

Untersuchung der Eier von *Acanthias vulgaris*, Risso.

Von
Dr. Emil Zdarek.

(Aus dem Universitätslaboratorium für angewandte medizinische Chemie in Wien.)
(Der Redaktion zugegangen am 20. April 1904.)

Das zu dieser Untersuchung verwendete Material, meist Uteruseier, stammte aus der Adria. Die Eier wurden an Ort und Stelle aus den Eihüllen ausgequetscht, zur Konservierung mit Alkohol versetzt, dann sofort versandt, sodaß sie schon am nächsten Tage ins Laboratorium gelangten. So behandelt bildeten sie eine dickliche, schmierige, weiße Masse mit einem Stich ins Gelbgraue und rochen, wenn man sie an der Luft stehen ließ, intensiv nach Ammoniak: feuchtes rotes Lakmuspapier darüber gehalten, wurde in kurzer Zeit blau. Ungefähr die Hälfte der Masse bestand aus Fett: eine Probe desselben, im Silbertiegel unter Zusatz von reinem Ätznatron und etwas Salpeter verascht, gab nach dem Lösen der Schmelze im Wasser schwache Phosphorsäurereaktion.

Die allgemeine Untersuchung ergab für 100 g:

Trockenrückstand (bei 110° getrocknet)	47,32 g
Asche wasserlöslich (für 100 g Trockenrückstand)	2,071 »
davon K_2O	0,332 » = 16,05 %
Na_2O	0,248 » = 11,99 %
P_2O_5	1,436 » = 69,35 %
H_2O entsprechend dem überschüssigen P_2O_5	0,047 » = 2,25 %
Asche aus den Analysen berechnet	2,063 » = 99,66 %
wasserunlöslich (für 100 g Trockenrückstand)	0,446 »

Die wasserunlösliche Asche bestand aus Phosphorsäure, Calcium und Magnesium: sowohl diese als die wasserlösliche Asche war beim Erhitzen glasartig zusammengeschmolzen. Zur quantitativen Bestimmung von Chlor und Schwefel wurde eine neue Probe mit reinem Ätznatron und etwas Salpeter unter den nötigen Vorsichtsmaßregeln verascht. In dieser Probe wurden für 100 g Trockenrückstand gefunden:

Cl	0.679 g	
SO ₃	0.590	> entsprechend
S	0.236	

Um die Eiweißkörper zu isolieren, wurde die Masse zunächst mit Äther erschöpft, wobei sie aufquoll: nach dem Abdunsten des anhaftenden Äthers war der trockene Rückstand leicht zerreiblich, er wurde durch ein Sieb gepreßt. Ein Teil wurde noch mit Alkohol in der Kälte ausgezogen, der alkoholische Auszug wurde eingedampft, der Rückstand neuerdings mit warmem Alkohol aufgenommen und nach dem Filtrieren im Eiskasten stehen gelassen. Es fiel eine geringe Menge eines feinen, weißen Pulvers heraus, das sehr reich an Phosphor war, und außerdem bis zu 2 mm lange Kristallnadeln, die in Chloroform unlöslich, in Wasser löslich und frei von Phosphor waren. Die Menge dieser Substanzen war jedoch viel zu gering, um sie näher charakterisieren zu können. Die Hauptmenge des entfetteten Untersuchungsmateriales wurde mit Wasser, dem bei den späteren Portionen ein wenig Kochsalzlösung hinzugefügt wurde, solange ausgezogen, als noch etwas in Lösung ging, es wurde koliert und abgepreßt, die Flüssigkeit filtriert, das etwas opalisierende gelblich gefärbte Filtrat wurde mit Essigsäure im geringen Überschuß gefällt. Die Fällung am nächsten Tage filtriert und mit Wasser, dem ein paar Tropfen verdünnte Essigsäure hinzugefügt wurden, dann mit Alkohol und Äther gewaschen: sie erwies sich nach dem Veraschen und Schmelzen mit Salpeter als phosphorsäurehaltig. Die Ausbeute war jedoch sehr gering, sie betrug nicht einmal ein halbes Prozent des angewendeten Materials: sie reichte nicht aus, um weitergehende Untersuchungen damit zu machen. Die angestellten Versuche lehrten, daß es sich hier nicht um Kossels Protamine handle.

Die Elementaranalyse ergab für die bei 110° getrocknete Substanz in Prozenten:

	I	II	Mittel
C	49.22	49.57	49.57
H	7.14	7.10	7.12
N	14.26	14.48	14.37
S	0.57		0.57
P	1.42		1.42
O			26.95

Es wurde der Kohlenstoffgehalt von der 2. Analyse für das Mittel genommen, da bei der 1. Analyse trotz heftigen Glühens im Sauerstoffstrom der Rückstand im Verbrennungsschiffchen noch etwas Kohle enthielt.

