

Nach Anhäufung größeren Tatsachenmaterials hoffen wir die Frage auch im Lichte der Tensionsdaten einer Kritik unterziehen zu können. Zu diesem Behufe sind Versuche an folgenden Sulfaten im Gange, die ihrem Abschluß nahekommen: Magnesium- und Zinksulfat, Nickel-, Kobalt- und Kupfersulfat und Alaun. [A. 151.]

Analytisch-technische Untersuchungen.

Die Bestimmung des Alkaloidgehaltes in Lupinensamen nach verschiedenen Methoden.

Von CARL BRAHM und GERTRUD ANDRESEN.

Tierphysiologisches Institut der Landwirtschaftlichen Hochschule Berlin.

(Eingeg. 10. Juni 1926.)

Die Ermittlung des Gehaltes eines Pflanzenteils an Alkaloiden ist auf verschiedene Art möglich. Am einfachsten wäre es wohl, der betreffenden Droge das Alkaloid durch ein geeignetes Lösungsmittel zu entziehen, das letztere zu verjagen und den Rückstand zur Wägung zu bringen. Dieses Verfahren wird auch im Prinzip zur quantitativen Bestimmung verwendet, doch muß man einige störende Momente ausschalten. In erster Linie kommt hier in Betracht, daß durch das Lösungsmittel dem betreffenden Pflanzenteil nicht nur das betreffende Alkaloid entzogen wird, sondern, daß auch noch andere Stoffe mit in Lösung gehen, wie Fett, Harze, Farbstoffe. Dies kann man nun dadurch umgehen, daß man die betreffende Lösung mit einer verdünnten Säure schüttelt, dadurch erreicht man, daß die basischen Stoffe von der Säure aufgenommen werden, während die Beimengungen in der Extraktionsflüssigkeit bleiben und dadurch von der Pflanzenbase getrennt werden können. Macht man daher die saure Lösung alkalisch, so wird das Alkaloid abgeschieden und kann durch ein geeignetes Lösungsmittel aufgenommen und durch Ausschütteln isoliert werden. Da die Alkaloide den typischen Charakter der Basen tragen, so kann man auch die Bestimmung maßanalytisch gestalten. Man hat nur nötig, das Alkaloid, in überschüssiger titrierter Säure zu lösen und den Überschuß der Säure zurückzutitrieren und erfährt dadurch, wieviel Säure gebunden wird, und daraus auch, wieviel Alkaloid vorgelegen hat. Eine andere Methode zur quantitativen Bestimmung der Alkaloide beruht auf der Fähigkeit derselben, mit gewissen Stoffen unlösliche Verbindungen zu geben und dadurch ausgefällt zu werden. Auf diesen beiden Prinzipien beruhen die bisher beschriebenen Methoden zum Nachweis der Alkaloide in Lupinensamen. Da die Lupinen in steigendem Maße als Futtermittel für landwirtschaftliche Nutztiere in Anwendung kommen, muß Wert darauf gelegt werden, ein Verfahren zu besitzen, welches in zuverlässiger Weise den Entbitterungsgrad der Lupinen zu bestimmen gestattet. Die in Frage kommenden Methoden sind das Verfahren des Reichsgesundheitsamts-Thoms, das Verfahren von Sabalitschka und Zaher und das Verfahren nach Mach und Lederle. Die Ausführungsformen dieser Verfahren seien kurz mitgeteilt.

Verfahren des Reichsgesundheitsamts-Thoms¹⁾.

„In einem Pulverglas mit eingeschliffenen Stopfen werden 15 g Lupinenmehl mit 50 ccm Äther und 50 ccm Chloroform gut

¹⁾ H. Thoms und H. Michaelis, Über Lupinenverwertung. Jahresber. der Vereinig. f. angew. Bot. 16, 38–60 [1918].

