

## Ueber die Ausbeute an Hexonbasen, die aus einigen pflanzlichen Eiweissstoffen zu erhalten ist.

Von  
E. Schulze und E. Winterstein.

(Aus dem agricultur-chemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)  
(Der Redaction zugegangen am 11. September 1901.)

Den Anstoss zur Ausführung der Versuche, deren Resultate wir im Folgenden mittheilen, gaben hauptsächlich einige Beobachtungen, die über die Spaltungsprodukte einer aus Rothtannensamen dargestellten Eiweisssubstanz gemacht wurden. N. Rongger<sup>1)</sup> zersetzte in unserem Laboratorium zwei Präparate dieser Eiweisssubstanz durch Salzsäure, fügte der Lösung Phosphorwolframsäure zu und bestimmte die in den Niederschlag eingegangene Stickstoffmenge. Der nach Abzug des Ammoniakstickstoffs übrig bleibende Theil dieser Stickstoffmenge betrug im Mittel 33,8% vom Gesamtstickstoff der Eiweisssubstanz; demnach musste diese Eiweisssubstanz bei der Spaltung eine sehr grosse Quantität von organischen Basen geliefert haben. Ferner bestimmte Rongger die im Niederschlag enthaltene Argininmenge durch Wägung des nach Hedin's Methode dargestellten basischen Argininsilbernitrats; er fand, dass 100 Theile der Eiweisssubstanz 10,3 Theile Arginin geliefert hatten.

Bei Zersetzung eines aus Rothtannensamen anderer Herkunft dargestellten Eiweisspräparates erhielten wir<sup>2)</sup> später

1) Landw. Versuchsstationen, Bd. 51, S. 105; diese Zeitschrift, Bd. XXIV, S. 276 u. Bd. XXV, S. 360.

2) Diese Zeitschrift, Bd. XXVIII, S. 459.

eine bedeutend geringere Ausbeute an Arginin. Ob dies auf eine ungleiche Beschaffenheit der beiden Präparate oder auf andere Umstände zurückzuführen war, vermochten wir nicht zu entscheiden; es erschien uns daher wünschenswerth, die Bestimmung der Argininausbeute, die man bei Spaltung eines aus den genannten Samen dargestellten Eiweisspräparates erhalten kann, zu wiederholen.

Noch eine andere Beobachtung forderte zu neuen Versuchen auf. Neben der Argininausbeute hatten wir auch die Ausbeute an Histidin und an Lysin nach dem von Kossel angegebenen Verfahren bestimmt. Wir erhielten diese beiden Basen nur in sehr geringer Quantität. Falls dieselben bei der Spaltung des von N. Rongger untersuchten Eiweisssubstanzenpräparats in ebenso geringer Menge entstanden waren, so war nicht anzunehmen, dass der nach Abzug des «Argininstickstoffs» übrig bleibende Theil des «Basenstickstoffs» ausschliesslich dem Histidin und Lysin angehörte; es mussten dann neben Ammoniak und den Hexonbasen noch andere Stickstoffverbindungen sich im Phosphorwolframsäureniederschlag vorgefunden haben. Wir hielten es für wünschenswerth, bei neuen Versuchen auch diese Frage zu berücksichtigen.

Neben einer aus Rothtannensamen dargestellten Eiweisssubstanzen haben wir auch noch zwei aus den Samen der gewöhnlichen Kiefer (*Pinus silvestris*) und der Seekiefer (*Pinus maritima*) gewonnene Eiweisssubstanzenpräparate für unsere Versuche verwendet. Ferner untersuchten wir zwei aus Lupinensamen dargestellte Conglutinpräparate, sowie ein Leguminpräparat aus gelben Erbsen und eine aus den Samen des Kürbis (*Cucurbita Pepo*) dargestellte Eiweisssubstanzen. Dass wir auch diese Präparate zu unseren Versuchen heranzogen, hat seinen Grund darin, dass die genannten Samenarten zur Darstellung der von uns früher auf Hexonbasen untersuchten Keimpflanzen gedient haben. Es war daher für uns von Interesse, zu prüfen, ob die aus diesen Samen dargestellten Eiweisssubstanzen bei der Spaltung durch Säuren die drei Hexonbasen neben einander geben, und daneben auch die Ausbeute an diesen Basen zu bestimmen.



Zur Darstellung der Eiweisssubstanzen behandelten wir die zuvor mit Aether, zum Theil mit Aether und Alkohol, extrahirten, zerriebenen Samen wiederholt mit sehr verdünnter Natronlauge<sup>1)</sup> und versetzten die Auszüge mit Essigsäure; die ausgefallten Eiweisssubstanzen wurden zuerst mit Wasser, dann mit Weingeist ausgewaschen, sodann unter absoluten Alkohol gebracht, nach längerem Verweilen unter letzterem abfiltrirt, mit Alkohol und mit Aether ausgewaschen, schliesslich im Exsiccator über concentrirter Schwefelsäure getrocknet: sie bildete nun theils weisse, theils schwach gefärbte, leicht zerreibliche Massen. Beim Verbrennen hinterliessen sie sämmtlich Asche; in dieser Asche war Phosphorsäure nachzuweisen.

Das von uns angewendete Darstellungsverfahren bietet bekanntlich keine Garantie für die Gewinnung völlig reiner Eiweisssubstanzpräparate von einheitlicher Beschaffenheit. Wir konnten aber dieses Verfahren nicht durch Extraction der Eiweisssubstanzen mittels 10%iger Kochsalzlösung ersetzen. Denn einige der von uns verwendeten Samensorten gaben an solche Kochsalzlösung nur einen so geringen Theil der in ihnen enthaltenen Eiweissstoffe ab, dass Versuche mit den so gewonnenen Präparaten für uns in diesem Falle nur geringen Werth gehabt hätten. Für die Zwecke, die wir in unserer Untersuchung verfolgten, mussten wir Präparate zur Verfügung haben, welche die Hauptmasse der in den bezüglichen Samen enthaltenen Eiweisssubstanzen einschlossen; solche Präparate vermochten wir aber nur mit Hülfe des oben angegebenen Verfahrens zu gewinnen. Doch haben wir wenigstens eine für ganz rein zu erklärende Eiweisssubstanzen für unsere Versuche verwendet, nämlich ein krystallisirtes Präparat des aus Hanfsamen dar-

<sup>1)</sup> Das Samenpulver wurde mit Wasser angerührt; dann wurde soviel verdünnte Natronlauge zugefügt, dass die Flüssigkeit auch nach öfters wiederholtem Umrühren alkalisch blieb. Nachdem das Unlösliche sich abgesetzt hatte, wurde der Auszug abgehebert. Der ungelöste Rückstand wurde behufs Gewinnung einer neuen Portion Eiweisssubstanzen wieder mit verdünnter Natronlauge behandelt. Diese Behandlung wurde fortgesetzt, bis nur noch wenig in Lösung ging.

stellbaren Edestins (wir verdanken dieses Präparat der Gefälligkeit der Firma Meister & Lucius in Höchst).

Ein sehr grosser Theil unserer Arbeit wurde vor dem Erscheinen der Abhandlung A. Kossel's und F. Kutscher's «Beiträge zur Kenntniss der Eiweissstoffe»<sup>1)</sup> ausgeführt; in Folge davon haben wir bei der Trennung der Hexonbasen Kossel's ältere Vorschriften befolgt. Auch haben wir, ebenso wie in den früher von uns ausgeführten Versuchen, die Eiweissstoffe durch Salzsäure zersetzt und die dabei entstandenen Basen durch Fällung mit Phosphorwolframsäure zur Abscheidung gebracht, obwohl auch wir der Meinung sind, dass diese Operation mit geringen Verlusten an Basen verbunden ist, weil die Phosphorwolframate der Basen nicht völlig unlöslich in Wasser sind. Unser Verfahren gestaltete sich daher folgendermassen: Die Eiweisssubstanz wird mit der 10fachen Menge concentrirter Salzsäure<sup>2)</sup> in einen Glaskolben gebracht, der Inhalt des letzteren 10 Stunden lang am Rückflusskühler zum Sieden erhitzt. Nach dem Erkalten filtrirt man die Flüssigkeit und versetzt sie sodann mit einer ca. 25%igen Phosphorwolframsäurelösung, so lange noch ein Niederschlag entsteht. Nach ca. 24 Stunden wird dieser Niederschlag mit Hülfe einer Nutsche von der Flüssigkeit getrennt und mit 5%iger Schwefelsäure<sup>3)</sup> bis zum Verschwinden der Salzsäurereaction ausgewaschen; dann verreibt man ihn in einer Reibschale mit Wasser und fügt nun, indem man das Verreiben fortsetzt, reines Baryumhydroxyd im Ueberschuss zu. Um das durch den Baryt in Freiheit gesetzte Ammoniak zu entfernen, wird der Inhalt der Reibschale in eine Glasschale mit flachem Boden gebracht und in letzterer mit einem, durch eine kleine Turbine in Drehung versetzten Rührwerk so lange bearbeitet, bis der Geruch nach Ammoniak verschwunden ist und ein über der Flüssigkeit aufgehängter Streifen von feuchtem rothem Lakmuspapier sich nicht mehr bläut. Dann wird das Baryumphosphorwolframat abfiltrirt und sorgfältig ausgewaschen. Das stark verdünnte Filtrat versetzt man, nachdem es durch

1) Diese Zeitschrift, Bd. XXXI. S. 165—214.

