

## Ueber Phosphorsäureester von Eieralbumin.

Von  
Dr. Heinrich Beechhold.

Der Redaction zugegangen am 5. November 1901.

Es war mein Bestreben, einen Orthophosphorsäurerest in das Eieralbumin einzuführen; es schien mir dies von um so grösserem Interesse, als man bei den früheren Versuchen zur Darstellung von Verbindungen des Eieralbumins mit Phosphorsäure je nach der Concentration wechselnde, ziemlich hohe Gehalte von Phosphorsäure erhalten hatte.

Ich wandte ein ähnliches Verfahren an, wie es Schrötter zur Benzoylirung von Albumosen benutzt hatte,<sup>1)</sup> und habe auf diese Weise Verbindungen von constanter Zusammensetzung erhalten, die wohl als Orthophosphorsäureester des Eieralbumins anzusehen sind.

Zur Verwendung kam krystallisirtes Eieralbumin<sup>2)</sup> (Hofmeister) und Phosphoroxychlorid.

Trotzdem die Litteraturangaben übereinstimmen, machte ich der Sicherheit halber Versuche, ob unter irgend welchen Umständen bei der Umsetzung zwischen Wasser und Phosphoroxychlorid Spuren von Metaphosphorsäure entstehen, die Eiweisslösung fällen könnten; dies war jedoch nicht der Fall.

Als Lösungsmittel wurden für das Eiweiss Natronlauge

1) Litteratur vgl. bei Schrötter, Berichte 22, 1889, S. 1950.

2) Es fiel mir auf, dass wässrige Lösungen von reinem krystallisirtem Eieralbumin sich wochenlang offen bewahren lassen, während solche mit nur Spuren von Verunreinigungen sehr rasch Schimmelpflanzungen ansetzen.

und basisches Natriumphosphat benutzt. Bei Verwendung von Sodalösung erweist sich die Kohlensäureentwicklung als unbequem.

Bei der Verwendung von Natronlauge entstehen andere Produkte als bei der von basischem Natriumphosphat. Es ist möglich, dass durch die Erwärmung, welche beim Zugeben von  $\text{POCl}_3$  zu der  $\text{NaOH}$ -Lösung eintritt, eine Umlagerung oder Spaltung erfolgt, die eine grössere Phosphorsäureaufnahme ermöglicht. Es ist auch denkbar, dass dies eine Folge der Abspaltung von Schwefel ist, deren Ursache wohl auch in der Erwärmung liegt: beim Ansäuern einer mit  $\text{POCl}_3$  behandelten Eiweisslösung in  $\text{NaOH}$  ist nämlich Schwefelwasserstoffentwicklung nachweisbar.

#### A) Einwirkung von $\text{POCl}_3$ auf Eialbumin, in Natronlauge gelöst.

Eine mit etwas Natronlauge versetzte Eialbuminlösung wird mit tropfenweise zugegebenem  $\text{POCl}_3$  geschüttelt, nach Ausscheidung eines Coagulums dieses wieder durch Zusatz von Natronlauge gelöst und das so lange wiederholt, bis eine dem Gewicht des Eiweisses etwa gleiche Menge  $\text{POCl}_3$  verbraucht war: die Lösung dann angesäuert (Salzsäure oder Essigsäure) und der Niederschlag abfiltriert.

a) Filtrat gibt beim Erhitzen ein Coagulum, das sich nach vollständigem Auswaschen als P-haltig erweist.

b) Filtrerrückstand. Erst mit kaltem Wasser ausgewaschen, um nicht Reste von a) zu coagulieren, dann mit heissem Wasser, bis mit Silbernitrat keine Reaction mehr nachweisbar. Erweist sich ebenfalls als P-haltig.

c) Filtrerrückstand b) noch 4 mal in der oben beschriebenen Weise mit  $\text{POCl}_3$  behandelt und das durch Säure ausgefällte Coagulum so lange mit Wasser ausgekocht, bis in dem Washwasser, von dem eine grössere Menge eingeeengt wurde, mit molybdänsaurem Ammon keine Färbung mehr sichtbar wurde.

P-Bestimmung:

0.2724 g Substanz ergaben 0.0114 g  $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$ .

P-Gehalt 1.17 %.

Filterrückstand c) noch 3 mal mit  $\text{POCl}_3$  behandelt und das ausgefällte Coagulum in beschriebener Weise ausgewaschen.

P-Bestimmung:

0,1983 g Substanz gaben 0,0097 g  $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$ .