Eine Probe dieses Niederschlages mit 20%iger Schwefelsäure, einige Stunden im Wasserbade erwärmt, neutralisiert und mit Fehlingscher Lösung geprüft, gab eine minimale Spur Kupferoxydul, mit Ammoniak neutralisiert nur eine höchst unbedeutende Fällung mit ammoniakalischer Silberlösung.

Im Filtrat vom Essigsäureniederschlag wurde in die eine Probe Magnesiumsulfat bis zur Sättigung eingetragen, von dem Niederschlage abfiltriert, mit gesättigter Magnesiumsulfatlösung ausgewaschen, ins Filtrat Ammoniumsulfat bis zur Sättigung eingetragen, von dem nicht bedeutenden Niederschlag abfiltriert, wieder gewaschen und in diesem Filtrat dann noch nach Devoto auf Peptone geprüft; es ergab sich eine geringe Menge Niederschlages, der für Albumosen zu nehmen wäre, der einen ganz eigentümlichen, an Schierling erinnernden Geruch besaß. Das Filtrat gab noch die Biuretreaktion. In sämtlichen Fällungen sowie auch im letzten Filtrat wurde nach dem Veraschen und Schmelzen mit Salpeter Phosphorsäure nachgewiesen. Eine weitere Probe des Filtrates vom Essigsäureniederschlag wurde eingedampft, mit Alkohol ausgezogen und auf Harnstoff mit negativem Erfolge geprüft. Der alkoholische Auszug gab übrigens noch die Biuretreaktion. Der Rückstand, noch mit Wasser ausgezogen, enthielt keine Amidosäuren.

Die Hauptmenge des Filtrates wurde nun im Kohlensäurestrom koaguliert, die Fällung machte so ziemlich den größten Teil der in Lösung gegangenen Eiweißkörper aus. Das Filtrat davon gab mit Ferrocyankalium nur eine leichte Opaleszenz, deutlich die Biuret, Millonsche- und Molische Reaktion: mit Alkohol gab sie eine reichliche Fällung. Das Filtrat wurde in zwei Hälften geteilt, die eine Hälfte mit der dreifachen Menge Alkohol versetzt, über Nacht stehen gelassen, filtriert, der Niederschlag mit Alkohol gut ausgewaschen; man erhielt so ein fast weißes Pulver, welches der Elementaranalyse unterzogen wurde. Diese ergab:

	I	II	Mittel
C	44.00%	44.07%	44.03%
H	6.71%	6.68%	6.70%
N	16.24%	16.33%	16.29%
S	1.03%		1.03%
P	2.74%		2.74%
O			29.21%

Die andere Hälfte des Filtrates wurde unter vermindertem Druck bei ungefähr 50° auf ein kleines Volumen eingedampft, hierauf mit Schwefelsäure versetzt in der Menge, wie sie von Kossel und Kutscher bei ihren ausführlichen Untersuchungen angewendet wurde, und damit zerkocht; ebenso die im Kohlen säurestrom koagulierten Eiweißkörper, sowie die, welche in Wasser, resp. sehr verdünnter Kochsalzlösung unlöslich geblieben waren (ca. 80% des Ausgangsmaterials). Da es mir hauptsächlich darum zu tun war, die Hexonbasen Kossels nachzuweisen, so wurde der Gang der Untersuchung, wie er in «Beiträge zur Kenntnis der Eiweißkörper», von A. Kossel und F. Kutscher,¹⁾ geführt wird, eingehalten. Die Untersuchung wurde ziemlich quantitativ ausgeführt, doch wurde von den vielen Stickstoffbestimmungen Abstand genommen; wo sie angeführt sind, sind es Mittelwerte aus Doppelbestimmungen.

In der 1. Portion (Spaltung der durch Koagulation gewonnenen Eiweißkörper) wurden (aus der Menge des Gesamtstickstoffes berechnet) N = 1,030 g, ca. 6,3 g Eiweiß verarbeitet. Die Menge des Ammoniakstickstoffs betrug N = 0,1735 g = 16,47% des Gesamtstickstoffes. Nach Entfernung des Ätzbaryts, d. h. vor der gemeinsamen Fällung des Histidins und Arginins blieben 0,753 g N = 71,49% des ursprünglichen. Histidin wurde nicht gefunden. Als Argininnitrat wurden schließlich ungefähr 0,1 g gewogen, eine nähere Charakterisierung wurde nicht vorgenommen. Lysinpicrat wurde 0,1785 g gewogen, eine Ziffer, die nach Anbringung der entsprechenden Korrektur sich auf ungefähr 0,2 g erhöhen würde: es war in schönen Nadeln kristallisiert, schließlich wurde aus demselben noch das freie Lysin dargestellt.

