

Hydrolyse des Zeins durch Salzsäure.

Von
Leo Langstein.

(Aus dem I. chemischen Institut der Universität Berlin.)

Der Redaction zugegangen am 10. März 1903.

Sowohl durch physikalische Eigenschaften als auch durch chemische Zusammensetzung nimmt das Zein, ein aus dem Maiskorn gewonnener Eiweisskörper, eine Sonderstellung unter den Proteinsubstanzen ein. Seine Löslichkeit in Alkohol beziehungsweise Unlöslichkeit in Wasser lässt es gewissen Albumosen verwandter erscheinen als den genuinen Eiweisskörpern, das Fehlen des Lysins unter seinen Spaltungsproducten, das Kossel und Kutscher festgestellt haben, ermöglicht seine genauere chemische Charakterisirung. Kossel und Kutscher¹⁾ sehen in ihm den Repräsentanten einer eigenartigen, scharf umschriebenen Gruppe von im Pflanzenreich sehr verbreiteten Eiweissstoffen. Aus jüngster Zeit liegt eine Arbeit von Szumowski²⁾ über das Verhalten des Zeins im thierischen Organismus vor, in der eine Reihe biologisch interessanter Daten über diesen Eiweissstoff mitgetheilt werden. Untersuchungen hingegen, welche sich mit dem Studium der am Aufbau desselben beteiligten Aminosäuren befassen, sind bisher nicht angestellt worden. Aus diesem Grunde erschien es angezeigt, die totale Hydrolyse des Zeins mit der neuen, von E. Fischer ausgearbeiteten Methode für die Isolirung der Aminosäuren, der fractionirten Destillation ihrer Ester vorzunehmen. Durch diese konnte gleichzeitig ein Anhaltspunkt dafür gewonnen werden, ob tiefgreifende Unterschiede in der Constitution thierischer und pflanzlicher Eiweissstoffe bestehen. Es gelang mit Hilfe der Estermethode, Alanin, Leucin, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Phenylalanin und

1) Diese Zeitschr., Bd. XXXI, S. 165, 1900.

2) Diese Zeitschr., Bd. XXXVI, 1902.

Pyrrolidincarbonensäure zu isoliren und ausserdem die Anwesenheit von Aminovaleriansäure wahrscheinlich zu machen. Glycocoll konnte nicht gefunden werden.

Da Kossel und Kutscher Arginin und Histidin nachgewiesen haben, ferner der positive Ausfall der Millon'schen und Molisch'schen Reaction auf die Anwesenheit von Tyrosin und einer Kohlehydratgruppe schliessen lassen, ist erwiesen, dass dieses pflanzliche Eiweissmolekül nicht weniger complicirt zusammengesetzt ist, als die bisher nach der neuen Methode hydrolysirten thierischen Eiweisskörper.

Experimenteller Theil.

Für die Hydrolyse wurde ein Kilogramm feuchten Zeins, dessen Herstellung nach Kossels' Vorschrift die Höchster Farbwerke übernommen hatten, verwendet. Der Wassergehalt der teigigen gelbbraunen Masse betrug 51,3 Procent. Da im Verlauf der Untersuchung 16 g ätherlöslicher Substanz isolirt wurden, entspricht obige Menge maximal 471 g des trockenen Eiweisskörpers.

Die feuchte Masse löste sich binnen einer Stunde in 1500 g Salzsäure vom spec. Gewicht 1,19 beim Erwärmen auf dem Wasserbade. Nach achtstündigem Kochen am Rückflusskühler wurde die Lösung von den ausgeschiedenen Fettsäuren durch Filtration getrennt und im Vacuum stark concentrirt. Nach zweiwöchentlichem Stehen bei gewöhnlicher Temperatur hatte sich ein schwerer braun gefärbter Krystallbrei abgesetzt. Dieser wurde abgesaugt, mit eiskaltem, absolutem Alkohol gewaschen und zur Entfernung anhaftenden Fettes im Soxhlet'schen Apparat 12 Stunden lang mit Aether extrahirt. Hierauf wurde er aus heissem Wasser unter Zusatz von Knochenkohle umkrystallisirt. Die Menge der spießförmige lange Nadeln darstellenden Krystalle betrug 69 g. Der Schmelzpunkt war 196° (uncorr.).

0,2021 g Substanz gaben 0,2428 g CO_2 und 0,0997 g H_2O .

0,1969 „ „ „ 12,700 cem N bei 17° und 763,5 mm

$\text{C}_5\text{H}_{10}\text{NO}_4\text{Cl}$ berechnet: 32,76% C, 5,47% H, 7,5% N

gefunden: 32,69% C, 5,45% H, 7,6% N.