durchgeschüttelt und mit einer Mischung von 5 g Natronlauge (etwa 15%ig) und 5 g Wasser versetzt. Nachdem das Gemisch unter öfterem Umschütteln 24 Stunden gestanden hat, gibt man 50 ccm Äther zu und entnimmt nach nochmaligem Durchschütteln und klarem Absetzen von der Chloroform-Ätherschicht 50 ccm. Diese werden in einem Scheidetrichter nochmals mit 50 ccm Äther versetzt und zwecks Entfernung vorhandener Alkalireste dreimal mit je 20 ccm Wasser gewaschen, mit einer gemessenen Menge $1/100$ n-Salzsäure (etwa 30 ccm) und danach zweimal mit je 20 ccm Wasser ausgeschüttelt. In den vereinigten drei Auszügen wird die freie Salzsäure mit $1/100$ n-Natronlauge unter Verwendung von Jodeosin in bekannter Weise titriert. Die Differenz zwischen der angewendeten und durch Titration wiedergefundenen Salzsäuremenge ist ein Maß für die vorhandenen Alkaloide. Die Berechnung des Alkaloidgehaltes erfolgt in der Weise, daß 1 ccm $1/100$ n-Salzsäure = 0,00248 g Alkaloid entspricht. Etwaige durch die Beschaffenheit der verwendeten Reagentien bedingte Analysenfehler werden durch einen „blinden Versuch“ berücksichtigt, welcher genau in der obigen Weise, aber ohne Lupinenmehl ausgeführt wird.“

Verfahren nach Sabalitschka und Zaher²⁾.

5 g des, wenn notwendig, vorher gepulverten Untersuchungsmaterials (bei geringem Alkaloidgehalt entsprechend mehr) werden in einer Porzellanschale mit 5–10 ccm 10%iger wässriger Natronlauge zu einem Brei gut verrieben; dieser wird unter beständigem Umrühren mit einem Pistill mit soviel Gips versetzt, daß eine völlig pulverige Masse entsteht. Letztere bringt man vollkommen in eine schlanke Pulverflasche, wie sie in den Präparationsammlungen benutzt wird. (Der Durchmesser des Halses ist nur wenig kürzer als der Durchmesser der Flasche selbst.) Je schlanker diese Flasche ist, desto leichter kann man nachträglich einen Teil des Chloroform-Äthergemisches aus dem Gefäß mit der Pipette herausnehmen, ohne den Gips aufzuwirbeln. Schließt der Glasstopfen der Flasche vollkommen dicht, so benutzt man am besten diesen, andernfalls ist er durch einen gut schließenden Gummistopfen zu ersetzen. Man läßt nun schnell aus einer Bürette 50 ccm Äther und aus einer anderen 50 ccm Chloroform in die Flasche fließen, wobei die Hähne der Büretten so weit wie möglich in die Flasche eingeführt sind, um ein störendes Verdunsten der Flüssigkeit zu vermeiden. Sind größere Mengen von Untersuchungsmaterial und Gips zu extrahieren, so können die Mengen von Chloroform und Äther vermehrt werden, nur ist dann bei der Entnahme von Teilen dieses Gemisches und der Berechnung des Titrationsergebnisses darauf Rücksicht zu nehmen. Nach Einbringen der Extraktionsmittel verschließt man die Flasche dicht und schüttelt sie kräftig. Nach Absetzen des Gipses wiederholt man das Schütteln noch fünf- bis sechsmal in derselben Weise. Hierauf läßt man gut absetzen, so daß die obere Chloroform-Ätherschicht vollkommen klar ist. Von dieser entnimmt man mit der Pipette, ohne das Pulver aufzuwirbeln, schnell 50 oder 25 ccm (je nach der vorhandenen Alkaloidmenge), gibt sie in einen Scheidetrichter, setzt einen Überschuß $1/100$ n-Schwefelsäure (etwa 30 ccm) und so viel Äther zu, daß das Chloroform-Äthergemisch sich über der wässrigen Flüssigkeit ansammelt. Dann schüttelt man genügend durch, damit die Alkaloide in die saure, wässrige Lösung übergehen. Nach dem vollkommenen Trennen der beiden Flüssigkeitschichten läßt man die Schwefelsäure aus dem Scheidetrichter in das Titrationsgefäß auslaufen. Es ist dabei zu beobachten, daß oberhalb des Sperrhahnes noch etwas Säure bleibt. Nun schüttelt man die Äther-Chloroformschicht noch dreimal mit je 20 ccm Wasser aus und gibt diese drei Ausschüttelungen zu der Säureausschüttung. Das Gemisch versetzt man mit 2–3 Tropfen Methylrotlösung (1 : 1000 Alkohol) und titriert bis zum Verschwinden der Rotfärbung mit $1/100$ n-Lauge. Aus der Differenz zwischen der zugesetzten Säure und der zur Titration verbrauchten Lauge ergibt sich der Alkaloidgehalt des abpipettierten Volumens Chloroform-Äthergemisch in Gramm durch Multiplikation mit dem Faktor 0,00248 (bezogen auf Lupanin); der Alkaloidgehalt der angewandten Substanzmenge berechnet

