

Die Farbstoffe an Gelbfleckigkeit erkrankter Kartoffelknollen

Von

L. SCHMID und R. LANG

Aus dem II. chemischen Universitäts-Laboratorium in Wien

(Eingegangen am 23. 2. 1939. Vorgelegt in der Sitzung am 23. 2. 1939)

Diese Krankheit ist erstmalig an Kipflern von H. WENZL festgestellt und genauer studiert worden.¹ Sein Untersuchungsmaterial entstammte der Ernte 1936 und war in der Umgebung Wiens gesammelt. Nach WENZLS Beobachtungen handelt es sich dabei um eine nichtparasitäre Erkrankung der Knollen. Sie ist auf Kipfler beschränkt und durch die Ausbildung dottergelber Flecken vom Durchmesser 2—10 mm im Stärkeparenchym charakterisiert. Das mikroskopische Bild zeigt, daß die gelben Teile fast völlig frei von Stärke sind. Das Besondere der Gelbfleckigkeit liegt hauptsächlich in der Ausbildung gelber Farbstoffe, sowie im abnormen Stärkeabbau in großen Teilen der Knollen, lange bevor noch die ersten Anzeichen eines Absterbens des Gewebes sichtbar sind. Es handelt sich nur um eine vereinzelt auftretende Erkrankung der Knollen im Gegensatz zur Farbfleckigkeit und Schwarzherzigkeit. Bei letzteren stehen nekrotische Prozesse im Vordergrund, bei der Gelbfleckigkeit in erster Linie pathologische Stoffwechselprozesse, die im lebenden Gewebe vor sich gehen und erst sekundär zu einem verfrühten Absterben führen.

Aus 2 kg frischen Erdäpfeln wurden die gelben Teile herausgeschnitten, zerkleinert und mit Alkohol extrahiert. Nach Einengen und Wasserzusatz ließen sich durch Petrolätherausschüttelung Polyfarbstoffe abtrennen. Die Gesamtcarotinoidkonzentration betrug 0,45 mg pro kg zufolge Vergleichs mit Azobenzol als Carotin gerechnet.² Aus der Benzinlösung war durch Ausziehen mit 90% igem CH₃OH ein frei vorkommendes Xanthophyll abtrennbar, dessen Absorptionsspektrum auf Taraxanthin bzw. Violaxanthin schließen läßt. Die vom Xanthophyll befreite Benzin-

¹ H. WENZL, *Phytopathologische Z.* XI. (1938) 607—616.

² R. KUHN u. H. BROCKMANN, *Z. physiol. Chem.* 206 (1932) 41.

lösung gab nach der Verseifung eine Kohlenwasserstoff- und eine Xanthophyllfraktion. Die verfügbaren Mengen waren so gering, daß an eine Isolierung nicht zu denken war; eine Identifizierung war nur auf spektroskopischem Weg herbeizuführen. Vor der Spektraluntersuchung reinigte man die Farblösung durch chromatographische Analyse. Der Kohlenwasserstoff gibt ein wenig scharfes Absorptionsspektrum, das an α -Carotin erinnert. Das Xanthophyllspektrum ließ sicher auf β -Xanthophyll schließen. Zum Vergleich wurden 500 g gesunde Kipfler auf ihren Gesamtcarotinoidgehalt untersucht; dieser beträgt etwa ein Drittel von dem der kranken.

Beim Ausschütteln der Carotinoide aus den kranken Erdäpfeln schied sich an der Grenze der zwei Phasen eine schwach gelbe, feste Substanz ab; diese reduzierte FEHLINGSche Lösung nicht, hingegen deutlich nach Hydrolyse mit Säure. Alkali bewirkt intensive Gelbfärbung. Dieser Stoff ist ein Glucosid, das durch Salzsäure bei Raumtemperatur spaltbar ist. Die Farbkomponente ist im Vakuum sublimierbar; die Analyse ließ auf ein Pentaoxyflavon im allgemeinen und der Schmelzpunkt auf Quercetin im besonderen schließen. Durch Mischprobe mit Quercetin anderer Herkunft war dieser Befund zu stützen. Das Naturprodukt gibt ein Pentaacetylderivat, das bei der Mischprobe mit Pentaacetylquercetin keine Depression zeigt. Schließlich bestätigte noch der Mischschmelzpunkt von Dibromquercetin mit dem Bromderivat des Erdäpfelfarbstoffes deren Identität.