Es lag demnach Glutaminsäurehydrochlorat vor.

Die Veresterung der in der Lösung verbliebenen Aminosäuren und die Isolirung der Ester erfolgte hierauf in der üblichen Weise. Die fractionirte Destillation der Ester wurde zuerst bei einem Druck von 11 mm aus dem Wasserbade, hierauf bei einem Druck von 0,3 mm aus dem Wasserbade resp. Oelbade vorgenommen.

I.	Fraction bis 45° (Temperatur d. Dämpfe gem.)	bei 11 mm Druck	11 g
II.	100° (» des Wasserbades)	» 11 » »	9
III.	» 100° (» » »)	» 0,3 » »	120
IV.	100 bis 135° (» » Oelbades)	» 0,3 » »	40
V.	135 » 165° (» » »)	» 0,3 » »	30

Bei der Destillation blieb ein braunes, in der Kälte erstarrendes Oel im Gewicht von 200 g zurück.

Die Verseifung der drei ersten Fractionen wurde nach dem negativen Ausfall der Prüfung auf Glycocoll durch Kochen mit Wasser, die der beiden letzten durch Erwärmen mit einer concentrirten Lösung von Barytwasser bewirkt.

Fraction 1 (bis 45°).

In dieser fand sich Alkohol und Aether und als Hauptbestandtheil der Aminosäuren Alanin, von dem ungefähr 2 g in analysenreinem Zustand isolirt wurden. Schmelzpunkt 297° (uncorr.).

0,1919 g Substanz gaben 0,2840 g CO₂ und 0,1364 g H₂O

C₃H₇NO₂ berechnet: 40,45% C und 7,87% H

gefunden: 40,36% C » 7,89% H.

Fraction 2 (bis 100° des Wasserbades).

Nach der Verseifung mit Wasser wurden 3 g reinen Leucins und 0,4 g Alanin durch fractionirte Krystallisation isolirt.

Fraction 3 (bis 100° des Oelbades).

Nach der Verseifung durch siebenstündiges Kochen mit der zehnfachen Menge Wasser wurden aus der wässrigen Lösung folgende Krystallisationen isolirt.

1.	beim Abkühlen	22 g
2.	nach Eindampfen	16 »
3.	» »	11 »
4.	» »	8 »
5.	» »	10 »

Das durch Ammoniak in Freiheit gesetzte, aus heissem Wasser umkrystallisirte Phenylalanin zersetzte sich bei 283° (uncorr.) und gab bei der Analyse folgende Zahlen:

0.1811 g Subst. gaben 0.4342 g CO₂ und 0.1065 g H₂O

C₉H₁₁O₂N berechnet: 65.54% C und 6.66% H

gefunden: 65.38% C = 6.53% H.

Die nach Abtrennung des Phenylalaninesters zurückbleibenden wässerigen Lösungen wurden nach der Verseifung mit Barythydrat auf Asparaginsäure und Glutaminsäure verarbeitet. Es wurden 2 g asparaginsäuren Baryts und 4.6 g reiner Asparaginsäure isolirt, während Glutaminsäure nicht in zur Analyse ausreichender Menge erhalten werden konnte.

Die Analyse der Asparaginsäure ergab folgende Werthe:

0.1966 g Subst. gaben 0.2590 g CO₂ und 0.0945 g H₂O

C₄H₇NO₄ berechnet: 36.09% C und 5.26% H

gefunden: 35.93% C = 5.34% H.

Die Gesamtmenge der isolirten Monoaminosäuren betrug, wenn wir von der nicht genügend identificirten Amino-valeriansäure absehen, für 471 g trockenen Zeins

	in Gramm	in Procent
Alanin	2.4	0.5
Leucin	53	11.25
α-Pyrrolidincarbonsäure	7	1.49
Phenylalanin	32.8	6.96
Glutaminsäure	55.5	11.78
Asparaginsäure	4.9	1.04

in Summa: 155.6 Gramm 33.02 Procent.

Die gefundenen Werte stellen selbstredend nur Minimalzahlen dar. Gerade im Hinblick darauf erscheint die Menge der Glutaminsäure und des Phenylalanins besonders hoch. Es ist noch kein Eiweisskörper bekannt, der einen grösseren Gehalt an Phenylalanin aufweist, und künftige Untersuchungen werden lehren müssen, ob wir es hier mit einer pflanzlichen Eiweisskörpern allgemein zukommenden Eigenschaft zu thun haben.

Diese Untersuchung soll auf die Kohlehydratgruppe und die Oxyaminosäuren ausgedehnt werden, wobei auch die Menge des Tyrosins und Cystins berücksichtigt werden wird, auf die in vorliegender Untersuchung nicht eingegangen werden konnte.