²⁾ Th. Sabalitschka und M. W. Zaher Verfahren zur Bestimmung der Lupinenalkaloide, insbesondere in den Lupinensamen. Z. ang. Ch. 37, 299–300 [1924].

sich aus dem Verhältnis des Volumens des Chloroform-Äthergemisches, das zur Extraktion des Gipes benutzt wurde, zu dem abpipettierten Volumen dieses Gemisches, der Prozentgehalt der Substanz an Alkaloid aus dem Verhältnis der angewandten Substanz zu 100 g.

Verfahren nach Mach und Lederle³⁾.

Man schüttelt 15 g Lupinenmehl in einem Pulverglase oder Schüttelzylinder mit eingeschlagenem Stopfen mit 100 ccm Äther und 50 ccm Chloroform und 10 ccm einer 15%igen Natronlauge gut durch und läßt es unter häufigem Umschütteln bis zum anderen Tage stehen. Ist die überstehende Schicht nicht völlig klar, so setzt man einige Tropfen Wasser zu und schüttelt um, worauf rasche Klärung eintritt. Hierauf filtriert man die ätherische Flüssigkeit durch ein bedecktes Faltenfilter und bringt 50 ccm des Filtrates in einen zylindrischen Scheidetrichter von 150 ccm Fassung, gibt 50 ccm Äther zu und schüttelt dreimal mit je 20 ccm 1%iger Salzsäure aus und zieht jedesmal die saure Lösung möglichst vollständig ab. Die in einem Becherglase gesammelten Auszüge befreit man durch Erwärmen von Äther-Chloroform und fällt nach dem Erkalten mit 10 ccm einer 10%igen Kieselwolframsäurelösung. Man röhrt den Niederschlag eine halbe Stunde auf und filtriert nach dem Absetzen durch einen Asbest-Goochtrichter, wäscht mit möglichst wenig 1%iger Salzsäure, trocknet zunächst bei 120° bis zur Gewichtskonstanz, glüht sodann auf einem Teclubrenner, wobei man den Goochtrichter in einen Platin-volltrichter oder in einen passenden Platinschuh setzt und wähgt nochmals.“

Nach dem Verfahren des Reichsgesundheitsamts-Thoms in der oben beschriebenen Ausführungsform haben wir Tausende von Analysen in entbitterten Lupinenproben ausgeführt und erhielten immer gut untereinander übereinstimmende Analysenwerte. Wir geben zu, daß das Verfahren eine gewisse Übung verlangt, sind aber der Überzeugung, daß dasselbe zur Prüfung von entbitterten Lupinenproben, bei denen ein bestimmter Mindestgehalt an Alkaloid gefordert wird, ausreichend ist.

Bei der Untersuchung von ganzen, unentbitterten Lupinensamen fiel uns des öfteren auf, daß die erhaltenen Alkaloidwerte immer unter den in der Literatur mitgeteilten Werten lagen. Es ist ja bekannt, daß der Alkaloidgehalt der Lupinenkörner keine konstante Größe ist. Vielmehr wechselt derselbe in jedem Jahre, da er von verschiedenen Faktoren abhängig ist.

