber im Verlaufe der Zeit vergrößert und besonders nach der Zersetzung sehr groß ist.

Die oben erwähnten Resultate führen zu folgender Auffassung:

1. Das käufliche Lecithin enthält ziemlich viele Elektrolyte, mit denen es anscheinend in einem Zustandgleichgewicht steht.

2. Sobald die Beseitigung dieser Elektrolyte einem höheren Grad erreicht hat, wird das Lecithin durch den elektrischen Strom zersetzt. Die Tatsache, daß eine Zersetzung stattgefunden hat, kann man aus dem neuerlichen Anstieg der Leitfähigkeit und der H -Aktivität der Anodenflüssigkeit erkennen.

Aus den physikalischen Messungen allein läßt sich nicht entnehmen, ob alle Lecithine im Mittelraum durch den elektrischen Strom zersetzt werden oder nicht, da ja bekanntlich das Eigelblecithin ein Gemisch verschiedener Lecithine darstellt.

Tabelle IV.

Das chemische Verhalten der Flüssigkeiten in den beiden Außenzellen während der Elektrodialyse.

| Reaktionen | Kathode | | Anode | |
|----------------------|-------------------------------------|---------------------|--------------------|---------------------|
| | vor der Zersetzung | nach der Zersetzung | vor der Zersetzung | nach der Zersetzung |
| Eiweisreaktion | - | - | - | - |
| Sublimat Lös. | - | - | - | - |
| Pikrinsäure | - | - | - | - |
| Kupfer Sulfat | In der Kälte (-) ,, ,, Wärme (+) | | - | - |
| Neutral Bleiazetat | + | - | + | - |
| freie Phosphorsäure | - | - | + | + |
| Stickstoff | + | + | - | + |
| Kohlensäure | - | - | + | - |
| Silbernitrat | + | + | + | + |
| Phosphorwolframsäure | - | + | - | + |

Die Tabelle IV gibt die Reaktionen in zwei verschiedenen Zeitabschnitten der Elektrodialyse wieder: zunächst nach 22-stündiger Elektrodialyse (vor der Zersetzung) und zwar ist $K=7,613 \cdot 10^{-4}$ für die Kathode und $K=8,847 \cdot 10^{-4}$ für die Anode. Und die nach der Zersetzung und zwar: $K=1,711 \cdot 10^{-4}$ für die Anode und $K=8,499 \cdot 10^{-6}$ für die Kathode.

Tabelle V.

Leitfähigkeit und chemische Reaktionen der Lösungen beider Pole während der Elektrodialyse.

| Anodenflüssigkeit | | | Kathodenflüssigkeit | |
|-----------------------|------|-----------------|-----------------------|------|
| Leitfähigkeit | N | PO ₄ | Leitfähigkeit | N |
| $3,241 \cdot 10^{-4}$ | - | + | $1,853 \cdot 10^{-4}$ | + |
| $1,375 \cdot 10^{-4}$ | - | Spur | $6,937 \cdot 10^{-5}$ | + |
| $8,556 \cdot 10^{-5}$ | - | Spur | $2,694 \cdot 10^{-5}$ | Spur |
| $4,900 \cdot 10^{-5}$ | - | - | $1,242 \cdot 10^{-5}$ | - |
| $7,322 \cdot 10^{-5}$ | Spur | + | $1,311 \cdot 10^{-5}$ | - |
| $1,300 \cdot 10^{-4}$ | + | + | $5,619 \cdot 10^{-6}$ | - |
| $1,520 \cdot 10^{-4}$ | + | + | $8,776 \cdot 10^{-6}$ | Spur |

In der Tabelle IV sowie in der Tabelle V sind die Reaktionen der freien Phosphorsäure und des Stickstoffs besonders bemerkenswert.

Um die Erklärung dieser beiden Tabellen zu erleichtern, will ich vorerst die zwei genannten Reaktionen besprechen.

1. In der Kathodenflüssigkeit kann man:

- a. Stickstoff sowohl vor der Zersetzung als auch nach der Zersetzung nachweisen,
- b. freie Phosphorsäure wurde in beiden Fällen nicht nachgewiesen.

2. In der Anodenflüssigkeit konnte man:

- a. Stickstoff nicht vor der Zersetzung, sondern erst im Gebiete der Zersetzung nachweisen.
- b. freie Phosphorsäure wurde in beiden Fällen nachgewiesen.

Ferner sind die Beziehungen zwischen den Veränderungen der Leitfähigkeit und dem chemischen Verhalten, besonders die des Stickstoffs und der freien Phosphorsäure während der Elektrodialyse von Interesse (Diagramm II).

(Diagramm II)

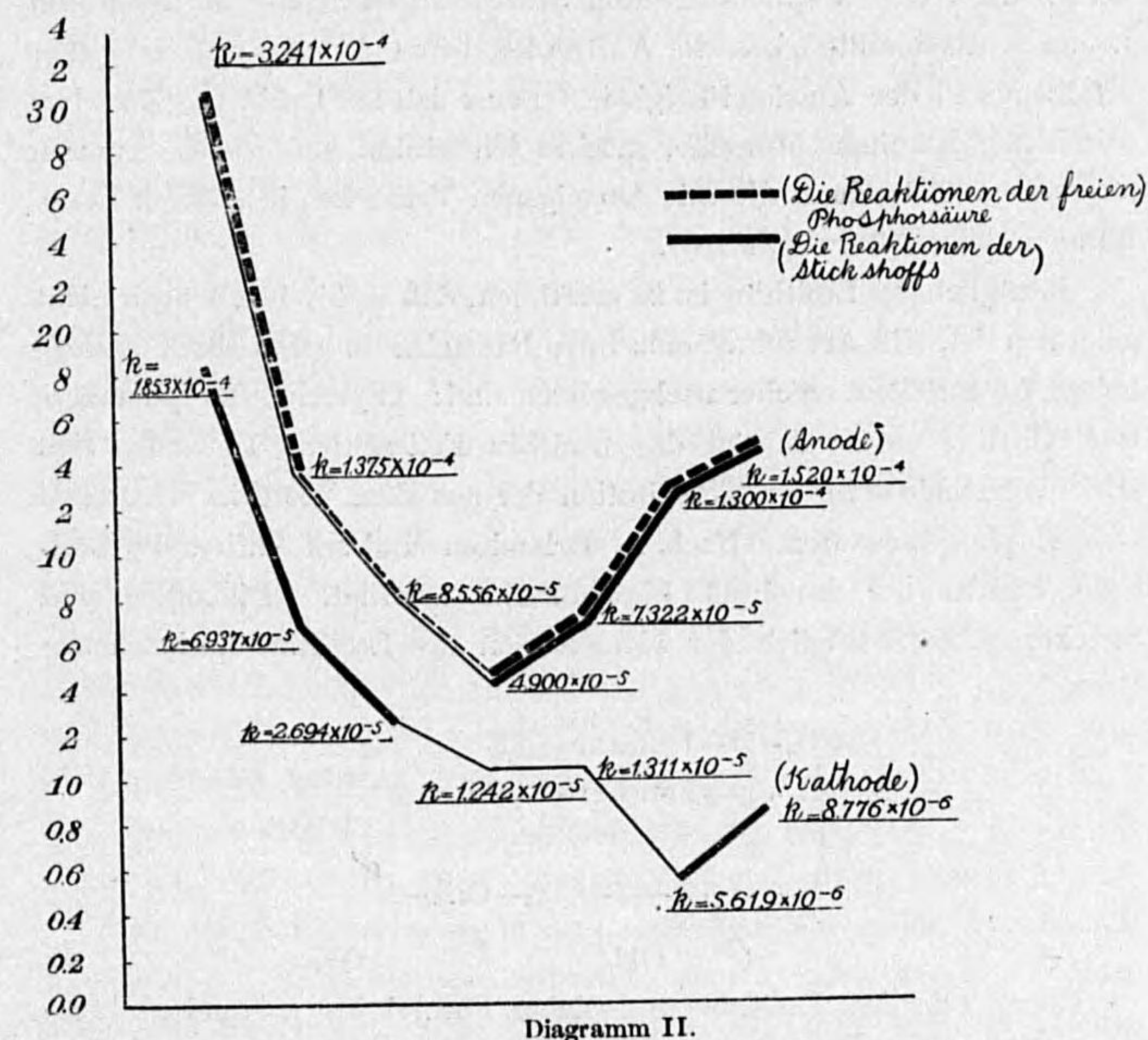


Diagramm II.

Wie Tabelle V sowie Diagramm II deutlich zeigt, wird in der Anodenflüssigkeit die Reaktion auf freie Phosphorsäure immer schwächer bis sie endlich ganz verschwindet; ebenso tritt eine Verminderung der Leitfähigkeit der Lösung ein.

In der Kathodenflüssigkeit vermindert sich die Reaktion auf Stickstoff zusammen mit der Leitfähigkeit bis beide endlich ganz verschwinden.

