

d_{15}^{22} 0.889. Das erhaltene Semicarbazon gab den Mischschmelzpunkt der Citral-a- und -b-Semicarbazone, etwa 148—165°, da neben dem Nerol noch etwas Geraniol vorhanden war. Durch wiederholtes Umkrystallisieren aus Methanol konnte der Schmelzpunkt auf 166—168° gesteigert werden. Mischschmelzpunkt mit dem Semicarbazon des Citrals b, Schmp. 171°⁶⁾.

Die beiden ersten Alkoholfraktionen (nach der Reinigung über Calciumchlorid) vom Sdp.₁₄ bis 112° u. 112—114°, zusammen 1.9 g, wurden nach Walbaum u. Stephan⁵⁾ mit 4 g Ameisensäure (d_{20} 1.22) 2 Stdn. im Wasserbad erwärmt, wobei Geraniol und Nerol zerstört werden. Von dem aufgearbeiteten Reaktionsgemisch destillierten bei 15 mm bis 100° nur Terpene über. Die Fraktion vom Sdp.₁₅ 100—120°, 0.8 g, verbrauchte bei der Verseifung mit $n/2$ -NaOH 8.4 ccm gegen theoret. 8.7 ccm für Citronellylformiat. (Mol.-Gew. 184). Der durch die Verseifung erhaltene, nach Citronellol riechende, rohe Alkohol wurde mit Chromsäure-Schwefelsäure zu Citronellal oxydiert, dessen Semicarbazon, Schmp. aus Benzin 82—84°, mit einem Vergleichspräparat keine Schmelzpunktserniedrigung gab.

Die Alkohol-Fraktionen 3 und 4 (vor der Reinigung über Calciumchlorid) vom Sdp.₁₅ 130—135° bzw. 165—175°, zusammen 2.0 g, gaben nach 2-maligem Fraktionieren einen Sesquiterpenalkohol vom Sdp.₁₅ 165—168°, 1.3 g. Er ist dickflüssig und von cedernholzartigem Geruch. Aus dem mit Phthalsäureanhydrid nicht reagierenden Öl wurden nach der Verseifung des überschüss. Phthalsäureanhydrids 37 g eines Gemisches von bereits nachgewiesenem Bisabolen und Cadinen¹⁾, Sdp.₁₅ 130—138°, herausfraktioniert.

78. Hans-Joachim Bielig: Ein einfaches Verfahren zur Darstellung krytallisierten Carotins aus Mohrrüben.

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut f. Medizin. Forschung, Heidelberg, Institut f. Chemie.]
(Eingegangen am 22. Mai 1944.)

Neben dem roten Palmöl¹⁾²⁾ ist die Mohrrübe (*Daucus carota*) das ergiebigste Ausgangsmaterial zur Carotingewinnung. Diese Eignung der Karotte wird durch die Armut an fettlöslichen Begleitfarbstoffen³⁾ begünstigt, durch den hohen Wassergehalt jedoch herabgesetzt. In ausgedehnten Anbauversuchen mit verschiedenen Möhrenvarietäten hat W. Schuphan⁴⁾ gezeigt, daß die gespeicherte Carotinmenge außerordentlich von der Sorte und der Anbauzeit abhängt. Zur präparativen Darstellung von Carotin eignen sich danach in erster Linie Möhren der Herbsterte, deren beste Sorten (z. B. „Lange, rote, stumpfe ohne Herz“) einen Gehalt von mehr als 10 mg-% Carotin bei rund 10% Trockensubstanz aufweisen. Bei den Frühjahrsmöhren (z. B. „Gonsenheimer Treib“) liegt die Carotinmenge nicht höher als 6.5 mg-% bei etwa 12% Trockensubstanz. Die vorliegende Untersuchung wurde

⁰⁾ Tiemann, B. 31, 3331 [1898]; 32, 115 [1899]; 33, 877 [1900]; von Soden u. Treff, B. 39 I, 911 [1906].

¹⁾ R. Kuhn u. H. Brockmann, Ztschr. physiol. Chem. 200, 255 [1931].

²⁾ O. Ungnade, Chem.-Ztg. 63, 9 [1939].

³⁾ H. v. Euler u. E. Nordenson, Ztschr. physiol. Chem. 56, 223 [1908].

