

## Ueber die Bindungsweise des Stickstoffs in primären Albumosen.

Von  
**Ernst Friedmann.**

Aus dem chemischen Laboratorium des physiologischen Instituts der Universität Leipzig.

Der Redaction zugegangen am 3. November 1899.

Im Anschluss an die von Pick jüngsthin veröffentlichte Arbeit „Zur Kenntniss der peptischen Spaltungsprodukte des Fibrins“<sup>1)</sup> möchte ich kurz über einige Versuche berichten, die ich im Sommersemester 1898 auf Veranlassung von Herrn Professor Siegfried ausgeführt habe. Mir wurde die Aufgabe gestellt, zu untersuchen, ob die nach Kühne und Chittenden<sup>2)</sup> dargestellten Albumosen als chemische Individuen anzusprechen wären und, wenn dies der Fall sein sollte, Unterschiede ausfindig zu machen, die einen Einblick in den verschiedenen Bau dieser Körper gestatteten.

Bei der Beantwortung dieser Frage nahm das Studium der Bindungsweise des Stickstoffs einen breiten Raum ein. Denn die quantitative Vertheilung des Stickstoffs auf die einzelnen Atomcomplexe konnte leicht einen Massstab sowohl für die Einheitlichkeit des Materials als auch für die Unterschiede zwischen den verschiedenen Albumosen abgeben. Es ist dies derselbe Gedankengang, den gleichzeitig mit mir Hausmann<sup>3)</sup>

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 28, S. 219.

2) Zeitschr. f. Biologie, Bd. XXVIII, S. 11.

3) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXVII, S. 95.

bei der Charakterisirung verschiedener thierischer Eiweisskörper verfolgt hat und später Pick<sup>1)</sup> bei der der Albumosen. Aehnlich wie sie suchte ich den locker gebundenen Stickstoff zu bestimmen, ferner den Basenstickstoff (Hausmann's Diaminostickstoff) und schliesslich den Säurenstickstoff (Hausmann's Monoaminostickstoff).

Als Ausgangsmaterial dienten mir Albumosen, die durch Verdauung von Fibrin dargestellt waren und nach den Vorschriften der Kühne'schen Schule isolirt wurden. Sie zeigten die von Kühne und Neumeister<sup>2)</sup> angegebenen Reactionen. Ich möchte nur hervorheben, dass die von mir erhaltene Protoalbumose nicht wie die von Pick erhaltene schwach sauer, sondern neutral reagirte, aber schon nach einmaligem Aufkochen in wässriger Lösung deutlich saure Reaction zeigte.

#### **Bestimmung des locker gebundenen Stickstoffs.**

Zur Bestimmung des locker gebundenen Stickstoffs erhitze ich die Albumosen im Vacuum mit Alkali und ling das ausgetriebene Ammoniak über titrirter Schwefelsäure auf. Ich benutzte hierbei einen Apparat, der ähnlich dem von Nencki<sup>3)</sup> angegebenen construirt war. Im Anfang wurde mit Magnesia destillirt und dann dieselbe Flüssigkeit noch einmal mit Kalk. Es hatte sich nämlich herausgestellt, dass, nachdem man mit Magnesia kein Ammoniak mehr austreiben konnte, eine weitere Abspaltung von Ammoniak bis zu einem bestimmten Endpunkte durch Kalk erfolgte. Die Temperatur bei diesen Destillationen überstieg nicht 35°. Da es möglich war, dass beim Trocknen der Substanz bis zum constanten Gewicht bei 100° Ammoniak entweichen konnte, so wurde die abgewogene Menge in Wasser gelöst, die Lösung auf 100 ccm. aufgefüllt, und in je 20 ccm. der Gesamtstickstoff nach Kjeldahl zwei Mal bestimmt. Mit dem Rest wurde die Destillation in der oben angegebenen Weise vorgenommen.

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXVIII, S. 219.

2) Zeitschr. f. Biologie, Bd. 20, S. 11, Bd. 24, S. 261, Bd. 26, S. 324.

3) Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmac., Bd. 36, S. 385.

Bei der Protoalbumose A<sup>1)</sup> erhielt ich folgende Werthe:

20 ccm. der Lösung lieferten . . . . . 0,04963 g N }  
 20 „ „ „ „ . . . . . 0,04995 g N } 0,04979 g N.  
 50 „ „ „ mit Magnesia destillirt, lieferten 0,00227 g N.  
 darauf mit Kalk destillirt, lieferten 0,01000 g N.