Wir wollen jetzt auf Grund der Tatsachen, die aus den oben erwähnten Ergebnissen der Arbeiten vieler Autoren bezüglich des Eigelblecithins, sowie der qualitativen Untersuchungen, insbesondere betreffend die Reaktionen von Stickstoff und freier Phosphorsäure, die in Tabelle IV und V enthalten sind, resultieren, die chemischen Veränderungen des käuflichen Lecithins während der Elektrodialyse besprechen.

Man nimmt an, daß das Lecithin durch Hydrolyse in Glycerophosphorsäuren, Fettsäuren und Cholin und die Glycerophosphorsäure wieder in Glycerin und freie Phosphorsäure gespalten wird. Die Tatsache, daß man die Zersetzung durch die Anwesenheit von freier Phosphorsäure, sowie Stickstoff nachweisen kann, ermöglicht uns, zu zeigen, daß das käufliche Eigelblecithin schon zum Teil zersetzt ist und daraus erklärt sich auch das Verhältnis zwischen der Leitfähigkeit und der Konzentration der Lecithinemulsion. (Tabelle I). Ferner kann man die Verminderung der Leitfähigkeit der Lösungen beider Pole im Verlauf der Elektrodialyse folgendermaßen erklären:

Die Basen und die freie Phosphorsäure, die durch Zersetzung entstanden sind, werden durch den elektrischen Strom je nach ihrer Ladung zu den beiden Polen transportiert, wodurch der Inhalt des Mittelraumes nach und nach gereinigt wird.

Bezüglich der Verhältnisse nach der Zersetzung gilt dieselbe Erklärung. Die Tatsache, dass nach der Zersetzung die Anwesenheit von Stickstoff und freier Phosphorsäure immer zusammen nachgewiesen werden kann, führt uns zu der Ansicht, daß durch die Zersetzung des Lecithins zuerst die Basen-Phosphorsäure-Verbindung vom Glycerinradikal abgetrennt und in Phosphorsäure und die entsprechenden Basen gespalten wird. (Tabelle IV und V). Aus diesen Tatsachen wir uns ein Bild von der Molekularkonstruktion des Lecithins und den verschiedenen Bindungskräften zwischen den einzelnen Bestandteilen des Lecithins entwerfen. Da das Eigelblecithin, wie schon erwähnt, eine sehr komplizierte Verbindung und nach allgemeiner Ansicht ein Gemisch verschiedener Lecithine darstellt, wird der Einfluß des elektrischen Stromes auf das Lecithin während der Elektrodialyse auch nicht einfach sein. Es werden sich je

nach der Art der Base und der Fettsäuren des Lecithinmoleküles Schwierigkeiten bei der Zersetzung ergeben und es werden die Zersetzungsverhältnisse verschieden sein. Wenn man aber diese Untersuchungsmethode gründlich ausführt, indem man erstens die Untersuchung des Reinigungsverhältnisses durch qualitative und besonders durch quantitative Bestimmung der Lösungen beider Pole vornimmt, als auch die Substanz, die nach der Reinigung im Mittelraum bleibt, untersucht und zweitens ganz dieselben Versuche nach der Zersetzung anstellt, kann man bestimmt eine genaue Charakterisierung, wie Trier gezeigt hat, geben.

Zur näheren Orientierung wurden noch einige Beobachtungen über die Lösungen beider Pole angestellt und zwar:

1. wurde, um die Substanz, welche Stickstoff enthält und im Laufe des Reinigungsverfahrens, sowie nach der Zersetzung in der kathodischen Lösung nachgewiesen worden ist, zu bestimmen, eine nähere Untersuchung derselben ausgeführt, indem die Lösungen gesammelt, mit HCl angesäuert und dann mit Phosphorwolframsäure gefällt wurden. Der Niederschlag wurde abfiltriert, gewaschen, mit Baryt zersetzt, mit kochendem Wasser extrahiert, filtriert, dann mit CO₂ der überschüssige Baryt entfernt, mit HCl angesäuert und im Wasserbade eingeeengt. Der Rückstand wurde mit Alkohol extrahiert und mit dieser alkoholischen Lösung die Alloxanreaktion ausgeführt, welche stark positiv ausfiel. Mit 10% Goldchlorid ergab diese alkoholische Lösung Krystalle, die für das Cholin Goldsalz typisch sind und zwar Oktaeder und Würfel. Ich konnte in diesen Krystallen die Anwesenheit von Stickstoff nachweisen, doch war es mir wegen der geringen Ausbeute leider unmöglich, eine weitere quantitative Untersuchung vorzunehmen. Wenn man die wässrigen Lösungen beider Pole während der Elektrodialyse nicht wechselt, so kann man nach einigen Wochen eine ölartige Schichte auf der anodischen Lösung beobachten.

II Ueber die Substanzen im Mittelraum nach etwa 1 Monat langer Elektrodialyse.

Wie schon erwähnt, beobachtet man schon einige Minuten nach

Durchgang des elektrischen Stromes Kataphorese und zwar geht die Lecithinemulsion nach und nach zur Anode unter Abtrennung der wässrigen Lösung. Wenn das ganze Lecithin, das sich dabei in eine braune und weiße Schichte trennt, am Pergamentpapier anliegt, rührt man den Inhalt zwischen den beiden Pergamentpapieren mit einem Glasstab um, wodurch man wieder eine Emulsion bekommt. Wird nach dieser Methode etwa einen Monat hindurch die Elektrodialyse fortgeführt, so beobachtet man, daß die braune Substanz sich nach und nach vermindert, während die weiße Substanz sich vermehrt und dann auf dem Boden des Mittelraumes bei der Anode niederschlägt.

Im Laufe des oben erwähnten Vorganges habe ich die weiße Substanz wiederholt mikroskopisch untersucht und nach 3 Wochen etwa das Entstehen nadelförmiger Krystalle in der weißen Substanz beobachten können und zwar haben sich die Krystalle im Laufe der Zeit immer deutlicher ausgebildet und vermehrt. Um die krystallinische Substanz von dem Gemisch weißer und brauner Substanz abzutrennen, wurden zwei verschiedene Methoden angewendet.

Methode A.

Nach der ersten Methode wurde die Masse, die an der Anode emulgiert zentrifugiert und eine Abtrennung von der Art erhalten, das sich die weiße Substanz am Boden der Eprouvette, die weiße kolloidale Lösung darüber als Mittelschicht und die braune oben befand. Die erwähnte weiße krystallinische und die braune Substanz wurden zuerst in 96% igem kaltem Alkohol gelöst und zwar hatte die alkoholische Lösung der weißen krystallinischen Substanz eine schwach-gelbliche Farbe und die der braunen Substanz eine hellbraune Farbe. Um die weiße Substanz zu reinigen, wurde die alkoholische Lösung im Vacuum getrocknet, wobei ein Gemisch von weißer und brauner wachsartiger Substanzen resultierte.

Dieses Gemisch wurde mit 96% igem kaltem Alkohol behandelt. Der weiße Bestandteil erwies sich darin als schwer löslich, während die braune Substanz leicht löslich war. Auf Grund dieses verschiedenen

Verhaltens ließ sich die Trennung der beiden Substanzen durch wiederholte Behandlung mit 96% igem Alkohol ausführen und schließlich eine ganz weiße, wachsartige Substanz gewinnen. Die abgetrennte braune alkoholische Lösung wurde mit der oben erwähnten gelben Lösung vereinigt. Bei der Untersuchung der beiden Substanzen zeigten diese folgende Eigenschaften:

1. Die braune Substanz ist eine teigige Masse, die sich nicht pulverisieren läßt, sie schmilzt bei 50.5° und ist in Aether, Benzol und Alkohol leicht löslich, besonders aber in warmem Alkohol. In Wasser ist sie unlöslich, quillt aber auf, wenn man sie darin umrührt. Die weiße Substanz stellt nach dem Trocknen im Vakuum-Exsikkator ein weißes Pulver dar, von einem Schmelzpunkt 57.5° und zeigt bezüglich der Löslichkeit, in den angeführten Lösungsmitteln ähnliches Verhalten wie die braune Substanz, nur ist sie in kaltem Alkohol schwer löslich.

Wird die braune Substanz in Alkohol gelöst und über Nacht ruhig stehen gelassen, erhält man schwach-gelblich gefärbte Krystalldrusen von kugelförmiger Gestalt, die aus feinen, dünnen Nadeln bestehen. Erwärmt man diese Krystalle auf dem Wasserbade oder über der Flamme, dann verschwinden sie unter Bildung eines öligen Tröpfchens. Die Krystallisation dieser Substanz ist in beträchtlichem Maße von der Konzentration der alkoholischen Lösung sowie von der Temperatur abhängig; beträgt diese mehr als 20°, so ist die Krystallisation sehr schwer zu erlangen. *abb. I* zeigt diese Krystalle.