Wir versuchten nun das Verfahren dadurch abzuändern, daß wir das Auswaschen der Äther-Chloroformlösung unterließen. Wir hatten nämlich festgestellt, daß die dabei erhaltenen Waschwässer keine nennenswerten Mengen von Natronhydrat enthielten. Bei der Prüfung dieser Waschwässer mit Alkaloidreagenzien erhielten wir starke Fällungen, die auf einen nicht unerheblichen Gehalt an Alkaloid hindeuteten. Ähnliche Beobachtungen sind in letzter Zeit auch von Sabalitschka und Zaher (l. c.) und von Mach und Lederle (l. c.) mitgeteilt worden. Um diese Beobachtung noch weiter zu erhärten, untersuchten wir eine große Anzahl von Saatlupinen nach diesem Verfahren, und zwar einmal mit und das andere Mal ohne Auswaschen des Äther-Chloroformauszuges. Die Ergebnisse sind in nachstehender Tabelle 1 zusammengestellt.

Die Zahlen zeigen deutlich, daß durch Auswaschen des Äther-Chloroformauszuges ein erheblicher Prozentsatz der Alkalioide weggewaschen wird. Im Durchschnitt betrug der Verlust an Alkaloiden bei den roten Lupinen

63,21%, bei den blauen 71,20% bzw. 68,7% und bei gelben Lupinen 39,50% bzw. 40,46%. Auffallend ist auch der Unterschied zwischen gelben und blauen Lupinen, der bedingt ist durch das Vorkommen verschiedener

Tabelle 1.

Art der Lupinen Saatlupinen der Züchtung	Methode Ge- sundheitsamt Thoms ohne Auswaschen %	Methode Ge- sundheitsamt Thoms mit Auswaschen %	Verlust an Alkaloid in Prozenten
Merkels Rote	1,240	0,481	61,20
	1,231	0,541	56,05
Peemöllers blau	1,210	0,466	61,73
	1,089	0,323	70,31
	1,431	0,420	70,65
	1,140	0,310	72,81
	1,121	0,652	41,84
	1,317	0,429	67,41
	1,163	0,370	68,19
	1,183	0,367	68,98
	1,477	0,514	65,20
	1,225	0,375	69,39
	1,376	0,536	61,05
	1,177	0,582	50,50
	1,238	0,432	65,10
	1,554	0,401	74,20
	0,918	0,258	71,90
	1,198	0,332	72,28
	1,265	0,387	69,40
	1,325	0,455	65,66
Viktoria blau	1,441	0,401	72,16
	1,151	0,444	61,41
	1,574	0,437	72,25
	1,679	0,372	77,81
	1,508	0,353	76,61
	1,286	0,357	72,06
	1,559	0,281	82,37
	1,366	0,486	64,73
	1,168	0,305	73,8
	1,369	0,394	71,2
	1,218	0,429	64,7
	1,479	0,481	67,4
	1,272	0,434	65,8
	1,652	0,401	75,7
	1,349	0,466	65,4
	1,153	0,432	62,5
	1,031	0,296	71,2
	1,106	0,451	59,2
Belbe gelb	1,154	0,266	76,9
	1,013	0,305	69,8
	1,056	0,347	67,1
	1,357	0,385	71,6
	1,213	0,632	56,14
	1,001	0,664	33,67
	1,439	0,645	55,18
	1,103	0,705	36,09
	1,253	0,694	44,62
	1,131	0,723	36,08
Lüneburg gelb	1,104	0,728	34,23
	1,073	0,797	25,72
	1,301	0,794	38,98
	1,164	0,716	38,49
	1,232	0,826	32,95
	1,063	0,586	44,87
	1,128	0,664	41,15
	1,510	0,977	35,29
	1,165	0,755	35,19
	1,177	0,582	50,53
	1,333	0,761	42,90
	1,020	0,665	34,80
	1,232	0,863	29,95
	1,271	0,870	31,55
	1,371	0,773	43,62
	1,201	0,737	38,63
	1,327	0,779	41,28
	1,289	0,646	49,88
	1,237	0,756	38,89
	1,179	0,680	42,32
	1,242	0,784	40,91
	1,229	0,718	41,99

³⁾ F. Mach und P. Lederle, Beiträge zur Bestimmung des Alkaloidgehaltes von Lupinen. Landw. Versuchsstat. 98, 117—124 [1921].