⁴⁾ Der Züchter, 14, 25 [1942].

mit einer nicht näher bestimmten Spätsorte Pfälzer Züchtung ausgeführt, die 130 mg Carotin und 160 g Trockensubstanz je kg frische Möhren enthielt.

Wie R. Kuhn u. H.-J. Bielig⁵⁾ zuerst beobachteten und W. Straus⁶⁾ eingehend quantitativ untersuchte, enthalten die Chromatophoren der Möhrenwurzel das Carotin nicht als freien Kohlenwasserstoff, sondern ähnlich den Chloroplasten des grünen Blattes⁷⁾, symplexartig an Eiweiß und Lipide gebunden. Erst nach denaturierender Spaltung dieses Symplexes läßt sich der Farbstoff in Fettlösungsmittel überführen. Zur präparativen Carotiningewinnung ist diese Spaltung bewußt erstmals mit Invertseifen ausgeführt worden⁸⁾, früher unbewußt entweder durch Kochen⁴⁾²⁾ oder Trocknen der Möhren⁸⁾⁹⁾²⁾ oder aber durch Anwendung von hydrophilen Lösungsmitteln¹⁰⁾¹¹⁾ als Trocknungsmittel. Seit R. Willstätter und H. H. Escher⁸⁾ war es üblich, Carotin im Laboratoriumsmaßstab aus getrockneten, rohen Möhrenschnitzeln durch Extraktion mit Petroläther zu gewinnen. Das Trocknen, welches wegen der Wärmeempfindlichkeit des Farbstoffs bei 40° durchgeführt werden muß, ist platz- und zeitraubend. Zudem können die Oxydationsverluste, vor allem wenn das getrocknete Gut nicht sogleich auf Carotin verarbeitet wird, 50% und mehr des gesamten Farbstoffs der Frischmöhre betragen. Die schonendere, aber für die weitere Verarbeitung umständlichere Entwässerung mit Alkohol¹⁰⁾ oder Aceton¹¹⁾ ist recht kostspielig, da diese nicht mehr lohnend zurückgewonnen werden können. Zur Anwendung des Invertseifenverfahrens⁵⁾ müssen die rohen

Tafel 1.

Löslichkeit von Carotin aus *Daucus carota* in verschiedenen Lösungsmitteln bei 19°.

(Carotinpräparat: Schmp. 180.5° (korr.); α -Carotin-Gehalt 5%. Ausführung nach J. H. C. Smith u. H. W. Milner¹²⁾.)

| Lösungsmittel, trocken | Siedepunkt | Löslichkeit g Carotin je l | Bemerkungen |
|---------------------------|------------|-------------------------------|---|
| Schwefelkohlenstoff . . . | 44° | 55 | Löslichkeit ¹³⁾ : Spielend leicht |
| Tetrahydrofuran | 67° | 22.5 | |
| Benzol | 80° | 5.3 | Löslichkeit ¹³⁾ : Ziemlich leicht |
| Äther | 35° | 2.4 | Löslichkeit ¹³⁾ : Beim Sdp. 1.1 g je l |
| Hexan | 69° | 1.2 | Löslichkeit: 1.12 g je l bei 25° ¹³⁾ ; in siedendem Petroläther 0.63 g je l ¹³⁾ |
| Äthylalkohol | 78° | 0.008 | Löslichkeit ¹⁴⁾ : 0,0155 g je l bei 25° |

⁵⁾ B. 73, 1080 [1940].

⁶⁾ Helv. chim. Acta 25, 179, 489, 705 [1942]; 26, 1370 [1943].

⁷⁾ A. Stoll, E. Wiedemann u. A. Rügger, Verh. Schweiz. Naturf. Ges. 1941, 25.

⁸⁾ R. Willstätter u. H. H. Escher, Ztschr. physiol. Chem. 64, 47 [1910]; H. H. Escher, Dissertat. Zürich, 1909.

⁹⁾ R. Kuhn u. E. Lederer, B. 64, 1349 [1931].

¹⁰⁾ N. T. Deleano u. J. Dick, Biochem. Ztschr. 259, 110 [1933].

¹¹⁾ H. N. Holmes u. H. M. Leicester, Journ. Amer. chem. Soc. 54, 716 [1932].

¹²⁾ Journ. biol. Chem. 104, 437 [1934].