Wenn man die weiße Substanz in warmem Alkohol löst, so bekommt man nach dem Verdampfen des Alkohols, eine weiße, wachsartige Masse, die unter dem Mikroskope schöne Krystalle (*abb. II*) zeigt. Auch hier muß bemerkt werden, daß sich die Krystallisation je nach der Konzentration der alkoholischen Lösung und je nach der Temperatur und dem Drucke verändert. (*abb. II A bis D*).

2. Die alkoholischen und die wässrigen Lösungen der weißen krystallinischen Substanz verhalten sich gegen Lakmuspapier sauer, die braunen ebenfalls sauer.

Durch Zusatz von mineralischen oder organischen Säuren wie auch

von Salzen, (z. B. Salzsäure, Salpetersäure, Phosphorwolframsäure, Pikrinsäure, Ammonsulfat) zu den alkoholischen Lösungen der beiden Substanzen flocken diese wieder aus.

4. Durch Zusatz von Alkohol sowie Kali- oder Natronlauge wird die wässerige, kolloidale Lösung beider Substanzen völlig klar.

5. Wird die weiße bzw. die gelbe Substanz auf dem Platinblech erhitzt, so beobachtet man, daß sie zuerst schmilzt, dann flüchtig wird und sich nur sehr schwer veraschen läßt. Daher ist die qualitative Bestimmung von Phosphor sehr schwer auszuführen, da man für diese Bestimmung bekanntlich die Substanz erst nach dem Veraschen einer Behandlung zu unterziehen hat. Auch der Nachweis der Anwesenheit von Stickstoff durch die Behandlung mit Natronkalk oder metallischem Natrium ist nicht leicht zu erbringen. Hingegen führt folgende Methode zum Ziel. Man bringt ein wenig Substanz in einen Zersetzungskolben nach Pregel, fügt konz. Schwefelsäure und konz. Salpetersäure und einige Tropfen Perhydrol hinzu, läßt dies über Nacht stehen und erhitzt dann sehr vorsichtig, damit die Substanz sich nicht verflüchtigt. Nach der so ausgeführten Zersetzung kann man den Phosphor, wie bekannt, mit Ammonmolybdat nachweisen. Die Bestimmung von Stickstoff nach Kjeldahl läßt sich wegen des Flüchtigerwerdens der Substanz durch Erhitzen mit konz. Schwefelsäure auch nicht leicht erbringen, wohl aber nach der Methode von Dumas.

6. Wenn man diese Substanzen in einer langen Epruvette mit Natronkalk oder metallischem Natrium versetzt erhitzt, so tritt eine Zersetzung ein und zwar entwickelt sich nach dem Schmelzen ein weißer, dichter Dampf, der sich an dem kalten Teil der Epruvette zu öligen Tröpfchen kondensiert, welche nahe dem Erhalten eine wieße, wachsartige Substanz ergeben.

Wenn man das Gas durch ein Rohr leitet, so kann man es am Ende entzünden. Es brennt mit leuchtender Flamme.

Die weiße, wachsartige Substanz wird durch konz. Schwefelsäure nicht zersetzt, verflüchtigt sich, wenn man sie erhitzt und ist leichter als Wasser. Sie enthält nur Kohlenstoff und Wasserstoff. Daher ist

sie als eine Art Paraffin-Kohlenwasserstoff, als ein Zersetzungsprodukt der gelben bzw. weißen Substanz, anzusehen.

7. Wenn man die weiße bzw. gelbe Substanz mit konz. Schwefelsäure versetzt, über Nacht stehen läßt und dann langsam erhitzt, so bekommt man nach dem Erkalten eine weiße, wachsartige Substanz auf der Flüssigkeit schwimmend, welche dieselben Eigenschaften aufweist wie die oben beschriebene Substanz. Es dürfte sich um denselben Paraffinkohlenwasserstoff handeln.

8. Wie schon erwähnt, verhalten sich die beiden Substanzen bezüglich der Löslichkeit in 96% igem kalten Alkohol verschiedenartig und können daher durch wiederholte Behandlung mit kaltem, 96% igem Alkohol als krystallinische Masse getrennt werden, wodurch man nach etwa einer Woche langem Trocknen im Vakuum-Exsikkator die weiße Substanz als Pulver, die gelbe Substanz als kleine Körner erhält.

Die Elementaranalyse ergab folgende Resultate:

A) Phosphorbestimmung (Mikromethode nach Pregel)

| | Substanz mg | Erhaltene Menge Ammoniumphosphormolybdat mg | P% | P% i/Mittel |
|----------------|----------------|---------------------------------------------------|------|----------------|
| weiße Substanz | 7,09 | 8,61 | 1,76 | 1,76 |
| gelbe Substanz | a) 5,27 | 6,18 | 1,70 | |
| | b) 9,45 | 11,98 | 1,84 | 1,77 |

B) Stickstoffbestimmung (Mikromethode nach Pregel)

| | Substanz (mg) | Stickstoff (ccm) | Temp. (C) | Druck (m.m) | N % | i/Mittel |
|--------------|------------------|---------------------|-----------|----------------|------|----------|
| weiße Subst. | a) 7,01 | 0,11 | 23 | 757 | 1,80 | 1,89 |
| | b) 8,44 | 0,13 | 19 | 757 | 1,98 | |
| gelbe Subst. | a) 17,22 | 0,13 | 21 | 757 | 0,87 | 0,80 |
| | b) 12,42 | 0,08 | 24 | 758 | 0,72 | |

C) Kohlenstoff- und Wasserstoffbestimmung:

| | Substanz (mg) | CO ₂ (mg) | H ₂ O(mg) | C% | H% | C% i/Mittel | H% i/Mittel |
|--------------|------------------|----------------------|----------------------|-------|-------|----------------|----------------|
| weiße Subst. | a) 2,25 | 6,08 | 2,41 | 73,72 | 11,94 | 73,20 | 12,31 |
| | b) 2,15 | 5,73 | 2,38 | 72,68 | 12,68 | | |
| gelbe Subst. | a) 5,14 | 13,05 | 5,16 | 69,25 | 11,49 | 70,06 | 11,27 |
| | b) 4,85 | 12,60 | 4,79 | 70,86 | 11,05 | | |

Zusammensetzung:

| | C% | H% | C% | N% | P% |
|----------------|-------|-------|-------|------|------|
| weiße Substanz | 73,20 | 12,31 | 10,84 | 1,89 | 1,76 |
| gelbe Substanz | 70,06 | 11,27 | 16,10 | 0,80 | 1,77 |

Aus diesen Resultaten ergeben sich nachstehende empirische Formeln:

für die weiße Substanz : C₁₀₂H₂₀₅N₂PO₁₁

für die gelbe Substanz : C₉₇H₁₆₈NPO₁₇

In der folgenden Zusammenstellung werden die hier gefundenen Resultate mit jenen anderen Autoren verglichen, die über die Konstitution verschiedener Lecithine berichtet haben. (10)

| | C% | H% | N% | P% |
|-------------------------|-------|-------|------|------|
| Thudichum | 66,75 | 18,67 | 1,81 | 4,00 |
| Erlandsen..... | 65,70 | 10,21 | 1,79 | 3,95 |
| Thierfelder u. Stern .. | 64,63 | 10,96 | 1,79 | 3,95 |
| Baskoff..... | 64,64 | 10,71 | 1,95 | 4,00 |
| weiße Substanz | 73,20 | 12,31 | 1,89 | 1,76 |
| gelbe Substanz | 70,06 | 11,27 | 0,80 | 1,77 |

Wie aus vorstehender Tabelle ersichtlich ist, weicht die Konstitution der gelben bzw. der weißen Substanz erheblich ab von der Konstitu-

tion der verschiedenen Lecithine, welche bis heute isoliert worden sind und zwar:

a) Beiden Substanzen enthalten mehr Kohlenstoff als das typische Lecithin.

b) Die Stickstoffmenge der weißen Substanz ist der der typischen Lecithine ziemlich gleich, während die der gelben Substanz nur halb so groß ist, als die der typischen Lecithine.

c) Die Phosphormenge beider Substanzen entspricht der Hälfte des typischen Lecithins.

d) Das Phosphor-Stickstoff-Verhältnis beider Substanzen beträgt, wie die empirische Formel zeigt, für die weiße Substanz P:N=1:2, für die gelbe Substanz P:N=1:1. Daher gehört nach der Klassifikation von Thudichum die gelbe Substanz dem Lecithintypus an und zwar als Monoaminomonophosphatid, während die weiße Substanz ein Diaminomonophosphatid darstellt. Wie die oben erwähnten Resultate zeigen, darf man annehmen, daß die weiße krystallinische und die gelbe Substanz, welche ich durch Elektrodialyse nach Pauli erst nach etwa einem Monat erhalten hatte, beide eine Art von Phosphatiden sind und zwar entspricht die weiße Substanz einem Diaminomonophosphatid, die gelbe Substanz einem Monoaminomonophosphatid.