Oder in Procenten des gefundenen Stickstoffgehaltes ausgedrückt:

100 ccm. der Lösung enthielten 0,24895 g Gesamtstickstoff = 100%,  
 100 „ „ „ 0,00454 g durch Magnesia abspaltbaren  
 Stickstoff = 1,82%,

100 ccm. der Lösung enthielten nach der Destillation mit Magnesia  
 0,02000 g durch Kalk abspaltbaren Stickstoff = 8,03%,

100 ccm. der Lösung enthielten 0,02454 g locker gebundenen Stickstoff  
 = 9,85%.

Die Heteroalbumose A gab nachstehende Zahlen:

20 ccm. der Lösung lieferten . . . . . 0,01991 g N }  
 20 „ „ „ „ . . . . . 0,02019 g N } 0,02005 g N,  
 60 „ „ „ mit Magnesia destillirt, lieferten 0,00361 g N.  
 darauf mit Kalk destillirt, lieferten 0,00062 g N.

In Procenten des gefundenen Stickstoffgehaltes ausgedrückt:

100 ccm. der Lösung lieferten 0,10025 g Gesamtstickstoff = 100%,  
 100 „ „ „ 0,00600 g durch Magnesia abspaltbaren  
 Stickstoff = 5,99%,

100 ccm. der Lösung lieferten nach der Destillation mit Magnesia 0,00105 g  
 durch Kalk abspaltbaren Stickstoff = 1,04%,

100 ccm. der Lösung lieferten 0,00700 g locker gebundenen Stickstoff  
 = 7,03%.

	Durch Magnesia abspaltbarer N	Nach der Destillation mit Magnesia durch Kalk abspaltbarer N	Summe des locker gebundenen N
Protoalbumose A . . . . .	1,82%	8,03%	9,85%
Heteroalbumose A . . . . .	5,99%	1,04%	7,03%

Aus diesen Zahlen scheint hervorzugehen, dass die nach Kühne dargestellte Protoalbumose mehr locker gebundenen Stickstoff enthält, als die Kühne'sche Heteroalbumose; aber während man aus der Protoalbumose nur ungefähr  $\frac{2}{5}$  des

1) Die hinter den Namen der Albumosen gesetzten grossen Buchstaben bedeuten Präparate verschiedener Darstellung.

locker gebundenen Stickstoffs durch Magnesia abspalten kann, giebt die Heteroalbumose ungefähr  $\frac{6}{7}$  durch Destillation mit Magnesia ab.

Es liegt nahe, anzunehmen, dass der nach Pick<sup>1)</sup> bei der Proto- und Heteroalbumose nach einer anderen Methode bestimmte Amidstickstoff derselbe ist, wie der durch Destillation mit Magnesia und Kalk abgespaltene Stickstoff. Pick erhielt für die Protoalbumose 7,14% Amidstickstoff und für die Heteroalbumose 6,45% Amidstickstoff. Der letztere Werth deckt sich mit dem von mir erhaltenen, während der von mir für die Protoalbumose gefundene Werth nicht unwesentlich von dem von Pick beobachteten abweicht. Es liegt das wohl daran, dass es eben nach der Kühne'schen Methode wohl möglich ist, eine reine Heteroalbumose zu bekommen, wie dies auch Pick hervorhebt,<sup>2)</sup> nicht aber eine reine Protoalbumose.

Wenn aber wirklich der von Pick bestimmte Amidstickstoff derselbe ist, wie der durch Destillation mit Magnesia und Kalk abgespaltene Stickstoff, was sehr wahrscheinlich ist, so ist die von Hausmann<sup>3)</sup> ausgearbeitete und von Pick benutzte Methode der von mir angewandten entschieden vorzuziehen. Denn die Ammoniakabspaltung aus den unzersetzten Albumosen durch Destillation mit Kalk und Magnesia ist ein Process, der nur sehr langsam verläuft, und es erfordert manchmal ein Kochen durch mehrere Tage hindurch, ehe die Reaction ihren Endpunkt erreicht. Nachstehende Tabellen lassen diese Verhältnisse deutlich erkennen. Sie zeigen ebenfalls, dass die Reaction durch Destillation mit Magnesia zu einem ersten Endpunkt kommt und darauf durch Destillation mit Kalk zu einem zweiten.

