

Schmelzpunkt: bei -7° waren alle Öle bis auf eine ganz schwache Trübung, welche auch bei viel höherer Temperatur noch erhalten blieb, wieder aufgetaut.

Die Molekularrefraktion ergibt aus den Mittelzahlen berechnet 446,7—449.

Fettsäuren aus:

	feinst	ge-mein	roh
Schmelzpunkt	nach Pohl . . .	{ 26°C 27°C	{ 26°C 27°C
	nach Wolfbauer	27°C	27°C
Erstarrungspunkt	nach Pohl . . .	22°C	22°C
	nach Wolfbauer	22°C	22°C
Refraktometer, Brechungs-exponent bei $27,5^{\circ}$. . .	{ 1,465	{ 1,4655	{ 1,466

Trotz vielfacher Versuche konnten keine spezifischen Farbreaktionen gefunden werden. Sojabohnenöl gemein zeigte eine deutliche Cottonölreaktion, welche aber auf eine wahrscheinlich unabsichtliche Verunreinigung, vielleicht durch Einfüllen in ein früher mit Baumwollsamenöl gefülltes Gefäß zurückzuführen sein dürfte.

Beim Vergleiche unserer Zahlen mit den uns bisher bekannt gewordenen¹⁾ zeigen sich viele Übereinstimmungen aber auch einige nicht unerhebliche Differenzen.

So stimmen z. B. das spez. Gew., die Hehner'sche Zahl, der Brechungsexponent, die Molekularrefraktion sowie der Erstarrungspunkt des Öles selbst mit Rücksicht darauf, daß das Öl ja naturgemäß in seiner Zusammensetzung schwankt (wo sich die Angaben darüber überhaupt in der Literatur finden) mit unseren Befunden genügend überein. Die Angabe des Erstarrungspunktes von $+8$ bis $+15^{\circ}$ von De Negri und Fabris, welche auch in mehrere Lehrbücher übergegangen ist, ist einer Verwechslung der Vorzeichen zuzuschreiben.

Starke Abweichungen zeigen jedoch die Verseifungs- und Jodzahl sowie die Angaben über den Erstarrungspunkt und Schmelzpunkt der Fettsäuren.

So geben Morawski und Stingl (192,9), Stellwag (192,2), De Negri und Fabris (192,5), Shukoff (190,6), Klimont (191,2 bis 192,2 bei 6 Ölen) die Verseifungszahlen untereinander und mit unseren gut übereinstimmend an, während Korentschewski und Zimmermann (208—212 bei 4 Proben) sowie Marpmann (204—212,6 bei 20 Proben), bedeutend höhere Werte für dieselbe finden.

¹⁾ Morawski und Stingl, Chem. Zentralbl. 1886, 734. Stellwag, Landwirtschaftl. Versuchsstationen 37, 135 (1890). De Negri und Fabris, Z. anal. Chem. 33, 568 (1894). Klimont, diese Z. 24, 254 (1911). Shukoff: Lewkowitsch, Chem. Technologie und Analyse der Öle, Fette und Wachse 1905, II., 80. Korentschewski und Zimmermann, Chem.-Ztg. 1905, 777. Marpmann, J. f. Landwirtschaft 58, 243 (1910). Lewkowitsch, Chem. Industr. 33, 705 (1910). Meister, Farbenzg. 15, 1486 (1910). Fahrion, diese Z. 24, 247 (1911).

In den Jodzahlen finden sich gegenüber unseren Angaben (135) in der Literatur fast alle Zahlen von 107—142 und zwar bei Marpmann 107—142 (44 Öle), bei Korentschewski und Zimmermann von 115—137 (4 Proben), bei Meister 133, bei Shukoff 124, bei Morawski und Stingl 122,2, bei De Negri und Fabris 121,3. Lewkowitsch gibt die Zahl mit 137 bis 142 an.

Die Erstarrungs- und Schmelzpunkte der Fettsäuren fanden wir (22; 27) in genügender Übereinstimmung mit den Angaben von Morawski und Stingl (25; 28), De Negri und Fabris (23—25; 27—29), Shukoff (Erstarrungspunkt 24,1). Hingegen bringen Korentschewski und Zimmermann (16—17; 20—21) sowie Marpmann (13—17,5; 20—21,5) untereinanderstimmende, aber von unseren und den erwähnten Autoren stark abweichende Zahlen. Außerdem finden sich in der Publikation von Marpmann die Erstarrungspunkte der Fettsäuren in der Tabelle I offenbar irrtümlicherweise negativ bezeichnet vor.

