

übermangansauren Kaliums verbraucht wurden, dass also für die Oxydation der S_2 10 cc von dieser Lösung, entsprechend 5 Atomen Sauerstoff, genügten.

Das unterschweflige Natrium wird also in sauren und alkalischen Lösungen durch übermangansaures Kalium in schwefelsaures und unterschwefelsaures Natrium übergeführt.

In den oxydirten Lösungen lässt sich das letztgenannte Salz, welches mit Baryumchlorid sich in lösliches unterschwefelsaures Baryum und Natriumchlorid umsetzt, in der bekannten Weise nachweisen.

Köln-Deutz, im September 1892.

Ueber die quantitative Bestimmung des Theobromins in den Cacaobohnen.

Von

Dr. P. Süss.

Die grossen Schwankungen in den Bestimmungsergebnissen verschiedener Forscher, wie Tuchen, J. Bell, König, Zipperer, Wolfram, Trojanowsky u. A., bezüglich des Theobromingehaltes der Cacaosamen (0,3—2,5 %) gaben Veranlassung, nach Ursachen zu suchen, welche so erhebliche Differenzen herbeigeführt haben konnten.

Zunächst erschien es angezeigt, einmal die Löslichkeit des Theobromins in verschiedenen Lösungsmitteln zu prüfen, um eventuell hierauf eine Methode der quantitativen Bestimmung aufzubauen.

Zu diesem Zwecke wurden folgende Lösungsmittel mit einem Ueberschusse von Theobromin versetzt, unter häufigem Umschütteln einen Tag lang bei 20° C. behandelt, dann durch ein doppeltes Filter gegossen und ein abgemessenes Volumen der Lösung im Wassertrockenschranke verdunstet.

	Theobromin	
	α	β
Alkohol (absol.), spec. Gew. 0,793 bei 20° C. =	0,0080 g	0,0060 g
Aether (pur.), „ „ 0,717 „ „ „ =	0,0035 „	0,0045 „
Chloroform (pur.), „ „ 1,488 „ „ „ =	0,0260 „	0,0240 „
Benzol (cryst.), Siedepunkt 80—81° C. =	0,0015 „	0,0015 „
Aether Petrolei, „ 45—60° C. =	nichts	nichts.

Alkohol und Aether waren über gebrannte Magnesia destillirt, mithin säurefrei; vom Amylalkohol, welcher Theobromin mit am besten löst, wurde, da ein späteres Experimentiren mit demselben seiner unangenehmen Eigenschaften (physiologische Wirkung etc.) wegen nicht beabsichtigt war, abgesehen. Wichtig für weitere Versuche ist die Unlöslichkeit des Theobromins in Petroläther und die relativ leichte Löslichkeit in Chloroform.

In folgender Tabelle sind die in der Litteratur verzeichneten Lösungsverhältnisse des Theobromins angegeben, und sind hierbei die Gewichtsmengen der Lösungsmittel in Volumina übertragen worden.

Es lösen 100 cc Gramme:

Wasser		Weingeist		Aether		Nach Angaben von:	
von 0—17°	von 100°	kalt	siedend	kalt	siedend		
Theobromin	0,0625	1,745	0,06	1,702	0,0042	0,1166	Mitscherlich ¹⁾ Dragendorff ²⁾
	0,0625	0,648	—	—	—	—	
			Alkohol (absol.)		Chloroform		Treu ³⁾
—	—	0,0186	0,176	—	1,340		

Nicht unberücksichtigt durfte auch bleiben, von welch' lösendem Einflusse das Cacaofett bei seiner Extraction mit Petroläther auf das Theobromin sei; in dieser Richtung geben uns zwei Versuche Aufschluss:

- α. 0,5 g Theobromin mit 5 g ausgepressten, filtrirten Cacaofettes auf dem Wasserbade längere Zeit erwärmt und dann im Soxhlet'schen Apparate 6 Stunden mit Petroläther behandelt, zeigten 0,0005 g Gewichtsabnahme; in dem noch heissen Fettauszuge konnten mikroskopisch einzelne Theobrominkryställchen wahrgenommen werden.
- β. 0,5 g Theobromin ohne Cacaofett liessen unter gleichen Bedingungen 0,001 g Gewichts Differenz erkennen; auch in diesem Falle enthielt der noch warme Petroläther ungelöstes Theobromin, welches am Boden des Extractionskölbchens deutlich zu beobachten war.