Die erste Tabelle bezieht sich auf die oben erwähnte Destillation der Protoalbumose A, die zweite auf die gleichfalls erwähnte Destillation der Heteroalbumose A.

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXVIII, S. 256.

2) l. c. S. 235.

3) l. c. S. 98.

Protoalbumose A.

50 ccm. gaben mit Magnesia nach	6 Stunden	0,00177 g NH <sub>3</sub> ab.
» » » » » weiteren	6	0,00049
» » » » »	6	0,00049
» » » » »	6	0,00000
» » » » »	3	0,00000
» » » Kalk »	6	0,00114
» » » » »	6	0,00190
» » » » »	6	0,00117
» » » » »	6	0,00105
» » » » »	3	0,00124
» » » » »	3	0,00092
» » » » »	3	0,00066
» » » » »	3	0,00078
» » » » »	3	0,00056
» » » » »	3	0,00065
» » » » »	3	0,00053
» » » » »	3	0,00024
» » » » »	3	0,00043
» » » » »	3	0,00032
» » » » »	3	0,00022
» » » » »	3	0,00029
» » » » »	3	0,00003
» » » » »	3	0,00000

Heteroalbumose A.

60 ccm. gaben mit Magnesia nach	2 Stunden	0,00340 g NH <sub>3</sub> ab.
» » » » » weiteren	3	0,00053
» » » » »	3	0,00002
» » » » »	3	0,00017
» » » » »	3	0,00019
» » » » »	3	0,00007
» » » » »	3	0,00002
» » » Kalk »	3	0,00024
» » » » »	4	0,00003
» » » » »	3	0,00048
» » » » »	3	0,00000

**Bestimmung des Basenstickstoffs und des Säurenstickstoffs.**

Zur Feststellung des Verhältnisses vom Basenstickstoff zum Säurenstickstoff erhitzte ich die bei 105° getrockneten Albumosen im geschlossenen Rohr mit Salzsäure. Gebrauchte wurden 20 ccm. concentrirter Salzsäure: die Dauer des Er-

hitzens betrug 5–6 Stunden: die Temperatur überstieg nicht 130°. Die braune Zersetzungsflüssigkeit enthielt geringe Mengen einer ungelösten dunkel gefärbten Substanz — vielleicht Schmiedeberg's Melanoidinsäure<sup>1)</sup> —, von der sie durch Filtration getrennt wurde. Im Filtrat wurden die Basen durch Phosphorwolframsäure gefällt, der voluminöse Niederschlag abfiltrirt und mit einem Washwasser, das auf 100 Theile Wasser 10 Theile Phosphorwolframsäure und 5 Theile Schwefelsäure enthielt, bis zur Chlorfreiheit ausgewaschen. Bestimmt wurde der Stickstoffgehalt des Ungelösten, des Phosphorwolframsäure-Niederschlages und des Filtrats hiervon. Da zum Filtriren des Phosphorwolframsäure-Niederschlages sehr grosse Filter benutzt waren, und das Verbrennen der letzteren Schwierigkeiten bereitete, so wurde der Niederschlag in verdünnter heisser Natronlauge gelöst, und in dieser Lösung der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt.

#### Bestimmung des Stickstoffs des Ungelösten.

Protoalbumose A	0.5549 g	gaben	0.00172 g	N =	0.31%	N
	0.4042	»	0.00113	»	=	0.28%
Protoalbumose B	0.4400	»	0.00076	»	=	0.17%
Heteroalbumose B	0.5718	»	0.00144	»	=	0.25%
	0.5250	»	0.00158	»	=	0.30%
	0.3287	»	0.00174	»	=	0.53%

#### Bestimmung des Basenstickstoffs.

Protoalbumose A	0.5549 g	gaben	0.03269 g	N =	5.89%	N
	0.4042	»	0.01904	»	=	4.71%
Protoalbumose B	0.4400	»	0.02246	»	=	5.11%
Heteroalbumose B	0.5718	»	0.03510	»	=	6.14%
	0.5250	»	0.03589	»	=	6.89%
	0.3287	»	0.01933	»	=	5.88%

#### Bestimmung des Säurenstickstoffs.

Protoalbumose A	0.5549 g	gaben	0.05937 g	N =	10.70%	N
	0.4042	»	0.04788	»	=	11.85%
Protoalbumose B	0.4400	»	0.04915	»	=	11.17%
Heteroalbumose B	0.5718	»	0.05653	»	=	9.87%
	0.5250	»	0.05120	»	=	9.75%
	0.3287	»	0.03445	»	=	10.48%

1) Arch. f. exp. Path. u. Pharm. Bd. XXXIX, S. 1.