2) Die Salzsäure enthielt ca. 40% HCl.

3) Unter Zusatz von Phosphorwolframsäure.



Kohlensäure vom Baryt befreit ist, zur Ausfällung des Histidins mit Quecksilberchlorid.<sup>1)</sup> Die von dem so erhaltenen Niederschlag abfiltrirte Flüssigkeit wird durch Einleiten von Schwefelwasserstoff vom Quecksilber befreit, hierauf im Wasserbade stark eingeengt und durch Zusatz von Silbernitrat von der Salzsäure befreit; dann fällt man aus ihr das Arginin in bekannter Weise durch Silbernitrat und Barytwasser.<sup>2)</sup> Das Filtrat vom Argininsilberniederschlage wird mit Salzsäure neutralisirt, wobei Chlorsilber sich ausscheidet, dann im Wasserbade auf ein Volumen von 200—300 ccm. eingeengt: hierauf befreit man es durch Schwefelsäure vom Baryt und versetzt es zur Ausfällung des Lysins mit Phosphorwolframsäure. Der Niederschlag wird in bekannter Weise durch Baryumhydroxyd zerlegt, die mit Hülfe von Kohlensäure vom Baryt befreite Lösung stark eingeengt;<sup>3)</sup> dann fügt man zur Ausfällung des Lysins alkoholische Pikrinsäuresolution zu, wobei ein Ueberschuss von letzterem Reagens zu vermeiden ist.

Das bei Zerlegung des Quecksilberchloridniederschlages erhaltene Histidinchlorid wurde nach dem Auskrystallisiren zur Beseitigung der Mutterlauge auf eine Thonplatte gebracht, mit etwas Weingeist gewaschen, dann über Schwefelsäure getrocknet und gewogen. Die für das Gewicht der Krystalle gefundene Zahl bildet aber keinen genauen Ausdruck für die bei der Spaltung der bezüglichen Eiweisssubstanz entstandene

1) Zuvor wurde die Flüssigkeit mit Kohlensäure gesättigt. Nach dem Zusatz des Quecksilberchlorids zeigte sie eine schwach saure Reaction.

2) Der Niederschlag von Argininsilber wurde mit Hülfe einer Nutsche von der Flüssigkeit getrennt und in den ersten Versuchen mit Wasser, später mit Barytwasser ausgewaschen. In letzterem Falle wurde er vor der Zersetzung durch Schwefelwasserstoff mit verdünnter Schwefelsäure angerührt. Aus dem Filtrat wurde die Schwefelsäure durch Zusatz von Baryt, der Barytüberschuss durch Einleiten von Kohlensäure, bezw. durch Zutropfen verdünnter Schwefelsäure entfernt. Um einer vollständigen Zersetzung der Argininsilberniederschläge sicher zu sein, haben wir dieselben wiederholt mit Schwefelwasserstoff behandelt. Das durch Filtration von der Flüssigkeit getrennte Schwefelsilber wurde mit heissem Wasser ausgewaschen.

3) Zur Entfernung des während des Eindunstens ausgeschiedenen Baryumcarbonats wurde sie dann noch einmal filtrirt.

Histidinquantität, weil nach den neueren Angaben (man vergl. Kossel's und Kutscher's oben citirte Abhandlung) die genannte Base durch Quecksilberchlorid nur unvollständig ausgefällt wird.

Die bei Zerlegung des Silberarginins mittels Schwefelwasserstoff erhaltene Lösung wurde mit Salpetersäure genau neutralisirt und sodann im Wasserbade zum dünnen Syrup eingedunstet. Dieser Syrup verwandelte sich beim Stehen im Exsiccator in allen Fällen in eine feste Krystallmasse, in welcher das Vorhandensein von Mutterlauge sich kaum noch erkennen liess. Da diese Krystalle aber niemals frei von Mineralstoffen waren und auch noch andere Nebenbestandtheile (Histidin) in geringer Menge einschlossen, so haben wir ihr Gewicht nicht als massgebend für die Berechnung der Argininausbeute betrachtet; wir haben sie in Argininkupfernitrat übergeführt, indem wir ihre heisse wässerige Lösung mit reinem Kupferhydroxyd sättigten, die filtrirte Flüssigkeit sodann bei gelinder Wärme noch etwas einengten und nun unter eine Glocke über concentrirte Schwefelsäure stellten. Das Argininkupfernitrat krystallisirte in allen Fällen rasch aus und besass stets das für diese Verbindung charakteristische Aussehen. Nach einigen Tagen wurde die Mutterlauge von den Krystallen abgegossen; letztere wurden sodann zwei Mal mit einer kleinen Menge kalten Wassers gewaschen, hierauf durch Absaugen mittels Fliesspapier von der Flüssigkeit so weit wie möglich befreit und schliesslich an der Luft oder im Exsiccator über Chlorecalcium bis zur Constanz des Gewichts getrocknet. Absolut rein war das in dieser Weise gewonnene Produkt nicht; ohne Zweifel schloss es aber Nebenbestandtheile nur in so geringer Quantität ein, dass aus seinem Gewichte die Argininausbeute sehr annähernd berechnet werden konnte. Dabei kommt noch in Betracht, dass dem aus dem Vorhandensein einer geringen Menge von Nebenbestandtheilen entspringenden Fehler ein anderer, in der entgegengesetzten Richtung liegender Fehler, gegenüberstand; der letztere beruht darin, dass ein wenig Argininkupfernitrat in der Mutterlauge blieb. Wir haben in einer Anzahl von Fällen diese Mutterlauge mit Schwefelwasserstoff vom Kupfer befreit und sodann zum dünnen Syrup



eingedunstet: aus diesem Syrup schied sich noch ein wenig Argininnitrat aus, welches aber durch Mineralsubstanzen verunreinigt war. Das Gewicht der in dieser Weise noch abscheidbaren Argininnitratkrystalle war aber nur so gering, dass dasselbe nur etwa 0,1—0,2% vom Gewicht der zur Verwendung gekommenen Eiweisssubstanz ausmachte. Bei der im Folgenden sich findenden Berechnung der Argininausbeute haben wir diese aus den Mutterlaugen noch gewinnbaren Argininnitratquantitäten unberücksichtigt gelassen.

Nach einmaligem Umkrystallisiren aus einer möglichst geringen Wassermenge war das in der beschriebenen Weise erhaltene Argininkupferniträt so rein, dass es bei der Analyse die der Theorie entsprechenden Resultate gab.

Das Lysinpikrat wurde nach dem Ausrystallisiren aus Wasser mit Hilfe einer Nutsche von der Mutterlauge getrennt, sodann über Schwefelsäure bis zur Constanz des Gewichts getrocknet und gewogen. Die Mutterlauge haben wir zur Entfernung der Pikrinsäure mit Salzsäure und Aether geschüttelt und sodann mit Phosphorwolframsäure versetzt, den dadurch erzeugten Niederschlag in der früher beschriebenen Weise verarbeitet. Das dabei erhaltene Lysinpikrat wurde zu der vorher gewonnenen Portion hinzugefügt. Bei den Versuchen mit den aus Coniferensamen dargestellten Eiweisssubstanzen, welche nur sehr wenig Lysin lieferten, haben wir die Mutterlauge nicht verarbeitet; da hier die Mutterlauge nur in geringer Quantität erhalten wurde, so konnte nur ein geringer Fehler entstehen, wenn man dieselbe beseitigte, ohne das darin noch enthaltene Lysin zu gewinnen.