¹³⁾ R. Willstätter u. W. Mieg, A. 355, 1 [1907].

¹⁴⁾ F. M. Schertz, Journ. agric. Res. 30, 469 [1925].

Möhren saftfein zerkleinert werden, was sich im Laboratorium nicht immer leicht durchführen läßt. Dieses Verfahren setzt zudem voraus, daß eine leistungsfähige Zentrifuge vorhanden ist.

Es wurde nun im Tetrahydrofuran¹⁵⁾ ein Lösungsmittel gefunden, welches die angeführten Nachteile der bisherigen vermeidet. Im Laufe eines Arbeitstages kann mit den einfachsten, in jedem Laboratorium vorhandenen Geräten krystallisiertes, analysenreines Carotin leicht grammweise bei guter Ausbeute gewonnen werden. Dies beruht darauf, daß im Tetrahydrofuran hohes Lösungsvermögen für Carotin, niedriger Siedepunkt (67°), Mischbarkeit mit Wasser und Alkalistabilität vereinigt sind. Nach den Meßwerten der Tafel 1 beträgt die Löslichkeit des Carotins in Tetrahydrofuran mit 22.5 g je l bei Zimmertemperatur fast die Hälfte derjenigen in Schwefelkohlenstoff, dem besten bekannten Carotinlösungsmittel. Die Löslichkeit in Benzol wird um mehr als das 4-fache, die in Hexan sogar um das rund 20-fache vom Tetrahydrofuran übertroffen. Da das Lösungsmittel mit Wasser mischbar ist, erübrigt sich ein Trocknungsgang. Wie im Versuchsteil näher beschrieben wird, werden *gekochte oder im Autoklaven gedämpfte Möhren* fein zerrieben und von der Hauptmenge Wasser durch Abpressen befreit. Aus Tafel 2 geht hervor, daß durch den Kochprozeß keine Verminderung oder Schädigung des Carotins stattfindet. Der orangerote, noch 50% Wasser enthaltende Preßkuchen gibt bei mehrmaligem Schütteln mit Tetrahydrofuran das gesamte Carotin an das Lösungsmittel ab. Die abgesaugten tiefroten Carotinauszüge werden im Vakuum bis zur Scheidung in eine ölige Carotin- und eine carotinfreie wäßrige Schicht eingedampft, wobei die Hauptmenge des Lösungsmittels zurückgewonnen wird. Schüttelt man den

Tafel 2.
Carotingehalt verschieden behandelter Möhrenproben.

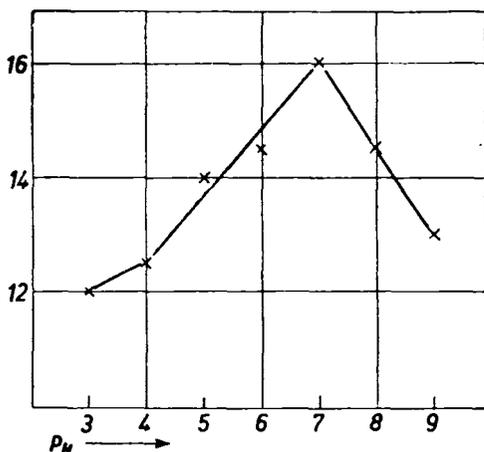
| Nr. | Möhrenprobe | Trockensubstanz g-% des Frischgewichtes | $\alpha + \beta$ -Carotin (chromatogr.) mg-% des Frischgewichtes |
|-----|-----------------------------------|---|---|
| 1 | roh, gemahlen | 16.1 | 12.9 ($\pm 15\%$) |
| 2 | Nr. 1 zwei Stdn. gekocht | 12.2 | 12.7 ($\pm 15\%$) |
| 3 | 15 Min. im Autoklaven gedämpft | 11.7 | 13.0 ($\pm 15\%$) |
| 4 | Preßgut von Nr. 2 | 41.5 | 40.0 ($\pm 15\%$) |
| 5 | Preßsaft von Nr. 2 | — | 0.73 ($\pm 15\%$) |

heterogenen Kolbenrückstand nun mit etwas wäßriger Kalilauge durch, so scheidet sich der Farbstoff in den charakteristischen, metallisch glänzenden Kryställchen mit großer Reinheit ab. Die Ausbeute beträgt mehr als 50% des colorimetrisch ermittelten Carotingehaltes der frischen Möhre. Sie läßt sich durch Ausschütteln der Mutterlauge mit Tetrahydrofuran und Wiederholen des beschriebenen Arbeitsganges auf 80% stei-