## Zusammenstellung.

Substanzmenge	N-Gehalt des Ungelösten in %		Basen-N in %		Säuren-N in %		Summe vom N-Gehalt des Ungelösten + Basen-N + Säuren-N		Mittel des N-Gehaltes der Sub- stanz
		Im Mittel				Im Mittel		Im Mittel	
Protoalbumose A 0,5549 g	0,31	0,25	5,89	5,24	10,70	11,24	16,90	16,87	16,80
0,4042 >	0,28		4,71		11,85		16,84		
Protoalbumose B 0,4400 >	0,17		5,11		11,17		16,45	16,45	16,89
Heteroalbumose B 0,5718 >	0,25	0,36	6,14	6,27	9,87	10,03	16,26	16,66	16,89
0,5250 >	0,30		6,84		9,75		16,89		
0,3287 >	0,53		5,84		10,48		16,85		

Diese Zusammenstellung zeigt zunächst, dass der Stickstoff des Ungelösten nicht zu vernachlässigen ist. Seine Menge ist bei den Albumosen stets grösser als der von Hausmann<sup>2)</sup> für Eiweisskörper für den ungünstigsten Fall berechnete Werth von 0,16%. Ferner scheint aus den mitgetheilten Zahlen hervorzugehen, dass die Heteroalbumose reicher an Basenstickstoff als die Protoalbumose ist und dementsprechend ärmer an Säurenstickstoff, oder, um mich der Ausdrucksweise von Hausmann und Pick zu bedienen, mehr Diamino- und daher auch weniger Monoaminostickstoff enthält, ein Resultat, das mit dem von Pick erhaltenen übereinstimmt.

Vielleicht ist es von einigem Interesse, die von Pick erhaltenen Zahlen mit den meinigen zusammenzustellen. Um die in Betracht kommenden Verhältnisse vergleichen zu können, will ich die erhaltenen Mittelwerthe in Procenten des Stickstoffgehaltes der untersuchten Körper ausdrücken.

1) Die hier angegebenen Zahlen sind Mittelwerthe von Doppelbestimmungen der bei 105° getrockneten Albumosen.

2) Hausmann, l. c. S. 100.

	Basen-N	Säuren-N
Pick: Protoalbumose . . . .	25,42	68,17
Friedmann: Protoalbumose . . . .	31,12	66,85
Pick: Heteroalbumose . . . .	38,93	57,40
Friedmann: Heteroalbumose . . . .	37,14	59,41

Auch aus diesen Zahlen geht hervor, dass die nach Kühne dargestellte Heteroalbumose einen hohen Grad von Reinheit besitzt, denn die von Pick und mir für den Basenstickstoff und den Säurenstickstoff erhaltenen Zahlen stimmen miteinander überein. Der hohe Werth, den ich für den Basenstickstoff der Protoalbumose erhielt, erklärt sich daraus, dass die nach Kühne dargestellte Protoalbumose eben nicht frei von Heteroalbumose zu erhalten ist, und letztere viel reicher an Basenstickstoff ist als die Protoalbumose. Bei Pick liegen daher auch die Mittelwerthe des Basenstickstoffs für Proto- und Heteroalbumose um 13,51%, bei mir dagegen nur um 6,02% auseinander. Da aber die Differenzen zwischen den einzelnen Bestimmungen des Basenstickstoffs bei mir sehr nahe an diesen Werth heranreichen, so habe ich die erhaltenen Zahlen bisher nicht veröffentlicht. Auch Pick hat in einem Falle eine ähnliche Differenz bekommen, jedoch ist sie für seine Zahlen von geringerer Bedeutung, weil bei ihm die Mittelwerthe um das Doppelte auseinander liegen.

Eine Erklärung für die ziemlich grossen Fehlergrenzen innerhalb der einzelnen Bestimmungen habe ich darin zu sehen geglaubt, dass der Phosphorwolframsäure-Niederschlag nicht vollständig unlöslich ist.

Zum Schluss ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Siegfried, in dessen Laboratorium die Versuche ausgeführt wurden, für seine mir gewährte Hülfe meinen besten Dank auszusprechen.