Thierfelder und Stern haben bereits aus dem Eigelb ein Diaminomonophosphatid isoliert, dessen Konstitution aber bis heute unbekannt geblieben ist. Ihre Resultate waren folgende: (11)

1) 68,43% C; 11,83% H; 2,96% N; 3,27% P; 23,57%

2) 68,24% C; 12,01% H; 2,95% N; 3,27% P; 23,53%

1) C₅₄H₁₁₁N₂PO₈ 2) C₅₄H₁₁₃N₂PO₈

Diese Substanz verhält sich zu meiner in Bezug auf die Löslichkeit sehr ähnlich, die Schmelzpunkte aber weichen sehr voneinander ab und zwar schmilzt diese Substanz bei 169°–170°C, während meine Substanz bei 57,5°C schmilzt.

Leider war die Ausbeute meiner Substanz sehr gering, so daß ich sie bezüglich ihres Gehaltes an C und H nicht eingehend genug analysieren konnte.

Methode B.

In dem bisherigen Teil wurde über die physikalisch-chemischen Veränderungen der Eigelblecithinemulsionen während der Elektrodialyse sowie über einige Eigenschaften der Substanzen, welche nach etwa einem Monat Elektrodialyse-Dauer im Mittelraum niedergeschlagen worden sind, berichtet.

Wie schon erwähnt, konnte ich wegen der geringen Ausbeute an krystallinischer Substanz im ersten Teil meiner Arbeit keine genaue Untersuchung vornehmen. Daher wurde nun die Trennung der krystallinischen Substanzen besonders unter Benützung einer anderen Methode berücksichtigt. Die Verhältnisse im Mittelraum waren nach etwa einem Monat Dialyse-Dauer dieselben wie im ersten Teil berichtet worden ist. Im früheren Versuch war nur die weiße krystallinische Substanz, welche am Boden des Mittelraumes niedergeschlagen worden war, der näheren Untersuchung unterzogen worden, weil ich annahm, daß sie infolge ihres krystallinischen Zustandes rein sei, obwohl schon damals nadelförmige Krystalle in der braunen Substanz auf dem Pergamentpapier zu beobachten waren.

In dem folgenden Abschnitt möchte ich zuerst über die Trennungsmethode und dann über die analytischen Resultate berichten.

Experimenteller Teil.

Das Ausgangsmaterial und die Herstellungsmethode der Lecithinemulsion waren dieselben wie oben angegeben.

Nachdem die Lecithinemulsion einen Monat hindurch der Dialyse unterzogen worden ist, wurde die klare, wässrige Lösung mittels einer Pipette dem Mittelraum entnommen und die am Boden niedergeschlagene weiße krystallidische Substanz und die weiße kolloidale Lösung über Watte filtriert, wodurch eine Trennung in eine weiße kolloidale Lösung und in ein Gemisch von weißer und brauner Substanz erfolgte. Dieses Gemisch von weißer krystallinischer und brauner wachsartiger Substanz ist in warmen Alkohol leicht löslich und ergibt eine rot-braune Lösung. Untersucht man einen Tropfen dieser alkoholischen Lösung auf dem

Objektträger unter dem Mikroskop, so beobachtet man darin einerseits ein allmähliches Entstehen gerader nadelförmiger Krystalle, sowie andererseits nadelförmiger Krystalle, welche ineinander verschlungen sind. Es ist besonders bemerkenswert, daß man durch Eintrocknen dieser alkoholischen Lösung auf dem Wasserbade eine rotbraune, schmierige, wachsartige Masse bekommt, in der man keine nadelförmigen Krystalle beobachten kann.

Diese Masse ist in Aether und Benzol sehr leicht löslich, in kaltem Alkohol ist sie schwer löslich. In Aceton ist sie nur teilweise löslich und sie wird aus ihrer Aetherlösung durch Zusatz von Aceton zum Teil gefällt. Um die im Aceton unlöslichen Anteile der rot-braunen Substanz abzutrennen, habe ich sie zuerst, in möglichst wenig Aether gelöst, dann mit viel Aceton gefällt und nach einigen Stunden über Filtrierpapier filtriert. Durch diese Behandlung konnte man einen acetonlöslichen Teil (F. I.) und einen aceton unlöslichen Teil (R. I.) erhalten. Die erwähnte weiße kolloidale Lösung wurde in folgender Weise behandelt. Sie wurde im Scheidetrichter mit viel Aceton geschüttelt, wodurch man eine Emulsion bekam, die nach etwa 2 Wochen langem Stehen eine klare Acetonlösung lieferte, worin unlösliche Anteile suspendiert waren und dann filtriert. Die mikroskopische Untersuchung eines Tropfens der Acetonlösung zeigte, daß sie dieselben nadelförmigen Krystalle gab wie F. I. Daher wurde die klare Acetonlösung mit F. I. vereinigt. Hierauf wurde der Niederschlag, um ihn zu reinigen, auf dem Filtrierpapier mit warmen Aether gelöst und dann mit Aceton gefällt. Nach wiederholter Behandlung in der eben beschriebenen Weise wurde der in Aceton unlösliche Anteil auf dem Filtrierpapier im Vakuum getrocknet, wodurch man eine rot=braune, pulverisierbare, krystallinische Substanz erhielt, die der Analyse unterworfen wurde. Die mikroskopische Untersuchung der alkoholischen Lösung dieser Substanz zeigte dieselben nadelförmigen ineinander verschlungenen Krystalle, wie die bereits erwähnten. Die Substanz ist in Eisessig leicht löslich und daraus krystallisierbar.

Die Elementaranalyse (RI) ergab folgende Resultate:

A) *Phosphorbestimmung* (Mikromethode nach Pregel)

| Substanz (mg) | Erhaltene Menge | | P % | P % (im Mittel) |
|---------------|-------------------------------|--|------|-----------------|
| | Ammoniumphosphormolybdat (mg) | | | |
| a) 11,29 | 35,80 | | 4,71 | 4,61 |
| b) 7,59 | 23,53 | | 4,50 | |

B) *Stickstoffbestimmung* (Mikromethode nach Pregel)

| Substanz (mg) | Stickstoff (ccm) | Temperatur (C) | Druck (mm) | N % (i/Mittel) |
|---------------|------------------|----------------|------------|----------------|
| a) 20,60 | 0,537 | 22 | 757,5 | 2,94 |
| b) 9,35 | 0,220 | 22 | 757,5 | 2,65 |

Aus den Analysenwerten ergibt sich das Verhältnis P:N=1:1, 34. F. I (d. i. die Acetonlösung nach der Filtration von dem Niederschlag R. I) ist eine gelblich=rote Lösung, in der man unter dem Mikroskop viele schön ausgebildete nadelförmige Krystalle beobachtet. Nach dem Abdestillieren des Acetons blieb eine rot=gelbe, fettartige Masse zurück, die ein Gemisch von nadelförmigen Krystallen und dünnen Blättchen darstellte. Diese Masse ist in Eisessig sehr leicht löslich. Daher wurde sie darin gelöst und im kalten Zimmer (2-3°C) stehen gelassen. In kurzer Zeit krystallisierte aus dieser Lösung eine weiße krystallinische Masse aus. Nach Abtrennung dieser krystallinischen Substanz (R II) von der Lösung (F. II) wurde sie zunächst in der Kälte wiederholt mit Eisessig gewaschen bis die Waschlösung ungefärbt blieb, dann in warmem Eisessig gelöst und bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach 3-4 Tagen bildeten sich in dieser Lösung viele weiße Krystalle. (Photographie III). Diese ließen sich dem Trocknen im Vakuum zu einem weißen Pulver verreiben. Die Analyse ergab folgende Werte:

A) *Phosphorbestimmung* (Mikromethode n/Pregel)

| Substanz (mg) | Erhaltene Menge | | P % | P % (im Mittel) |
|---------------|------------------------------|--|------|-----------------|
| | Ammoniumphosphomolybdat (mg) | | | |
| a) 3,57 | 11,555 | | 4,09 | 4,14 |
| b) 4,39 | 12,670 | | 4,19 | |

B) *Stickstoffbestimmung* (Mikromethode nach Pregel)

Die Einwägen waren bei den beiden Verbrennungen 4,09 mg bzw.

9,65 mg. Man konnte zwar während der Verbrennung das Entstehen von Stickstoff beobachten, jedoch infolge der geringen Analysenwerte und zwar bei der ersten Verbrennung ungefähr 0,02 ccm, bei der zweiten 0,04 ccm keine genauen Resultate finden. Leider war es infolge zu geringer Substanzmenge nicht möglich, die Verbrennung zu wiederholen, weshalb vorläufig eine Aussage unmöglich ist, ob die Substanz stickstoffhaltig ist oder nicht. F. (II) ist eine gelblich-rote Lösung, die nach dem Einengen eine braune, fettige Masse mit schön ausgebildeten Krystallen lieferte. Sie erwies sich als Stickstoff- und Phosphorhaltig. Leider konnte ich wegen der geringen Ausbeute keine weiteren Bestimmungen vornehmen.