Das in solcher Weise erhaltene Lysinpikrat besass stets das gleiche Aussehen; es bestand aus feinen, nadelförmigen Krystallen. Bei der Behandlung mit Salzsäure und Aether lieferte es in allen Fällen ein in Methylalkohol vollständig lösliches Chlorhydrat, welches aus concentrirter wässriger Lösung leicht krystallisirte. Das Gewicht des letzteren entsprach in denjenigen Fällen, in welchen eine Bestimmung ausgeführt wurde, annähernd der aus dem Gewicht des Pikrats berechneten Zahl.

Im Vorigen haben wir das Verfahren beschrieben, dessen wir uns zur Ermittlung der Ausbeute an Histidin, an Arginin und an Lysin bedienten. Die Ausbeute an Histidin blieb ohne Zweifel hinter der bei Spaltung der bezüglichen Eiweisssubstanz entstandenen Histidinmenge um ein Beträchtliches zurück, weil erstens, nach den neueren Angaben, die Ausfällung des Histidins durch Quecksilberchlorid keine vollständige ist und weil zweitens etwas salzsaures Histidin in der Mutterlauge bleibt. Auch die Argininmenge wird ohne Zweifel auf dem von uns eingeschlagenen Wege etwas zu niedrig gefunden; denn erstens sind beim Ausfällen der genannten Base durch Phosphorwolframsäure und beim Auswaschen des Niederschlags Verluste nicht zu vermeiden und zweitens bleibt beim Auskrystallisiren des Argininkupfernitrats etwas von diesem Salz in der Mutterlauge. Wir glauben indessen doch, dass die diesen Umständen entspringenden Fehler nicht gross sind<sup>1)</sup> und zum Theil vielleicht auch durch Fehler, die in der entgegengesetzten Richtung liegen, compensirt werden. Immerhin kann es keinem Zweifel unterliegen, dass die in Wirklichkeit vorhandene Argininmenge etwas grösser war, als die von uns angegebene Quantität. Was das Lysin betrifft, so sind bei der Gewinnung desselben Verluste gleichfalls nicht zu vermeiden; abgesehen davon, dass die zweimalige Ausfällung des Lysins durch Phosphorwolframsäure mit Verlust verbunden sein muss, ist auch kaum zu vermeiden, dass bei Darstellung des Lysinpikrats etwas von diesem Salz in der Mutterlauge bleibt, doch glauben wir, dass auch beim Lysin die Ausbeute nicht weit hinter der wirklich vorhandenen Quantität zurückgeblieben ist.

Wir haben uns gefragt, ob die der Ausfällung durch Quecksilberchlorid entgangene Histidinmenge, welche zusammen mit dem Arginin durch Silbernitrat und Barytwasser gefällt wurde und sich in der Mutterlauge vom Argininkupfernitrat vorfinden musste, nicht noch gewonnen werden könnte. Zu diesem Zweck haben wir diese Mutterlauge mit Hilfe von

<sup>1)</sup> Wir verweisen zur Begründung dieser Ansicht auch auf Kossow's und Kutscher's Angaben in dieser Zeitschrift. Bd. XXV. S. 183.



Schwefelwasserstoff vom Kupfer befreit, sodann im Wasserbade eingeeengt und hierauf mit ammoniakalischer Silbernitratlösung versetzt. Wir erhielten einen Niederschlag, der sich ziemlich schnell bräunte. Er wurde durch verdünnte Salzsäure zersetzt, die vom Chlorsilber abfiltrirte Lösung sodann eingedunstet. Da das in dieser Weise gewonnene Produkt aber nicht das Aussehen von reinem salzsauren Histidin besass, so haben wir Bedenken getragen, es als solches in Rechnung zu stellen. Uebrigens war das Gewicht dieses Produktes in allen Fällen nur ein sehr geringes.<sup>1)</sup>

Die Ergebnisse der zur Identificirung der Basen ausgeführten analytischen Bestimmung theilen wir weiter unten mit: im Folgenden geben wir zunächst die bei Ermittlung der Ausbeute erhaltenen Zahlen. Zuvor sei bemerkt, dass von der Eiweisssubstanz der Rothtannensamen zwei Präparate zur Verwendung kamen, welche aus dem gleichen Samenmuster gewonnen waren. Die entfetteten Samen wurden zunächst mit soviel verdünnter Natronlauge behandelt, dass nur ein Theil der in denselben vorhandenen Eiweisssubstanzen in Lösung ging: der so erhaltene Auszug lieferte das Präparat A. Der vom Auszug getrennte Rückstand lieferte dann bei Behandlung mit einer neuen Quantität verdünnter Natronlauge das Präparat B. Auch vom Conglutin sind zwei Präparate untersucht worden; das Präparat A ist aus den Samen der gelben Lupine (*Lupinus luteus*) dargestellt worden, das Präparat B aus den Samen verschiedener Lupinensorten.

### I. Eiweisssubstanz aus den Samen der Rothtanne (*Picea excelsa*).

Präparat A. 27,01 g wasserfreie Substanz gaben 0,1640 g Histidinchlorid, 4,094 g Argininkupfernitrat und 0,107 g Lysinpikrat.

Präparat B. 46,79 g wasserfreie Substanz gaben 0,3810 g Histidinchlorid, 6,58 g Argininkupfernitrat und 1,018 g Lysinpikrat.

### II. Eiweisssubstanz aus den Samen der Kiefer (*Pinus silvestris*).

47,65 g wasserfreie Substanz gaben 0,400 g Histidinchlorid, 8,772 g Argininkupfernitrat und 0,312 g Lysinpikrat.

1. Es betrug weniger als 0.1 g.

### III. Eiweisssubstanz aus den Samen der Seekiefer (*Pinus maritima*).

37,04 g wasserfreie Substanz gaben 0,3872 g Histidinchlorid, 7,10 g Argininkupfernitrat und 0,755 g Lysinpikrat.

### IV. Eiweisssubstanz aus den Samen des Kürbis (*Cucurbita Pepo*).

Versuch 1. 38,82 g wasserfreie Substanz gaben 0,360 g Histidinchlorid, 5,347 g Argininkupfernitrat und 1,679 g Lysinpikrat.

Versuch 2. 37,6 g wasserfreie Substanz gaben 0,426 g Histidinchlorid, 4,490 g Argininkupfernitrat und 1,462 g Lysinpikrat.

### V. Conglutin aus den Samen von *Lupinus luteus*.

46,12 g wasserfreie Substanz gaben 0,394 g Histidinchlorid, 5,432 g Argininkupfernitrat und 2,452 g Lysinpikrat.

### VI. Conglutin aus den Samen verschiedener Lupinusarten.

20,1 g wasserfreie Substanz gaben 0,180 g Histidinchlorid und 2,128 g Argininkupfernitrat (Lysin wurde nicht bestimmt).

### VII. Legumin aus den Samen der Erbse (*Pisum sativum*).

Versuch 1. 45,6 g wasserfreie Substanz gaben 0,80 g unreines Histidinchlorid,<sup>1)</sup> 3,65 g Argininkupfernitrat und 5,90 g Lysinpikrat.

Versuch 2. 45,6 g wasserfreie Substanz gaben 0,56 g unreines Histidinchlorid, 3,58 g Argininkupfernitrat und 5,92 g Lysinpikrat.<sup>2)</sup>

### VIII. Edestin.

Versuch 1. 35,97 g wasserfreie Substanz gaben 0,671 g Histidinchlorid, 6,502 g Argininkupfernitrat und 1,011 g Lysinpikrat.

Versuch 2. 35,97 g wasserfreie Substanz gaben 0,476 g Histidinchlorid, 6,840 g Argininkupfernitrat und 1,439 g Lysinpikrat.

Aus diesen Zahlen berechnet sich für 100 Theile wasserfreie Eiweisssubstanz folgende Ausbeute an Histidin, an Arginin und an Lysin:<sup>3)</sup>

1) Das Histidinchlorid war durch eine aus der Lösung langsamer auskrystallisirende Substanz verunreinigt.

2) Der Versuch 2 wurde von Herrn Dr. Krascheninikoff ausgeführt.

3) Bei der Berechnung ist angenommen worden, dass dem Histidinchlorid die Formel  $C_6H_9N_3O_2 \cdot HCl + H_2O$ , dem Argininkupfernitrat die Formel  $(C_6H_{13}N_4O_2)_2(Cu(NO_3)_2) + 3H_2O$ , dem Lysinpikrat die Formel  $C_6H_{14}N_2O_2 \cdot C_6H_7(NO_2)_3 \cdot OH$  zukommt.