¹⁵⁾ D. Starr u. R. M. Hixon, *Org. Syntheses* 16, 77 [1936]. I. G. Farbenindustrie A.-G., Franz. Pat. 865065, C. 1941 II, 1681; Dtsch. Reichs-Pat. 721 004, C. 1942 II, 1181.

gern. Voraussetzung für das Gelingen der Krystallisation ist die Verwendung gut gereinigten Tetrahydrofurans. Das technische Lösungsmittel enthält reichliche Mengen mit Lauge verharzbarer Verunreinigungen. Diese werden durch Schütteln mit festem Kaliumhydroxyd ausgeschieden, vorhandene Peroxyde durch nachfolgende Destillation über Natrium entfernt. Einen Vergleich der Tetrahydrofuranmethode mit den bisher üblichen Verfahren zur Carotiningewinnung gibt Tafel 3.

Der beim Abpressen der gekochten Möhren gewonnene, hellorangefarbene, stark zuckerhaltige Preßsaft enthält, wie auf die im Versuchsteil beschriebene Weise ermittelt wurde, höchstens 4% des Gesamtcarotins kolloidal gelöst (vergl. Tafel 2). Die Gewinnung dieser Carotinmenge ist nur dann lohnend, wenn gleichzeitig der Carotinrest aus den alkalischen Mutterlaugen des Hauptprozesses mit aufgearbeitet wird. Während es bisher üblich war, das Carotin aus Möhrenpreßsäften mit Bleiacetat¹⁶⁾, Aluminiumsulfat¹⁷⁾, Magnesiumchlorid¹⁸⁾, organischen Oxysäuren¹⁹⁾ oder Handelszephirol⁵⁾ auszufällen, wurde in vorliegendem Falle der Farbstoff dem mit Kaliumhydroxyd versetzten, warm gehaltenen Saft mit einem Benzin-Benzolgemisch entzogen und aus dem Konzentrat nach R. Kuhn und E. Lederer⁹⁾ krystallisiert.



Abbild. 1. pH-Abhängigkeit der Quellung des Möhren-Extraktionsrückstandes. Abszisse: pH. Ordinate: cm Universalpuffer²⁰⁾, die von 1g Möhrenrückstand gesiebt durch 440 Maschen (cm) gerade noch zu einem steifen Brei gebunden werden (Mittelwerte aus 3 Bestimmungen $\pm 10\%$).

Befreit man den bei der Tetrahydrofuranextraktion anfallenden elfenbeinfarbenen Möhrenrückstand im Vakuum von restlichem Lösungsmittel, so erhält man ein haferflockenähnliches, hoch quellbares Trockenmaterial (Stickstoffgehalt 3.90%). 1 g des grießfein gemahlten Pulvers (Siebgröße 37 Maschen pro qcm) vermag im Mittel 25 g ($\pm 10\%$) destilliertes, kohlensäurefreies Wasser, nach Erwärmen im siedenden Wasserbad und Abkühlen, zu einem steifen Brei zu binden. Wie aus Abbild. 1 hervorgeht, sinkt die Quellfähigkeit sowohl mit steigendem wie mit fallendem pH und mit abnehmender Korngröße des Pulvers.

Meiner Frau danke ich für die eifrige Mithilfe bei der Ausführung der Versuche.

¹⁶⁾ G. Rosenberg, Bull. Soc. Chim. biol. 16, 1761 [1934].

¹⁷⁾ S. Matzko, Problems Nutrit. (russ.) 6, 103 [1937]; C. 1938 I, 4689.

¹⁸⁾ G. I. Rosenberg, Russ. Pat. 48316; C. 1937 II, 108.

¹⁹⁾ A. S. Wetscher, Biochimia (russ.) I 567 [1936]; C. 1937 I, 3729.

²⁰⁾ H. T. S. Britton u. R. A. Robinson, Journ. chem. Soc. London 1931 I,

Tafel 3.