III. Ueber die Elektrodialyse wässriger kolloidaler Lösungen der Phosphatide aus Sojabohnen.

In diesem Abschnitt soll nur eine vorläufige Schilderung der elektrischen Einwirkungen auf Pflanzenphosphatide, welche nach allgemeinen Methoden aus Sojabohnen hergestellt wurden, berichtet werden.

Auf Grund der Untersuchungen vieler Autoren ist bekannt, daß das Eigelblecithin ein Gemisch verschiedener Phosphatide ist, deren Trennung und Darstellung als chemisch reiner Körper wegen der Instabilität und schweren Krystallisierbarkeit noch nicht gelungen ist.

Im zweiten Abschnitt dieser Mitteilung konnte gezeigt werden, daß man durch Behandlung der wässrigen kolloidalen Emulsion des käuflichen Lecithins im Pauli'schen Elektrodialyse-Apparat nach etwa einem Monat im Mittelraum ein Gemisch verschiedener krystallinischer Substanzen vorfindet, welche nach chemischen Methoden voneinander trennbar sind und Stickstoff und Phosphor enthalten. Sie gehören nach der Klassifikation von Thudichum zu den Phosphatiden.

Auf Grund dieser Tatsachen sowie jener, welche sich aus den Messungen der elektrischen Leitfähigkeit der Lösungen beider Pole ergibt, wonach sich während der Elektrodialyse zuerst die Leitfähigkeiten der Lösungen beider Pole bis zu einem gewissen Grade vermindern und dann wieder erhöhen, wobei die Reaktionen von Stickstoff und Phosphorsäure in der anodischen Flüssigkeit auftreten, kann man vermuten, daß das

Eigelblecithin möglicherweise zwei verschiedene Phosphatide enthält, welche sich in bezug auf den elektrischen Strom verschieden verhalten, nämlich ein leicht zersetzliches und ein stabiles Phosphatid. Ferner darf die Veränderung der Löslichkeit in Aceton vor und nach der Elektrodialyse nicht unerwähnt bleiben.

Diese Tatsachen haben mich zu der Annahme geführt, daß die Hauptursache der Schwierigkeit der Krystallisation und der Veränderung der Löslichkeit der Phosphatide im Zersetzungsprodukt aus dem leicht zersetzlichen Teil der Phosphatide gelegen sein könnte, denn nach Beseitigung des Zersetzungsproduktes krystallisiert das unzersetzbare Phosphatid nach einiger Behandlung und seine Löslichkeit ändert sich.

Es wäre also denkbar, daß sich in den übrigen bis heute isolierten Phosphatiden pflanzlichen sowie tierischen Ursprungs krystallinische, gegenüber dem Strom beständige, in Aceton lösliche Phosphatide auf finden lassen. Daher habe ich zur Ueberprüfung dieser Möglichkeit nach derselben Methode, wie schon oben erwähnt, ein Pflanzliches Phosphatid, nämlich das der Sojabohne, welches nach allgemein chemischer Methode hergestellt worden war, untersucht.

Experimenteller Teil.

Die als Ausgangsmaterial verwendeten Sojabohnen waren ungarische Sojabohnen von der Ernte 1927. Ihre Verarbeitung erfolgte in der bekannten Weise:

Die bei der Behandlung fein zerriebenen Samen mit Aether verbliebenen Rückstände wurden mit 96% igem Alkohol bei 50-60°C extrahiert und hierauf der filtrierte Extrakt bei Zimmertemperatur eingedunstet. Der sirupartige Verdampfungsrückstand wurde mit Aether behandelt, wobei ein aether-unlöslicher Teil resultierte. Die Aetherlösung wurde im Scheidetrichter wiederholt mit destilliertem Wasser geschüttelt, wobei sich eine Emulsion bildete, die durch Zusatz von Kochsalz beseitigt wurde. Nach 2-3 Tagen wurde die geklärte Aetherlösung zur Entfernung des aufgenommenen Wassers mit Natriumsulfat zusammengebracht, dann filtriert und einer Vakuum-Destillation unterzogen.

Um die Fette und die aceton-löslichen Substanzen von dem Rückstand abzutrennen, wurde er mit Aceton behandelt, wodurch die Phosphatide im Rückstand verblieben. Dieser wurde wiederholt mit Aceton gewaschen bis die Waschflüssigkeit nicht mehr gefärbt wurde.

Der so erhaltene Rückstand wurde in wenig Aether gelöst, dann mit Aceton gefällt. Durch die Wiederholung dieser Operation erhielt ich schließlich eine weiße, wachsartige Masse, welche sich nach einigen Minuten an der Luft braun färbte.

Wie schon bekannt, sind die pflanzlichen Phosphatide von den tierischen sehr verschieden; die ersteren enthalten zumeist Zucker und zwar Glykose und Pentose und ferner gibt es nach den Angaben von Winterstein und Stegman (12) Pflanzenphosphatide, an die Erdalkalien gebunden sind.

Bevor ich die auf oben beschriebene Weise erhaltenen Sojabohnenphosphatide der Elektrodialyse unterzog, habe ich sie auf Zucker und Erdalkalien geprüft. Zu diesem Zwecke wurde zunächst ein Teil der Phosphatide im Scheidetrichter in Aether gelöst, dann mit Wasser stark durchgeschüttelt und ruhig stehen gelassen, bis die wässrige Lösung ganz klar geworden war. Die Zuckerreaktion dieser wässrigen Lösung fiel negativ aus. Prüft man aber auf Zucker nach ausgeführter Hydrolyse, so wird die Fehling'sche Lösung sehr stark reduziert. Die Reaktion auf Calcium nach der Hydrolyse mit HCl fiel ebenfalls positiv aus.

Die Emulsion der Sojabohnenphosphatide wurde nach der Methode von Porges und Neubauer hergestellt und zeigte bei der Elektrodialyse dasselbe Verhalten wie bei Eigelblecithinemulsion.

Nach etwa einem Monat Dialyse-Dauer haben sich auf dem Pergamentpapier an der Anode sowie zum Teil am Boden Substanzen niederschlagen, die ganz weiß und krystallinisch waren und nadelförmigekrystalle enthielten, die jenen bei der Elektrodialyse der Lecithinemulsion enthaltenen nadelförmigen Krystallen ähnlich waren. Das Auftreten dieser Krystalle konnte schon nach 3-4 Tagen nach Beginn der Elektrodialyse beobachtet werden. Wie bei der Elektrodialyse der Eigelblecithinemulsion habe ich auch in diesem Falle das Wasser beider Pole

täglich einmal gewechselt und diese Lösungen auf freie Phosphorsäure, Zucker und Calcium geprüft.

Die Messung der Leitfähigkeiten der Lösungen beider Pole ergab am ersten Tage in der kathodischen Lösung den Wert $K=7,307 \cdot 10^{-4}$ und in der anodischen Lösung $K=7,307 \cdot 10^{-4}$. Am zweiten Tage fiel in der kathodischen Lösung die Leitfähigkeit bis auf $K=1,087 \cdot 10^{-6}$ und in der anodischen Lösung bis auf $K=1,114 \cdot 10^{-5}$ herunter. Vom dritten Tage an kam der Wert der Leitfähigkeit dem des Wassers sehr nahe. Der Nachweis von Zucker, Phosphorsäure und Calcium fiel folgendermaßen aus:

In der kathodischen Lösung ließ sich Calcium immer nachweisen. Die Reaktion auf Zucker war bei direkter Erhitzung der Lösung mit Fehling'scher Lösung sehr schwach, aber bei vorheriger Hydrolyse der Lösung mit Säure und nachheriger Erhitzung mit Fehlingscher Lösung sehr stark.

Die anodische Flüssigkeit gab die Reaktion auf freie Phosphorsäure und reduzierte ohne Hydrolyse die Fehling'sche Lösung sehr stark.

Nach 3-4 Tagen wurden diese Reaktionen sehr schwach, sodaß ich die Untersuchung abbrechen mußte.

Nach einem Monat Elektrodialyse-Dauer wurde die gesamte Substanzmenge des Mittelraumes auf die gleiche Weise behandelt wie bei Eigelblecithin geschildert, und zwar wurde sie zunächst in warmem Aether gelöst, dann daraus durch Zusatz von Aceton ein in Aceton unlöslicher Teil gefällt, hierauf dieser Niederschlag durch wiederholte Behandlung mit Aceton gereinigt, im Vakuum getrocknet, pulverisiert und der Analyse unterzogen.