P-Gehalt 1,37 %.

Der höhere P-Gehalt bei der zweiten Analyse dürfte wohl innerhalb der Fehlergrenzen liegen und nicht als eine Mehraufnahme von P zu betrachten sein.

Eine Probe von c) wurde in künstlichem Magensaft eine Stunde lang bei  $45^\circ$  digerirt. Es blieben nur unbedeutende Flocken unverdaut zurück. Der verdaute Theil erweist sich als P-haltig.

#### B) Einwirkung von $\text{POCl}_3$ auf Eieralbumin, in $\text{Na}_3\text{PO}_4$ gelöst.

Das Eieralbumin wurde in einer halbcconcentrirten Lösung von  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  gelöst, ebenso wie bei A) mit  $\text{POCl}_3$  geschüttelt und bei Ausscheidung eines Coagulums dieses wieder in so viel NaOH gelöst, dass kein freies NaOH vorhanden ist, also auf je 1 g verbrauchtes  $\text{POCl}_3$  1,56 g NaOH. Beim Erwärmen von Eiweiss mit  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  wird ebenfalls Schwefel abgespalten. Der Unterschied ist nur der, dass eine NaOH-Lösung bei Zusatz von  $\text{POCl}_3$  sich viel stärker erhitzt, als eine  $\text{Na}_3\text{PO}_4$ -Lösung.

Nachdem auf 20 g Eieralbumin 20 g  $\text{POCl}_3$  verbraucht waren, wurde der Inhalt der Flasche mit Essigsäure angesäuert und die gesammte Masse (Coagulum und Lösung) in Pergamentschläuchen so lange in fließendem Wasser dialysirt,<sup>1)</sup> bis der Schlauch, 24 Stunden lang in destillirtes Wasser gestellt, keine Phosphorsäure-Reaction mehr gibt, d. h. das destillirte

<sup>1)</sup> Die Schläuche müssen vorher in Dampf erhitzt sein und dürfen keine Luft enthalten, da sich sonst bei der langen Dialyse Mikroorganismen ansetzen. Besonders ein blauer Mikroorganismus (wohl *Bacillus cyanogenus*) vermehrt sich massenhaft. Er gedeiht vorzüglich auf Casein, fast ebenso gut auf meinem Phosphorsäure-Eieralbumin, gar nicht auf Eieralbumin. Es wäre von Interesse, ob die Bindungsweise der Phosphorsäure von Einfluss auf das Gedeihen des Mikroorganismus ist.

Wasser auf circa ein Fünftel eingeeengt mit molybdänsaurem Ammon keine Färbung mehr gibt. Das ist nach 8 bis 9 mal 24 Stunden der Fall.

Das Coagulum wurde durch Filtration von der Flüssigkeit getrennt und ersteres mit Wasser so lange ausgewaschen, bis das Filtrat keine organische Substanz mehr enthält.

a<sub>1</sub>) Filtrat.

P-Bestimmung:

0,1870 g Substanz gaben 0,0082 g  $Mg_2P_2O_7$ .

P-Gehalt 1,23 %.

Die Lösung verhält sich wie a<sub>2</sub>).

b<sub>1</sub>) Coagulum.

P-Bestimmung:

0,8709 g Substanz gaben 0,0197 g  $Mg_2P_2O_7$ .

P-Gehalt 0,63 %.

Der Rest nochmals in der beschriebenen Weise mit 20 g  $POCl_3$  behandelt, der ganze Kolbeninhalt in der beschriebenen Weise dialysirt und die Lösung vom Coagulum abfiltrirt.

a<sub>2</sub>) Filtrat.

P-Bestimmung:

0,2582 g Substanz gaben 0,0112 g  $Mg_2P_2O_7$ .

P-Gehalt 1,21 %.

Eigenschaften der Lösung:

Reagirt schwach sauer.

Diffundirt nicht durch Pergament.

Coagulirt nicht beim Kochen (wie Albumosen).

Bei Zusatz von verdünnter Salzsäure scheidet sich ein schwacher Niederschlag aus, beim Erhitzen sofort starke Coagulation.

Bei Zusatz von Alkohol coagulirt die kalte Lösung (im Gegensatz zum Worms'schen Albuminphosphat).<sup>1)</sup>

Nach 12stündiger Einwirkung von starkem Alkohol wird das Coagulum in Wasser nicht mehr gelöst (wie Eiweiss).