		Histidin	Arginin	Lysin
I. Eiweisssubstanz aus Rothtannensamen	( Präparat A	0,79	8,9	0,15
	( » B	0,60	8,3	0,85
II. » » Kiefern Samen . . . . .		0,62	10,9	0,25
III. » » Seekiefern Samen . . . . .		0,78	11,3	0,79
IV. » » Kürbissamen . . . . .	( Versuch a	0,69	Mittel 8,1	Mittel 1,7
	( » b	0,84		
		Mittel 0,77	Mittel 7,6	Mittel 1,5
V. Conglutin A . . . . .		0,63	6,9	2,1
VI. » B . . . . .		0,66	6,2	nicht bestimmt
VII. Legumin . . . . .	( Versuch a	1,30	Mittel 4,7	Mittel 5,1
	( » b	0,91		
		Mittel 1,1	Mittel 4,6	Mittel 5,0
VIII. Edestin . . . . .	( Versuch a	1,35	Mittel 10,7	Mittel 1,09
	( » b	0,98		
		Mittel 1,17	Mittel 11,0	Mittel 1,3

Aus der vorstehenden Tabelle ist zunächst zu ersehen, dass bei der Spaltung aller von uns untersuchten Eiweisssubstanzen die drei Hexonbasen nebeneinander entstanden sind. Mit Ausnahme des Legumins haben alle diese Eiweisssubstanzen weit mehr Arginin geliefert, als Histidin und Lysin. Besonders gross war die Ausbeute an Arginin bei den Eiweisssubstanzen aus Coniferensamen, sowie beim Edestin. Die Ausbeute an Histidin zeigt keine sehr grossen Differenzen. Dagegen zeigen sich grosse Unterschiede bei der Ausbeute an Lysin; während die aus Coniferensamen dargestellten Eiweisspräparate nur 0,15—0,85% Lysin geliefert haben, stieg die Ausbeute an Lysin beim Legumin bis auf 5,1%. Auch bei den von Kossel und Kutscher (loc. cit.) untersuchten Eiweisssubstanzen zeigten sich sehr grosse Differenzen in Bezug auf die Quantität des Lysins und einige dieser Eiweisssubstanzen lieferten diese Base garnicht.

Aus der sehr beträchtlichen Differenz, welche in Bezug auf Ausbeute an Lysin zwischen den beiden aus Rothtannensamen dargestellten Eiweisspräparaten zu bemerken ist, scheint man schliessen zu müssen, dass diese beiden Präparate nicht genau die gleiche Beschaffenheit besaßen; dies würde aus dem zu ihrer Darstellung angewendeten Verfahren (vgl. oben)

sich erklären lassen. Die aus dem Präparat A. erhaltene Ausbeute an Arginin, welche auf 9,1%<sup>1)</sup> steigt, wenn man die aus der Mutterlauge vom Argininkupferniträt noch erhaltene kleine Argininnitratmenge in Anrechnung bringt, ist nicht viel geringer, als diejenige, welche N. Rongger (loc. cit.) aus seinem, in ähnlicher Weise dargestellten Präparat erhielt (letztere betrug 10,3%). Aus beiden Präparaten (A und B) erhielten wir eine bedeutend höhere Argininausbeute, als aus dem von uns früher untersuchten, aus einem anderen Samenmuster dargestellten Präparat.

Die mit den gleichen Präparaten ausgeführten Parallelversuche lieferten, wie aus der obigen Tabelle zu ersehen ist, nicht immer gut übereinstimmende Resultate. So zeigt sich z. B. bei der Eiweisssubstanz aus Kürbissamen in der Argininausbeute eine Schwankung von 1,1%; auch bei der Ausbeute an Histidin und an Lysin zeigen sich bei einigen Präparaten, z. B. beim Edestin, nicht unbeträchtliche Schwankungen. Wenn man bedenkt, dass zur Gewinnung der Hexonbasen eine Anzahl von Operationen nacheinander ausgeführt werden musste, von denen manche mit Substanzverlusten verbunden sind, so kann es kaum auffallen, dass man aus dem gleichen Präparat nicht immer genau die gleiche Ausbeute an Histidin, an Arginin und an Lysin erhält. Man ist demnach nach unserer Meinung nicht berechtigt, aus jenen Schwankungen in der Ausbeute den Schluss zu ziehen, dass bei der Spaltung einer Eiweisssubstanz die Hexonbasen in wechselnder Menge entstehen. Eher könnte man geneigt sein, eine Stütze für eine solche Schlussfolgerung in den Schwankungen der Argininausbeute, die wir aus den verschiedenen Präparaten des Rothtannenproteins erhielten, sowie in dem Umstande zu erblicken, dass Hedin aus Conglutin nur 2,75% Arginin erhielt, während wir aus der gleichen Eiweisssubstanz 6—7% der genannten Base darzustellen vermochten. Doch ist diese grosse Differenz

<sup>1)</sup> Bei Mittheilung dieses Resultates in der Abhandlung E. Schulze's über die Zusammensetzung einiger Coniferensamen in den landwirthsch. Versuchsstat. Bd. 56 ist aus Versehen statt 9,1%, 9,3% angegeben worden, was hiermit berichtigt sei.



in der Argininausbeute vielleicht auf Abweichungen im Darstellungsverfahren zurückzuführen. Hedin<sup>1)</sup> gibt nämlich an, dass er den Phosphorwolframsäureniederschlag in der Wärme mit Barytwasser zersetzte (allerdings unter Vermeidung eines grossen Barytüberschusses). Da nun das Arginin durch kochendes Barytwasser zersetzt wird, so liegt es im Bereiche der Möglichkeit, dass in Hedin's Versuchen ein Theil des Arginins zerstört wurde. Ferner gibt Hedin an, dass er die beim Kochen der Eiweisssubstanz mit Salzsäure erhaltene Flüssigkeit mit Phosphorwolframsäure nur so lange versetzte, als dieses Reagens einen körnigen Niederschlag hervorbrachte; ein später entstehender gelatinöser Niederschlag wurde nicht berücksichtigt. Wir glauben annehmen zu dürfen, dass diese Umstände Verluste an Arginin verursacht haben können (Hedin selbst bezeichnet seine Zahlen als Minimalzahlen<sup>2)</sup>); doch können wir selbstverständlich die Grösse dieser Verluste nicht beurtheilen und wissen daher nicht, ob auf sie allein die grosse Differenz der von Hedin und der von uns aus dem Conglutin erhaltenen Argininausbeute sich zurückführen lässt.

Im Folgenden theilen wir die Resultate der zur Identifizierung der Hexonbasen ausgeführten Versuche mit. Was die analytischen Bestimmungen betrifft, so haben wir uns darauf beschränkt, Chlorbestimmungen im salzsauren Histidin, Bestimmungen des Krystallwassers und des Kupfers im Arginin-kupferniträt und Platinbestimmungen im Lysinplatinchlorid auszuführen. Die aus dem Rothtannenprotein dargestellten Hexonbasen haben wir nicht analysirt, weil früher schon von uns nachgewiesen worden ist, dass unter den Spaltungsprodukten der genannten Proteinsubstanz Histidin, Arginin und Lysin

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XX, S. 187. Allerdings beziehen sich die an dieser Stelle sich findenden Angaben auf die Darstellung des Arginins aus Hornsubstanz, doch glauben wir annehmen zu dürfen, dass Hedin bei Darstellung des Arginins aus anderen Proteinstoffen in der gleichen Weise verfuhr.

<sup>2)</sup> Es sei hier erwähnt, dass wir öfters auch in reinen Arginin-nitratlösungen durch Phosphorwolframsäure schleimige Niederschläge erhielten, welche erst beim Erwärmen dicht und körnig wurden.

sich finden. Im Hinblick auf Siegfried's und Hedin's Arbeiten wäre es auch unnöthig gewesen, die aus dem Conglutin erhaltenen Produkte zu analysiren, doch wurden einige Bestimmungen ausgeführt, um den Reinheitsgrad der aus dem Conglutin von uns gewonnenen Präparate festzustellen. Auch das aus der Eiweisssubstanz der Kiefern Samen erhaltene salzsaure Histidin ist nicht analysirt worden; eine Analyse erschien unnöthig, weil ja schon unter den Spaltungsprodukten, der aus zwei Coniferensamen dargestellten Eiweisssubstanzen Histidin von uns nachgewiesen worden ist. Die für die Analyse benutzten Präparate haben wir im Folgenden mit den gleichen Nummern bezeichnet, welche oben den zugehörigen Eiweisssubstanzen gegeben worden sind, beispielsweise sind mit V die aus dem Conglutin A gewonnenen Präparate bezeichnet worden.