Nun noch eine Bemerkung über den bei der Hydrolyse angefallenen Zucker. Die Farbreaktion nach FOULGER mit SnCl_2 und Harnstoff³ läßt auf eine Aldohexose schließen. Da nun der Zucker nicht zur Kristallisation zu bringen war, wurde ein Osazon bereitet. Analyse, Schmelzpunkt und Mischprobe sprechen eindeutig für Glucosazon. Mehr konnte mit dem Zucker nicht unternommen werden, sodaß die Frage offen bleibt, ob sich das Glucosid von der Glucose oder von der Mannose ableitet. Ebenso wenig kann über die Verknüpfungsstelle zwischen Zucker und Farbkomponente etwas ausgesagt werden.

Experimenteller Teil.

2 kg Erdäpfel wurden geschält und zu Scheiben zerkleinert, aus denen man dann die kranken Stellen herauschnitt. Eine scharfe Abtrennung war nicht möglich, sodaß 300 g Ausgangs-

³ Chem. Zbl. 1933, I. 2984.

material neben kranken auch gesunde Stellen enthielten. Sie wurden mit 675 cm^3 absolutem Alkohol überschichtet, bis zum Gefäßrand aufgefüllt und unter Ausschluß von Sauerstoff einige Tage stehen gelassen; dann wurde filtriert und der Alkohol unter gelindem Erwärmen im Vakuum auf 75 cm^3 eingengt. Nun wurde durch Zugabe von Wasser und Alkohol auf zirka 200 cm^3 — (Alkoholkonzentration 50%) — aufgefüllt und mit Petroläther erschöpfend ausgeschüttelt. Der kolorimetrische Vergleich mit Azobenzol² als Standard zeigte 0.45 mg Carotinoid, berechnet für 1 kg Kartoffeln. Die petrolätherische Lösung wurde durch 90%igen wäßrigen CH_3OH in die Epiphase I und die Hypophase II zerlegt.

180 cm^3 I ließ man mit 180 cm^3 9% iger methylalkoholischer Kalilauge bei Raumtemperatur über Nacht stehen. Dann wurde mit 180 cm^3 Wasser entmischt und mit Petroläther solange geschüttelt, als sich dieser noch anfärbte. Die Petrolätherlösung wurde durch Ausziehen mit 90%igem Methanol in eine Kohlenwasserstofffraktion III und eine Xanthophyllfraktion IV aufgeteilt. Nach Verdünnen von IV mit Wasser auf 50% Methanolgehalt und Ausschütteln mit Petroläther ging IV in letzteren über.

II und IV wurden durch je ein Chromatogramm auf Calciumcarbonat aus Benzin als Lösungsmittel weitergereinigt. III wurde in Benzinslösung auf Aluminiumoxyd unter den für Carotin angegebenen Bedingungen chromatographiert. In einem zweiten Versuch wurden die Verseifungsprodukte von I nach Zugabe von Wasser in Petroläther übergeführt und auf einer Säule von Calciumcarbonat und Aluminiumoxyd gemeinsam chromatographiert.

Bestimmung der optischen Schwerpunkte: $\mu\mu$

II in Petroläther	472.5	443.5
vgl. Taraxanthin	472	443
und Violaxanthin ²		
III in Benzin	477	449
für α -Carotin ²	478	447.5
IV in Benzin	466	438
in CS_2	497	466
vgl. β -Xanthophyll		
in Benzin	466	438
in CS_2	497	465.5

I aus dem Chromatogramm auf Calciumcarbonat und Aluminiumoxyd.

in Benzin	466	441
vgl. β -Xanthophyll		

Glucosidischer Farbstoff.

Nach der Petrolätherausschüttelung des alkoholisch-wässrigen Kartoffelextraktes, Verdünnen mit Wasser und erneutem Ausziehen mit Petroläther schied sich an der Grenzschicht der petrolätherischen und wässrigen Phase ein schwach gelb gefärbter Niederschlag (A) ab, von dem filtriert wurde. Ausbeute zirka 0·5 g. A wurde in absolutem Methanol gelöst, filtriert, durch Eindampfen des Methylalkohols zur Trockene gebracht, mit Petroläther Sdp. 20—40° mehrfach gewaschen und im Vakuum getrocknet; A ist schwerlöslich in Äther. Der Schmp. ist sehr unscharf; erste Veränderung bei 180°.