Vergleich verschiedener Verfahren zur Carotingewinnung aus *Daucus carota*.

| Autoren | Methodik | Ausbeute | | Reinheitsgrad % |
|-------------------------------------|---|-------------------------|-------------------------------------|--------------------|
| | | in mg/kg Frischmöhre | in % des Gesamtcarotins gehaltes | |
| Willstätter u. Escher ⁸⁾ | Extraktion roher, getrockneter Schnitzel mit Petroläther (P. Ä.), Kryst. aus P.Ä.-CS ₂ -Alk. ohne Verseifung.**)**) | 80—100 | etwa 50 | etwa 90 |
| Ungnade ²⁾ | Extraktion gekocht zerkleinerter, getrockneter Möhren mit P.Ä. Kryst. aus P.Ä. ohne Verseifung.***) | 26 | 30 | 80 |
| Deleano u. Dick ¹⁰⁾ | Entwässerung roh gemahlener Möhren mit Alkohol. Extraktion mit P.Ä. Kryst. ohne Verseifung. | 32 | nicht angebar | Rohprod. |
| Holmes u. Leicester ¹¹⁾ | Entwässerung gekocht gepresster Karottenkonserven mit Aceton. Extraktion mit Aceton-P.Ä. Kryst. aus P.Ä.-Alk. ohne Verseifung. †) | 37 | nicht angebar | Rohprod. |
| Kuhn u. Bieligg ⁵⁾ | Behandlung roh passierter Möhren mit Handelszephiirol. Extraktion mit P.Ä. Kryst. aus Benzol-Methanol nach Verseifung. | 70 | etwa 65 | über 95 |
| Bieligg, diese Arbeit | Extraktion gekocht gepresster Möhren mit Tetrahydrofuran. Direkte Kryst. aus dem verseiften Abdampfdruckstand. | 97.5 | 80 | über 95 |

*) Eine ähnliche Aufarbeitung beschreibt A. Arnaud²¹⁾: Vereinigte Schwefelkohlenstoffextraktion des getrockneten Preßgutes roh gemahlener Möhren und der getrockneten Bleiacetatfällung des Preßsaftes. Ausb. 30 mg pro kg frische Karotten.

**) R. Kuhn u. E. Lederer⁹⁾ extrahieren die getrockneten, gemahlene Schnitzel zunächst mit Methanol, dann mit Petroläther. Ausb. etwa 35 mg pro kg frische Möhren; L. Zechmeister²²⁾ verseift das erhaltene Konzentrat vor der Krystallisation.

***) Das Verfahren geht auf F. G. Kohl²³⁾ zurück und wurde auch von H. v. Euler u. E. Nordenson³⁾ angewandt. Ausb. 27 mg Carotin je kg Frischmöhren neben Oxydationsprodukten.

†) Ähnlich ist J. D. Guthrie²⁴⁾ mit rohen Karotten verfahren.

²¹⁾ Compt. rend. Acad. Sciences 102, 1119 [1886].

²²⁾ L. Zechmeister, Carotinoide, Springers Monographien, Berlin 1934, S. 119.

²³⁾ F. G. Kohl, Untersuchungen über d. Carotin u. seine physiol. Bedeutung in d. Pflanze, Gebr. Bornträger, Leipzig 1902, Abschnitt V.

²⁴⁾ Amer. Journ. Bot. 16, 716 [1929].

Beschreibung der Versuche.

1) Darstellung von krystallisiertem Carotin mit Tetrahydrofuran.