#### A. Salzsaures Histidin.

Die Formel  $C_6H_9N_3O_2, HCl + H_2O$  verlangt 16,90% Cl.

Angewendet:		Gefunden:	
	g Substanz	g AgCl	% Cl
III.	0,1424	0,0988	17,16* <sup>1)</sup>
IV.	0,1718	0,1198	16,82
VI.	0,1592	0,1112	17,21*
VII.	0,1770	0,1229	17,12
VIII.	0,1424	0,0980	16,95

Diese Zahlen führen zu der Schlussfolgerung, dass die untersuchten Präparate aus dem Monochlorhydrat des Histidins bestanden. Im Einklang mit dieser Annahme stand auch das Aussehen der Krystalle (beim Präparat III können wir uns auch auf eine krystallographische Untersuchung stützen, welche auszuführen Herr Professor Grubenmann die Gefälligkeit hatte). Die Filtrate vom Chlorsilber gaben auf Zusatz von Silbernitrat und Ammoniak die für das Histidin charakteristische weisse Fällung von Histidinsilber. Beim Präparat III wurde in diesem Histidinsilber von O. Meyer eine Silberbestimmung mit folgendem Resultat ausgeführt: 0,2853 g Substanz gaben 0,1600 g Ag, gefunden: 56,08%, berechnet 55,77% Ag).

<sup>1)</sup> Die mit \* bezeichneten Bestimmungen sind von O. Meyer ausgeführt worden.



**B. Argininkupfernitrat.**

Die Formel  $(C_6H_{14}N_4O_2)_2Cu(NO_3)_2 + 3H_2O$  verlangt 9.16% Krystallwasser und 10,73% Cu.

	Angewendet:		Gefunden:		
	g Substanz	g H <sub>2</sub> O	g CuO	% H <sub>2</sub> O	% Cu
III.	a) 0.4000	0.0370	0.0540	9.25	10.79
	b) 0.1874	0.0173	0.0255	9.21	10.88*
II.	0.4000	0.0377	0.0540	9.42	10.79
IV.	0.4015	0.0380	0.0530	9.46	10.55
V.	0.4055	0.0380	0.0540	9.37	10.65
VI.	0.2062	—	0.0284	—	10.99*
VIII.	a) 0.3990	0.0370	0.0530	9.27	10.71
	b) 0.5000	0.0477	0.0670	9.54	10.71

In dem bei Verarbeitung des Legumins erhaltenen Argininkupfernitrat wurde eine Kupferbestimmung ausgeführt, nachdem das Salz zuvor durch Trocknen bei 100—105° vom Krystallwasser befreit worden war. Die Bestimmung lieferte folgendes Resultat:

0.2727 g Substanz gaben 0,0298 g CuO = 11.95% Cu  
(berechnet 11.89% Cu).

**C. Lysinplatinchlorid.**

Die Formel  $C_6H_{14}N_2O_2, H_2PtCl_6$  verlangt 35,05% Pt.

	Angewendet:		Gefunden:	
	g Substanz	g Pt	% Pt	
II.	0.2790	0.0976	34.89	
IV.	0.3250	0.1145	35.23	
VII.	0.7500	0.2634	35.01	
VIII.	a) 0.2445	0.0855	34.96	
	b) 0.1975	0.0688	34.85	
VI.	0.2098	0.0734	34.99*	

Das Lysinplatinchlorid wurde in allen Fällen in der Weise dargestellt, dass wir einer concentrirten wässrigen Lösung des Lysinchlorids die zur Bildung des Chloroplatinats erforderliche Platinchloridquantität in alkoholischer Lösung und sodann noch mehr Alkohol zufügten; nach 6—12 Stunden schied sich das Chloroplatinat in Krystallen aus. (Eine Ausscheidung von Oeltropfen haben wir niemals beobachtet.) Die Krystalle besaßen in allen Fällen das gleiche Aussehen; es waren dünne, roth-

gelbe Prismen, die beim Liegen über concentrirter Schwefelsäure rasch verwitterten und undurchsichtig wurden. Für die Analyse wurden sie bei 125—130° getrocknet. Das aus der Eiweisssubstanz der Seekiefersamen dargestellte Lysin wurde in unserem Laboratorium von O. Meyer<sup>1)</sup> untersucht. Das daraus dargestellte, aber nicht bei höherer Temperatur getrocknete Chloroplatinat gab bei der Analyse 27,73% Pt und 4,11% N, was einer Formel mit drei Molekülen Krystallalkohol (berechnet 27,99% Pt und 4,04% N) entsprechen würde. O. Meyer stellte aus diesem Lysin sodann die Lysursäure (Dibenzoyllysin) dar, indem er der mit Natronlauge versetzten Lösung unter häufigem Umschütteln Benzoylchlorid zufügte und später das Produkt durch Salzsäure ausfällte. Nachdem letzteres mit Hilfe von Petroläther von der Benzoesäure ziemlich vollständig befreit worden war, wurde es zur Reinigung in der von Cl. Willdenow<sup>2)</sup> empfohlenen Weise behandelt. So wurde eine krystallinische Substanz erhalten, deren Aussehen den für Lysursäure gemachten Angaben entsprach: sie schmolz bei 143° (nach Cl. Willdenow schmilzt reine Lysursäure bei 144°). Es gelang auch, aus diesem Produkt nach der von Drechsel herrührenden, von Cl. Willdenow mitgetheilten Vorschrift ein Baryumsalz darzustellen, welches im Aussehen und Verhalten mit saurem lysursäurem Baryum übereinstimmte. Es kann also nicht zweifelhaft sein, dass die Base, auf welche diese Angaben sich beziehen, mit dem von Drechsel und seinen Schülern untersuchten Lysin identisch war.

---

Im Anschluss an die Versuche, deren Resultate wir im Vorigen mitgetheilt haben, wurden noch einige quantitative Bestimmungen in den bei Zersetzung der Eiweissstoffe durch Säure erhaltenen Lösungen ausgeführt. Wir wollen aber nicht alle Einzelheiten dieser Bestimmungen mittheilen, weil die dabei gewonnenen Zahlen vielfach nicht genügend untereinander über-

<sup>1)</sup> Inauguraldissertation, Zürich 1900.

<sup>2)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XXV, S. 528.



einstimmen und wir in Folge davon vermuthen müssen, dass bei Ausführung jener Bestimmungen Fehlerquellen sich geltend machten, deren Natur sich bis jetzt unserer Kenntniss entzieht.

Zunächst wurde in einigen Fällen der Stickstoff in den Niederschlägen bestimmt, welche durch Phosphorwolframsäure in den bei Zersetzung der Eiweissstoffe erhaltenen Lösungen hervorgebracht wurden. Die für den Versuch zu verwendende Lösung wurde filtrirt und auf ein bestimmtes Volumen gebracht; sodann versetzten wir aliquote Theile dieser Lösung mit überschüssiger Phosphorwolframsäure, trennten die Niederschläge mit Hülfe einer Nutsche von der Flüssigkeit, wuschen sie mit 5<sup>o</sup> iger Schwefelsäure unter Zusatz von Phosphorwolframsäure vollständig aus und bestimmten darin schliesslich den Stickstoff nach Kjeldahl's Methode.<sup>1)</sup> Ferner destillirten wir aliquote Theile jener Lösung mit Magnesia und bestimmten die Quantität des dabei übergehenden Ammoniaks. Will man nun durch Subtraction des «Ammoniakstickstoffs» von dem im Phosphorwolframsäureniederschlag enthaltenen Stickstoff die den organischen Basen angehörende Stickstoffmenge ermitteln, so ist zu beachten, dass auch das Filtrat vom Phosphorwolframsäureniederschlag bei der Destillation mit Magnesia noch etwas

1) Ueber die Art und Weise, in der diese Bestimmungen ausgeführt wurden, sind noch folgende Details anzugeben: 25 cem. der beim Kochen der Eiweisssubstanz mit Salzsäure erhaltenen Flüssigkeit wurden mit 100 cem. Wasser verdünnt, dazu kamen 4 cem. concentrirte Schwefelsäure. Dann fügte man unter beständigem Umrühren 25 cem. einer 25 igen Phosphorwolframsäurelösung zu. Nach 24 Stunden trennte man den Niederschlag mit Hülfe einer Nutsche von der Flüssigkeit und wusch ihn in der oben angegebenen Weise aus; dann brachte man ihn in ein Kölbchen und übergoss ihn mit 20 cem. concentrirter Schwefelsäure; dazu kamen noch ungefähr 2 g Kupferoxyd. Während des Erhitzens schüttelte man das Kölbchen öfters, um das Anbacken des Niederschlages an die Wand des Glasgefässes möglichst zu verhüten. Die Zersetzung des Niederschlages erfolgte unter diesen Umständen ziemlich rasch; ohne Zusatz von Kupferoxyd liess die Operation sich wegen starken Stossens des Kölbcheninhalts nicht gut ausführen. Die nach Enttöderung des Kölbchens an der Wandung des letzteren noch fest-sitzenden Partikelchen wurden mit Hülfe von etwas Natronlauge abgelöst und dann noch in den Destillationskolben mit hineingebracht.