Die Abweichungen in der Jodzahl sind wohl sehr groß, doch ist, nachdem ja Marpmann mit authentischen Ölen gearbeitet und selbst so differierende Resultate (107—142) erhalten hat, die Annahme gerechtfertigt, daß die Zusammensetzung der verschiedenen Sojabohnenöle in bezug auf die Jodzahl sehr schwankend ist, wie ja dieses auch bei anderen mehr oder weniger stark trocknenden Ölen der Fall ist. Ziemlich unerklärlich sind uns die Differenzen in den Erstarrungs- und Schmelzpunkten der Fettsäuren und den Verseifungszahlen des Öles bei Korentschewski und Zimmermann sowie bei Marpmann. Die höheren Verseifungszahlen der genannten Autoren ließen sich vielleicht durch etwas zu hohe Titer der Maßflüssigkeiten erklären, um so mehr als die Zahlen Marpmanns (wie auch Korentschewskis und Zimmermanns) untereinander eine so gute Übereinstimmung zeigen und nicht anzunehmen ist, daß unter den vielen Ölproben (20 + 4) keine einzige eine Verseifungszahl zeigen sollte, welche den von anderen Autoren und uns gefundenen Zahlen nahe liegt.

Bei der Bestimmung des Schmelz- und Erstarrungspunktes scheint die Annahme eines analytischen Irrtums unwahrscheinlich. Es werden also noch weitere chemische Untersuchungen von Ölen verschiedener Herkunft nötig sein, um festzustellen, ob die Sojaöle wirklich bisweilen so beträchtliche Abweichungen der genannten Konstanten zeigen.

[A. 64.]

Reversibilität der Enzymwirkung des Ricinus.

Von Dr.-Ing. MORITZ KRAUSZ.

(Eingeg. 18.3. 1911.)

Die in Heft 9 dieser Z. erschienene interessante Abhandlung des Herrn Dr. Adolf Welter: „ Beitrag zur Kenntnis der Reversibilität der Enzymwirkung“, gibt mir die Veranlassung, auch einiges

über meine Versuche mitzuteilen, die am 1./3. 1910 im chemisch-technischen Laboratorium der Techn. Hochschule zu Hannover bei Herrn Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Ost begonnen wurden¹⁾.

Bei Enzymverseifungen von Leinöl, Olivenöl, Palmin, Rindertalg und Butter mit Ricinus waren die Spaltungen unvollständig. Je 10 g Fett bzw. Öl wurden mit 4 ccm $\frac{1}{10}$ -n. Essigsäure emulgiert, dann 1 g frisch hergestelltes Fermentpulver unter ständigem Rühren zugegeben; nach 14 Tagen wurde wieder 1 g Fermentpulver zugefügt, und die Emulsion noch 4 Tage stehen gelassen. Der Spaltungsgrad betrug nach dieser Zeit beim Leinöl 96,5%, Olivenöl 96%, Palmin 92,4%, Rindertalg 89,6% und bei der Butter 91,5%. Die hier angeführten Verseifungen, die unvollständig verließen, sowie die in der Abhandlung von Dr. Welter erwähnten Literaturstellen gaben auch mir die Veranlassung, die Ursache der unvollständigen Spaltung der Öle in einem Gleichgewichtszustand zwischen Neutralfett, Fettsäure und Glycerinwasser zu suchen und zufolgedessen eine Reversibilität der Ricinusenzymwirkung anzunehmen.

Bei einer zum chemischen Gleichgewicht führenden Umsetzung muß:

1. das Gleichgewicht von beiden Seiten erreichbar, d. h. die Reaktion umkehrbar sein;
2. nach dem Massenwirkungsgesetz durch Änderung der Konzentrationen, einer der aufeinander wirkenden Stoffe, das Gleichgewicht verschoben werden.