1) Jahresber. üb. d. Fortschr. d. Chem. 1859, S. 595.

2) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. zu Berlin 11, 1689.

3) Jahresber. üb. d. Fortschr. d. Chem. 1878. S. 872.

Eine zweimalige Wiederholung des Versuches, stets unter Anwendung doppelter Filter, führte zu gleichen Ergebnissen, und musste daher unzweifelhaft angenommen werden, dass der Petroläther das Theobromin in ungelöstem Zustande mit sich gerissen hatte.

Lösende Eigenschaften können unter solchen Umständen dem Cacaofette also nicht beigemessen werden.

Wie schon Zipperer in seinen »Untersuchungen über Cacao und dessen Präparate, Hamburg und Leipzig 1887« hervorgehoben hat, haben alle Theobrominbestimmungs-Methoden gewisse Mängel an sich, aber auch die Zipperer'sche Methode gibt zu Bedenken Anlass.

Nicht minder zutreffend ist dies auch für das von P. Diesing¹⁾ angewandte Verfahren.

Der Analysengang von Zipperer, nach welchem man die Bohnen mit Petroläther entfettet, mit 80 procentigem Alkohol auskocht, diesen Auszug unter Zusatz von Kalkhydrat zur Trockne verdampft, mit Chloroform extrahirt und dessen Trockenrückstand mit kochendem Wasser mehrmals auszieht, lässt die Annahme zu, dass man nicht die volle Theobrominausbeute erhält.

Diesing extrahirt mit Petroläther entfettete Chocolate im Soxhlet'schen Apparate mittelst Chloroforms, verjagt dieses und kocht die rückständige gelblichweisse Masse mehrmals mit Wasser aus. Wie später zu erörtern, kann das auf diese Weise nach Verdampfen des Wassers erhaltene Theobromin nicht als »rein« angesprochen werden. Die Behauptung Diesing's, es gehe bei der Fettextraction der Bohnen durch Petroläther ein gewisser Theil Theobromin mit in Lösung, muss ich, nachdem von mir früher schon die Unlöslichkeit des Theobromins in Petroläther, ganz den Angaben Dragendorff's entsprechend, festgestellt worden war, als nicht zutreffend betrachten. — Nicht Theobromin, sondern das in den Bohnen enthaltene Caffeïn wird mit dem Fette zugleich beseitigt, und weil die Murexidreaction beiden Xanthinderivaten zukommt, ist dieselbe für die Gegenwart von Theobromin allein nicht beweisend.

Im Folgenden skizzire ich die beiden von mir in Anwendung gebrachten Verfahren zur Bestimmung des Theobromingehaltes der Cacaobohnen.

¹⁾ Inaugural-Dissertation über »Beiträge zur Untersuchung von Cacaopräparaten, Braunschweig 1890«.

Gerottete, nicht geröstete Caracas-Bohnen wurden mit gleichen Gewichtstheilen gereinigten Quarzsandes sehr fein zerrieben und von diesem Gemische je 6 g in Arbeit genommen.

Versuch A.

Das Gemisch wurde, nach zehnstündiger Fettentziehung durch Petroläther, mit 200 cc destillirtem Wasser und 6 g frisch geschlämmt, chemisch reinem Bleioxyd eine halbe Stunde unter zeitweiligem Umrühren im Becherglase gekocht, dann colirt, ausgepresst, filtrirt, der Colirrückstand noch zweimal mit 100 cc destillirtem Wasser je eine viertel Stunde lang ausgekocht und wie vorher damit verfahren.

Die vereinigten, fast farblosen Filtrate wurden bis auf 10 cc eingedampft, sodann in den Scheidetrichter gebracht, mit 100 cc Chloroform drei Minuten lang tüchtig durchgeschüttelt, nach völliger Klärung (in etwa drei Stunden) das Chloroform abgelassen und diese Procedur noch zweimal wiederholt. Im Fractionskolben (oder einem anderen Kölbchen) wurde nun das Chloroform der vereinigten Ausschüttelungen zum grossen Theile unter gelindem Erhitzen über freier Flamme abdestillirt, das Zurückbleibende in ein tarirtes Becherglas gegossen, der Kolben mit erwärmtem Chloroform nachgespült, der Inhalt des Becherglases schliesslich auf dem Wasserbade zur Trockne gebracht.