6 kg Handelsmöhren, deren Carotingehalt wie unter 4) angegeben colorimetrisch ermittelt worden ist, werden gewaschen, längs und quer geteilt und $1\frac{1}{2}$ Std. mit Wasser bedeckt gekocht²⁵⁾. Nach dem Erkalten gießt man das Kochwasser ab und zerkleinert die weichen Möhren in einem großen Porzellanmörser oder besser im Fleischwolf zu einem feinen Brei. Dieser wird entweder auf einer Nutsche mit großporigem Filter durch zuerst schwaches, später stärkeres Saugen von der Hauptmenge Wasser befreit oder einfacher und wirksamer unter Anwendung von Koliertuch und Fruchtpresse. Je nach der Schärfe des Abpressens erhält man 4—4.5 l gelbroten, trüben Preßsaft und 1.5—2 kg orangefarbenes, krümeliges Preßgut. Der Preßsaft, welcher etwa 4% des Gesamtcarotins enthält, wird zur etwaigen späteren Verarbeitung beiseite gestellt. Aus dem Preßgut extrahiert man den Farbstoff mit insgesamt 1 l reinem Tetrahydrofuran je kg frische Möhren²⁶⁾. Hierzu schüttelt man das gesamte Preßgut in einer 4-l-Pulverflasche zunächst mit 2.5 l Lösungsmittel so lange durch, bis der leicht bewegliche Brei fast das gesamte Lösungsmittel aufgenommen hat, läßt kurz stehen und wirbelt erneut einige Min. durch. Hierauf saugt man durch ein großporiges Filter ab und preßt scharf nach. In gleicher Weise wird noch einmal mit 2 l und 1-mal mit 1.5 l Tetrahydrofuran verfahren. Nach dem letzten Abpressen soll der Möhrenrückstand gleichmäßig elfenbeinfarbig aussehen. Er enthält keine nennenswerte Menge Carotin mehr und stellt nach Entfernen von Lösungsmittelresten im Vak. bei siedendem Wasserbad ein lockeres, stark quellfähiges Pulver dar. Die tiefroten Tetrahydrofuranauszüge werden im Vak. bei 60° Badtemperatur so weit vom Lösungsmittel befreit, bis sie stark trübe geworden sind²⁷⁾. Im Destillationskolben liegen dann $1\frac{1}{2}$ l wäßr. Rückstand vor, aus dem sich ein tiefrotes Öl abzuscheiden beginnt. Zu dieser Mischung fügt man 100 ccm warme Kalilauge (2 g Kaliumhydroxyd auf 1 ccm Wasser), schüttelt tüchtig durch und läßt langsam unter Stickstoff erkalten. In längstens 1 Stde. hat sich mehr als die Hälfte des gesamten Carotins der frischen Möhren in sehr feinen, glitzernden, wetzsteinförmigen Kryställchen abgeschieden. Wenn sich deren Menge nicht mehr vermehrt, nutscht man über eine Jena-Glas-Sinternutsche (17 G3) ab, in welcher man zuvor eine $1\frac{1}{2}$ cm dicke Schicht reinen Kieselgurs (Merek) festgedrückt hat. Verringert sich die Tropfgeschwindigkeit merklich, so schabt man jeweils mit einem Porzellanspatel vorsichtig die oberste Kieselgurschicht bei-

²⁵⁾ Die Möhren können auch im V2A-Autoklaven gedämpft werden. Hierzu bringt man sie mit 1 l Wasser bei geöffnetem Ventil gerade zum Kochen, dichtet ab und hält 15—25 Min. bei 110°. Auf diese Weise wird der schädigende Einfluß des Luftsauerstoffs gänzlich vermieden.

²⁶⁾ Die unter 3) beschriebene Reinigung des Tetrahydrofurans ist für Ausbeute und Krystallisationsvermögen des Carotins von entscheidender Bedeutung.

²⁷⁾ Das bei guter Kühlung zurückgewonnene, schwach wasserhaltige Lösungsmittel (3.5—4.5 l) kann nach Behandeln mit festem Kaliumhydroxyd und Abdestillieren erneut zur Extraktion verwendet werden.

seite, womit man einen gleichmäßig raschen Durchlauf erzielt. Die dunkelbraune Mutterlauge wird 1-mal mit 250—300 ccm Tetrahydrofuran durchgeschüttelt und die rote Carotinschicht abgelassen. Durch Vak.-Verdampfung und erneute Zugabe von Kalilauge bringt man wie oben zur Krystallisation und saugt durch die gleiche Nutsche ab. Der Filterinhalt, welcher außer Carotin noch mißfarbige, schleimige Begleiter enthält, wird 2-mal mit je 500 ccm Methanol ausgekocht, heiß über die Jena-Nutsche abgesaugt und mit 150 ccm warmem Methanol nachgewaschen. Zwischen den Kieselgurteilchen ist das Carotin dann in reinem, tief orangefarbenem Ton zu erkennen. Es wird in 120 ccm Benzol unter Erwärmen gelöst, vom unveränderten Kieselgur auf der Jena-Nutsche getrennt und mit wenig Benzol nachgewaschen. Das tiefrote Filtrat gießt man durch ein mit Benzol angefeuchtetes Faltenfilter und fügt bei 60° bis zu 50 ccm warmes, acetonfreies Methanol zu. Bei kurzer Eiskühlung scheidet sich die Hauptmenge des Carotins unter Anreiben in sehr reinem Zustand ab. Bei längerem Stehenlassen im Eisschrank unter N₂ erhält man noch eine weitere gleich reine Krystallisation.