Ammoniak liefert; das Ammoniak — genauer gesagt: die bei der Destillation mit Magnesia das Ammoniak liefernde Substanz<sup>1)</sup> — wird also durch Phosphorwolframsäure nicht vollständig ausgefällt und man darf, um die den organischen Basen angehörende Stickstoffmenge zu finden, vom Stickstoffgehalt des Phosphorwolframsäureniederschlages nur die Differenz der bei den beiden Ammoniakbestimmungen erhaltenen Zahlen subtrahiren.

Es zeigte sich nun, dass die den organischen Basen angehörende Stickstoffmenge stets bedeutend grösser war, als die Summe der im Histidin, Arginin und Lysin vorgefundenen Stickstoffmengen. So ergaben sich z. B. für das Conglutin A und für die Eiweisssubstanzen aus Rothtannen- und aus Kiefern-samen folgende Mittelzahlen (diese Zahlen bedeuten Procente der Trockensubstanz der Eiweisspräparate):

	a) Stickstoff in organischen Basen:	b) Stickstoff im Histidin, Arginin und Lysin:
Eiweisssubst. aus Rothtannen-S.	5.50%	3.00%
»    »    »    Kiefern-S. . . . .	5.18%	3.73%
Conglutin A . . . . .	4.14%	2.80%

Wenn man die Zahlen der Columnne a, die wir im Folgenden der Kürze halber als Zahlen für «Basenstickstoff» bezeichnen wollen, in Procenten des Gesamtstickstoffs, die Zahlen der Columnne b dagegen in Procenten von a ausdrückt, so ergibt sich Folgendes:

	Basenstickstoff in % des Gesamtstickstoffs:	Stickstoff im Histidin, Arginin u. Lysin in % des Basenstickstoffs:
Eiweisssubst. aus Rothtannen-S.	31.8%	54.5%
»    »    »    Kiefern-S. . . . .	30.8%	72.0%
Conglutin A . . . . .	25.1%	67.6%

Aus den Zahlen der vorstehenden Tabelle ist zu ersehen, dass die Summe der dem Histidin, Arginin und Lysin angehörenden Stickstoffmengen bei allen drei Objecten hinter den

<sup>1)</sup> So viel wir wissen, ist bis jetzt nicht nachgewiesen worden, dass das beim Erhitzen jener Lösungen mit Magnesia entweichende Ammoniak ausschliesslich von den in der Lösung vorhandenen Ammoniak-salzen geliefert wird.



Zahlen für «Basenstickstoff» bedeutend zurückbleibt. Wenn wir nun auch bei der Darstellung der Hexonbasen aus den Phosphorwolframsäureniederschlägen Substanzverluste nicht vermeiden konnten, so ist es doch sehr unwahrscheinlich, dass aus diesem Umstande allein die Differenz zwischen den Zahlen der obigen Columnen sich erklärt: man wird vielmehr annehmen haben, dass in den Phosphorwolframsäureniederschlägen neben Hexonbasen und Ammoniak noch andere Stickstoffverbindungen sich vorfanden. Diese Annahme steht auch im Einklang mit den Ergebnissen, zu denen Kossel und Kutscher (loc. cit.) gelangt sind. Doch haben wir in unseren Phosphorwolframsäureniederschlägen Monoaminosäuren nicht nachzuweisen vermocht: wir verweisen hinsichtlich dieses Resultats auf die nachfolgende Abhandlung. Was speciell die für die Eiweisssubstanz aus Rothtannensamen erhaltenen Ergebnisse betrifft, so stimmt die für den Basenstickstoff gefundene Zahl recht gut mit derjenigen überein, welche von N. Rongger gefunden wurde: dagegen fielen vom Basenstickstoff nach Rongger's Bestimmungen 56%, nach unseren nur 48,6% auf Arginin. Man könnte demnach fast vermüthen, dass wir eine zu niedrige Argininausbeute erhalten haben: doch liegen keine Anhaltspunkte für die Annahme vor, dass wir bei Aufsammlung des Arginins grössere Verluste hatten, als diejenigen, welche durch die bei unseren Versuchen stets wirkenden Verlustquellen verursacht werden. Bei der Eiweisssubstanz der Kiefern Samen und beim Conglutin ist, wie aus der obigen Tabelle sich ersehen lässt, die Differenz zwischen dem «Basenstickstoff» und der in den Hexonbasen gefundenen Stickstoffmenge bedeutend geringer, als bei der Eiweisssubstanz der Rothtannensamen.

Diese Differenz erklärt sich zum Theil aus dem Umstande, dass die bei Zerlegung der Phosphorwolframsäureniederschläge mit Barytwasser erhaltenen Rückstände, welche selbstverständlich im Wesentlichen aus einem Baryumsalz der Phosphorwolframsäure bestanden, nicht ganz stickstofffrei waren,<sup>1)</sup> trotz-

<sup>1)</sup> Das Gleiche fand früher schon S. Posternak in unserem Laboratorium.

dem die Niederschläge mehrere Tage lang mit Barytwasser in Berührung waren und dass jene Rückstände nach dem Abfiltriren der Basenlösung sorgfältig mit Wasser ausgewaschen wurden. Der Stickstoffgehalt der Rückstände war ein wechselnder; so betrug er z. B. im Versuch mit Conglutin A 0,078% des trocknen Rückstandes, im Versuch mit dem Conglutin B nur 0,011%. Welcher Art die in den Rückständen verbliebenen Stickstoffverbindungen waren, vermögen wir nicht zu sagen; vielleicht gehören zu denselben huminartige Substanzen. Wenn man nun aber auch die in dem bezüglichen Rückstände vorgefundene Stickstoffmenge vom Basenstickstoff abzieht, so bleibt doch immer noch eine Differenz zwischen letzterem und der in den Hexonbasen vorgefundenen Stickstoffquantität.

Bei Bestimmung des «Basenstickstoffs» in der von uns beschriebenen Weise verursacht die unvollständige Ausfällung des Ammoniaks durch Phosphorwolframsäure schon deshalb eine Unbequemlichkeit, weil es erforderlich ist, auch im Filtrat eine Ammoniakbestimmung auszuführen. Es scheint daher besser zu sein, dass man die Flüssigkeiten vor dem Zusatz der Phosphorwolframsäure vom Ammoniak befreit. Dies kann bekanntlich durch Eindampfen derselben mit Magnesia erreicht werden. Doch ist es vielleicht fraglich, ob bei Anwendung dieses Verfahrens Fehler völlig ausgeschlossen sind: denn es ist, soviel wir wissen, bis jetzt nicht nachgewiesen worden, dass die Wirkung der Magnesia auf die in den bezüglichen Flüssigkeiten enthaltenen Stickstoffverbindungen ausschliesslich in dem Austreiben des Ammoniaks besteht.

In Versuchen zur quantitativen Bestimmung der bei der Spaltung der Eiweissstoffe entstehenden Basen, welche O. Meyer schon vor ungefähr 2 Jahren in unserem Laboratorium ausführte, wurden die beim Kochen des Conglutins und der Eiweisssubstanz der Seekiefern Samen mit Salzsäure erhaltenen Lösungen durch Eindampfen mit Magnesia vom Ammoniak befreit; dann wurden sie zur Fällung der organischen Basen mit Phosphorwolframsäure versetzt, die dadurch erzeugten Niederschläge in bekannter Weise mit Baryumhydroxyd zerlegt. In der durch Filtration vom Rückstand getrennten Basenlösung



bestimmte O. Meyer den Gesamtstickstoff: sodann fällte er, unter Befolgung von Kossel's älteren Vorschriften, das Histidin durch Quecksilberchlorid, das Arginin durch Silbersulfat und Baryumhydroxyd. Die Niederschläge zersetzte er durch Schwefelwasserstoff und bestimmte in den dabei erhaltenen Lösungen den Stickstoff. Durch Subtraction des Histidin- und Argininstickstoffs vom Gesamtstickstoff der Basenlösung hoffte man Aufschluss über die Quantität des Lysins erhalten zu können. Dass aber in solcher Weise die bei Zersetzung einer Eiweiss-substanz entstandenen Hexonbasen nicht genau bestimmt werden können, geht aus den inzwischen publicirten Untersuchungen Kossel's und Kutscher's hervor. Es kann daher auch nicht Wunder nehmen, dass O. Meyer in seinen Versuchen schwankende Resultate erhielt.