Tabelle 2.

Art der Lupinen	Methode Ge-sundheitsamt	Methode Ge-sundheitsamt	Methode nach Sab-a-litschka	Methode nach Mach-Lederle			Aus der Differenz berechnet	Aus dem geglühten Niederschlag berechnet mit Faktor
	Thoms ohne Auswaschen %	Thoms mit Auswaschen %	Zaher %	Niederschlag getrocknet bei 120° g	Niederschlag ge-glüht g	Differenz g		
Rote Lupinen 1	1,5297	0,5233	1,7613	0,3494	0,2699	0,0795	1,59 %	0,9412 %
Rote Lupinen 2	1,5247	0,5005	1,7558	0,3503	0,2716	0,0787	1,474 %	0,9474 %
Rote Lupinen 3	1,6241	0,5128	1,7285	0,3514	0,2733	0,0741	1,482 %	0,9672 %
Rote Lupinen 4	1,6036	0,4841	1,7285	0,3228	0,2501	0,0727	1,454 %	0,8725 %
Gelbe Lupinen 1	1,2603	0,7172	1,0788	—	—	—	—	—
Gelbe Lupinen 2	1,2405	0,6453	1,1036	0,1386	0,1022	0,0364	0,728 %	0,3564 %
Gelbe Lupinen 3	1,199	0,7460	1,0788	0,1511	0,1218	0,0293	0,586 %	0,4247 %
Gelbe Lupinen 4	—	0,6398	1,0515	0,1260	0,0998	0,0262	0,524 %	0,3480 %
Weisse italien. Lupinen 1	2,252	0,8675	2,9413	0,6612	0,4890	0,1822	3,644 %	1,7050 %
Weisse italien. Lupinen 2	2,296	0,8794	2,8690	0,6838	0,5077	0,1761	3,522 %	1,7700 %
Weisse italien. Lupinen 3	2,4636	0,8819	2,7726	0,6554	0,5040	0,1514	3,028 %	1,7570 %
Weisse Lupinen a. Palästina ⁴	—	—	2,8570	0,6577	0,5119	0,1458	2,916 %	1,7850 %

dener Alkaloide in den beiden Varietäten. Die rote Lupine ist nur eine Abart der blauen und verhält sich daher genau wie letztere. Erwähnt sei hier auch noch, daß wir bei der Analyse von Lupinensamen frischer Ernte nach dem ursprünglichen Reichsgesundheitsamt-Thoms-Verfahren beim Ausschütteln mit Wasser immer starke Emulsionsbildung beobachteten, die die Ausführung des Verfahrens sehr erschwerte. Am häufigsten beobachteten wir diese Erscheinung bei blauen Lupinen. Wir führten diese Emulsionsbildung auf die Anwesenheit von Schleimstoffen zurück, eine Annahme, die wir bei der Alkaloidgewinnung im Großen aus den Entbitterungswässern bestätigt fanden; auch hier bewirkten diese kolloidal gelösten Substanzen kaum zu überwindende Schwierigkeiten.

Die vergleichenden Untersuchungen der drei zu prüfenden Methoden wurden dann immer mit demselben Ausgangsmaterial ausgeführt, und zwar wieder an roten Lupinen, gelben und weißen italienischen Lupinen. Die Ergebnisse sind in der obenstehenden Tabelle 2 zusammengestellt. Bei der Prüfung nach dem Verfahren Mach-Lederle haben wir die Silicowolframatniederschläge sowohl bei 120° getrocknet, als auch dieselben erst nach Ausglühen gewogen. Der Alkaloidgehalt ist einmal aus der Differenz zwischen dem bei 120° getrockneten Niederschlag und dem ausgeglühten berechnet, als auch aus dem Gewicht des geglühten Niederschlages unter Benutzung des Faktors 0,1744 für Lupanin oder 0,2475 für Lupinin.