25 g Olivenölfettsäuren nach Benedict²⁾ aus Olivenöl durch Verseifung mit alkoholischer Kalilauge gewonnen, wurden mit 5 ccm $\frac{1}{10}$ -n. Essigsäure, 2,7 g Glycerin (berechnete äquimolekulare Menge) und 2,5 g Fermentpulver emulgiert. Die Säurezahl der Fettsäuren ging in 14 Tagen von 198,5 auf 189,4 zurück. Beim Kontrollversuch ohne Glycerin ist die Säurezahl auf 196,1 gesunken. Es wurden also 3,3% Fett zurückgebildet, statt der erwarteten 4%; das Gleichgewicht konnte annähernd von beiden Seiten erreicht werden.

Nach dem Massenwirkungsgesetz verläuft die Verseifung quantitativ, wenn man entweder die Konzentration der Fettsäuren oder die des Glycerins vermindert, d. h. eins oder beide der Spaltungsprodukte entfernt.

Da die Entfernung des Glycerins aus dem Reaktionsgemisch leichter ist, als die der Fettsäuren, so wurde der folgende Versuch ausgeführt:

Nachdem ein Ansatz von 20 g Olivenöl nach 48 Stunden bis zu 94,6% verseift war, wurde die Emulsion in einem Scheidetrichter mit Wasser öfters ausgewaschen, um das Glycerin zu entfernen, und dann die in Schichten getrennte Emulsion durch Rühren wieder hergestellt. Im Verlauf von weiteren 15 Stunden nahm die Spaltung ihren Fortgang, und das rein gewonnene Gemisch von Fettsäuren und Neutralfett zeigte nach dieser Zeit fast dieselbe Säurezahl, wie die Fettsäure, nämlich 197,7 entsprechend einer Ausbeute von 99,6% — die Verseifung ist also fast quantitativ nach der Formel: Fett + Wasser → Fettsäuren + Glycerin zu Ende geführt.

¹⁾ Dissertation 1910.

²⁾ Analyse der Fette, 2. Aufl., Seite 55.

Das Gleichgewicht kann aber auch in der entgegengesetzten Richtung: Fettsäuren + Glycerin → Fett + Wasser, verschoben werden.

Wir können, sowohl von der einen, als auch von der anderen Seite ausgehend, beweisen, daß durch einen Überschuß von Glycerin erstens die Verseifung stark verzögert wird, zweitens die Esterbildung, die Reversion verstärkt wird.

So wurden z. B. in einem Ansatz von 10 g Olivenöl mit 4 ccm $\frac{1}{10}$ -n. Essigsäure, 10 g Glycerin und 2 g Fermentpulver nach 48 Stunden nur 4,4% des Fettes gespalten. Die Verseifung wurde in diesem Falle auch durch die geringere Dissoziation der Essigsäure verzögert.

Nachdem ich festgestellt habe, daß es sich hier tatsächlich um ein Gleichgewicht handelt, bin ich zum Studium des Reversionsvorganges übergegangen.

Das zu den Versuchen angewandte Fermentpulver wurde folgenderweise hergestellt.

Ricinusbohnen wurden von den Schalen befreit, in einer Kaffeemühle gemahlen und in einer Porzellanpresse ausgepreßt. Die Preßrückstände enthalten noch recht erhebliche Mengen von Ricinusöl, welches durch Extraktion entfernt wurde. Als Extraktionsmittel kommen Äther, Alkohol, Chloroform und Benzol in Betracht. Das Ferment ist gegen alle diese Solventien empfindlich; durch einen besonderen Versuch stellte ich fest, daß Alkohol und Benzol am besten verwendbar sind. Die Preßrückstände wurden $\frac{1}{2}$ —1 Stunde mit Alkohol oder Benzol gerührt, nachher in einem geräumigen Büchnertrichter abgesaugt, bis sie möglichst trocken waren. Der Samenkuchen wurde in einem Porzellanmörser zerrieben und dann durch Siebe von verschiedener Feinheit gedrückt. Dadurch erhielt ich ein loses, weißes Pulver, das durch Liegen an der Luft die letzten Spuren des Alkohols verliert. Es enthält nach der Kjeldahl'schen Bestimmung 11,2% Stickstoff, entsprechend einem Gehalt von etwa 70% Eiweißstoffen. Dieses Fermentpulver kann ziemlich lange an einem kühlen Ort aufbewahrt werden, ohne daß seine Enzymkraft nennenswert abnimmt. Ein noch feineres Fermentpräparat kann durch das folgende Verfahren hergestellt werden. Die geschälten und zerkleinerten Samen werden mit Ricinusöl angerührt und die Emulsion zunächst durch ein grobmaschiges Sieb, nachher durch einen Filterbeutel filtriert. Man erhält dadurch ein trübes Öl, aus welchem sich bei Zusatz von Alkohol und Äther das feine Fermentpulver abscheidet.