O. Meyer bestimmte in den bei Zersetzung seiner Eiweisspräparate mit Salzsäure verschiedener Concentration erhaltenen Lösungen auch das Ammoniak in bekannter Weise (durch Destillation mit Magnesia). Auch dabei erhielt er schwankende Resultate: 1) die nach 80stündigem Kochen mit verdünnter Säure entstandene Ammoniakmenge stimmte nicht gut mit derjenigen überein, die nach 10stündigem Kochen mit concentrirter Säure erhalten wurde.

**Vergleichung der aus dem Conglutin erhaltenen Ausbeute an Arginin mit der in den Keimpflanzen von *Lupinus luteus* sich findenden Argininquantität.**

Die Versuche, durch welche wir Aufschluss über die aus pflanzlichen Eiweisssubstanzen zu erhaltende Ausbeute an Hexonbasen zu gewinnen suchten, sind z. Th. durch die an Keimpflanzen gemachten Beobachtungen hervorgerufen worden.

1) Auch in den Versuchen Kossel's und Kutscher's zeigte sich eine beträchtliche Differenz in der Ammoniakmenge, als eine Eiweiss-substanz durch Säure verschiedener Stärke oder einerseits durch Kochen mit Schwefelsäure, andererseits durch Erhitzen mit Jodwasserstoffsäure zersetzt wurde. E. Hart (diese Zeitschrift, Bd. XXXIII, S. 347) erhielt bei Spaltung von Casein und Leim durch Säure unter Zusatz von NaCl mehr Ammoniak, als bei Abwesenheit dieses Salzes.

Nachdem nachgewiesen worden war,<sup>1)</sup> dass in den Keimpflanzen einiger Coniferenarten Arginin in relativ beträchtlicher Menge auftritt, führte Rongger die später von uns wiederholte Untersuchung über die Produkte aus, welche bei der Spaltung der aus Coniferensamen dargestellten Eiweisssubstanzen durch Salzsäure entstehen. Auch für die Auswahl der für unsere neueren Versuche verwendeten Eiweisspräparate ist die Rücksicht auf die an Keimpflanzen gemachten Erfahrungen bestimmend gewesen. Zu den in unserem Laboratorium früher untersuchten Keimpflanzen gehören ja auch diejenigen der Lupinen, der Erbse und des Kürbis.

Dass bei der gelben Lupine und bei der Rothtanne während des Keimungsvorgangs Arginin in grosser Quantität sich bildet, ist erklärlich aus der hohen Argininausbeute, die man bei Zersetzung der aus Lupinen- und Rothtannensamen dargestellten Eiweisssubstanzen durch Säuren erhält. Den bei der Spaltung pflanzlicher Eiweisssubstanzen durch Salzsäure von uns gemachten Erfahrungen entspricht es auch, dass in manchen Keimpflanzen, z. B. in denjenigen der Lupinen und der Erbse, neben Arginin auch Histidin und Lysin sich finden.<sup>2)</sup> Andererseits erhält man häufig aus zwei- bis dreiwöchentlichen Keimpflanzen, z. B. aus denjenigen des Kürbis, Arginin nur in kleiner Menge, obwohl die aus den bezüglichen Samen dargestellten Eiweisssubstanzen bei der Spaltung durch Salzsäure sehr viel Arginin liefern. Diese Erscheinung erklärt sich, wenn man annimmt, dass in den betreffenden Pflänzchen das Arginin dem Verbrauch unterliegt und sich in Folge davon nicht anzuhäufen vermag, dass es dagegen in anderen Keimpflanzen, z. B. in denjenigen der gelben Lupine, entweder dem Verbrauch ganz entzogen ist, oder doch wenigstens nur sehr langsam aufgezehrt wird.<sup>3)</sup>

1) E. Schulze. Ueber die beim Umsatz der Proteinstoffe in den Keimpflanzen einiger Coniferenarten entstehenden Stickstoffverbindungen, diese Zeitschrift, Bd. XXII, S. 437.

2) Diese Zeitschrift, Bd. XXX, S. 241.

3) Man vgl. E. Schulze's Abhandlungen über den Umsatz der Eiweissstoffe in der lebenden Pflanze, diese Zeitschrift, Bd. XXIV und XXX.



Im Hinblick auf letztere Annahme erschien es wünschenswerth, die bei der Spaltung des Conglutins durch Salzsäure erhaltene Argininausbeute mit der in den älteren Keimpflanzen der gelben Lupine sich findenden Argininquantität zu vergleichen. Denn jene Annahme basirt ja auf der Voraussetzung, dass man in diesen Keimpflanzen nicht mehr Arginin vorfindet, als aus dem in denselben zum Zerfall gelangten Conglutin sich gebildet haben kann. Giesetzt, dass der Argininhalt der Keimpflanzen noch grösser wäre, so müsste man sich denken, dass diese Base auch synthetisch in den Pflänzchen gebildet werden könne.

Für die Darstellung des Arginins aus den etiolirten Keimpflanzen von *Lupinus luteus* haben wir früher fast immer nur die von den Pflänzchen abgeschnittenen Cotyledonen verwendet, da diese das Arginin fast allein enthalten. Sie wurden vor der Verarbeitung auf Arginin mit heissem Weingeist behandelt: in einem Falle wurden Cotyledonen verwendet, welche nach der Abtrennung von den Pflänzchen in absoluten Alkohol geworfen und nach längerem Verweilen unter letzterem bei gewöhnlicher Temperatur über concentrirter Schwefelsäure getrocknet worden waren. Bei Darstellung des Arginins aus diesem Material ist die Ausbeute wiederholt bestimmt worden: es zeigte sich, dass 100 Theile der Trockensubstanz der Cotyledonen von 14—15tägigen etiolirten Keimpflanzen ungefähr 8 Theile Argininnitrat lieferten. Freilich bezieht sich diese Angabe auf das rohe Nitrat, welches ohne Zweifel noch Nebenbestandtheile einschloss. Da aber bei Darstellung desselben nach der von uns damals angewendeten Methode sicherlich Verluste stattfanden, so wird man doch für den Argininhalt der Cotyledonen kaum zu hohe Zahlen erhalten, wenn man denselben auf Grund jener Angabe berechnet. Die Rechnung ergibt dann, dass 100 Theile der Cotyledonentrockensubstanz ungefähr 5,68 Theile Arginin enthalten: unter Berücksichtigung des Mengenverhältnisses der Cotyledonen zu den übrigen Pflanzentheilen berechnet sich für die ganzen Keimpflanzen ein Argininhalt von ungefähr 2,5%.

Bei Berechnung dieser Zahlen ist angenommen worden,

dass erstens die Cotyledonen an Weingeist kein Arginin abgeben und dass zweitens diese Base sich nur in den Cotyledonen, nicht in den übrigen Theilen der Keimpflanzen vorfindet. Beide Voraussetzungen sind wahrscheinlich nicht genau zutreffend: die obigen Gehaltszahlen können also etwas zu niedrig sein. Wir hielten es daher für erforderlich, eine neue Bestimmung auszuführen und für dieselbe die ganzen, nicht zuvor mit Weingeist extrahirten Keimpflanzen zu verwenden. Zur Darstellung der Keimpflanzen verwendeten wir das Muster der Samen von *Lupinus luteus*, welches auch zur Herstellung des von uns untersuchten Conglutinpräparats A gedient hatte. Die in Sand gezogenen und nach einer Vegetationsdauer von 12 Tagen geernteten etiolirten Pflänzchen wurden getrocknet, sodann fein zerrieben und mit warmem Wasser extrahirt. Den vom Rückstand getrennten Auszug versetzten wir zuerst mit Gerbsäure, dann mit Bleiessig; die durch diese Reagentien erzeugten Niederschläge wurden durch Filtration entfernt. Das Filtrat vom Bleiessigniederschlag wurde mit Schwefelsäure stark angesäuert und, nach Entfernung des ausgefallenen Bleisulfats, mit Phosphorwolframsäure versetzt, so lange dieses Reagens sofort einen Niederschlag erzeugte. Der mit Hülfe einer Nutsche vom Filtrat getrennte Niederschlag wurde mit 5<sup>o</sup>iger Schwefelsäure ausgewaschen, dann in bekannter Weise mit Baryumhydroxyd zerlegt; die Flüssigkeit behandelten wir ganz ebenso, wie es oben für die Versuche mit den Eiweisspräparaten angegeben ist. Die bei Zerlegung des Niederschlags von Silberarginin mittels Schwefelwasserstoff erhaltene Lösung lieferte, als sie mit Salpetersäure genau neutralisirt und sodann im Wasserbade eingengt wurde, einen Syrup, der sich bald in eine feste Krystallmasse verwandelte. Wir lösten dieses Produkt in wenig heissem Wasser, sättigten die Lösung mit Kupferhydroxyd und liessen aus der filtrirten Flüssigkeit das Argininkupfernitrat auskrystallisiren. Letzteres wurde nach Entfernung der Mutterlauge über Chlorcalcium getrocknet und sodann gewogen. Die in dieser Weise von uns ausgeführten beiden Versuche gaben folgende Resultate:



a) 80 g lufttrockene Keimpflanzen = 73,6 g Trockensubstanz gaben  
2,88 g Argininkupfernitrat.