Die Elementaranalyse ergab folgende Resultate:

A) *Phosphorbestimmung* (Mikromethode n/Pregel).

| Substanz (mg) | Erhaltene Menge Ammoniumphosphormolybdat (mg) | P% | P% (im Mittel) |
|---------------|-----------------------------------------------|------|----------------|
| a) 5,54 | 14,33 | 3,76 | 3,76 |
| b) 8,20 | 21,22 | 3,77 | |

B) *Stickstoffbestimmung* (Mikromethode n/Pregel)

| Substanz (mg) | Stickstoff (mg) | Temperatur (C) | Druck (mm) | N% | N% (i/Mittel) |
|---------------|-----------------|----------------|------------|------|---------------|
| a) 9,60 | 0,12 | 24 | 757 | 1,43 | 1,43 |
| b) 14,14 | 1,70 | 24 | 757 | 1,40 | |

Die Acetonlösung lieferte nach dem Einengen eine weiße, fettige Masse, in der man unter dem Mikroskope viele nadelförmige ineinander verschlungene Krystalle beobachten konnte. Die Reaktionen auf Zucker und Calcium fielen nach erfolgter Hydrolyse negativ aus. Auch war diese Masse in Eisessig leicht löslich und krystallisierte aus der kalten Lösung als weiße, krystallinische Substanz aus.

Nach wiederholter Behandlung mit Eisessig und Trocknen im Vakuum entstand ein weißes krystallinisches Pulver. Die Elementaranalyse ergab folgende Resultate:

A) *Phosphorbestimmung* (Mikromethode nach Pregel)

| Substanz | Erhaltene Menge Ammoniumphosphormolybdat | P% | P% (P%im Mittel) |
|----------|------------------------------------------|------|------------------|
| a) 4,25 | 5,45 | 1,86 | 1,83 |
| b) 2,51 | 3,11 | 1,80 | |

B) *Stickstoffbestimmung.*

Die Stickstoffbestimmung konnte wie bei der weißen Substanz aus Eigelblecithin nicht zufriedenstellend ausgeführt werden, da auch diesmal Substanzmangel vorlag.

Zusammenfassung.

1) Das käufliche Eigelblecithin enthält Elektrolyte, von denen sich das käufliche Eigelblecithin durch Elektrodialyse bis zu einem gewissen Grad befreien läßt.

Dabei wird durch Kathaphorese das ganze Lecithin an der anodischen Pergamentmembran niedergeschlagen.

2) Wenn man durch die Lecithinemulsion den elektrischen Strom lange Zeit hindurch leitet, wird das Lecithin zersetzt. Die Zersetzung erkennt man durch die Messung des P_H oder der Leitfähigkeit der Lösungen an beiden Polen oder durch die Bestimmung von Phosphorsäure in der anodischen und von Stickstoff in der kathodischen Flüssigkeit.

3) Wenn man die wässrige Lecithinemulsion etwa zwei Wochen lang der Elektrodialyse unterzieht, so kann man in der Anode das Auftreten einer weißen Substanz, welche unter dem Mikroskope nadelförmige Krystalle aufweist, beobachten.

Setzt man die Elektrodialyse etwa einen Monat lang fort, so beobachtet man, daß sich die weiße Substanz auf dem Boden des Mittelraumes in der Nähe des Pergamentpapieres der Anode niederschlägt und die Farbe der Substanz auf dem Pergamentpapier umso intensiver ist, je näher die Schichte zum Pergamentpapier liegt.

4) Die bemerkenswerten Veränderungen der Substanz, welche nach der Elektrodialyse im Mittelraum verblieb, sind folgende:

a) Die Veränderung der Löslichkeit der Substanz gegen Aceton. Die Ursache der Veränderung der Löslichkeit kann in verschiedenen Umständen gelegen sein. So dürfte die Unlöslichkeit des Sojabohnenphosphatides in Aceton auf die Anwesenheit von Zucker und Ca als Verunreinigung zurückzuführen sein, da es nach erfolgter Elektrodialyse, wodurch Zucker und Ca beseitigt wird, in Aceton löslich wird. Dieses Verhalten kann man auch bei anderen organischen Substanzen beobachten.

b) Im Laufe der Elektrodialyse verändert die Substanz im Mittelraum ihr Aussehen, sie wird immer weißer, schließlich weiß krystallinisch und schlägt sich endlich auf dem Boden nieder. Sie enthält viele nadelförmige Krystalle.

5) Aus den oben erwähnten Tatsachen läßt sich annehmen, daß die Phosphatide keine einfachen Substanzen sind, sondern aus chemisch-verschiedenen Substanzen und zwar, wie die physikalische Untersuchung und die chemischen Reaktionen der Lösungen beider Pole zeigen aus einem gegen den elektrischen Strom stabilen und einem gegen den Strom instabilen Anteil, die ihrerseits wieder aus verschiedenen Subs-

tanzen zusammengesetzt sind, bestehen.

In dieser Mitteilung wurde hauptsächlich über die Trennungsmethode des Substanzgemisches im Mittelraum berichtet. Auf Grund der oben erwähnten Annahme, habe ich zum Zwecke der Trennung dieser Masse zwei verschiedene Methoden angewendet. Beim Eigelblecithin habe ich nach der Methode (A) zwei verschiedene krystallinische stickstoff- und phosphorhaltige Substanzen aus der Substanz, welche nach Elektrodialyse am Boden niedergeschlagen worden war, isolieren können. Bei der Methode (B) habe ich die ganze Substanz des Mittelraumes angewendet und zwar zuerst einen aceton-löslichen Teil und einen acetonunlöslichen Teil abtrennen und dann aus diesen beiden N- und P-haltigen Substanzen isolieren können. Auch habe ich aus dem aceton-löslichen Teil eine weiße Substanz, welche aus nadelförmigen Krystallen besteht, die sich auch in der gesamten Masse vorgefunden haben, abtrennen können, in der ich P sicher nachweisen konnte, während ich leider wegen der geringen Ausbeute den Stickstoffnachweis nicht sicher erbringen konnte.

Vorliegende Arbeit habe ich im Institut für medizinische Kolloid-Chemie in Wien ausgeführt und bin Herrn Prof. Dr. Wo. Pauli für sein freundliches Entgegenkommen und seine wertvollen Ratschläge bei meiner Arbeit zu großem Dank verpflichtet.

Dem Herrn Assistenten Dr. L. Fuchs vom pharmakognostischen Institut der Universität danke ich herzlich für die Hilfe bei der Ausführung der Mikroanalysen, desgleichen dem Herrn Dr. S. Schwarz, der die Freundlichkeit hatte, die Mikrophotographien in meiner Arbeit auszuführen. Schließlich sage ich Herrn K. Freund und Frau Dr. Püringer für die Besorgung der mir schwerfallenden deutschen Karrektur meinen besten Dank.

Literatur.

- 1) Biochem. Handlexikon, III. Band, S. 230.
- 2) E. Winterstein, Zeitschrift f. physiologische Chemie, 58, 500, 1909. Erlandsen ebenda-selbst 51, 71. 1907.
- 3) Porges und Neubauer, Biochem. Zeitschr. 7, 152, 1907.
- 4) Handovsky und Wagner, Biochem. Zeitschr. 31, 32, 1912.
- 5) Neuschloss, Pflügers Arch. 181, 17, 1920; 187, 136, 1921.
- 6) Walter Beck, Biochem. Zeitschr. 156, 472, 1925.
- 7) Porges und Neubauer, Biochem. Zeitschr. 7, 152, 1907.
- 8) Stern und Thierfelder, Zeitschr. für physiologische Chemie 53, 370, 1907
- 9) Serono und Polozzi, Arch. der Farm. sper. 11, 553 Zentralbl. 1911, 772-
- 10) Biochem. Handlexikon III. Band, S. 230.
- 11) Biochem. Handlexikon III. Band, S. 243.
- 12) Zeitschr. f. physiologische Chemie 58, 500, 1909.