Das resultirende weisse, mikrokrySTALLINISCHE Pulver, mit nur geringem Stiche in's Gelbliche spielend, hinterliess nach dem Verdampfen auf dem Platinbleche äusserst wenig Asche.

Versuch B.

Das entfettete Gemisch von Cacaobohnen und Sand wurde fünf Stunden hindurch der Extraction mit Chloroform unterworfen, dieser Auszug in einer Porzellanschale nach Verdunsten des Chloroforms mit 100 cc Bleiessig, 20 cc gesättigter Sodalösung und etwas gereinigtem Sande über Wasserdampf, unter öfterem Umrühren mit einem Pistille, bis zur Staubtrockne belassen.

Das höchst fein zerriebene Pulver, in eine gut schliessende Patrone aus Fliesspapier gefüllt, wurde nun ebenfalls fünf Stunden lang mit Chloroform erschöpft. Nach Verdampfen des letzteren kochte man den Rückstand zweimal mit je 50 cc destillirtem Wasser aus und brachte die Filtrate in einem tarirten Becher-

glase zur Trockne; auf dem Filter blieb ein harzähnlicher Körper zurück.

Das erhaltene Product hatte das gleiche Aussehen wie unter Versuch A. angegeben, nur hinterblieb auf dem Platinbleche verhältnissmässig mehr Asche.

Die Entfettung und die Extraction der Bohnen durch Chloroform geschah im Soxhlet'schen Apparate, der Zusatz von Bleioxyd, beziehungsweise Bleiessig sollte die Bindung des Gerb- und Farbstoffes und des Harzes bezwecken, mit dem zugefügten Natriumcarbonat wollte man Bleiacetat in Carbonat überführen; denn, wie ein Versuch zeigte, vermag heisses Chloroform beträchtliche Mengen Bleiacetat zu lösen. Auf Peptone und Zucker ist Chloroform fast ohne jede Wirkung.

Vergleichshalber wurden von mir auch Theobrominbestimmungen desselben Gemisches nach Zipperer und nach Diesing ausgeführt und gelangte ich dabei zu den nachstehenden Ergebnissen.

Aus 3 g Caracas-Bohnen wurden gewonnen:

$\alpha)$ 0,022 g = 0,73 % $\beta)$ 0,025 « = 0,83 %	Theobromin	Methode Zipperer.
$\alpha)$ 0,030 « = 1,00 % $\beta)$ 0,033 « = 1,10 %	«	Methode Diesing.
$\alpha)$ 0,044 « = 1,46 % $\beta)$ 0,042 « = 1,40 %	«	Versuch A.
$\alpha)$ 0,026 « = 0,86 % $\beta)$ 0,025 « = 0,83 %	«	Versuch B.

In 2 g entfetteter Puerto Cabello-Bohnen lieferten:

$\alpha)$ 0,0540 g = 2,70 % $\beta)$ 0,0545 « = 2,72 %	Theobromin	Versuch A.
$\alpha)$ 0,0340 « = 1,70 % $\beta)$ 0,0330 « = 1,65 %	«	Versuch B.

Schon ein flüchtiger Blick auf diese Zahlenreihen wird uns davon überzeugen, dass, wenn man nach Zipperer und Versuch B. arbeitet, offenbar Theobromin sich theilweise der lösenden Einwirkung des Chloroforms entzieht. Dieser Umstand führt

in gegenwärtigen Fällen zu einem Minus von etwa 40 % im Verhältnisse zur Ausbeute bei Versuch A.

Es repräsentirt sich demnach das Ausschütteln des wässrigen Theobrominauszuges mit Chloroform als vollkommene Methode.

Das nach Diesing'schem Modus gewonnene Product war bräunlich gefärbt und kohlte beim Erhitzen auf dem Platinbleche ziemlich stark.

