

Beitrag zur Kenntniss der Spaltung des Caseins durch Salzsäure.

Von

Dr. Theodor Panzer, Demonstrator in Wien.

Aus dem Laboratorium für medicinische Chemie der Universität in Wien.)

(Der Redaction zugegangen am 7. August 1897.)

Im XXII. Bande dieser Zeitschrift hat Herr Dr. Rudolf Cohn Resultate einer Untersuchung über die quantitative Eiweisspaltung durch Salzsäure veröffentlicht, welche sich hauptsächlich auf die Zersetzung des Caseins durch rauchende Salzsäure beziehen. Das bei dieser Untersuchung angewendete Verfahren zur Zersetzung des Caseins, sowie zur Trennung der Spaltungsprodukte weicht wesentlich von demjenigen ab, welches vorher einige Forscher, wie Hlasiwetz, Habermann, Horbaczewski, bei ihren ausgedehnten Untersuchungen benützt hatten. Während nämlich die Letzteren die Eiweisspaltung durch mehrtägiges Kochen mit einer ungefähr 20 procentigen Salzsäure bewerkstelligten, verwendete Herr Dr. Cohn rauchende Salzsäure vom specifischen Gewichte 1.19 und kochte damit nur 5 Stunden lang. Trotz dieser Verschiedenheit in der Ausführung der Spaltung musste jeden, der sich eingehender mit der Zersetzung der Eiweisskörper durch kochende Säure beschäftigt hat, das eine Resultat überraschen, dass Herr Dr. Cohn aus dem Casein nur ganz geringe Mengen von Glutaminsäure erhielt, während doch bisher diese Substanz als eines der wesentlichsten Zersetzungsprodukte der Eiweisskörper gegolten hat.

Es erschien daher nothwendig, die Ergebnisse der Untersuchung des Herrn Dr. Cohn, soweit sie sich auf die Glutamin-

säure beziehen, auf ihre Richtigkeit zu prüfen. Ich habe mich dieser Aufgabe unterzogen und bin, was die Spaltung des Caseins anbelangt, genau so vorgegangen, wie Herr Dr. Cohn.

Es wurde zunächst aus abgerahmter Milch das Casein ausgefällt und gewaschen und durch mehrtägige Extraction mit Aether entfettet. Dass diese Entfettung nur durch längdauerndes Extrahiren mit Aether oder einem anderen geeigneten Lösungsmittel möglich ist, ist längst bekannt: speciell Horbaczewski hat in seiner Arbeit: Ueber das Verhalten des Elastins bei der Pepsinverdauung (Bd. VI dieser Zeitschrift) schon vor 15 Jahren auf diese Schwierigkeiten hingewiesen.

Das gereinigte Casein wurde mit der dreifachen Menge rauchender Salzsäure durch 5 Stunden unter Anwendung eines Rückflusskühlers gekocht und nach dem Erkalten wiederholt mit Aether ausgeschüttelt. Der von der wässrigen Flüssigkeit getrennte Aether hinterliess nach dem Abdestilliren einen Rückstand von Fettsäuren, dessen Menge nur 0,1 % des verwendeten, trockenen Caseins betrug.

Die wässrige Flüssigkeit wurde auf dem Wasserbade bis zur Syrupconsistenz verdampft, noch warm in ein weithalsiges Glas gefüllt, dieses verstopft und in den Eisschrank gestellt. Nach 14 Tagen war der Inhalt des Glases erstarrt. Die erstarrte Masse wurde nun auf poröse Thonplatten aufgestrichen, welche die dickflüssige, braune Mutterlange bald einsaugten, so dass auf den Platten eine nur mässig gefärbte, trockene Krystallmasse zurückblieb.

Zu demselben Resultate war man im hiesigen Laboratorium auch jedesmal gelangt, wenn man nach den Angaben von Hlasiwetz und Habermann (mit oder ohne Anwendung von Zinnchlorür) vorgegangen war. Die trockene Krystallmasse, deren Menge 230 gr. (aus 750 gr. trockenem Casein) betrug, wurde mit rauchender Salzsäure gewaschen und sodann unter Anwendung einer kleinen Menge von reiner Thierkohle umkrystallisirt, wobei vollkommen farblose, durchsichtige, gut ausgebildete Krystalle erhalten wurden, welche das Aussehen der salzsauren Glutaminsäure zeigten. Diese Krystalle wurden auch thatsächlich sowohl durch die chemische Analyse, als

auch durch die krystallographische Untersuchung als salzsaure Glutaminsäure identificirt.