Im vorliegenden Falle wurden auf diese Weise aus 6 kg langen, roten Pfälzer Spät Möhren, die bei 16 g-% Trockensubstanz 13 mg-% Carotin enthielten, 585 mg (= 80% des Gesamtcarotins der Frischmöhren) in gut filtrierbaren, metallisch glänzenden Blättchen erhalten. Schmp. im Block (zugeschmolzenes Rohr) 176.5° (korr.) Vergleich mit dem Azobenzolstandard²⁶): 2.57 γ Einwaage in 1 ccm Benzin (Schmp. 70—80°) ergaben 2.51 γ ($\pm 5\%$), also einen Reinheitsgrad von 95—100%. $[\alpha]_{D}^{25}$: + 0.13° $\times 100/2 \times 0.1003 = + 65^\circ$ (in Benzol). Der aus der spezif. Drehung mit 17% abgelesene α -Carotingehalt¹⁾ stimmte mit dem nach chromatographischer Trennung an Calciumhydroxyd²⁹) colorimetrierten innerhalb der Fehlergrenze ($> \pm 10\%$) überein. Ihm entsprach ferner der gefundene Schmelzpunkt, soweit ein Vergleich mit den Angaben von Smith und Milner¹²) möglich war, welche die Abhängigkeit des Schmelzpunktes von der bei $\lambda = 667.8 \mu$ gemessenen spezifischen Drehung von $\alpha + \beta$ -Carotingemischen ermittelt haben.

2) Carotingewinnung aus Möhrenpreßsaft.

Die alkal. Mutterlaugen der unter 1) beschriebenen Möhrenaufarbeitung enthalten noch etwa 15% des Gesamtcarotins. Wegen des Auftretens schwer trennbarer Emulsionen kann dieses jedoch nicht mehr mit Tetrahydrofuran ausgezogen, sondern muß mit Petroläther extrahiert werden. Dies gelingt durch 3-maliges Ausschütteln mit je 500 ccm. Die Abscheidung des Farbstoffs aus der Petrolätherlösung ist jedoch nur lohnend, wenn man gleichzeitig das Carotin des zurückgestellten Preßsaftes der gekochten Möhren mit zur Krystallisation bringt. Hierzu wird der Preßsaft mit 50-proz. Kalilauge auf einen Gehalt von 5% Kaliumhydroxyd gebracht, 1 Stde. bei 50—60° gehalten und nach dem Abkühlen erschöpfend mit Petroläther ausgeschüttelt. Die vereinigten Auszüge aus Mutterlauge und Preßsaft (zusammen 2.5 l) wäscht man 2-mal mit dem gleichen und 1-mal mit dem doppelten Volumen Wasser, klärt u. U. auftretende Emulsionen durch Zugabe von etwas festem Natriumchlorid und trocknet die abgetrennte Carotinklösung über Natriumsulfat. Nach dem Einengen auf 50—75 ccm krystallisiert man den Farbstoff entweder nach R. Willstätter und H. H. Escher⁸) oder nach R. Kuhn und E. Lederer⁹). Die Ausbeute übersteigt im allgemeinen nicht 10% des Gesamtcarotins.

²⁶) R. Kuhn u. H. Brockmann, Ztschr. physiol. Chem. 206, 41 [1932].

²⁹) P. Karrer u. O. Walker, Helv. chim. Acta 15, 490 [1932].

3) Reinigung von technischem Tetrahydrofuran.

10 l Tetrahydrofuran (I. G. Farbenindustrie A.-G.) werden 12 Stdn. mit 500 g festem Kaliumhydroxyd unter gelegentlichem Schütteln stehen gelassen oder besser auf der Maschine geschüttelt. Man saugt von dem reichlich abgeschiedenen, hellbraunen Harz ab und destilliert über 50 g Natriumdraht. Ein Vorlauf von 250 ccm und ein Rückstand von 500 ccm werden verworfen. Sdp. 66—67°. Aufbewahren in brauner Flasche über Natrium.