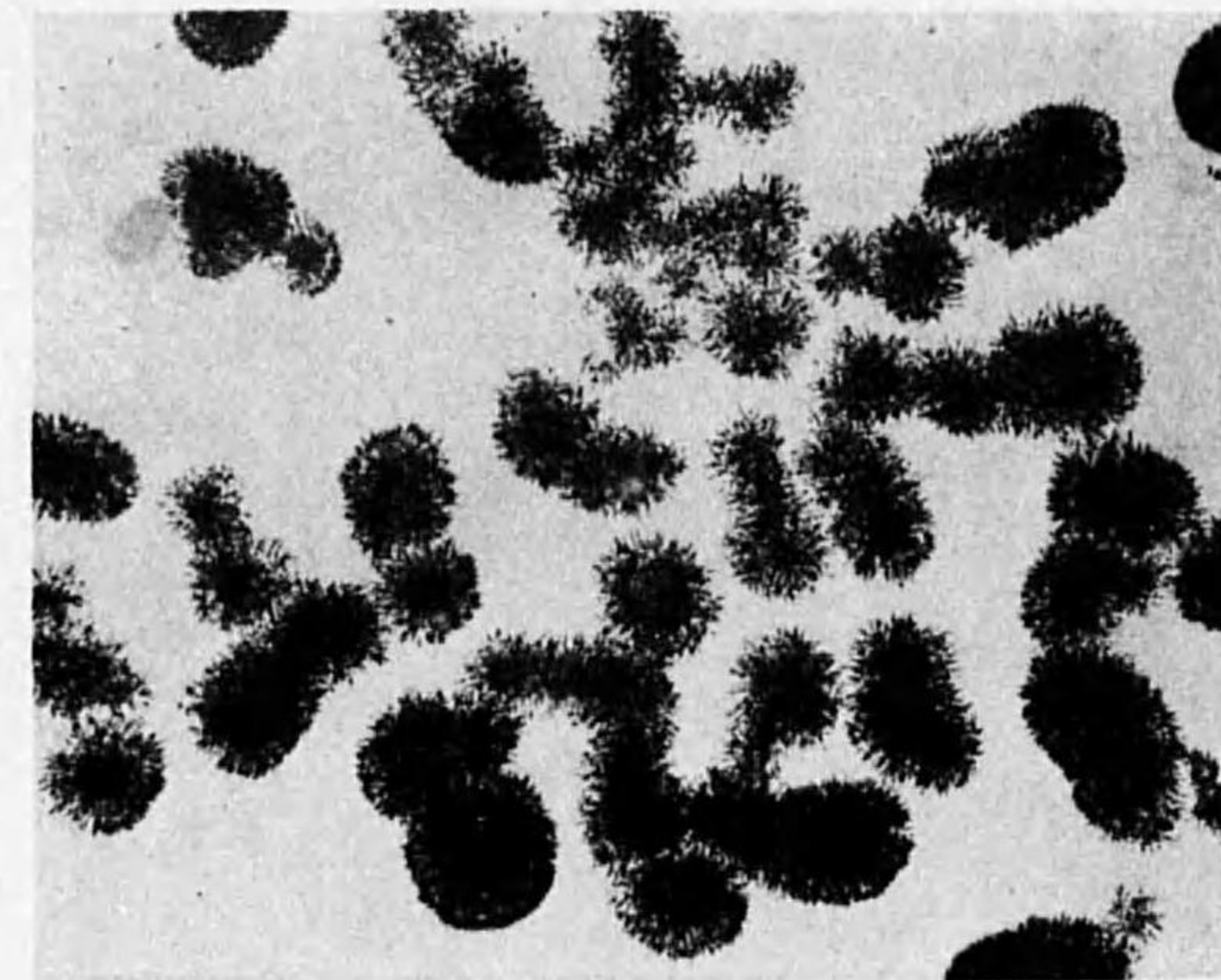


Abb. I (B)

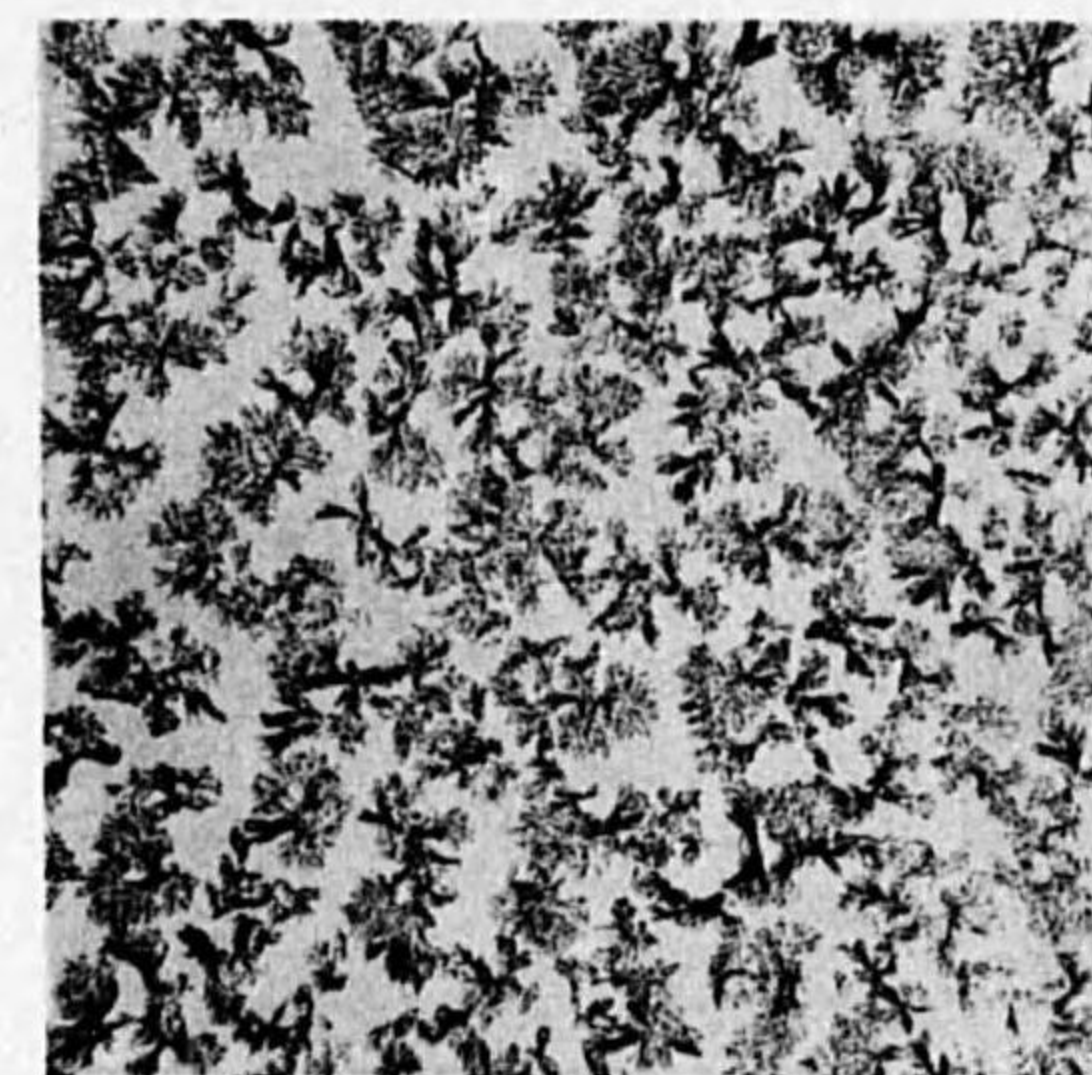


Abb. II (A)



Abb. II (B)

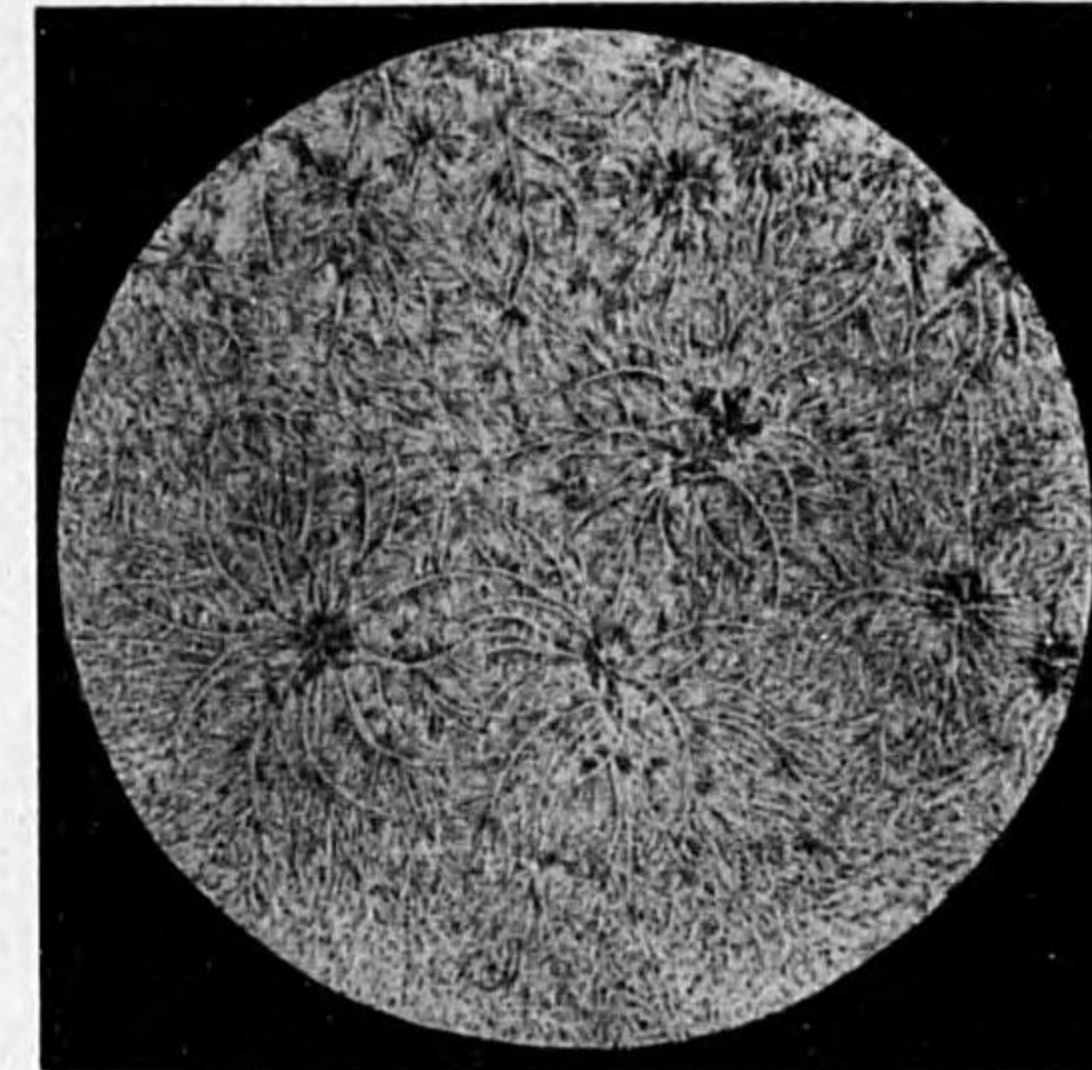


Abb. II (C)