In seiner Dissertation (Seite 11) sagt Diesing, das Theobromin werde beim Eindampfen mit Kalkhydrat vollständig zerstört, welcher Behauptung ich jedoch keineswegs beipflichten kann. Ich erhielt nach Zipperer ein gelblich weisses Pulver, von dem minimale Mengen schon die Murexidreaction hervorbrachten.

E. Schmidt und Pressler¹⁾ waren die ersten, welche bei der Darstellung von Theobromin das Calciumhydroxyd zur Bindung von Gerbstoffen etc. anwendeten und die Formel des Theobromins, $C_7H_8N_4O_2$, einer genauen Prüfung unterzogen; sie fanden 31,01 % Stickstoff und erklären das Theobromin für wasserfrei.

Um nun die quantitative Bestimmung des Theobromins in den Cacaobohnen mittelst der Ausschüttelmethode (Versuch A.) möglichst einwandfrei zu gestalten, waren weiterhin zu prüfen:

1. Die Stabilität der Resultate bei Anwendung verschiedener Mengen des Untersuchungsmaterials, wobei das Lösungsvermögen des Chloroforms berücksichtigt werden muss.
2. Die Reinheit des resultirenden Theobromins.

Ad 1.

Fein gepulverte, entfettete Soconusco-Bohnen wurden in Portionen a, b, c zu 2, 3 und 4 g abgewogen, jedes dieser Quanta mit 4 g reinem Bleioxyd und 0,5 g basisch essigsaurem Bleioxyd versetzt und nach Versuch A. behandelt.

Ein dreimaliges Ausschütteln bei etwa 20° C. ergab für
a : 0,055 g b : 0,074 g c : 0,096 g Theobromin.

Durch eine vierte Ausschüttelung erhöhten sich die Werthe auf

a = 0,055 g b = 0,076 g c = 0,102 g,

in Procenten ausgedrückt:

a = 2,75 % b = 2,53 % c = 2,55 % Theobromin.

¹⁾ Liebig's Annalen d. Chemie **217**, 288.

Ein Commentar zu vorliegenden Zahlen ist wohl nicht nothwendig; das basisch essigsaure Bleioxyd war in der Absicht zugesetzt, um damit den Farbstoff schnell und vollständig zu fällen, was bei a und b auch gelang.

Ad 2.

Das Product, wie es oben erhalten wurde, war in seinem Aussehen dem Trommsdorff'schen Theobromin sehr ähnlich; kleinste Mengen mit Chlorwasser zu Amalinsäure oxydirt, erzeugten nach Zufügen von Ammoniak Murexoïn; in Wasser war es mit schwacher Opalescenz löslich, längeres Einleiten von Schwefelwasserstoff in diese mit Salzsäure angesäuerte Lösung liess dieselbe unverändert; auf Fehling'sches Reagens wirkte die wässrige Lösung weder vor noch nach der Inversion reducirend ein.

Der Glührückstand von 0,1 g des Pulvers betrug 0,0004 g = 0,4 % und war von rostbrauner Farbe. Die Vermuthung, dass es sich hier hauptsächlich um Eisenoxyd handele, wurde durch die Berlinerblau-Reaction bestätigt.

Eine grössere Quantität des zu identificirenden Theobromins, nach dem Verfahren unter ad 1 gewonnen, diente einerseits zur Darstellung des Silbersalzes, andererseits zur Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl.

Mit dem Theobrominsilber wurden keine zufriedenstellenden Resultate erzielt; auch das Trommsdorff'sche Präparat führte zu negativen Zahlen. Zur quantitativen Ermittlung des Stickstoffs gelangten je 0,2 g der im Exsiccator getrockneten Substanz, und wurden im Mittel dreier Bestimmungen 29,95 % Stickstoff gefunden.

Die Formel des Theobromins verlangt 31,11 % Stickstoff, also ein Plus von 1,16 %.

Ziehen wir all' die Schwierigkeiten in Betracht, denen man bei der Feststellung des absoluten Theobromingehaltes in den Cacaosamen begegnet, dann dürfen wir sicherlich die Ausschüttelmethode als die der idealen quantitativen Theobrominbestimmung am nächsten liegende bezeichnen.