Die 2. Portion (Peptone) gab nach Entfernung der Schwefelsäure und des Baryts 0,631 g Gesamtstickstoff. Histidin wurde

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

auch hier nicht gefunden. Argininnitrat wurde gewogen: das Gewicht betrug 0,1487 g; aus dem Drehungsvermögen würde sich die Menge zu 0,124 g berechnen. Die Menge des sauren Argininnitrats entsprach der Menge des zuerst gewogenen Argininnitrats.

Die Menge des Lysinpikrats betrug (mit Korrektur) ca. 0,2 g.

Bei der 3. Portion (wasserunlösliche Eiweißkörper) wurde eine größere Menge zerkoht: nach Entfernung des größten Teiles der Schwefelsäure betrug der Gesamtstickstoff 10,539 g = 96 g Eiweiß. Die Menge des Ammoniaks betrug 2,249 g = 1,850 g Stickstoff = 17,55% des Gesamtstickstoffs.

Beim versuchten Nachweis des Histidins kristallisierten aus der salzsauren Lösung farblose, zarte Nadeln heraus, die nach dem Trocknen schwach gelblich gefärbt waren und fast vollständig bis auf eine Spur rotgelbe Asche verbrannten. Auffallend war, daß entsprechend dem Silberniederschlag eine bedeutend größere Menge hätte gewonnen werden müssen. Die Substanz war jedoch außerordentlich empfindlich gegen alkalische resp. ammoniakalische Silberlösung, sodaß der größte Teil derselben unter Reduzierung der Silberlösung bei der Darstellung verloren ging. Was vorgelegen war, ließ sich bei der geringen Menge (gewogen wurden 0,0094 g) nicht näher ermitteln.

Argininnitrat wurde gewogen 1,61 g (ohne Korrektur): das Drehungsvermögen entsprach der gewogenen Menge. 0,2 g Substanz lieferten genau 1 mg Asche. Eine Stickstoffbestimmung nach Dumas ergab für das saure Nitrat 29,66% N. (Die Formel verlangt 30,04%.) Bemerken will ich noch, daß sich im Argininnitrat die Menge der Salpetersäure sehr gut durch Titrieren mit Indigo bestimmen läßt, bei größeren Mengen Substanz muß man allerdings darauf achten, daß die Schwefelsäure nicht zu verdünnt wird, es ist notwendig, entsprechend der Verdünnung durch die Indigolösung konzentrierte Schwefelsäure zuzugeben. Lysinpikrat wurde nach nochmaligem Umfällen mit Phosphorwolframsäure schließlich ganz rein 0,5724 g gewogen (ohne Korrektur). Bei der Darstellung war etwas verloren gegangen.

Beim Zerkochen der Eiweißkörper blieb regelmäßig ein

mit etwas Fett gemengter Rückstand: dieser wurde abfiltriert. Das mit Alkohol ausgezogene Fett wurde mit alkoholischer Lauge verseift, der Alkohol abgedunstet und die Seifenlösung mit Äther ausgeschüttelt. Der Ätherrückstand gab die Liebermannsche Cholestolreaktion und erwies sich mit kohlensaurem Natron verascht und mit Salpetergeschmolzen phosphorsäurehaltig.

Der in Alkohol unlösliche Teil bildete ein lichtbraunes Pulver: es wurde bei 110° getrocknet und gab bei der Elementaranalyse folgende Werte in Prozenten:

	I	II	Mittel
C	54.03	53.74	53.88
H	6.67	6.89	6.78
N	11.97	12.14	12.06
S	2.66		2.66
P	0.15		0.15
O			24.47

Die Hauptmenge der Zersetzungsprodukte bestand aus Leucin: eine Stickstoffbestimmung nach Dumas ergab 10,71% (berechnet 10,70%), außerdem wurde noch Glykokoll nachgewiesen. Auf die Auffindung noch anderer Zersetzungsprodukte konnte ich wegen Mangels an Material nicht mehr eingehen.

Es war also möglich, in diesem Falle von den Hexonbasen Arginin und Lysin, wenn auch in geringer Menge (ca. 1%), so doch sicher nachzuweisen und zu charakterisieren; im übrigen ist der relativ hohe Phosphorgehalt dieser Eier bemerkenswert, der so groß ist, daß die Asche einen Überschuß freier Metaphosphorsäure enthält, woraus sich auch das Fehlen von Chlor und Schwefelsäure in der Asche erklärt.