1. Journ. russ. phys.-chem. Ges., Bd. 29, S. 680—91. Chem. Centralbl. 1898, Bd. 1, S. 893.

Alkali, bis zur Neutralisirung zugesetzt, gibt keine Fällung (im Gegensatz zum Worms'schen Albuminphosphat).<sup>1)</sup>

Wird durch concentrirte Ammonsulfatlösung gefällt: Fällung löst sich beim Verdünnen mit etwa dem gleichen Volumen Wasser und wird beim Kochen dieser Lösung coagulirt. Dieses Coagulum löst sich nicht in Wasser.

Concentrirte Kochsalzlösung gibt kalt keine Fällung, wohl aber in der Hitze.

Bei Zusatz eines Tropfens verdünnter Salpetersäure keine Fällung: diese tritt erst bei schwachem Erwärmen auf. Beim Kochen findet Lösung statt: beim Abkühlen tritt wieder Niederschlag auf. Dies kann man beliebig oft wiederholen (wie bei Albumosen). Indessen findet selbst bei Zusatz von viel concentrirter Salpetersäure keine Lösung statt (ähnlich den Eiweisskörpern). Coagulirt nicht beim Kochen mit Essigsäure.

Kochsalzlösung + Essigsäure geben eine Fällung, die nach dem Kochen, auch bei Zusatz von Wasser, nicht verschwindet (wie Eiweiss).

Beim Kochen mit alkalischer Bleiacetatlösung schwache Gelbfärbung. Es dürfte somit auch noch unoxydirter Schwefel vorhanden sein, trotzdem viele Momente in der Herstellung für eine Oxydation sprechen.<sup>2)</sup>

Seinem ganzen Verhalten nach steht der Körper zwischen den Albuminen und den primären Albumosen: wenn er manche Eigenschaften besitzt, die keiner der beider Körperklassen zukommt, so ist dies nicht verwunderlich: wir haben ja eine Phosphorsäureverbindung resp. einen Ester vor uns.

#### b<sub>2</sub>) Coagulum.

P-Bestimmung:

0.7733 g Substanz gaben 0.0201 g Mg<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>.

P-Gehalt 0.72<sup>o</sup> o.

Da die Differenz im P-Gehalt gegen b<sub>1</sub>) innerhalb der Fehlergrenze liegt, so darf man wohl annehmen, dass bereits in b<sub>1</sub>) das Maximum der Phosphorsäureeinführung erreicht war.

<sup>1)</sup> Siehe Anmerkung auf Seite 125.

<sup>2)</sup> Vergl. Harnack, Berichte 31, S. 1939.

— Der P-Gehalt beträgt (innerhalb der Fehlergrenzen) das Doppelte von dem des Filtrats. — Es mag dahin gestellt bleiben, ob man es hier zu thun hat 1. mit einem Albumin, das doppelt so viel Moleküle Phosphorsäure enthält wie die unlösliche Verbindung, oder 2. die in einem Phosphorsäuremolekül halb so viel Albuminmoleküle aufgenommen hat, oder 3. die bereits den Ester eines Spaltungsprodukts des Albumins darstellt.

#### Eigenschaften des Coagulums:

Enthält auffallender Weise kein Chlor. — Röthet feuchtes Lackmuspapier (wie Casein). — 7 g. in künstlichem Magensaft bei 40—50° C. 3 Stunden lang digerirt, werden bis auf wenige Flocken gelöst. Mit verdünnter Salpetersäure übergossen und 10 Minuten stehen gelassen, entzieht die Salpetersäure Orthophosphorsäure. — Da ein Auszug von Casein mit verdünnter Salpetersäure die entsprechenden Reactionen der Metaphosphorsäure gibt, so kann man an gewisse Analogien mit Casein denken, dessen P-Gehalt nach den verschiedenen Autoren zwischen 0,7 und 0,85% schwankt.

Ich möchte nicht unerwähnt lassen, dass nach vollkommener Erschöpfung meiner Phosphorsäureeweißverbindung durch verdünnte kalte Salpetersäure und nach tagelangem Auswaschen mit Wasser, wenn dies längst nicht mehr sauer reagirt, das Coagulum noch immer rothe Flecken auf Lackmuspapier gibt und eine sauer reagirende Kohle hinterlässt, aus der sich keine Spur Phosphorsäure mehr ausziehen lässt. Diese Salpetersäure wird offenbar ebenso festgehalten, wie die Phosphorsäure.