Es ist gleichgültig, welches von beiden Präparaten man zur Spaltung benutzt, da sie die gleiche Enzymkraft besitzen; das feinere Präparat läßt sich aber in der Emulsion besser suspendieren.

Nach einer Anzahl von Versuchen stellte ich fest, daß sich Ölsäure zu den Reversionsversuchen am besten eignet. Auch mußte das Glycerin verdünnt werden, da das Fermentpulver in wasserfreiem Glycerin seine Wirksamkeit einbüßt zufolge der giftigen (toxischen) Wirkung derselben.

Der Reversionsvorgang gestaltete sich nun folgendermaßen:

Zu einer Emulsion von 100 g Ölsäure mit 100 g wasserfreiem Glycerin und 80 ccm $\frac{1}{10}$ -n. Essigsäure wurden unter fortdauerndem Rühren 20 g

Fermentpulver eingetragen, die Mischung 4 Tage stehen gelassen, nach dieser Zeit das Glycerin durch Auswaschen mit Wasser vollständig entfernt, das Gemisch von Neutralfett und Fettsäure ausgeäthert und nach dem Verjagen des Äthers aus der Verseifungs- und Säurezahl die Prozente Neutralfett ermittelt.

$$\text{Verseifungszahl} = 197,5, \text{ Säurezahl} = 175,4, \\ \text{Prozente Neutralfett} = 11,1.$$

Zur Abscheidung des Neutralfettes wurde die Mischung in kleinen Portionen mit alkoholischer Kalilauge genau neutralisiert, mit dem gleichen Volumen Wasser versetzt, wobei die klare Lösung durch die sich ausscheidenden Fetttröpfchen trübe wurde. Diese sammeln sich beim Erwärmen an der Oberfläche und können durch Ausäthern von der Seifenlösung getrennt werden.

Das so hergestellte Produkt ist hellgelb, frei vom unangenehmen Geruch der Ölsäure, löst sich schwer in Alkohol und enthält keine Fettsäuren mehr. Als Konstanten wurden gefunden:

$$\text{Verseifungszahl} = 180,3; 180,8; \\ \text{Jodzahl} = 88,4; 88,7; \\ \text{Säurezahl} = 0.$$

Das Produkt besitzt eine geringere Verseifungs- und Jodzahl, als die verwendete Ölsäure; es war anzunehmen, daß sich bei der geringen Geschwindigkeit der Reversion neben Triolein $C_8H_{16}(OC_{17}H_{33}CO)$ auch Monoolein $C_8H_{16}(OH)_2OC_{17}H_{33}CO$ und Diolein $C_8H_{16}(OH)(OC_{22}H_{17}CO)_2$ gebildet haben, oder die letzteren vielleicht ausschließlich.

Möglicherweise entstehen auch bei der Verseifung diese Zwischenprodukte; wegen der großen Geschwindigkeit, mit der die Spaltung vor sich geht, könnten sie aber nur in Spuren nachgewiesen werden. (M a r c u s s o n³), K e l l n e r⁴.)

Wenn Mono- und Diglyceride vorliegen, so müssen sich für die freien OH-Gruppen des Glycerins Acetylgruppen einführen lassen, und die Verseifungszahl des acetylierten Fettes muß höher sein als die der acetylierten Ölsäure.

Für die Acetylierung stellte ich aus 40 g Ölsäure — unter denselben Bedingungen, wie früher für 100 g angegeben — einige Gramme Neutralfett her. Dieses wurde mit dem dreifachen Überschuß von Essigsäureanhydrid am Rückflußkühler gekocht, das acetylierte Produkt zur Entfernung der überschüssigen Essigsäure mit Wasser erhitzt und die Verseifungszahl des acetylierten Fettes mit $\frac{1}{2}\text{-n}$. alkoholischer Kalilauge und $\frac{1}{2}\text{-n}$. Salzsäure bestimmt. Verseifungszahl der acetylierten Ölsäure = 209,7; Verseifungszahl des acetylierten Fettes = 232,6.