Die in der letzten Tabelle niedergelegten Zahlenwerte bestätigen wieder das Auftreten großer Verluste an Alkaloiden, die durch das Auswaschen der Äther-Chloroformauszüge eintreten. Die Zahlen zeigen des weiteren, daß man von dem gleichen Ausgangsmaterial ganz verschiedene Alkaloidwerte erhält, wenn man die oben angeführten drei Alkaloidbestimmungsmethoden benutzt. Es erscheint uns daher wünschenswert, bei allen Alkaloiden der Lupinen anstrebt, könnten wir aus Lupinenfuttermitteln das angewandte Untersuchungsverfahren anzugeben. Das in neuester Zeit von Mach⁴) bekanntgegebene Verfahren, welches eine Trennung des mit Wasserdampf flüchtigen von den nicht flüchtigen Alkaloiden der Lupinen anstrebt, könnten wir aus äußeren Gründen nicht in den Kreis unserer Untersuchungen einbeziehen, doch behalten wir uns vor, unsere Erfahrungen mit dieser Methode in einer weiteren Mitteilung zu veröffentlichen. [A. 153.]

⁴⁾ F. Mach, Über die Bestimmung der Alkalioide in Lupinen. Landw. Versuchsstat. 104, 226 [1925].

Säurebestimmung im Sauerfutter.

Von Dr. W. U. BEHRENS, Landwirtschaftliche Versuchsanstalt, Leipzig-Möckern.
(Eingeg. 21. Juni 1926.)

Über die Methodik der Bestimmung der freien organischen Säuren im Sauerfutter gehen die Ansichten der auf diesem Gebiet arbeitenden Wissenschaftler weit auseinander. Man ist sich wohl nur darin einig, daß eine Titration des wässrigen Futterextraktes mit Phenolphthalein als Indicator nicht geeignet ist, die für das Sauerfutter charakteristischen Fettsäuren und Oxysäuren zu erfassen. Alle Stoffe, die innerhalb des Gebietes von $p_H = 4$ (der Reaktion guten Sauerfutters) und $p_H = 8$ (dem Beginn des Phenolphthaleinumschlags) ihre Ionisation ändern, wie z. B. viele Aminosäuren und gewisse Kohlehydratsäuren, verbrauchen ebenfalls Lauge, und bei ihrer Gegenwart im Futterextrakt werden die Titrationswerte viel höher, als dem Gehalt des Futters an freien Fettsäuren und Oxysäuren entspricht. Auch der Ersatz des Phenolphthaleins durch einen anderen Indicator bringt prinzipiell keinen Fortschritt, ganz abgesehen von der Unschärfe des Umschlags, die in der Zusammensetzung des zu titrierenden Systems begründet ist. Ich schlage daher vor, von einer direkten Bestimmung der freien Säure durch Titration überhaupt abzusehen und dafür von jeder zu ermittelnden Säureart die Gesamtmenge (= freier + gebundener Anteil) und ferner die Wasserstoffionenkonzentration der Lösung zu bestimmen. Mittels einfacher Formeln kann dann die in freier Form vorhandene Menge berechnet werden.

Die flüchtigen Fettsäuren (Essig- und Buttersäure) bestimmt man gewöhnlich nach Wiegner und Magasaki¹⁾ durch Wasserdampfdestillation. Die Lösung wird vorher zur Ermittlung der gesamten flüchtigen Säure mit Phosphorsäure versetzt. Eine Destillation ohne Mineralsäurezusatz zur Bestimmung der freien Essig- und Buttersäure liefert unrichtige Werte. Sobald nämlich eine kleine Menge flüchtiger Säure abdestilliert ist, wird die Lösung etwas alkalischer. Nun entspricht jeder Wasserstoffionenkonzentration ein bestimmtes Verhältnis zwischen freier und gebundener Säure (s. unten). Ein Teil der wohl in jedem Sauerfutter vorhandenen freien Milchsäure geht daher bei der Destillation in die gebundene Form über und setzt dabei aus dem essigsauren Salz eine gewisse Essigsäuremenge in Freiheit. Die neu gebildete Essigsäure geht nun beim weiteren Verlauf der Destillation auch teilweise mit über. Diese Umsetzung

¹⁾ Mitt. d. Schweizer Gesundheitsamtes 10, 156 [1919]; Biedermanns Zentralblatt der Agrikulturchemie 51, 140 [1922].