4) Bestimmung des Carotingehaltes:

a) in rohen und gekochten Möhren und Preßgut; b) im Preßsaft.

a) Ausgangsmaterial: 200 g zerkleinerte, gut gemischte Durchschnittsprobe des zu analysierenden Möhrenmaterials. Vom Ausgangsmaterial werden 2.00 g eingewogen und über Phosphorperoxyd bei 1 mm bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Das quantitativ in einen kleinen Porzellanmörser übergeführte Trockenmaterial wird in-Vereinfachung der Vorschrift von R. Kuhn und H. Brockmann²⁸⁾ zunächst mit 0.2—0.3 g Quarzsand (zur Analyse, Schering) fein zerrieben und dann mit 50 ccm absol. Alkohol in 3 Anteilen extrahiert. Man zentrifugiert die vereinigten gelben Auszüge kurz ab, spült die abgeschiedenen Festteilchen mit etwas Benzol in den Porzellanmörser zurück und setzt die Extraktion so lange mit Benzol fort, bis dieses nicht mehr angefärbt wird (insgesamt etwa 50 ccm). Die Benzolösung wird ebenfalls abzentrifugiert und mit der Alkohollösung vereinigt, im Vak. bei 60° Badtemperatur und Stickstoffatmosphäre abgedampft. Zum Rückstand fügt man 10 ccm Alkohol und 2 ccm einer warm bereiteten Kalilauge (2 g Kaliumhydroxyd auf 1 ccm Wasser), läßt 1/2 Stde. unter Stickstoff im Wasserbad langsam sieden und spült mit 75 ccm 50-proz. Alkohol in einen 500-ccm-Scheidetrichter. Aus der Verseifungslauge extrahiert man das Carotin durch erschöpfendes Ausschütteln mit je 75 ccm Benzin (Sdp. 50—75°), wozu 4—5 Auszüge erforderlich sind. Die vereinigten Benzinlösungen werden 1-mal mit 250 ccm Wasser, 1-mal mit 50 ccm 5-proz. Kalilauge und 3-mal mit 250 ccm Wasser gewaschen, zum Trocknen durch 2 ineinandergestellte, mit Benzin angefeuchtete Faltenfilter gegossen und im Vak. (60° Badtemp.) zur Trockne verdampft. Aufnehmen in 10 ccm (bei rohen oder gekochten Möhren) bzw. 25 ccm (beim Preßgut) Benzin (Sdp. 70—80°), wovon 5 ccm an eine Säule (10 × 1 cm) adsorbiert werden, die aus mit Benzin angeteigtem Aluminiumoxyd nach Brockmann (Merck) bereitet wurde. Durch Entwickeln mit 15—20 ccm Benzin-Benzol (1:2) treibt man das Gemisch von α - + β -Carotin quantitativ in das Filtrat. Der Gehalt wird nach Verjagen der Lösungsmittel im Vak. und Auffüllen mit 10 ccm Benzin (Sdp. 70—80°) entweder colorimetrisch nach R. Kuhn und H. Brockmann²⁸⁾ oder mit dem Pulfrich-Photometer nach H. Willstaedt und H. Behrnts-Jensen³⁰⁾ bestimmt. Beim Arbeiten in diesem „flüssigen Chromatogramm“³¹⁾ übersteigt der Carotinverlust bei den angegebenen Mengen 10% nicht, während bei der Mikrochromatographie mit Elution der Zonen³²⁾ Fehler bis 50% zu erwarten wären.

b) Zur Ermittlung des Carotingehaltes im Preßsaft werden 50 ccm mit 2.5 ccm der unter a) bereiteten konz. Kalilauge 1 Stde. bei 70—80° gehalten (Stickstoffatmosphäre) und danach erschöpfend mit Benzin in Anteilen von je 75 ccm ausgezogen. Behandlung der vereinigten Benzinlösungen, Chromatographie und Messung wie unter a) angegeben.

³⁰⁾ Ztschr. Vitaminforsch. 9, 8 [1939].

³¹⁾ L. Zechmeister u. L. v. Cholnoky, Die chromatographische Adsorptionsmethode, 2. Aufl., Springer, Wien 1938, S. 77.

³²⁾ H. Willstaedt u. T. K. With, Ztschr. physiol. Chem. 253, 40 [1938].