Die Anwesenheit von Mono- oder Diglyceriden wurde auch in folgender Weise festgestellt:

8,874 g wasserfreies synthetisches Fett wurden mit einem Überschuß von alkoholischer Kalilauge verseift, nach Zusatz von Wasser der Alkohol abgedunstet, die Fettsäuren durch Zersetzung der Seife mit verd. Schwefelsäure abgeschieden, ausgewaschen, getrocknet und gewogen. Ihr Gewicht betrug 8,125 g.

8,874 g Triolein würden, nach der angewandten Ölsäure berechnet, 8,399 g Fettsäuren, Diolein

8,068 g und Monoolein 7,021 g geben. Das durch die Reversion gebildete Produkt ist also kein reines Triolein, sondern ein Gemisch desselben mit den Zwischenstufen. Noch mehr Beweiskraft besitzt der Nachweis von Glycerin in meinem synthetischen Fett. Zur Glycerinbestimmung benutzte ich die Methode von L e w k o w i t s c h⁵). Die nach dem Abscheiden der Fettsäuren zurückgebliebene Flüssigkeit, welche das Glycerin enthält, wurde mit den Waschwässern vereinigt, die Schwefelsäure mit Bariumcarbonat ausgefällt, und das Filtrat auf dem Wasserbade fast zur Trockne eingedampft. Aus dem Rückstande konnte dann durch mehrmalige Extraktion mit Alkoholäther (3 : 1) das Glycerin isoliert werden. Nach vorsichtigem Abdampfen des Lösungsmittels wurde das Rohglycerin abermals gelöst und wieder eingedampft, bis es frei von Salzen war. Im Vakuumexsiccator bis zur Gewichtskonstanz getrocknet, betrug sein Gewicht 1,198 g. Der Aschengehalt war = 0.

8,874 g Triolein enthält berechnet 0,928 g Glycerin, 8,874 g Diolein enthält berechnet 1,336 g Glycerin, 8,874 g Monoolein enth. berechnet 2,303 g Glycerin.

Diese in meinem synthetischen Fett gefundenen Glycerin- und Fettsäuregehalte beweisen also, daß es ein Gemisch von Mono-, Di- und Triolein ist, und daß bei der Reversion auch die Zwischenprodukte sich merkbar machen. [A. 59.]

Nachtrag zur Abhandlung: Schätzung des gelösten Sauerstoffs¹).

Von L. W. WINKLER.

(Eingeg. 20.3. 1911.)

Neuere Versuche ergaben, daß zur Sauerstoffschätzung mit Adurol und Ammoniak besonders vorteilhaft eine zweimal normale Natriumchloridlösung verwendet werden kann, da diese Lösung annähernd (zwischen 10° und 20° fast genau) halb soviel Luftsauerstoff löst wie dest. Wasser, wie dies aus den weiter unten stehenden, auf jodometrischem Wege erhaltenen Zahlen ersichtlich ist. Der halbe Druck der Säule der absorbiierenden Salzlösung ist dem auf 0° reduzierten Barometerstande bereits hinzugeaddiert. Bei der Berechnung der bei normalen Barometerstande gelösten Sauerstoffmenge wurde als Tension der Salzlösung eine um 10% kleinere als die des Wassers benutzt.

t	Volumen der Salz- lösung ccm	Baro- meter- stand mm	Verbr. $\frac{1}{100}$ Na-Thio- sulf.-Lösung ccm	In 1000 ccm bei 760 mm ccm
{ 0°	271,2	746,2	22,27	4,684 {
{ 0°	271,2	761,2	22,74	4,688 }
{ 10°	271,3	746,3	18,29	3,845 {
{ 10°	271,3	764,6	18,77	3,851 }
{ 20°	271,3	746,5	15,47	3,252 {
{ 20°	271,3	765,0	15,73	3,225 }
{ 30°	271,4	746,9	13,41	2,818 {
{ 30°	271,4	762,4	13,85	2,848 }

⁵) Benedict-Ulzer, Analyse der Fette, 2. Aufl., S. 149.

¹) Diese Z. 24, 341 (1911).

³) Berl. Berichte 39, 3466 (1906).

⁴) Chem.-Ztg. 33, 453 u. f. (1909).