Die Analyse der Krystalle lieferte folgende Resultate:

I. 0,3103 gr. Substanz ergaben nach dem Ansäuern ihrer wässerigen Lösung mit Salpetersäure und Fällung mit salpetersaurem Silber 0,2386 gr. Chlorsilber und 0,0016 gr. metallisches Silber, entsprechend 0,0595 gr. Chlor.

II. 0,2031 gr. Substanz ergaben bei der Verbrennung mit chromsaurem Blei, vorgelegtem Silber, Kupfer und Kupferoxyd 0,1015 gr. Wasser, entsprechend 0,01125 gr. Wasserstoff, und 0,2422 gr. Kohlensäure, entsprechend 0,0660 gr. Kohlenstoff.

III. Bei der Stickstoffbestimmung nach der Methode von Dumas-Ludwig mit chromsaurem Blei, vorgelegtem Silber, Kupfer und Kupferoxyd gaben 0,4330 gr. Substanz 30,0 cem. Stickstoff bei 20,9° C. und 750 mm. Barometerstand, entsprechend 0,0334 gr. Stickstoff.

Berechnet für		gefunden		
C.	H ₁₀ NO ₄ Cl	I	II	III
C.	32,69 „	—	32,5 „	—
H	5,46 „	—	5,53 „	—
N	7,66 „	—	—	7,72 „
Cl	19,31 „	19,50 „	—	—
O	34,88 „	—	—	—

Herr Privatdocent Dr. Pelikan, Adjunct am mineralogisch-petrographischen Institut der Wiener Universität, hatte die Freundlichkeit, die Substanz krystallographisch zu untersuchen. Er theilt mir darüber Folgendes mit:

Der Habitus der Krystalle entspricht den von Dr. Friedrich Becke abgebildeten Formen Fig. 2, 3 und 4 auf Tafel I in Tschermak's mineralogischen und petrographischen Mittheilungen Bd. II, Heft 2.

Die Messungen der Winkel ergaben folgendes Resultat:

		gefunden		Becke	berechnet	
b. m	010.110	48°57'	48°42'	48°29'	48°30'	48°25'
a. n	100.210	24°4'	23°58'	23°55,5'	23°50'	—
m. n	100.210	17°4'	17°37'	17°36'	—	17°39,5'
b. d	010.011	68°47'	—	69°12'	69°1'	68°52'
d. d	011.011	42°16'	—	42°16'	42°13'	—

Aus der salzsauren Verbindung wurde durch Behandeln mit Silberoxydschlamm die freie Glutaminsäure dargestellt und analysirt. Es wurden folgende Resultate erhalten:

I. 0.2328 gr. Substanz lieferten bei der Verbrennung mit vorgelegtem metallischen Kupfer und Kupferoxyd 0.1337 gr. Wasser, entsprechend 0.0149 gr. Wasserstoff, und 0.3170 gr. Kohlensäure, entsprechend 0.0946 gr. Kohlenstoff.

II. 0.3145 gr. Substanz gaben bei der Verbrennung mit Kupferoxyd, vorgelegtem metallischen Kupfer und Kupferoxyd nach der Methode von Dumas-Ludwig 27,7 cem. Stickstoff bei 25.2° C. und 748 mm. Barometerstand, entsprechend 0.0304 gr. Stickstoff.

Berechnet für	gefunden	
	I.	II.
$C_5H_9NO_4$		
C 40.80 %	40.7 %	—
H 6.13 ..	6.39 ..	—
N 9.55 ..	—	9.65 %
O 43.52 ..	—	—

Aus meiner Untersuchung ergibt sich demnach, dass auch bei kurzdauerndem Kochen des Caseins mit rauchender Salzsäure Glutaminsäure ebenso als eines der wesentlichen Spaltungsprodukte des Caseins resultirt, wie bei mehrtägigem Kochen mit einer weniger concentrirten Salzsäure. Hätte Herr Dr. Cohn die vielfach bewährte Methode zur Trennung der Spaltungsprodukte benützt, so hätte er die Glutaminsäure gewiss nicht übersehen können.

Es ist kaum zu bezweifeln, dass die Spaltung des Caseins bei kurzdauerndem Kochen mit rauchender Salzsäure und bei länger dauerndem Kochen mit verdünnter Säure gleich verläuft. Ich habe auf diesen Punkt bei meiner Untersuchung zunächst keine Rücksicht genommen, um in die Arbeit des Herrn Dr. Cohn nicht ungerufen einzugreifen. Ich wollte in erster Linie nur einen Irrthum richtigstellen. —