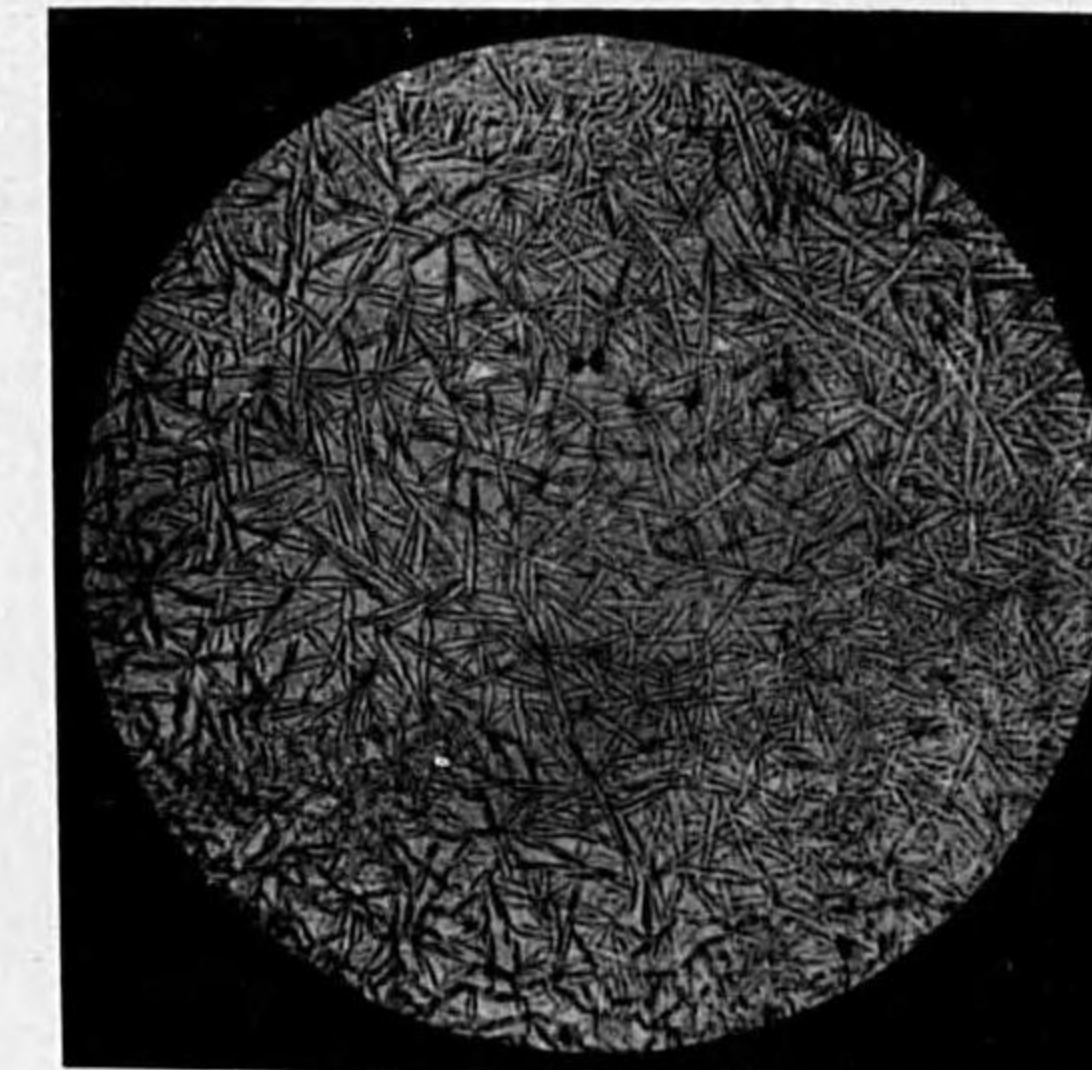
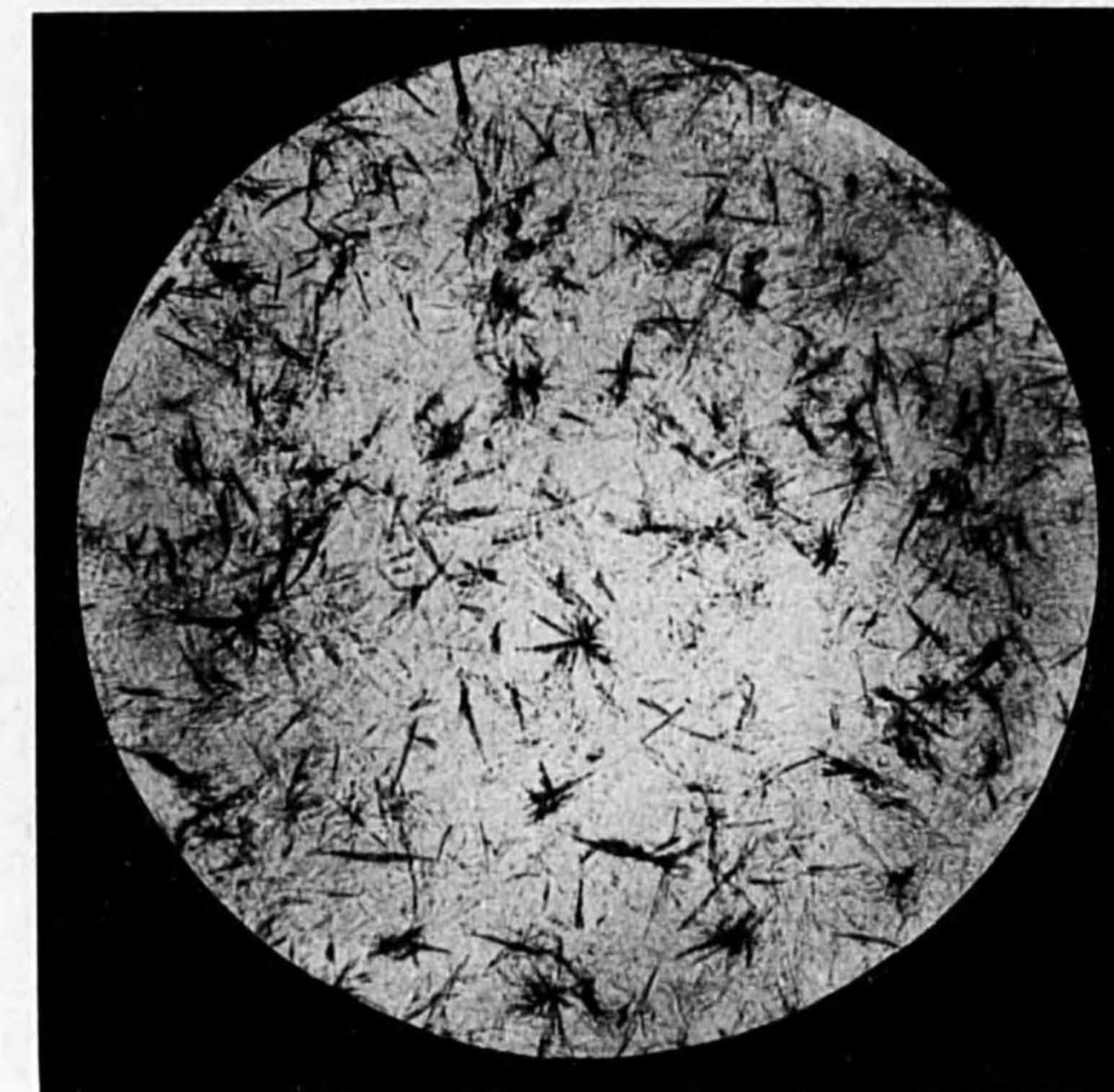


Abb. II (D)



(Abb. III)

昭和四年一月廿七日印刷
昭和四年一月三十日發行

岐阜高等農林學校

東京市神田區美土代町二ノ一

印刷者 島 連 太 郎

東京市神田區美土代町二ノ一

印刷所 三 秀 舎

14. 5-238



1200501215575

14.5

38

終