b) 80 g lufttrockene Keimpflanzen = 73,6 g Trockensubstanz gaben  
3,06 g Argininkupfernitrat.

Demnach haben 100 g Keimpflanzentrockensubstanz im  
Mittel 4,04 g Argininkupfernitrat = 2,38 g Arginin geliefert.

Mit dieser Ausbeute ist nun die Argininquantität zu ver-  
gleichen, die aus den während der Keimung zerfallenen Eiweiss-  
substanzen entstehen konnte, wenn letztere sich in der gleichen  
Weise zersetzten, wie dies beim Kochen des Conglutins mit  
Salzsäure geschah. Die Rechnung, die wir zu diesem Zweck  
ausgeführt haben, basirt auf folgenden Daten: Der Stickstoff-  
gehalt der Keimpflanzen betrug 10,99%; auf Proteinstoffe  
fielen nach den nach Stutzer's Methode ausgeführten Be-  
stimmungen 4,02% Stickstoff.<sup>1)</sup> Daraus würde man zu folgern  
haben, dass 6,97% Stickstoff den nichtproteinartigen Ver-  
bindungen angehörten. Die Stickstoffmenge, welche den  
während des Keimungsvorganges aus den Eiweissstoffen ent-  
standenen Produkten angehörte, muss etwas geringer gewesen  
sein, weil die ungekeimten Lupinensamen schon nichtprotein-  
artige Stickstoffverbindungen in geringer Menge enthalten.  
Nehmen wir an, dass solchen Verbindungen im vorliegenden  
Falle 0,5% Stickstoff angehörte,<sup>2)</sup> so würden 6,47% Stickstoff  
auf Eiweisszersetzungsprodukte fallen (alle diese Zahlen bedeuten

1) Analytische Belege: A. Gesamtstickstoff: Angewendet wurde 1 g lufttrockne Substanz = 0,9198 g Trockensubstanz. Erhalten wurden a) 0,10072 g Stickstoff, b) 0,1016 g Stickstoff, im Mittel also 0,10116 g = 10,99% N.

B. Stickstoff in Proteinstoffen: Angewendet wurde 1 g luft-  
trockne Substanz = 0,9198 g Trockensubstanz. Erhalten wurden a)  
0,037643 g Stickstoff, b) 0,036283 g Stickstoff, im Mittel also 0,03696 g  
= 4,02% N.

2) Diese Zahl entspricht ungefähr den Resultaten früher von uns  
ausgeführter Bestimmungen. Doch ist zu bemerken, dass man keine  
Methode besitzt, um die in den Samen auf nichtproteinartige Verbindungen  
fallende Stickstoffmenge genau zu bestimmen. Auch die Zahl, die wir  
oben für den Gehalt der Keimpflanzen an «Proteinstickstoff» angeben,  
kann aus dem gleichen Grunde nur als eine annähernd richtige an-  
gesehen werden.

Procenle der Keimpflanzentrockensubstanz). Da nun die Keimpflanzentrockensubstanz 0,767% Stickstoff in Form von Arginin enthielt, denn sie lieferte 2,38% Arginin à 32,22% Stickstoff, so ergibt sich, dass vom Stickstoff der Eiweisszersetzungsprodukte 11,8% auf Arginin fielen. Andererseits wurden bei der Zersetzung des Conglutins durch Salzsäure 13,5% des Conglutinstickstoffs in dem bei der Spaltung entstandenen Arginin wiedergefunden, berechnet nach der aus dem Conglutin erhaltenen Ausbeute an Arginin.

Aus den im Vorigen gemachten Mittheilungen ist zu ersehen, dass die in den Keimpflanzen von uns vorgefundene Argininmenge etwas kleiner ist, als diejenige, welche aus den während des Keimungsvorganges zerfallenen Eiweissstoffen sich dann bilden konnte, wenn diese Eiweissstoffe ebensoviel Arginin lieferten, wie wir aus dem Conglutin bei der Spaltung durch Salzsäure erhielten. Ob die letztere Voraussetzung eine zutreffende ist, kann freilich nicht mit Sicherheit gesagt werden; denn während der Keimung zerfallen ja die Eiweissstoffe nicht durch Einwirkung einer Säure, sondern durch die Wirkung eines proteolytischen Enzyms.<sup>1)</sup> Jedenfalls aber braucht man nach dem, was wir zur Zeit wissen, nicht anzunehmen, dass ein Theil des in diesen Keimpflanzen sich findenden Arginins auf synthetischem Wege entstanden ist; denn die während der Keimung zerfallene Quantität von Eiweissstoffen ist so gross, dass sie die in den Keimpflanzen vorgefundene Argininmenge zu liefern vermochte. Dabei ist noch zu beachten, dass vielleicht mehr Eiweisssubstanz während der Keimung zerfallen ist, als aus den oben angegebenen Zahlen sich berechnet. Denn man hat anzunehmen, dass aus den Zerfallsprodukten, die in den Cotyledonen aus den Reserveeiweissstoffen entstanden sind, in den wachsenden Theilen der Keimpflanzen Eiweissstoffe regenerirt werden; in je stärkerem Maasse aber diese Neubildung von Eiweissstoffen erfolgt, um so mehr wird die in den Keimpflanzen zeitweilig sich vorfindende Quantität

<sup>1)</sup> Auch ist möglich, dass die Lupinensamen neben Conglutin noch andere, während des Keimungsvorganges sich zersetzende, aber nicht die gleiche Argininmenge liefernde Eiweisssubstanzen enthalten.



von Eiweisszersetzungsprodukten hinter derjenigen zurückbleiben, die während des Keimungsvorganges im Ganzen entstanden ist.

Da die in den Keimpflanzen von *Lupinus luteus* sich vorfindende Argininmenge nicht viel hinter derjenigen zurückbleibt, die nach unserer Rechnung aus den während des Keimungsvorganges zerfallenen Eiweisssubstanzen sich zu bilden vermag, so wird man annehmen dürfen, dass in den genannten Pflänzchen jene Base aus einem zur Zeit noch unbekanntem Grunde entweder dem Verbrauch ganz entzogen ist oder doch wenigstens nur sehr langsam aufgezehrt wird. Aus früher gemachten Mittheilungen ist zu ersehen, dass in den etiolirten Keimpflanzen von *Lupinus albus*, *Lupinus angustifolius* und *Vicia sativa* das Arginin sich ganz anders verhält; es verschwindet hier mit dem Fortschreiten des Pflanzenwachsthums.

Nachtrag. Im Folgenden theilen wir noch die Resultate von zwei Silberbestimmungen im Histidinsilber mit, die noch zur Identificirung des aus Edestin erhaltenen Histidins ausgeführt wurden:

1. 0.3280 g Substanz gaben 0.1835 g = 55.95% Ag.
2. 0.1520                      0.0849 > = 55.85 >     >

Auch erwähnen wir hier noch, dass das Histidinchlorid vor der Analyse (vgl. oben) einmal aus Wasser umkrystallisirt wurde, ebenso das Argininkupfernitrat. Dem bei der Ausbeutebestimmung zur Wägung gebrachten Argininkupfernitrat war eine ganz kleine Menge von Kupferoxydul entstanden durch Reduction beim Einengen der Salzlösung, beigemischt; dasselbe wurde abfiltrirt, nach Ueberführung in Kupferoxyd gewogen und in Abzug gebracht.