A wurde nochmals in heißem Methanol gelöst und zur Kristallisation stehen gelassen. A reduziert FEHLING-Lösung nicht; nach Kochen mit alkoholischer HCl erfolgt Reduktion FEHLINGScher Lösung. Konzentrierte HCl färbt die alkoholische Lösung stark gelb. In Lauge ist A mit starker Gelbfärbung löslich. Eisenchlorid erzeugt keine charakteristische Färbung.

Hydrolyse.

15 cm³ der methylalkoholischen Lösung von A wurden mit 10 cm³ konz. HCl versetzt und drei Tage bei Raumtemperatur stehen gelassen. Es schieden sich 0·364 g eines gelben Niederschlages ab, von dem filtriert wurde.

Das Hydrolysat sublimiert bei 270°/0·25 mm. Vak. Schmp. nach wiederholter Sublimation 315°. Mischschmp. mit Quercetin 313°—315°.

3·230 mg Subst.: 7·050 mg CO₂, 1·010 mg H₂O.

C₁₃H₁₀O₇. Ber. C 59·59, H 3·34.

Gef. „ 59·53, „ 3·50.

Eisen-(3)chlorid in alkoholischer Lösung färbt grün, in der Hitze rotbraun; FEHLING-Lösung wird in der Hitze reduziert, ammoniakalische Silbernitratlösung schon in der Kälte.

Acetylierung.

0·03 g Aglukon wurden mit 0·1 g wasserfreiem Natriumacetat und 5 cm³ Essigsäureanhydrid eine Stunde zum Sieden erhitzt. Beim Erkalten erstarrte die Lösung zu einer weißen Kristallmasse, die mit Eiswasser versetzt wurde. Der Vak. Schmp. liegt nach wiederholtem Umkristallisieren aus Alkohol bei 195°—196°. Mischschmp. mit Pentaacetylquercetin 199°—200°.

Bromierung.

0·03 g Hydrolysat wurden in Eisessig aufgeschlämmt und mit 0·6 cm³ einer 10 % igen Lösung von Brom in Eisessig versetzt. Die Bromeinwirkung dauerte 24 Stunden, wobei man gelegentlich schüttelte. Ein gelber Niederschlag wurde in Alkohol gelöst und acht Tage zur Kristallisation stehen gelassen. Zitronengelbe Kristalle schmelzen im Vakuum bei 227°—229°. Mischprobe mit Dibromquercetin im Vak. 233°—233·5°.

Zuckerbestimmung.

Das Filtrat nach der Hydrolyse des Farbstoffglucosids wurde mit Bariumcarbonat versetzt, vorsichtig eingedampft und der Trockenrückstand mit 90 % igem Alkohol ausgelaugt. Die Aldohexosereaktion nach FOULGER³ ist positiv. Der Abdampfrückstand wurde mit Phenylhydrazinchlorhydrat und Natriumacetat in der Kälte stehen gelassen. Es trat bald Trübung auf, von der filtriert wurde. Zum Filtrat gab man die gleiche Menge Phenylhydrazinchlorhydrat und Natriumacetat wie oben und erhitzte 1³/₄ Stunden am Wasserbad. Abscheidung gelber Kristalle, die nach dem Umkristallisieren aus 70 % igem Alkohol bei 211° unter Zersetzung schmelzen. Mischprobe mit Glucosazon 210·5°.

Analyse des Osazons:

3·344 mg Sbst.: 7·404 mg CO₂, 1·808 mg H₂O

C₁₈H₂₂O₄N₄. Ber. C 60·30 H 6·19.

Gef. „ 60·38 „ 6·05.

500 g geschälte und mit einer Faschiermaschine zerkleinerte, gesunde Kartoffel (Sorte: Kipfler) wurden wie die kranken Erdäpfel mit Alkohol extrahiert und der eingeeengte Alkoholextrakt nach Verdünnen mit Wasser auf 50 % Alkoholgehalt mit Petroläther ausgezogen. Kolorimetrischer Vergleich mit Azobenzol zeigt einen Gesamtcarotinoidgehalt von 0·176 mg pro kg.